

**Aus dem Institut für Experimentelle Endokrinologie
der Medizinischen Fakultät der Charite – Universitätsmedizin Berlin**

DISSERTATION

**Rolle des neonatalen Steroidimprinting
und eines peripuberalen Wachstumshormoneinflusses
in der Pathogenese der benignen Prostatahyperplasie
im Tiermodell der Ratte**

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

Vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charite – Universitätsmedizin Berlin

von

**Andrey Mitroshkin
aus Voronezh, Russische Föderation.**

Gutachter: 1. *PD Dr. med. F. Götz*
2. *Prof. Dr. med. V. Patchev*
3. *Prof. Dr. med. M. Pirlich*

Datum der Promotion: *18.11.2011*

Inhaltsverzeichnis:

1. Einleitung	8
1.1. Anatomie der Prostata	9
1.2. Die BPH: eine stromale Erkrankung	9
1.3. Klinische Zeichen und Stadien der BPH.....	10
1.4. Ätiologie und Pathogenese der BPH.....	11
1.4.1. Altersassoziierte Veränderungen der Hypothalamus- Hypophysen-Gonadenachse	11
1.4.2. Regulation der Wachstumskontrolle der Prostata im Alter.....	13
1.4.3. Sexualsteroidoide und Steroidimprinting	13
1.4.4. Proteohormone: Prolaktin und Wachstumshormon.....	15
1.4.5. Glykoproteinhormone: Follitropin.....	16
1.4.6. Insulin like-Wachstumsfaktor-System.....	17
1.4.7. Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF)/ Transformierender Wachstumsfaktor- α (TGF α).....	19
1.4.8. Fibroblasten-Wachstumsfaktoren.....	19
1.4.9. Transforming Growth Factor β	19
1.4.10. Luminale Faktoren.....	20
1.4.11. Genetische Faktoren.....	21
1.4.12. Exogene Faktoren.....	21
2. Ziel der Arbeit.....	23
3. Material und Methodik.....	24
3.1. Tierversuchsprotokoll.....	24
3.2. Substanzen.....	24
3.3. Neonatale Behandlung.....	24
3.4. Peripuberale Behandlung.....	25
3.5. Gewebspräparation und Morphometrie.....	26
3.6. Hormonanalytik.....	26
3.7. Datenverarbeitung.....	27
4. Darstellung der Ergebnisse.....	28
4.1. Auswirkungen der neonatalen Behandlung auf die Prostatamasse.....	28
4.2. Auswirkungen der peripuberalen Behandlung mit Wachstumshormon auf die Prostatamasse.....	29
4.3. Histologische Veränderungen.....	31

4.4. Hormonelle Veränderungen.....	39
5. Diskussion.....	43
6. Zusammenfassung	58
7. Anlage	60
8. Danksagung.....	64
9. Literaturverzeichnis.....	65
10. Selbstständigkeitserklärung.....	78

Abbildungsverzeichnis:

Abb. 1. Zoneneinteilung der Prostata.....	9
Abb. 2. Versuchsschema.....	25
Tab. 1. Symptome der BPH.....	10
Tab. 2. Endokrine Veränderungen beim alternden Mann.....	12
Fig. 1. Relative Massen der Prostatateile, alle Tiere ohne GH-Behandlung.....	28
Fig. 2. Relative Massen der lateralen Prostatateile.....	29
Fig. 3. Relative Massen der dorsalen Prostata-Anteile.....	30
Fig. 4. Relative Massen der ventralen Prostata-Anteile.....	30
Fig. 5. DHT-Spiegel.....	39
Fig. 6. Testosteron-Spiegel.....	40
Fig. 7. LH-Spiegel.....	41
Fig. 8. IGF-1 Spiegel.....	41
Farbtafel 1. Repräsentative Histologie: Kontrolle mit und ohne GH.....	32
Farbtafel 2. Estradiol mit und ohne GH.....	33
Farbtafel 3. DHT mit und ohne GH.....	34
Farbtafel 4. TP mit und ohne GH.....	35
Farbtafel 4a. TP(2) mit und ohne GH.....	36
Farbtafel 5. Finasterid mit und ohne GH.....	37
Farbtafel 6. Fadrozol mit und ohne GH.....	38

Liste der im Text verwendeten Abkürzungen:

5 α R	5 α alpha-Reduktase
AR	Androgen-Rezeptor
bGH	bovine growth hormone
BMP4	Bone-Morphogenic-Protein 4
BPA	Bisphenol A
BPH	benigne Prostatahyperplasie
cAMP	cyclo-Adenosinmonophosphat
CLL	chronische lymphatische Leukämie
CV	coefficient of variation
CYP17	Cytochrom 17
DES	Diethylstilbestrol
DHEA	Dehydroepiandrosteron
DHEAS	Dehydroepiandrosteronsulfat
DHT	Dihydrotestosteron
DLP	dynamamin-like protein
DNA	Desoxyribonukleinsäure
E2	Estradiol
EGF	Epidermaler Wachstumsfaktor
ER	Estrogenrezeptor
FGF	Fibroblasten-Wachstumsfaktoren
5 α R	5 α alpha-Reduktase
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GH	growth hormone
GHRH	Wachstumshormon-Releasing-Hormon
IGF	Insulin-like-growth factor
IGF-1R	Insulin-like-growth factor-1-Rezeptor
IGF-BP	Insulin-like-growth faktor- binding protein
IE	internationale Einheiten
kDa	Kilodalton
LH	Luteinisierendes Hormon

LUTS	Lower Urinary Tract Symptoms
MMAS	Massachusetts Male Aging Study
mRNA	messenger RNA
MSRF	methylation-sensitive restriction fingerprinting
NIH	National Institutes of Health
PIN	prostatic intraepithelial neoplasia
PR	Progesteron-Rezeptor
PRL	Prolactin
PSA	prostata specific antigen
RAR	Retinoid-Rezeptoren
ras	retrovirus-associated DNA sequences
RIA	Radioimmunoassay
s.c.	subcutan
SD	Standardabweichung
SHBG	Sexualhormonbindendes Globulin
Shh	Sonic Hedgehog
STH	s. GH
sol.	Solutio
TGF α	Transformierender Wachstumsfaktor
TGFR-1	Transformierender Wachstumsfaktor Rezeptor 1
TP	Testosteron-Propionat
Tx	Texas
UGS	Sinus urogenitalis

1. EINLEITUNG

Histologische Veränderungen des Prostatagewebes im Sinne einer benignen Prostatahyperplasie (BPH), die daraus resultierende gutartige Vergrößerung der Prostata und die durch BPH hervorgerufene untere Harntraktsymptomatik (bzw. LUTS für **lower urinary tract symptoms**) zählen zu den häufigsten Erkrankungen des alternden Mannes [Madersbacher et al. 1998].

Die Inzidenz einer BPH steigt ab der 3. Lebensdekade nahezu linear an und ist bei 80–90 % der über 80-jährigen nachweisbar [Madersbacher 1998]. Etwa die Hälfte aller Männer mit BPH entwickelt eine klinisch vergrößerte Prostata und davon wiederum etwa die Hälfte LUTS. Die zu erwartenden demographischen Veränderungen in den nächsten Jahrzehnten in Richtung höheren Alters unterstreichen die sozioökonomische Bedeutung dieser Erkrankung noch zusätzlich [Madersbacher et al. 1998 & 2001].

Die BPH sollte als wichtiger wirtschaftlicher Faktor betrachtet werden, dessen Therapiekosten sehr hoch sind und allein in den Vereinigten Staaten jährlich 4 Mrd. US-Dollar beansprucht [Neuhouser et al. 2004].

Neben dem Lebensalter per se ist der zweite etablierte Risikofaktor für die BPH ein intakter Androgenhaushalt. Eigenartigerweise entwickelt sich BPH aber in einem Lebensabschnitt, der durch einen langsamen Abfall der Androgenspiegel gekennzeichnet ist, so dass andere endokrine Parameter, aber auch Wachstumsfaktoren, Zell-Zell- sowie Epithel-Lumen-Interaktionen, genetische und exogene Faktoren an der Pathogenese der BPH mitbeteiligt sein müssen [Marcelli & Cunningham 1999; Ekman 2000; Hermann et al. 2000;].

Trotz zahlreicher Anstrengungen in der klinischen und der Grundlagenforschung ist die Ätiopathogenese der Prostatahyperplasie nach wie vor unklar.

Ein Memorandum der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften empfiehlt als Schwerpunkt der Grundlagenforschung für Prostatakarzinom und die BPH die Untersuchung des Einflusses der Wachstumsfaktoren und deren Modulation.

1.1. Anatomie der Prostata

In der Embryonalzeit entwickelt sich die Prostata unter 5-alpha-Dihydrotestosteron-Einwirkung aus dem Sinus urogenitalis. Sie wiegt beim Neugeborenen 1 bis 2 g. Nach Abschluß der sexuellen Reifepériode beträgt die Prostatamasse 17 bis 20 g und bleibt bei voller sekretorischer Funktion bis zum 40. Lebensjahr konstant.

Die Prostata besteht aus epithelialen Drüsengängen und fibromuskulärem Stroma. Die Einteilung nach McNeal gliedert die Prostata in einzelne Zonen (Abb. 1):

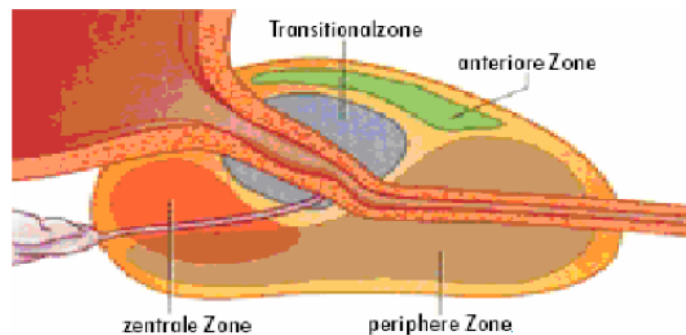


Abb. 1 Zoneneinteilung der Prostata (nach McNeal)

Die periphere Zone (75 Prozent) ist der Ursprungsort der meisten Prostatakarzinome. Die Transitionale Zone, das periprostatiche Segment (fünf bis zehn Prozent), liegt zylinderförmig zwischen Blasenhalshals und Samenbeutel; in dieser Zone (Übergangszonen und periurethrale Drüsen) kommt es durch Wucherung des Gewebes zur Prostatahyperplasie. Das Wachstum kann so stark sein, dass die periphere Zone kapselförmig komprimiert wird (so genannte chirurgische Kapsel).

1.2. Die BPH: Eine stromale Erkrankung

Die benigne Prostatahyperplasie zeigt eine signifikante Prädominanz des fibromuskulären Stromas (60 % Volumenanteil) gegenüber dem Anteil an Drüsenzellen (12 % Volumenanteil) und an Drüsenlumina (28 % Volumenanteil), wenn morphometrische Analysen zugrunde gelegt werden.

In absoluten Werten ausgedrückt nimmt bei der benignen Prostatahyperplasie im Durchschnitt das fibromuskuläre Stroma um das 4-fache zu, während sich der glanduläre Anteil nur knapp verdoppelt. Elektronenmikroskopisch fallen im Stroma aktivierte glatte Muskelzellen auf, die einen hohen Anteil an rauhem endoplasmatischem Retikulum, Golgi-Apparat und Mitochondrien haben. Diese aktivierten Zellen sind zur Synthese von bindegewebiger Matrix befähigt.

1.3. Klinische Zeichen und Stadien der BPH

Die Zeichen einer Prostatahyperplasie sind vielgestaltig: Es wird unterschieden zwischen den Reizerscheinungen, den irritativen Symptomen und den Zeichen von Entleerungsstörungen, den obstruktiven Symptomen (Tab. 1):

Obstruktive Symptome	Irritative Symptome
Abgeschwächter Harnstrahl	Erhöhte Miktionsfrequenz
Verlängerte Miktionszeit	Schmerzhafte Miktion
Harnstottern	Imperativer Harndrang
Nachträufeln	Dranginkontinenz
Restharn	Restharngefühl

Tab. 1. Symptome der BPH

Im Verlauf der Erkrankung unterscheidet man drei Stadien.

Im **Stadium 1** führt häufiger Harndrang zu einer Verkürzung der Miktionsintervalle (Pollakisurie), zu nächtlichem Aufstehen und einer Zunahme der nächtlichen Miktionsfrequenz (Nykturie). Der Beginn der Blasenentleerung wird verzögert (Startschwierigkeiten), der Harnstrahl abgeschwächt, Nachträufeln tritt auf.

Im **Stadium 2** kann die Blase nicht mehr vollständig entleert werden, es kommt zur Restharnbildung, wodurch die Entstehung von wiederkehrenden Blasen- und Prostataentzündungen bis zur Ausbildung von Prostataabszessen sowie die Entstehung von Blasensteinen begünstigt werden kann.

Im **Stadium 3** erfolgt eine Dekompensation der Blasenmuskulatur mit unwillkürlichem tropfenweisen Harnabgang, als Ausdruck einer Überlaufblase mit Restharnvolumina bis zu mehreren Litern. Dabei kann ein Harnrückstau in die Nieren zur obstruktionsbedingten Niereninsuffizienz bis zur Urämie führen. Auch werden aufsteigende Infektionen und Steinbildung im oberen Harntrakt begünstigt.

Bei etwa 25 % aller Patienten, die wegen einer Prostatahyperplasie im Stadium 2 bis 3 in Behandlung sind, tritt eine akute Harnverhaltung auf.

Schließlich darf man nicht vergessen, dass das Vorliegen der BPH immer die Gefahr der Entwicklung eines Prostatakarzinoms beinhaltet. Dieses Karzinom ist der häufigste klinisch manifeste Tumor des Mannes.

1.4. Ätiologie und Pathogenese der BPH

1.4.1. Altersassoziierte Veränderungen der Hypothalamus-Hypophysen-Gonadenachse

Querschnitts- und Longitudinalstudien konnten reproduzierbar eine kontinuierliche Abnahme von Testosteron und, im höheren Ausmaß, von freiem Testosteron nachweisen (Tabelle 2). Bei den gesunden Probanden der Massachusetts Male Aging Study (MMAS) sank das Testosteron jährlich um etwa 0,4 % ab, für das freie Testosteron wurde ein Wert von 1,2 % errechnet [Feldmann 2002].

Der stärkere Abfall des freien Testosterons ist durch den Anstieg des Sexualhormonbindenden Globulins (SHBG) im Alter mitbedingt. Parallel dazu steigt der Prozentsatz der Männer mit „hypogonadalen“ Testosteron-Werten, wobei diese Normwerte für junge Erwachsene definiert wurden, mit zunehmenden Alter an: 7% der 40–60jährigen, 20% der 60–80jährigen und 35% der über 80-jährigen. Bezüglich der Estrogenspiegel liegen widersprüchliche Publikationen vor, wobei ein klarer Alterstrend, vergleichbar zu den Androgenen, nicht nachweisbar ist [Gray et al. 1991, Vermeulen 1991; Hermann et al. 2000; Ekman 2000; Hermann & Berger M, 1999].

Diese Tatsache mag auf den ersten Blick erstaunen, da ja Androgene die Hauptquelle der Estrogene beim Mann sind und daher eher ein Abfall mit zunehmendem Alter zu erwarten wäre. Auf der anderen Seite findet die Aromatisierung von Androgenen zu Estrogenen vorwiegend im Fettgewebe statt, welches im Alter zunimmt.

Die Ursachen, die zur Abnahme der Androgene im höheren Lebensalter führen, sind nicht restlos geklärt, wahrscheinlich finden sich diese auf allen Ebenen der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Hormonachse [Hermann & Berger 1999; Hermann et al. 2000]. Auf testikulärer Ebene kommt es zu einer Reduktion der Leydig-Zellanzahl, einer verminderten Perfusion sowie einer eingeschränkten funktionellen Kapazität.

Obwohl gegenregulatorisch im Alter die Serumspiegel von LH ansteigen, sind diese Werte geringer als bei jungen Männern mit vergleichbar reduzierten Testosteronwerten, ein Hinweis für eine Beeinträchtigung der Hypothalamus-Hypophysen-Interaktion [Madersbacher et al. 1993]. Die Abnahme bzw. das Aufhören des zirkadianen Rhythmus der Testosteronspiegel wird auf einen Verlust der Schrittmacherfunktion im Hypothalamus zurückgeführt [Hermann & Berger 1999; Hermann et al. 2000].

Zusätzlich zum Alter per se haben auch „Life style“ (Übergewicht, Rauchen, Bewegungsmangel), genetische und psychologische Einflüsse (Depression, Stress), der Gesundheitsstatus (Blutdruck, Blutfette, Diät, Medikamente) und möglicherweise auch genetische Faktoren einen Einfluss auf die Serumandrogenspiegel.

Hormone	Serumspiegel		Alter	Veränderungen
	Junger Mann	Alternder Mann		
Testosteron	11,51 mmol/l	10,27 mmol/l	40/70	↓
Freies Testosteron	0,23 mmol/l	0,16 mmol/l	40/70	↓
DHT	0,85 mmol/l	=	40/70	↔
Estradiol	96,0 pmol/l	=	40/70	↔
DHEA	22,0 nmol/l	5,0 nmol/l	20-30/70-80	↓
DHEAS	12,0 µmol/l	3,0 µmol/l	20-30/70-80	↓
SHBG	26,2 nmol/l	37,9 nmol/l	40/70	↑
FSH	619 ng/l	1948 ng/l	27±4 /72±3	↑
LH	3,67 IU/l	6,65 IU/l	40/70	↑
GH	20 ng/ml	3,2 ng/ml	20-39/60-79	↓
Prolactin	6,8 µg/l	6,1 µg/l	40/70	↔

Tab.2. Endokrine Veränderungen beim alternden Mann (nach Hermann).

1.4.2. Regulation der Wachstumskontrolle der Prostata im Alter

Die Regulation des Wachstums der Prostata des alternden Mannes erfolgt, wie auch in der embryonalen und der puberalen Wachstumsphase, auf drei verschiedenen Ebenen. Diese Ebenen umfassen

- endokrine Faktoren (Sexualsteroide, Proteohormone, Glykoproteinhormone)
- lokal auto-/parakrin wirkende Faktoren (fibroblast growth factors (FGFs), insulin-like growth factors (IGFs), epidermal growth factor (EGF)).
- luminale Faktoren (Zink, Kallikreine, Prostaglandine), die primär zur Aufrechterhaltung optimaler Fertilitätsbedingungen dienen, retrograd jedoch auch das Wachstum und die Differenzierung sekretorischer Epithelzellen beeinflussen können [Hermann et al. 2000].

Absolute und relative Konzentrationsveränderungen all dieser Faktoren sind vermutlich ursächlich für die altersassoziierten proliferativen Wachstumsstörungen der Prostata verantwortlich.

1.4.3. Sexualsteroide und Steroidimprinting

In den letzten Jahrzehnten wurden mehrere Hypothesen zur Pathogenese von BPH basierend auf Veränderungen der Sexualsteroid-Verfügbarkeit postuliert. Entwicklung und Wachstum der Prostata in der Pubertät sind von Testosteron („**Testosteron-Hypothese**“) bzw. dessen intrazellulärem Metaboliten Dihydrotestosteron (DHT) abhängig. Das stärkste Argument für diese „Testosteron-Hypothese“ ist die Beobachtung, dass Männer, die vor der Pubertät kastriert wurden (Eunuchen) oder die an einem kongenitalen Mangel der 5 α -Reduktase (5 α R), Schlüsselenzym der intrazellulären Umwandlung von Testosteron zu DHT (siehe unten), leiden, keine BPH (und auch kein Prostatakarzinom) entwickeln. Einschränkend muss an dieser Stelle erwähnt werden, dass präpuberal kastrierte Männer keine vergleichbare Prostata entwickeln, da die Zelldifferenzierung, vor allem des sekretorischen Epithels, von Androgenen abhängig ist.

Etwa 90–95% des Testosterons stammen beim gesunden Mann aus den Leydig-Zellen im Testis. Der zelluläre Effekt des Testosterons in der Prostatazelle erfolgt stufenweise. Zunächst diffundiert das freie Testosteron in die Zelle und wird durch die 5 α -Reduktase (Typ II) irreversibel in DHT umgewandelt [Bartsch et al. 2000].

Diese 5 α R Typ II ist im endoplasmatischen Retikulum an der Kernmembran lokalisiert. Beim Menschen sind zwei Isoformen der 5 α R bekannt. Die 5 α R Typ I wird am kurzen Arm von Chromosom 5 codiert und vor allem in der Haut und der Leber exprimiert. In der Prostata ist vor allem der Typ II vorhanden; diese wird am kurzen Arm des Chromosoms 2 codiert [Bartsch et al. 2000]. Die androgene Wirkung des DHT ist aufgrund der höheren Affinität zum Androgenrezeptor etwa 5–10 mal stärker als die der Vorläufersubstanz Testosteron. Zudem ist in der Prostata die Konzentration des DHT 5mal höher als jene des Testosterons, obwohl zirkulierende DHT-Mengen nur etwa 10% von Testosteron ausmachen. Als aktiver intrazellulärer Metabolit bindet DHT an den Androgenrezeptor, der anschließend in den Kern transloziert wird, an Promotoren verschiedener Gene (PSA, EGF, myc) bindet und deren Transkription induziert.

Die „**Estrogen-Hypothese**“ beruht auf einer Reihe von experimentellen und klinischen Beobachtungen. Im Tiermodell konnte an Hunden gezeigt werden, dass Estrogene synergistisch mit Androgenen eine glanduläre Hyperplasie induzieren [Ekman 2000; Gann et al. 1995]. Das Prostatastroma, welches das dominante Gewebe bei BPH ist, scheint der primäre Angriffspunkt der Estrogene zu sein. Das Stroma von BPH-Patienten weist einen höheren Anteil von Estrogenen (möglicherweise als Folge einer erhöhten lokalen Aromatase-Aktivität) als die normale Prostata auf [Ekman 2000].

Obwohl die Expression von Estrogenrezeptoren in der Prostata relativ gering ist, scheinen diese Rezeptoren für das Stammzellwachstum von Bedeutung zu sein.

Man unterscheidet verschiedene Typen von Estrogenrezeptoren (ER): Der ER-alpha ist vor allem im Stroma der Prostata zu finden. Seine Expression kann durch die Gabe von Testosteron (T) und Estradiol verstärkt werden, während die alleinige Verabreichung von T die ER-alpha mRNA- Spiegel zu senken vermochte [Fujimoto et al. 2004]. Der ER-beta ist hingegen im Epithelium vorzufinden und konnte in normalen, hyperplastischen und malignen Prostatageweben isoliert werden. In vitro Gabe von Estrogenen hat einen antiproliferativen Effekt auf die epithelialen Gewebeanteile, die dem ER-beta zugeschrieben wird [Jarred et al. 2000], und beta-knockout Mäuse weisen verstärkt Hyperplasien des Prostataepithels auf [Weihua et al. 2002].

Ein weiteres Argument für die Estrogenhypothese ist die altersbedingte Verschiebung der Ratio von Androgen/Estrogen im Serum, die durch die Abnahme der Androgene bei gleichbleibenden Estrogenen charakterisiert ist. In einer Querschnittsstudie des Arbeitskreises Prostata der Österreichischen Gesellschaft für Urologie konnte gezeigt werden, dass überraschenderweise das Prostatavolumen nicht mit dem Testosteron, sondern mit den Estrogenserumspiegeln korrelierte [Schatzl et al. 2000].

1.4.3.1. Neonatales Steroidimprinting

Während wichtiger Phasen der neonatalen Zelldifferenzierung findet das sogenannte Steroidimprinting statt, das möglicherweise eine wichtige Rolle in der Pathogenese der BPH spielt; während dieses Prozesses werden in Zellen mit Rezeptoren für Steroidhormone durch Steroideinwirkung auf permanente Weise Gene an- oder ausgeschaltet; ein Prozess, der sich auf die gesamte Entwicklung des Organs und seine spätere Reagibilität bezüglich einwirkender Hormone auswirkt. Zusätzlich kann die Transkription von Genen, die während dieser kritischen Phase aktiv sind, von den einwirkenden Steroiden auf Dauer verändert werden [vom Saal et al. 1997].

Wird nun Estrogen in der neonatalen Phase verabreicht, bleibt das Gewicht der jungen Prostata gering. In der alternden Prostata jedoch erhöhte sich das Risiko für Hyper- und sogar Dysplasien, wenn Androgene zusätzlich zu Estrogenen verabreicht wurden. Bei einer Erhöhung der freien Serumkonzentration des Estradiols um 50% (neonatal) konnte an Mäusen eine Hyperplasie der Prostata um 27% relativ zu der unbehandelten Kontrollgruppe gezeigt werden [vom Saal et al. 1997]. Interessanterweise konnte im gleichen Modell über eine sehr hohe neonatale Estradioldosis (1.70 pg/ml) eine Reduktion des Prostatavolumens im adulten Zustand demonstriert werden. Bei niedrigen Androgendosen während der neonatalen Phase erhöhte sich zusätzlich zum Prostatavolumen die Anzahl der Androgenrezeptoren in der adulten Phase [vom Saal et al. 1997].

1.4.4. Proteohormone: Prolaktin (PRL) und Wachstumshormon (STH, GH)

PRL, GH und Plazentare Laktogene (PL) bilden beim Menschen die Familie der Proteohormone, deren Mitglieder sich im Rahmen der Evolution durch Segregation aus einem gemeinsamen Vorläufer entwickelt haben. Funktionell ist Prolaktin in der Lage, die Proliferation und Differenzierung von Prostataepithelzellen zu stimulieren [Nevalainen et al. 1997; Reiter et al. 1999].

In transgenen Mäusen, die PRL überexprimieren, wurde eine bis zu 20-fache Gewichtszunahme der Prostata beobachtet [Wennbo et al. 1997], ein Effekt, der teilweise auf die stimulierende Wirkung von PRL auf die testikuläre Steroidgenese zurückzuführen sein könnte [Reiter et al. 1999]. Dies scheint jedoch nur für die sekretorisch differenzierten Zellen von Bedeutung zu sein, da nur diese den PRL-Rezeptor besitzen. So wurde auch nur in diesen Zellen eine erhöhte DNA-Synthese in Organkulturen nach exogener PRL-Zugabe gemessen. Für diese Effekte ist nicht nur zirkulierendes PRL hypophysären Ursprungs verantwortlich, sondern auch PRL, welches lokal im Stroma der Prostata, reguliert durch Faktoren aus den Epithelzellen im Sinne einer epithelial-stromalen Wechselwirkung, produziert wird [Untergasser et al. 2001]. Dadurch wird das lokal verfügbare und wirksame PRL wesentlich erhöht. PRL kommt daher eine wesentliche Rolle in der physiologischen und pathologischen Wachstumsregulation der Prostata zu. Weitere Effekte sind die Stimulation der mitochondrialen Aspartat-Amino-Transferase und des Zink-Aufnahme-Mechanismus über einen transmembranen Zinktransporter [Costello et al. 1999]. Von Interesse ist zudem die androgenabhängige Produktion von PRL in Organkulturen von Rattenprostatae, was die Rolle von PRL als auto-/parakrin wirksamen Wachstumsfaktor unterstützt [Schatzl et al. 2000].

GH wird von der Hypophyse auf Stimulus durch Wachstumshormon-Releasing-Hormon (GHRH) produziert und sezerniert. Direkt wird GH durch einen eigenen Rezeptor wirksam, indirekt werden biologische Effekte des GH durch die Bildung von IGF-1 vermittelt (s. unten). In der Prostata ist beides der Fall. Dabei kann man einen proliferativen Einfluss von GH auf Epithelzellen und Stromazellen der Prostata nachweisen [Untergasser et al. 1999], der durch GH-Antagonisten blockiert werden kann [Reiter et al. 1999].

1.4.5. Glykoprotein hormone: Follitropin (FSH)

FSH, ebenfalls in der Hypophyse gebildet, spielt im Testis für die Reifung der Spermien eine wesentliche Rolle. Der FSH-Rezeptor ist jedoch auch in der Prostata exprimiert. Gleichzeitig wird in Prostatazellen ein Isoenzym der Aromatase exprimiert, das Androgene in Estrogene konvertiert, ein Mechanismus, der aus den Granulosazellen des Ovars bekannt ist. Nachdem eine Prostatavergrößerung nur in Kombination von Androgenen und Estrogenen beobachtet wird (siehe oben), könnten auf diese Weise das Wachstum und die Pathogenese der BPH wesentlich beeinflusst werden [Reiter et al. 1999].

1.4.6. Insulin like-Wachstumsfaktor-System (IGF)

Der IGF-1 gehört zu den Somatomedinen, die durch Einwirkung des STH in der Leber gebildet werden und in vielen Geweben die Wirkung des STH vermitteln. IGF-1 ist ein einkettiges Polypeptid, welchem ein hochmolekulares Trägerprotein, das IGF-BP als Transportmittel im Plasma dient [Löffler & Petrides 2003]. Hierbei ist vor allem die Funktion des IGFBP-3 als wichtigster Modulator der biologischen Aktivität und Verfügbarkeit des IGF-1 hervorzuheben [Aksoy et al. 2004]. Der Rezeptor IGF-1R ähnelt dem Insulinrezeptor beträchtlich: er besteht aus je zwei alpha- und beta- Untereinheiten, wobei letztere Tyrosinkinaseaktivität besitzen [Löffler & Petrides 2003]. Über diesen Membranrezeptor (IGF-R1) und seine Tyrosinkinaseaktivität wirkt IGF-1 antiapoptotisch auf Epithel- und Stromazellen der Prostata und somit verstärkt positiv auf mögliche hypertrophe Veränderungen [Monti et al. 2001].

Die mitogenen und antiapoptotischen Eigenschaften des IGF-1 hatten zur Hypothese geführt, zwei der wichtigsten Faktoren in der Pathogenese der BPH könnten sowohl ein erhöhter Plasmaspiegel des IGF-1 - welchem eine proliferative Wirkung im Prostatagewebe zugeschrieben wird - als auch erniedrigte Plasmaspiegel seines Bindeproteins IGFBP-3 sein, da letzterer Fall die biologische Aktivität des IGF-1 erhöhen würde [Stattin et al. 2001; Chokkalingam et al. 2002; Oliver et al. 2004]. So wird zum Beispiel die niedrige Inzidenz von BPH und Prostatakarzinomen in der arabischen Bevölkerung den dort nachgewiesenen niedrigeren IGF-1-Plasmaspiegeln zugeschrieben [Kehinde et al. 2005].

Ein weiterer Beleg für die mitogene Wirkung von IGF-1 ist die Tatsache, dass ein hoher Prozentsatz von Patienten mit Akromegalie an einer durch den ständigen Exzess von GH und IGF-1 induzierten BPH leidet, die sich aber als reversibel erweist, wenn der Plasmaspiegel des Gewebewachstumsfaktors sinkt [Colao et al. 2000].

Der Plasmaspiegel des IGF-1, so wird postuliert, steht demzufolge in positiver Korrelation mit dem benignen Wachstum der Prostata, hier insbesondere der lateralen, posterioren und ventralen Lobi [Aksoy et al. 2004]; das Volumen des ventralen Lobus scheint hierbei direkt mit der Expression der IGF-1 - mRNA zu korrespondieren [Sanna et al. 2002].

Auf genetischer Ebene kann eine Assoziation zwischen der BPH und einem Cytosin - Adenin Polymorphismus in der Promotorregion des IGF-1 festgestellt werden (19-Allele), welcher das Risiko für die Entwicklung einer BPH bei homozygoten Trägern signifikant erhöht [Wu et al. 2001].

Weiterhin wird in den BPH-betroffenen Zellen eine erhöhte Expression von IGF-1, dessen Bindungsprotein, aber auch anderer Wachstumsfaktoren wie IGF-2 und TGF-beta3 beobachtet [Luo et al. 2002].

Steht IGF-1 in positiver Korrelation zur BPH, so muss, wie oben schon erwähnt, sein Trägerprotein und Modulator seiner biologischen Aktivität, das IGFBP-3 in negativer Korrelation mit der BPH verbunden sein. IGFBP-3 hat in der Pathogenese der BPH mit hoher Wahrscheinlichkeit mehr Signifikanz als sein Ligand IGF-1 [Chokkalingam et al. 2002].

Es konnte bewiesen werden, dass niedrige Plasmakonzentrationen des Bindeproteins mit größerer Sensitivität das Vorhandensein einer BPH ausdrücken; demnach besitzt IGFBP-3 wahrscheinlich große Relevanz für Hyperplasien der Prostata [Chokkalingam et al. 2002]. Für IGFBP-3 wurde eine IGF-unabhängige Apoptoseinduktion, die durch TGF- β mediiert ist, gezeigt [Rajah et al. 1997].

Ein interessanter Aspekt ist die Beziehung zwischen dem Prostata-spezifischen Antigen (PSA) und dem IGFBP-3. Letzteres wird durch das PSA abgebaut, so dass sich die niedrigen IGFBP-3-Spiegel in der BPH möglicherweise durch die normalerweise erhöhten PSA-Spiegel erklären lassen können [Oliver et al. 2004]. Zusammenfassend scheint das Risiko, an BPH zu erkranken dann vermindert zu sein, wenn die Plasmaspiegel des IGFBP-3 normal oder erhöht sind [Chokkalingam et al. 2002].

Eine kurze Bemerkung soll dem IGF-2 gelten; auch hier wird die Wirkung hauptsächlich über den IGF-Rezeptor-1 (IGF-R1) vermittelt, sie ist also unter Vorbehalt vergleichbar mit der des IGF-1.

Fraglich ist, wie im Vergleich zur prominenten Rolle, die dem IGF-1 in der Pathogenese der BPH zugeschrieben wird, die Relevanz des IGF-2 zu verstehen ist. Patienten mit BPH weisen in der periurethralen Zone (also dem Ort, an dem BPH entsteht) im Allgemeinen erhöhte Expression des IGF-2 und des IGF-R1 auf [Monti et al. 2001]. Diese erhöhte Aktivität beruht möglicherweise auf dem Einfluss von Androgenen, vornehmlich DHT, welches auf transkriptionaler- und posttranskriptionaler Ebene stimulierend auf die IGF-2-Produktion wirkt [Gann et al. 1995].

Die Bioaktivität von IGF-1 wird von den Androgenen beeinflusst: sie erhöhen die Expression des IGF-R1; im Gegenzug bewirkt eine antiandrogene Therapie eine Erhöhung des IGFBP-3-Plasmaspiegels [Chokkalingam et al. 2002].

1.4.7. Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF) / Transformierender Wachstumsfaktor- α (TGF α)

Diese mitogen wirksamen Faktoren werden in der normalen Prostata ausschließlich in den Epithelzellen produziert [De Bellis et al. 1996]. Im Rahmen der Kanzerogenese stellen diese die Produktion von EGF auf TGF um. Dies hat den Effekt, dass der von beiden verwendete EGF-Rezeptor aufgrund der verminderten negativen Rückkoppelung von TGF auf die EGF-Rezeptor-Produktion vermehrt exprimiert wird, was zu ungehindertem Wachstum führen kann und somit die Kanzerogenese wesentlich beeinflusst [Seth et al. 1999].

1.4.8. Fibroblasten-Wachstumsfaktoren (FGF)

Die Mitglieder der FGF-Familie sind sehr potente Wachstumsfaktoren und werden im Stroma der Prostata produziert, wo sie als autokrine Mitogene für stromale Zellen wirken. Am meisten wird FGF-7, auch bekannt als Keratinocyte growth factor (KGF), produziert, gefolgt von FGF-2 und FGF-1. Durch die Expression der FGF-Rezeptoren I und II im Epithel der Prostata ist neben dem autokrinen Mechanismus im Stroma auch eine stromal-epitheliale Wechselwirkung denkbar [Ittman & Mansukhani 1997].

Eine Involvierung dieser Faktoren in die Pathogenese von BPH liegt, wie bei Komponenten des IGF-Systems, durch die vermehrte Expression des FGF-1-Rezeptors in BPH-Gewebe nahe [Hamaguchi et al. 1995].

1.4.9. Transforming Growth Factor β (TGF- β)

Bemerkenswerterweise ist die Konzentration von TGF- β 1 im Seminalplasma viel höher als in anderen Körperflüssigkeiten [Chu et al. 1996]. Eine mögliche Quelle dafür stellt die Prostata dar, wo TGF vorwiegend in den Basalzellen produziert wird.

Die dazugehörenden Rezeptoren zeigen ein differenziertes Expressionsmuster: der TGFR-1 ist in Basalzellen vorhanden, während Typ II in sekretorischen Zellen gefunden wird [Royuela et al. 1998].

Funktionell betrachtet ist TGF- β ein pleiotroper Faktor, der einerseits in der Lage ist, das Wachstum von Epithelzellen durch Induktion von Apoptose zu inhibieren, andererseits im Prostatastroma die Differenzierung von Fibroblasten in glatte Muskelzellen fördert. Dies wiederum fördert die Bildung von für die BPH charakteristischen Stroma-Noduli, die großteils glatte Muskelzellen beinhalten [Lee et al. 1999].

Weiterhin findet während der malignen Transformation ein Verlust von zur Signaltransduktion befähigten TGF-Rezeptoren statt.

Dies führt durch Verlust der biologischen Rückkopplung zu einer vermehrten Produktion von TGF- β . Die Folge ist, dass durch den Rezeptorverlust die TGF- β -medierte Wachstumsinhibition wegfällt. Gleichzeitig werden jedoch eine vermehrte Produktion von extrazellulärer Matrix sowie eine erhöhte Angiogenese beobachtet. Beides sind TGF- β -abhängige Effekte und korrelieren mit dessen Anstieg während der Karzinogenese [Lee et al. 1999].

1.4.10. Luminale Faktoren PSA, Prostaglandine und Zink.

Im Alter kann die Sekretion von Proteinen und kleinmolekularen Substanzen verändert sein. Ein bedeutendes Sekretionsprodukt der Prostata ist PSA.

Es wird auf Androgenstimulus in den sekretorischen Epithelzellen produziert und dient als diagnostischer Marker für das Prostatakarzinom. Neben dieser klinischen Verwendung hat PSA jedoch auch biologische Funktionen.

Es ist ein Kallikrein, also Mitglied einer Serin-Protease-Familie, und spielt so eine wesentliche Rolle bei der Liquifikation des Ejakulates durch die Spaltung von Semenogelin I und II. Als eine Serin-Protease ist es auch in der Lage, IGFBP-3 in vitro zu spalten, was eine vermehrte Aktivität von IGF zur Folge hat und das Vorkommen von IGFBP-3 Fragmenten in humanem Seminalplasma erklären würde. Die anderen IGFBPs dienen PSA nicht als Substrat und werden auch nicht in fragmentierter Form im Seminalplasma gefunden [Plymate et al. 1996]. Daraus resultiert eine vermehrte Bioverfügbarkeit von IGF, wodurch der Eingriff von PSA auch in die Wachstumsregulation der Prostata gegeben ist.

1.4.11. Genetische Faktoren

Auch genetischen Faktoren wird eine Rolle bei der Pathogenese von BPH zugeschrieben. Sanda und Mitarbeiter konnten zeigen, dass das Risiko einer Prostatektomie bei Verwandten von Männern, die an einer sich bereits in frühen Jahren manifestierenden BPH leiden, 68% im Vergleich von nur 17% bei der Kontrollgruppe beträgt [Sanda et al. 1997]. Ähnliche Schlussfolgerungen wurden aus Zwillingsstudien abgeleitet. In den letzten Jahren wird zunehmend die Bedeutung von Polymorphismen in Genen, die den Androgenhaushalt regulieren, als genetische Marker für das Prostatakarzinom, aber auch für BPH diskutiert. Die diesbezüglich interessantesten Genpolymorphismen betreffen den Androgenrezeptor, die 17 α -Hydroxylase (CYP17, Schlüsselenzym der Testosteronbiosynthese) sowie die 5 α -Reduktase [Schatzl et al. 2001; Shibata et al. 2001].

Wesentlich in diesem Zusammenhang erscheint die Tatsache, dass die Länge der CAG-Repeats in der transaktivierenden Domäne des Androgenrezeptors eine Rolle für die Entwicklung des Karzinoms darstellt.

Dabei gilt, dass je kürzer diese Sequenz ist, desto aktiver ist der komplexierte Rezeptor, d. h. die Aktivität der Androgene ist wesentlich gesteigert. Asiaten haben im Vergleich zu Kaukasiern längere CAG-Repeats, wodurch das unterschiedliche Karzinomrisiko in diesen Bevölkerungsgruppen teilweise erklärt werden könnte.

Da manche dieser Genpolymorphismen relativ einfach in peripheren Blutlymphozyten bestimmt werden können, ist es durchaus in Zukunft denkbar, dass das genetische Risiko für BPH abgeschätzt werden könnte.

1.4.12. Exogene Faktoren

Obwohl nur wenige Studien zu exogenen Risiken für BPH existieren, wird in der Literatur deutlich, dass der westliche Lebensstil mit all seinen Konsequenzen (u.a. Fettsucht, Diabetes, Hypertonie) mit der BPH zumindest assoziiert ist. So vermögen augenscheinlich gute kardiovaskuläre Konditionen sich positiv auf die Gesundheit der Prostata auszuwirken [Moyad et al. 2003].

Als wichtige Negativ-Faktoren seien auch hohe Cholesterinspiegel und Dyslipidämie genannt, die über die Steroidsynthese den Androgenspiegel und somit natürlich auch das Risiko für die Entwicklung einer BPH beeinflussen [Neuhouser et al. 2004].

Auch starke Alkoholkonsumenten haben mit großer Wahrscheinlichkeit ein erhöhtes BPH-Risiko; interessanterweise konnte eine U-förmige Risiko-Konzentrationskurve erstellt werden: Männer, die dreimal am Tag Alkohol zu sich nehmen, haben 50% weniger Risiko an einer BPH zu erkranken, als Männer, die gar keinen Alkohol konsumieren. Dieser protektive Effekt vermindert sich allerdings um 14%, sobald mehr als fünfmal am Tag Alkohol getrunken wird [Neuhouser et al. 2004].

Als ein weiteres Beispiel kann die folgende Tatsache erwähnt werden: asiatische Männer, die in Asien leben, haben neben einem bis zu 100-fach geringeren Prostatakarzinomrisiko auch kleinere Prostatae (vor allem der Transitionalzone) als Männer, die in westlichen Industrieländern leben. Dieser Unterschied wird bei Immigranten, die aus dem asiatischen Raum in die USA oder Australien einwandern, geringer. Dies ist ein weiterer Hinweis für umweltbedingte, aber vor allem ernährungsbedingte Faktoren für die Entstehung einer BPH [Jin et al. 1999]. Mehreren Ernährungsgewohnheiten, wie Fettzufuhr und Fleischkonsum, wurden diese Unterschiede zugeschrieben.

Darüber hinaus ist die traditionelle fernöstliche Ernährung reich an Phytoestrogenen, welche in hohen Konzentrationen in verschiedenen Gemüse- und Getreidefrüchten (vor allem Soya), vorkommen. [Rumpold et al, 2002].

2. ZIEL DER ARBEIT

Das Hauptziel des Versuchsvorhabens dieser Arbeit ist die Klärung der Frage, ob und inwieweit ein neonatales Steroidimprinting die Reagibilität der Prostata auf Wachstumsfaktoren beeinflusst und somit eine Rolle in der Pathogenese der benignen Prostatahyperplasie spielt.

Die Arbeit beschäftigt sich mit der bisher nicht geklärten Rolle des GH-IGF-1-Systems sowie mit der Abhängigkeit von dessen Aktivität vom neonatalen Imprinting in der Pathogenese der BPH, ausgehend von der Hypothese, dass das neonatale Steroidhormon-Milieu die Reagibilität der Prostata auf GH und/oder IGF-1 im späteren Leben irreversibel verändert und die Entstehung der benignen Prostatahyperplasie begünstigt.

Um diesen Zusammenhang zu klären, wählten wir aus praktischer Erwägung und auch in Bezug auf zu erfassende Hormonparameter ein entsprechendes, von uns zu adaptierendes Versuchsmodell an der Ratte. Zum einen ist die menschliche Prostata mit der Prostata der Ratte morphologisch vergleichbar, und zum anderen wurde die Eignung der Ratte für derartige Fragestellung in mehreren Studien belegt (z. B. Prins et al., 1995 – 2008). Demnach schien es wichtig zu überprüfen, ob durch die Kombination von neonatalem Steroidimprinting und peripuberaler Verreichung von Wachstumshormon ein histologisch vergleichbares Tiermodell der menschlichen BPH kreiert werden kann. Als Parameter dienten das histologische Bild der Prostata, die relativen Organgewichte der Prostata sowie die Serumpiegel der Hormone Testosteron, Dihydrotestosteron, LH und IGF-1.

Ein weiteres Ziel der Arbeit war es, ein innovatives Tiermodell der BPH an der Ratte zu entwickeln.

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1. Tierversuchsprotokoll

Alle Behandlungsprozeduren und Experimente wurden vom Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit (jetzt Landesamt für Gesundheit und Soziales), Berlin, genehmigt und befinden sich im Einklang mit nationalen gesetzlichen Regelungen des Tierschutzes, sowie mit den NIH Guidelines on Animal Welfare.

3.2. Substanzen

Das humane Wachstumshormon (Genotropin©) wurde freundlicherweise von der Firma Novo Nordisk zur Verfügung gestellt.

Als 5-alpha-Reduktasehemmer wurde Finasterid von der Firma Steraloids Inc. eingesetzt.

Aromatasehemmer Fadrozol wurde freundlicherweise von der Firma Novartis gespendet.

3.3. Neonatale Behandlung

Gravide Wistar-Ratten wurden von Charles River Laboratories (Sulzfeld, Deutschland) bezogen. Die Tiere wurden einzeln in Makrolon-Käfigen unter kontrollierten Licht- und Temperatur-Bedingungen (Lichtrhythmus 12:12 Stunden, Licht ein von 06:00 bis 18:00; Raumtemperatur 22-24 °C, Luftfeuchtigkeit 65-70%) gehalten und hatten uneingeschränkten Zugang zu Standardfutter (Altromin, Lage, Deutschland) und Trinkwasser.

Die neugeborenen Tiere wurden zu Würfen von 6 bis 8 gruppiert und, mit der Ausnahme der für die Behandlung notwendigen Zeiten von 5 bis 10 Minuten, von der Mutter bis zum 21. Lebenstag nicht getrennt.

Von 2. bis zum 12. postnatalen Tag erfolgte an jedem 2. Tag die subcutane (s.c.) Gabe von Steroiden bzw. Enzymhemmern:

- Estradiolbenzoat: 5 µg /0,1 ml
- DHT: 1 mg /0,1 ml
- Fadrozol (Aromatasehemmer): 500 µg /0,1 ml

- Finasterid (5 α -Reduktasehemmer): 500 μ g /0,1 ml
- Testosteronpropionat: 250 μ g /0,1 ml

Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten s.c. Injektionen des Lösungsmittels (Oleum arachidis) nach dem selben Behandlungsschema. Ab dem 21. Lebenstag wurden die Tiere von den Müttern getrennt und in Gruppen von 4-5 Tieren mit freiem Zugang zu Nahrung und Trinkwasser gehalten.

3.4. Peripuberale Behandlung

Vom 45. bis zum 60. Lebenstag erhielt die Hälfte der Tiere aus jeder Gruppe s.c. 1x täglich. Injektionen von humanem Wachstumshormon (1 IE/ 0,2 ml). Die andere Hälfte der Tiere diente als Kontrollgruppe und erhielt s.c. Injektionen des Lösungsmittels (sol. Natrii chloridi 0,9%).

Am 60. Lebenstag wurden die Tiere durch schnelle Dekapitation getötet und entblutet. Die Prostata wurde für histologische Untersuchungen entnommen.

Das Versuchsschema ist auf der Abb. 2 dargestellt.

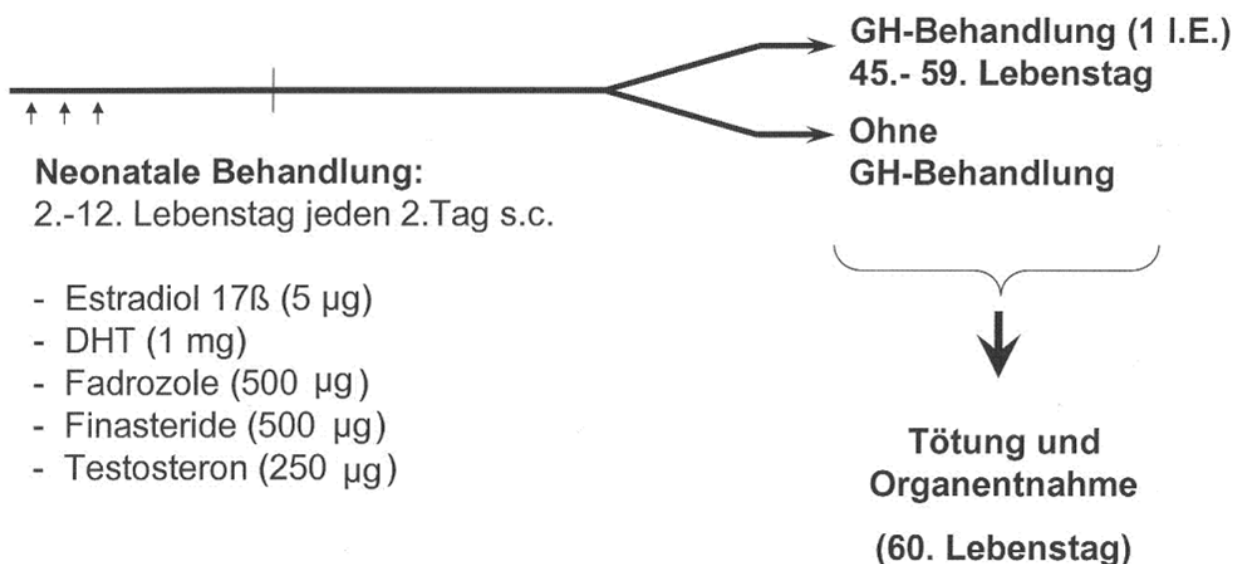


Abb. 2. Versuchsschema

3.5. Gewebspräparation und Morphometrie

Die 59 Tage alten bzw. die 60 Tage alten Tiere wurden durch schnelle Dekapitation getötet. Alle drei Prostatateile (Pars ventralis, Pars dorsalis und Pars lateralis) wurden separat präpariert, unmittelbar nach der Entnahme gewogen und auf Trockeneis schnell eingefroren. Bis zur Verarbeitung wurden die Organe bei -80°C gelagert.

Aufbereitung der Prostatateile

Es wurde Serien-Kryoschnitte von 10 µm Dicke von jedem Lobus jeder Prostata angefertigt. Nach Hämatoxilin-Eosin-Färbung wurden die Sektionen für histologische Auswertungen gesammelt. Zur Mikroskopie wurde ein Zeiss Axioskop System und das Bildanalyse-Programm KS 400 (Zeiss, Deutschland), verwendet.

3.6. Hormonanalytik

Blutproben zur Bestimmung folgender Parameter wurden nach der Dekapitation der Tiere entnommen:

- IGF-1
- LH
- Testosteron
- DHT

Die Blutproben wurden bei 7000 U/min bei Raumtemperatur zentrifugiert; die Serumproben wurden bei -80°C bis zur Analyse aufbewahrt.

Die **Hormon-Konzentrationen** wurden mittels eines Doppelantikörper-Radioimmunassays (RIA) bestimmt.

Testosteron wurde mittels eines kommerziellen RIA-Sets der Firma DSL bestimmt (DSL-4100, Fa. DSL, Webster, Tx, USA, Sensitivität 0.05 ng/ml; intra-assay CV 7.5%, inter-assay CV 8.1%; cross reactivity mit DHT 6.6%, mit Estradiol-17β 0.4%).

LH-Konzentrationen wurden mit einem Doppelantikörper – RIA gemessen. Ratten-LH (NIADDK Rat LH I-5, NIH, Bethesda, M) wurde mit I-125 (IMS-30, Amersham) nach einer modifizierten Chloramine-T-Methode markiert und chromatographisch an Sephadex-G50 mit anschließender Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese gereinigt.

Anti-rat LH (cat. BP 603, Acris GmbH, Hiddenhausen) und NIADDK-Rat LH-RP 1 wurden im Assay als Referenz verwendet. Die Werte wurden in ng/ml von RP1 gemessen. Alle Proben wurden doppelt gemessen, der intra-assay Variationskoeffizient betrug 5,4%, der inter-assay Variationskoeffizient betrug 11%.

DHT wurde mittels eines kommerziellen RIA-Sets der Firma IBL bestimmt (IBL; Hamburg, Germany). Sensitivität 6.0 pg/ml, intra-assay CV 6.92%, inter-assay CV 8.5%; cross reactivity mit Testosteron 8.76%, nach Angaben des Herstellers beeinflusst diese die Testergebnisse nicht, da ein vorhandenes komplexes Puffer-System die Testosteronbindung an den Antikörper verhindert.

IGF-1 wurde mit einem kommerziellen Doppelantikörper – RIA gemessen (Diagnostic System Laboratories Deutschland GmbH, Sinsheim). Die Serumproben wurden zunächst mit angesäuertem Ethanol extrahiert und nach Neutralisation bearbeitet. Die Werte wurden in ng/ml gemessen. Alle Proben wurden doppelt gemessen, der intra-assay Variationskoeffizient lag zwischen 3,8% und 5,9%, der inter-assay Variationskoeffizient betrug 3,2% - 9,7% für die Werte zwischen 323 und 1604 ng/ml.

3.7. Datenverarbeitung

Statistische Gruppenvergleiche der Daten von der Bestimmung der relativen Prostatamasse sowie der Hormonkonzentrationen wurden mit einfacher Varianzanalyse (ANOVA) und, wenn angebracht, mit Dunnett-Test gegenüber den bei Kontrolltieren ermittelten Daten durchgeführt. Signifikanzen zwischen GH-behandelten- und GH-unbehandelten Gruppen wurden jeweils mittels t-Test durchgeführt.

Die Berechnungen erfolgten mit der statistischen Software InStat 3.0 (GraphPad).

4. DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE

4.1. Auswirkungen der neonatalen Behandlung auf die Prostatamasse im Erwachsenenalter

Die neonatale Behandlung mit Steroiden bzw. mit dem 5 α -Reduktasehemmer oder mit dem Aromatasehemmer verursachte Unterschiede der relativen Prostatamasse (Organmassen in mg pro 100 g Körpermasse).

Eindeutig signifikant gegenüber der Kontrolle sind die durch neonatale Estrogenbehandlung bedingten Hypoplasie-Effekte. Die neonatale Testosteron-Behandlung führte ebenfalls zu signifikanten Hypoplasie-Effekten. Darüber hinaus war eine mäßige, Reduktion der Masse in der DHT-Gruppe zu beobachten.

Finasterid und Fadrozol führten zu einer tendenziellen Gewichtsreduktion, die jedoch nicht in allen Prostatateilen signifikant war. (s. Fig.1)

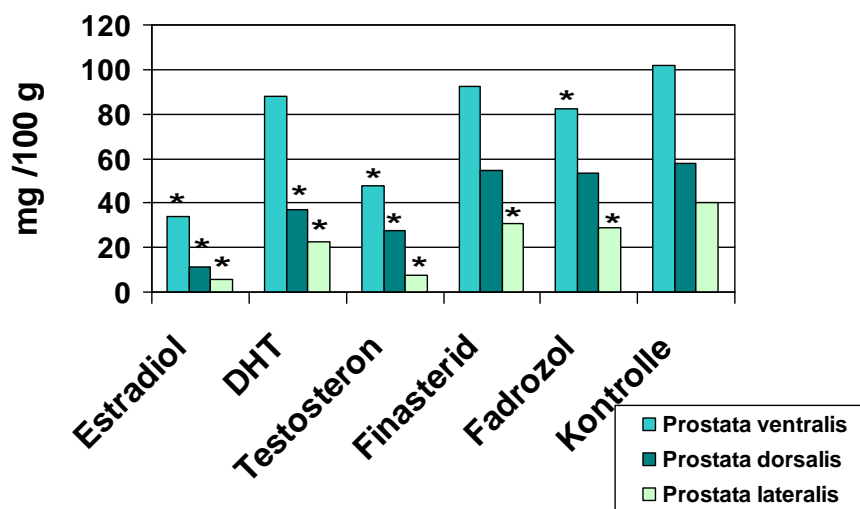


Fig. 1. Relative Gewichte der Prostatateile (alle Tiere ohne GH-Behandlung), Daten sind als Mittelwert dargestellt, Sternchen zeigen signifikante Unterschiede gegenüber Kontrolle, $p < 0,05$.

4.2. Auswirkungen der peripuberalen Behandlung mit Wachstumshormon auf Prostatamasse

Die peripubérale GH-Behandlung hatte unterschiedliche Auswirkungen auf die verschiedenen Prostata-Anteile.

Die peripubérale GH-Gabe führte tendenziell (jedoch nicht statistisch signifikant) zu einer Massenzunahme aller Prostata-Lappen bei den Tieren, die neonatal mit Testosteron behandelt worden waren. Hingegen führte in der Estradiol-Gruppe die peripubérale GH-Gabe zu einer Gewichtsreduktion aller Prostata-Lappen (signifikant bei der Prostata lateralis). Bei den Tieren, die neonatal DHT erhalten hatten, führte die GH-Gabe zu einer statistisch signifikanten Gewichtsreduktion der Prostata ventralis. In der Kontrollgruppe resultierte GH-Gabe in einer signifikanten Gewichtsreduktion der ventralen Prostatateile. (s.Fig. 2 – Fig. 4).

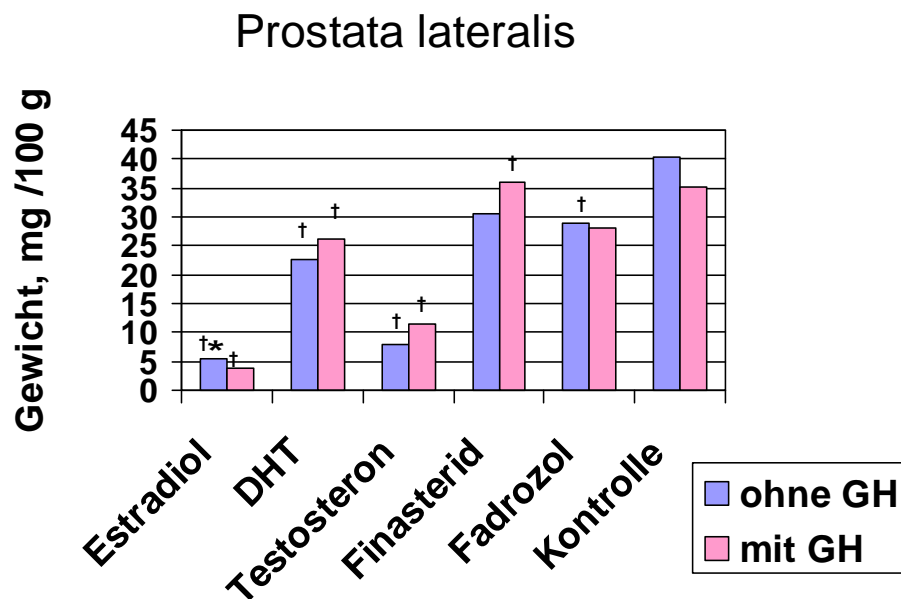


Fig. 2. Relative Gewichte der lateralen Prostata-Anteile (Daten sind als Mittelwert dargestellt, Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zwischen den GH-behandelten und GH-unbehandelten Tieren, Kreuze zeigen signifikante Unterschiede gegenüber Kontrolle, $p < 0,05$, Angaben zur Standardabweichung und Signifikanzen sind im Anhang enthalten).

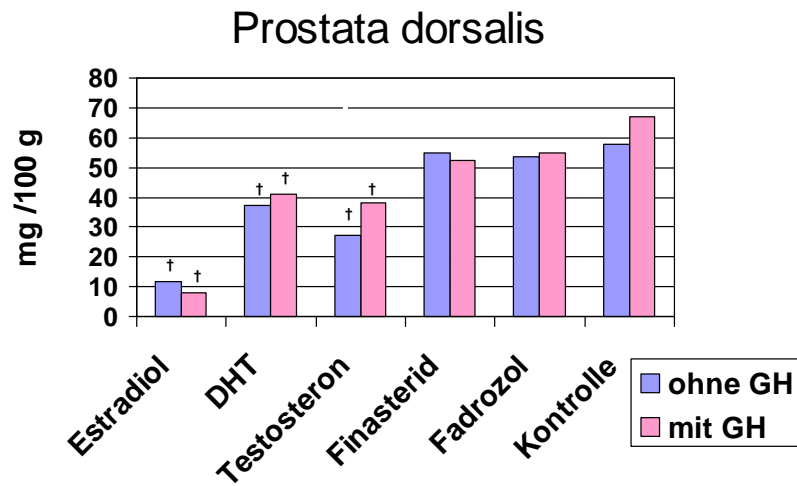


Fig. 3. Relative Gewichte der dorsalen Prostata-Anteile (Daten sind als Mittelwert dargestellt, Kreuze zeigen signifikante Unterschiede gegenüber Kontrolle, $p < 0,05$, Angaben zur Standardabweichung und Signifikanzen sind im Anhang enthalten).

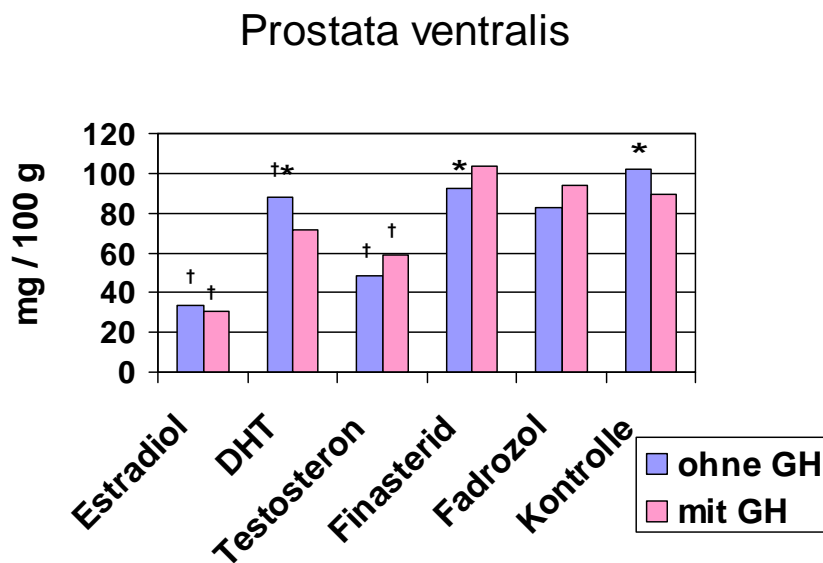


Fig. 4. Relative Gewichte der ventralen Prostata-Anteile (Daten sind als Mittelwert dargestellt, Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zwischen den GH-behandelten und unbehandelten Tieren, Kreuze zeigen signifikante Unterschiede gegenüber Kontrolle, $p < 0,05$, Angaben zur Standardabweichung und Signifikanzen sind im Anhang enthalten).

4.3. Histologische Veränderungen

4.3.1. Auswirkung der neonatalen Steroidbehandlung bei adulten Tieren

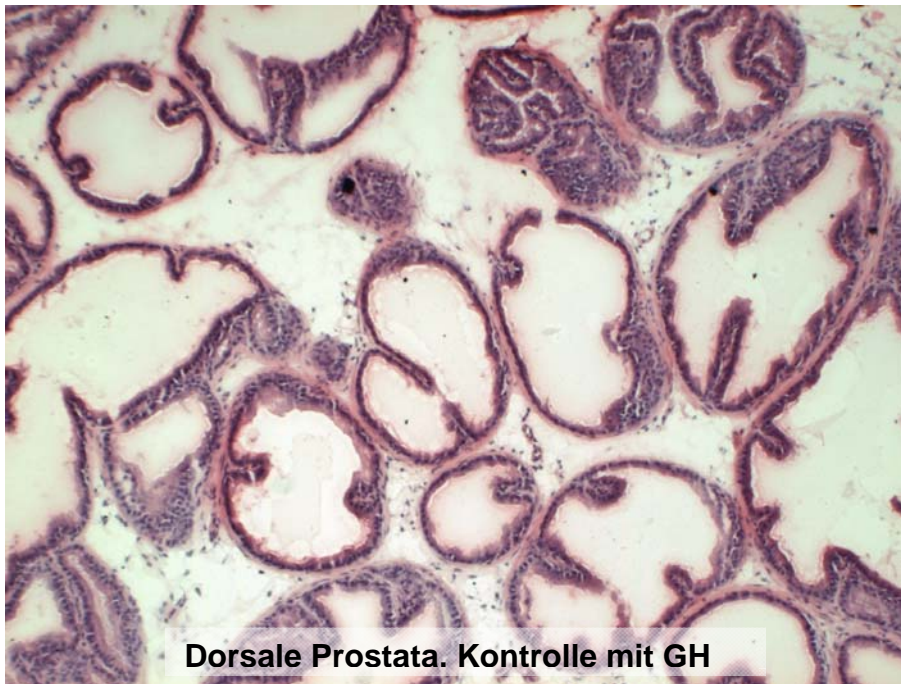
Die histologische Untersuchung der Prostata der Tiere, die neonatal mit Estradiol behandelt worden waren, ergab eine ausgeprägte Atrophie des Drüsengewebes. Histologische Bilder der Prostata der Tiere aus allen anderen Gruppen waren weitgehend mit dem von der Kontrollgruppe vereinbar, es ergaben sich insbesondere keine Hinweise für eine Hypertrophie der Muskelfasern. (s. Farbtafeln 1-2)

4.3.2. Auswirkung der peripuberalen GH-Gabe bei adulten Tieren

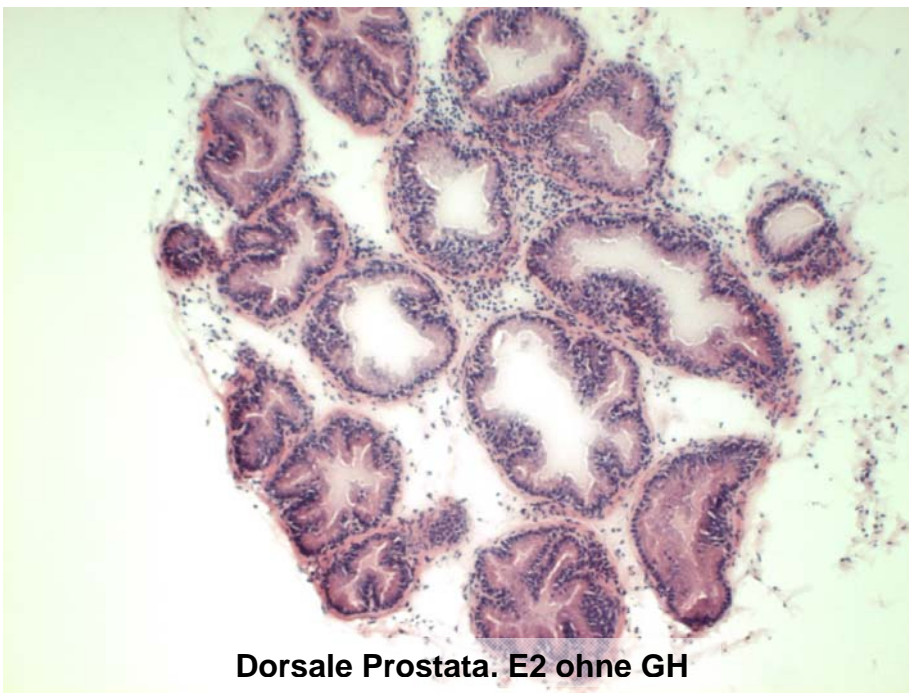
In den Präparaten der dorsalen Prostata von Tieren, die neonatal DHT bzw. Testosteron erhalten hatten, und die zusätzlich peripuberal mit Wachstumshormon behandelt worden sind, zeigte sich eine deutliche multifokale Zunahme von periglandulären Muskelfasern (s. Farbtafeln 3 und 4). Die Veränderungen waren teilweise bei den neonatal DHT-behandelten Tieren stärker ausgeprägt, als bei den neonatal TP-behandelten Tieren, wenngleich nicht alle Tiere in den jeweiligen Gruppen so ausgeprägte histologische Veränderungen aufwiesen, wie in den Farbtafeln 3 und 4. Dieses Phänomen konnte weder in den lateralen noch in den ventralen Prostata-Lappen der gleichen Tiere beobachtet werden.

Die histologischen Bilder der neonatal estrogenbehandelten Tiere zeigten sowohl ohne als auch mit GH-Gabe, eine ausgeprägte Hypoplasie im Vergleich zu den Kontrolltieren (s. Farbtafel 1 und 2). Die Histologie der neonatal Fadrozol- und der neonatal Finasterid-behandelten Tieren unterschied sich weder mit noch ohne GH Gabe von der Histologie der Kontrolltiere (Farbtafeln 5 und 6.)

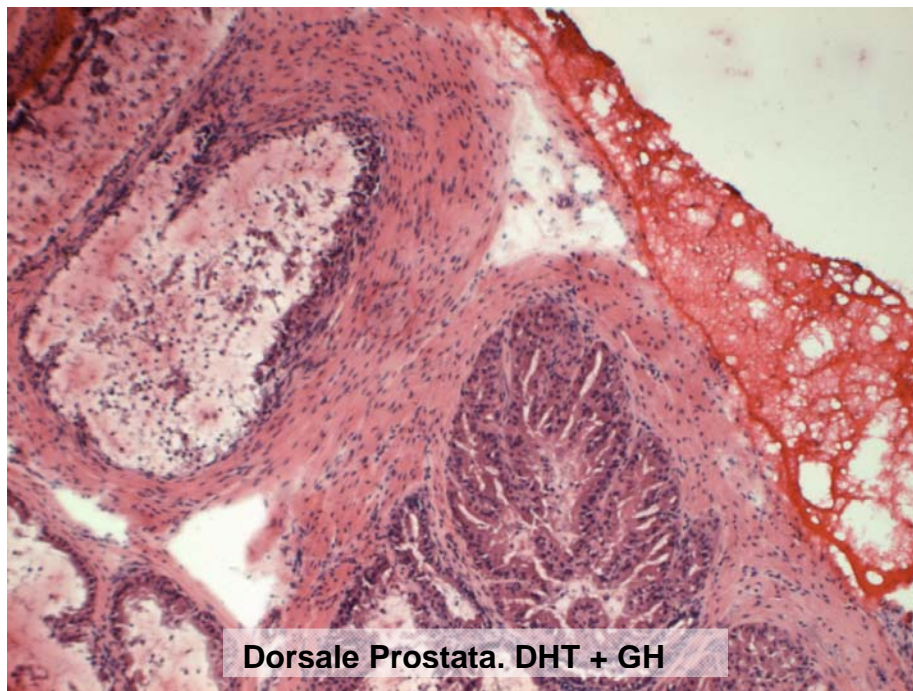
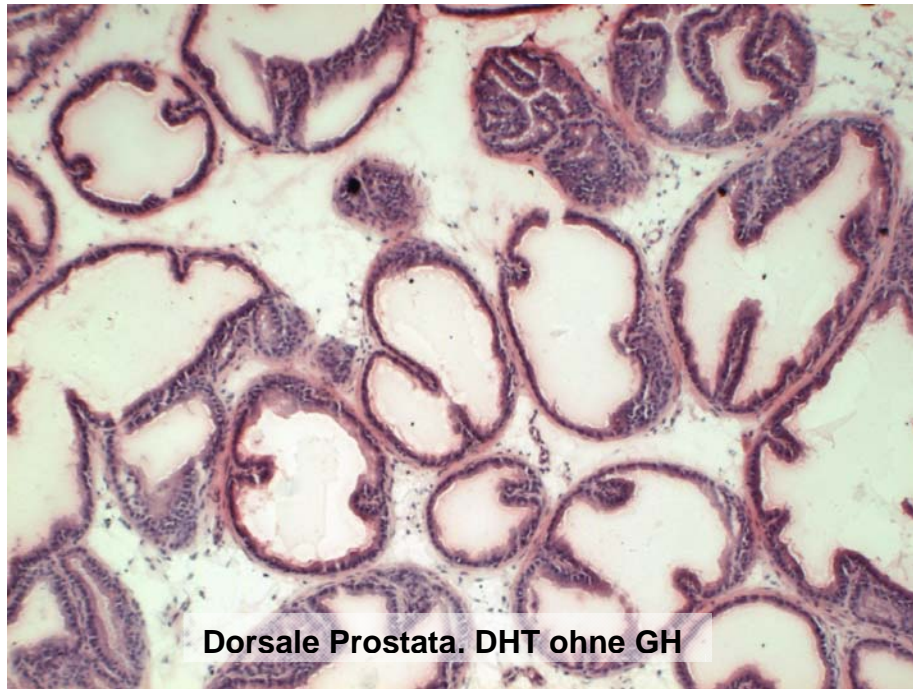
In intensiven Beratungen mit dem Institut für Pathologie der Charite (Fr. OÄ PD Rudolph), gingen wir der Frage nach, ob es sich bei den beobachteten Veränderungen nicht möglicherweise um Gangstrukturen im Schnitt handelt. Diese Möglichkeit wurde eindeutig ausgeschlossen.



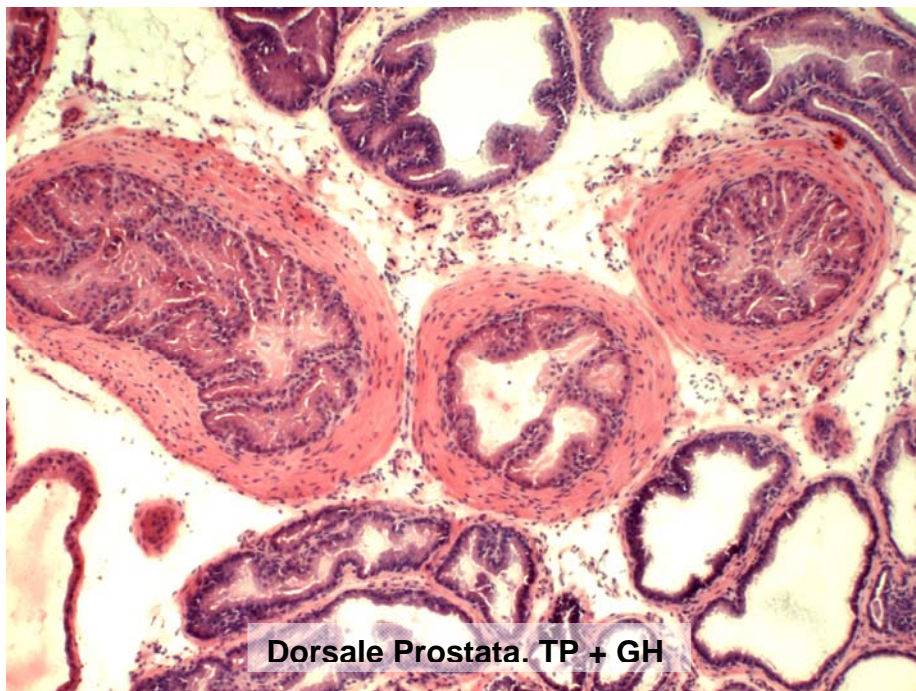
Farbtafel 1. Representative Histologie: Kontrolle (Vergrößerung: 10x)



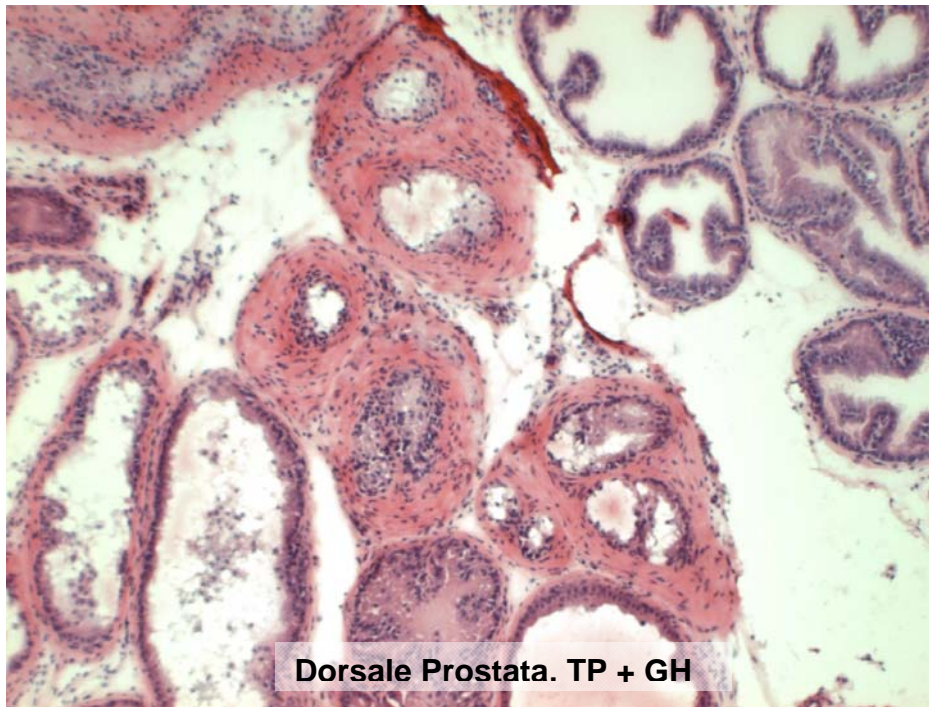
Farbtafel 2. Representative Histologie: Estradiol (Vergrößerung: 10x)



Farbtafel 3. Representative Histologie: DHT (Vergrößerung: 10x)

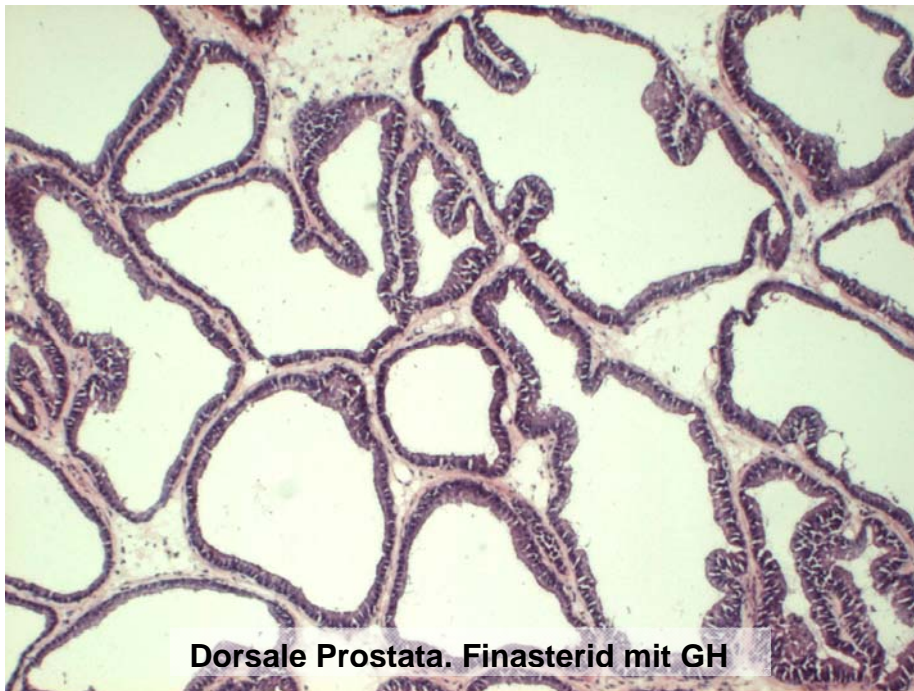


Farbtafel 4. Repräsentative Histologie: Testosteron (1) (Vergrößerung: 10x)

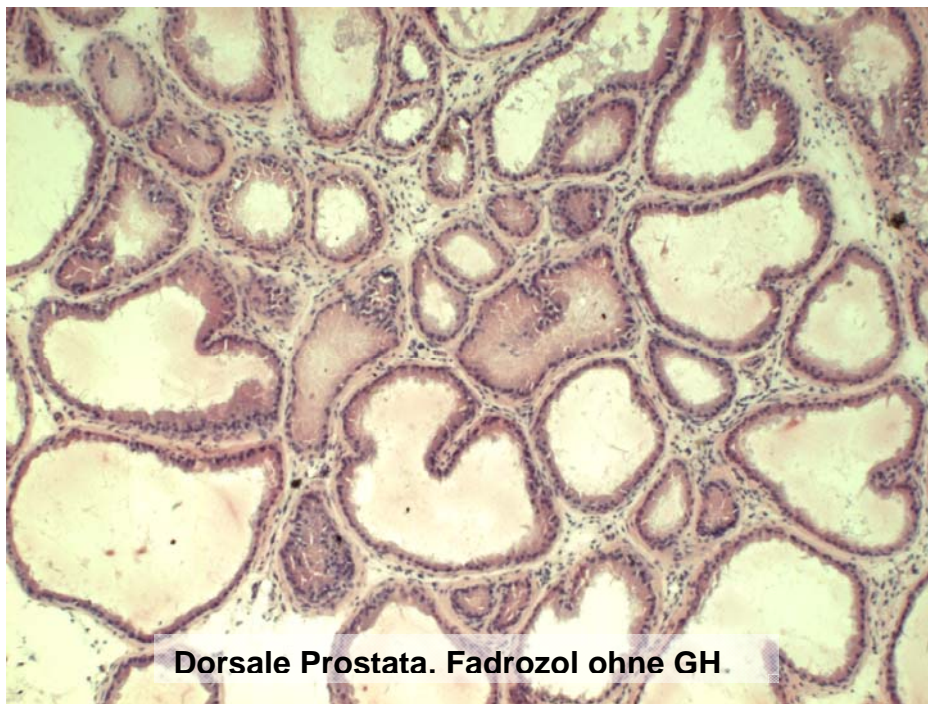
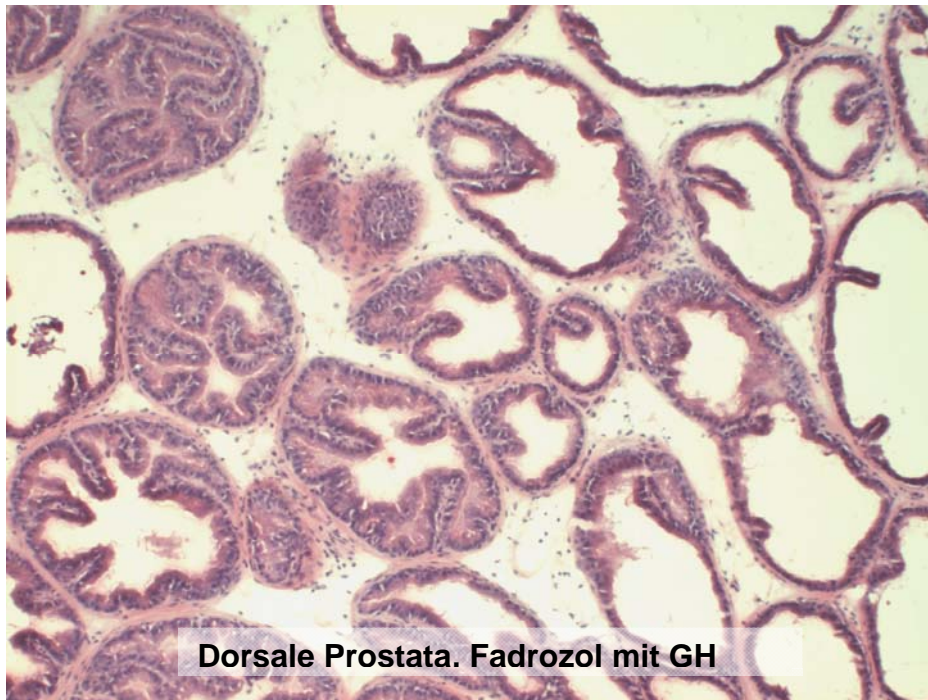


Dorsale Prostata. TP + GH

Farbtafel 4a. Representative Histologie: Testosteron (2) (Vergrößerung: 10x)



Farbtafel 5. Representative Histologie: Finasterid (Vergrößerung: 10x)



Farbtafel 6. Representative Histologie: Fadrozol (Vergrößerung: 10x)

4.4. Hormonelle Veränderungen

4.4.1. DHT.

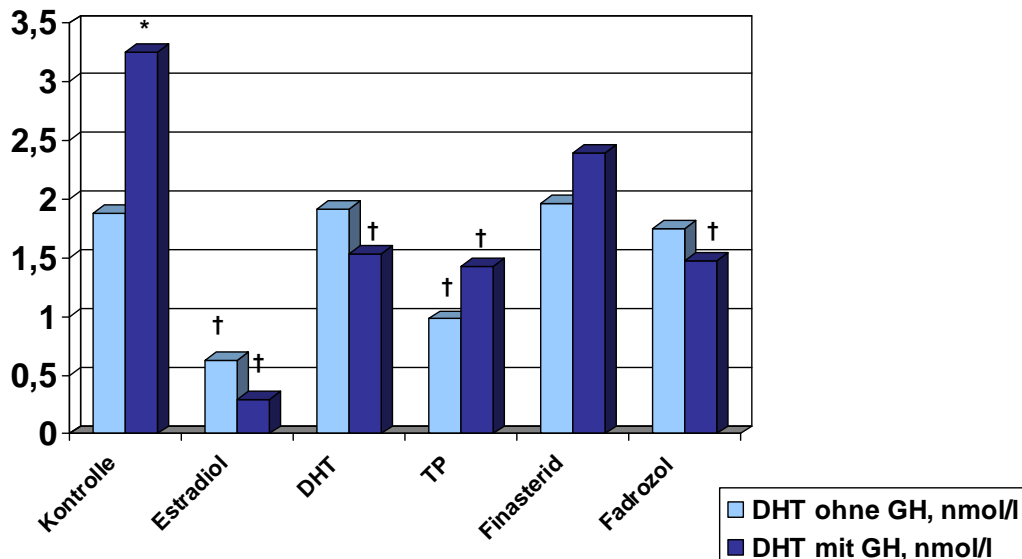


Fig. 5. DHT-Spiegel

In den Fig. 5 bis 8 sind die Daten als Mittelwert dargestellt, Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zwischen den GH-behandelten und unbehandelten Tieren, Kreuze zeigen signifikante Unterschiede gegenüber den Kontrollen, $p < 0,05$. Angaben zur Standardabweichung und Signifikanzen sind im Anhang enthalten.

Der DHT-Spiegel war bei den Tieren aus den Estradiol- und TP-Gruppen signifikant erniedrigt. Eine peripuberale GH-Gabe senkte den Spiegel in der Estradiol-, DHT- und Fadrozol-Gruppen tendenziell noch weiter (s. Fig 5). In der Kontrollgruppe führte die GH-Gabe zu einer signifikanten DHT-Spiegelerhöhung. Daher ergaben sich in den anderen Gruppen signifikant geringere DHT-Spiegel im Vergleich zur Kontrolle mit GH.

4.4.2. Testosteron

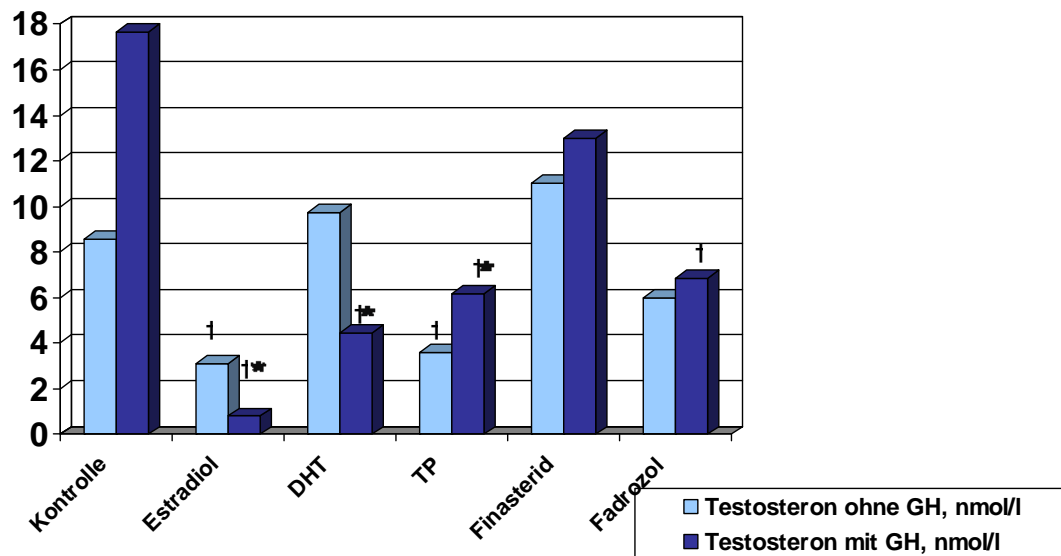


Fig. 6. Testosteron-Spiegel.

Alleinige Estradiol- und alleinige TP-Gabe führte zu einem Abfall des Testosterons im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die peripuberale GH-Gabe führte zu einem Anstieg des Testosteron-Spiegels in der Kontrollgruppe, der zwar nicht signifikant war, jedoch in einer errechneten Signifikanz verminderter Testosteronwerte der E2, der DHT, der TP sowie der Fadrozol+GH-Gruppen resultierte (Fig. 6). In den Estradiol- und DHT-Gruppen senkte die GH-Gabe den Testosteron-Spiegel im Vergleich zu den GH-unbehandelten Tieren. In der Testosteron-Gruppe führte die GH-Gabe zu einem signifikanten TP-Anstieg.

4.4.3 LH

Es zeigt sich eine signifikante Senkung des LH-Spiegels bei den Tieren aus der Estradiol-Gruppe, die peripuberal GH erhalten hatten, im Vergleich zu den Tieren aus der gleichen Gruppe, die kein GH bekommen hatten.

Hingegen resultierte die GH-Gabe in einer signifikanten Erhöhung des LH-Spiegels in der Kontrollgruppe sowie in der Finasterid-Gruppe (s. Fig.7). Es wurden keine wesentlichen Unterschiede in den übrigen Gruppen beobachtet.

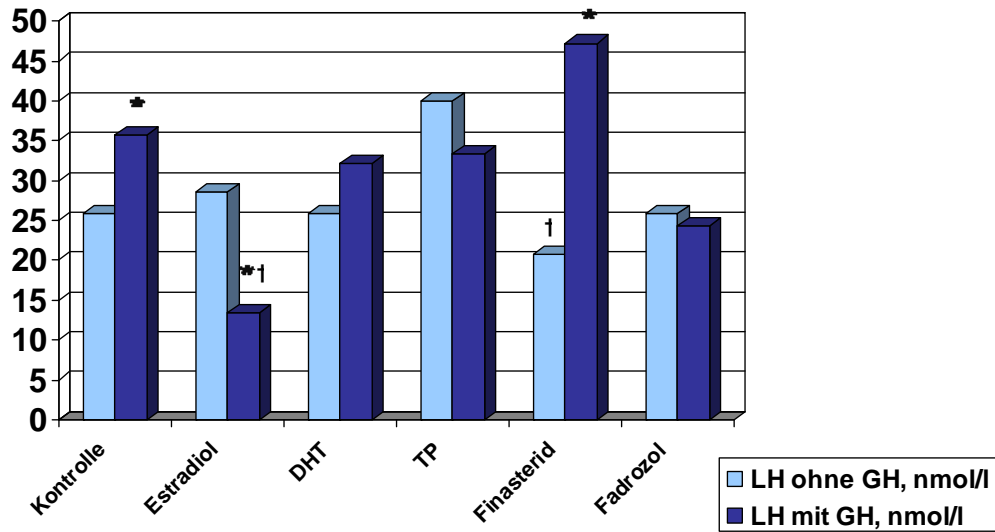


Fig. 7. LH-Spiegel.

4.4.4. IGF-1

Es wurde eine signifikante IGF-1-Spiegel-Erhöhung nach peripuberale GH-Gabe in der Finasterid- sowie in der Estradiol-Gruppe beobachtet (s. Fig. 8 unten, $p < 0,05$). In der Fadrozol-Gruppe wurde eine IGF-1-Senkung gegenüber der Kontrolle bei den GH-unbehandelten Tieren festgestellt. Es wurden keine wesentlichen Unterschiede in den übrigen Gruppen beobachtet.

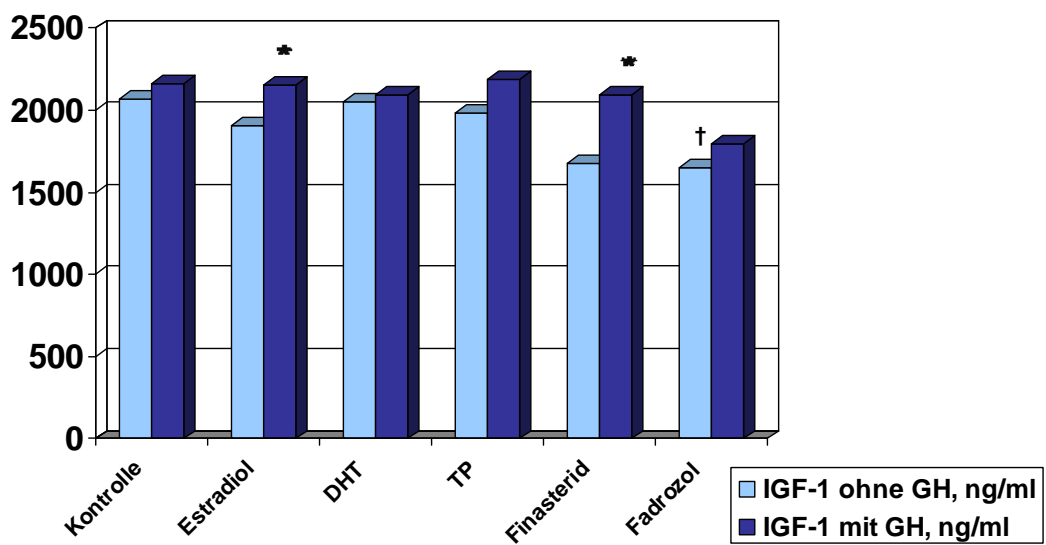


Fig. 8. IGF-1 Spiegel.

5. DISKUSSION

Heutzutage ist das Prostatakarzinom das häufigste Karzinom des Mannes und die zweitwichtigste Krebserkrankung in der männlichen Population. Die Daten der American Cancer Society zeigten, dass die Prostatakarzinomrate seit 1975 kontinuierlich steigt. 1987, als das PSA-Testing eingeführt wurde und die Erkrankung so einfacher diagnostiziert werden konnte, stieg die Inzidenz deutlich an. Die benigne Prostatahyperplasie ist die häufigste gutartige Neoplasie, die immer das Risiko einer Karzinomentwicklung beinhaltet. Diese betrifft mehr als 50 % aller Männer ab dem 60. Lebensjahr. Trotz intensiver Forschung auf dem Gebiet bleibt die Ursache dieser hohen Inzidenz und Prävalenz der Erkrankung nach wie vor unklar.

Es ist bekannt, dass Steroidhormone eine wichtige Rolle in der Entstehung und Progression des Prostatakarzinoms spielen [Schnorr, Rohde, Dörner et al. 1985]; darauf basieren einige moderne Behandlungsmethoden.

Viele Studien beschäftigten sich ferner mit der Frage der Rolle vom IGF-1 bei der Entstehung der Prostatahyperplasie (und auch des Prostatakarzinoms). Die Ergebnisse der Studien sind nicht eindeutig.

Unsere Daten lassen vermuten, dass ein Zusammenhang zwischen dem Steroid-Imprinting und der Wachstumshormon-Achse eine bedeutende Rolle bei der Pathogenese der BPH spielen kann.

Ergebnisse mehrerer klinischen Studien, die die alleinige Rolle des IGF-1 untersuchten, sind zum Teil kontrovers. So weisen einige Daten darauf hin, dass IGF-1 das Prostatawachstum stimuliert. In der Studie von Roberts [Roberts et al. 2003], evaluierten die Autoren den Zusammenhang zwischen BPH, IGF-1 und IGF-BP3. Es wurden in die Studie insgesamt 471 (weiße) Männer in Minnesota im Alter zwischen 40 und 79 Jahren eingeschlossen. Es wurden folgende Untersuchungen durchgeführt: Fragebogen (international prostata syndrome score), Uroflow, Prostatavoluminometrie (sonographisch). Serum-PSA, Serum IGF-1 und Serum IGF-BP3 wurden bestimmt. Es konnte in der Studie keine Korrelation zwischen der Höhe des IGF-1-Spiegels im Serum und Inzidenz der benignen Prostatahyperplasie festgestellt werden.

Zur gleichen Zeit berichteten andere Autoren das Gegenteil: Yu et al. [Yu et al. 2003] bestimmten Serum IGF-1 und Serum IGF-BP3-Spiegel in 64 Blutproben von Patienten mit BPH und verglichen die Ergebnisse mit den Messungen von 30 gesunden Probanden als Kontrollgruppe. Die Patienten mit BPH wurden in 3 Gruppen nach Prostataavolumen eingestuft, so bildeten 18 Patienten die Gruppe A (mit dem Prostataavolumen ≤ 30 ml), 24 Patienten die Gruppe B (Prostataavolumen 31 – 50 ml) und 22 Patienten bildeten die Gruppe C (Prostataavolumen >50 ml). Es wurde festgestellt, dass die IGF-1 und IGF-BP3-Spiegel bei gesunden Probanden und bei Patienten mit BPH sich kaum statistisch signifikant unterscheiden. Allerdings zeigten sich signifikante Unterschiede unter den 3 Subgruppen von Patienten mit Prostatahyperplasie: IGF-1 und IGF-BP3-Spiegel in der Gruppe C waren signifikant höher als die in der Gruppe A und eine positive Korrelation zwischen Serum-IGF-1-Spiegel und Prostataavolumen wurde festgestellt. Kritisch muss eingewandt werden, dass die Gruppen sehr klein waren.

In einer anderen Studie [Chokkalingam et al. 2002] untersuchten die Autoren die Serum-Spiegel von IGF-1, IGF-2, IGF-BP1 und IGF-BP3 in Nüchtern-glucoseproben von 206 Patienten mit benigner Prostatahyperplasie und 306 zufällig ausgewählten Kontrollpersonen. Die Männer mit dem IGF-1-Spiegel im obersten Tertial hatten ein signifikant erhöhtes Risiko von Prostatahyperplasie. Die Männer im obersten IGF-BP3-Tertial hatten zur gleichen Zeit ein signifikant vermindertes Risiko. Es wurde keine Korrelation zwischen BPH und IGF-2 oder IGF-BP1 beobachtet.

In der Studie von Finne [Finne et al. 2000] wurde ebenfalls eine Korrelation zwischen IGF-1, IGF-BP3 und Prostatahyperplasie untersucht. Die Autoren bestimmten IGF-1, IGF BP3 und PSA bei insgesamt 665 Männern, davon 179 mit Prostatakarzinom im Alter zwischen 55 und 67 Jahren, die einen erhöhten PSA-Spiegel hatten. Es wurde kein Zusammenhang zwischen Vorliegen eines Prostatakarzinoms und IGF-1-Spiegelerhöhung festgestellt. Allerdings konnte in der Studie eine Korrelation zwischen IGF-1 und Prostataavolumen beobachtet werden.

Rosebud et al. konnten in amerikanischen Männern keine statistisch signifikante Korrelation zwischen dem Plasmaspiegel des IGF-1 und urologischen Maßen nachweisen. Ihre Studie unterstützt zwar, dass IGF-1 proliferativ in der Prostata wirken mag, argumentiert aber, dies könne bedeuten, dass sich der Serumspiegel nicht mit der intrazellulären Bioaktivität des IGF-1 vergleichen ließe, woraus wieder zu schließen wäre, dass die Assoziation zwischen

BPH und IGF-1 - Plasmaspiegeln weniger signifikant sein könnte, als bisher angenommen [Rosebud et al. 2003].

Demgegenüber steht wiederum die überzeugend wirkende Studie an arabischen Männern [Kehinde et al. 2005], deren niedrige BPH-Prävalenz mit ihren gleichermaßen niedrigen IGF-1-Spiegeln den Gegenbeweis zu erbringen scheint.

Es ist unwahrscheinlich, dass diese gegensätzlichen Befunde auf ethnische Unterschiede zurückzuführen sind; da von positiven Relationen zwischen IGF-1 und der BPH auch zahlreiche andere Studien berichten [Monti et al. 2001; Stattin et al. 2001; Oliver et al. 2004; Chokkalingam et al. 2002; Kehinde et al. 2005], wie im Kapitel 1 bereits besprochen, ist im IGF-1 sicherlich ein wichtiger Risikoparameter für proliferative Erkrankungen der Prostata zu sehen.

In den Grundlagenforschungs-Studien wurde nachgewiesen, dass IGF-1 (neben Testosteron) eine wichtige Rolle für die Entwicklung und Wachstum der Prostata spielt [Ruan et al. 1999].

Diese Tatsache könnte erklären, warum alleinige Testosteron-Blockade bei BPH nur begrenzt wirksam ist. In der aufwändigen Studie von Kleinberg [Kleinberg et al. 2007] wurden die Effekte von Testosteron und IGF-1 bei kastrierten männlichen IGF-1 (-/-) Mäusen untersucht. Es wurde festgestellt, dass IGF-1 die Entwicklung der fibromuskulären Anteile stimuliert, während Testosteron diese hemmt. Testosteron konnte die IGF-1-vermittelte Zellteilung unterdrücken und die Apoptose-Rate in den fibromuskulären Anteilen erhöhen.

Im Gegensatz dazu wurde die Entwicklung der glandulären Anteilen durch sowohl Testosteron als auch durch IGF-1 angeregt; eine stimulierende Wirkung auf Zellteilung, Insulinrezeptor-Substrat-1-Phosphorylierung und Probasin-Produktion konnte beobachtet werden. Ferner konnten Testosteron und IGF-1, insbesondere wenn zusammen verabreicht, die Apoptose in den glandulären Anteilen hemmen. Die Effekte der IGF-1-Blockade wurden in dieser Studie in zwei Modellen getestet, indem GH-defiziente kastrierte Mäuse und eugonadale intakte Mäuse mit IGFBP-1 behandelt wurden. In beiden Modellen blockierte IGFBP-1 die stimulierende Wirkung des GH in beiden Prostataanteilen. Ferner hemmte IGFBP-1 die Zellteilung und erhöhte die Apoptose-Rate bei intakten Tieren.

Diese unterschiedlichen Wirkungsmuster von Testosteron und IGF-1 könnten die unzureichende Wirkung der 5 α -Reduktase-Inhibition bei BPH erklären.

Eine Therapie mit IGF-1-Antagonisten würde die Volumina aller Prostataanteile verringern und könnte bei BPH eine vielversprechende Alternative darstellen.

Mehrere Studien beschäftigten sich mit der Korrelation zwischen IGF-1 und der allgemeinen Karzinogenese. Eine IGF-1-Überexpression wird bekannterweise bei Kindern mit malignen Erkrankungen beobachtet (z.B. bei Osteosarkom, Neuroblastom usw.).

Die Studie von Shevah [Shevah & Laron 2007] bietet einen interessanten klinischen Einblick. Es wurden in der Studie 222 Patienten mit einer angeborenen IGF-1-Defizienz (Laron-Syndrom, charakterisiert durch GH-Gen-Deletion, GHRH-Rezeptordefekt und IGF-1-Resistenz) im Alter zwischen drei und 78 Jahre untersucht. Darüber hinaus wurden deren Verwandte 1. und 2. Grades untersucht (insgesamt 338). Bei keinem der IGF-1-defizienten Patienten wurde eine maligne Erkrankung beobachtet, während bis zu 24% der Verwandten eine solche entwickelten. Deshalb könnte eine IGF-1-Defizienz (und ggf. -Blockade) gegen Krebsentstehung protektiv wirken.

Zwar ist der direkte Einfluss des IGF-1 auf das Wachstum der Prostata mehrfach bestätigt worden [Stattin et al. 2001; Chokkalingam et al. 2002; Oliver et al. 2004], fraglich bleibt aber, ob IGF-1 ein absolut verlässlicher Marker für die BPH sein kann; nach Rosebud et al. [Rosebud et al. 2003] ist dessen Plasmaspiegel immer auch von anderen Faktoren abhängig, wie z.B. Ernährung, Leberfunktion, Serumeiweißspiegel, und GH-Konzentrationen im Serum, sodass unter dem Aspekt der Komplexität der verschiedenen Wechselwirkungen zwischen IGF-1 und Umgebung der Schluss, es bestünde eine direkte Korrelation zwischen der Konzentration des IGF-1 und hypertrophen Vorgängen in der Prostata, voreilig erscheint.

Unsere Ergebnisse weisen daraufhin, dass nicht nur IGF-1 bzw. GH-Achse für die Entstehung der Prostatahyperplasie eine wichtige Rolle spielen kann, sondern auch ein neonatales Steroidimprinting möglicherweise entscheidend ist. In unserer Arbeit konnten wir feststellen, dass die neonatal mit Testosteron behandelten Tiere in den späteren Lebensphasen unter Wachstumshormon-Exzess eine Prostatahyperplasie entwickeln können. In unseren Experimenten konnten wir keine signifikanten Unterschiede bezüglich der IGF-1-Konzentration zwischen den GH-behandelten und –unbehandelten Tieren feststellen. Möglicherweise sind die o.g. Effekte auf eine nicht durch IGF-1 mediierte Wirkung des Wachstumshormons zurückzuführen; da keine Daten bezüglich der dosisabhängigen Wirksamkeit des humanen Wachstumshormons in der Ratte vorhanden sind, wären andere Untersuchungen mit unterschiedlichen GH-Dosierungen erforderlich.

Die Bedeutung der Steroidhormone für die Entwicklung der Prostata sowie für die Entstehung der BPH bzw. des Prostatakarzinom ist ausführlich untersucht worden.

Eunuchen mit verringertem Spiegel von zirkulierendem Testosteron entwickeln keine Prostatakarzinome, und es ist lange bekannt, dass eine Regression des Prostatakarzinoms durch Kastration oder Androgenblockade erzielt werden kann [Huggins & Hodges 1941; Moore 1947]. Trotz primärer Kontrolle durch Androgene unterliegt die Prostata zur gleichen Zeit auch einer Estrogenkontrolle. Die Estrogene sind in die Entstehung der benignen Prostatahyperplasie und des Prostatakarzinoms möglicherweise involviert [Leav, 1988; Thomas & Keenan 1994; Modugno et al. 2001], und die Antiestrogenbehandlung kann eine gewisse therapeutische Rolle in der Behandlung des Prostatakarzinoms spielen [Raghow 2002; Steiner & Pound 2003].

Es ist anzunehmen, dass unterschiedliche Ereignisse während der neonatalen Periode (z. B. Stress, verminderte Durchblutung der Plazenta), zu Änderungen der Steroidspiegel führen können und so unter anderem eine Prädisposition zur Entstehung der Prostatahyperplasie [vom Saal et al. 1997] bzw. des Prostatakarzinoms im Alter schaffen können.

Die Auswirkungen der neonatalen Steroidbehandlung auf die Prostata sind länger bekannt. In mehreren Studien sind z.B. Effekte der Androgene untersucht worden [Piacsek et al. 1984], viele Studien beschäftigten sich mit der Auswirkungen der Estrogenbehandlung [Arai et al. 1970, Prins 1992, Prins & Birch 1997 u. v. a.].

Wie in den oben genannten Studien, konnten wir auch die persistierenden Folgen der neonatalen Steroidbehandlung im Bezug auf die Größe sowie Organarchitektur der Prostata beobachten.

Um die Entstehung der Veränderungen besser zu verstehen, sind Kenntnisse über die Embryogenese der Prostata notwendig.

Während alle anderen männlichen Geschlechtsorgane sich embryonal aus dem mesodermalen Wolff'schen Gang entwickeln, entwickelt sich die Prostata aus dem Sinus urogenitalis (UGS) und hat hiermit einen endodermalen Ursprung. Deshalb wurde postuliert, dass die hohe Inzidenz von Prostatakarzinomen im Vergleich zu anderen Karzinomen des Urogenitaltrakts (wie Nebenhodenkarzinom oder Samenblasenkarzinom) aus dieser embryologischen Eigenschaft der Prostata resultiert.

Die Entwicklung der Prostata beginnt intrauterin, wenn Epithelzellen vom Sinus urogenitalis Bündel bilden; diese penetrieren in das umgehende Gewebe ventral, dorsal und lateral von der Harnblase. Beim Menschen findet die Prostatamorphogenese zwischen dem 2. und 3. Trimester statt und ist zum Zeitpunkt der Geburt vollständig abgeschlossen.

Im Gegensatz dazu findet bei Nagetieren dieser Prozess wesentlich später statt: Nagetiere werden im Vergleich zum Menschen wesentlich unreifer geboren. Bei ihnen beginnt die Differenzierung der Morphologie der Sexualorgane und der sexualhormonabhängigen Hirnfunktion kurz vor der Geburt und dauert etwa zwei bis maximal drei Wochen nach der Geburt an. Daher sind die Nagetiere einer hormonellen Manipulation nach der Geburt besonders gut zugänglich. Deshalb ist auch die Prostata der neugeborenen Nagetiere ein interessantes Modell der fetalen Entwicklung der menschlichen Prostata.

Normale Entwicklung, Differenzierung und Beginn der sekretorischen Aktivität sind ohne androgene Wirkung während des Entwicklungsprozesses nicht möglich [Donjacour & Cunha 1993]. Androgen-Rezeptoren (AR) sind während der Entwicklung im Sinus urogenitalis signifikant exprimiert [Adams et al. 1987; Prins & Birch 1995]. Das Gewebe der sich entwickelnden Prostata exprimiert darüber hinaus andere Steroid-Rezeptoren, insbesondere Estrogen-Rezeptoren-Alpha und -Beta (ER), sowie Retinoid-Rezeptoren RAR-Alpha, -Beta und -Gamma.

Der Beginn der Prostata-Entwicklung hängt von den Androgenen ab, die in den fetalen Hoden produziert werden. In Studien mit 5-Alpha-Reduktase-Inhibitoren wurde bereits nachgewiesen, dass Dihydrotestosteron als aktives Androgen für die Entwicklung der Prostata essentiell ist [Siiteri & Wilson 1974].

Unsere Befunde dokumentieren, dass neonatale DHT-Behandlung zu einer Sensibilisierung für die stimulatorische Wirkung des Wachstumshormons führt, da in dieser Gruppe eine sichtbare Hyperplasie nach einer GH-Behandlung beobachtet werden kann, während das histologische Bild in der DHT-Gruppe ohne GH sich nicht von dem der Kontrolle unterscheidet.

Ähnlich wie in der neonatal mit DHT behandelten Gruppe zeigt das histologische Bild in der Testosteron-behandelten Gruppe ohne GH keinen Unterschied zur Kontrolle, mit GH dagegen eine deutliche Hyperplasie der fibromuskulären Strukturen.

Die Wirkung der Androgene auf die sich entwickelnde Prostata wird durch mesenchymal-stromale Interaktionen mediiert. Während der Embryogenese (sowohl vor als auch während der Bildung der prostatistischen Bündel) findet man die Expression der AR nur im Mesenchym

des Urogenitalsinus (UGS). In den prostatistischen Bündeln können keine AR nachgewiesen werden, was zu der Hypothese führte, dass die mesenchymalen (und nicht die epithelialen) AR von kritischer Bedeutung für die frühe Entwicklung der Prostata sind [Cooke et al. 1991; Takeda & Chang 1991].

Um diese Hypothese zu überprüfen, wurde ein rekombinantes Prostatagewebe mit UGS-Mesenchym (M) sowie UGS-Epithel (E) von der AR-positiven Wildtyp-Maus und AR-defizienten Tfm-Maus entwickelt [Thompson et al. 1986]. Wie erwartet, wurde bei Tfm-M+Tfm-E Rekombinanten keine Prostataentstehung beobachtet, auch unter Zufuhr von Androgenen. Als Positivkontrolle bildeten die wt-M+wt-E Rekombinanten in Anwesenheit der Androgene eine normale Prostata.

Tfm-M+wt-E Rekombinante konnten unter Einfluss von Androgenen keine Prostata bilden. Auf der anderen Seite, war bei den wt-M+Tfm-E Rekombinanten mit dem AR-negativen Epithel eine androgen-abhängige Morphogenese, Epithelproliferation sowie Zytodifferenzierung zu beobachten, sodass ein prostata-ähnliches glanduläres Epithel entstand [Cunha & Lung 1978].

Eine genaue Untersuchung der Epithelproliferation der wt-M+Tfm-E Rekombinanten zeigte, dass diese unter mit wt-M+wt-E vergleichbaren Testosteronspiegeln stattfindet. So wurde festgestellt, dass die Proliferation des prostatistischen Epithels durch mesenchymale und nicht durch epitheliale Androgenrezeptoren gesteuert wird [Sigumura et al. 1986]. Diese Experimente zeigten, dass die androgene Wirkung auf das prostatistische Epithel nicht direkt über die epithelialen AR, sondern über das AR-positive Mesenchym parakrin vermittelt wird: die durch Androgene stimulierten mesenchymalen Fibroblasten produzieren viele Faktoren, wie z.B. IGF, KGF (keratinocyte growth factor), bestimmte FGF (fibroblast growth factor) und EGF (epidermal growth factor), die benachbarte Epithelzellen zum Wachstum und Differenzierung anregen.

Es stellte sich daraufhin die Frage nach der Funktion der epithelialen AR in der Prostata. Eine weiterführende Analyse der Tfm-wt Rekombinanten zeigte eine wichtige Rolle der epithelialen AR für die Expression der androgenabhängigen sekretorischen Proteine [Cooke et al. 1991; Donjacour et al. 1993]. Weitere Untersuchungen zeigten, dass Androgene eine direkte Wirkung auf die sekretorischen Epithelzellen der adulten Prostata aufweisen und für die Integrität und prompte Funktion des Organs unverzichtbar sind. Bei Abfall des Androgenspiegels auf ein kritisches Niveau, wie z. B. nach Kastration, ist eine massive Apoptose der sekretorischen Epithelzellen (ca. 90% der Zellen) und eine glanduläre Involution zu beobachten.

Die basalen Epithelzellen persistieren unter Androgenmangel, da sie in den meisten Fällen AR-negativ sind. Deshalb werden diese Zellen als Stammzellen betrachtet; ihr Überleben ist androgenunabhängig, für ihre Proliferation und Differenzierung sind jedoch Androgene erforderlich [Isaacs & Coffey 1989].

Nach Substitution von fehlenden Androgenen differenzieren sich die Basalzellen, so dass sekretorisches Epithel und glanduläre Strukturen wieder entstehen [De Marzo et al. 1999; Hudson et al. 2001].

In den letzten Jahren zeigten zahlreiche Studien, dass nicht nur Androgene, sondern auch Estrogene eine kritische Bedeutung für die Entwicklung und Funktion der Prostata haben.

Ähnlich den Androgenen ist der Spiegel von zirkulierendem Estradiol während der fetalen und frühen neonatalen Phase sowohl im Menschen als auch bei Nagetieren hoch [Döhler & Wuttke 1975], und es wurde nachgewiesen, dass die sich entwickelnde Prostata besonders estrogensensibel ist.

Studien (von Prins et al. u. v. a.) zeigten eine hohe Expression von stromalen ER-Alpha während der Morphogenese der Prostata. ER-Beta ist vor allem in differenzierten luminalen Epithelzellen lokalisiert.

Die ER-Beta-Expression ist niedrig um den Zeitpunkt der Geburt, im weiteren Verlauf steigt sie an und erreicht das Maximum mit dem Beginn der sekretorischen Aktivität der Prostata während der Pubertät.

Beim Menschen wurde ER-Alpha auch in den stromalen Zellen während der fetalen Entwicklung detektiert. Gleichzeitig muss gesagt werden, dass sich die Expression von ER-Beta im Menschen von der in Nagetieren bereits während der 7. fetalen Woche unterscheidet: zu diesem Zeitpunkt wird ER-Beta im gesamten Urogenitalsinus-Epithel und -Stroma exprimiert [Shapiro et al. 2005]. Diese ausgeprägte Expression persistiert in den meisten epithelialen Zellen während der gesamten Gestation, insbesondere während der aktiven Morphogenese-Phase im 2. Trimester, so dass möglicherweise ER-Beta und Estrogene in diesen Prozess involviert sind. Diese Rezeptorkonstellation persistiert auch während der ersten postnatalen Monate, dann jedoch geht die ER-Beta-Expression zurück und erreicht mit Beginn der Pubertät das Minimum. Diese Tatsache könnte ebenfalls für eine spezifische Rolle des Estrogens während der Entwicklung sprechen [Adams et al. 2002; Shapiro et al. 2005].

Die während des 3. Trimesters im Menschen steigenden Estradiolspiegel der Mutter und die fallende Androgenproduktion des Fetus führen zur einer erhöhten Estrogen/Testosteron-Ratio. Diese relative Erhöhung des Estradiolspiegels stimuliert eine ausgeprägte Metaplasie von squamösen Epithelzellen während der Entwicklung des prostatatischen Epitheliums.

Diese geht nach der Geburt rasch zurück, wenn die Estrogenspiegel schnell abfallen [Zondek et al. 1975; Zondek et al. 1986; Wernet et al. 1990].

Obwohl die natürliche Rolle der Estrogene nicht eindeutig klar ist, wird vermutet, dass überschießende Estrogeneinflüsse während der Prostataentwicklung möglicherweise zur hohen Inzidenz der benignen Prostatahyperplasie sowie des Prostatakarzinoms im Alter führen [Rajfer & Coffey 1978; Santti et al. 1994].

Als Argument dafür kann angeführt werden, dass in der afroamerikanischen Population die Männer, verglichen zur weißen Population, ein zweifach erhöhtes Risiko für die Entstehung von Prostatakarzinomen haben. Es wird angenommen, dass dies möglicherweise durch die deutlich erhöhten mütterlichen Estrogenspiegel während der frühen Gestation in dieser Population zustande kommt [Henderson et al. 1988; Platz & Giovannucci 2004].

Darüber hinaus wird, wenn schwangere Frauen Diethylstilbestrol (DES) exponiert werden, eine erhöhte Rate der squamösen Metaplasie bei männlichen Neugeborenen beobachtet [Driscoll & Taylor 1980]. Mit der Beendigung der DES-Wirkung bildete sich die Metaplasie zurück. Allerdings persistierten die Ektasie und Architekturstörung der prostatatischen Gänge [Yonemura et al. 1995]. Dies hat zu der Hypothese geführt, dass Männer, die pränatal DES-exponiert wurden, ein erhöhtes Risiko für Prostatakarzinom im späteren Leben haben. Diese Hypothese wurde in einer limitierten Kohorten-Studie allerdings nicht bestätigt [Giusti et al. 1995]. Nichtsdestoweniger bewiesen intensive Studien mit Nagetiermodellen ein erhöhtes Prostatakarzinomrisiko bei den Tieren, die in der frühen Phase des Leben Estrogen-exponiert wurden. Die DES-Anwendung während der Schwangerschaft wurde in den frühen 70er Jahren eingestellt. Neuere Daten zeigen, dass bestimmte Umweltsubstanzen und Chemikalien eine starke Estrogenwirkung haben („environmental estrogens, endocrine disrupters“), so dass das Interesse an der exogenen estrogenen Wirkung auf die Prostataentwicklung derzeit wieder zunimmt [z.B. Toppari 2008; Prins 2008]

Bezüglich der dosisabhängigen Wirkung der Estrogene und estrogen-ähnlichen Substanzen existieren kontroverse Daten. So wurde in der Studie von vom Saal et al. (1997) eine Vergrößerung der Prostata nach einer niedrigdosierten Estrogenbehandlung beobachtet; im Gegensatz dazu bewirkten hochdosierte Estrogene eine Prostataverkleinerung.

In anderen Studien konnten die o.g. Effekte der neonatalen niedrigdosierten Estrogenbehandlung (bzw. Wirkung von DES und Bisphenol A) nicht bestätigt werden [Ashby et al. 1999; Putz et al. 2001; Tinwell et al. 2002; Chahoud et al. 2003]. Daher wurde auf Verwendung von estrogen-ähnlichen Substanzen im Rahmen unseres Versuchs verzichtet.

In einer aktuellen Arbeit von Prins [Prins et al. 2010] konnte nachgewiesen werden, dass eine neonatale Bisphenol A – Behandlung zu schweren intraepithelialen Neoplasien führen kann. Allerdings wurde von keinen BPH-ähnlichen Veränderungen berichtet.

Bei der Estrogen-Dosiswahl entschlossen wir uns für eine höhere Dosis; es ist bekannt, dass solch eine neonatale Behandlung mit Estrogenen irreversibel die Größe und Entwicklung der Prostata vermindert, so dass alle Anteile der Prostata bei solchen Tieren hypotroph und hypomorph sind und nur 20 – 50 % der normalen Größe erreichen [Prins 1992]. In den dorsalen und lateralen Prostataanteilen wurde nicht nur Wachstumsretardierung, sondern auch komplexe anatomische Entwicklungsstörungen detektiert [Pu et al. 2004]. Während das gestörte Wachstum nach der Estrogenbehandlung auf einen Testosteronmangel zurückgeführt werden kann [Prins 1992], zeigten auch mehrere Zellkulturstudien einen direkten Estrogeneffekt im Sinne der Hemmung des Wachstums und Differenzierung [Jarred et al. 2000; Putz & Prins 2002].

Neonatale Hochdosisbehandlung mit Estradiol führt zu ausgeprägten Störungen der Zellproliferation und -Differenzierung sowohl in den epithelialen als auch in den stromalen Anteilen des Organs, und diese Veränderungen persistieren während des gesamten Lebens der Tiere [Prins & Birch 1995; Chang et al. 1999a; Chang et al. 1999b; Habermann et al. 2001; Birch et al. 2003].

In unserer Arbeit wurden in der Estrogen-Gruppe ebenfalls persistierende hypoplastische Stroma-Veränderungen beobachtet. Das histologische Bild aller Prostataanteile in dieser Gruppe – nicht nur der dorsalen Prostata - zeigte eine ausgeprägte Hypoplasie aller Strukturen, sowohl der fibromuskulären, als auch der glandulären Elemente im Vergleich zur Kontrollgruppe (s. Farbtafel 3). Die Zugabe von GH hatte keinerlei Effekt.

Die stromal-epitheliale Kommunikation wird durch Estrogenbehandlung gestört. Dies zeigt sich in der gesteigerten Proliferation der periduktalen Fibroblasten in unmittelbarer Nähe der wachsenden Gänge während der frühen Entwicklungsphase [Chang et al. 1999a, b]. Direkte Kommunikation (“cross talk“) zwischen Epithelzellen und benachbarten Muskelzellen ist essentiell für die normale Entwicklung der Prostata und erfolgt durch Sekretion von Wachstumsfaktoren und Komponenten der extrazellulären Matrix.

Die vorzeitige Proliferation und Differenzierung von Mesenchymalzellen führt zur Entstehung einer multizellulären Fibroblastenschicht zwischen Epithelzellen und Muskelzellen, so dass eine essentiell wichtige stromal-epitheliale Kommunikation blockiert wird (nachgewiesen in Studien mit transforming growth-factor-Beta-1 [Chang et al. 1999a, b]).

Insgesamt zeigen die oben genannte Veränderungen, dass eine neonatale Estrogenbehandlung zu einer Störung der intrazellulären Kommunikation führt und die normale Differenzierung von Epithelzellen der Rattenprostata blockiert. Diese permanenten Veränderungen der Differenzierung und Genexpression sind möglicherweise die Mechanismen, die auch die von uns beobachteten Veränderungen erklären.

Eine weitere Erklärung könnte auf der Ebene der Estrogenrezeptoren liegen. In älteren Studien wurde beobachtet, dass die aktivierende Wirkung von Androgenen auf die Prostata erwachsener Tiere bei neonatal estrogenisierten Ratten wesentlich weniger ausgeprägt ist [Rajfer & Coffey 1979]. Es wurde festgestellt, dass diese Effekte zum Teil durch eine permanente Reduktion der prostatistischen ER-Expression vermittelt werden. Darüber hinaus führt die Estrogenisierung zu Veränderungen in den anderen Steroidrezeptoren, so werden ER-Alpha und Progesteron-Rezeptoren (PR) in den Stromalzellen hochreguliert [Prins & Birch 1997; Prins et al. 2001]. ER-Beta wird in den luminalen Epithelialzellen permanent herunterreguliert [Prins et al. 1998], und in den basalen Zellen hochreguliert, während ER-Alpha sowohl in epithelialen als auch in Stromalzellen hochreguliert wird [Adams et al. 2002]. Diese Veränderungen führten zu der Hypothese, dass die Estrogenwirkung während der frühen Entwicklungsphase die Prostata von einem AR-kontrollierten Organ in ein Organ umwandeln kann, das primär durch Estrogene und Retinoide kontrolliert wird. Unsere Ergebnisse sprechen eher gegen dieser Hypothese, da wir - allerdings bei relativ hoher Dosierung – ausschließlich Hypoplasie-Effekte beobachten konnten.

Oben wurden verschiedene, sowohl permanente als auch passagere Alterationen in den unterschiedlichen zellulären Systeme nach Steroidimprinting diskutiert.

Die molekulare Grundlage dieser Veränderungen ist noch unklar. Einer der möglichen Mechanismen könnte eine epigenetische Modifikation von DNA durch Cytosinmethylierung oder Demethylierung mit daraus resultierender Aktivierung oder Inaktivierung der Gene sein.

In der Tat gibt es Beweise dafür, dass hormonelle Einflüsse während der kritischen Phasen der Entwicklung die DNA-Methylierung bestimmter Gene permanent verändern können.

Zwar hatte unsere Arbeit nicht das Ziel, Veränderungen auf DNA-Ebene zu untersuchen, jedoch existieren interessante Daten anderer Autoren, die die Grundlagen der von uns beobachteten Effekte erklären könnten und die wir an dieser Stelle erwähnen möchten.

Eine neonatale Phytoestrogenbehandlung führte zu einer Hypermethylierung von c-H-ras im Pankreas von Ratten [Lyn-Cook et al. 1995]. Die fetale Behandlung mit DES und Metoxychlorid führten zu veränderten Methylierung von DNA [Alworth et al. 2002]

Um die Frage zu klären, ob epigenetische Alterationen der DNA-Methylierung eine Rolle im Prostata-Imprinting spielt, wurde in einer von Prins publizierten Studie [Prins et al. 2006] nach globalen Änderungen in der Methylierung mit Hilfe eines MSRF (“methylation-sensitive restriction fingerprinting“) gesucht. Es wurde Prostatagewebe von Ratten nach einer neonatalen Hochdosis-Behandlung, nach einer niedrigdosierten Estradiol-Behandlung oder nach Behandlung mit BPA (mit oder ohne folgenden Testosteron- und Estradiol-Behandlung) untersucht [Prins et al. 2006]. Über 50 DNA-Kandidaten wurden dabei identifiziert. Davon zeigten 16 keine Homologie mit bekannten Genen der Ratte, 6 wurden nur einmalig (PLC-Beta 3, HPC-AL1, CARX GPCR 14, PDE4, D4 und PDGFR-Alpha) und zwei wurden mehrfach (CAR Ex1 und SLC1-2a2) mit ähnlichen Methylierungsmustern identifiziert. Es ist bemerkenswert, dass mehrere von diesen Kandidatengen in die Signalmechanismen des mit dem Natrium, Kalium, Chlorid-Kotransport (SLC 1, 2a2), Serotonin-Rezeptor-G-Protein gebundenem Rezeptor (GPCR14), in dem Phosphokinase-C-Mechanismus (PLC-Beta 3) und cAMP-Mechanismus involviert sind.

Darüber hinaus sind diese Signalwege in den Zellzyklus und/oder die Apoptose involviert, so dass möglicherweise neonatale Estrogen-Expositionen das Proliferations-Apoptose-Gleichgewicht durch epigenetische Gen-Regulation/Dysregulation stören kann. In anderen Studien wurde Phosphodiesterase Typ 4, Variante 4 (PDE4, ein intrazelluläres Enzym, das cAMP abbaut) untersucht [Conti et al. 2003]. Dessen Gen wurde ausgewählt, weil es intrazelluläre Spiegel von cAMP kontrolliert; cAMP aktiviert multiple Signalwege, die für Wachstum und Differenzierung verantwortlich sind. Deshalb kann eine persistierende Aktivierung von cAMP bei neoplastischen Transformationen eine wichtige Rolle spielen.

Mehrere Studien beschäftigten sich mit der Korrelation zwischen PDE4-Expression und Proliferation der Krebszellen inklusive Gliomzellen [Chen et al. 2002], Osteosarkom [Narita et al. 2003] und CLL [Donjacour et al. 1993]. Darüber hinaus stellt PDE4 möglicherweise ein Target für moderne Chemotherapeutika dar.

In einer Studie [Conti et al. 2003] wurde festgestellt, dass im Gegensatz zum normalen Prostatagewebe in allen Prostatae, die neonatal mit hohen Dosen von Estradiol oder BPA behandelt wurden, PDE4-4 (PDE4 D4 CPG-Insel) mit dem Alter hypomethyliert wird. Zellkulturstudien haben diese Beobachtungen bestätigt. Ferner wurde eine Hypomethylierung dieses Gens in Prostatakarzinom-Zellen nachgewiesen.

Wichtig ist, dass PDE4 D4-Hypomethylierung mit einer erhöhten Genexpression in allen neonatalen Estrogen- oder BPA-behandelten Tieren bereits zum 90. postnatalen Tag beobachtet wurde, und zwar vor jeglicher sekundären Hormonbehandlung. Dies erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass PDE4 als Molekularmarker im Rahmen der Prostatakarzinomrisiko-Evaluation verwendet werden kann.

In einigen aktuellen Studien wird eine Bedeutung des Aryl-Hydrocarbon-Receptors („orphan receptor“) für die Entwicklung der Prostata diskutiert [Vezina et al. 2009]. Es wird vermutet, dass der Aryl-Hydrocarbon-Signalweg eine wichtige Rolle im Process des Imprinting haben kann, jedoch wird dieser Signalweg erst erforscht und es existieren nur wenige Daten.

In mehreren Studien wurde bereits nachgewiesen, dass ein breites Spektrum von Estrogenbehandlungen während der kritischen Phase der Entwicklung – von BPA über niedrigdosierte Estradiol-Behandlung bis zur hochdosierten Estradiolgabe – zur erhöhten Inzidenz der neoplastischen Transformation der Prostata im Alter führen und möglicherweise fetale Grundlage für diese Erkrankungen im Erwachsenenalter sind.

Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass sogenannte “endocrine disruptors“, wie z.B. BPA, genauso wie pharmakologische oder auch natürliche Dosen von Estrogenen, die epigenetische Grundlage für ein Imprinting der Prostata schaffen. Die veränderte DNA-Methylierung ist hereditär und kann durch mehrere Zell-Generationen in Zellkulturen beobachtet werden. Auf der Basis dieser Veränderungen können die erhöhten Hormonspiegel im Erwachsenenalter die Grundlage für die Entstehung der Prostatadysplasie und des Prostatakarzinoms schaffen.

Die Behandlung mit Finasterid bzw. Fadrozol bewirkte weder mit GH noch ohne GH eine signifikante Veränderung der relativen Prostatamasse. Auch histologisch konnten keine Unterschiede zu den Kontrolltieren beobachtet werden. Unsere Dosierung von 500 µg pro Tier und Tag entsprach größenordnungsmäßig der international bei der Ratte üblichen Dosierung pro Körpergewicht. In dieser Dosierung von Finasterid wurden bei erwachsenen Ratten ein deutlicher Abfall des DHT-Spiegels und ein Anstieg des prostatistischen Testosterons beobachtet [George 1997]. Wenn man also davon ausgeht, dass auch bei unseren Tieren DHT abgefallen und Testosteron angestiegen ist, dann offenbar beides nicht in dem Maße, dass ein Einfluss auf die spätere Prostataentwicklung stattgefunden hätte.

Auch bei Fadrozol bewegten wir uns in den üblichen Dosierungen pro Körpergewicht für Ratten [Kawashita et al. 2000]. Auch hier war weder in den relativen Prostatamassen noch in den histologischen Bildern signifikante Veränderungen nachweisbar, sodass gefolgert werden kann, dass ein Abfall der neonatalen Estrogenspiegel ebenfalls ohne Einfluss auf die spätere Prostataentwicklung sein dürfte.

Interpretation der Ergebnisse der Hormonanalytik.

Die Ergebnisse der Hormonanalytik sind zum Teil widersprüchlich. Die Testosteron- und DHT-Spiegel reflektieren den Hypoplasie-Effekt insbesondere der neonatalen Estradiol-Behandlung: die gesamte Hypophysen-Gonaden-Achse erscheint insuffizient; die Steroidwerte sind signifikant erniedrigt. Die neonatale TP-Behandlung hat ähnliche Effekte. Infolge der hohen Standardabweichung wird jedoch nur teilweise Signifikanz erreicht. Tendenziell ist eine solche Funktionseinschränkung auch nach neonataler DHT-Gabe zu beobachten.

Die Finasterid- und Fadrozol-behandelten Gruppen bewegen sich in ähnlichen Bereichen. Die LH-Werte zeigen insgesamt keine Signifikanz gegenüber der Kontrolle, obwohl in der Estradiol-Gruppe die Tendenz zur Verminderung am deutlichsten ist.

Die Signifikanzen zwischen den GH-behandelten und GH-unbehandelten Gruppen – im Falle der Estrogen-Behandlung nach unten, bei DHT nach oben, bei TP keine Signifikanz – lassen keine Schlussfolgerung zu. Auch der unter Finasterid relativ stark erhöhte LH-Spiegel kann nicht erklärt werden. Insgesamt sind diese Hormonwerte natürlich nur Momentaufnahmen und im Vergleich zur Morphometrie und Histologie weniger aussagekräftig.

Die IGF-1-Spiegel in der Finasterid- und Estrogen-Gruppen zeigen zwar signifikante Erhöhungen in den GH-behandelten Tieren, verglichen mit den GH-unbehandelten Tieren, in der Kontrolle, der DHT-, der TP- und der Fadrozol-behandelten Gruppe sind unter GH jedoch keine Erhöhungen der IGF-1-Werte nachweisbar. Somit muss gefolgert werden, dass es sich bei den nach GH-Behandlung sichtbaren histologischen Veränderungen im Sinne einer Hyperplasie um nicht-IGF-1-vermittelte Effekte handelt.

Eins der Ziele unserer Arbeit war die Entwicklung eines neuen Tiermodells der BPH.

Das bisher bekannteste Tiermodell für BPH ist der Beagle [Yokota et al. 2004; Gallardo et al. 2009]. Da allerdings die Zucht und Haltung der Hunde aufwändig und nicht überall möglich ist, wird nach alternativen Tiermodellen, vor allem nach einem Nageltier-Modell, gesucht.

Die Arbeit von vom Saal an der Maus [vom Saal et al. 1997] zeigte jedoch eher Veränderungen im Sinne einer Dysplasie als einer Hyperplasie.

Das Rattenmodell der Testosteron-induzierten Prostatavergrößerung [Maggi et al. 1989; Pandita et al. 1998] weist keine BPH-typischen histologischen Stromalen Veränderungen auf und dient primär als Modell der Harnblasenobstruktion bzw. der Detrusorüberaktivität.

Unsere Ergebnisse weisen einen Weg zu einem innovativen Nageltiermodell der BPH, da die Veränderungen nicht auf der Epithel-Ebene, sondern im Stroma beobachtet werden können, ähnlich wie bei menschlicher BPH. Allerdings sind aus unserer Sicht umfangreiche weitere Untersuchungen, vor allem mit unterschiedlichen Dosierungen der o. g. Substanzen, erforderlich. Hierzu fehlten uns die personellen und finanziellen Ressourcen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Benigne Prostatahyperplasie ist eine Erkrankung, die zwar in vielen Fällen durch eine Organvergrößerung auffällt, jedoch grundsätzlich durch eine Umstrukturierung des Organs zugunsten einer Stroma-Dominanz und der Herausbildung nodulärer Strukturen gekennzeichnet ist. Entsprechend wurden in unseren Experimenten keine eindeutigen Zusammenhänge zwischen der Prostatamasse und prostatahyperplasie-ähnlichen Veränderungen festgestellt.

Die neonatale Steroid-Behandlung ruft Prostatamasseabnahmen hervor, die durch die permanente Hemmung der eigenen Gonadensekretionen zu erklären sind. Somit ist der Endpunkt "Gewichtsveränderung" kein Zeichen dafür, dass die neonatale Behandlung ein vielversprechendes Modell der benignen Prostatahyperplasie darstellt. Dabei gilt, dass alle Kompartimente der Prostata davon betroffen, also abhängig von den physiologischen Sekretionen, sind. Die geringen Veränderungen bei Dihydrotestosteron, Finasterid und Fadrozol sprechen eher dafür, daß die Prozesse 5 α -Reduktion und Aromatisierung, sowie Androgene, die exklusiv auf den Androgenrezeptor wirken (Dihydrotestosteron), geringere Auswirkungen als Estrogene und Testosteron auf die peripuberale Regulation der gonadalen Achse ausüben.

Die neonatale Hormonmanipulationen, insbesondere die Behandlung mit Dihydrotestosteron oder Testosteronpropionat, schaffen jedoch die Voraussetzung für eine stroma-fokussierte Wirkung des Wachstumshormons, die zu einer verstärkten Stromaproliferation führt. Diese Stroma-Proliferation entspricht weitgehend dem histologischen Bild einer benignen Prostata-Hyperplasie, eher jedenfalls als die histologischen Bilder der Mausmodelle von vom Saal [vom Saal F.S, 1997]. Dies konnten unsere histologischen Ergebnisse eindeutig nachweisen.

Wenn man die relativen Veränderungen der einzelnen Prostata-Teile nach Steroidbehandlung allein betrachtet, fällt auf, dass die laterale Prostata anfälliger für die Hypoplasie-induzierende Wirkung von Estrogenen und die Hyperplasie-induzierende Wirkung von Testosteron bzw. Dihydrotestosteron ist als es die übrigen Teile sind.

Unsere Ergebnisse lassen darüber hinaus vermuten, dass Estradiol bzw. aromatisierbare Androgene (Testosteron) eine stärkere antigonadotrope Wirkung und, somit Hemmung der eigenen Gonadensekretion ausüben, als Dihydrotestosteron.

Die Ergebnisse der Hormonanalytik sind zum Teil widersprüchlich und weniger aussagekräftig. Die Testosteron- und Dihydrotestosteron-Spiegel reflektieren den Hypoplasie-Effekt insbesondere der neonatalen Estradiol-Behandlung.

Die IGF-1-Spiegel lassen keine eindeutigen Schlussfolgerungen zu. Es muss gefolgert werden, dass es sich bei der nach Wachstumshormon-Behandlung sichtbaren histologischen Veränderung um nicht-IGF-1-vermittelte Effekte handelt.

Eindeutig ist, dass das neonatale Imprinting einen komplett unterschiedlichen Wirkungshintergrund für Wachstumshormon schafft, was eine klinische Relevanz, z.B. bei einem Wachstumshormon-Exzess während des späteren Lebens haben kann.

Unsere experimentellen Untersuchungen an der Ratte bilden eine gute Grundlage, um ein innovatives Nagetiermodell der benignen Prostatahyperplasie zu erstellen.

7. ANLAGE

7.1. Relative Prostatamasse

7.1.1. Prostata dorsalis

Gruppe	Co	E2	DHT	TP	Fin	Fad
N	13	8	11	16	13	10
Mean (nmol/l)	58,17	11,4	37,09	29,36	54,86	53,50
SD	8,58	4,4	8,25	11,08	6,58	8,69
Signifikanz gegenüber Co		p<0,05	p<0,05	p<0,05	n.s.	n.s.

Gruppe	Co+GH	E2+GH	DHT+GH	TP+GH	Fin+GH	Fad+GH
N	10	8	10	10	10	10
Mean (nmol/l)	65,02	7,6	40,94	36,67	52,35	55,02
SD	13,42	2,5	11,95	9,54	12,32	7,44
Signifikanz Gegenüber Co+GH		p<0,05	p<0,05	p<0,05	n.s.	n.s.
Signifikanz gegenüber GH-	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

7.1.2. Prostata ventralis

Gruppe	Co	E2	DHT	TP	Fin	Fad
N	13	8	11	16	13	10
Mean (nmol/l)	101,99	36,8	88,24	49,99	92,52	82,53
SD	13,29	13,9	17,62	12,39	12,79	7,79
Signifikanz gegenüber Co		p<0,05	n.s.	p<0,05	n.s.	p<0,05

Gruppe	Co+GH	E2+GH	DHT+GH	TP+GH	Fin+GH	Fad+GH
N	10	8	10	10	10	10
Mean (nmol/l)	89,10	30,9	71,41	56,44	103,47	94,19
SD	10,26	7,3	13,05	12,62	9,96	14,08
Signifikanz gegenüber Co+GH		p<0,05	p<0,05	p<0,05	n.s.	n.s.
Signifikanz gegenüber GH-	p<0,05	n.s.	p<0,05	n.s.	p<0,05	p<0,05

7.1.3. Prostata lateralis

Gruppe	Co	E2	DHT	TP	Fin	Fad
n	13	8	11	16	13	10
Mean (nmol/l)	41,39	5,2	22,64	8,48	30,51	28,85
SD	5,86	0,9	4,99	3,86	7,49	7,7
Signifikanz gegenüber Co		p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Gruppe	Co+GH	E2+GH	DHT+GH	TP+GH	Fin+GH	Fad+GH
n	10	8	10	10	10	10
Mean (nmol/l)	36,64	3,8	26,31	10,91	35,91	28,08
SD	7,38	0,9	7,23	2,62	9,45	5,99
Signifikanz gegenüber Co+GH		p<0,05	p<0,05	p<0,05	n.s.	n.s.
Signifikanz gegenüber GH-	n.s.	p<0,05	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

7.2. Ergebnisse der Hormonanalytik

7.2.1. DHT

Gruppe (n=10)	Co	E2	DHT	TP	Fin	Fad
Mean (nmol/l)	1.88	0.63	1.92	0.98	1.97	1.75
SD	0.52	0.50	0.47	0.38	0.94	0.27
Signifikanz gegenüber Co	n.s.	p< 0,01	n.s.	p<0.001	n.s.	n.s.

Gruppe (n=10)	Co+GH	E2+GH	DHT+GH	TP+GH	Fin+GH	Fad+GH
Mean (nmol/l)	3.25	0.29	1.54	1.43	2.40	1.48
SD	1.96	0.09	1.61	0.35	0.60	0.60
Signifikanz Gegenüber Co	n.s.	p< 0,001	p<0.01	p<0.01	n.s.	p<0.01
Signifikanz gegenüber GH-	p<0.05.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

7.2.2. Testosteron

Gruppe (n=10)	Co	E2	DHT	TP	Fin	Fad
Mean (nmol/l)	8.57	3.10	9.76	3.60	11.03	5.99
SD	5.3	2.70	4.64	2.22	5.22	1.42
Signifikanz gegenüber Co	n.s.	p<0.05	n.s.	p<0.05	n.s.	n.s.

Gruppe (n=10)	Co+GH	E2+GH	DHT+GH	TP+GH	Fin+GH	Fad+GH
Mean (nmol/l)	17.68	0.80	4.43	6.17	12.98	6.86
SD	12.92	0.28	2.02	2.21	3.81	4.12
Signifikanz gegenüber Co	n.s.	p<0.01	p<0.001	p<0.01	n.s.	p<0.01
Signifikanz gegenüber GH-	n.s.	p<0.015	p<0.004	p<0.018	n.s.	n.s.

7.2.3. LH

Gruppe (n=10)	Co	E2	DHT	TP	Fin	Fad
Mean (nmol/l)	25.9	28.6	25.8	40.0	20.7	25.8
SD	10.81	15.73	3.66	14.79	3.84	6.20
Signifikanz gegenüber Co	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	p<0.05	n.s.

Gruppe (n=10)	Co+GH	E2+GH	DHT+GH	TP+GH	Fin+GH	Fad+GH
Mean (nmol/l)	35.7	13.4	32.1	33.3	47.2	24.3
SD	8.48	3.32	18.46	13.62	25.50	12.65
Signifikanz gegenüber Co	n.s.	p < 0,01	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Signifikanz gegenüber GH-	p<0,037	p < 0,0008	n.s.	n.s.	p < 0,004	n.s.

7.2.4. IGF-1

Gruppe (n=10)	Co	E2	DHT	TP	Fin	Fad
Mean (ng/ml)	2072.9	1908.6	2048.56	1987.2	1678.9	1653.4
SD	227.9	178.4	397.6	370.7	372.6	419.4
Signifikanz gegenüber Co	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s.	p < 0,05

Gruppe (n=10)	Co+GH	E2+GH	DHT+GH	TP+GH	Fin+GH	Fad+GH
Mean (ng/ml)	2162.8	2151.4	2092.76	2190.9	2095.7	1798.8
SD	264.2	298.5	451.94	340.6	444.8	343.2
Signifikanz Gegenüber Co	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
Signifikanz gegenüber GH-	n.s	p < 0,04	n.s	n.s	p<0.036	n.s

DANKSAGUNG

Ich bedanke mich ganz herzlich bei meinen wissenschaftlichen Betreuer, **Frau Doktor Götz** und **Herrn Professor Rohde**, ohne deren Unterstützung das gesamte Projekt nicht möglich gewesen wäre. Sie brachten mir sehr viel Geduld entgegen und sorgten mit wertvollen Ratschlägen für das Gelingen dieser Arbeit.

Des Weiteren gilt mein großer Dank für die Gewährung eines Stipendiums der **Studienstiftung des Abgeordnetenhauses von Berlin**.

Mein Dank richtet sich auch an die Firmen **Novo Nordisk**, **Steraloids Inc.** und **Novartis**, für die kostenlose Bereitstellung der Substanzen.

Für die vielseitige Unterstützung während der experimentellen Phase bin ich zahlreichen Kollegen aus dem Institut für experimentelle Endokrinologie der Charité sehr dankbar, vor allem **Herrn Dr. Alexandre V. Patchev**, **Frau Heide Lück** und **Frau Anja Fischbach**.

Ein besonderes Wort des Dankes möchte ich an **meine Mutter** richten, die mich stets bestärkt hat, wenn ich an mir gezweifelt habe.

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. Adams J.Y, Leav I, Lau K.M, Ho S.M, Pflueger S.M. Expression of estrogen receptor beta in the fetal, neonatal, and prepubertal human prostate. *Prostate*. 2002; 52:69–81.
2. Aksoy Y, Aksoy H, Bakan E, Fuat Atmaca A, Akcay F: Serum Insulin-Like Growth Factor-I and Insulin Like Growth Factor Binding Protein-3 in Localized, Metastasized Prostate Cancer and Benign Prostate Hyperplasia. *Urologia Internationalis* 2004; 72:62-65.
3. Alworth L.C, Howdeshell K.L, Ruhlen R.L, et al. Uterine responsiveness to estradiol and DNA methylation are altered by fetal exposure to diethylstilbestrol and methoxychlor in CD-1 mice: effects of low versus high doses. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2002; 183:10–22.
4. Arai Y, Chen C.Y, Nishizuka Y. Cancer development in male reproductive tract in rats given diethylstilbestrol at neonatal age. *Gann*. 1978; 69:861–862.
5. Arai Y, Mori T, Suzuki Y, Bern H.A. Long-term effects of perinatal exposure to sex steroids and diethylstilbestrol on the reproductive system of male mammals. In: Bourne GH and JF., editor. *International Review of Cytology*. New York: Academic Press, Inc; 1983. 235–268.
6. Bartsch G, Rittmaster R.S, Klocker H. Dihydrotestosterone and the concept of 5-alpha reductase inhibition in human benign prostatic hyperplasia. *Eur Urol* 2000; 37: 367–380.
7. Birch L, Prins G.S. The Endocrine Society's 85th Annual Meeting. Philadelphia, PA: Neonatal estrogens induce epithelial apoptosis in the developing rat prostate through inhibition of the PI3K-Akt pathway. *The Endocrine Society Press*; 2003: 19–23, 405.
8. Chad M. Vezina, Tien-Min Lin, and Richard E. Peterson. AHR signaling in prostate growth, morphogenesis, and disease. *Biochem Pharmacol*. 2009; 77: 566–576.
9. Chang W.Y, Birch L, Woodham C, Gold L.I, Prins G.S. Neonatal estrogen exposure alters the transforming growth factor- β signaling system in the developing rat prostate and blocks the transient p21^{cip1/waf1} expression associated with epithelial differentiation. *Endocrinology*. 1999; 140: 2801–2813.

10. Chang W.Y, Wilson M.J, Birch L, Prins G.S. Neonatal estrogen stimulates proliferation of periductal fibroblasts and alters the extracellular matrix composition in the rat prostate. *Endocrinology*. 1999; 140: 405–415.
11. Chen T.C, Wadsten P, Su S, et al. The type IV phosphodiesterase inhibitor rolipram induces expression of the cell cycle inhibitors p21(Cip1) and p27(Kip1), resulting in growth inhibition, increased differentiation, and subsequent apoptosis of malignant A-172 glioma cells. *Cancer Biol Ther*. 2002 1:268–276.
12. Chokkalingam AP, Pollak M, Fillmore CM, Gao YT, Stanczyk FZ, Deng J, Sesterhenn IA, Mostofi FK, Fears TR, Madigan MP, Ziegler RG, Fraumeni JF Jr, Hsing AW. Insulin-like growth factors and prostate cancer. A population-based case-control study in China. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 10: 421–427, 2001.
13. Chokkalingam AP, Gao Y.T, Deng J, Stanczyk F.Z, Sesterhenn I.A, Mostofi F.K, Fraumeni J.F Jr, Hsing A.W. Insulin-like growth factors and risk of benign prostatic hyperplasia. *Prostate*. 2002; 52: 98-105.
14. Chu T.M, Nocera M.A, Flanders K.C, Kawinski E. Localization of seminal plasma transforming growth factor-beta1 on human spermatozoa: an immunocytochemical study. *Fertil Steril* 1996; 66: 327–30.
15. Colao A, Marzullo P, Spiezia S: Effect of two years of growth hormone and insulin like growth factor-I suppression on prostate diseases in acromegalic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3754-3761.
16. Conti M, Richter W, Mehats C, Livera G, Park J.Y, Jin C. Cyclic AMP-specific PDE4 phosphodiesterases as critical components of cyclic AMP signaling. *J Biol Chem*. 2003; 278: 5493–5496.
17. Cooke P.S, Young P, Cunha G.R. Androgen receptor expression in developing male reproductive organs. *Endocrinology*. 1991; 128: 2867-2873.
18. Costello L.C, Liu Y, Zou J, Franklin R.B. Evidence for a zinc uptake transporter in human prostate cancer cells which is regulated by prolactin and testosterone. *J Biol Chem* 1999; 274: 17499–17504.
19. Cunha G.R, Donjacour A.A; Cooke P.S, et al. The endocrinology and developmental biology of the prostate. *Endocrine Review*. 1987; 8: 338–363.

20. Cunha G.R, Lung B. The possible influence of temporal factors in androgenic responsiveness of urogenital tissue recombinants from wild-type and androgen-insensitive (Tfm) mice. *J Exp Zool.* 1978; 205: 181-193.
21. De Bellis A, Ghiandi P, Comerci A, Fiorelli G, Grappone C, Milani S, Salerno R, Marra F, Serio, M. Epidermal growth factor, epidermal growth factor receptor, and transforming growth factor-alpha in human hyperplastic prostate tissue: expression and cellular localization. *J Clin Endocrinol Metabol* 1996; 81: 4148–4154.
22. De Marzo A.M, Coffey D.S, Nelson W.G. New concepts in tissue specificity for prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Urology.* 1999; 53: 29-42.
23. Döhler K.D, Wuttke W. Changes with age in levels of serum gonadotropins, prolactin, and gonadal steroids in prepubertal male and female rats. *Endocr.* 1975; 97: 898–907.
24. Dörner G, Schnorr D, Stahl F, Rohde W. Successful treatment of prostatic cancer with the orally active depot estrogen ethinylestradiol sulfonate (Turisteron). *Exp Clin Endocrinol.* 1985; 86:190-196.
25. Donjacour A.A, Cunha G.R. Assessment of prostatic protein secretion in tissue recombinants made of urogenital sinus mesenchyme and urothelium from normal or androgen-insensitive mice. *Endocrinology.* 1993; 132:2342–2350.
26. Driscoll S.G, Taylor S.H. Effects of prenatal maternal estrogen on the male urogenital system. *Obstet Gynecol.* 1980; 56:537–542.
27. Ekman P. The prostate as an Endocrine Organ: Androgens and Estrogens. *The Prostate* 2000; 10: 14–18.
28. Feldman HA, Longcope C, Derby CA, Johannes CB, Araujo AB, Coviello AD, Bremner WJ, McKinlay JB. Age trends in the level of serum testosterone and other hormones in middle-aged men: longitudinal results from the Massachusetts male aging study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 589-598.
29. Finne P, Auvinen A, Koistinen H, Zhang W.M, Määttänen L, Rannikko S, Tammela T, Seppälä M, Hakama M, Stenman U.H. Insulin-like growth factor I is not a useful marker of prostate cancer in men with elevated levels of prostate-specific antigen. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 2744-2747.

30. Fujimoto N, Suzuki T, Honda H, Kitamura S et al.: Estrogen enhancement of androgenresponsive gene expression in hormone induced hyperplasia in the ventral prostate of F344 Rats. *Cancer Sci* 2004; 95: 711-715.
31. Gallardo F, Lloreta J, García F, Moll X, Baró T, González LA, Morote J, Reventos J, Mogas T. Immunolocalization of androgen receptors, estrogen alpha receptors, and estrogen beta receptors in experimentally induced canine prostatic hyperplasia. *J Androl*. 2009; 30: 240-247.
32. Gann P.H, Hennekens C.H, Longcope C, Verhoek-Oftedahl W, Grodstein F, Stampfer M.J. A prospective study of plasma hormone levels, nonhormonal factors, and development of benign prostatic hyperplasia. *Prostate* 1995; 26: 40–49.
33. George FW. Androgen metabolism in the prostate of the finasterid-treated, adult rat: a possible explanation for the differential action of testosterone and 5 alpha-dihydrotestosterone during development of the male urogenital tract. *Endocrinology*. 1997; 138: 871-877.
34. Giusti R.M, Iwamoto K, Hatch E.E. Diethylstilbestrol revisited: A review of the long-term health effects. *Ann Int Med*. 1995; 122: 778–788.
35. Gray A, Feldman H.A, McKinlay J.B, Longcope C. Age, middle, and changing sex hormone levels in middle-aged men: results of the massachusetts male aging study. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 1016–1025.
36. Habermann H, Chang WY, Birch L, Parmender M, Prins G.S. Developmental exposure to estrogens alters epithelial cell adhesion and gap junction proteins in the adult rat prostate. *Endocrinology*. 2001; 142: 359–369.
37. Hamaguchi A, Tooyama I, Yoshiki T, Kimura H. Demonstration of fibroblast growth factor receptor-I in human prostate by polymerase chain reaction and immunohistochemistry. *Prostate* 1995; 27: 141–147.
38. Henderson B.E., Bernstein L, Ross R.K, Depue R.H, Judd H.L. The early in utero oestrogen and testosterone environment of blacks and whites: potential effects on male offspring. *Br J Cancer*. 1988; 57:216–218.
39. Hermann M, Berger P. Ageing of the male endocrine system. *Rev Physiol Biochem Pharm* 1999; 139: 90–122.

40. Hermann M, Untergasser G, Rumpold H, Berger P. Aging of the male reproductive system. *Exp Gerontol* 2000; 35: 1267–1279.
41. Huang L, Pu Y, Alam S, Birch L, Prins G.S. Estrogenic regulation of signaling pathways and homeobox genes during rat prostate development. *J Andrology*. 2004; 25:330–337.
42. Huang L, Pu Y, Alam S, Birch L, Prins G.S. The role of Fgf10 signaling in branching morphogenesis and gene expression in the rat prostate gland: lobe-specific suppression by neonatal estrogens. *Developmental Biology*. 2005; 278: 396–414.
43. Hudson D.L, Guy A.T, Fry P, O'Hare M.J, Watt F.M, Masters J.R. Epithelial cell differentiation pathways in the human prostate: identification of intermediate phenotypes by keratin expression. *J Histochem Cytochem*. 2001; 49: 271-278.
44. Huggins C, Hodges C.F. Studies on prostatic cancer. I. The effect of castration, of estrogen, and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. *Can Res*. 1941; 1: 293–297.
45. Ittman M, Mansukhani A. Fibroblast growth factors (FGFs) and FGF receptors in human prostate. *J Urol* 1997; 157: 351–6.
46. Isaacs J.T, Coffey D.S. Etiology and disease process of benign prostatic hyperplasia. *Prostate Suppl*. 1989; 2:33-50.
47. Jarred R.A, Cancilla B, Prins G.S, Thayer K.A, Cunha G.R, Risbridger G.P: Evidence that estrogens directly alter androgen-regulated prostate development. *Endocrinology* 2000; 141: 3471-3477.
48. Jin B, Turner L, Zhou Z, Zhou E.L, Handelsman D.J. Ethnicity and migration as determinants of human prostate size. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3613–3619.
49. Kawashita H, Hiratsuka K, Kuroda J, Asada Y, Suzuki T, Muguruma Y, Tomioka S, Tani M, Kondo M, Mineshima H, Nagae Y. Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by repeated dose studies in rats: Fadrozol hydrochloride: an oral 2/4-week male reproductive organ toxicity study. *J Toxicol Sci*. 2000; 25: 51-62.

50. Kehinde E.O, Akanji A.O, Mojiminiyi O.A, Bashir A.A, Daar A.S, Varghese R: Putative role of insulin like growth factor-I and IGF-binding protein-3 levels in the development of prostate cancer in arab men. *Prostatic Cancer and Prostatic Diseases* 2005; 8: 84-90.
51. Kleinberg D.L, Ruan W, Yee D, Kovacs K.T, Vidal S. Insulin-like growth factor (IGF)-I controls prostate fibromuscular development: IGF-I inhibition prevents both fibromuscular and glandular development in eugonadal mice. *Endocrinology*. 2007; 148: 1080-1088.
52. Leav I, Ho S, Ofner P, Merk F, Kwan P, Damassa D. Biochemical alterations in sex hormone-induced hyperplasia and dysplasia of the dorsolateral prostates of Noble rats. *J Nat'l Canc Inst*. 1988; 80:1045–1053.
53. Lee C, Sintich S.M., Mathews E.P, Shah A.H, Kundu S.D, Perry K.T, Cho J.S, Ilio K.Y, Cronauer M.V, Janulis L, Sensibar J.A. Transforming growth factorbeta in benign and malignant prostate. *Prostate* 1999; 39: 285–290.
54. Löffler G, Petrides P.E: Hypothalamisch-hypophysäres System und Zielgewebe. *Biochemie und Pathobiochemie*. 7. Auflage. Berlin Heidelberg New York: Springer Verlag, 2003: 905-906.
55. Luo J, Dunn T, Ewing C: Gene expression signature of benign prostatic hyperplasia revealed by cDNA microarray analysis. *The Prostate* 2002; 51:189-200.
56. Lyn-Cook B.D, Blann E, Payne P.W, Bo J, Sheehan D, Medlock K. Methylation profile and amplification of proto-oncogenes in rat pancreas induced with phytoestrogens. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1995; 208: 116–119.
57. Madersbacher S, Haidinger G, Struhal G. For the Prostate Study Group of the Austrian Society of Urology. Management of lower urinary tract symptoms of elderly men in Austria. *Eur Urol* 2001; 39: 145–150.
58. Madersbacher S, Haidinger G, Temml C, Schmidbauer C.P. For the Prostate Study Group of the Austrian Society of Urology. The prevalence of lower urinary tract symptoms in Austria as assessed by an open survey of 2096 men. *Eur Urol* 1998; 34: 136–141.

59. Madersbacher S, Stulnig T, Huber L, Dirnhofer S, Wick G, Berger P. Serum glycoprotein hormones and the free alpha-subunit in a healthy elderly ageing population - analyses with ultrasensitive time resolved fluoroimmunoassays. *Mech Ageing Development* 1993; 71: 223–233
60. Maggi C.A, Manzini S, Giuliani S, Meli A. Infravesical outflow obstruction in rats: a comparison of two models. *Gen Pharmacol.* 1989; 20: 345-349.
61. Marcelli M, Cunningham G.R. Hormonal signalling in prostatic hyperplasia and neoplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3463–3468.
62. Modugno F.J.L.W, Trump D.L. Allelic variants of aromatase and androgen and estrogen receptors: toward a multigenic model of prostate cancer risk. *Clinical Cancer Research.* 2001; 7: 3092–3096.
63. Monti S, Di Silverio F, Irad R: Regional variations of insulin-like growth factor I (IGF-1), IGF-II, and receptor type I in benign prostatic hyperplasia tissue and their correlation with intraprostatic androgens. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2001; 86: 1700-1706.
64. Moore, R.A. *Endocrinology of neoplastic disease.* New York: Oxford University Press; 1947: 194.
65. Moyad M.A: Lifestyle changes to prevent BPH: heart healthy = prostate healthy. *Official Journal of the American Urological Association Allied* 2003; 23: 439-441.
66. Narita M, Murata T, Shimizu K. Phosphodiesterase 4 in osteoblastic osteosarcoma cells as a potential target for growth inhibition. *Anticancer Drugs.* 2003; 14:377–381.
67. Neuhaus L.M, Kristal A.R, Penson D.F: Steroid Hormones and Hormone-Related Genetic and Lifestyle Characteristics as Risk Factors for Benign Prostate Hyperplasia: Review of Epidemiologic Literature. *Urology* 2004; 64:201-211.
68. Nevalainen M.T, Valve E.M, Ingketon P, Nurmi M, Martikainen P, Harkonen P. Prolactin and prolactin receptors are expressed and functioning in human prostate. *J Clin Invest* 1997; 99: 618–627.
69. Oliver S.E, Barrass B, Gunnell D.J: Serum insulin-like growth factor-I is positively associated with serum prostate-specific antigen in middle-aged men without evidence of prostate cancer. *American Association for Cancer Research* 2004; 13:163-165.

70. Pandita R.K, Persson K, Hedlund P, Andersson K.E. Testosterone-induced prostatic growth in the rat causes bladder overactivity unrelated to detrusor hypertrophy. *Prostate*. 1998; 35: 102-108.
71. Platz E.A, Giovannucci E. The epidemiology of sex steroid hormones and their signaling and metabolic pathways in the etiology of prostate cancer. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2004; 92: 237–253.
72. Plymate S.R, Rosen C.J, Paulsen C.A, Ware J.L, Chen J, Vessella R.E, Birnbaum R.S. Proteolysis of insulin-like growth factor-binding protein-3 in the male reproductive tract. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 618–624.
73. Prins G.S. Neonatal estrogen exposure induces lobe-specific alterations in adult rat prostate androgen receptor expression. *Endocrinology*. 1992; 130: 3703–3714.
74. Prins G.S, Birch L. The developmental pattern of androgen receptor expression in rat prostate lobes is altered after neonatal exposure to estrogen. *Endocrinology*. 1995; 136:1303–1314.
75. Prins G.S. Developmental estrogenization of the prostate gland. In: Naz RK., editor. *Prostate: Basic and Clinical Aspects*. Chapter 10. Boca Raton: C R C Press; 1997. 247–65.
76. Prins G.S, Birch L. Neonatal estrogen exposure up-regulates estrogen receptor expression in the developing and adult rat prostate lobes. *Endocrinology*. 1997; 138:1801–1809.
77. Prins G.S, Marmer M, Woodham C, et al. Estrogen receptor- β messenger ribonucleic acid ontogeny in the prostate of normal and neonatally estrogenized rats. *Endocrinology*. 1998; 139: 874–883.
78. Prins G.S, Birch L, Habermann H, et al. Influence of neonatal estrogens on rat prostate development. *Reproductive Fertility Development*. 2001; 13:241–252.
79. Prins G.S, Huang L, Birch L, Pu Y. The role of estrogens in normal and abnormal development of the prostate gland. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006.
80. Prins G.S, Tang W, Belmonte de Frausto J, Ho S.M. Developmental exposure to estradiol or bisphenol A increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase 4. *Cancer Research*. 2006; 66: 5624–5632.

81. Prins G.S. Endocrine disruptors and prostate cancer risk. *Endocr Relat Cancer*. 2008; 15: 649-656.
82. Prins G. S., Shu-Hua Ye, Lynn Birch, Shuk-mei Ho, Kurunthachalam Kannan, Serum bisphenol A pharmacokinetics and prostate neoplastic responses following oral and subcutaneous exposures in neonatal Sprague-Dawley rats, *Reproductive Toxicology* 2011; 31: 1-9.
83. Pu Y, Huang L, Prins G.S. Sonic hedgehog-patched-gli signaling in the developing rat prostate gland: lobe-specific suppression by neonatal estrogens reduces ductal growth and branching. *developmental biology*. 2004; 273: 257–275.
84. Putz O, Prins G.S. Prostate gland development and estrogenic imprinting. In: Burnstein KL., editor. *Steroid Hormones and Cell Cycle Regulation*. Boston, MA: Kluwer Academic Publishers; 2002. 73–89.
85. Putz O, Schwartz C.B, Kim S, LeBlanc G.A, Cooper R.L, Prins G.S. Neonatal low- and high-dose exposure to estradiol benzoate in the male rat: Effects on the prostate gland *Biol Reprod*. 2001; 65: 1496–1505
86. Raghov S, Hooshdraran M.Z, Katiyar S, Steiner M.S. Toremifene prevents prostate cancer in the transgenic adenocarcinoma of mouse prostate model. *Cancer Research*. 2002 March 1; 62: 1370–1376.
87. Rajah R, Valentinis B, Cohen P. Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 induces apoptosis and mediates the effects of transforming growth factor-beta 1 on programmed cell death through a p53- and IGF-1-independent mechanism. *J Biol Chem* 1997; 272: 181–188.
88. Rajfer J, Coffey D.S. Sex steroid imprinting of the immature prostate. *Invest Urol*. 1978; 16: 186–190.
89. Rajfer J, Coffey D.S. Effects of neonatal steroids on male sex tissues. *Invest Urol*. 1979; 17: 3–8.
90. Reiter E, Hemmuy B, Bruyninx M, Cornet A, Klug M, McNamara M, Closset J, Hennen G. Effects of pituitary hormones on the prostate. *Prostate* 1999; 38: 159–165.

91. Roberts R.O, Jacobson D.J, Girman C.J, Rhodes T, Klee G.G, Lieber M.M, Jacobsen S.J. Insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein 3, and urologic measures of benign prostatic hyperplasia. *Am J Epidemiol.* 2003; 157: 784-791.
92. Rosebud O.R, Jacobson D.J, Girman C.J: Insulin-Like Growth Factor-I, Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-3, and Urologic Measures of Benign Prostatic Hyperplasia. *Am J Epidemiol* 2003; 157 : 784-791.
93. Royuela M, De Miguel M.P, Bethencourt F.R, Sanchez-Chapado M, Fraile B, Paniagua R. Transforming growth factor beta 1 and its receptor types I and II. Comparison in human normal prostate, benign prostatic hyperplasia, and prostatic carcinoma. *Growth Factors* 1998; 16: 101–110.
94. Ruan W, Powell-Braxton L, Kopchick J.J, Kleinberg D.L. Evidence that insulin-like growth factor I and growth hormone are required for prostate gland development. *Endocrinology.* 1999; 140: 1984-1989.
95. Rumpold H, Berger P, Madersbacher S. Endokrinologie der Benigen Prostatahyperplasie. *Journal für Urologie und Urogynäkologie* 2002; 9: 16-24.
96. Vom Saal F.S, Hughes C. An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows the need for a new risk assessment. *Envir Hlth Prospect.* 2005; 113: 926–933.
97. Vom Saal F.S, Timms B.G, Montano M.M, Palanza P, Thayer K.A, Nagel S.C, Dhar M.D, Ganjam V.K, Parmigiani S, Welshons W.V. Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects at high doses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997; 94: 2056-2061.
98. Sanda M.G, Doehring C.B, Binkowitz B, Beaty T.H, Partin A.W, Hale E, Stoner E, Walsh P.C. Clinical and biological characterization of familial benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 1997; 157: 876–879.
99. Sanna A.V, Jaffe C.A, Schottenfeld D, Dunn R, Montie J.E, Cooney K.A, Wei J.T: Insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor binding protein-3, and body mass index: clinical correlates of prostate volume among Black men. *Urology* 2002; 59:362-376.
100. Santti R, Newbold R.R, Makela S, Pylkkanen L, McLachlan J.A. Developmental estrogenization and prostatic neoplasia. *Prostate.* 1994; 24: 67–78.

101. Schatzl G, Brössner C, Schmid S, Kugler W, Roehrich M, Treu T, Szalay A, Schmidbauer CP, Söregi S, Madersbacher S for the Prostate Study Group of the Austrian Society of Urology. Endocrine status in elderly men with lower urinary tract symptoms: impact of age, prevalence of hypoandrogenism and its impact on lower urinary tract function. *Urology* 2000; 55: 397–402.
102. Schatzl G, Gsur A, Gernhofer G, Haidinger G, Hinteregger S, Vutuc C, Micksche M, Marberger M, Madersbacher S. The Association between vitamin D receptor- and 17 hydroxylase-gene polymorphisms with benign prostatic hyperplasia and benign prostatic enlargement. *Urology* 2001; 57: 567–572.
103. Schnorr D, Mebel M, Dörner G, Stahl F, Rohde W. Endocrine effects of oestrogen treatment in patients with prostatic cancer. *Eur Urol.* 1976; 2: 85-88.
104. treatment in patients with prostatic cancer. *Eur Urol.* 1976; 2: 85-88.
105. Seth D, Shaw K, Jazayeri J, Leedman P.J. Complex post-transcriptional regulation of EGF receptor expression by EGF and TGF- α in human prostate cancer cells. *Br J Cancer* 1999; 80: 657–669.
106. Shapiro E, Huang H, Masch R.J; McFadden D.E, Wilson E.L, Wu X.R. Immunolocalization of estrogen receptor alpha and beta in human fetal prostate. *J Urology.* 2005; 174: 2051–2053.
107. Shevah O, Laron Z. Patients with congenital deficiency of IGF-I seem protected from the development of malignancies: a preliminary report. *Growth Horm IGF Res.* 2007; 17: 54-57.
108. Shibata A, Stamey T.A, McNeal J.E, Cheng I, Peehl D.M. Genetic polymorphism in the androgen receptor and type II 5 α -reductase genes in prostatic enlargement. *J Urol* 2001; 166: 1560–1564.
109. Siiteri P.K, Wilson J.D. Testosterone formation and metabolism during male sexual differentiation in the human embryo. *JCEM.* 1974; 38:113–125.
110. Stattin P, Kaaks R, Riboli E, Ferrari P, Dechaud H, Hallmans G: Circulating insulin-like growth factor-I and benign prostatic hyperplasia a prospective study. *Scandinavian journal of urology and nephrology* 2001; 35:122-126.
111. Steiner M.S, Pound, C.R. Phase IIA clinical trials to test the efficacy and safety of Toremifene in men with high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Clin Prostate Cancer.* 2003; 2:32–33.

112. Takeda H, Chang C. Immunohistochemical and in-situ hybridization analysis of androgen receptor expression during the development of the mouse prostate gland. *J Endocrinol.* 1991; 129: 83-89.
113. Thomas J.A, Keenan E.J. Effects of estrogen on the prostate. *Journal of Andrology.* 1994; 15: 97–99.
114. Thompson T.C, Cunha G.R, Shannon J.M, Chung L.W. Androgen-induced biochemical responses in epithelium lacking androgen receptors: characterization of androgen receptors in the mesenchymal derivative of urogenital sinus. *J Steroid Biochem.* 1986; 25: 627-634.
115. Toppari J. Environmental endocrine disrupters. *Sex Dev.* 2008; 2: 260-267.
116. Untergasser G, Rumpold H, Hermann M, Dirnhofner S, Jilg G, Berger P. Proliferative disorders of the aging human prostate: involvement of protein hormones and their receptors. *Exp Gerontol* 1999; 34: 275-287
117. Untergasser G, Rumpold H, Plas E, Witkowski M, Berger P. Seminal plasma factors induce in vitro PRL secretion in smooth muscle cells of the human prostate. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5577-5584
118. Vermeulen A. Androgens in the aging male. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 221–224.
119. Weihua Z, Warner M, Gustafsson J.A: Estrogen receptor in the prostate. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2002; 193: 1-5.
120. Wennbo H, Kindblom J, Isaksson O, Tornell J. Transgenic mice overexpressing the prolactin gene develop dramatic enlargement of the prostata gland. *Endocrinology* 1997; 138: 4410–4415.
121. Wernet N, Kern L, Heitz P.H, et al. Morphological and immunohistochemical investigations of the utriculus prostaticus from the fetal period up to adulthood. *Prostate.* 1990; 17: 19–30.
122. Wu S.F, Sun H.Z, Qi X.D, Tu Z.H: Effect of epristeride on the expression of IGF-1 and TGF-beta receptors in androgen-induced castrated rat prostate. *Experimental biology and medicine* 2001; 226: 954-960.

123. Yokota T, Honda K, Tsuruya Y, Nomiya M, Yamaguchi O, Gotanda K, Constantinou C.E. Functional and anatomical effects of hormonally induced experimental prostate growth: a urodynamic model of benign prostatic hyperplasia (BPH) in the beagle. *Prostate*. 2004 1; 58: 156-163
124. Yonemura C.Y, Cunha G.R, Sugimura Y, Mee S.L. Temporal and spatial factors in diethylstilbestrol-induced squamous metaplasia in the developing human prostate. II. Persistent changes after removal of diethylstilbestrol. *Acta Anatomica*. 1995; 153: 1–11.
125. Yu J.P, Wu X.M, Chen J.G, Liu W.M, Yang Q.X. [Analysis of serum insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor-binding protein-3 in benign prostatic hyperplasia]. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2003; 9: 341-343.
126. Zondek T, Zondek L.H. The fetal and neonatal prostate. In: Goland M., editor. *Normal and abnormal growth of the prostate*. Springfield, IL: Thomas C Thomas; 1975. 5–28.
127. Zondek T, Mansfield M.D, Attree S.L, Zondek L.H. Hormone levels in the fetal and neonatal prostate. *Acta Endocr*. 1986; 112: 447–456.

Erklärung

Ich, Andrey Mitroshkin, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Rolle des neonatalen Steroidimprinting und eines peripuberalen Wachstumshormoneinflusses in der Pathogenese der benignen Prostatahyperplasie im Tiermodell der Ratte“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

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