

Aus der urologischen Klinik des St. Hedwig Krankenhauses  
Lehrkrankenhaus der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**„Postsynaptische Rezeptorveränderungen  
nach Botulinumneurotoxin A – Detrusorinjektion bei Kindern und Jugendlichen  
mit neurogener Blasenfunktionsstörung:  
Rezeptoranalyse und Korrelation mit den urodynamischen Befunden“**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

**von Judith Priefert  
aus Berlin  
2013**

Gutachter:           1. PD Dr. med. H. Schulte – Baukloh  
                          2. PD Dr. med. S. Weikert  
                          3. PD Dr. med. J. Lehmann

Datum der Promotion: 1. Februar 2013

## Meinen Großmüttern

*„ Im Grunde sind es immer die Verbindungen mit Menschen,  
die dem Leben seinen Wert geben.“*

(Wilhelm von Humboldt)

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	8
2	Grundlagen.....	9
2.1	Definition der „Neurogenen Blase“ .....	9
2.2	Anatomie und Physiologie der Harnblase.....	9
2.3	Muskulatur .....	10
2.4	Nervale Innervation .....	11
2.4.1	Zentrale Innervation .....	11
2.4.2	Periphere Innervation.....	11
2.5	Speicher – und Entleerungsphase der Harnblase .....	13
2.5.1	Speicherphase .....	13
2.5.2	Entleerungsphase / Miktion.....	13
2.6	Neurogene Blase.....	14
2.6.1	Ätiologie .....	14
2.6.2	Symptome und Risiken .....	15
2.6.3	Klassifikation .....	16
2.6.4	Therapie.....	17
2.7	Botulinumneurotoxin.....	21
2.7.1	Historische Grundlagen .....	22
2.7.2	Wirkmechanismus.....	23
2.7.3	Präparate .....	25
2.7.4	Indikationen.....	26
2.7.5	Besonderheit bei Kindern mit Meningomyelozele .....	30
2.7.6	Nebenwirkungen .....	30
2.7.7	Kontraindikationen .....	31
2.8	Rezeptoren.....	31
2.8.1	Muskarinrezeptoren .....	31
2.8.2	P2X – Purinerge Rezeptoren .....	32
2.9	Zielsetzung der Studie.....	34
3	Material und Methoden.....	34
3.1	Patientenkollektiv.....	35
3.2	BoNT/A – Detrusorinjektion .....	37

3.3	Urodynamik und urodynamischer Messplatz .....	37
3.4	Urologisches Forschungslabor .....	39
3.4.1	Präparataufbereitung .....	39
3.4.2	HE – Färbung.....	39
3.4.3	Immunohistochemische Anfärbung.....	40
3.4.4	Rezeptoranalyse .....	42
3.5	Statistische Methoden .....	43
3.5.1	Wilcoxon – Paardifferenzentest .....	43
3.5.2	Mann – Whitney – U – Test.....	43
4	Ergebnisse .....	44
4.1	Ergebnisse der Rezeptorexpression.....	44
4.2	Ergebnisse der Urodynamiken .....	46
5	Diskussion .....	48
5.1	Diskussion des Patientenkollektives.....	48
5.1.1	Anzahl der Patienten.....	48
5.1.2	Geschlechterverteilung .....	49
5.1.3	Altersverteilung .....	49
5.2	Diskussion der Methoden .....	50
5.2.1	Diskussion von Injektionsanzahl und Injektionseinheiten.....	50
5.2.2	Diskussion von Injektionsort.....	51
5.2.3	Diskussion der Injektionsintervalle und der Intervalle zwischen Injektion und Zystometrie bzw. zwischen letzter Injektion und Blasenaugmentation .....	51
5.3	Diskussion und Beurteilung der Ergebnisse der Rezeptoranalyse .....	53
5.4	Beurteilung und Diskussion der urodynamischen Ergebnisse.....	54
6	Fazit.....	54
7	Zusammenfassung .....	55
8	Abkürzungsverzeichnis.....	58
9	Abbildungsverzeichnis.....	61
10	Tabellenverzeichnis .....	61
11	Literaturverzeichnis.....	62
12	Lebenslauf .....	66
13	Danksagung.....	67
14	Selbstständigkeitserklärung .....	68

15	Anhänge .....	69
-	Ethikantrag.....	69
-	Teilnehmerinformation für Patienten.....	69
-	Teilnehmerinformation für Eltern.....	69
-	Einwilligungserklärung der Patienten.....	69
-	Einwilligungserklärung für die Eltern.....	69



*„Alle Ding' sind Gift und nichts ohn' Gift; allein die Dosis macht, das ein Ding' kein Gift ist.“ – Paracelsus (1493 – 1541)*

## **1 Einleitung**

Mit einer Inzidenz von ca. 1 - 10 auf 1000 Schwangerschaften weltweit pro Jahr treten bei Neugeborenen Verschlussdefekte der Wirbelsäule wie die Meningomyelozele auf. Diese Kinder fallen urologisch oft durch Inkontinenz, vesikoureteralen Reflux und rezidivierende Infektionen der unteren Harnwege auf. Dies kann ernsthafte Folgen nach sich ziehen und im schlimmsten Fall zum Verlust der Nierenfunktion führen. Therapieziele sind eine Reduktion all dieser Risiken, eine höhere Lebensqualität sowie eine größere Privatsphäre. Wenn die herkömmlichen Therapieverfahren wie Selbstkatheterismus, anticholinerge - und antibiotische Therapie ausgereizt sind, bleibt oft nur der operative Eingriff: die Harnblasenaugmentation. Doch oft sind die Kinder noch sehr klein, sodass seit mehreren Jahren die Botulinumneurotoxin A (BoNT/A) - Detrusorinjektion eine Alternative darstellt, um eine solch große Operation hinauszuzögern bzw. die Zeit bis zu einer Operation zu überbrücken. BoNT/A war für diese Indikation bislang nicht zugelassen, da es lange Zeit eine unzureichende Datenlage hinsichtlich Wirkung und Wirkungsweise an der glatten Muskulatur der Harnblase gab. Die neuesten Studien zeigen allerdings, dass es eine zunehmende Evidenz dafür gibt, dass neben den bekannten muskarinergen Rezeptoren auch purinerge Rezeptoren eine Rolle in der Signalweiterleitung und der Blasenaktivität spielen. Dadurch motiviert, untersuchten wir die muskarinergen und purinergen Rezeptorveränderungen an der neuromuskulären Endplatte und ich stelle hiermit die erste Arbeit vor, die sich nicht mit den neurogenen, sondern mit den muskulären Rezeptoren beschäftigt. In die Studie eingeschlossen haben wir 10 Kinder und Jugendliche (Mittelwert 14 Jahre, 3 Monate), von denen sieben mit BoNT/A - Detrusorinjektionen therapiert worden sind. Drei Kinder haben nie eine solche Therapie erhalten. Wir werteten die Rezeptoranalyse mittels konfokalen Lasermikroskops aus und korrelierten diese mit den urodynamischen Ergebnissen der Kinder. Es zeigte sich eine signifikante



Reduzierung sowohl der muskarinergen als auch der purinergen Rezeptoren. Unsere Ergebnisse tragen damit zu einem besseren Verständnis der Wirkungsweise bei und zeigen eine neue Zielstruktur bei der Therapie der neurogenen Blasenfunktionsstörung auf. In der hier vorgelegten Arbeit werden die Grundlagen zur Anatomie und Physiologie des unteren Harntrakts, zum Krankheitsbild der neurogenen Blasenfunktionsstörung, die Therapieoptionen dieser und die Grundlagen zum Botulinumneurotoxin ausführlichst dargestellt und die Studie mit dem Patientenkollektiv, den Materialien und Methoden, sowie den Ergebnissen genauer vorgestellt.

## **2 Grundlagen**

### **2.1 Definition der „Neurogenen Blase“**

Die neurogene Blasenfunktionsstörung ist eine Funktionsstörung des unteren Harntraktes infolge neurologischer Grunderkrankungen (zentrale, spinale oder periphere Läsion), die die Blasenspeicherfunktion, die Blasenentleerungsfunktion oder beides betreffen. [1] Der Terminus „Neurogene Blasenfunktionsstörung“ ist hierbei der fachlich korrekte, im Folgenden wird der im Umgang gebräuchlichste Begriff „Neurogene Blase“ verwendet werden.

### **2.2 Anatomie und Physiologie der Harnblase**

Die Harnblase (Vesica urinaria) ist ein Teil der ableitenden Harnwege, zu denen auch das Nierenbecken (Pelvis renalis), die Harnleiter (Ureter), und die Harnröhre (Urethra) gehören. Sie liegt retropubisch im Subperitonealraum des kleinen Beckens auf den Levatorschenkeln und ist von der Symphyse durch das Spatium retropubicum getrennt.

Das Hohlorgan Blase hat im gefüllten Zustand eine birnenähnliche Form und ist mit dem Stiel nach ventral und kranial gerichtet. Die Blasenspitze (Apex vesicae) sitzt der Harnblase auf und setzt sich als Ligamentum umbilicale medianum nach kranial in den obliterierten Urachus fort. Weiterhin können der Blasenkörper (Corpus

vesicae) und der Blasen Hals (Collum vesicae) unterschieden werden. Letzterer geht in die Urethra über. Der Blasengrund (Fundus vesicae) ist der hintere untere Abschnitt der Blase, in dem das Blasendreieck (Trigonum vesicae) liegt. Dieses wird von den beiden Uretermündungen (Ostia ureterum) und der Harnröhrenmündung (Ostium urethrae internum) gebildet. Die Plica interureterica ist eine Schleimhautfalte, welche die Uretermündungen verbindet.

Bei der Frau liegt sich der Uterus von hinten und oben auf die Harnblase. Beim Mann besteht eine Lagebeziehung zur Prostata, zu den Glandulae vesiculosae, zu den Ducti deferentes und dem Rektum.

## **2.3 Muskulatur**

Die Harnblasenwand ist dreischichtig aufgebaut. Es werden eine Tunica mucosa, eine Tunica muscularis und eine Tunica serosa unterschieden. Die Tunica muscularis besteht wiederum aus drei Schichten (außer im Trigonum vesicae), welche als M. detrusor bezeichnet werden. Die innere und die äußere Schicht werden aus Längsmuskulatur gebildet, die mittlere Schicht ist Ringmuskulatur. Im Trigonum vesicae verliert die Muskulatur ihre typische Dreischichtung. Elliptische Züge umfassen die Mündungen von Ureteren und Urethra. Der Musculus sphincter urethrae internus ist ein funktioneller Sphinkter und wird aus Muskelzügen gebildet, die zirkulär um die Urethra herum liegen.

Das Sphinktersystem, welches den Blasenverschluss und die Blasenentleerung regelt, ist komplex und wird aus mehreren muskulären und nicht muskulären Strukturen gebildet. Zu den muskulären Strukturen gehört der M. sphincter urethrae externus (welcher aus Fasern des quergestreiften M. transversus perinei profundus entsteht), der M. levator ani, der M. puborectalis sowie der M. pubovesicalis.

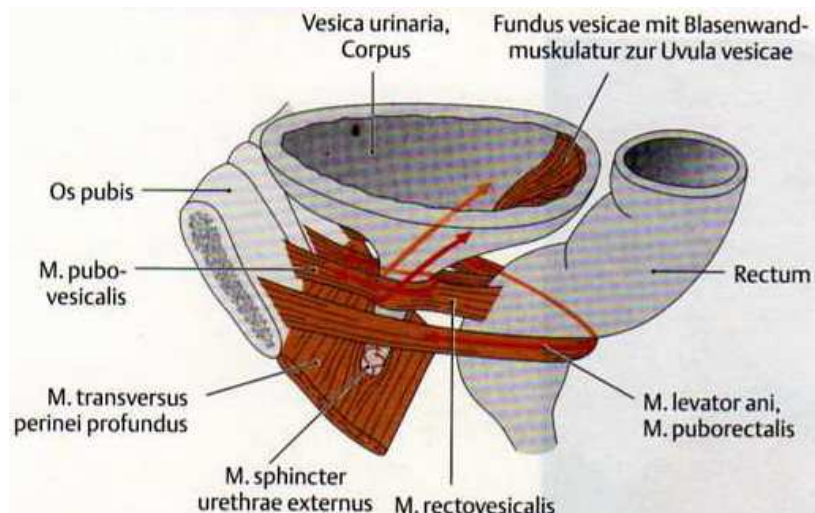


Abbildung 1 Muskuläre Strukturen an der Harnblase für Blasenverschluss und-entleerung [2]

## 2.4 Nervale Innervation

Hierbei werden eine zentrale und eine periphere Innervation unterschieden.

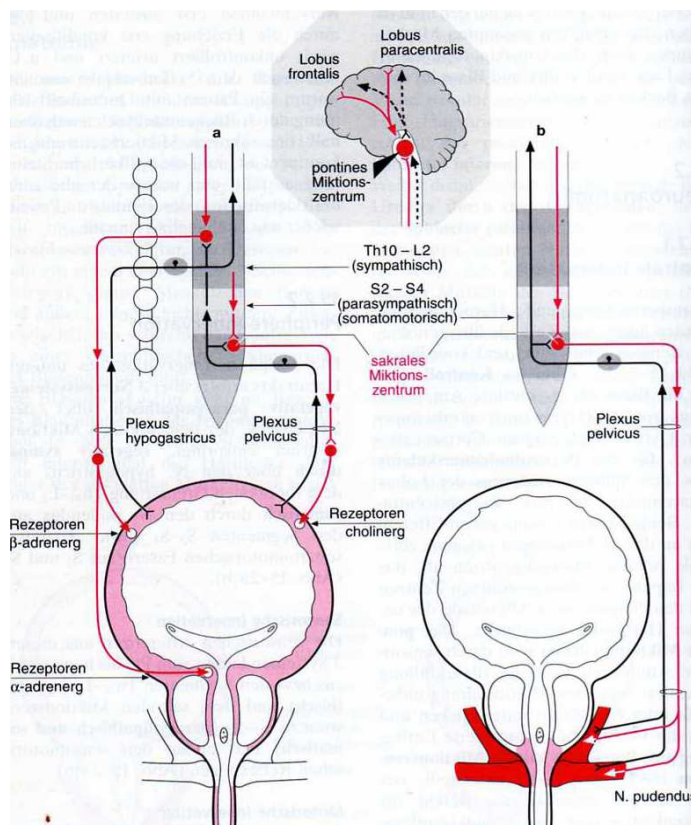
### 2.4.1 Zentrale Innervation

Der mittlere Anteil des Lobus frontalis und der Lobus paracentralis sind die übergeordneten Zentren, welche die Harnspeicherung und die Harnentleerung regulieren. Von ihnen gehen Efferenzen zu dem pontinen Miktionszentrum, welches sich im Hirnstamm befindet. Hier werden die Impulse kontrolliert, die zum einen von den übergeordneten Zentren kommen zum anderen von den Afferenzen des unteren Harntraktes. Über die Afferenzen wird das pontine Miktionszentrum über die Blasenfüllung informiert und kann bewusst und unbewusst den Miktionsdrang unterdrücken oder die willkürliche, kontrollierte Harnentleerung auslösen. Das sakrale Miktionszentrum S2 – S4 gibt die zentral kontrollierten Befehle zur Blasenkontraktion und Sphinkterrelaxation weiter. Sollten die zentralen Impulse hierfür fehlen, ist über das sakrale Miktionszentrum zwar noch eine autonome Kontrolle gegeben, aber es fehlt die physiologische Regulierung.

### 2.4.2 Periphere Innervation

Die periphere Innervation erfolgt über das vegetative und das somatische Nervensystem. Der vegetativ parasympathische N. pelvicus entspringt dem sakralen Miktionszentrum. Der vegetativ sympathische N. hypogastricus entspringt dem

thorakalen Grenzstrang Th 10 – L2. Die somatische Innervation erfolgt zum einen über den N. pudendus aus den Segmenten S2 – S4 zum anderen über somatomotorische Fasern aus S2 und S3. Alle sensorischen Afferenzen laufen zum Plexus Hypogastricus bzw. zu den Segmenten Th10 – L2 und S2 – S4 und bilden den sensomotorischen Reflexbogen. Die motorische Innervation erfolgt sowohl über parasympathische und sympathische als auch über somatische Fasern. Der Parasympathikus aktiviert den M. detrusor vesicae. Der Sympathikus hemmt die Blasenaktivität über  $\beta$ -adrenerge Rezeptoren in der Harnblasenwand und stimuliert den M. sphincter internus über  $\alpha$ -adrenerge Rezeptoren im Harnblasenhalsbereich. Eine weitere Rolle zur Beeinflussung der Blasenaktivität wird peptidergen Neurotransmittern, wie der Substanz P, zugesprochen. Der M. sphincter externus wird somatisch innerviert. Motorische Fasern aus S2 und S3 innervieren den M. levator ani. Der M. transversus perinei wie auch die weitere Muskulatur des Beckenbodens wird über den N. pudendus innerviert.



**Abbildung 2 Neuroanatomie des unteren Harntrakts [3]**

**Inset: zerebrales, pontines Miktionszentrum a sympathische und parasympathische Innervation des Detrusors und des Spincter internus b Somatische Innervation des Sphincter externus**

## **2.5 Speicher – und Entleerungsphase der Harnblase**

Die Funktion der Harnblase ist eine Reservoirfunktion, in die der von den Nieren kontinuierlich gebildete Harn abgeleitet wird. Die dabei physiologisch gespeicherte Maximalfüllmenge schwankt zwischen 400 – 500 ml, wobei ein Harndrang bei circa 150 – 300 ml auftritt.

### **2.5.1 Speicherphase**

Der Harntransport von den Nieren erfolgt in peristaltischen Wellen, wodurch sich bei jeder Welle die Uretermündungen für den Harnabfluss in die Blase öffnen. Bei stetiger Harnblasenfüllung dehnt sich der M. detrusor und der intravesikale Druck steigt geringfügig und zunächst wahrnehmungsfrei bis zu 20cm – H<sub>2</sub>O an. Das Blasenfüllungsgefühl wird intraspinal und zerebral unterdrückt und tritt ab einem Harnvolumen von 150 – 250 ml auf. Das Gefühl des Harndranges tritt bei 350 – 450 ml auf. Der Miktionsreflex wird durch eine willkürliche, zentrale Hemmung unterdrückt. Zur Kontinenz tragen der M. sphincter urethrae internus (unwillkürlich; glatte Muskulatur), die Uvula vesicae (aufgefüllter Venenplexus) und der M. sphincter externus (willkürlich; quergestreifte Muskulatur) bei. Intraabdominelle und intravesikale Druckerhöhungen werden durch einen Harnröhrendruckanstieg kompensiert. Der Harnröhrenverschlussdruck liegt somit über dem intravesikalen Druck. Ein unphysiologischer Rückstrom (Reflux) wird durch den schrägen Wanddurchtritt der Uretermündungen in die Blase und die interureteren Muskelzüge in der Plica interureterica verhindert.

### **2.5.2 Entleerungsphase / Miktion**

Die Miktion wird durch die willkürliche Aktivierung des Miktionsreflexes eingeleitet. Durch die Aktivitätssteigerung des Parasympathikus kontrahiert sich der M. detrusor vesicae, der intravesikale Druck steigt an (bei der Frau bis max. 50cm – H<sub>2</sub>O, bei dem Mann bis max. 75cm – H<sub>2</sub>O) und übersteigt den Harnröhrenverschlussdruck (ca. 50cm – H<sub>2</sub>O). Der M. sphincter ext. relaxiert zeitgleich und durch dieses synergistische Zusammenspiel kommt es zur vollständigen Entleerung der Blase. Durch den Zug des Trigonum vesicae nach dorsal und kranial und einem Schließen

der Uretermündungen wird auch ein vesikoureteraler Reflux während der Miktion verhindert.

## 2.6 Neurogene Blase

### 2.6.1 Ätiologie

Für die neurogene Blase gibt es angeborene und erworbene Ursachen. Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht zur Ätiologie.

*Tabelle 1 Übersicht zur Ätiologie der neurogenen Blase [4]*

Angeboren	Erworben
<b>Geschlossene Läsionen</b>	
<b>Spina bifida occulta</b>	<b>Frühkindlicher Hirnschaden</b>
<b>Sakrallipom</b>	<b>Intraspinale Tumoren und Metastasen</b>
<b>Diastomyelie</b>	<b>Wirbelsäulenosteomyelitis</b>
<b>Filum – terminale – Syndrom</b>	<b>Rückenmarkstrauma</b>
<b>Sakralagenesie</b>	<b>Myelitis transversalis</b>
<b>Hydrozephalus</b>	<b>Masernenzephalitis</b>
	<b>Poliomyelitis</b>
<b>Offene Läsionen</b>	
<b>Spina bifida aperta</b>	
	▪ <b>Meningozele</b>
	▪ <b>Meningomyelozele</b>

Die häufigste Ursache einer neurogenen Blase im Kindesalter ist die Meningomyelozele. [5] Die weltweite Inzidenz für Neuralrohrdefekte beträgt 1 – 10 pro 1000 Geburten. [6] Circa 50% der Kinder mit Spina bifida aperta leiden an einer Detrusor – Sphinkter – Dyssynergie (DSD), was eine Gefahr für die oberen Harnwege darstellt. [7] Das Risiko bei diesen Kindern für vesikoureteralen Reflux, für Inkontinenz, für eine Infektion der oberen Harnwege, für Parenchymnarben der Nieren oder für ein Nierenversagen sind stark erhöht. [8] Wenn keine adäquate Therapie durchgeführt wird, kann die Inzidenz für ein Nierenversagen bei Kindern mit DSD bis zu 100% sein. Weitere Zahlen belegen eine Todesrate aufgrund eines Nierenversagens innerhalb des ersten Lebensjahres bis zu 20%. [7]

## 2.6.2 Symptome und Risiken

Ein häufiges Symptom der neurogenen Blase ist die Harninkontinenz. Meistens ist dies mit einer Blasenentleerungsstörung kombiniert, sodass es zu Restharnbildung und ggf. auch Stauung des oberen Harntraktes kommt.

Weitere Symptomatik und Risiken sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

*Tabelle 2 Symptomatik und Risiken der neurogenen Blasenfunktionsstörung [9]*

**Harninkontinenz**

**Restharnbildung**

**Harnwegsinfektionen**

**Sekundärer vesikoureteraler Reflux (VUR)**

**Niereninsuffizienz**

**Urolithiasis (begünstigt durch Restharnbildung/ Obstruktion)**

**Sekundäre obstruktive Uropathie**

Zur Beurteilung des Risikos für den oberen Harntrakt gibt es laut Stein et al. vier prognostische Parameter: [9]

1. „Detrusor – Leak – Point – Pressure“ (LPP): Ein LPP von  $> 40\text{mm} - \text{H}_2\text{O}$  führt ohne entsprechende Therapie in bis zu 80% zur Verschlechterung der Nierenfunktion.
2. Blasencompliance: Eine Blasencompliance von  $< 10\text{ ml/ cm} - \text{H}_2\text{O}$  führt zur Verschlechterung der Nierenfunktion.
3. Detrusor – Sphinkter – Dyssynergie (DSD): Bis zu 72% der Patienten mit DSD entwickeln ohne adäquate Therapie eine Verschlechterung der Nierenfunktion.
4. „Hostility Score“ nach Galloway, der das individuelle Risiko nach einem Punktesystem berechnet, in dem folgende Parameter berücksichtigt werden:
  - VUR
  - Blasenkapazität in ml =  $30 \times \text{Alter (in Jahren)} + 30$
  - Spitzendruck bei autonomen Kontraktionen
  - LPP
  - Blasen – Sphinkter – Verhalten bei Blasenentleerung

### 2.6.3 Klassifikation

Es werden zwei Formen der neurogenen Blase unterschieden. Das Prinzip der Klassifikation basiert auf der Höhe der Läsion.

- Infranukleäre Läsion „lower motor neuron lesion“: Die Schädigung liegt im sakralen Miktionszentrum oder weiter peripher. Die Funktionsstörung zeigt das Bild einer schlaffen Blase.
- Supranukleäre Läsion „upper motor neuron lesion“: Die Schädigung liegt oberhalb des sakralen Miktionszentrums. Die Funktionsstörung zeigt das Bild einer Reflexblase.

Eine Läsion zwischen pontinem und sakralen Miktionszentrum führt außerdem zu einem Koordinationsverlust des Miktionsreflexes und damit zu einer Detrusor – Sphinkter – Dyssynergie (DSD). [3]

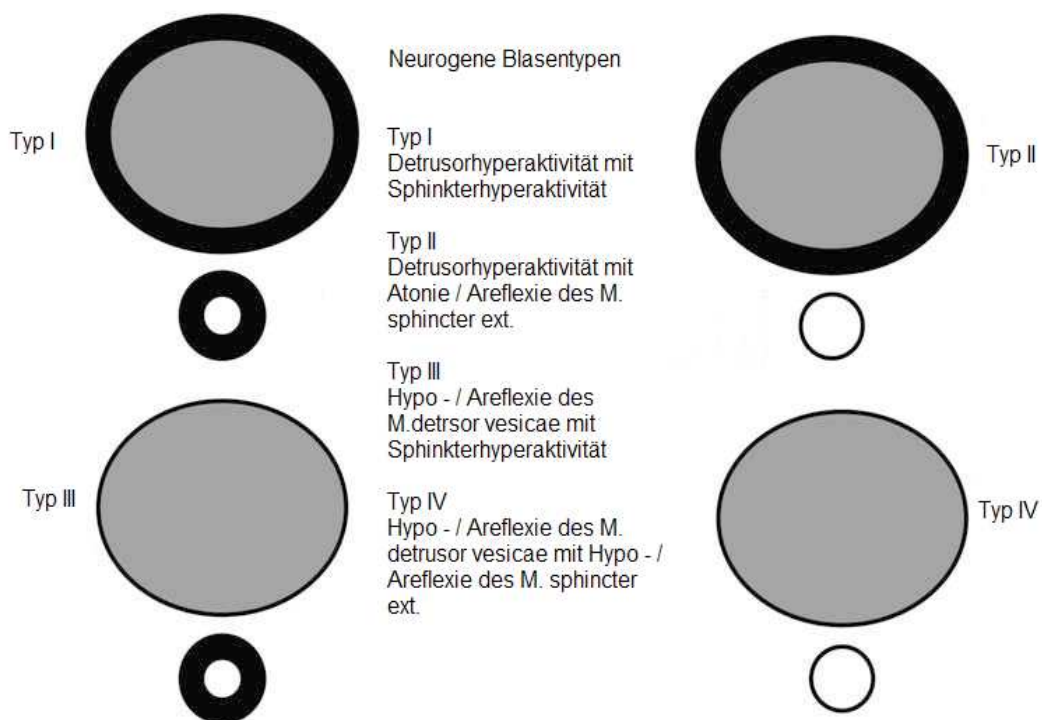


Abbildung 3 Die schematische Darstellung der häufigsten neurogenen Blasentypen / Detrusor – Sphinkter – Dysfunktionen [10]

Bei allen Kindern unserer Studie liegt die Läsion zwischen dem pontinem und dem sakralen Miktionszentrum, sodass sich klinisch das Bild einer Reflexblase mit DSD präsentiert.



## 2.6.4 Therapie

Die Therapieziele umfassen

1. eine Protektion oder Verbesserung der Nierenfunktion,
2. die Optimierung der Blasenentleerung und
3. eine Harnkontinenz. [9]

### 2.6.4.1 Konservative Therapiemethoden

Die konservativen Therapiemethoden sind unerlässlich für eine adäquate Therapie der neurogenen Blase. Nur so können Spätfolgen (s. o.) verhindert werden. Dazu zählen die Therapie mit Anticholinergika und der aseptische Einmalkatheterismus (clean intermittend catheterization, CIC). Gegebenenfalls muss außerdem eine antibiotische Prophylaxe erfolgen.

#### 2.6.4.1.1 Medikamentöse Therapie

##### 2.6.4.1.1.1 Anticholinergika

Anticholinergika blockieren die muskarinergen Cholinrezeptoren und führen damit zu einer Tonusabnahme der Harnblasenmuskulatur und reduzieren die Detrusoraktivität. Als gebräuchlichstes Medikament wurde lange Zeit Oxybutynin verabreicht, welches sowohl in Tablettenform als auch in Tropfenform eingenommen werden kann. Alternativ ist auch die transdermale Verabreichung über Pflaster oder die intravesikale Instillation möglich. Präparate, die nur ein Mal täglich verabreicht werden müssen, sind am besten verträglich und verzeichnen die wenigsten Nebenwirkungen. Zu diesen zählen Mundtrockenheit, Tachykardie und eine flushartige Gesichtsröte. [8] Oxybutynin ist eigentlich erst ab dem 6. Lebensjahr zugelassen, doch aufgrund langjähriger Erfahrungen wird es oft schon ab dem ersten Lebensjahr eingesetzt. Die orale Dosierung bei Kindern beträgt 0,1 - 0,3 mg/kg KG pro Tag und die Dosierung bei intravesikaler Verabreichung 0,7 – 0,9 mg/kg KG pro Tag. Außerdem ist auch Propiverin (Miconetten®) bei Kindern zugelassen und wird 12-stündlich mit einer Dosierung von 0,4 mg/kg KG verabreicht. [9] Propiverin ist im Vergleich zu Oxybutynin genauso wirksam, doch wesentlich nebenwirkungsärmer und wird deshalb mittlerweile erfolgreicher und häufiger eingesetzt. [11, 12]

#### **2.6.4.1.1.2 Alphablocker**

Alphablocker können, wenn ein überaktiver Sphinkter oder ein überaktiver Blasen Hals bestehen, bei einem gewissen Anteil der Patienten den LPP senken und ist für diejenigen Kinder eine Alternative, bei denen Anticholinergika nicht den erwünschten therapeutischen Effekt bringen und/ oder deren Eltern den CIC bei ihren Kindern durchzuführen ablehnen. [13] Die Effektivität von Alphablockern ist jedoch umstritten. Zur oralen Applikation ist Phenoxybenzamin (Dibenzylan ®) bei Kindern mit einer Dosierung von 0,1 – 0,2 mg/ kg KG (12- stündlich) zugelassen. Doxazosin und Tamsulosin sind bislang bei Kindern nicht zugelassen, werden aber nach entsprechender Aufklärung eingesetzt. Die maximale Dosis für Doxazosin liegt bei Kindern > 5 Jahre bei 2 x 2mg und für Tamsulosin bei 0,2 (< 12 Jahre) – 0,4 mg (> 12 Jahre). [9]

#### **2.6.4.1.1.3 Antibakterielle Therapie**

Rezidivierende Harnwegsinfektionen sind bei Kindern mit neurogener Blase sehr häufig und gelten als kompliziert. Abhängig von den Symptomen und dem Ort der Infektion kann eine Zystitis von einer Pyelonephritis und einer asymptomatischen Bakteriurie unterschieden werden. Um eine Diagnose stellen zu können und um eine Bewertung abzugeben, sind drei Kriterien relevant:

1. das Vorhandensein klinischer Symptome,
2. eine Leukozyturie und
3. ein Bakteriennachweis im Urin.[9]

Grund für eine Infektion ist zum einen die ständige Manipulation an der Harnröhre zum anderen die Unfähigkeit der regelmäßigen und vollständigen Blasenentleerung. Zusätzlich werden Infektionen durch die Inkontinenz und das damit verbundene ständig feuchte Milieu unterstützt. [8]

##### **2.6.4.1.1.3.1 Therapie bei Asymptomatischer Bakteriurie**

Asymptomatische Bakteriurien müssen in der Regel nicht antibakteriell therapiert werden.

#### 2.6.4.1.1.3.2 Therapie bei Zystitis

Der häufigste Erreger einer Zystitis ist E.coli. Bevor es zu einem Anstieg der Resistenzraten kam, wurden Zystitiden erfolgreich mit Trimethoprim (TMP) behandelt. Heute wird eine kalkulierte Therapie mit Cephalosporinen oder Amoxicillin/ Clavulansäure bevorzugt. Die Therapiedauer liegt bei 3 – 5 Tagen. Kürzere Therapiedauern erhöhen das Rezidivrisiko und damit auch die Gefahr der Keimassenzunahme und einer daraus entstehenden Pyelonephritis, was bei sowieso schon vorbelasteten Nieren im schlimmsten Fall zum Nierenversagen führen kann. [8, 9]

#### 2.6.4.1.1.3.3 Therapie bei Pyelonephritis

Je schneller eine Therapie erfolgt, desto geringer sind die Folgeschäden wie bspw. Parenchymnarben. Abhängig vom Alter der Kinder und vom klinischen Beschwerdebild sollte eine stationäre Therapie und diese ggf. parenteral erfolgen. Die Therapie erfolgt mit Cephalosporinen der Gruppe 3. [9]

#### 2.6.4.1.1.3.4 Infektionsprophylaxe

Die Effektivität einer Infektionsprophylaxe wurde oft in der Literatur kontrovers diskutiert. Sollte sich für eine solche Therapie entschieden werden, gelten Nitrofurantoin und Trimethoprim als Mittel der ersten Wahl. Die Einnahme erfolgt meist am Abend als letztes vor dem Schlafen und entspricht  $\frac{1}{4}$  -  $\frac{1}{5}$  der Tagesdosis. [8, 9]

Als weitere supportive Maßnahmen gelten die Ansäuerung des Urins und das Trinken von Cranberrysaft. Für letzteres stehen Studien im Kindesalter noch aus. [9]

#### 2.6.4.1.2 Der intermittierende Einmalkatheterismus (engl. Clean intermittend catheterization, CIC)

Lapides et al. waren in den 70er Jahren die ersten, die Ergebnisse über das Outcome und die Sicherheit des Clean intermittend catheterization (CIC) veröffentlichten. [14] Heute ist es eine etablierte Technik beim Management der neurogenen Blase. Hierbei werden, je nach Ausführendem, der intermittierende Selbst-/ Fremd- oder allgemein Einmalkatheterismus synonym verwendet; im Folgenden etwas fälschlich Clean (sauberer) intermittend catheterization, CIC. Den

Eltern (oder ggf. dem Betreuungspersonal) und ab einem gewissen Lebensalter auch den Patienten selber wird empfohlen, den CIC 4 – 5 Mal am Tag durchzuführen. Dabei ist zu beachten, dass latexfreie Katheter mit möglichst großem Lumen verwendet werden. Mit diesem Verfahren kann die vollständige Entleerung der Blase und häufig eine Kontinenz erzielt werden. Außerdem wird das Risiko einer HWI minimiert. [8] Zu den Komplikationen beim CIC zählen Verletzungen der Urethra (in einer Langzeitstudie, > 10 Jahre, trat dies bei Männern in 25% der Beobachtungen auf, was in nur wenigen Fällen zu schwerwiegenden Komplikationen führte), [15] Via falsa (in 14% der Fälle), Epididymitiden (4%) und Urethrastrikturen. [9]

#### 2.6.4.2 Chirurgische Therapiemethoden

Wenn die medikamentöse Therapie ausgereizt ist und/ oder eine Blasenentleerung mittels transurethralem CIC erschwert oder nicht möglich ist, ist eine chirurgische Therapie indiziert. Zu letzterer gehört der Umstand, dass viele Patienten, die an einer neurogenen Blase aufgrund einer Myelomeningozele leiden, im Rollstuhl sitzen. Auch beim Auftreten von Komplikationen wie Urethraläsionen oder Viae falsae muss eine Alternative zur Harnentleerung gefunden werden. Abhängig von der Blasenkapazität der Patienten können katheterisierbare Stomata konstituiert werden oder die Patienten müssen sich einer Blasenaugmentation unterziehen.

##### 2.6.4.2.1 Kontinente kutane Harnableitung

Wenn eine ausreichend große Blasenkapazität vorhanden ist, kann ein Stoma aus Ileum oder Appendix genäht werden. Der Ausgang könnte median über den Bauchnabel oder über die seitliche Bauchdecke erfolgen. Mittels dieser Methoden kann eine Kontinenzrate von bis zu 95% erreicht werden. Allerdings treten nicht selten (in bis zu 50% der Fälle) Komplikationen auf, die in der Regel temporär sind, teilweise aber auch weiterer, zum Teil chirurgischer Interventionen bedürfen. Zu den Komplikationen zählen Stomastenosen, Ureterstenosen und eine vermehrte Steinbildung. [7, 9]

##### 2.6.4.2.2 Blasenaugmentation

Ist keine ausreichende Blasenkapazität vorhanden, ist es notwendig, das Überdrucksystem zu unterbrechen. Weitere Indikationen sind die progrediente

Verschlechterung des oberen Harntraktes durch eine medikamentös nicht beherrschbare hyperaktive Blasenfunktionsstörung mit Spitzendrücken. Die Blasenaugmentation ist hier Therapie der Wahl und kann mittels Ileum oder Colon sigmoideum durchgeführt werden. Durchschnittlich sind die Kinder zwischen acht und zwölf Jahren alt, manchmal jedoch auch jünger. Der Entschluss für eine chirurgische und erhoffte dauerhafte Lösung ist in diesem Alter auch bedingt durch den zunehmenden Wunsch nach Privatsphäre und höherer Lebensqualität. Ziel einer Blasenaugmentation ist die Schaffung eines großkapazitären Niederdruckreservoirs. Zudem ist eine Harnkontinenz erwünscht. Neben Ileum und Colon als Augmentat sind in der Literatur auch Rekonstruktionsplastiken mittels Autoaugmentation des M. detrusors und Ureterozystoplastiken mit dilatierten Ureteren beschrieben. Wie bei allen Therapiemethoden treten auch bei der Blasenaugmentation Nebenwirkungen und Komplikationen auf. Dazu zählen Störungen der Darmmotilität, Mukusproduktion des Blasenaugmentats, Perforationen, erneute Operationen und in 1-2% der Fälle invasives Tumorwachstum. [7, 9, 16, 17]

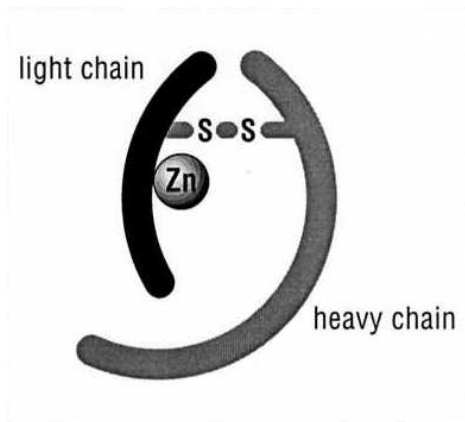
#### 2.6.4.3 Botulinumneurotoxin A

Botulinumneurotoxin A (BoNT/A) ist bei Kindern bislang nicht für die Therapie der neurogenen Blase zugelassen, ist aber anhand der vorliegenden Studienlage wirksam und wird dann eingesetzt, wenn die medikamentöse Therapie ausgereizt ist, die Nebenwirkungen den Nutzen übersteigen und/ oder chirurgische Maßnahmen hinausgezögert werden sollen oder müssen. Die Dosierung von Botox® bei Kindern liegt bei 12 IE/ kg KG bis max. 300 IE. [9, 18]

## 2.7 Botulinumneurotoxin

Das Botulinumneurotoxin – Molekül wird als eine Kette synthetisiert und später gespalten. Dadurch entsteht ein Molekül mit zwei Ketten, die über eine Disulfidbrücke miteinander verbunden sind. Die leichte Kette (1 – 448 Aminosäuren, Molekulargewicht 50 kD) ist eine Zink – Endopeptidase, deren proteolytische Aktivität auf das N – terminale Ende konzentriert ist. Die schwere Kette (449 – 1280 Aminosäuren, Molekulargewicht 100 kD) besitzt die cholinerge Spezifität und fördert die Translokation der leichten Kette durch die endosomale Membran. BoNT und

nichttoxische Proteine bilden Botulinumtoxin mit einem Molekulargewicht von 450 kD. [19], [20]



**Abbildung 4 Botulinumneurotoxin - Molekül [19]**

### 2.7.1 Historische Grundlagen

Botulinumneurotoxin (BoNT) ist ein Toxin, welches von dem gram-positiven anaeroben Bakterium *Clostridium botulinum* produziert wird. [21, 22] Es entsteht in sowohl hygienisch nicht einwandfrei hergestellter Konservennahrung als auch unter anaeroben Bedingungen in Wurst, Fleisch, Schinken und Fisch. [21] Es gibt sieben Serotypen dieses Toxins (BoNT A, B, C, D, E, F und G) [22]. Botulismusähnliche Symptome wurden schon in der Antike von Griechen und Ägyptern beschrieben. Und Herrscher Leo IV. (886 – 911 AD) hat die Blutwurst „blood sausage“ als Übeltäter verflucht. Ende 1700 entdeckt, waren es Justinus Kerner und Johann Heinrich Ferdinand Autenreith, die die Symptome der Nahrungsmittelvergiftung nach dem Verzehr von Wurst publizierten. In seiner 1822 veröffentlichten Monographie „Das Fettgift oder die Fettsäure und ihre Wirkung auf den thierischen Organismus, ein Beytrag zur Untersuchung des in verdorbenen Würsten giftig wirkenden Stoffes“ beschrieb Kerner bereits sehr detailliert die Symptome des Nahrungsmittelbotulismus. [23] 1897 gelang es van Ermengem, als erster das Toxin aus dem Stuhl erkrankter Personen zu isolieren und es für medizinische Zwecke zu nutzen. [24] 1940 war es Edward Schantz, der sich mit der detaillierten Toxinaufbereitung und der Serotypisierung beschäftigte. [25] Burgen hat es 1949 geschafft, nachzuweisen, dass die Wirkung von BoNT auf der Hemmung der präsynaptischen Acetylcholinfreisetzung beruht. Bis zu diesem Zeitpunkt war davon

ausgegangen worden, dass die Wirkung durch eine postsynaptische Nervenblockade bedingt ist. [26]

Botulinumtoxin ist in Relation zu seinem Molekulargewicht das stärkste bekannte Gift. Es kann taxiert werden, dass 1mg des Toxins 1000 – 10000 Menschen tötet. [21] Bereits die Studien von Hermann Sommer 1920 untersuchten die Abschätzung zum Gebrauch als biologische Waffe. [27]

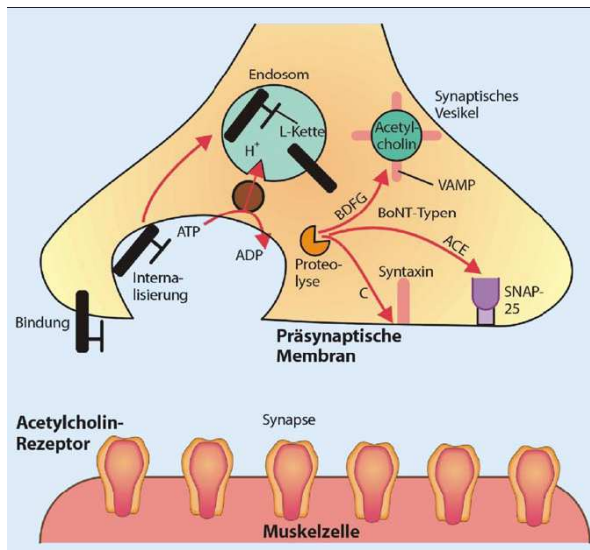
1990 wurde Botulinumneurotoxin A (BoNT/A) das erste Mal zur Therapie der Detrusor – Sphinkter – Dyssynergie bei erwachsenen Patienten nach Rückenmarksverletzung eingesetzt. [28] Stöhrer et al waren 1999 die ersten, die ihre Ergebnisse zur Therapie der neurogenen Blase bei Erwachsenen auf dem Treffen der International Continence Society (ICS) präsentierten. [5] Drei Jahre später, im Jahr 2002, waren es Schulte-Baukloh et al., die als erste ihre Ergebnisse von der Therapie mit BoNT/A bei Kindern mit neurogener Blase veröffentlichten. [18]

### **2.7.2 Wirkmechanismus**

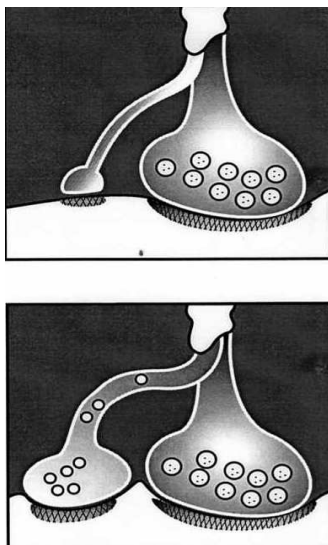
Wird eine therapeutische Botulinumtoxin-Präparation in ein Zielgewebe injiziert, so dissoziieren BoNT und nichttoxische Proteine. BoNT bindet mit der Bindungsdomäne der schweren Kette hochselektiv an Glykoproteine der Nervterminale und wird dann mit der Translokationsdomäne der schweren Kette nach intrazellulär transportiert (Internalisierung). [20] Durch die schwere Kette wird ein Kanal in der Endosomenmembran formiert, wodurch das Toxin in das Zytosol gelangt. Die schwere und leichte Kette trennen sich, und letztere, eine Endoprotease, wandert zur präsynaptischen Membran. Dort spaltet sie Aminosäurebindungen von Proteinen des Fusionskomplexes. Dieser Fusionskomplex, bestehend aus 3 Proteinen (VAMP: vesicle associated membrane protein, SNAP-25: synaptosomal-associated protein of 25kD, Syntaxin), regelt normalerweise die Verschmelzung der Acetylcholin (ACh) enthaltenden Vesikel mit der präsynaptischen Membran. BoNT/A spaltet proteolytisch das SNAP-25, BoNT/B das VAMP. Die Verschmelzung der Vesikel mit der Axonmembran unterbleibt, und es wird kein ACh in den synaptischen Spalt ausgeschüttet. Es resultiert eine Lähmung vom schlaffen Typ. [27] Wird eine Synapse durch Botulinumneurotoxin blockiert, so bildet das Neuron neue Synapsen aus, die die Funktion der blockierten Synapse übernehmen. Dieser Prozess wird als Sprouting bezeichnet. [20] Auch die Bildung von Antitoxin Antikörpern bei

wiederholten BoNT –Injektionen kann zu einer Toleranzentwicklung führen. Dies tritt bei 3 – 8 % der chronisch mit BoNT behandelten Patienten auf [21] und kann minimiert werden durch:

- 1) Gebrauch der kleinsten möglichen Dosis;
- 2) eine längst mögliche Pause zwischen zwei Eingriffen, mindestens allerdings 3 Monate;
- 3) Vermeidung von Booster – Injektionen. [19]



**Abbildung 5 Detaillierter Wirkungsmechanismus der verschiedenen BoNT - Serotypen in 3 Stufen: 1. Bindung, 2. Internalisierung, 3. Intrazelluläre toxische Wirkung (nach Naumann [27])**



**Abbildung 6 BoNT führt zu einer Denervierung an der neuromuskulären Endplatte. Axonale Aussprossung (Resprouting) wird für den Effekt verantwortlich gemacht, dass die klinische Wirkung nach 2 - 6 Monaten nachlässt. [19]**

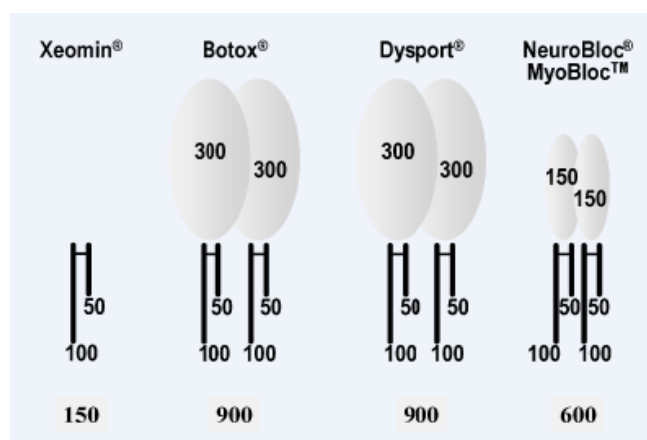


Neben der Wirkung der Paralyse und damit der Erschlaffung des Detrusormuskels hat die therapeutische Erfahrung mit dem Toxin eine zusätzliche Wirkung gezeigt. Erstaunlich war die Beobachtung, dass selbst Patienten dann von einer BoNT/A – Injektion profitierten, wenn diese sogenannte Non – Responder waren, also nicht auf anticholinerge Medikamente ansprachen. [29] Außerdem haben Patienten von einem sensorischen Benefit berichtet, obwohl sie anticholinerg austherapiert waren. [30, 31] Dies ließ die Schlussfolgerung zu, dass BoNT einen Einfluss auf weitere Wirkmechanismen haben muss. Seitdem haben sich verschiedene Forschungsgruppen mit diesem Thema beschäftigt. Die neuesten Erkenntnisse zeigen, dass BoNT neben den efferenten auch afferente Mechanismen hemmt, die für die Pathophysiologie des überaktiven Detrusors verantwortlich gemacht werden. Man nimmt an, dass der primäre periphere Effekt von BoNT darin besteht, nicht nur die Freisetzung von ACh zu hemmen, sondern auch von ATP und der Substanz P. Außerdem führt es zu einer Reduktion der Expression von Capsaicin – und purinergen Rezeptoren. [30] Beide Rezeptortypen spielen eine Rolle in der Schmerzwahrnehmung und – fortleitung.

### 2.7.3 Präparate

Von den sieben Serotypen sind die Serotypen A und B für medizinische Zwecke zugelassen.

Als gebräuchlichste Präparate werden in der Medizin Botox®, Dysport® und Xeomin® (Serotyp A) sowie auch Neurobloc® (Serotyp B) verwendet. [22]



**Abbildung 7 Zusammensetzung der Botulinum - Toxin - Komponente therapeutischer Botulinum - Toxin – Präparationen [20]**

Während die BoNT – Komponente von Xeomin lediglich aus einem BoNT – Monomer besteht, besitzen alle anderen Präparationen nichttoxische Proteine mit einem Molekulargewicht von 150 kD oder 300 kD und assoziieren sich zu Dimeren. [20]

#### **2.7.4 Indikationen**

Der Zulassungsstatus der einzelnen Botulinumtoxin – Präparate ist unterschiedlich. Auszug aus den Arzneimittelrichtlinien [32]:

##### **2.7.4.1 Botox® (Serotyp A)**

Laut der medizinischen Arzneimittelrichtlinien von 2004 ist Botox® für folgende Indikationen zugelassen:

- Blepharospasmus, hemifazialen Spasmus und koexistierende fokale Dystonien,
- Idiopathische rotatorische Dystonie (Torticollis spasmodicus),
- verschiedene fokale Spastizitäten und für
- starke, fortbestehende primäre Hyperhidrosis axillaris.
- Seit September 2011 ist es auch für die Harninkontinenz bei Erwachsenen mit neurogener Detrusorhyperaktivität infolge einer stabilen subzervikalen Rückenmarksverletzung oder Multipler Sklerose zugelassen.

Die Food and Drug Administration (FDA) genehmigt den Gebrauch von BoNT/A bei folgenden Indikationen: Blepharospasmus, zervikaler Dystonie, Hyperhidrosis und in der temporären Behandlung von Gesichtsfalten.

##### **2.7.4.2 Dysport® (Serotyp A)**

Dysport® ist für folgende Indikationenzugelassen:

- Zur Alternativbehandlung bei idiopathischem Blepharospasmus,
- Idiopathischen Torticollis spasmodicus mit Beginn in Erwachsenenalter,
- Armspastik mit Zustand nach zerebralem Insult.

##### **2.7.4.3 Xeomin® (Serotyp A)**

Xeomin® ist entsprechend der Roten Liste für folgende Indikationen zugelassen:

- Blepharospasmus,

- zervikaler Dystonie mit überwiegender rotatorischer Komponente (Torticollis spasmodicus),
- Spastik der oberen Extremitäten nach Schlaganfall mit Handgelenkbeugung und gefausteter Hand bei Erwachsenen.

#### 2.7.4.4 Neurobloc®/ Myobloc™ (Serotyp B)

Neurobloc® ist nur zur Behandlung von zervikalen Dystonien indiziert.

#### 2.7.4.5 Off label use

Neben den oben genannten Indikationen wird BoNT/A außerdem im off label bei weiteren Erkrankungen eingesetzt. Dazu zählen Migräne, myofasziale Schmerzen und andere Schmerzsyndrome, hemifaciale Spasmen, Dystonie, zerebrale Lähmungen, autonome Dysreflexie und bestimmte gastrointestinale Indikationen wie chronische Verstopfungen. [33]

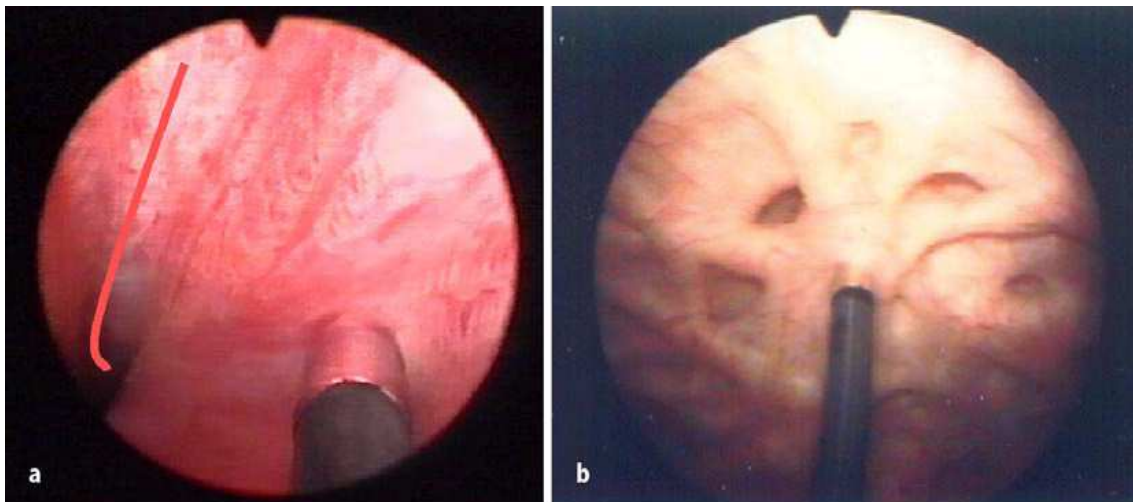
#### 2.7.4.6 BoNT/A – Dosierungen und Injektionstechniken bei urologischen Indikationen

Bereits seit 23 Jahren wird BoNT/A im neuoroulogischen Bereich bei verschiedenen Indikationen erfolgreich eingesetzt. Doch bestand bis zum September 2011 für keines der verfügbaren Präparate eine neuoroulogische Zulassung. Grund dafür war bisher eine unzureichende Studienlage mit wissenschaftlichen evidenced based medicine (EBM) – Standards. [21] Seit 2009 gibt es nun ein Paper des europäischen Konsens Komitees, nach dem der Gebrauch von BoNT/A bei Erwachsenen, die unter einer neurogenen Detrusorhyperaktivität (NDO) oder einer idiopathischen Detrusorhyperaktivität (IDO) leiden, mit einem Grad A – Level empfohlen wird. Die therapeutische Durchführung von BoNT/A – Detrusorinjektionen wird bei Kindern mit einem Grad B – Level empfohlen. [34] Das Zulassungsverfahren benötigt jedoch nun noch die entsprechenden Zulassungsstudien. Eine Zulassung von Botox® für wenige Indikationen bei Erwachsenen ist vor kurzem (s.o.) in Kraft getreten. Eine Erweiterung auf weitere Indikationen im neuoroulogischen Bereich sowohl für Erwachsene als auch für Kinder wird erwartet.

Die biologische Aktivität von Botulinumtoxin wird in mouse unit (MU) angegeben. MU bedeutet, dass eine Unit von BoNT 50 % (LD 50) eine Gruppe von swiss webster

Mäusen töten würde. Dabei ist zu beachten, dass eine Unit von Dysport® nicht die gleiche Aktivität wie eine Unit Botox® hat. Die meisten Studien die sich damit beschäftigten, haben ergeben, dass Botox® circa 3 – 5-mal so potent ist wie Dysport®. Die letale parenterale Dosis von BoNT/A ist bisher nicht bekannt, wird aber auf 3000 U (Botox®) geschätzt. Die maximale Dosis pro Eingriff liegt im Vergleich dazu bei 300 – 400 U Botox®. [19]

Die Injektion von BoNT erfolgt durch den Urologen meist transurethral unter Sicht. Ob dafür das starre oder das flexible Zystoskop geeigneter ist, hängt wohl vom Operateur ab. [34, 35] Die Neurologen wählen bei der Sphincter externus Injektion bei Männern vorwiegend den perinealen Zugang und bei Frauen den paraurethralen Zugang, stets EMG gesteuert. Die Detrusorinjektionen erfolgen an 20 – 40 Stellen, wobei das Trigonum ausgespart werden sollte, um einen iatrogenen VUR zu vermeiden. [34] Doch gibt es hierfür unterschiedliche Erfahrungsberichte. [21] Die Diffusionseigenschaft des BoNT/A spielt eine große Rolle. Denn man weiß, je größer das Injektionsvolumen ist, desto mehr nimmt die Diffusion zu. Außerdem nimmt die Wirkung des BoNT/A vom Injektionsort zur Peripherie hin ab. Als mechanische Barrieren können Muskelfaszien die Diffusion von BoNT/A reduzieren, was bei starker Trabekulierung der Blase bedacht werden sollte. [35, 36]



**Abbildung 8 transurethraler Zugang [21]**

**a) Sphinkterinjektion (rote Markierung zeigt die Verlaufsrichtung der Urethra)**

**b) Detrusorinjektion**

#### 2.7.4.7 Anwendungen in der Urologie

Die ersten Erfahrungen wurden 1988 mit Sphinkterinjektionen zur Behandlung von neurogener Detrusor – Sphinkter – Dyssynergie (DSD) gemacht. [36] Das heutige Indikationsspektrum ist ausgeweitet auf die Behandlung der neurogenen Detrusorhyperaktivität, nicht – neurogene funktionelle Blasenentleerungsstörungen und auf Schmerzsyndrome im kleinen Becken, wie sie bei Prostatitis und interstitieller Zystitis vorkommen. [21]

In der tabellarischen Auflistung ist der Injektionsort bei den urologischen Indikationen dargestellt, die derzeit mit BoNT – Injektionen behandelt werden:

**Tabelle 3 urologische Indikationen für BoNT - Therapie und deren Injektionsort [21, 37]**

Injektionen in den M. sphincter externus	Injektionen in den M. detrusor
Detrusor – Sphinkter – Dyssynergie (DSD)	Neurogene Detrusorhyperaktivität
Nicht - neurogene Sphinkterdysfunktionen	Nicht – neurogene Detrusorhyperaktivität
Detrusorunteraktivität	Dranginkontinenz
Blasenhalsobstruktion und – dyssynergie	Interstitielle Zystitis
Beckenbodenspastik	
Prostatitis	
BPH	

Die klinische Wirkung von BoNT –Injektionen ist hinlänglich bekannt und hat in der Therapie oben genannter Indikationen zunehmend an Bedeutung gewonnen. Gamé et al. haben in einem Review die Ergebnisse von sechs Studien ausgewertet, die sich mit der Therapie der neurogenen überaktiven Blase im Kindesalter befassen. Die Ergebnisse zeigen:

**Tabelle 4 Entwicklung urodynamischer Parameter und klinische Wirkung nach BoNT/A - Detrusorinjektion [5]**

- eine erhebliche Verbesserung der Kontinenz,
- eine Abnahme des maximalen Detrusordrucks und die gleichzeitige
- Zunahme der maximalen Blasenkapazität als auch
- eine verbesserte Blasencompliance und
- eine Zunahme des Blasenvolumens bis zur ersten Detrusorwelle.

Ein Review von Campbell et al. hat sich ebenfalls mit der Therapie der überaktiven Blase mit BoNT/A –Injektionen beschäftigt, allerdings bei Erwachsenen, und kommt zu ganz ähnlichen Ergebnissen. Er berichtet zusätzlich zu den bereits oben genannten urodynamischen Parametern auch von einer verringerten Miktionsfrequenz und einer gesteigerten bzw. wiedergewonnenen Lebensqualität. [38]

Die Arbeit von Gamé et al. hat außerdem ergeben, dass der durchschnittliche Wirkeintritt innerhalb von zwei Wochen war und dass der maximale Wirkeffekt nach vier bis sechs Wochen eingesetzt hat. Die Wirkdauer hat circa vier bis zehn Monate, durchschnittlich aber 6 Monate angehalten. [5]

#### **2.7.5 Besonderheit bei Kindern mit Meningomyelozele**

Die häufigste Grunderkrankung bei Kindern mit neurogener Blase ist eine Meningomyelozele. Auch in unserer Studiengruppe ist die überwiegende Zahl der Kinder an einer solchen erkrankt, weshalb hier auf eine Besonderheit hingewiesen werden soll.

Bereits am Ende der ersten Hälfte der Schwangerschaft besteht bei Kindern mit Meningomyelozele ein Defekt im unteren Urogenital – und Gastrointestinaltrakt. Die Innervationsdichte dieser Organe ist deutlich reduziert [39] und könnte eine Erklärung dafür sein, weshalb die durchschnittliche Wirkdauer von BoNT/A bei Kindern mit Meningomyelozele (s.o. 6 Monate [5]) gegenüber Erwachsenen mit traumatischer Querschnittslähmung (9 Monate [40]) deutlich reduziert ist.

#### **2.7.6 Nebenwirkungen**

Abhängig vom Anwendungsgebiet treten lokale unerwünschte Wirkungen auf. So kann es bei der Behandlung des Blepharospasmus zu Ptosis, trockenen Augen, Diplopie, zur Photophobie und Keratitis superficialis kommen. Bei der Therapie der zervikalen Dystonie können Nebenwirkungen wie Dysphagie und Schwäche bzw. Paresen von regionalen Muskelgruppen auftreten. Virusinfektionen, Ohrinfektionen, Myalgie, Muskelschwäche, Harninkontinenz, Somnolenz und Unwohlsein können bei der Therapie der infantilen Zerebralparese auftreten. Nach Behandlung der axillären Hyperhidrosis können Symptome wie kompensatorisches Schwitzen außerhalb der

Achselhöhle, Schmerzen und Hitzewallungen auftreten. Nach der Therapie von Spasmen der oberen Extremität wurden Nebenwirkungen wie Ekchymose, Purpura oder Blutungen an der Einstichstelle, Schmerzen im Arm, Muskelschwäche und Muskelhypertonus beobachtet. (Arzneimittelrichtlinien)

#### 2.7.6.1 Nebenwirkungen der urologischen Anwendung bei Kindern

In der Literatur wird von minimalen und temporären Nebenwirkungen gesprochen. [5] So beobachteten Stöhrer et al. bei < 2% ihrer Patienten allgemeine Müdigkeit, Schlappeheit, Schluck – und Sprechstörungen. [41]

Generell lässt sich aber sagen, dass relevante Nebenwirkungen bei der Therapie im urologischen Bereich selten sind. [21]

#### 2.7.7 Kontraindikationen

Zu den Kontraindikationen zählt die nachgewiesene Überempfindlichkeit gegenüber Botulinumtoxin oder einem anderen seiner Bestandteile, sowie während der Schwangerschaft und der Stillzeit. Außerdem ist die Therapie bei Erkrankungen wie Myasthenia gravis und dem Lambert – Eaton – Syndrom kontraindiziert. Weiterhin ist zu beachten, dass es bei der gleichzeitigen Einnahme von anderen Wirkstoffen, die die neuromuskuläre Übertragung blockieren, zu Wechselwirkungen kommen kann.

## 2.8 Rezeptoren

Folgende Rezeptortypen werden in unserer Studie analysiert und sollen deshalb im Folgenden kurz vorgestellt werden.

#### 2.8.1 Muskarinrezeptoren

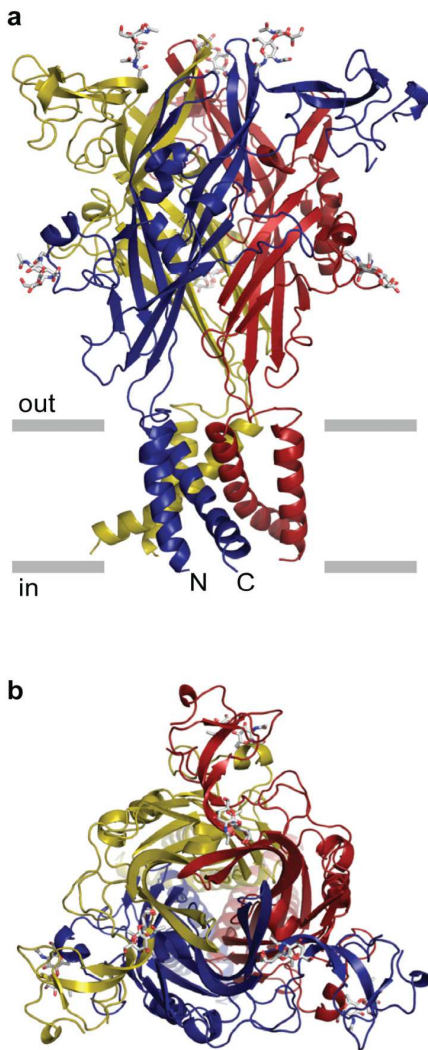
Muskarinrezeptoren wurden im Detrusor vesicae (M3 und M2), präjunktional an den Nervenendigungen (M1, M2, M4) und im Urothel auf mRNA-Ebene (M1–5) nachgewiesen. Beim Menschen überwiegen in der Blase die Muskarinrezeptoren vom M2- (80%) und vom M3- Subtyp (20%); die Kontraktion erfolgt hauptsächlich M3- gesteuert. Eine mögliche Rolle des M2- Rezeptors im Detrusor ist die Hemmung der durch die sympathischen Nerven ausgelösten Entspannung, wodurch die Kontraktion verstärkt und die Effizienz der Blasenentleerung gesteigert wird. Andere

Arbeiten zeigen, dass bei kranker Blase M2- Rezeptoren möglicherweise eine größere Rolle spielen. [42]

### **2.8.2 P2X – Purinerge Rezeptoren**

P2X – Rezeptoren sind Kationen – selektive Ionenkanäle, an die extrazelluläres ATP bindet. ATP ist als freier Energieträger im Energiemetabolismus, in der Biosynthese und in der intrazellulären Signaltransduktion bekannt, spielt aber auch eine Rolle als extrazellulärer Transmitter. Es gibt sieben verschiedene Serotypen P2X<sub>1-7</sub> und sie kommen sowohl in nieder als auch in hoch entwickelten Eukaryoten vor. Sie bestehen aus drei Untereinheiten, die sich auf einer spezifischen Untereinheit befinden. Es ist bekannt, dass ionotrope P2X– Rezeptoren überall im menschlichen Organismus vorkommen, so auch im Nerven– und Immunsystem. Präsynaptische Nervenzellen, die P2X– Rezeptoren im zentralen Nervensystem exprimieren, fördern die Freisetzung von Neurotransmittern wie Glutamat und GABA. Im peripheren Nervensystem nehmen afferente Neurone, auf denen P2X– Rezeptoren sitzen, verschiedene Stimuli wie Geschmack, Schmerz und Blasendehnung wahr. Weil den P2X– Rezeptoren eine so vielseitige Wirkung im Organismus zugeordnet wird, spielen sie auch eine immense Rolle in der Entstehung von vaskulären, neuronalen und immunologischen Krankheiten, aber auch in der Entstehung von Krebs. Sie stellen damit eine vielversprechende Zielstruktur in der Therapie dieser dar. Allerdings ist über die Struktur und die molekularen Vorgänge der Bindungen von Agonisten und Antagonisten noch nicht viel bekannt. Einzig die kristalline Struktur des P2X<sub>4</sub>– Rezeptors konnte 2009 von einer Arbeitsgruppe aus Oregon, USA, bislang ermittelt werden. [43] Hierzu die Abb.9:





**Abbildung 9 Bild der homomeren Struktur des P2X4- Rezeptors [43]**

**a) parallel zur Membran; b) Draufsicht von der extrazellulären Seite.**

**Jede Farbe kennzeichnet eine Untereinheit. Die dicken grauen Linien stellen die innere und die äußere Grenze der Membran dar.**

## 2.9 Zielsetzung der Studie

Seit über 20 Jahren wird BoNT zur Therapie bei urologischen Indikationen eingesetzt und noch immer ist die Wirkungsweise nicht endgültig geklärt und verstanden. Wie bereits unter 1.7.2. erläutert, ist allerdings mittlerweile bekannt, dass die Wirkung nicht nur mit der Paralyse des Detrusormuskels zu erklären ist, wie lange Zeit angenommen wurde. Denn es konnte gezeigt werden, dass BoNT neben der Blockierung der präsynaptischen Freisetzung von ACh auch die Freisetzung von weiteren Transmittern wie ATP und der Substanz P hemmt. Auch reduziert es die Expression neurogener Rezeptoren wie z.B. die Capsaicin sensitiven TRPV- und purinergen P2X- Rezeptoren. So konnten Cockayne et al. bereits 2000 bei P2X3 knock- out Mäusen nachweisen, dass der purinerge Rezeptor P2X3 auf afferenten Nervenzellen angereichert ist und eine Rolle bei der Hyperreflexie der Blase spielt. [44] Apostolidis et al. haben 2005 veröffentlicht, dass die suburotheliale Expression von TRPV1 und P2X3 nach BoNT/A – Injektion signifikant gesenkt wird und dass dieser Effekt mit einer Verbesserung der Drangsymptomatik korreliert. [45]

Bisher konzentrierten sich die Untersuchungen dieses Rezeptorprofils und seiner Veränderungen nach Botulinumneurotoxin - Injektionen fast ausschließlich auf neurogene Veränderungen an der neuromuskulären Endplatte. Deshalb beschäftigt sich diese Arbeit mit den Änderungen des Rezeptorprofils auf der muskulären Seite der neuromuskulären Endplatte. Soweit wir wissen, ist das hiermit die erste Arbeit, die neben den muskarinergen Rezeptoren CHRM2 und CHRM3 auch die purinergen Rezeptoren P2RX1, P2RX2 und P2RX3 auf der muskulären Seite an der neuromuskulären Endplatte analysiert. Zusätzlich korrelieren wir diese Ergebnisse mit den Ergebnissen der urodynamischen Messungen vor und nach BoNT/ A – Detrusorinjektion.

## 3 Material und Methoden

Wir führten eine offene Studie durch (open label study). Dies bedeutet, dass sowohl der Studienarzt und seine Mitarbeiter als auch der Patient wussten, welche Therapie sie erhielten und ob ein Medikament bzw. welches injiziert wurde. Verblindet war nur

die Kontrollinstanz der Rezeptoranalyse (PD Dr. J.Neuhaus, Urologisches Forschungslabor, Universität Leipzig).

### **3.1 Patientenkollektiv**

In die Studie eingeschlossen wurden 10 Kinder und Jugendliche (Mittelwert 14 Jahre, 3 Monate), die in dem Zeitraum von Anfang des Jahres 2009 bis Ende des Jahres 2010 aufgrund ihrer neurogenen Blasenfunktionsstörung in unserem Hause behandelt wurden. Trotz maximaler oder supramaximaler Anticholinergikabehandlung waren Detrusordrücke  $> 40 \text{ cm} - \text{H}_2\text{O}$  nachweisbar, weshalb eine Blasenaugmentation notwendig wurde. Als häufigste Grunderkrankung fand sich eine Meningomyelozele, bei einem Kind lag ein intraspinales Astrozytom vor und bei einem Kind lag ein traumatischer Querschnitt zu Grunde. Bei sieben der Patienten wurden vor der Blasenaugmentationsoperation zystoskopisch durchschnittlich 3,86 BoNT/ A - Detrusorinjektionen durchgeführt, mit einer Gesamtdosis von durchschnittlich 1143 Units. Sie stellten unsere Studiengruppe dar. Die anderen drei Kinder hatten nie eine solche Therapie erhalten und entsprachen unserer Kontrollgruppe. Vor den BoNT/A – Detrusorinjektionen und den Operationen erfolgte eine standardisierte Anamneseerhebung inklusive einer Evaluation des Inkontinenzgrades (entsprechend eines approximativen Inkontinenzscores 0 = komplett trocken; 1 = einmaliges Einnässen, meistens nachts; 2 = weniger als 50% bzw. 3 = mehr als 50% Inkontinenzepisoden zwischen den Katheterisierungen) und einer klinischen Einschlussuntersuchung, welche die Erhebung des neurologischen Status, ein Urinlabor und die Sonographie der Harnblase und der oberen Harnwege umfasste. Keines der Kinder hatte zuvor eine BoNT/A - Injektion zur Therapie einer Spastik des Bewegungsapparates erhalten. Die folgende Tabelle stellt die Heterogenität des Patientenkollektives mit allen erhobenen Parametern eindrücklich dar.

**Tabelle 5 Das Patientenkollektiv: eine Übersicht der Daten**

Patienten -nummer	Alter bei OP in Monaten	Sex (m/w)	Diagnose	Kontinenz 0= kontinent 1= 1xtägl. nass 2=<50%nass 3=>50%nass	HWI (Anzahl in den letzten 3 Mo)	Nieren - Sono Dilatation NBKS in ureterorenenalen Einheiten (URE)	Anticholinergika Präparat, Dosis, Einnahemodus	blasenwirksame Begleitmedikation	Botox® (j/n)	Anzahl Botox® – Inj.	Gesamt- dosis Botox® in U
I	81	m	MMC	1	0	1 URE ausgeprägt	Propiverin 1-0-1	Oxybutinin 10mg 1-1-0	J	1	200
II	144	m	MMC	1	0	0 URE	Propiverin 1-0-1	Oxybutinin 2,5mg 1-1-1	J	2	600
III	114	w	MMC	3	rezidivierend	2 URE ausgeprägt	Propiverin 1-0-1	Oxybutinin abgesetzt	N	0	0
IV	278	m	SCI	1	rezidivierend	2 URE ausgeprägt	Trospiumchlorid 30mg 1-1-1	Keine	J	8	2400
V	132,5	m	MMC	1	1-2	0 URE	Propiverin 1-0-1	Oxybutinin 2,5mg	J	2	600
VI	148,5	m	MMC	3	rezidivierend	0 URE	Propiverin	Oxybutinin 5mg 1-0-1	J	1	300
VII	119	w	MMC	1	1-2	0 URE	Tolterodin 1mg 1-0-1	Oxybutinin 2,5mg 1-1-1	N	0	0
VIII	160,5	m	Intrasp.T.	1	0	0 URE	Tolterodin 2mg 1-0-1	Keine	J	8	2400
IX	235	m	MMC	3	rezidivierend	1 URE dezent, 1 URE ausgeprägt	Tolterodin 6mg tägl.	Oxybutinin 5mg 1-0-1	N	0	0
X	300	w	MMC	3	0	0 URE	Propiverin 1-0-1	Oxybutinin 5mg	J	5	1500

### **3.2 BoNT/A – Detrusorinjektion**

Vor dem Eingriff wurde ein Harnwegsinfekt ausgeschlossen oder ggf. antibiotisch therapiert. Außerdem wurde eine Urodynamik (s.u.) durchgeführt.

Die BoNT/A –Detrusorinjektionen fanden bei den Kindern allesamt unter Vollnarkose statt. Hierzu wurden die Patienten in Steinschnittlage gelagert. Bei den Kindern wurde ein Kinderzystoskop 9,5 Charr. der Firma Wolf verwendet. Nach der Übersicht der Blase (um ausgeprägte Zystitiden und Harnblasensteine auszuschließen) wurde die Mehrfachinjektionsnadel bzw. die Einfachnadel über das Zystoskop in die Blase eingeführt. Als Präparat wurde bei allen Kindern Botox® (Firma Allergan, Kalifornien / USA) verwendet. Hierfür wurde das Medikament standardisiert auf 20 U/ml (bei sehr kleinen Blasen auf 10 – 15 U/ml) mit 0,9 %iger NaCl – Lösung verdünnt und „schachbrettartig“ injiziert, wobei das Trigonum nicht ausgespart wurde. Die Dosierung von Botox® erfolgte gewichtsadaptiert mit 12 U/kg Körpergewicht. Die Höchstdosis lag bei 300 U. Pro Patient wurden 20 – 40 Injektionen mit je 0,5 ml durchgeführt. Am Ende des Eingriffes wurde die Blase mit isotoner Kochsalzlösung gespült, um eventuelle Blutungen zu erkennen. Anschließend wurden alle Instrumente entfernt.

### **3.3 Urodynamik und urodynamischer Messplatz**

Im Rahmen dieser Studie wurde bei allen Patienten aus der Versuchsgruppe vor und nach der letztmaligen BoNT/ A – Detrusorinjektion, bei der Kontrollgruppe nur einmalig eine urodynamische Messung durchgeführt. Die Urodynamik unterliegt einem standardisiertem Ablauf [46] und dient der Messung der Druckverhältnisse in Blase und Darm sowohl während der Füllungs– und Speicher– als auch der Entleerungsphase und hilft bei der Differenzierung von Stress– und Reflexinkontinenz.

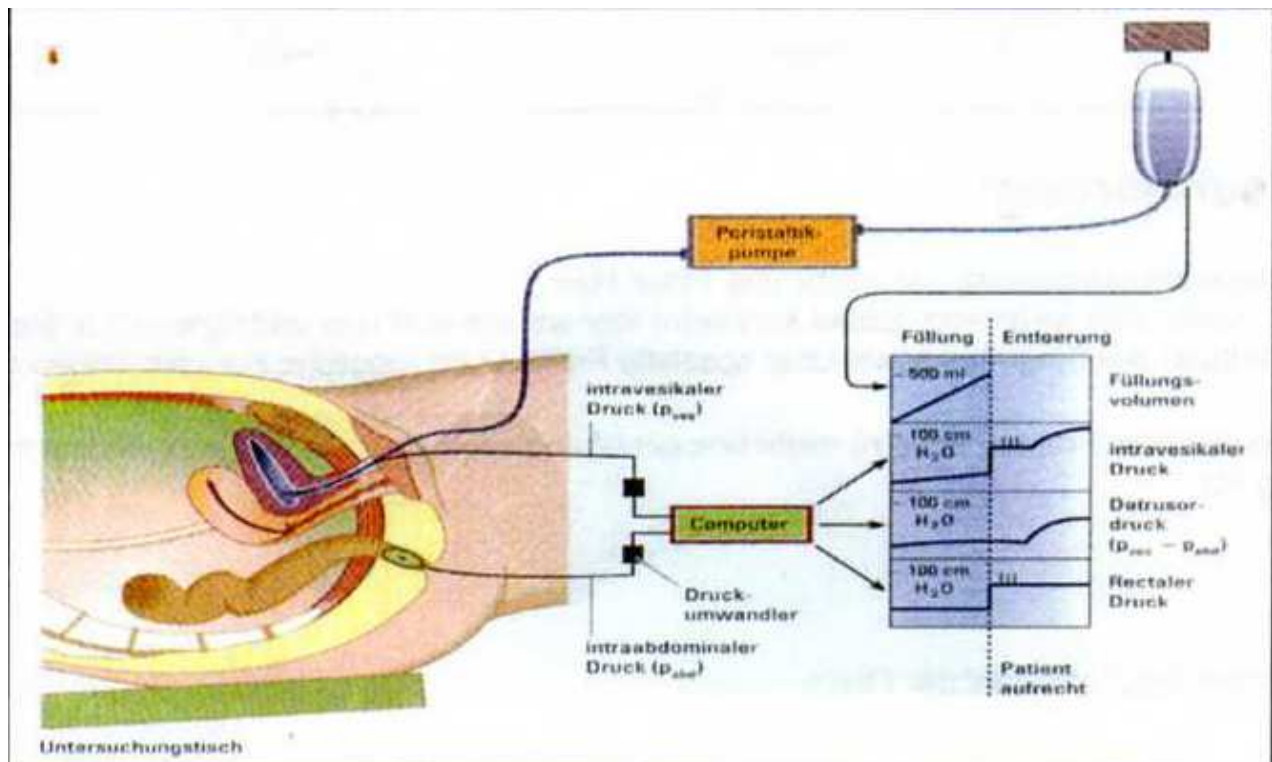


Abbildung 10 schematische Darstellung der Zystometrie

Beurteilt und dokumentiert wurden folgende Parameter:

- subjektives Empfinden / Sensorik,
- $V_{refl}$  in [(ml)] : Reflexvolumen = Füllungsvolumen bei erster Detrusorwelle
- $P_{detmax}$  [cmH<sub>2</sub>O] : Max. absoluter Detrusordruck im Füllungsverlauf
- Compliance [ml/cmH<sub>2</sub>O] : Blasendehnbarkeit
- $V_{max}$  in [(ml)] : Max. Blasenkapazität
- dLPP in [cmH<sub>2</sub>O] : Detrusor – Leakpoint – Pressure

Als Vorbereitung auf die Messung sollten die Patienten vorab abgeführt haben. Sollten die Kinder sehr unruhig und ängstlich sein, können sie mit einer gewichtsadaptierten rektalen Gabe von Midazolam prämediziert werden. Hierbei sollten die Vitalzeichen während der Untersuchung kontrolliert werden. Für die Messungen verwendeten wir folgende Geräte / Materialien:

- Urodynamikgerät „Libra“ der Firma Medical Measurement Systems (MMS), Niederlande;
- Messkatheter : 2 – Kanal Einmal – Messkatheter, 6 Charr. der Firma Porges, Frankreich;
- Rektalkatheter: Ballonkatheter, 10 Charr. der Firma Porges, Frankreich;

- EMG Klebeelektroden der Firma Kendall, Deutschland, zur perinealen Anbringung und Messung der muskulären Beckenbodenaktivität und
- 1000ml NaCl 0,9 % in der Plastikflasche aus dem Wärmeschrank.

Die Blase wurde mit einer Geschwindigkeit von 10ml/min gefüllt.

## **3.4 Urologisches Forschungslabor**

### **3.4.1 Präparataufbereitung**

Das zu untersuchende Muskelgewebe aus dem M. detrusor wurde während einer Harnblasenaugmentations – Operation gewonnen. Hierbei wurde jeweils der gesamte Blasendom reseziert (supratrigonale Harnblasenresektion), so dass außergewöhnlich viel transmurales Muskelgewebe für die anschließenden Untersuchungen zur Verfügung stand. Bereits im Operationssaal wurde das Präparat in Formalin fixiert und per Kurier in das urologische Forschungslabor nach Leipzig geschickt und gelagert, dadurch konnte ich die Untersuchungen dort vor Ort gesammelt durchführen. Das Material wurde zugeschnitten, sodass mehrere Präparate mit einer Größe von 1cm x 1cm entstanden. Die fixierten Gewebeproben wurden über eine aufsteigende Alkoholreihe (70%, 96%, abs. Alk. jeweils 2x) entwässert und anschließend in das Intermedium Xylol (2x) gebracht. Danach erfolgte das Durchtränken der Proben mit flüssigem Paraffin bei 58-60°C. Anschließend wurde jedes Präparat einzeln in ein Einbettträhmchen gelegt und mit dem Einbettautomaten (Firma Medin, Deutschland) in Paraffin eingelegt. Das Präparat war damit schneidbar, und wurde am Schlittenmikrotom (SM 2000R, Firma Leica) in 7 Mikrometer dicke Scheiben geschnitten und anschließend in das Wärmestreckbad (Firma GFL) mit 40°C destilliertem Wasser zur Entfaltung gebracht. Der Paraffinschnitt konnte im Folgenden mittels eines Objektträgers (Superfrost Plus, Firma Menzel/Gläser) aus dem Wasserbad entnommen werden.

### **3.4.2 HE – Färbung**

Um das Präparat anfärbbar zu machen, musste der jeweilige Paraffinschnitt zunächst entparaffiniert werden. Dafür wurde der Objektträger zwei Mal für jeweils 10 Min. in Xylol gegeben und dann einer absteigenden Alkoholreihe zugeführt (jeweils 10 Minuten in 2x absoluten ETOH, 1x 96% ETOH, 1x 70% ETOH, 1x Aqua dest.).

Anschließend wurde der Objektträger für die Kernfärbung nach Mayer für 5 Min. in Hämatoxylin gegeben, mit Leitungswasser für 10 Min. gewässert ("Bläuen") und schließlich für 4 Min. in alk. EOSIN (1%-ig) gegeben. Zuletzt wurde das Präparat wieder entwässert. Dafür durchlief es die aufsteigende Alkoholreihe. Der Objektträger wurde hierfür jeweils kurz in Aqua dest., 70% ETOH, 96% ETOH, 3x absolutes ETOH eingetaucht und kurz in Xylol gegeben. Der Schnitt konnte anschließend blasenfrei mit Mountex eingedeckt werden.

Die HE – Färbung ist eine Übersichtsfärbung. Unter dem Mikroskop (Diaplan, Firma Leitz) erscheinen die Zellkerne blau, Erythrozyten leuchtend rot und das Protoplasma rosa bis rotviolett.

### **3.4.3 Immunohistochemische Anfärbung**

Die immunohistochemische Anfärbung dient dem Erkennen sowohl von glatter Muskulatur als auch von den zu untersuchenden Rezeptoren. Beides gelingt durch Doppelmarkierung mittels Antikörpern. Zur Vorbereitung wurden die sechs Schnitte (für Kontrolle, M2R, M3R, P2X1, P2X2, P2X3) im Trockenschrank (Firma Memmert, Deutschland) bei 60°C für 30 Min. getrocknet, entparaffiniert (2xXylol und absteigende Alkoholreihe (s.o.)), im Dampfgerar (Firma BRAUN, Deutschland) bei 100°C mit Citratpuffer (0,01M, pH 6,0) demaskiert und bei Raumluft für 20 Min. abgekühlt. Außerdem durchliefen alle Schnitte einen Spülschritt mit PBS („Phosphat – gepufferte Kochsalzlösung“, pH 7,4) und einen weiteren Schritt zum Aufschluss der Zellen mittels DT-TBS („DT“ steht für DMSO-TritonX100 in TBS Puffer „Tris – gepufferte Kochsalzlösung“) für jeweils 10 Min. Im letzten Schritt wurden die Präparate für 20 Min. mit 1% BSA und 3% Milchpulver in DT-TBS geblockt. Die Schnitte waren nun für die Anfärbung mit dem jeweiligen primären Antikörper aufbereitet. Dies geschah bei 4°C über Nacht. Eine Übersicht der anzufärbenden Strukturen und deren Antikörper gibt die Tab.6.



**Tabelle 6 Übersicht der anzufärbenden Strukturen/Rezeptoren und den verwendeten primären Antikörpern mit jeweiliger Verdünnung, Zellenspezies, Herstellerfirma, Herstellerland.**

Rezeptor/Struktur	Antikörper	Verdünnung	Spezies	Firma	Land
glatte Muskelzelle	Monoklonales Anti – $\alpha$ Aktin	1:1000	Maus	Sigma	USA
M2	muskarinerg M2 Rezeptor Antikörper	1:1000	Kaninchen	R&D Ab	USA
M3	muskarinerg M3 Rezeptor Antikörper	1:1000	Hase	R&D Ab	USA
P2RX1	polyklonaler P2X1 Antikörper	1:1000	Hase	Abcam	UK
P2RX2	polyklonaler P2X2 Antikörper	1:1000	Hase	Abcam	UK
P2RX3	polyklonaler P2X3 Antikörper	1:1000	Hase	Abcam	UK

Nachdem die primären Antikörper über Nacht an die jeweiligen Strukturen binden konnten, wurden die Schnitte drei Mal für 10 Min. mit TBS gewaschen. Im nächsten Schritt wurde der sekundäre Antikörper auf die Schnitte gegeben. Bei Raumtemperatur konnte sich dieser nun an den primären Antikörper binden. Nach einer Stunde wurden die Schnitte erneut drei Mal für 10 Min. mit TBS gewaschen. Anschließend folgte die Kerngegenfärbung mit TO-PRO-3 (Verdünnung 1:750, invitrogen) für 25 Min. und eine erneute Waschung mit TBS und Aqua dest.. Zuletzt wurden die Schnitte in eine Confocal-Matrix® (Micro-Tech-Lab, Deutschland) eingedeckt.

**Tabelle 7 Übersicht der sekundären Antikörper und deren Verdünnung, Herstellungsspezies und Herstellungsland**

Rezeptor/Struktur	Antikörper	Verdünnung	Spezies	Land
Maus Antikörper ( $\alpha$ – Aktin)	Alexa 488Ms, invitrogen	1:500	Maus	Deutschland
Hase – Antikörper (Rezeptoren)	Alexa 555Rb, invitrogen	1:500	Hase	Deutschland

#### 3.4.4 Rezeptoranalyse

Die mittels Antikörper gefärbten Schnitte wurden mit einem konfokalen Lasermikroskop (LSM 5 Pascal, Zeiss, Jena, Deutschland) analysiert. Das Prinzip beruht darauf, dass das Laserlicht die Fluoreszenz – Farbstoffe anregt und hierdurch ein zweidimensionales digitales Bild entsteht. Die Fluoreszenzdichte wird sowohl digital ermittelt als auch verarbeitet. Jeder Rezeptortyp wurde hierbei gesondert untersucht, um eine eventuelle Überlagerung der Fluoreszenzen zu vermeiden. Zur Identifikation der glatten Muskelzellen wurden die polyklonalen Rezeptorspezifischen Antikörper mit einem monoklonalen Antikörper gegen glattmuskuläres alpha-Aktin (alpha-smooth muscle cell actin, aSMCA) in einer Doppel-Immunofluoreszenz kombiniert. Die Visualisierung der gebundenen primären Antikörper erfolgte mittels Alexa-Fluorochrom-gekoppelter sekundärer Antikörper. Alpha-SMCA wurde mit Alexa-488 dargestellt (Argon Laser, Exzitation: 488nm; Emissionsfilter: Band pass 505-530nm), während die Rezeptoren mit Alexa-555 markiert wurden (Helium – Neon Laser, Exzitation bei 543nm; Emissionsfilter: Band pass 555-575nm).

Pro Präparat und Rezeptortyp wurden jeweils 35 aSMCA-positive Regionen (ROIs „regions of interest“) mit einem Achroplan 63x Öl n.A. 1,4 gescannt. Die Streuung der Pixelintensität wurde für jede der 35 ROIs errechnet. Davon wurde die durchschnittliche Streuung der Pixelintensität der Kontrolle (aSMCA allein) abgezogen. Durch Teilung mit der Pixelanzahl pro Region wurde schließlich die

mittlere Pixel – Fluoreszenz – Intensität ermittelt. Die Ergebnisse werden als Durchschnitt der 35 ROIs pro Rezeptorsubtyp dargestellt. Für die Bildanalyse wurden selbstprogrammierte imageJ-Makros (Rasband WS ImageJ. U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 1997-2006) genutzt und die mittlere Fluoreszenzintensität wurde mit OpenOffice.org 3.2.1 (Oracle, USA) berechnet. Die statistische Analyse erfolgte durch Prism 5 (GraphPad Software, La Jolla, USA). Ein p-Wert < 0,05 gilt als signifikant.

## 3.5 Statistische Methoden

### 3.5.1 Wilcoxon – Paardifferenzentest

Der Wilcoxon – Paardifferenzentest prüft, ob die Differenzen paarig angeordneter Beobachtungen symmetrisch mit dem Median gleich Null verteilt sind. Wird die Nullhypothese  $H_0$  abgelehnt, so ist entweder die Grundgesamtheit nicht symmetrisch in bezug auf den Median, d.h. der Median der Differenzen ist ungleich Null, oder die beiden Stichproben liegen unterschiedlichen Verteilungen zugrunde. Von Paaren mit gleichen Einzelwerten abgesehen, bildet man für die restlichen  $n$  Wertepaare die Differenzen

$$d_i = x_{i1} - x_{i2}$$

und bringt die absoluten Beträge  $|d_i|$  in eine ansteigende Rangordnung mit den Rangzahlen 1 bis  $n$ . Bei gleich großen Beträgen werden mittlere Rangzahlen zugeordnet. Die Rangzahlen der positiven Differenzen werden zu  $R_p$  und die der negativen Differenzen zu  $R_n$  addiert. Als Testgröße wird die kleinere der beiden Rangsummen benutzt. Die Nullhypothese wird verworfen, wenn der berechnete  $R$  – Wert kleiner oder gleich dem kritischen Wert  $R$  (abhängig von  $n$  und dem Signifikanzniveau  $\alpha$ ) ist. [47]

### 3.5.2 Mann – Whitney – U – Test

Der Mann – Whitney – U Test, oder gebräuchlich auch als „U – Test“ bezeichnet, wurde von Wilcoxon (1945) sowie von Mann und Whitney (1947) entwickelt. Es ist ein Rangsummentest für den Vergleich zweier unabhängiger Stichproben bei nicht normal verteilten Grundgesamtheiten. Die Nullhypothese geht davon aus, dass die Verteilung dieser beiden Grundgesamtheiten gleich ist. Es liegen zwei Stichproben

vor, die Stichprobe A mit  $n_1$  Werten und die Stichprobe B mit  $n_2$  Werten. Es wird jeder Wert der Stichprobe A mit jedem Wert der Stichprobe B verglichen. Dies ergibt  $n_1 \cdot n_2$  Vergleiche, wobei  $n_1$  und  $n_2$  nicht gleich groß sein müssen. Der Test kann sowohl für einseitige als auch für zweiseitige Fragestellungen genutzt werden. Der einseitige Test prüft, ob  $A > B$ , bzw.  $A < B$  ist. Der zweiseitige Test prüft, ob  $A = B$  ist. Der U – Test geht davon aus, dass die  $n = n_1 + n_2$  Beobachtungen der Größe nach angeordnet und durchnummeriert werden, und zwar von 1 bis  $n$ . Diese entsprechen ihren Rangnummern. Danach werden die Rangnummern, für die Stichproben A und B getrennt, addiert. Die daraus entstehenden Rangsummen werden als  $R_1$  und  $R_2$  bezeichnet. Nun wird die Prüfgröße  $U$  berechnet. Hierfür gilt folgende Rechnung:

$$U_1 = n_1 * n_2 + \frac{n_1 (n_1 + 1)}{2} - R_1 \quad U_2 = n_1 * n_2 + \frac{n_2 (n_2 + 1)}{2} - R_2 \quad [47]$$

Es lässt sich nachweisen, dass  $U_1 + U_2 = n_1 * n_2$  ist. Die gesuchte Prüfgröße ist die kleinere der beiden Größen  $U_1$  und  $U_2$ . Die Nullhypothese wird verworfen, wenn der berechnete  $U$  – Wert kleiner oder gleich dem kritischen  $U$  – Wert ist. Der kritische  $U$  – Wert ist dabei abhängig von  $n_1$ ,  $n_2$  und dem Signifikanzniveau  $\alpha$ .

Wird die Nullhypothese verworfen, bedeutet dies, dass der Test signifikant ist, also sich die Mediane der zu untersuchenden Stichproben unterscheiden. [47]

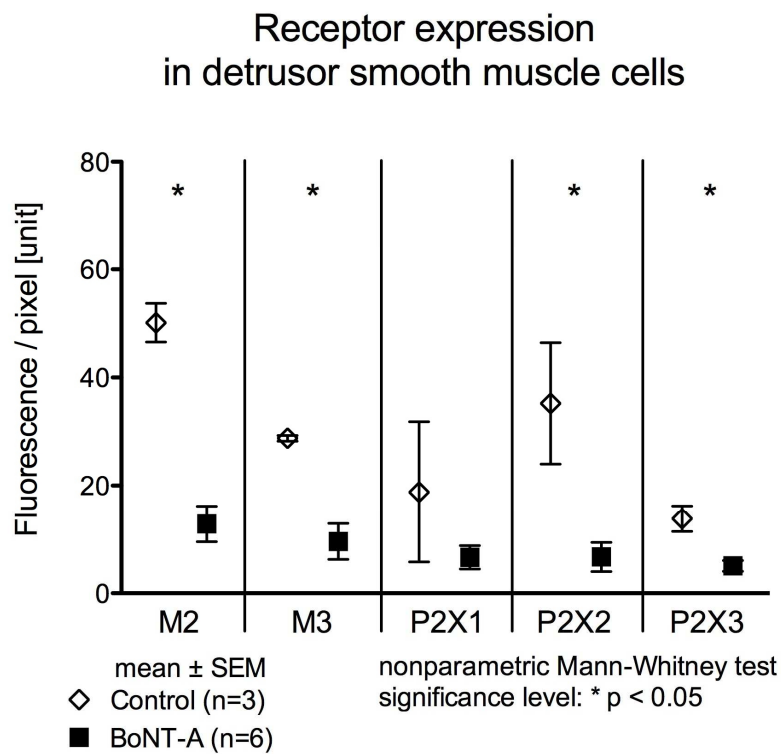
## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse der Rezeptorexpression

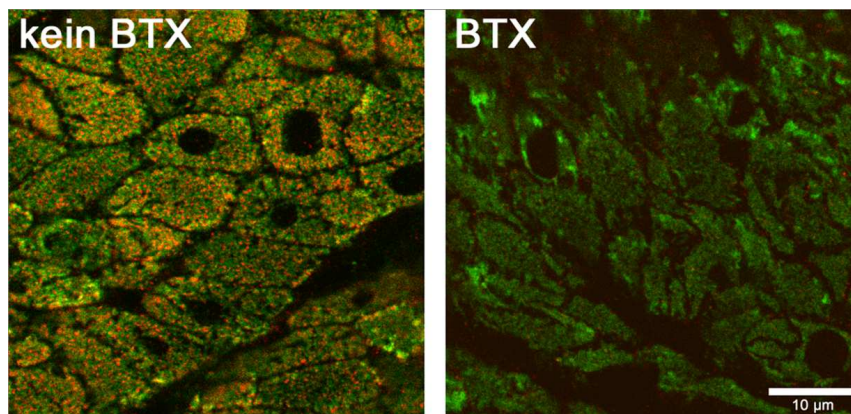
Die Rezeptoranalyse zeigte in der Studiengruppe eine geringere Expression aller untersuchten Rezeptoren nach BoNT/A – Detrusorinjektion gegenüber der Kontrollgruppe. Neben den muskarinergen Rezeptoren M2 und M3 erreichten auch die Rezeptoranalysen von P2X2 und P2X3 das Signifikanzniveau von  $p < 0,05$ . Allein bei der Analyse des Rezeptors P2RX1 konnte keine signifikante Reduzierung der Rezeptorexpression ermittelt werden, doch kam es auch hier zu einer deutlichen Reduzierung, wie aus der Abbildung 11 zu entnehmen ist. In dieser Abbildung wird der Median der Fluoreszenzintensität pro Pixel in [Unit] und die Standardabweichung für die fünf untersuchten Rezeptoren dargestellt und die der Kontrollgruppe (ohne

BoNT/A – Detrusorinjektion) mit denen der Studiengruppe (mit BoNT/A – Detrusorinjektion) verglichen.

Die Rezeptoranalyse konnte nur bei neun Präparaten stattfinden, weil das eine Präparat aus der Studiengruppe beim Transport in das Forschungslabor verunglückte und für jede weitere Untersuchung unbrauchbar war.



**Abbildung 11 Ergebnisse der Rezeptoranalyse: Kontrolle - vs. Studiengruppe, die Rezeptoranalyse konnte nur an 9 von 10 Detrusorpräparaten durchgeführt werden, weil ein Präparat beim Transport verunglückte und unbrauchbar war.**



**Abbildung 12 Darstellung der Rezeptordichte mittels konfokalem Lasermikroskop (LSM 5 Pascal); im Vergleich die Fluoreszenzintensität mit und ohne BoNT/A- Detrusorinjektion**

## 4.2 Ergebnisse der Urodynamiken

Die Ergebnisse der Urodynamiken vor und nach BoNT/A – Detrusorinjektion werden in Tab. 8 dargestellt und zeigen:

- einen Anstieg des Reflexvolumens von 181ml (Mittelwert) → 294,4ml (Mittelwert),  $p < 0,05$ ;
- eine Reduzierung des maximalen Detrusordrucks von 61,9cmH<sub>2</sub>O (Mittelwert) → 46,14cmH<sub>2</sub>O (Mittelwert)  $p < 0,05$ ;
- eine Erhöhung der Compliance von 7,25ml/cmH<sub>2</sub>O (Mittelwert) → 8,62ml/cmH<sub>2</sub>O (Mittelwert),  $p > 0,05$  und
- eine Vergrößerung der max. Blasenkapazität von 274,9ml (Mittelwert) → 328,86ml (Mittelwert),  $p > 0,05$ .

Diese Werte zeigen eine Verbesserung der urodynamischen Situation nach Botox® – Injektion und korrelieren damit durchaus mit den Ergebnissen der Rezeptoranalyse. Eine Signifikanz erhielten wir bei  $V_{refl}$  und  $P_{detmax}$ , während v.a. die Compliance sich nur gering erhöht. Eine Angleichung der Werte nach Botox® – Injektion an die Normalwerte in der Altersgruppe stellten wir nicht fest. Diese liegen für die max. Blasenkapazität bei ca. 500ml, der max. Detrusordruck liegt unter 15 cm – H<sub>2</sub>O und die Compliance liegt zwischen 20 – 60 ml/cm – H<sub>2</sub>O. Die urodynamischen Ergebnisse verblieben trotz Besserung nach der BoNT/A– Injektion auf einem nicht akzeptablen Niveau, woraus sich die Indikation zur Harnblasenaugmentation ergab.

Bei keinem der Kinder traten Nebenwirkungen auf oder verschlimmerte sich die Situation hinsichtlich des subjektiven Empfindens.

**Tabelle 8 Ergebnisse der Urodynamiken vor und nach BoNT/A - Detrusorinjektion im Vergleich**

Patienten- nummer	V <sub>refl</sub> in ml	P <sub>detmax</sub> in cm-H <sub>2</sub> O	Compliance in ml/cm-H <sub>2</sub> O	V <sub>max</sub> in ml	detLPP in cmH <sub>2</sub> O	V <sub>refl</sub> in ml	P <sub>detmax</sub> in cm-H <sub>2</sub> O	Compliance in ml/cm-H <sub>2</sub> O	V <sub>max</sub> in ml	detLPP in cm-H <sub>2</sub> O
I	15	49	4	150	-	(149)	42	3,4	149	-
II	(158)	50	3,3	158	46	(280)	60	4,6	280	-
III	(316)	20	19,8	316	19	-	-	-	-	-
IV	160	47	17,2	259	-	290	38	18,8	350	-
V	155	98	4	349	-	(376)	67	10	376	-
VI	(406)	82	9	406	-	(389)	58	7,2	389	52
VII	(228)	60	4,6	228	-	-	-	-	-	-
VIII	182	54	6	397	-	129	39	7,7	310	-
IX	(208)	43	4,9	208	-	-	-	-	-	-
X	191	53	n.v.	205	50	(448)	19	37	448	-

## 5 Diskussion

### 5.1 Diskussion des Patientenkollektives

Das Patientenkollektiv betrachtend (Vgl. Tabelle 5), ist die Probandenanzahl ( $n=10$ ) recht klein und in dieser kleinen Gruppe liegt eine große Heterogenität vor. Dies gilt es im Folgenden näher zu betrachten und mit der Literatur zu vergleichen.

#### 5.1.1 Anzahl der Patienten

Die Anzahl der in die Studie eingeschlossenen Patienten ist mit  $n=10$  klein, was durch die relativ seltene Indikation zu diesem weitreichenden operativen Eingriff begründet ist. Allerdings bietet kein anderer Eingriff die Möglichkeit, derart viel und repräsentatives Untersuchungsgewebe zu gewinnen, worin die Stärke dieser Studie im Vergleich zu anderen Publikationen liegt. Die kleine Anzahl wird der Grund sein, weshalb wir bei den urodynamischen Messungen nur bei  $P_{detmax}$  und  $V_{refl}$  signifikante Veränderungen messen konnten. Mit Ausnahme der Ergebnisse für die Compliance sind klare Tendenzen hinsichtlich einer Verbesserung der anderen urodynamischen Parameter zu verzeichnen. Die Studienlage zur Therapie von BoNT/A bei Kindern und Jugendlichen mit neurogener Blasenfunktionsstörung zeigt meistens ähnlich kleine Studiengruppen auf. In einem Review vergleichen Gamé et al. 2009 die Ergebnisse von fünf Arbeitsgruppen miteinander. Die Studiengröße lag hier zwischen 10 – 26 Probanden. Bei vier dieser Arbeiten (Studiengröße 15 – 26 Probanden) konnten signifikante urodynamische Ergebnisse ermittelt werden. [5, 18, 48-52] Zu gleichen Ergebnissen kommt die Europäische Konsensus Gruppe um Apostolidis et al., die 2009 ein Paper veröffentlichten, in dem acht Studien bei Kindern, die mit BoNT/A behandelt wurden, verglichen wurden. Die durchschnittliche Studiengröße lag bei 19 Patienten. Und die Ergebnisse aller dort aufgeführten Arbeitsgruppen entsprachen denen eines Level of Evidence (LoE) von 3. [34] Dies scheint die Vermutung zu bestätigen, dass mit zunehmender Studiengröße die Signifikanzen größer werden, und legt die Schlussfolgerung nahe, dass Multizenterstudien mit



stärkerer Studiengröße weiteren Aufschluss über die urodynamische Wirkung geben könnten.

### **5.1.2 Geschlechterverteilung**

In die Studie eingeschlossen wurden insgesamt 3 Mädchen und 7 Jungen. In der Kontrollgruppe befanden sich 2 Mädchen und 1 Junge, in der Studiengruppe waren es 1 Mädchen und 6 Jungen. Dies zeigt eine ungleiche Geschlechterverteilung auf. Eine geschlechtsunspezifische Effektivität von Botox® hinsichtlich der urodynamischen Ergebnisse als auch hinsichtlich der Rezeptoranalyse kann somit anhand unserer Studie nicht belegt werden. Die Literatur ist diesbezüglich wenig aussagekräftig, nur eine jüngst veröffentlichte Studie zeigt eine eventuell bessere Wirksamkeit von Botox® bei Mädchen. [53] Mit der Zulassung von Botox® wäre die genauere Analyse des Einflusses des Geschlechts in größer angelegten prospektiven Studien zu empfehlen.

### **5.1.3 Altersverteilung**

Das mittlere Alter unseres Patientenkollektivs liegt bei 14,3 Jahren. Das mittlere Alter vorangegangener Studien, die sich mit der urodynamischen Wirkung von BoNT/A bei Kindern beschäftigten, lag das mittlere Alter zwischen 5,8 Jahren und 12,2 Jahren. [5] Die höheren Durchschnittswerte in unserer Studie sind damit zu erklären, dass in der Regel versucht wird, eine derart eingreifende OP möglichst lange hinauszuzögern, sodass diese häufig erst im spät jugendlichen Alter durchgeführt wird. Ob und inwiefern das Alter einen Einfluss auf das Outcome von BoNT/A – Detrusorinjektionen hat, ist bislang nicht in der Literatur diskutiert worden. Allerdings zeigt die Datenlage geringere Erfahrungswerte bei der Untersuchung von Kindern, die jünger als drei Jahre alt sind. Deshalb empfiehlt die europäische Konsensus Gruppe um Apostolidis et al. auch erst eine Therapie mit Botox® bei neurogener Blase ab dem 3. Lebensjahr (Grad C). [34]

Sowie es in der Neurourologie keine näheren Betrachtungen gegeben hat, gibt es in der Kinderneurologie bislang ebenfalls wenig Daten, und wenn, dann mit gegensätzlichem Ergebnis. So untersuchte eine spanische Arbeitsgruppe den Einfluss des Alters bei 117 Kindern, die mit Botox aufgrund eines spastischen Spitzfußes behandelt wurden. Die Kinder waren zwischen 6,59 Jahren und 8,45

Jahren alt. Sie fanden heraus, dass das Patientenalter umgekehrt proportional mit einer Verbesserung der Symptomatik signifikant korrelierte, was bedeutet, dass je jünger die Kinder waren, desto besser war das Outcome. [54] Eine niederländische Arbeitsgruppe untersuchte, ob u.a. das Alter einen Vorhersagewert für das Outcome einer Therapie mit Botox bei Kindern mit erhöhter Speichelproduktion hat. Insgesamt 128 Kindern mit der Grunderkrankung einer Epilepsie und einem mittleren Alter von 10 Jahren und 10 Monaten wurde Botox in die Gl. submandibularis injiziert. Das Ergebnis hinsichtlich des mentalen Alters ergab keinen Einfluss auf das Outcome. [55] Dies bezeugt, dass auch in der Kinderneurologie keine aussagekräftige Datenlage vorhanden ist, welche einen Hinweis hinsichtlich des Outcomes in der Neurourologie geben könnte.

Wie bei der Frage des Einflusses des Geschlechts ist auch eine genauere Auseinandersetzung mit dem Alter als prädiktivem Parameter bei der Therapie der neurogenen Blase mit BoNT/A – Detrusorinjektion sinnvoll und empfehlenswert.

## **5.2 Diskussion der Methoden**

### **5.2.1 Diskussion von Injektionsanzahl und Injektionseinheiten**

Die Menge an injiziertem Botox® wurde Körpergewicht – adaptiert berechnet. So wurden standardisiert 12 Units pro Kilogramm Körpergewicht (KgKG) injiziert, maximal aber 300 U. Die Kinder in der Studiengruppe haben 300 Units Botox® injiziert bekommen, nur ein Proband bekam die Menge von 200 Units injiziert. Dies entspricht der Menge an Botox®, die in vorangegangenen Studien bei Kindern mit einer neurogenen Blasenfunktionsstörung verwendet wurde. In einem Review wurden in den meisten von Gamé et al. betrachteten Studien zwischen 10 – 15 U/KgKG injiziert, mit einem Maximum von 360 Units. [5, 18, 48-52] Die europäische Konsensus Gruppe um Apostolidis et al empfiehlt die Dosierung zwischen 5 – 10 U/kgKG mit einer Maximaldosis von 300U (Grad B). [34] Damit liegt die Dosierung in unserer Studie oberhalb dieser Empfehlungen, die max. Dosierung von 300U ist wiederum gleich. Diese wurde in unserer Studie bei sechs von sieben Probanden verwendet.

Die Anzahl an Injektionseinheiten in unserer Studie lag zwischen 20 und 40 Injektionen mit je 0,5ml bei einer Verdünnung auf 20 U/ml. Dies entspricht wiederum

den Angaben in der Literatur. So empfiehlt die europäische Konsensus Gruppe bei der Therapie einer neurogenen Blase die Injektion von 10 U Botox® pro Injektionseinheit und damit eine Injektionsanzahl von 30 bei einer Gesamtdosis von 300 U (Empfehlungsgrad B). [34]

### **5.2.2 Diskussion von Injektionsort**

Die Botox® - Injektionen erfolgten „schachbrettartig“ mit dem Ziel einer möglichst gleichen Verteilung in der gesamten Harnblase ohne Aussparung des Trigonums. Dies stellt eine Abweichung zu den Empfehlungen der europäischen Konsensusgruppe dar, die die Aussparung des Trigonums empfiehlt (Grad C). [34] Grund hierfür ist die Angst vor einem erhöhten Risiko für einen iatrogenen VUR, da das Trigonum für den aktiven anti – Refluxmechanismus mitverantwortlich ist, doch konnten Karsenty et al. einen Reflux trotz Mitinjektion in das Trigonum nicht nachweisen.[56] Ein vesikoureteraler Reflux infolge Mitinjektion des Trigonums trat auch bei keinem der Studienteilnehmer in unserer Studie auf.

### **5.2.3 Diskussion der Injektionsintervalle und der Intervalle zwischen Injektion und Zystometrie bzw. zwischen letzter Injektion und Blasenaugmentation**

Die Häufigkeit der Botox® – Injektionen bei den Kindern in der Studiengruppe ist sehr unterschiedlich. Bis auf zwei Kinder wurde bei allen zweimal oder öfter Botox injiziert. Zwei von ihnen wurden sogar in acht Eingriffen mit je 300 Units, also insgesamt 2400 Units therapiert.

Von den physiologischen Eigenschaften des BoNT/A wissen wir, dass es nach 4 Tagen [34] bis 2 Wochen [5] seine Wirkung entfaltet und durchschnittlich 8 Monate [34], teilweise auch länger [21, 57] anhält. Außerdem ist bekannt, dass es zur Bildung von Antikörpern kommen kann, was die Wirkung von BoNT/A abschwächen lässt. Im Sinne einer Fehleranalyse prüfte ich mit folgenden Fragen, ob physiologisches Vorwissen beachtet wurde und ob unsere Intervalle mit denen in der Literatur vergleichbar sind:

1. Inwiefern wurde der Abstand zwischen Injektion und Urodynamik in unserer Studie beachtet, um eine bestmögliche urodynamische Wirkung beobachten zu können?
  - Der Wirkungseintritt und die durchschnittliche Wirkdauer sind (o.g.) bekannt. Um eine Kontrollurodynamik durchzuführen, die aussagekräftig ist, sollte sie

demzufolge zwischen 2 Wochen und 8 Monaten nach BoNT/A – Detrusorinjektion durchgeführt werden. In unserer Studie betrug das durchschnittliche Zeitintervall 6,7 Wochen bzw. ca. 1,5 Monate. Die urodynamischen Werte sind deshalb als verwertbar zu bewerten.

2. Welche Rolle spielen wiederholte Botox – Injektionen für das urodynamische Outcome?

- In der Literatur lässt sich eine eindeutige Wirkung wiederholter BoNT/A – Detrusorinjektionen nachweisen. [5, 34] Allerdings gilt es zu beachten, dass es in 3 – 8 % der chronisch mit BoNT/A behandelten Patienten zu einer Antikörperbildung kommen kann, wodurch die Wirkung abgeschwächt wird, bzw. BoNT/A keine Wirkung mehr zeigt. [21] Dies tritt v.a. bei zu frühen Reinjektionen auf, sodass eine wiederholte Injektion erst nach > 3 Monaten empfohlen wird. [5, 21] In der von uns durchgeführten Studie lag die durchschnittliche Intervalldauer zwischen zwei BoNT/A – Detrusorinjektionen bei 9,5 Monaten und ist damit in der Literatur vergleichbaren Studien bei Kindern ähnlich (Intervalldauer lag hier zwischen 6,3 und 9,6 Monaten) [5] und liegt über der empfohlenen Wartezeit. Die von uns ermittelten urodynamischen Parameter sind demzufolge auch in dieser Hinsicht als verwertbar und realistisch zu bewerten.

3. Welchen Einfluss hat das zeitliche Intervall zwischen letzter Botox – Injektion und Rezeptoranalyse auf die Aussagekraft der Rezeptoranalyse?

- Ausgehend von der vorangegangenen Feststellung, dass die Wirkdauer sowohl bei einmaliger als auch mehrmaliger BoNT/A – Detrusorinjektion zwischen zwei Wochen und acht Monaten anhält und der Feststellung einer Korrelation von urodynamischen Ergebnissen und Rezeptorprofil (wie in der vorliegenden Arbeit eindrücklich gezeigt) sollte auch die Rezeptoranalyse in diesem Zeitintervall durchgeführt werden, um einen möglichst aussagekräftigen Wert zu erhalten. Das durchschnittliche Intervall lag bei den 10 Kindern aus unserer Studie bei 11,3 Wochen bzw. ca. 2,75 Monaten. Die Rezeptoranalyse in unserer Studie ist somit als aussagekräftig zu bewerten.

4. Inwiefern ändern wiederholte Botox® – Injektionen das Rezeptorprofil?

- Es konnte nachgewiesen werden, dass wiederholte BoNT/A – Detrusorinjektionen eine urodynamische Wirkung haben und dass das

Rezeptorprofil mit dieser Wirkung korreliert. Davon ausgehend, könnte angenommen werden, dass es auch nach mehrmaliger Botox® - Injektion zu einer entsprechenden Veränderung des Rezeptorprofils kommt. Doch spielen auch andere Mechanismen hier eine Rolle, sodass es abschließend nicht zu einer vollständigen Beantwortung dieser Frage kommen kann.

### **5.3 Diskussion und Beurteilung der Ergebnisse der Rezeptoranalyse**

Die Ergebnisse dieser Studie legen den Schluss nahe, dass mit großer Wahrscheinlichkeit die purinergen Rezeptoren in einem hohen Maße Einfluss auf die Blasenfunktion haben. An der neuromuskulären Endplatte kommt es nach BoNT/A – Detrusorinjektion zu einer signifikanten Herabregulation der Rezeptordichte von M2, M3, P2X2 und P2X3. Weiterhin zeigte die Rezeptoranalyse auch eine Herabregulation von P2X1, die allerdings nicht signifikant ist. Als Grund vermute ich die kleine Studienzahl und empfehle weiterführende, eventuell multizentrische Studien. Doch sind die Ergebnisse dieser Arbeit eindrücklich genug, um die Gültigkeit der Vermutung zu beweisen, dass BoNT/A nicht nur einen Effekt auf die cholinerge / muskarinerge Signalweiterleitung hat, sondern auch auf die purinerge. Dies ist im Besonderen deshalb interessant, weil BoNT/A ein „Nervengift“ ist und den Muskelzellen SV2 fehlt, ein Protein, das für die Internalisierung von BoNT in die Zelle zuständig ist. [58] Die Wirkung auf die Muskeltätigkeit kann also nur eine indirekte Wirkung sein. Dass es aber an der neuromuskulären Endplatte zu Veränderungen kommt, konnte diese Arbeit eindrücklich zeigen, auch wenn sie eine Differenzierung zwischen beiden Rezeptorgruppen bzgl. der Blasenaktivität nicht zulässt. Diese ersten Ergebnisse zu Rezeptorveränderungen am Muskel lassen die Aussage zu, dass es zu einer Herabregulation der muskarinergen und purinergen Rezeptordichte nach BoNT/A – Detrusorinjektion kommt und dass die muskarinerge Rezeptordichte offensichtlich deutlicher herabreguliert wird als die purinerge. Dem gegenüber stehen die Ergebnisse von Lawrence et al., die bei gesunden Ratten eindrucksvoll nachweisen konnten, dass die purinergen Rezeptoren eine Rolle bei der Blasenfunktion spielen, und dass BoNT/A in gleicher Weise eine Wirkung auf die purinergen und muskarinergen Rezeptoren hat. Dieser Vergleich gelang zum einen

durch die Antagonisierung der muskarinergen Rezeptoren mittels Atropin und zum anderen durch die Desensibilisierung von P2X2 und P2X3 [59]. Schlussfolgernd ist dazu zu sagen, dass die Ergebnisse der Untersuchung von menschlichen Blasen nicht mit denen von Blasenmuskelzellen der Ratte verglichen werden können, und dass die gesunde Ratte nicht dem kranken Menschen gegenüber gestellt werden kann.

## **5.4 Beurteilung und Diskussion der urodynamischen Ergebnisse**

Die urodynamischen Ergebnisse korrelieren mit den Ergebnissen der Rezeptoranalyse. Die Werte des Reflexvolumens und des maximalen Detrusordrucks konnten durch die BoNT/A – Detrusorinjektion signifikant verbessert werden. Ein deutlicher Anstieg der maximalen Blasenkapazität wurde auch erreicht, wenn auch nicht signifikant. Einzig die Werte der Blasencompliance waren nur gering verbessert (7,25 cm/ml – H<sub>2</sub>O → 8,62 cm/ml – H<sub>2</sub>O). Dieses Phänomen konnte allerdings bereits auch in anderen Studien beobachtet werden. [5] Ich gehe davon aus, dass die kleine Studiengröße wiederholt ein Grund dafür sein wird und deutliche Signifikanzen für die max. Blasenkapazität und auch die Blasencompliance bei einer größeren Studiengruppe zu erwarten wären.

## **6 Fazit**

Unserem Wissen nach sind wir, abgesehen von Coelho et al., die die Blasen von Cadaverspendern auf eine interessante, aber gänzlich andere Fragestellung hin untersuchten [60], die erste Arbeitsgruppe, die Veränderungen an der Postsynapse nach BoNT/A – Detrusorinjektion veröffentlicht. Erstmalig wurden also die Rezeptoren auf der muskulären Seite der neuromuskulären Endplatte untersucht. Die Ergebnisse der Rezeptoranalyse und der Urodynamik lassen verstehen, dass BoNT/A signifikant die Expression der Rezeptoren, die für die efferente und die afferente Signalweiterleitung zuständig sind, verändert. In welchem Maße dies geschieht, und ob das eine das andere bedingt, kann mit dieser Arbeit allerdings nicht erörtert werden. Doch können wir sagen, dass BoNT/A einen (indirekten) Einfluss auf die Blasenaktivität hat und die Ergebnisse dieser Arbeit ein wichtiger und

bedeutender Schritt zum besseren Verständnis der Wirkungsweise sind und eine neue Zielstruktur zur Therapie der neurogenen Blasenfunktionsstörung aufzeigen. Um zu verdeutlichen, wie sich die Veränderung an den Afferenzen auf die subjektive Symptomatik des Patienten auswirkt, schlage ich die Entwicklung einer Bewertungsskala hinsichtlich Kontinenz, Schmerz, Drang, etc. und die Entwicklung eines standardisierten Fragebogens vor.

Weiterhin empfehle ich die Wirkung von BoNT/A auf andere Rezeptoren wie die Capsaicin – Rezeptoren zu untersuchen, die ebenfalls eine Rolle in der afferenten Signalweiterleitung spielen. Außerdem rege ich die Untersuchung der Langzeit – Effekte von BoNT/A an, da hierzu bisher wenig Literatur vorliegt.

## **7 Zusammenfassung**

Das von einem anaeroben Bakterium gebildete Botulinumneurotoxin wurde Ende des 18. Jahrhunderts entdeckt und 1990 erstmalig in der Urologie zur Therapie der Detrusor – Sphinkter – Dyssynergie eingesetzt. Hierbei wird der Serotyp Botulinumneurotoxin A (BoNT/A), in den M.detrusor der Harnblase injiziert. Es bewirkt nachweislich die Verbesserung der Kontinenz, eine Abnahme des maximalen Detrusordrucks und die gleichzeitige Zunahme der maximalen Blasenkapazität als auch eine verbesserte Blasencompliance und die Zunahme des Blasenvolumens bis zur ersten Detrusorwelle.

Obwohl BoNT/A bereits seit über 20 Jahren in der Urologie genutzt wird, wurde es erst im September 2011 bei Erwachsenen zur Therapie der neurogenen Detrusorhyperaktivität infolge einer stabilen subzervikalen Rückenmarksverletzung oder Multipler Sklerose zugelassen. Neben der Therapie von Erwachsenen, wird BoNT/A auch bei speziellen Erkrankungen im Kindes – und Jugendalter angewendet. Schulte-Baukloh et al. waren 2002 die ersten, die ihre Ergebnisse zur Behandlung von neurogenen Blasenfunktionsstörungen bei Kindern (die Ätiologie war meist eine Meningomyelozele) veröffentlichten. Doch gibt es für diese Indikation noch keine Zulassung. Obwohl eine Wirkung von BoNT/A in vielen Studien bereits bewiesen wurde, ist der Wirkmechanismus von BoNT/A an der glatten Muskulatur noch nicht vollständig geklärt. Bekannt ist, dass nach der Bindung und Internalisierung in das präsynaptische Axon die leichte Kette des BoNT, eine Endoprotease, den

Fusionskomplex spaltet und damit die Freisetzung von ACh in den synaptischen Spalt unterbleibt. Es folgt eine schlaaffe Lähmung der Muskulatur. Dies scheint aber längst nicht die einzige Wirkungsweise zu sein, denn neuere Studien zeigen auch eine Hemmung der Freisetzung von ATP und Substanz P. Auch ist die Expression von Capsaicin sensitiven TRPV- und purinergen P2X- Rezeptoren nach BoNT/A – Gabe gesenkt. Eindrucksvoll untersuchten Apostolidis et al. den Effekt, dass durch die Injektion von BoNT/A die suburotheliale Expression von TRPV und P2X2 – Rezeptoren gesenkt werden konnte und dies mit einer Reduktion der Drangsymptomatik korrelierte. Nach diesen fortschrittlichen Ergebnissen zu der Wirkungsweise von BoNT/A auf der neurogenen Seite der neuromuskulären Endplatte, untersuchten wir jetzt die Veränderungen auf der muskulären Seite der neuromuskulären Endplatte.

Das Probandenkollektiv in der von uns durchgeführten Studie bestand aus insgesamt 10 Kindern und Jugendlichen (7 Jungen und 3 Mädchen; Mittelwert 14 Jahre, 3 Monate), die an einer neurogenen Blasenfunktionsstörung erkrankt sind. Trotz maximaler oder supramaximaler Anticholinergikabehandlung wurde bei allen Probanden aufgrund von Detrusordrücken  $> 40\text{cm} - \text{H}_2\text{O}$  eine Harnblasenaugmentation notwendig. Zuvor wurden bei 7 von 10 Kindern zusätzlich zur anticholinergen Therapie durchschnittlich 3,86 BoNT/ A - Detrusorinjektionen durchgeführt, mit einer Gesamtdosis von durchschnittlich 1143 Units. Sie entsprachen unserer Studiengruppe, die 3 Kinder die nie eine solche Therapie erhalten haben, entsprachen unserer Kontrollgruppe. Das in der Harnblasenaugmentation resezierte Gewebe wurde von uns auf das Rezeptorprofil hin untersucht. Hierfür wurde das Resektat fixiert und geschnitten und die mittels primärem und sekundärem Antikörper angefärbten Schnitte mit konfokalem Lasermikroskop (LSM 5Pascal) analysiert. Es wurden sowohl für die muskarinergen Rezeptoren M2 und M3 als auch für die purinergen Rezeptoren P2X1, P2X2 und P2X3 die durchschnittliche mittlere Pixel – Fluoreszenz – Intensität ermittelt und die Ergebnisse von der Studiengruppe mit denen der Kontrollgruppe verglichen. Neben der Rezeptoranalyse interessierte uns auch das urodynamische Outcome der Studienprobanden verglichen mit der Kontrollgruppe. Hierfür führten wir bei allen Patienten aus der Versuchsgruppe vor und nach der letztmaligen BoNT/ A –



Detrusorinjektion, bei der Kontrollgruppe nur einmalig eine standardisierte urodynamische Messung durch.

Die Rezeptoranalyse zeigte in der Studiengruppe eine geringere Expression aller untersuchten Rezeptoren nach BoNT/A – Detrusorinjektion gegenüber der Kontrollgruppe. Außer für P2X1 erreichten alle Rezeptoranalysen ein Signifikanzniveau von  $p < 0,05$ . Weiterhin konnten wir in unserer Studie zeigen, dass diese Rezeptveränderungen in der Tat mit einer Verbesserung der urodynamischen Befunde korrelierten. Mit dieser Studie wurden erstmalig die Rezeptoren auf der muskulären Seite der neuromuskulären Endplatte untersucht und es konnte erfreulicherweise gezeigt werden, dass BoNT/A signifikant die Expression der Rezeptoren, die für die efferente und die afferente Signalweiterleitung zuständig sind, verändert und einen (indirekten) Einfluss auf die Blasenaktivität hat.

## 8 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACh	Acetylcholin
alk.	alkalisch
ATP	Adenosintriphosphat
Aqua dest.	Aqua destilliert
BONT/A	Botulinumneurotoxin A
BPH	benigne Prostatahyperplasie
BSA	Bovine Serum Albumin
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
Charr.	Charriere
CIC	clean intermittend catheterization
cm	Zentimeter
d.h.	das heißt
dLPP	Detrusor – Leak – Point – Pressure
DSD	Detrusor – Spinkter – Dyssynergie
DT-TBS	tris buffered saline (dt. Tris-gepufferte Salzlösung)
E.coli	Escherichia coli
et al.	et alii (dt. und andere)
ETOH	Ethanol
ext.	externus
FDA	Food and Drug Administration
ggf.	Gegebenenfalls
H <sub>0</sub>	Nullhypothese
HE	Hämatoxin
HWI	Harnwegsinfektion
ICS	International Continence Society
I.E.	internationale Einheit
Inj.	Injektion

intrasp. T.	intraspinaler Tumor
j	ja
kD	Kilodalton
kg	Kilogramm
kgKG	Kilogramm Körpergewicht
LD50	mittlere letale Dosis
LoE	Level of Evidence
LPP	Leak Point Pressure
m	männlich
M	Molar
M.	Musculus
max.	maximal
mg	Miligramm
Min.	Minute
ml	Mililiter
MMC	Meningomyelocele
Mo.	Monat
MU	Mouse Unit
n	nein
N.	Nervus
nm	Nanometer
OP	Operation
PBS	phosphate buffered saline (dt. Phosphat-gepufferte Salzlösung)
$P_{detmax}$	maximaler Detrusordruck
pH	potentia Hydrogenii
$R_n$	Rangzahl der negativen Differenzen
ROI	region of interest
$R_p$	Rangzahl der positiven Differenzen
SCI	spinal cord injury (dt. Rückenmarksverletzung)
SEM	standard error of the mean (dt. Standardabweichung)
SNAP-25	synaptosomal-associated protein of 25kD
s.o.	siehe oben
s.u.	siehe unten

Tab.	Tabelle
tägl.	täglich
TMP	Trimethoprim
U	Unit
u.a.	unter anderem und andere
URE	ureterorenale Einheiten
USA	United States of America
v.a.	vor allem
VAMP	vesicle associated membrane protein
vgl.	vergleiche
$V_{\max}$	Maximalvolumen
$V_{\text{refl}}$	Reflexvolumen
vs.	versus
VUR	vesikoreteraler Reflux
w	weiblich

## 9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Muskuläre Strukturen an der Harnblase für Blasenverschluss und-entleerung .....	11
Abbildung 2 Neuroanatomie des unteren Harntrakts .....	12
Abbildung 3 Die schematische Darstellung der häufigsten neurogenen Blasentypen / Detrusor – Sphinkter – Dysfunktionen .....	16
Abbildung 4 Botulinumneurotoxin - Molekül .....	22
Abbildung 5 Detaillierter Wirkungsmechanismus der verschiedenen BoNT - Serotypen in 3 Stufen: 1. Bindung, 2. Internalisierung, 3. Intrazelluläre toxische Wirkung (nach Naumann).....	24
Abbildung 6 BoNT führt zu einer Denervierung an der neuromuskulären Endplatte. Axonale Aussprossung (Resprouting) wird für den Effekt verantwortlich gemacht, dass die klinische Wirkung nach 2 - 6 Monaten nachlässt. ....	24
Abbildung 7 Zusammensetzung der Botulinum - Toxin - Komponente therapeutischer Botulinum - Toxin – Präparationen .....	25
Abbildung 8 transurethraler Zugang .....	28
Abbildung 9 Bild der homomeren Struktur des P2X4- Rezeptors .....	33
Abbildung 10 schematische Darstellung der Zystometrie.....	38
Abbildung 11 Ergebnisse der Rezeptoranalyse: Kontrolle - vs. Studiengruppe.....	45
Abbildung 12 Darstellung der Rezeptordichte mittels konfokalem Lasermikroskop..	45

## 10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Übersicht zur Ätiologie der neurogenen Blase .....	14
Tabelle 2 Symptomatik und Risiken der neurogenen Blasenfunktionsstörung .....	15
Tabelle 3 urologische Indikationen für BoNT - Therapie und deren Injektionsort ....	29
Tabelle 4 Entwicklung urodynamischer Parameter und klinische Wirkung nach BoNT/A – Detrusorinjektion .....	29
Tabelle 5 Das Patientenkollektiv: eine Übersicht der Daten .....	36

## 11 Literaturverzeichnis

1. Gleixner, M., Wirth, *Neurologie und Psychiatrie für Studium und Praxis*. 2011/2012.
2. Aumüller, G., *Duale Reihe Anatomie*. 2007, Stuttgart: Thieme.
3. Alken, P.W., P. H., *Urologie*. 1998.
4. Hautmann, H., *Urologie*. 2006.
5. Gamé, X., et al., *Botulinum toxin-A (Botox) intradetrusor injections in children with neurogenic detrusor overactivity/neurogenic overactive bladder: a systematic literature review*. J Pediatr Urol, 2009. **5**(3): p. 156-64.
6. Au, K.S., A. Ashley-Koch, and H. Northrup, *Epidemiologic and genetic aspects of spina bifida and other neural tube defects*. Dev Disabil Res Rev, 2010. **16**(1): p. 6-15.
7. de Jong, T.P., et al., *Treatment of the neurogenic bladder in spina bifida*. Pediatr Nephrol, 2008. **23**(6): p. 889-96.
8. Kryger, J., *Nonsurgical management of the neurogenic bladder in children*. ScientificWorldJournal, 2008. **8**: p. 1177-83.
9. Stein, R., et al., [*Urological problems in patients with meningomyelocele. Diagnostic studies and management*]. Urologe A, 2007. **46**(12): p. 1620-42.
10. H. C. Klingler, M.E., H. Madersbacher, *Klassifikation der neurogenen Blasenentleerungsstörung*. J.Urol.Urogynäkol., 2002. **2**: p. 12-14.
11. Madersbacher, H., et al., *Propiverine vs oxybutynin for treating neurogenic detrusor overactivity in children and adolescents: results of a multicentre observational cohort study*. BJU Int, 2009. **103**(6): p. 776-81.
12. Stohrer, M., et al., *Propiverine compared to oxybutynin in neurogenic detrusor overactivity--results of a randomized, double-blind, multicenter clinical study*. Eur Urol, 2007. **51**(1): p. 235-42.
13. Schulte-Baukloh, H., et al., *Alfuzosin in the treatment of high leak-point pressure in children with neurogenic bladder*. BJU Int, 2002. **90**(7): p. 716-20.
14. Lapides, J., et al., *Clean, intermittent self-catheterization in the treatment of urinary tract disease*. J Urol, 1972. **107**(3): p. 458-61.
15. Lindehall, B., et al., *Complications of clean intermittent catheterization in boys and young males with neurogenic bladder dysfunction*. J Urol, 2004. **172**(4 Pt 2): p. 1686-8.
16. Clayton, B.I., Joseph, *Urological Management of Spina Bifida*. Developmental Disabilities, 2010. **16**: p. 88-95.
17. Gonzalez, R. and C.M. Schimke, *Strategies in urological reconstruction in myelomeningocele*. Curr Opin Urol, 2002. **12**(6): p. 485-90.
18. Schulte-Baukloh, H., H.H. Knispel, and T. Michael, *Botulinum-A toxin in the treatment of neurogenic bladder in children*. Pediatrics, 2002. **110**(2 Pt 1): p. 420-1.
19. Brin, M.F., *Botulinum toxin: chemistry, pharmacology, toxicity, and immunology*. Muscle Nerve Suppl, 1997. **6**: p. S146-68.
20. Dressler, D., [*Pharmacological aspects of therapeutic botulinum toxin preparations*]. Nervenarzt, 2006. **77**(8): p. 912-21.
21. Schulte-Baukloh, H. and H.H. Knispel, [*Botulinum toxin in urology. An inventory*]. Urologe A, 2004. **43**(8): p. 963-75.

22. Dyer, L.L. and I. Franco, *Botulinum Toxin-A therapy in pediatric urology: indications for the neurogenic and non-neurogenic neurogenic bladder*. ScientificWorldJournal, 2009. **9**: p. 1300-5.
23. Kerner, *Das Fettgift oder die Fettsäure und ihre Wirkung auf den thierischen Organismus, ein Beytrag zur Untersuchung des in verdorbenen Würsten giftigen Stoffes*. 1822, Stuttgart: Cotta.
24. van Ermengem, E., *Classics in infectious diseases. A new anaerobic bacillus and its relation to botulism. E. van Ermengem. Originally published as "Ueber einen neuen anaeroben Bacillus und seine Beziehungen zum Botulismus" in Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten 26: 1-56, 1897. Rev Infect Dis, 1979. 1(4): p. 701-19.*
25. Schantz, E.J. and E.A. Johnson, *Botulinum toxin: the story of its development for the treatment of human disease*. Perspect Biol Med, 1997. **40**(3): p. 317-27.
26. Burgen, A.S., F. Dickens, and L.J. Zatman, *The action of botulinum toxin on the neuro-muscular junction*. J Physiol, 1949. **109**(1-2): p. 10-24.
27. Naumann, *Botulinumtoxin - Grundlagen in: Naumann (Hrsg) Botulinumtoxin: Wirkprinzip und klinische Anwendung*. 2003, Bremen: UNI-MED Verlag.
28. Dykstra, D.D. and A.A. Sidi, *Treatment of detrusor-sphincter dyssynergia with botulinum A toxin: a double-blind study*. Arch Phys Med Rehabil, 1990. **71**(1): p. 24-6.
29. Dykstra, S.a., *Botulinum toxin in overactive bladder, in Botulinum Toxin: Therapeutic Clinical Practice and Science*. 2009, Philadelphia: Saunders Elsevier.
30. Apostolidis, A., P. Dasgupta, and C.J. Fowler, *Proposed mechanism for the efficacy of injected botulinum toxin in the treatment of human detrusor overactivity*. Eur Urol, 2006. **49**(4): p. 644-50.
31. Campbell, J.D., et al., *Treatment success for overactive bladder with urinary urge incontinence refractory to oral antimuscarinics: a review of published evidence*. BMC Urol, 2009. **9**: p. 18.
32. [http://www.g-ba.de/downloads/83-691-270/AM-RL-IV-Therapie\\_2011-10-13.pdf](http://www.g-ba.de/downloads/83-691-270/AM-RL-IV-Therapie_2011-10-13.pdf). Arzneimittelrichtlinie, Anlage IV: Therapiehinweise gemäß § 92 Abs. 2 Satz 7 SGB V. 13.10.2011.
33. Verheyden, J. and A. Blitzer, *Other noncosmetic uses of BOTOX*. Dis Mon, 2002. **48**(5): p. 357-66.
34. Apostolidis, A., et al., *Recommendations on the use of botulinum toxin in the treatment of lower urinary tract disorders and pelvic floor dysfunctions: a European consensus report*. Eur Urol, 2009. **55**(1): p. 100-19.
35. Schulte-Baukloh, H. and H.H. Knispel, *A minimally invasive technique for outpatient local anaesthetic administration of intradetrusor botulinum toxin in intractable detrusor overactivity*. BJU Int, 2005. **95**(3): p. 454.
36. Borodic, G.E., et al., *Histologic assessment of dose-related diffusion and muscle fiber response after therapeutic botulinum A toxin injections*. Mov Disord, 1994. **9**(1): p. 31-9.
37. Dykstra, D.D., et al., *Effects of botulinum A toxin on detrusor-sphincter dyssynergia in spinal cord injury patients*. J Urol, 1988. **139**(5): p. 919-22.
38. Campbell, J.D., *Treatment success for overactive bladder with urinary urge incontinence refractory to oral antimuscarinics: a review of published evidence*. BMC Urol, 2009. **9**(18).
39. Shapiro, E., et al., *Altered smooth muscle development and innervation in the lower genitourinary and gastrointestinal tract of the male human fetus with myelomeningocele*. J Urol, 1998. **160**(3 Pt 2): p. 1047-53; discussion 1079.

40. Schurch, B., et al., *Botulinum-A toxin for treating detrusor hyperreflexia in spinal cord injured patients: a new alternative to anticholinergic drugs? Preliminary results.* J Urol, 2000. **164**(3 Pt 1): p. 692-7.
41. Smith, C.P., G.T. Somogyi, and M.B. Chancellor, *Botulinum toxin treatment of urethral and bladder dysfunction.* Int Braz J Urol, 2002. **28**(6): p. 545-52.
42. Andersson, K.E. and A. Arner, *Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology.* Physiol Rev, 2004. **84**(3): p. 935-86.
43. Kawate, T., et al., *Crystal structure of the ATP-gated P2X(4) ion channel in the closed state.* Nature, 2009. **460**(7255): p. 592-8.
44. Cockayne, *Urinary bladder hyporeflexia and reduced pain-related behaviour in P2X3-deficient mice.* Nature, 2000. **407**: p. 1011 - 1015.
45. Apostolidis, A., et al., *Decreased sensory receptors P2X3 and TRPV1 in suburothelial nerve fibers following intradetrusor injections of botulinum toxin for human detrusor overactivity.* J Urol, 2005. **174**(3): p. 977-82; discussion 982-3.
46. Abrams, P., et al., *The standardisation of terminology in lower urinary tract function: report from the standardisation sub-committee of the International Continence Society.* Urology, 2003. **61**(1): p. 37-49.
47. Sachs, L., *Angewandte Statistik.* 2006, Berlin: Springer - Verlag.
48. Schulte-Baukloh, H., et al., *Repeated botulinum-A toxin injections in treatment of children with neurogenic detrusor overactivity.* Urology, 2005. **66**(4): p. 865-70; discussion 870.
49. Schulte-Baukloh, H., et al., *Efficacy of botulinum-a toxin in children with detrusor hyperreflexia due to myelomeningocele: preliminary results.* Urology, 2002. **59**(3): p. 325-7; discussion 327-8.
50. Altaweel, W., et al., *Repeated intradetrusor botulinum toxin type A in children with neurogenic bladder due to myelomeningocele.* J Urol, 2006. **175**(3 Pt 1): p. 1102-5.
51. Kajbafzadeh, A.M., et al., *Intravesical injection of botulinum toxin type A: management of neuropathic bladder and bowel dysfunction in children with myelomeningocele.* Urology, 2006. **68**(5): p. 1091-6; discussion 1096-7.
52. Riccabona, M., et al., *Botulinum-A toxin injection into the detrusor: a safe alternative in the treatment of children with myelomeningocele with detrusor hyperreflexia.* J Urol, 2004. **171**(2 Pt 1): p. 845-8; discussion 848.
53. Lie, K.Y., M.Y. Wong, and L.G. Ng, *Botulinum toxin a for idiopathic detrusor overactivity.* Ann Acad Med Singapore, 2010. **39**(9): p. 714-5.
54. Pascual-Pascual, S.I., I. Pascual-Castroviejo, and P.J. Garcia Ruiz, *Treating spastic equinus foot from cerebral palsy with botulinum toxin type a: what factors influence the results?: an analysis of 189 consecutive cases.* Am J Phys Med Rehabil, 2011. **90**(7): p. 554-63.
55. Erasmus, C.E., et al., *What could predict effectiveness of Botulinum Toxin to treat drooling: A search for evidence of discriminatory factors on the level of body functions or structures.* Eur J Paediatr Neurol, 2011.
56. Karsenty, G., et al., *Botulinum toxin type a injections into the trigone to treat idiopathic overactive bladder do not induce vesicoureteral reflux.* J Urol, 2007. **177**(3): p. 1011-4.
57. Stohrer, M., et al., *[Seven years of botulinum toxin type A in the treatment of neurogenic detrusor hyperactivity].* Urologe A, 2007. **46**(9): p. 1211-8.
58. Dong, M., et al., *SV2 is the protein receptor for botulinum neurotoxin A.* Science, 2006. **312**(5773): p. 592-6.
59. Lawrence, G.W., K.R. Aoki, and J.O. Dolly, *Excitatory cholinergic and purinergic signaling in bladder are equally susceptible to botulinum neurotoxin a consistent with*



- co-release of transmitters from efferent fibers. J Pharmacol Exp Ther, 2010. 334(3): p. 1080-6.*
60. Coelho, A., et al., *Distribution of the high-affinity binding site and intracellular target of botulinum toxin type A in the human bladder. Eur Urol, 2010. 57(5): p. 884-90.*

## 12 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen  
Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## 13 Danksagung

Ich bedanke mich an erster Stelle bei meinem Doktorvater PD Dr. med. H. Schulte – Baukloh für das Überlassen des Themas, die inhaltliche und kritische Auseinandersetzung mit der Arbeit und die immer lehrreiche und fast freundschaftliche Zusammenarbeit. Auch danke ich Herrn Prof. Dr. med. H. H. Knispel, Frau Hannusch (Chefarztsekretariat) und dem gesamten Team der urologischen Funktionsdiagnostik des St. Hedwig Krankenhauses für die stets freundliche Zusammenarbeit, ohne deren Hilfe die urodynamischen Messungen nicht möglich gewesen wären.

Ein besonderer Dank geht an PD Dr. rer. nat. J. Neuhaus, Annett Weimann und dem Team des urologischen Forschungslabors in Leipzig, die mich dort sehr herzlich aufgenommen haben, mich in die Laborarbeit einführten und mir stets unterstützend zur Seite standen – sowohl vor Ort, als auch im Verlauf der Arbeit.

Ich danke meiner Mutter Ricarda und Alexa Bach für die gewissenhafte Durchsicht meiner Arbeit.

Und ich danke meinen Eltern, meinem Bruder und meinen Freunden für ihren liebevollen Rückhalt und alle motivierenden Worte!

## **14 Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit erkläre ich, Judith Priefert, an Eides Statt, dass die vorgelegte Dissertation von mir selbst und ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst wurde, auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt und die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur vollständig angegeben sind.

Unterschrift

Berlin, den 09.01.2012

## **15 Anhänge**

- **Ethikantrag**
- **Teilnehmerinformation für Patienten**
- **Teilnehmerinformation für Eltern**
- **Einwilligungserklärung der Patienten**
- **Einwilligungserklärung für die Eltern**

Antrag auf Beratung durch die Ethikkommission zur Durchführung eines  
medizinisch-wissenschaftlichen Vorhabens, welches weder die klinische Prüfung eines  
Arzneimittels oder Medizinproduktes beinhaltet

1. Titel der Studie	<b>Postsynaptische Rezeptorveränderungen nach Botulinumneurotoxin A (BoNT/A) – Detrusorinjektion bei Kindern und Jugendlichen mit neurogener Blase.</b>
2. Ethikkommissions -Antragsnummer	<i>(wird von der EK vergeben)</i>
3. Entscheidungen anderer Ethikkommissionen in derselben Sache	bisher keine
4. Gegenstand der Studie und ihre Ziele; Angabe der Hypothesen, getrennt in Haupt- und Sekundärhypothesen sowie der klinischen Parameter (primäre und sekundäre Endpunkte), anhand derer die Hypothesen geprüft werden	<p>Gegenstand und Ziel der Studie ist es die postsynaptischen Rezeptorveränderungen nach BoNT/A- Detrusorinjektion zu untersuchen.</p> <p><i>Haupthypothese</i></p> <p>1) Die Injektion von BoNT/A in den M.detrusor bewirkt postsynaptisch eine Downregulation von muscarinergen Rezeptoren.</p> <p><i>Sekundärhypothesen</i></p> <p>1) Die Injektion von BoNT/A in den M. Detrusor bewirkt postsynaptisch eine Downregulation von purinergen Rezeptoren.</p> <p>2) Durch die Downregulation der muskarinergen Rezeptoren wird der Anticholinergikabedarf nach BoNT/A- Injektion geringer sein.</p>
5. Erläuterung der Bedeutung der Studie	<p>Die BoNT/A – Detrusorinjektion wurde in den letzten Jahren erfolgreich bei Krankheiten des unteren Harntrakts, wie der Überaktivität des Detrusormuskels (Overactive Bladder - OAB) mit oder ohne Dranginkontinenz angewendet. Vorangegangene Studien belegen außerdem, dass die Injektion von BoNT/A in den M.detrusor von Kindern mit einer spastischen Blase eine positive Wirkung hinsichtlich maximaler Blasenkapazität, Compliance, Blasenfüllung bis zum ersten Harndrang und Detrusorkontraktionen hat. Damit stellt dieses Verfahren eine therapeutische Alternative bei Kindern mit spastischer Blase dar, bei denen die medikamentöse Therapie mit Anticholinergika ausgereizt ist, bzw die therapeutischen Effekte</p>

	<p>gegenüber den Nebenwirkungen gering sind. Weiterhin kann eine risikobehaftete und aufwändige Operation, wie die Blasenaugmentation, hinausgezögert werden, bzw. die Zeit bis zur Operation überbrückt werden.</p> <p>Lange Zeit erklärte man sich die Wirkung synonym zur Wirkung an quergestreifter Muskulatur. Hier ist bekannt, dass die Paralyse der Muskulatur durch eine temporäre Blockade der Neurotransmitterausschüttung von Acetylcholin an der präsynaptischen Membran ausgelöst wird. Durch urodynamische Beobachtungen nach der Injektion von BoNT/A in den M.detrusor konnte festgestellt werden, dass sich neben einer Erhöhung der Blasenkapazität, einer Erhöhung des Volumens bis zum ersten Harndrang und weniger häufige Detrusorkontraktionen auch der Detrusordruck in der Phase der Blasenfüllung und der Blasenentleerung gesenkt werden konnte. Vielseitige Untersuchungen an der präsynaptischen Seite der neuromuskulären Endplatte zeigten nach BoNT/A-Detrusorinjektion nicht nur eine Wirkung auf die Efferenz, sondern auch auf die Afferenz. In dieser Arbeit sollen nun die Änderungen des Rezeptorprofils auf muskulärer Seite der muskulären Endplatte untersucht werden.</p>
<p>6. Welche der folgenden Bestimmungen finden Anwendung</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Medizinproduktegesetz gemäß § 23 b MPG - Ausnahme der klin. Prüfung</li> <li>b) Strahlenschutzverordnung § 23</li> <li>c) Röntgenverordnung § 28 a</li> <li>d) Gendiagnostikgesetz</li> <li>e) Datenschutzgesetze</li> </ul>	<p>Datenschutzgesetze</p>
<p>7. Ggf.: Bezeichnung und Charakterisierung der Prüfprodukte</p>	<p>entfällt</p>
<p>8. wesentliche Ergebnisse der vorklinischen Tests oder Gründe für die Nichtdurchführung derselben</p>	<p>Bei der Studie handelt es sich um das normale Prozedere therapeutischer Maßnahmen bei Kindern mit einer neurogenen Blase. Es wird lediglich ein Teil des Resektats, welches bei der Blasenaugmentation anfällt, an das urologische Klinikum Leipzig (Forschungslabor PD Dr.med.Jochen Neuhaus) geschickt.</p>

	Vorklinische Tests im eigentlichen Sinne sind also nicht nötig.
9. Wesentlicher Inhalt und Ergebnisse der vorangegangenen Studien/Anwendungen der in der Studie zu prüfenden Produkte	entfällt, siehe Punkt 7.
10. Beschreibung der vorgesehenen Maßnahmen/Untersuchungsmethoden und eventuelle Abweichungen von den in der med. Praxis üblichen Maßnahmen/Untersuchungen (was ist „Routine“, was wird davon abweichend in der Studie gemacht?)	Wie bereits in 8. geschrieben, handelt es sich um ein "routinemäßiges" Prozedere. Die einzige Abweichung ist, dass Material an ein weiteres Labor geschickt wird. Dadurch kommt es aber nicht zu Nachteilen oder Risiken für den Patienten.
11. Bewertung und Abwägung der vorhersehbaren Risiken und Nachteile der Studienteilnahme gegenüber dem erwarteten Nutzen für die Studienteilnehmer und zukünftig erkrankte Personen (Nutzen-Risiko-Abwägung)	Die Risiken beziehen sich auf die allgemeinen Risiken einer BoNT/A- Injektion und einer Blasenaugmentation. Durch die in der Studie zu ermittelnden Daten werden diese nicht erhöht, bzw. kommen keine weiteren Risiken für den Patienten hinzu.
a. Voraussehbarer therapeutischer Nutzen für die Studienteilnehmer ( <b>individueller Nutzen</b> für den einzelnen Patienten)	Der individuelle Nutzen für jeden Patienten besteht im Rahmen der Operation. Ein weiterer Nutzen durch die Untersuchung des Resektats entfällt.
b. Voraussehbarer medizinischer Nutzen für zukünftig erkrankte Personen ( <b>Gruppennutzen</b> )	BoNT/A stellt eine viel versprechende Therapiemethode bei spastischer Blase dar. Der genaue Wirkmechanismus von BoNT/A nach Detrusorinjektion ist jedoch noch nicht genau geklärt. Diese Studie soll zur Aufklärung beitragen. Denn die weitere Erforschung des genauen Wirkmechanismus birgt die Hoffnung auf die weiterführende Optimierung dieser Therapie.
c. <b>Risiken</b> und Belastungen für die Studienteilnehmer (alle im Einzelnen auflisten)	Die Risiken beziehen sich wie in 11. beschrieben, auf die allgemeinen Risiken einer BoNT/A- Injektion und einer Blasenaugmentation. Weitere Risiken oder Belastungen treten mit der Untersuchung des OP-Resektats nicht auf.
12. Maßnahmen zur Risikobeherrschung	Die Blasenaugmentationen werden von dem Studienarzt OA PD Dr.med.Schulte-Baukloh durchgeführt.
13. Abbruchkriterien	entfällt
14. Anzahl, Alter und Geschlecht der betroffenen Personen	Kinder und Jugendliche beiden Geschlechts zwischen 5 - 28 Jahren.



<p>15. Biometrische Planung mit Angabe der statistischen Methodik, einschließlich der Begründung der Fallzahl.</p> <p><u>Unterschrift</u> des/der Statistikers/Statistikerin</p>	<p>Bisher ist wurden keine Untersuchungen des Rezeptorprofils an der muskulären Seite der motorischen Endplatte durchgeführt. Und die Fallzahl von Kindern, bei denen eine Blasenaugmentation notwendig wird, ist mit 10 Kindern im Jahr in unserem Hause (St.Hedwig-Krankenhaus) recht gering. Vorangegangene Studien zur Untersuchung des Rezeptorprofils an der Präsynapse zeigten aber auch bei einer kleinen Anzahl an Studienteilnehmer eine Signifikanz.</p>
<p>16. a. Darlegung und ggf. Erläuterung der <b>Ein- und Ausschlusskriterien</b></p>	<p>Einbezogen werden alle Kinder, die sich wegen einer neurogenen Blase in urologischer Behandlung in unserem Hause befinden und bei denen in den Jahren 2009 und 2010 eine Blasenaugmentation notwendig wird.</p>
<p>b. <b>Teilnehmerinformation</b> (wer diese mündlich erteilt und Angabe, wie viel Zeit zwischen Aufklärung und Einwilligung verbleibt, ansonsten Verweis auf deren Inhalt als Anlage möglich)</p>	<p>Die Patienten werden mündlich und schriftlich im Rahmen der Operationsaufklärung von Herrn OA PD Dr.med. Schulte-Baukloh über die Studie informiert. Jedem Teilnehmer wird eine Teilnehmerinformation ausgehändigt.</p>
<p>c. <b>Einwilligungserklärung</b> (Verweis auf deren Inhalt als Anlage möglich)</p>	<p>Die Einwilligungserklärung findet im Rahmen der Operationsaufklärung statt. Hierbei gibt es einen separates Formular zur Zustimmung, dass ein Teil des Resektats nicht nur in die Pathologie der Charité geschickt wird, sondern auch zu wissenschaftlichen Zwecken an die urologische Klinik Leipzig (urologisches Forschungslabor PD Dr.med.Neuhaus).</p>
<p>d. Ggf. <b>Information und Einwilligung des gesetzlichen Vertreters</b> (ggf. auch Beschreibung des Verfahrens zur Einrichtung einer gerichtlichen Betreuung)</p>	<p>s.o.</p>
<p>17. Maßnahmen zur Gewinnung von Studienteilnehmern (Aushang ?, Zeitungsannoncen? Etc.)</p>	<p>Die Studienteilnehmer sind Patienten der urologischen Abteilung des St.Hedwig-Krankenhauses, Lehrkrankenhaus der Charité.</p>
<p>18. Ggf.: <b>Grund für die Einbeziehung und Darlegung des therapeutischen Nutzens für Personen, die minderjährig und/oder nicht einwilligungsfähig sind.</b></p>	<p>s.o.</p>
<p>19. Beziehung zwischen Studienteilnehmer und Studienarzt/-ärztin (Ist der Studienarzt</p>	<p>Der Studienarzt ist gleich der behandelnde Arzt: OA PD Dr.med.Schulte-Baukloh.</p>

zugleich der behandelnde Arzt?)	
20. Erklärung zur Einbeziehung möglicherweise vom Sponsor oder Studienarzt abhängiger Personen	Es werden keine Sponsoren oder von dem Studienarzt abhängige Personen einbezogen.
21. Maßnahmen, die eine Feststellung zulassen, ob ein Studienteilnehmer an mehreren Studien zugleich oder vor Ablauf einer in der vorangegangenen Studie festgelegten Frist teilnimmt.	keine
22. Ggf.: Honorierung bzw. Kostenerstattung der Studienteilnehmer (Höhe, wofür soll gezahlt werden?)	Es ist keine Honorierung geplant.
23. Ggf.: Plan für die Weiterbehandlung und medizinische Betreuung der betroffenen Personen nach dem Ende der Studie	Die postoperative Weiterbehandlung und Nachsorge findet im Rahmen der stationären und ambulanten Versorgung statt.
24. Ggf.: Versicherung der Studienteilnehmer	Die Studienteilnehmer sind im Rahmen der Operation und des klinischen Aufenthaltes versichert. Ein zusätzlicher Versicherungsschutz ist nicht nötig.
25. Ggf.: Dokumentationsverfahren (Verweis auf CRF-Bögen möglich)	Das Dokumentationsverfahren erfolgt in der Klinik über einen personalisierten Zugang an einem PC mit Hilfe einer Excel-Tabelle. Zugangsberechtigt sind nur die Promovendin und der Leiter der Studie.
26. Ggf.: Beschreibung, wie der Gesundheitszustand gesunder betroffener Personen dokumentiert werden soll	Der Gesundheitszustand wird über die Testergebnisse, welche vor jeder Blasenaugmentation standardisiert erfolgen, in der Excel-Tabelle dokumentiert.
27. Ggf.: Methoden, unerwünschte Ereignisse festzustellen, zu dokumentieren und mitzuteilen.	entfällt
28. Vorgehen zum Schutz der Geheimhaltung der gespeicherten Daten, Dokumente und ggf. Proben, Darlegung der Verschlüsselung der Daten von Studienteilnehmern ( <i>bitte nicht Initialen und Geburtsdatum als Codierungsschema verwenden!</i> )	Die Daten eines jeden Patienten/Probanden werden in einer Excel-Tabelle (siehe Punkt 25.) gespeichert. Hier wird jedem Studienteilnehmer eine Studiennummer zugeordnet. Damit ist gewährleistet, dass nur die Promovendin und der Leiter der Studie die Daten zuordnen können.
29. Erklärung zur Einhaltung des Datenschutzes	Der Datenschutz wird zu jedem Zeitpunkt in vollem Umfang erfüllt.
30. Namen und Anschriften der Einrichtungen, die als Studienzentrum oder Studienlabor in die Studie	Urologische Abteilung des St.Hedwig-Krankenhauses Große Hamburger Str. 5 - 11

<p>eingebunden sind, sowie der Studienleiter und die Studienärzte</p>	<p>10115 Berlin  Tel: 030/2311-2509  Studienarzt und Leiter der Studie: OA PD  Dr.med.Schulte-Baukloh  Promovendin: Judith Priefert</p>
<p>31. Angaben zur Eignung der Prüfstelle, insbesondere zur Angemessenheit der dort vorhandenen Mittel und Einrichtungen sowie des zur Durchführung der klinischen Prüfung zur Verfügung stehenden Personals und zu Erfahrungen in der Durchführung ähnlicher Studien</p>	<p>Als Prüfstelle dient zum einen der Funktionstrakt der urologischen Ambulanz des St.Hedwig-Krankenhauses. Hier erfolgen alle Untersuchungen, da alle technischen Hilfsmittel in vollem Umfang vorhanden sind. Das Personal ist auf die Promovendin und der Leiter der Studie beschränkt. Erfahrungen hat der Leiter der Studie im Rahmen seiner Habilitation und Betreuung ähnlicher Promotionen erhalten. Zum anderen dient die urologische Klinik in Leipzig (urologisches Forschungslabor PD Dr.med.Neuhaus) als Prüfstelle. Hier wird das Operationsresektat untersucht. Das Personal besteht aus dem Leiter des urologischen Forschungslabors, seiner medizinisch-technischen Angestellten und der Promovendin. In dieser Prüfstelle stehen sämtliche Instrumente und Materialien zur immunhistochemischen Anfärbung und Auswertung zur Verfügung.</p>
<p>32. Vereinbarung über den Zugang des Prüfers/Hauptprüfers/Leiter der klinischen Prüfung, zu den Daten und den Grundsätzen über die Publikation</p>	<p>Im Rahmen einer Prüfung hat der Leiter der Studie eine Zugangsberechtigung zu den Daten der Studie.</p>
<p>33. Angaben zur Finanzierung der Studie (wir weisen auf § 263 StGB hin)</p>	<p>Die Studie finanziert sich aus eigenen Mitteln der urologischen Abteilung des St.Hedwig-Krankenhauses und aus eigenen Mitteln der urologischen Klinik Leipzig (urologisches Forschungslabor PD Dr.med.Neuhaus).</p>
<p>a. Finanzierungsquelle (Name und Sitz)</p>	<p>Urologische Abteilung des St.Hedwig-Krankenhauses  Große Hamburger Str. 5-11  10225 Berlin  Tel: 030/2311-2509</p> <p>Urologische Klinik Leipzig  urologisches Forschungslabor PD Dr.med. Neuhaus</p>

b. Höhe der kalkulierten Kosten pro Teilnehmer und insgesamt	Es entstehen keine Extrakosten pro Teilnehmer. Für den Ethikantrag sowie andere Kostenstellen (Büromittel, Sterilisation) wird ein Gesamtaufwand von ca. 500€ veranschlagt.
c. Höhe der Kostenerstattung pro Teilnehmer und insgesamt	Dies ist nicht geplant.

**BEREICH:**  
Klinik für Urologie

Chefarzt Prof. Dr. med. H.-H. Knispel

**TEL:** (030) 2311-2509

**FAX:** (030) 2311-2434

**E-MAIL:**  
h.knispel@alexius.de

08.02.2009

## Teilnehmerinformation

Titel der Studie

**„Postsynaptische Rezeptorveränderungen nach Botulinumneurotoxin A (BoNT/A)- Detrusorinjektion bei Kindern und Jugendlichen mit neurogener Blase.“**

Sehr geehrte Patientin,  
Sehr geehrter Patient,

Sie leide an einer neurogenen Blase. Bislang konnte dies konservativ mit Medikamenten, ggf. Botulinumneurotoxin A - Detrusorinjektionen und Selbstkatheterisierung behandelt werden. Nun soll eine Harnblasenaugmentation durchgeführt werden. Hierbei wird ein Stück Blase entnommen und durch Darm ersetzt (siehe Operationsaufklärung). Das bei der Operation entfernte Resektat (Harnblasenmaterial) wird routinemäßig in der Pathologie der Charité untersucht.

Im Rahmen dieser Studie werden wir ein Teil dieses Resektats auch an die urologische Universitätsklinik Leipzig (urologisches Forschungslabor PD Dr. rer. nat. Neuhaus) schicken. Dafür reicht das bei der Operation entfehrnte Harblasenresektat vollkommen aus. Es muss also kein extra großes Stück entommen werden.

Ziel der Studie ist die Wirkung von Botulinumneurotoxin A (BoNT/A, Botox-A) auf Rezeptorebene zu untersuchen.

Wichtig für Sie zu wissen ist, dass für durch die im Rahmen dieser Studie durchgeführten Untersuchungen zu keinem Zeitpunkt zusätzliche Risiken oder Nachteile entstehen.

Durch Ihre Unterschrift auf der Einwilligungserklärung erklären Sie sich lediglich damit einverstanden, dass der Studienarzt und seine Mitarbeiter Ihre personenbezogenen Daten zum Zweck der o.g. Studie erheben und verarbeiten dürfen. Personenbezogene Daten sind z.B. ihr Name, Geburtsdatum, Adresse und Daten zur Erkrankung oder andere persönliche Daten, die während der Teilnahme an der Studie oder bei einer der Folgeuntersuchungen zweckgebunden erhoben werden. Der Studienarzt wird ihre personenbezogenen Daten für Zwecke der Verwaltung und Durchführung der Studie verwenden und diese, einem Pseudonym zugeordnet, für Zwecke der Forschung und statistischen Auswertung verwenden.

Natürlich ist die Teilnahme an dieser Studie freiwillig und Sie haben zu jeder Zeit die Möglichkeit Ihre Einwilligung zurückzuziehen. Sollten sich Fragen ergeben, sind wir jederzeit für Sie ansprechbar.

Ansprechpartner: OA PD Dr. med. H. Schulte-Baukloh

---

Unterschrift des Studienarztes / Leiter der Studie

Versionsdatum: 08.02.2009

**BEREICH:**  
Klinik für Urologie

Chefarzt Prof. Dr. med. H.-H. Knispel

**TEL:** (030) 2311-2509

**FAX:** (030) 2311-2434

**E-MAIL:**

h.knispel@alexius.de

08.02.2009

## **Teilnehmerinformation**

### Titel der Studie

**„Postsynaptische Rezeptorveränderungen nach Botulinumneurotoxin A (BoNT/A)- Detrusorinjektion bei Kindern und Jugendlichen mit neurogener Blase.“**

Sehr geehrte Eltern,

Ihr Kind leidet an einer neurogenen Blase. Bisher konnte dies konservativ mit Medikamenten, ggf. Botulinumneurotoxin A - Detrusorinjektionen und Selbstkatheterisierung behandelt werden. Nun soll eine Harnblasaugmentation durchgeführt werden. Hierbei wird ein Stück der Blase Ihres Kindes entnommen und durch Darm ersetzt (siehe Operationsaufklärung). Das bei der Operation entfernte Resektat (Harnblasenmaterial) wird routinemäßig in der Pathologie der Charité untersucht.

Im Rahmen dieser Studie werden wir ein Teil dieses Resektats auch an die urologische Universitätsklinik Leipzig (urologisches Forschungslabor PD Dr. rer. nat. Neuhaus) schicken. Dafür reicht das bei der Operation entfehrnte Harblasenresektat vollkommen aus. Es muss also kein extra großes Stück entommen werden.

Ziel der Studie ist die Wirkung von Botulinumneurotoxin A (BoNT/A, Botox-A) auf Rezeptorebene zu untersuchen.

Wichtig für Sie zu wissen ist, dass für ihr Kind durch die im Rahmen dieser Studie durchgeführten Untersuchungen zu keinem Zeitpunkt zusätzliche Risiken oder Nachteile entstehen.

Durch Ihre Unterschrift auf der Einwilligungserklärung erklären Sie sich lediglich damit einverstanden, dass der Studienarzt und seine Mitarbeiter die personenbezogenen Daten Ihres Kindes zum Zweck der o.g. Studie erheben und verarbeiten dürfen. Personenbezogene Daten sind z.B. der Name ihres Kindes, Geburtsdatum, Adresse und Daten zur Erkrankung oder andere persönliche Daten, die während der Teilnahme an der Studie oder bei einer der Folgeuntersuchungen zweckgebunden erhoben werden. Der Studienarzt wird die personenbezogenen Daten Ihres Kindes für Zwecke der Verwaltung und Durchführung der Studie verwenden und diese, einem Pseudonym zugeordnet, für Zwecke der Forschung und statistischen Auswertung verwenden.

Natürlich ist die Teilnahme an dieser Studie freiwillig und Sie haben zu jeder Zeit die Möglichkeit Ihre Einwilligung zurückzuziehen. Sollten sich Fragen ergeben, sind wir jederzeit für Sie ansprechbar.

Ansprechpartner: OA PD Dr.med. H. Schulte-Baukloh

---

Unterschrift des Studienarztes / Leiter d. Studie

Versionsdatum: 08.02.2009





**BEREICH:**  
Klinik für Urologie

Chefarzt Prof. Dr. med. H.-H. Knispel

**TEL:** (030) 2311-2509

**FAX:** (030) 2311-2434

**E-MAIL:**

h.knispel@alexius.de

08.02.2009

## Einwilligungserklärung

Titel der Studie: „**Postsynaptische Rezeptorveränderungen nach Botulinumneurotoxin A (BoNT/A) - Detrusorinjektion bei Kindern und Jugendlichen mit neurogener Blase**“

Hiermit erkläre ich,

\_\_\_\_\_  
Name, Vorname

\_\_\_\_\_  
Adresse

\_\_\_\_\_  
Geburtsdatum des/der Teilnehmers/in

Code-Nr. \_\_\_\_\_

dass ich durch Herrn PD Dr. med. Schulte-Baukloh (Urologische Klinik des St. Hedwig-Krankenhauses, Große Hamburger Str. 5 – 11, 10115 Berlin) mündlich und schriftlich über das Wesen, die Bedeutung, Tragweite und Risiken der wissenschaftlichen Untersuchung im Rahmen der o.g. Studie informiert wurde und ausreichend Gelegenheit hatte, meine Fragen hierzu in einem Gespräch mit ihm zu klären.

Ich habe insbesondere die mir vorgelegte Teilnehmerinformation verstanden und eine Ausfertigung derselben und dieser Einwilligungserklärung erhalten.

Mir ist bekannt, dass ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen für mich oder mein Kind zurückziehen und einer Weiterverarbeitung der Daten und Proben jederzeit widersprechen und ihre Löschung bzw. Vernichtung verlangen kann.

Ich erkläre mich dazu bereit, an der wissenschaftlichen Untersuchung im Rahmen der o.g. Studie teilzunehmen.

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie mich betreffende personenbezogene Daten/Angaben durch den Studienarzt erhoben, pseudonymisiert auf elektronischen Datenträgern aufgezeichnet und verarbeitet werden dürfen. Ich bin auch damit einverstanden, dass die Studienergebnisse in anonymer Form, die keinen Rückschluss auf meine Person zulassen, veröffentlicht werden.

Darüber hinaus bin ich mit der Untersuchung des bei der Operation entfernten Blasenresektats und der hieraus ggf. entnommenen genetischen Materialien in pseudonymisierter Form für den Zweck der Studie durch den Studienarzt OA PD Dr. med. Schulte-Baukloh bzw. die urologische Universitätsklinik Leipzig (urologisches Forschungslabor PD Dr. rer. nat. Neuhaus) einverstanden.

---

Berlin, Datum

Unterschrift des/der Teilnehmers/in

---

Berlin, Datum

Unterschrift des gesetzlichen Vertreters

---

Unterschrift des gesetzlichen Vertreters

Hiermit erkläre ich, den/die o.g. Teilnehmer/in am \_\_\_\_\_ über Wesen, Bedeutung, Tragweite und Risiken der o.g. Studie mündlich und schriftlich aufgeklärt und ihm/ihr eine Ausfertigung der Information sowie dieser Einwilligungserklärung übergeben zu haben.

---

Berlin, Datum

Unterschrift d. aufklärenden Prüfarztes

**BEREICH:**  
Klinik für Urologie

Chefarzt Prof. Dr. med. H.-H. Knispel

**TEL:** (030) 2311-2509

**FAX:** (030) 2311-2434

**E-MAIL:**

h.knispel@alexius.de

08.02.2009

## Einwilligungserklärung

Titel der Studie:

**„Postsynaptische Rezeptorveränderungen nach Botulinumneurotoxin A (BoNT/A) - Detrusorinjektion bei Kindern und Jugendlichen mit neurogener Blase“**

Hiermit erkläre ich,

\_\_\_\_\_  
Name, Vorname

\_\_\_\_\_  
Adresse

\_\_\_\_\_  
Geburtsdatum des/der Teilnehmers/in

Code-Nr. \_\_\_\_\_

dass ich durch Herrn PD Dr.med.Schulte-Baukloh (Urologische Klinik des St.Hedwig-Krankenhauses, Große Hamburger Str. 5 – 11, 10115 Berlin) mündlich und schriftlich über das Wesen, die Bedeutung, Tragweite und Risiken der wissenschaftlichen Untersuchung im Rahmen der o.g. Studie informiert wurde und ausreichend Gelegenheit hatte, meine Fragen hierzu in einem Gespräch mit ihm zu klären. Ich habe insbesondere die mir vorgelegte Teilnehmerinformation verstanden und eine Ausfertigung derselben und dieser Einwilligungserklärung erhalten.

Mir ist bekannt, dass ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen für mich oder mein Kind zurückziehen und einer Weiterverarbeitung der Daten und Proben jederzeit widersprechen und ihre Löschung bzw. Vernichtung verlangen kann.

Ich bin bereit, mein Kind an der wissenschaftlichen Untersuchung im Rahmen der o.g. Studie teilzunehmen zu lassen.

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie mein Kind betreffende personenbezogene Daten/Angaben durch den Studienarzt erhoben, pseudonymisiert auf elektronischen Datenträgern aufgezeichnet und verarbeitet werden dürfen. Ich bin auch damit einverstanden, dass die Studienergebnisse in anonymer Form, die keinen Rückschluss auf mein Kind als Person zulassen, veröffentlicht werden.

Darüber hinaus bin ich mit der Untersuchung des bei der Operation entfernten Blasenresektates und der hieraus ggf. entnommenen genetischen Materialien in pseudonymisierter Form für den Zweck der Studie durch den Studienarzt OA PD Dr. med. H. Schulte-Baukloh bzw. die urologische Universitätsklinik Leipzig (urologisches Forschungslabor PD Dr. rer. nat. Neuhaus) einverstanden.

---

Berlin, Datum

Unterschrift des/der Teilnehmers/in

---

Berlin, Datum

Unterschrift des gesetzlichen Vertreters

---

Unterschrift des gesetzlichen Vertreters

Hiermit erkläre ich, den/die o.g. Teilnehmer/in am \_\_\_\_\_ über Wesen, Bedeutung, Tragweite und Risiken der o.g. Studie mündlich und schriftlich aufgeklärt und ihm/ihr eine Ausfertigung der Information sowie dieser Einwilligungserklärung übergeben zu haben.

---

Berlin, Datum

Unterschrift d. aufklärenden Prüfarztes