

Aus der Universitätsklinik für Urologie Tübingen

**Identifikation und Verteilung unterschiedlicher
Nervenqualitäten von Prostata- peripheren Nerven im
Hinblick auf die nervschonenden Operationstechniken**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Dillenburg, Thomas Werner

2018

Aus der Universitätsklinik für Urologie Tübingen

**Identifikation und Verteilung unterschiedlicher
Nervenqualitäten von Prostata- peripheren Nerven im
Hinblick auf die nervschonenden Operationstechniken**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Dillenburger, Thomas Werner

2018

Dekan:	Professor Dr. I. B. Autenrieth
1. Berichterstatter:	Professor Dr. K. D. Sievert
2. Berichterstatter:	Professor Dr. B. Hirt
Tag der Disputation:	25.08.2017

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1 Die Prostata	1
1.1.1 Topographie.....	1
1.1.2 Feinbau und Funktion	1
1.1.3 Gefäß- und Nervenversorgung	2
1.2 Das Prostatakarzinom.....	3
1.2.1 Inzidenz	3
1.2.2 Ätiologie	4
1.2.3 Pathologie und Histopathologie	4
1.2.4 Stadieneinteilung	5
1.2.5 Diagnostik	7
1.2.6 Therapie.....	9
1.3 Die Funktionsweise der Erektion.....	16
1.3.1 Neuroanatomie der Erektion	17
1.4 Auswahl spezifischer Substanzen, charakteristisch für die verschiedenen Nervenqualitäten	18
1.4.1 nNOS (Neuronale Stickstoffmonoxid- Synthase)	18
1.4.2 TH (Tyrosin- Hydroxylase)	19
1.4.3 NPY (Neuropeptid- Y)	19
1.4.4 CGRP (Calcitonin Gene- Related Peptide)	20
1.5 Problemstellung	21
1.6 Ziel der Arbeit.....	21
2. Methodik.....	23
2.1 Material	23
2.2 Prinzip der immunhistochemischen Färbung	23
2.2.1 Direkte Methode.....	24
2.2.2 Indirekte Methode	24
2.3 Färbeprotokolle	25
2.3.1 Färbeprotokoll für TH und CGRP: (Strept) Avidin- Biotin- Methode ..	25
2.3.2 Färbeprotokoll für nNOS und NPY: En Vision G/ 2 System/ AP	28
2.4 Mikroskopie	31

2.4.1 Radiärsegmente.....	31
2.4.2 Dokumentation der Nerven	33
2.5 Datenbank und Tabellen	33
2.5.1 Absolute Nervendichte.....	34
2.5.2 Berechnungen	35
2.6 Limitation.....	37
3. Ergebnisse	39
3.1 Daten	39
3.2 Färbeergebnisse	39
3.3 Quantifizierungen	41
3.3.1 Absolute Nervenverteilungen.....	41
3.3.2 Relative Nervenverteilungen.....	60
3.4 Vergleich der absoluten mit den relativen Nervenzahlen	68
3.4.1 Vergleich der absoluten mit den relativen Nervenzahlen nNOS	68
3.4.2 Vergleich der absoluten mit den relativen Nervenzahlen TH	69
3.4.3 Vergleich der absoluten mit den relativen Nervenzahlen NPY.....	70
3.4.4 Vergleich der absoluten mit den relativen Nervenzahlen CGRP.....	70
4. Diskussion.....	72
4.1 Allgemeine Bemerkungen	72
4.2 Das Verständnis der periprostatichen Nervenverteilung	72
4.3 Die Verteilung der unterschiedlich markierten Nerven entlang der Prostata	74
4.3.1 Die Verteilung der nNOS gefärbten Nerven entlang der Prostata.....	74
4.3.2 Die Verteilung der TH und NPY gefärbten Nerven entlang der Prostata	77
4.3.3 Die Verteilung der CGRP gefärbten Nerven entlang der Prostata	79
4.4 Schlussfolgerung.....	80
5. Zusammenfassung.....	83
6. Literaturverzeichnis	85
7. Erklärung zum Eigenanteil.....	96
8. Danksagung	97

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
Aa	<i>Arteriae</i>
ABC Methode	Avidin- Biotin- Complex- Methode
al.	<i>aliae</i>
AP	Alkalische Phosphatase
bzw.	beziehungsweise
Ca	Calcium
ca.	circa
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
CGRP	Calcitonin Gene- Related Peptide
CT	Computertomographie
DAB	3,3` - Diaminobenzidin
DRU	Digito- rektale Untersuchung
H2O2	Wasserstoffperoxid
Ig	Immunglobulin
l	Liter
M.	<i>Musculus</i>
min.	Minuten
ml	Milliliter
mM	Millimolar
MRT	Magnetresonanztomographie
N.	<i>Nervus</i>

ng	Nanogramm
Nn.	<i>Nervi</i>
nNOS	Neuronale Stickstoffmonoxid- Synthase
NO	Stickstoffmonoxid
NPY	Neuropeptid Y
Pet- CT	Positronenemissionstomographie
PGP	Protein Gene Product
pH	<i>potentia Hydrogenii</i>
PP	Pankreatisches Polypeptid
PSA	Prostata- spezifisches Antigen
PYY	Peptid YY
S	Sakrales Rückenmarkssegment
sec.	Sekunden
TBS	Tris Buffered Saline
Th	Thorakales Rückenmarkssegment
TH	Tyrosin- Hydroxylase
TNM	Tumor- Nodus- Metastasen
TRUS	Transrektaler Ultraschall
USA	United States of America
V.	<i>Vena</i>
z.B.	zum Beispiel
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer

1. Einleitung

1.1 Die Prostata

1.1.1 Topographie

Die Prostata liegt retrosymphysär und ventral des *Rectums*, von dem es durch die zweilagige Denonvillier'sche Faszie getrennt ist. Das kraniale Ende ist mit dem Boden der Harnblase verwachsen und bildet die Basis des Organs. Dort tritt die Harnröhre in die Prostata ein. Sie durchzieht diese vollständig bis zum Harnröhrenschließmuskel apikal der Prostata, wo der *Apex prostatae* auf dem *Diaphragma urogenitale* aufliegt. Dorsokranial befinden sich die paarigen Samenblasen (*Glandulae vesiculosae*) und die *Vasa deferentia*, die sich außerhalb der Prostata bis zum *Apex* erstrecken und schließlich beim Austritt der Harnröhre aus der Prostata in diese einmünden [Fritsch & Kühnel, 2001], [Wolff & Altwein, 2004].

1.1.2 Feinbau und Funktion

Die Prostata wird neben den Samenblasen und den Cowperschen Drüsen zu den akzessorischen Geschlechtsdrüsen gezählt. Sie ist ein fibromuskuläres, drüsiges Organ, das aus rund 40- 50 tubuloalveolären Einzeldrüsen besteht, deren Ausführungsgänge, *Ductuli prostatici*, in die Harnröhre münden. Sie produzieren ein Sekret, welches etwa 15- 30% des Ejakulats ausmacht.

Es wird bei der Ejakulation in die Harnröhre abgegeben, wo es sich mit den Spermien vermischt. Es dient mit seinem pH-Wert von 6,4 und einer Vielzahl von Enzymen den Spermien dazu, das saure Milieu der Scheide zu überwinden und die Befruchtung zu ermöglichen. Die Prostata wird ferner von einer derben Bindegewebskapsel umgeben, der *Capsula prostatica* [Fritsch & Kühnel, 2001], [Rohen & Lütjen- Decroll, 2000].

Histologisch kann man die Prostata aufgrund der unterschiedlichen Beschaffenheit der *Ductuli prostatici* in drei Zonen unterteilen.

1. Die periurethrale Mantelzone hat mit ca. 5-10% den geringsten Anteil am Volumen der Prostata. Ihre Drüsen münden im Bereich des Sphinkters in die Harnröhre ein.

2. Die zentrale Zone umschließt die Harnröhre und mündet mit seinen Ausführungsgängen direkt in diese ein. Sie nimmt ca. 25% des Volumens der Prostata ein.

3. In der peripheren Zone wird das Sekret zunächst in Ausführungsgängen gesammelt, die von mehreren Drüsen gespeist werden, bevor es in die Harnröhre gelangt. Diese Zone macht ca. 70% des Volumens der Prostata aus. Hier befindet sich die Hauptlokalisation von Prostatakarzinomen [McNeal, 1988], [McNeal, 1972].

1.1.3 Gefäß- und Nervenversorgung

Die arterielle Versorgung der Prostata wird durch die kapsulären Anteile der *Aa. vesicales inferiores*, die von posterolateral an der Prostata ansetzen, sowie von Ästen der *Aa. pudenda internae* und der *Aa. rectales mediae* sichergestellt.

Die Drainage erfolgt zusammen mit der *V. dorsalis penis* über einen periprostatischen Venenplexus (Santorini) in die *V. iliaca interna* [Hautmann, 2010].

Die sympathischen Nerven werden aus den thorakolumbalen Segmenten ThL1 und ThL2 gespeist und erreichen ausgehend vom Grenzstrang über die *Nn. hypogastrici dexter et sinister* oder die *Nn. splanchnici sacrales* den *Plexus hypogastricus inferior*.

Die parasympathische Innervation entstammt den sakralen Rückenmarkssegmenten S2- S4. Hieraus entspringen die *Nn. splanchnici pelvici*, die über den *Plexus hypogastricus inferior* zum *Plexus prostaticus* ziehen und die Prostata und

schließlich die *Corpora cavernosa* innervieren [Schlegel & Walsh, 1987], [Everert et al., 2010].

Die für die Kontinenz und Potenz verantwortlichen Nerven erstrecken sich in der Prostataperipherie und werden seit Walsh et al. im posterolateralen Bereich des Organs als neurovaskuläres Bündel beschrieben [Walsh et al., 1982]. In den letzten Jahren entstand jedoch ein differenzierteres Bild der periprostatistischen Nervenverteilung; Takenaka et al. fanden beispielsweise heraus, dass die *Nn. splanchnici pelvici* eher abseits des neurovaskulären Bündels die Prostata erreichen [Takenaka et al., 2004]. Auch Raychaudhuri und Cahill berichten von einer großen Anzahl von Nerven abseits der posterolateralen Hauptlokalisation [Raychaudhuri & Cahill, 2008]. Kaiho et al. kommen zu der Annahme, dass die Nerven, welche an der anterioren Oberfläche der Prostata lokalisiert sind, ebenfalls erektile Aufgaben übernehmen [Kaiho et al., 2009].

1.2 Das Prostatakarzinom

1.2.1 Inzidenz

Weltweit variiert die Inzidenz des Prostatakarzinoms sehr stark, wobei mit Abstand die häufigsten Fälle in den USA und Kanada zu finden sind.

Auch in Europa gibt es Unterschiede bezüglich der Neuerkrankungen. So sind zum Beispiel die Inzidenzen in Finnland und Schweden etwa doppelt so hoch wie der Durchschnitt der europäischen Union. Dagegen liegen die Inzidenzen in Spanien, Portugal und Italien unter dem europäischen Durchschnitt [Rübber, 2009]. Darüber hinaus lassen sich auch Unterschiede vor dem ethnischen Hintergrund feststellen; so sind z.B. US- Bürger mit afrikanischen Wurzeln weltweit am häufigsten, Asiaten dagegen am wenigsten betroffen [Layer et al., 2007]. Die Erkrankung tritt vor dem 40. Lebensjahr selten auf. Das Prostatakarzinom erreicht mit einer Inzidenz von 45% im 7. Dezennium ihren Gipfel. Damit ist es eine Krankheit, die verstärkt in Ländern mit hoher Lebenserwartung auftritt, also in den Industrienationen der ersten Welt.

Laut Krebsregister Deutschland 2004 handelt es sich bei rund 10,2% aller in Deutschland registrierten Krebsneubildungen des Mannes um Prostatakarzinome [Ferlay et al., 2010].

1.2.2 Ätiologie

Es können einige begünstigende Faktoren benannt werden, die offensichtlich einen Einfluss auf die Ausbildung eines Karzinoms haben. Als gesichert gilt eine genetische Prägung; ist ein direkter Verwandter betroffen, so verdoppeln sich die Chancen, selbst einen Tumor auszubilden [Heidenreich et al., 2008]. Weitere Risikofaktoren sind hormonelle Einflüsse, die ethnische Zugehörigkeit sowie die Ernährung [Rübben, 2009]. Letztlich ist die Entstehung des Prostatakarzinoms nach heutigem Wissensstand jedoch nicht eindeutig geklärt.

1.2.3 Pathologie und Histopathologie

Histologisch stellt sich in etwa 95% der Fälle das Prostatakarzinom als Adenokarzinom dar [Böhm et al., 2009]. Lokalisiert ist es in ca. 70% der Fälle im peripher-dorsalen Anteil, zu 15-20% im zentralen und zu 10-15% im periurethralen Anteil des Organs [Eichenauer et al., 2009]. Wächst das Karzinom über die lokale Begrenzung hinaus, infiltriert es anschließend meist die Samenblasen, weniger häufig Harnblase, *Urethra* und Rektum. Metastasen bilden sich primär in den hypogastrischen Lymphknoten. Sie dienen daher als Sentinel- Lymphknoten. Sekundär metastasiert das Karzinom in die paraaortalen- iliacaexternen Lymphknoten. Hämatogene, osteoblastische Metastasierung erfolgt in die Knochen des Beckens und der Wirbelsäule [Eichenauer et al., 2009].

1.2.4 Stadieneinteilung

Das Prostatakarzinom wird makroskopisch nach der TNM- Klassifikation eingeteilt. Sie gibt Auskunft über die Ausdehnung des Tumors (T- Kategorie), welche durch die digito- rektale Untersuchung (DRU) festgelegt werden kann, den Befall regionärer Lymphknoten (N- Kategorie) sowie über das Ausmaß einer eventuell auftretenden Fernmetastasierung (M- Kategorie) [Rübben, 2009].

TNM- Klassifikation und Stadiengruppierung beim Adenokarzinom der Prostata [Sobin et al., 2009].

T - Primärtumor

TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt auf Primärtumor
T1	Tumor weder tastbar noch in bildgebenden Verfahren sichtbar
T1a	Zufälliger Befund, $\leq 5\%$ des resezierten Gewebes
T1b	Zufälliger Befund, $\geq 5\%$ des resezierten Gewebes
T1c	Diagnose durch Nadelbiopsie
T2	Tumor begrenzt auf Prostata
T2a	Tumor begrenzt auf $< \frac{1}{2}$ eines Seitenlappens
T2b	Tumor begrenzt auf $> \frac{1}{2}$ eines Seitenlappens
T2c	Tumor befällt beide Seitenlappen
T3	Extrakapsuläre Ausbreitung
T3a	Tumor extrakapsulär, Samenblasen tumorfrei
T3b	Samenblase(n) befallen
T4	Infiltration von Blasenhal, externer Sphinkter, Rektum, Levatormuskel oder Fixation an der Beckenwand

N - Regionäre Lymphknoten

NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	regionäre Lymphknotenmetastasen

M - Fernmetastasen

MX	Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
M0	keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen
M1a	Nicht regionäre Lymphknoten
M1b	Knochen
M1c	Andere Lokalisationen

Histologisch wird das Prostatakarzinom mit Hilfe des Gleason- Gratings und dem daraus errechneten Gleason- Score klassifiziert.

Hierbei wird der Tumor in fünf Grade unterteilt, die von einer sehr guten bis hin zu einer sehr schlechten Differenzierung des Gewebes ausgehen.

Die Gleason Grade 1 und 2 ähneln dem normalen Prostatagewebe und sind daher eher unauffällig. Bis zum Gleason Grad 3 kann man trotz zunehmender Deformation Drüsenstrukturen und ihre *Lumina* differenzieren. In Grad 4 und 5 ist die Prostata von Tumorgewebe stark infiltriert und es lassen sich kaum Strukturen abgrenzen.

Anhand dieser Einteilung lässt sich der Gleason Score errechnen, bei dem man die Nummer des im Gewebe vorherrschenden Grades (primäres Grading) mit der des zweithäufigsten Grades (sekundäres Grading) addiert. Somit ergeben sich Werte von 2 (1+1) bis 10 (5+5), wobei 2 den niedrigsten und 10 den höchst möglichen Malignitätsgrad darstellt.

Als Modifikation des klassischen Gleason Scores wird häufig ein tertiärer Gleason ermittelt, der sich auf kleine Tumorareale bezieht, die eine schlechtere Differenzierung aufweisen als dies bei den beiden ersten Graden der Fall ist [Zwergel, 2008].

1.2.5 Diagnostik

Da eine Prävention des Prostatakarzinoms zurzeit nicht möglich ist, ebenso wenig wie die Heilung von einem Tumor im fortgeschrittenen Stadium, ist das aktuelle Mittel der Wahl die frühzeitige Erkennung. Dadurch kann die Mortalität eingedämmt und die Lebensqualität des Patienten gesteigert werden.

Zu den diagnostischen Verfahren zählen die Bestimmung des Prostata-spezifischen Antigens (PSA), die digito- rektale Untersuchung, sowie der transrektale Ultraschall.

1.2.5.1 Prostata- spezifisches Antigen (PSA)

Das Prostata- spezifische Antigen (PSA) ist ein Protein, welches lediglich in der Prostata synthetisiert wird und im Ejakulat enthalten ist. Seine Aufgaben bestehen darin, den Samen zu verflüssigen und die Motilität der Spermien zu erhöhen. Ist der PSA- Wert erhöht, so kann dies auf ein Prostatakarzinom hindeuten.

Die Bestimmung erfolgt im Serum, wobei man zurzeit einen Referenzwert von 4 ng/ml annimmt. Allerdings wird die relativ niedrige Spezifität dieser Methode als größte Einschränkung gesehen.

Erhebt man beispielsweise den PSA- Wert in der Vorsorgeuntersuchung, so weisen 10-15% der getesteten Männer einen Wert von 4-10 ng/ml auf, wobei 25% dieser Gruppe tatsächlich ein Prostatakarzinom haben; bei 2-5% der getesteten Personen kann ein PSA- Wert von über 10 ng/ml gemessen werden, von denen letztlich 40% ein Prostatakarzinom aufweisen. Auf der anderen Seite haben 20% der Männer mit Prostatakarzinom einen PSA- Wert von 4 ng/ml oder weniger.

Aus dieser Erkenntnis heraus wurden vier Methoden entwickelt, mit denen die PSA- Bestimmung in der Früherkennung eine höhere Spezifität erreicht.

1. das Verhältnis zur Größe der Prostata (PSA- Dichte)
2. der zeitliche Verlauf (PSA Anstiegsgeschwindigkeit)
3. die Altersabhängigkeit
4. den Bindungszustand im Serum

[Wolff & Altwein, 2004]

1.2.5.2 Digito- rektale Untersuchung (DRU)

Anhand der DRU kann die Verhärtung der Prostata im kleinen Becken ertastet werden, wenn diese ein Karzinom aufweist. Allerdings kann lediglich das fortgeschrittene Stadium eines Prostatakarzinoms untersucht werden. Daher weist dieses Verfahren keine besonders hohe Sensitivität auf. Ist ein Karzinom tastbar, so existieren bereits in 50% der Fälle Metastasen.

1.2.5.3 Transrektaler Ultraschall (TRUS)

Bei der transrektalen Ultraschalluntersuchung wird eine Ultraschallsonde rektal eingeführt, um die Prostata und ihr umliegendes Gewebe darzustellen. Dieses Verfahren kann Aufschluss darüber geben, ob der Tumor die Prostata kapsel durchbrochen hat oder in die Samenblase eingewachsen ist.

Anhand des TRUS lassen sich Größe, Form und Lage der Prostata bestimmen, sowie in manchen Fällen Gewebeunterschiede innerhalb der Prostata.

Als alleiniges Diagnoseverfahren ist der transrektale Ultraschall unzureichend. Deshalb ist eine kombinierte Diagnostik mit mehreren Verfahren indiziert, wodurch eine stärkere Aussagekraft erzielt wird.

1.2.5.4 Biopsie

Letztlich kann nur der Nachweis von Krebszellen in einer durch Biopsie gewonnenen Gewebeprobe als Beweis für ein existierendes Prostatakarzinom gelten. Die Gewebeentnahme erfolgt transrektal mit einer Hohlnadel unter Ultraschallkontrolle und wird auf der linken sowie der rechten Seite des Organs an je drei Stellen durchgeführt.

1.2.6 Therapie

Welche Therapie im Einzelfall am sinnvollsten ist, kann anhand verschiedener Parameter entschieden werden; hierfür sind zunächst die Lebenserwartung des Patienten, dessen Allgemeinzustand sowie das Stadium und die Aggressivität des Tumors ausschlaggebend.

1.2.6.1 Watchful Waiting

Wird einem älteren Patienten mit gut differenziertem Tumor eine Lebenserwartung von weniger als zehn Jahren zugesprochen, so ist laut Adolfsson et al. eine Therapie erst bei Ausbruch von Symptomen oder bei einem Tumorprogress indiziert [Adolfsson et al., 1999]. Ist dies jedoch nicht der Fall, so wird das sog. „Watchful Waiting“ im Sinne einer *Therapia nulla* in Verbindung mit engmaschigen Kontrollen angewandt. Dies stellt für die besagte Patientengruppe das beste Vorgehen dar [Berger et al., 2009], da diese bei einem gut differenzierten Tumor mit einer relativ guten Überlebensrate rechnen können [Stenzl & Studer, 1993].

1.2.6.2 Strahlentherapie

Die Strahlentherapie wird bei Prostatakarzinomen mit organbegrenzten und lokal fortgeschrittenen Karzinomen angewandt. Dies sind Tumoren der Stadien T1 bis T4.

Mit steigendem PSA- Wert und erhöhtem Gleason- Score sinken die kurativen Chancen für den Patienten.

Ausschlaggebend für den Erfolg der Therapie sind die Wahl einer angemessenen Dosis, die Zielvolumenerfassung, sowie das Schonen von nicht befallenem Gewebe. Die adäquate Dosierung wird mit Hilfe des PSA- Wertes und des Gleason- Scores in Bezug auf das Volumen errechnet. Daraus folgt eine Gliederung der Patienten in drei Risikogruppen:

Low Risk: bis T2a, Gleason bis 6, PSA < 10 ng/ml

Intermediate Risk: T2b mit Gleason 7 oder PSA 10-20 ng/ml

High Risk: T2c oder mehr und/oder Gleason 8-10 und PSA mehr als 20 ng/ml.

Das Vorgehen kann als Brachytherapie - diese jedoch nur bei Patienten mit Low Risk- Stadien, oder individuell bildgestützt (CT, MRT, PET-CT) als externe Strahlentherapie erfolgen. [Grubmüller & Grubmüller, 2011]

1.2.6.3 Hormontherapie

Da das Prostatakarzinom aus androgensensitiven und -insensitiven Zellklonen besteht, kann durch eine Hormontherapie die Tumorprogression lediglich über einen Zeitraum von etwa 18 bis 24 Monaten verhindert werden, bevor die androgeninsensitiven Zellklone den Verlust der androgensensitiven Zellen ausgleichen können und eine erneute Progression des Tumors vorantreiben.

Die Androgenablation kann chirurgisch im Sinne einer Sterilisation oder medikamentös mit Hilfe von weiblichen Geschlechtshormonen oder Antiandrogenen, wie Cyproteronacetat oder Flutamid, erfolgen.

Die Hormontherapie kommt bei fortgeschrittenen oder metastasierten Prostatakarzinomen zum Einsatz, ist jedoch aufgrund der bereits erwähnten erneuten Progression des Tumors nach ca. zwei Jahren als palliative Maßnahme zu verstehen.

Dieses Problem kann durch einen intermittierenden Einsatz der Androgenablation gelöst werden, da auf diese Weise „das apoptotische Potential erhalten bleibt und die Entwicklung der Hormonunempfindlichkeit hinausgezögert wird“ [Gleave et al., 1998], [Wolff, 2001]. Des Weiteren betonten Mearini et al. eine Korrelation zwischen Sexualfunktion und Testosteron und zeigten, dass sich durch intermittierende Androgenablation der Testosteronspiegel leicht erholen kann [Mearini et al., 2011]. Dies führt zu einer Milderung der Nebenwirkungen und zu einem deutlichen Anstieg der Lebensqualität des Patienten.

1.2.6.4 Chemotherapie

Befindet sich das Prostatakarzinom in einem hormonrefraktären Stadium, proliferiert es also trotz antiandrogener Therapie, können zunächst sekundäre hormonelle Manipulationen zum Einsatz kommen. Diese können das Absetzen des Antiandrogens bei Proliferation trotz Hormontherapie, sowie eine Suppression der Androgenproduktion in der Nebenniere umfassen. Erst bei einem Versagen dieser Methoden sollte eine Chemotherapie in Erwägung gezogen werden [Wolff & Altwein, 2004]. Hierbei kann eine Kombination aus verschiedenen Chemotherapeutika zum Einsatz kommen. Dabei kann es sich um Kombinationsregime von z.B. Mitoxantron und Kortikosteroiden handeln [Tannock et al., 1996].

In einer Studie von Pienta et al. (1994) wurden Patienten mit Estramustinphosphat therapiert, woraufhin bei 50% der Probanden eine Abnahme des PSA-Wertes um 25% zu verzeichnen war. Diese Entwicklung wirkte sich signifikant auf die Überlebenszeit der Patienten aus.

Auch Taxane kommen in der Chemotherapie des hormonrefraktären Prostatakarzinoms zum Einsatz. Sie können ebenfalls in Kombination mit Estramustinphosphat bei 50% der Patienten eine Senkung des PSA-Wertes bewirken.

Viele chemotherapeutische Ansätze befinden sich allerdings noch in laufenden Studien, weshalb eine standardisierte Chemotherapie nicht empfohlen werden kann. Hier gilt es abzuwägen und Patienten, die eine solche Therapie erhalten, in klinische Studien einzubringen. Insbesondere Patienten mit fortgeschrittenen

Leiden nach erfolgloser Radiotherapie, eingeschränkten Organreserven und Knochenmetastasen sind für eine zytotoxische Therapie nicht geeignet. Da bei einer Chemotherapie keine kurative Wirkung zu erwarten ist, sollte sie sich ausschließlich am symptomatischen Prozess orientieren, also vornehmlich bei Patienten mit gutem Allgemeinzustand, bei denen mehrere Hormontherapien versagt oder nur kurzzeitig gewirkt haben [Rübben et al., 2007].

1.2.6.5 Nachsorge

Um einen Ausschluss lokaler Tumorrezidive und Metastasen sowie das rechtzeitige Erkennen und Behandeln möglicher therapieassoziierter Komplikationen zu gewährleisten, ist eine effektive und individuelle Nachsorge vonnöten.

Diese Untersuchungen sollten bei Patienten mit günstiger Primärhistologie und einem initialen PSA- Wert von <10 ng/ml innerhalb des ersten Jahres nach kurativer Behandlung nach drei, sechs und zwölf Monaten erfolgen. In den folgenden drei Jahren sollten sie halbjährlich und danach jährlich durchgeführt werden.

Die Nachsorgeuntersuchung kann durch PSA- Bestimmung, digito- rektale Untersuchung und Knochenszintigraphie auf die Patientensituation zugeschnitten und durch bildgebende Verfahren bei Bedarf ergänzt werden.

Für den Ausschluss eines Rezidivs sollte der PSA- Wert drei Wochen nach radikaler Prostatektomie in den nicht messbaren Bereich abfallen.

Ist jedoch eine Strahlentherapie vorausgegangen, so ist zu beachten, dass sich die Senkung des PSA- Wertes deutlich langsamer vollzieht als dies nach einer radikalen Prostatektomie der Fall wäre. Dieser Vorgang kann bis zu drei Jahre dauern. Aus diesem Grund wird von einigen Autoren die Meinung vertreten, dass eine PSA- Bestimmung in den ersten zwei Jahren nach Strahlentherapie überflüssig sei. Andererseits lässt bei der PSA- Bestimmung ein erneuter Anstieg des Wertes Rückschlüsse auf ein Therapieversagen zu. Dies spricht wiederum für den Einsatz dieser Nachsorgemethode [Kaplan & Bagshaw, 1992], [Crook et al., 1997], [Hancock et al. 1995].

Die digito- rektale Untersuchung gibt lediglich Aufschluss über eine eventuelle Veränderung im Zeitverlauf und/oder über das Vorhandensein von Knoten. In Kombination mit der PSA- Bestimmung stellt sie jedoch die sinnvollste Form der Nachsorge nach radikaler Prostatektomie oder Strahlentherapie dar.

Treten bei Patienten klinische Symptome auf, die auf Knochenmetastasen hindeuten, so ist eine Knochenszintigraphie indiziert [Oefelein et al., 1995].

Sind bei Patienten weitere kurative Behandlungen geplant oder eine adjuvante Strahlentherapie, so wird ein CT und/ oder eine MRT zum Ausschluss von Metastasen durchgeführt. Bei Patienten mit unauffälligem klinischen Verlauf werden diese bildgebenden Verfahren erst ab einem PSA- Wert >4 ng/ml hinzugezogen [Seltzer et al., 1999].

1.2.6.6 Radikale und nervschonende radikale Prostatektomie

Alternativ zu der Strahlentherapie der Prostata kommt bei Patienten mit organbegrenztem Prostatakarzinom und einer Lebenserwartung von über zehn Jahren die radikale Prostatektomie zum Einsatz. Das onkologische Resultat ist dabei zwischen beiden Therapien als gleichwertig anzusehen und ist laut Kupelian et al. eher von den präoperativen diagnostischen Werten abhängig, wie z.B. dem PSA- Wert und der T- Stufe [Kupelian et al., 2002].

Im Vorfeld muss evaluiert werden, ob der entsprechende Tumor chirurgisch heilbar ist. Dies betrifft Patienten mit Tumoren der Stadien T0 bis T2 sowie des Stadiums T3, sofern diese die Prostatakapsel nur geringfügig überschreiten. Außerdem sollten die Patienten einen PSA- Wert von unter 20 ng/ml und einen Gleason Score von <8 aufweisen.

Bei der radikalen Prostatektomie wird ein suprapubischer, extraperitonealer Zugang gelegt. Die Operation kann perineal oder laparoskopisch erfolgen. Dabei wird die Prostata nebst anhängenden Samenblasen vollständig entfernt. Der Sa-

menleiter wird nur teilweise exzidiert. Hauptsächlich betrifft dies die *Ampulla ductus deferentis*, da diese mit ihren eingelagerten Drüsenpaketen Teile der Samenflüssigkeit bildet und somit zu den akzessorischen Geschlechtsdrüsen zählt.

Ein entscheidender Vorteil der retropubischen, laparoskopischen Vorgehensweise ist die Möglichkeit einer gleichzeitigen pelvinen Lymphadenektomie [Rübben, 2007]. Schuessler et al. vollzogen 1992 die erste laparoskopisch geführte radikale Prostatektomie [Schuessler et al., 1992]. Allerdings war dieses Vorgehen mit einer langen Lernphase verbunden, da es von eingeschränkter Bewegungsfreiheit, dem Verlust der dreidimensionalen Sicht und des taktilen Empfindens begleitet wurde [Chauhan et al., 2010].

Als konsequente Weiterentwicklung der laparoskopischen Technik gewinnt die Roboter- assistierte radikale Prostatektomie zunehmend an Bedeutung [Rübben, 2007]. Sie wurde erstmals 2000 von Binder und Kramer durchgeführt [Binder & Kramer, 2001]. Allerdings wird der Nutzen dieser hoffnungsvollen Technologie, auch angesichts der horrenden Anschaffungskosten, noch kontrovers diskutiert; so gibt es Studien, die darin einen klaren Vorteil gegenüber den konventionellen Methoden sehen [Shah et al., 2008], während andere keine verbesserten Ergebnisse feststellen können [Frota et al., 2008].

Als Standardtherapie wird die radikale Prostatektomie heute retropubisch und nervschonend durchgeführt, da diese die besten Langzeitergebnisse mit den geringsten postoperativen Komplikationen aufweist.

Nachdem Walsh das neurovaskuläre Bündel beschrieben hatte, entwickelte er ein anatomisches Konzept und Modifikationen der radikalen Prostatektomie, nach denen die laterale Beckenfaszie anterior des neurovaskulären Bündels inzidiert wird und der laterale Stiellappen nahe der Prostata geteilt wird, um zu verhindern, dass Äste des *Plexus hypogastricus inferior*, die mit kapsulären Gefäßen der Prostata vergesellschaftet sind, beschädigt werden [Walsh et al. 1983].

Heute gilt, dass stets der Versuch unternommen werden sollte, die Behandlung nervschonend durchzuführen. Wenngleich daraus ein Dilemma für den behandelnden Arzt resultiert, da durch ein ambitioniertes Vorgehen bei der Schonung der Nerven die Gefahr von tumorpositiven Rändern erhöht ist.

Es gibt verschiedene Herangehensweisen bei der nervschonenden Prostatektomie: Sie kann anterograd von der Basis zum Apex, retrograd vom Apex zur Basis, unilateral, bilateral, partiell oder vollständig erfolgen [Chauhan et al., 2010].

Im Laufe der Jahre hat es einige Modifikationen in der Herangehensweise an die nervschonende radikale Prostatektomie gegeben und verschiedene Techniken sind entwickelt worden. Exemplarisch sei hier die Curtain Dissection erwähnt.

Diese Technik berücksichtigt den Vorhang- oder Schleier- ähnlichen Verlauf der *Nn. cavernosi*, die sich von der posterolateralen bis zur anterolateralen Oberfläche der Prostata erstrecken [Kaul et al., 2005], [Menon et al., 2003].

Die nicht vaskularisierte Ebene zwischen der posterioren Faszie der Prostata und der Denonvillier'schen Faszie wird soweit wie möglich nach distal in Richtung Apex erweitert und nach lateral, um die Stiellappen darzustellen, die anterior des *Plexus hypogastricus inferior* und des neurovaskulären Bündels liegen. Die Stiellappen werden geteilt und die prostatistische Faszie anterior inzidiert. Anschließend wird die periprostatistische Faszie solange scharf und stumpf präpariert, bis sie völlig frei herunterhängt [Chauhan et al., 2010].

1.2.6.7 Funktionelle Ergebnisse nach radikaler Prostatektomie

Die wesentlichsten Komplikationen, die nach einer radikalen Prostatektomie auftreten können, sind die erektile Dysfunktion und die Inkontinenz, aber auch die Urethrastrikur. Diese treten postoperativ durch die Verletzung der entsprechenden Nerven während der Operation auf.

Es ist nach wie vor sehr schwer, das Ergebnis einer radikalen Prostatektomie präzise vorherzusagen, da die Erektionsfähigkeit von verschiedenen Faktoren abhängig ist. Zu nennen sind hier die Erektionsfähigkeit vor der Behandlung,

eventuelle Komorbiditäten, die Art und die Ausdehnung der Nerverhaltung, das Alter des Patienten, die Häufigkeit des Geschlechtsverkehrs, der Gebrauch von Medikamenten und letztendlich die Erfahrung des Chirurgen [Marien et al., 2009].

Die spontane Erektionsfähigkeit liegt postoperativ bei einer unilateral nervschonenden Operation bei 10-15% und bei einer bilateral nervschonenden Operation bei 25-35%.

Darüber hinaus ist nach erfolgter radikaler Prostatektomie bei 5-10% der Patienten eine bleibende Inkontinenz zu beobachten [Schmelz et al., 2010].

Eine erektile Dysfunktion tritt hingegen bei Patienten mit erfolgter nicht Nerv erhaltenden Prostatektomie in über 90% der Fälle ein [Rübben, 2007].

1.3 Die Funktionsweise der Erektion

Hora et al. beschreiben die Erektion als multifaktorielles Geschehen, welches sowohl das autonome Nervensystem mit Sympathikus und Parasympathikus als auch das somatische Nervensystem mit sensorischen und motorischen Nervenfasern einbindet. Sie kann entweder als Reflex, während der Nacht oder morgens auftreten, oder aber psychogener Natur sein. Der Prozess der Erektion kann in sechs Stadien gegliedert werden [Hora & Vozech, 1997]:

Das Ruhestadium, Latenz, Schwellung, vollständige Erektion, steife Erektion und Erschlaffung.

Erogene Stimuli führen zu einer Aktivierung des parasympathischen Nervensystems. Dieses bewirkt eine Freisetzung vasodilatierender Substanzen (hauptsächlich NO) und somit ein Füllen der Sinusoide mit Blut (latente Phase). Während dieses physiologischen Vorganges stellen die lokalen Nerven und das Endothel das NO bereit [Prieto, 2008]. Sobald ein Aktionspotential eine Nervenendigung erreicht, aktiviert es nNOS (neuronaler NO-Synthase), welches die Freisetzung

von NO bewirkt. Dieses diffundiert in die *Corpora cavernosa* und erhöht dort das intrazelluläre Level von cGMP. Dieses wiederum verringert die Ca^{2+} -Konzentration und bewirkt somit die Entspannung der *Corpora cavernosa* [Mas, 2010]. Anschließend kommt der venöse Verschlussmechanismus mit Hilfe des sympathischen Co-Transmitters NPY zum Tragen, der die vollständige Erektion einleitet [Kirkeby et al., 1991]. Die steife Erektion wird durch die Kontraktion der Muskulatur im *Perineum* der proximalen Anteile der *Corpora cavernosa* erzielt. Anschließend kommt es durch den verminderten Tonus der glatten Gefäßmuskulatur zur Erschlaffung [Hora & Vozech, 1997].

1.3.1 Neuroanatomie der Erektion

Der Ursprung der Neurone des Sympathikus erstreckt sich vom 11. Segment des Thorakalmarks bis zum 2. Segment des Lumbalmarks. Von hier aus ziehen sie in die Grenzstrangganglien. Einige Fasern verlaufen von dort aus über die lumbalen *Nn. splanchnici* zum *Ganglion mesentericum inferius* und zum *Plexus hypogastricus superior*, von wo aus sich Nerven in den *Plexus hypogastricus inferior* weiter erstrecken. Beim Menschen liegt der Ursprung der sympathischen Nervenfasern meist in dem Bereich von Th10 bis Th12 sowie im sakralen und kaudalen Abschnitt, von wo aus sich die Zellen der Grenzstrangganglien in den Penis ausbreiten.

Der Ursprung der parasympathischen Neurone findet sich im zweiten, dritten und vierten Sakralmarksegment. Von dort aus ziehen die Nerven zum *Plexus hypogastricus inferior*, wo sie sich mit sympathischen Nerven aus dem *Plexus hypogastricus superior* vergesellschaften. Aus dem *Plexus hypogastricus inferior* stammen die *Nn. cavernosi* und innervieren den Penis. Andere Äste innervieren Rektum, Blase und Prostata [Martinez-Salamanca et al., 2010]. Der *M. sphincter urethrae* wird ebenfalls durch autonome Fasern aus dem *Plexus hypogastricus inferior* und somatisch durch den *N. pudendus* versorgt [Akita et al., 2003], [Schwalenberg et al., 2010].

Die somatosensorischen Bahnen haben ihren Ursprung in sensorischen Rezeptoren der den Penis umgebenden Haut, der Eichel, der *Urethra* sowie innerhalb der *Corpora cavernosa*. Diese Nervenfasern vereinen sich zum *N. dorsalis penis*, der in seinem weiteren Verlauf zusammen mit anderen Nervenfasern den *N. pudendus* bildet. Der *N. dorsalis penis* verfügt neben den somatischen Fasern auch über autonome Komponenten. Diese ermöglichen ihm die Regulation sowohl der Erektion als auch der Ejakulation.

Die Bahnen, die für die somatomotorische Innervation des Penis verantwortlich sind, entspringen den Segmenten 2 bis 4 des Sakralmarks. Die sakralen Nerven vereinen sich zum *N. pudendus*, der wiederum den *M. bulbocavernosus* und den *M. ischiocavernosus* innerviert. Die Kontraktion des *M. ischiocavernosus* ist für die Ausbildung einer steifen Erektion vonnöten, während die rhythmischen Kontraktionen des *M. bulbocavernosus* für die Ejakulation verantwortlich sind [Martinez- Salamanca et al., 2010].

1.4 Auswahl spezifischer Substanzen, charakteristisch für die verschiedenen Nervenqualitäten

1.4.1 nNOS (Neuronale Stickstoffmonoxid- Synthase)

Stickoxid (NO) ist ein freies radikales Gas, das in neuronalen Zellen von der neuronalen NO-Synthase (nNOS) gebildet wird und mit parasympathischen Nerven in Verbindung gebracht werden kann [Nakaya et al., 2007].

NO hat eine relaxierende Wirkung auf die Blutgefäße und die glatte Muskulatur des Penis [Kim et al., 1993]. Die Rolle von NO als Mediator im parasympathischen Nervensystem wurde in diesem Zusammenhang von einigen weiteren Studien im Hinblick auf diverse Spezies bestätigt [Kim et al., 1991], [Pickard et al.,

1991], [Knispel et al., 1991], [Bush et al., 1992], [Holmquist et al., 1992]. Die neuronale Isoform nNOS wurde von Burnett et al. im *Plexus hypogastricus inferior*, in den *Nn. cavernosi penis* und deren terminalen Enden im Gewebe der *Corpora cavernosa* sowie in der *Adventitia* der dorsalen und tiefen Arterien der *Corpora cavernosa* lokalisiert [Burnett et al., 1993]. Sie wird auch von Shuklin und Shvaley mit dem parasympathischen Teil des autonomen Nervensystems in Verbindung gebracht [Shuklin & Shvaley, 2006].

Als Antwort auf einen erogenen Stimulus diffundiert NO in die glatte Muskulatur der Gefäße und der Trabekel des Penis, um so eine Vasodilatation und eine Relaxierung des Gewebes zu bewirken und somit eine Erektion einzuleiten [Burnett, 1995].

1.4.2 TH (Tyrosin- Hydroxylase)

Tyrosin- Hydroxylase (TH) ist ein Katecholamin- synthetisierendes Enzym, welches in sympathischen Nerven lokalisiert ist [Clausen et al., 2008]. Es wird beim Menschen in den Nebennieren und im Gehirn gebildet. Es katalysiert den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt in der Biosynthese der Katecholamine; die Umwandlung der Aminosäure L- Tyrosin in L- Dopa [Silva et al., 2008].

Tyrosin- Hydroxylase wird gemeinhin als Marker für sympathische Nerven verwendet, so z.B. in den Studien von [Orimo et al., 2008], [De Fontgalland et al., 2008], [Mizuno et al., 2007], [Makino et al., 2006], [Giordano et al., 2006], [Sequeira et al., 2005].

1.4.3 NPY (Neuropeptid- Y)

Neuropeptid- Y (NPY) ist ein Mitglied einer Gruppe von Neuropeptiden, die aus 36 Aminosäuren aufgebaut sind. Zu ihr gehören außerdem Peptid YY (PYY) und das Pankreatische Polypeptid (PP). Die Hauptaufgabe von NPY besteht in der Funktion als Neurotransmitter, Vasokonstriktor und in der Verstärkung der Funktion von Noradrenalin [Silva et al., 2002].

In den Studien von Kelm Junior et al. und De Fontgalland et al. wird NPY ebenfalls mit dem Sympathikus in Verbindung gebracht [Kelm Junior et al., 2008], [De Fontgalland et al., 2008]. Die physiologische Funktion des Peptids besteht bei der Einleitung der Erektion in der Konstriktion der Venen [Kirkeby et al., 1991].

Darüber hinaus berichten Rasiah et al. und Ruscica et al. über eine relevante Rolle von NPY im Wachstum von Prostatakarzinomen [Rasiah et al., 2006], [Ruscica et al., 2006; 2007]. Sie vermuten, dass es das Wachstum reguliert und deshalb in Neuronen im Bereich des Tumors überexprimiert ist. Liu et al. kommen daher zu dem Ergebnis, dass man NPY als unabhängigen prognostischen Marker für Prostatakarzinome betrachten kann [Liu et al., 2007].

1.4.4 CGRP (Calcitonin Gene- Related Peptide)

Das Calcitonin Gene- Related Peptide (CGRP) ist eine weit verbreitete Komponente sensorischer Neuronen [Silva et al., 2008], [Sequeira et al., 2005], [Danielson et al., 2006]. Es spielt eine wichtige Rolle in der Funktion der Nerven und im Falle einer Nervschädigung [Li et al., 2004]. CGRP ist aus 37 Aminosäuren aufgebaut und wird aus Calcitonin sowohl im peripheren- als auch im Zentralnervensystem gebildet. Es tritt in der Mehrzahl der sensorischen Neuronen auf [Rosenfeld et al., 1983], in welchen es mit Substanz -P kolokalisiert ist. Dort ermöglicht es Schmerzverhalten und verlängert dessen Wirkung [Cridland & Henry, 1988]. Darüber hinaus besitzt CGRP eine starke Gefäß erweiternde Wirkung, die vor allem in der Pathophysiologie der Migräne eine wichtige Rolle spielt [Brain et al., 1985], [Paone & Staas, 2009].

1.5 Problemstellung

Die Zahlen aus Kapitel 1.2.6.7 „Funktionelle Ergebnisse nach radikaler Prostatektomie“ machen deutlich, dass postoperativen Komplikationen vermeidbar sind, da durch ein verbessertes anatomisches Verständnis der prostatichen Innervation und der periprostatichen Nerven eine Optimierung der operativen Techniken erfolgen kann.

Jedoch ist die genaue anatomische Lokalisation der Nerven trotz einiger weniger Bemühungen in diese Richtung nach wie vor nicht vollständig bekannt [Stolzenburg et al., 2007], [Kiyoshima et al., 2004].

Die Nerven, die zum *Plexus hypogastricus inferior* und dem neurovaskulären Bündel zählen, sind für den behandelnden Arzt optisch nicht zu erkennen, was für ihn die genaue Kenntnis über Lokalisation und Verlauf der entsprechenden Nerven unerlässlich werden lässt. Auf diese Weise kann die nervschonende Prostatektomie mit einer deutlich erhöhten Präzision durchgeführt und somit ein im Hinblick auf die postoperative Lebensqualität des Patienten zufriedenstellendes und besser prognostizierbares Ergebnis erzielt werden.

1.6 Ziel der Arbeit

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Verhältnisse der Neuroanatomie in der Prostataperipherie zu evaluieren. Dazu werden die Nervenverläufe über die gesamte Prostatafläche dokumentiert, um diese im Anschluss entlang der Basis bis zum Apex visuell darstellen zu können.

Das neuronale Gewebe wird darüber hinaus mit verschiedenen Markern gefärbt, die auf parasympathische, sympathische und sensorische Qualitäten hindeuten können. Dadurch sollen die Verlaufsstrecken qualitätsspezifisch unterschieden werden.

Dazu werden von Prostatapräparaten nach erfolgter radikaler Prostatektomie Serienschritte angefertigt. Diese werden mit vier verschiedenen neuronalen Markern gefärbt (nNOS, NPY, TH, CGRP), die Nervenverläufe anschließend dokumentiert und tabellarisch sowie grafisch dargestellt.

Durch diese Studie soll ein besseres Verständnis der anatomischen Lagebeziehungen der verschiedenen Nervenqualitäten entlang der Prostataperipherie generiert werden, um die Präzision der nervschonenden radikalen Prostatektomie zu erhöhen und letztendlich die postoperativen Komplikationen weiter zu minimieren.

2. Methodik

2.1 Material

Für die Studie wurden Präparate aus radikal prostatektomierten Prostata von neun Patienten verwendet. Die Operationen wurden in der Universitätsklinik für Urologie in Tübingen zwischen Februar 2004 und Januar 2005 durchgeführt und dienten der Beseitigung der Prostatakarzinome. Dabei wurden die Nerven von drei Prostata rechts erhalten, von einer links und fünf wurden ohne Nerverhalt entfernt.

Zum Zeitpunkt der Operation waren die Patienten zwischen 56 und 72 Jahre alt, im Schnitt 63 Jahre.

Die Aufarbeitung der Prostatapräparate sowie die anschließende Herstellung der Großflächenschnitte wurden von Dr. med. dent. Ines Laible für die Arbeit „Immunhistochemische Darstellung peripherer Nerven an radikalen Prostatektomiepräparaten: Anatomische Evaluation der Nervenverläufe und der Verhältnisse nach nervenerhaltender Operationstechnik“ (2010) durchgeführt.

2.2 Prinzip der immunhistochemischen Färbung

Bei der immunhistochemischen Färbung (oder auch Antikörperfärbung) macht man sich die Antigen- Antikörper- Reaktion zunutze, indem man ein Antikörper-Reagenz mit einer Affinität zu einem bestimmten Epitop eines Antigens verwendet, welches ein Indiz für die zu detektierende Eigenschaft des jeweiligen Gewebes darstellt.

Der Antikörper, der gegen das gesuchte Epitop gerichtet ist, wird als Primärantikörper bezeichnet.

Die Affinität zum Antigen muss dabei möglichst hoch sein, da die Antigen- Antikörper- Bindungen reversibel sind und sich im Verlauf des Färbeporganges wieder lösen können. Somit korreliert die Affinität des Antikörpers zum Antigen mit der Qualität des Färberegebnisses.

Da dieses Verfahren in mehreren Schritten durchgeführt wird, ist es relativ langwierig und fehleranfällig. Daher ist eine standardisierte und exakte Durchführung unter Berücksichtigung der wichtigsten Parameter unerlässlich. Diese sind Temperatur, Konzentration, Inkubationszeit und das optimale Reaktionsmilieu.

2.2.1 Direkte Methode

Bei der direkten Methode wird das zu detektierende Protein (Antigen) mit einem Primärantikörper konjugiert, der seinerseits direkt mit einem Enzym oder Fluorophor gekoppelt ist. Als nächstes wird ein Substrat hinzugefügt, welches mit dem Enzym reagiert und so eine Färbung bewirkt. Dies geschieht nur dort, wo die immunhistochemische Reaktion stattgefunden hat.

Die direkte Methode ist besonders dafür geeignet, unterschiedliche Proteine in einem Präparat nachzuweisen. Sie ist die älteste immunhistochemische Methode und wird seit den 1950er Jahren angewandt.

2.2.2 Indirekte Methode

Die Färbung in der vorliegenden Arbeit beruht auf der indirekten Zwei- Schritt- Methode, bei der anfangs ein Primärantikörper an ein bestimmtes Antigen bindet, welches die gewünschten Rückschlüsse auf die Eigenschaft des Gewebes zulässt. Im zweiten Schritt wird dieser Antikörper zum Antigen „ernannt“ und von einem enzymmarkierten, sekundären Antikörper gebunden. Die eigentliche Färbung erfolgt schließlich über eine Enzym- Substrat- Reaktion mit dem Enzym, welches an den sekundären Antikörper gebunden ist.

2.3 Färbeprotokolle

2.3.1 Färbeprotokoll für TH und CGRP: (Strept) Avidin- Biotin- Methode

Für die indirekte Zwei- Schritt- Methode wurde im Falle der Tyrosin Hydroxylase- und der CGRP- Färbung die Avidin- Biotin- Komplex- Methode (ABC- Methode) verwendet, die sich durch hohe Sensitivität und Spezifität auszeichnet.

Daher wird sie heutzutage auch am häufigsten eingesetzt. Sie basiert auf der hohen Affinität von Streptavidin (*Streptomyces avidinii*) und Avidin (Hühnereiweiß) zu Biotin, für das beide vier Bindungsstellen besitzen.

Zunächst bindet ein unkonjugierter Primärantikörper an das zu detektierende Antigen. Dieser wird wiederum von einem biotinylierten Sekundärantikörper gebunden, der anschließend von dem enzymkonjugierten Avidin- Biotin- Komplex erkannt wird. Schließlich reagiert das zuletzt zugefügte Substrat Chromogen mit dem Enzym, welches an dem Sekundärantikörper gebunden ist und bewirkt so die Färbung.

30 min vor Beginn der immunhistochemischen Färbung wurden die Paraffinschnitte im Wärmeschrank bei 60°C eingelagert, um das Paraffin abzuschmelzen. Anschließend wurde die Entparaffinierung für 3 x 10 min in einem Xylobad fortgesetzt. Im Anschluss daran erfolgte die Rehydrierung der Präparate in der absteigenden Alkoholreihe; dazu wurden sie 2 x 7 min in 100% Ethanol, 2 x 7 min in 96% und 1 x 7 min in 70% Ethanol eingebracht.

Nach der Rehydrierung erfolgte die Reduktion der endogenen Peroxidase. Die ubiquitär vorkommenden Gewebssperoxidasen würden andernfalls die Reaktionsweise des DAB Peroxidase Substrat Kits beeinträchtigen. Aus diesem Grund wurden die Präparate für 30 min in einer 3% Wasserstoffperoxidlösung inkubiert. Diese wurde aus 23 ml eines 30% H₂O₂ (Sigma) und aus 727 ml destilliertem Wasser hergestellt. Anschließend wurden die Präparate 5 min in destilliertem Wasser gewaschen.

Für den nächsten Schritt wurde ein Citratpuffer (10mM, pH 6,0) angesetzt, der aus 18ml des Stammpuffers A (Zitronensäure) und 82ml des Stammpuffers B (Natriumcitrat) zusammengesetzt und mit destilliertem Wasser auf 1l aufgefüllt wurde. Der pH-Wert wurde stets kontrolliert.

Nun erfolgte die Demaskierung, indem die Präparate in dem zuvor angesetzten Citratpuffer 3 x 5 min in einem 600 Watt Mikrowellenherd (Moulinex Mikro Chef MO 500) auf Stufe 2 gekocht wurden. Verdunsteter Puffer wurde mit destilliertem Wasser wieder aufgefüllt, sodass die Schnitte den gesamten Vorgang hindurch in einer konstanten Füllmenge gekocht wurden und so ein Austrocknen verhindert werden konnte. Nach Beendigung dieses Arbeitsschrittes ließ man die Präparate 30 min lang bei Raumtemperatur abkühlen.

Durch die Hitzebehandlung mit Citratpuffer werden die Epitope der Proteine wieder freigelegt, die durch die Paraffineinbettung in Form einer Aldehydquervernetzung verändert - „maskiert“ worden waren. Durch die Demaskierung wird eine deutlichere immunhistochemische Färbung erzielt sowie ein unspezifischer Hintergrund vermieden.

Nun wurden die Schnitte mit einem Waschreagenz gewaschen, um alle unspezifisch gebundenen Anteile zu entfernen. Dieses wurde nach jedem Reaktionsschritt wiederholt und das Reagenz stets frisch angesetzt. Es handelte sich dabei um TBS (Tris Buffered Saline) unter Zusatz des Tensid- artigen Detergens Tween 20 (Dako Cytomation, S1966). Dieses ermöglichte eine Steigerung der Effizienz der Waschvorgänge und eine Herabsetzung der Oberflächenspannung. Dadurch wurde beim Auftragen der Reagenzien eine gleichmäßige und sichere Benetzung bis an den Präparatrand gewährleistet.

Das TBST setzte sich aus 50 ml 1 molar Triss (Stammlösung A), 100 ml 3 molar NaCl (Stammlösung B) und 1000 µl Tween 20 zusammen und wies einen pH von 7,6 auf. Die Schnitte wurden 2 x 5 min in dieser Lösung gewaschen.

Anschließend wurden die Präparate mit dem Avidin/ Biotin Blocking- Kit (SP-2001, Vector) behandelt, um ungewollte Reaktionen des endogenen Avidin bzw.

Biotin zu verhindern. Dazu wurden die Schnitte zunächst mit dem Vector Blocking- Kit SP- 2001- Avidin Solution für 15 min inkubiert. Im Anschluss erfolgte für 2 x 5 min ein Waschschrift mit TBST, bevor die Schnitte erneut für 15 min inkubiert wurden- diesmal mit Biotin Solution. Nach abgelaufener Inkubation wurden die Schnitte erneut 2 x 5 min in TBST gewaschen.

Nun erfolgte die Behandlung der Präparate mit den jeweiligen Primärantikörpern. Im Falle von TH kam ein polyklonaler Kaninchenantikörper zum Einsatz (ab 112, abcam). Dieser wurde im Verhältnis 1: 1500 mit Dako Diluent S3022 verdünnt und über Nacht bei 4°C im Kühlschrank inkubiert. Für CGRP wurde ein hochspezifischer, monoklonaler Antikörper ausgewählt (clone CD8 IgG1, Cat. No. 610026). Dieser wird aus einer Fusion von Myelomzellen und Balb/ c- Milzzellen gewonnen. Er wurde im Verhältnis 1: 50 mit Dako Diluent S0809 verdünnt und bei 4°C über Nacht im Kühlschrank inkubiert.

Anschließend wurden die Präparate für 3 x 10 min in TBST gewaschen.

Nun Erfolgte die Behandlung der Schnitte mit den Sekundärantikörpern. Im Falle von TH verwendete man einen Kaninchen IgG- Antikörper (aus Vectastain PK- 6200), verdünnte diesen im Verhältnis 1: 200 mit Dako Diluent S3022 als Verdünnungsmedium und inkubierte damit die Präparate für 60 min bei Raumtemperatur. Für CGRP wurde ein Mäuse IgG- Antikörper (aus Vectastain PK- 6200) verwendet und im Verhältnis 1: 200 verdünnt (mit Dako Diluent S0809 als Verdünnungsmedium). Mit dieser Lösung wurden die Schnitte ebenfalls für 60 min bei Raumtemperatur inkubiert.

Nachdem die Präparate erneut für 2 x 10 min in TBST gewaschen worden waren, erfolgte die Avidin- Biotin- Complex (ABC) Methode. Dazu wurde ein Reagenz aus 20 µl der Avidinlösung, 20 µl der Biotinlösung, sowie 1000 µl TBS 30 min vor dem Auftrag auf die Präparate hergestellt. Hierfür wurde Vectastain Elite PK 6200 verwendet. Mit dieser Lösung wurden die Präparate für 30 min inkubiert.

Im Anschluss daran wurden die Präparate ein weiteres mal 2 x 10 min mit TBST gewaschen.

Anschließend wurde das Farbsubstrat DAB SK- 4100 (Vector) für 30 sec. auf die Schnitte aufgetragen. Dieses wurde aus 1000 µl destilliertem Wasser, 20 µl buffer, 40 µl DAB, sowie 20 µl H₂O₂ hergestellt. Nach diesen 30 sec. Inkubation wurden die Präparate 2 x 5 min in destilliertem Wasser gewaschen.

Daraufhin erfolgte die Gegenfärbung für 15 sec. in einem Hämatoxylinbad nach Meyer und anschließend durch das Bläuen für 7 min in einem Leitungswasserbad unter zulaufendem Wasser.

Im nächsten Schritt wurden die Präparate in einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert. Dies erfolgte für 2 x 3 min in 96% Alkohol (Ethanol), 2 x 5 min in 100% Alkohol und 3 x 5 min in Xylol.

Schließlich wurden die Objektträger mit dem Eindeckmittel VectaMount (Vector) und entsprechenden Deckgläsern eingedeckt.

Die Färbung stellte sich im Nervengewebe als bräunlich dar, im Falle von CGRP sehr viel schwächer als dies bei TH der Fall war.

2.3.2 Färbeprotokoll für nNOS und NPY: En Vision G/ 2 System/ AP

Die Streptavidin- Biotin- Methode weist einige Limitationen auf, so z.B. die Gefahr von unspezifischen Hintergrundfärbungen, die auf die Anwesenheit von Biotin zurückzuführen sind. Im Falle der Färbungen für die Antikörper nNOS und NPY wurde daher das En Vision G/ 2 System/ AP verwendet. Dieses arbeitet ohne Biotin und zeichnet sich durch eine geringfügig verbesserte Sensitivität gegenüber der ABC- Methode aus.

Das En Vision G/ 2 System/ AP wird dafür verwendet, zwei verschiedene Antigene in einer Probe mit zwei unterschiedlichen Visualisierungsverfahren sichtbar zu machen. Hierfür werden primäre Kaninchen- bzw. Mäuseantikörper verwendet. In der vorliegenden Arbeit war jedoch hauptsächlich die Eigenschaft des Systems von Interesse, geringe Mengen von Antigenen detektieren zu können. Aus diesem Grund wurde für die Antikörper nNOS und NPY jeweils lediglich der

poliklonale Kaninchenantikörper als Primärantikörper eingesetzt und die alkalische Phosphatase (AP) mit Permanent Red als Chromogen für die Visualisierung verwendet.

30 min vor Beginn der Immunhistochemischen Färbung wurden die Paraffinschnitte im Wärmeschrank bei 60°C eingelagert, um das Paraffin abzuschmelzen. Anschließend wurde die Entparaffinierung für 3 x 10 min in einem Xylolbad fortgesetzt. Im Anschluss daran erfolgte die Rehydrierung der Präparate in der absteigenden Alkoholreihe; dazu wurden sie 2 x 7 min in 100% Ethanol, 2 x 7 min in 96% und 1 x 7 min in 70% Ethanol eingebracht. Anschließend wurden die Schnitte 5 min lang in destilliertem Wasser gewaschen.

Für den nächsten Schritt wurde, wie zuvor für CGRP und TH, ein Citratpuffer (10mM, pH 6,0) angesetzt, der ebenfalls aus 18ml des Stammpuffers A (Zitronensäure) und 82ml des Stammpuffers B (Natriumcitrat) zusammengesetzt und mit destilliertem Wasser auf 1l aufgefüllt wurde. Der pH-Wert wurde stets kontrolliert.

Nun erfolgte die Demaskierung, indem die Präparate in dem zuvor angesetzten Citratpuffer 3 x 5 min in einem 600 Watt Mikrowellenherd (Moulinex Mikro Chef MO 500) auf Stufe 2 gekocht wurden. Verdunsteter Puffer wurde wieder mit destilliertem Wasser aufgefüllt, sodass die Schnitte den gesamten Vorgang hindurch in einer konstanten Füllmenge gekocht wurden und so ein Austrocknen verhindert werden konnte. Nach Beendigung dieses Arbeitsschrittes ließ man die Präparate 30 min lang bei Raumtemperatur abkühlen.

Nun wurden die Schnitte in einem Waschreagenz gewaschen, um alle unspezifisch gebundenen Anteile zu entfernen. Dieses wurde nach jedem Reaktionsschritt wiederholt und das Reagenz stets frisch angesetzt. Es handelte sich dabei, wie zuvor im Falle von CGRP und TH, um TBS (Tris Buffered Saline) unter Zusatz des Tensid-artigen Detergens Tween 20 (Dako Cytomation, S1966).

Das TBST setzte sich aus 50 ml 1 molar Triss (Stammlösung A), 100 ml 3 molar NaCl (Stammlösung B) und 1000 µl Tween 20 zusammen. Die Schnitte wurden 2 x 5 min in dieser Lösung gewaschen.

Im nächsten Schritt wurden die Aktivitäten endogener Enzyme wie Phosphatasen, Peroxidasen und Pseudoperoxidasen gehemmt mit Hilfe des Dual Endogeneous Block (Dako). Dazu wurde auf jeden Schnitt je nach Größe 5 bis 8 Tropfen aufgetragen und diese daraufhin für 10 min inkubiert.

Anschließend wurden die Präparate für 2 x 10 min erneut in TBST gewaschen.

Nun erfolgte die Inkubation mit den Primärantikörpern. Im Falle von nNOS wurde ein polyklonaler Kaninchenantikörper von der Firma Zytomed mit der Cat.No. 214-0424 verwendet. Dieser wurde im Verhältnis 1: 1000 mit Dako Diluent S0809 verdünnt und 30 min bei Raumtemperatur inkubiert.

Im Falle von NPY kam ebenfalls ein polyklonaler Kaninchenantikörper zum Einsatz (abcam, ab10980). Dieser wurde im Verhältnis 1: 500 mit Dako Diluent S0809 verdünnt und ebenfalls für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert.

Anschließend wurden die Schnitte erneut für 2 x 10 min in TBST gewaschen.

Im nächsten Schritt wurde Rabbit / mouse (LINK), ein Dextranpolymer, welches Antikörper gegen Maus- und Kaninchen- Immunglobulinen trägt, als sekundärer Antikörper auf die Präparate aufgebracht. Diese wurden anschließend 30 min bei Raumtemperatur inkubiert.

Im Anschluss daran wurden die Präparate ein weiteres mal 2 x 10 min mit TBST gewaschen.

Anschließend wurden die Schnitte mit AP Enzyme (ENHANCER) behandelt, ein Dextranpolymer, das mit alkalischer Phosphatase und affinitätsisolierten Immunglobulinen konjugiert ist.

Nach 30-minütiger Inkubation wurden die Schnitte erneut 2 x 10 min mit TBST gewaschen.

Im nächsten Schritt wurden die Präparate in der Permanent Red Arbeitslösung für 2,5 min inkubiert. Diese setzte sich aus 1000 µl Permanent Red Substrat und 10 µl Permanent Red Chromogen zusammen.

Nach der 2,5-minütigen Inkubation wurde das Permanent Red 5 min in destilliertem Wasser abgespült.

Im Anschluss erfolgte die Gegenfärbung. Dazu wurden die Präparate 15 Sekunden in einem Hämatoxilinbad nach Meyer gegeben. Das überschüssige Hämatoxilin wurde anschließend mit destilliertem Wasser abgespült und die Präparate 7 min in einem Leitungswasserbad mit zulaufendem Wasser gebläut.

Schließlich wurden die Objektträgerpräparate mit dem wässrigen Eindeckmittel Aquatex (Merck) und entsprechenden Deckgläsern eingedeckt.

Das Ergebnis war eine rote Färbung des Nervengewebes ohne Hintergrundfärbung im umgebenden Gewebe. Allerdings war teilweise ein unspezifischer Niederschlag um das Präparat herum zu sehen.

2.4 Mikroskopie

Die Mikroskopie erfolgte mit Hilfe eines Zeiss Universal Mikroskops (Carl Zeiss, Jena). Die zu dokumentierenden Nerven wurden dabei mit 160-facher und 400-facher Vergrößerung detektiert und in die Kategorien $\leq 200 \mu\text{m}$ und $> 200 \mu\text{m}$ unterteilt.

2.4.1 Radiärsegmente

Die Prostatapräparate wiesen aufgrund der natürlichen Unterschiede und der unterschiedlichen Tumorprogressionen der Patienten eine gewisse morphologische Varianz auf. Um vergleichbare und berechenbare metrische Ergebnisse erzielen zu können, wurden die Schnitte in ein genormtes Raster gebracht. Dazu wurden die Schnitte als erstes mit der posterioren Prostatafläche parallel zum unteren Rand des Objektträgers auf diesen aufgebracht. Anschließend wurde mit einem feinen, schwarzen Filzstift zirkulär um den topographischen Mittelpunkt der Prostata ein radiäres Schema mit 12 Segmenten eingezeichnet. Dies erfolgte direkt

auf das Deckglas des jeweiligen Objektträgers. Jeder Abschnitt wies einen Winkel von 30° auf. Die 12 Segmente wurden im Uhrzeigersinn nummeriert und entsprechend der anatomischen Lage in 3 Bereiche eingeteilt; so stellten die Segmente 12 und 1 den anterioren Teil der Prostata dar (links und rechts), die Segmente 2 und 3, bzw. 10 und 11 stellten den anterolateralen Teil (links und rechts) dar, die Segmente 4 und 5, bzw. 8 und 9 stellten den posterolateralen Teil (links und rechts) dar und schließlich die Segmente 6 und 7 stellten den posterioren Teil (links und rechts) der Prostata dar.

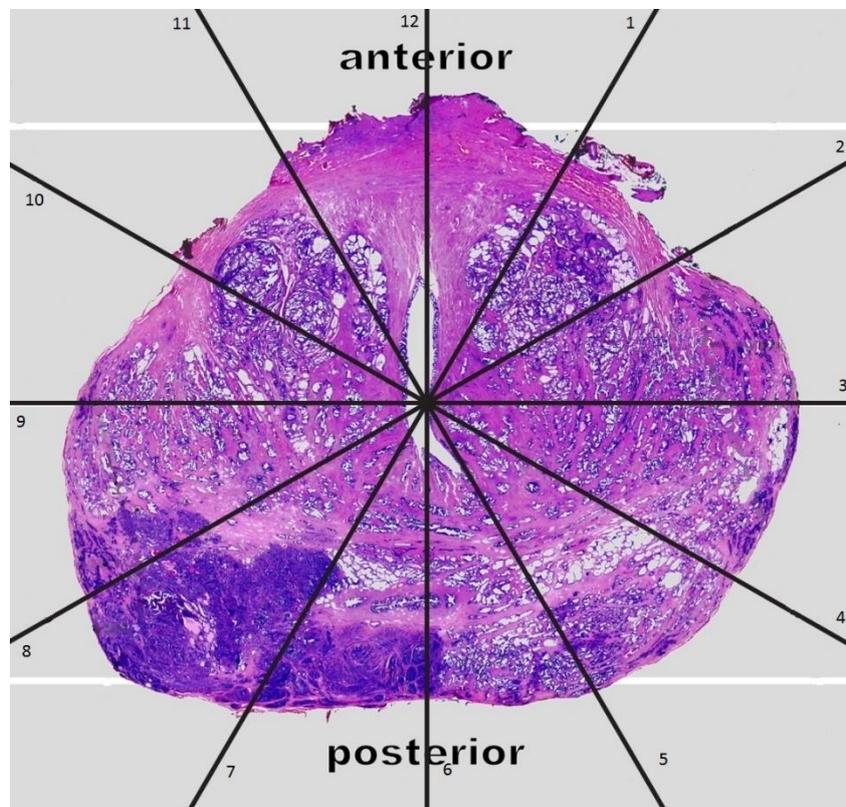


Abbildung 1: Beispiel für auf einen Großflächenschnitt aufgebrachte Radiärsegmente mit einer Segmenteinteilung von 1- 12 in einem Winkel von je 30°.

Für die Mikroskopie wurden von jedem Patienten ein apikaler, ein mittiger sowie ein basaler Prostataschnitt ausgewertet.

Für die Dokumentation der detektierten Nerven wurde ein Auswertungsbogen erstellt, der dem Schema auf den Präparaten nachempfunden war und gleichermaßen in 12 Segmente unterteilt war.

2.4.2 Dokumentation der Nerven

Für die Dokumentation wurden die nicht nerverhaltenen Seiten der Prostatapräparate mikroskopiert. In jedes Segment des Auswertungsbogens wurden die dort entdeckten Nerven unterteilt nach Größe ($\leq 200 \mu\text{m}$ und $> 200 \mu\text{m}$) eingetragen. Es wurden lediglich die Nerven der Prostataperipherie gezählt. Dabei handelte es sich um das fibromuskuläre Stroma, welches sich am äußeren Rand der Prostata befindet [McNeal, 1988], da eine Kapsel, wie sie hier bezeichnet wurde, im engeren Sinne bei der Prostata nicht existent ist [Ayala et al., 1989].

War die Prostataperipherie an manchen Stellen beschädigt oder nicht vorhanden, so war eine Dokumentation erschwert bzw. nicht möglich. Diese Bereiche wurden in dem entsprechenden Segment als solche vermerkt und nicht für die Auswertung herangezogen.

2.5 Datenbank und Tabellen

Von den insgesamt 9 untersuchten Patienten standen unterschiedliche Anzahlen an Schnitten zur Verfügung. Sie variierten von drei bis sieben Präparaten pro Patient. Alle 43 Präparate wurden mikroskopiert und die Daten in die Auswertungsbögen eingetragen. Für die Auswertung wurden von jedem Patienten die Daten eines Präparates aus dem apikalen Teil der Prostata, eines aus dem mittleren Teil und eines aus dem basalen Teil eingetragen. Damit wurden insgesamt 27 Präparate für diese Studie verwendet - drei pro Patient. Auf diese Weise konnte im Falle eines stark beschädigten Präparates mit geringem Aussagewert auf einen benachbarten Schnitt zurückgegriffen werden.

2.5.1 Absolute Nervendichte

Nachdem die Daten aller Präparate in allen vier Färbungen erhoben worden waren, wurden sie in Tabellen eingetragen, in denen die absolute Nervendichte vermerkt wurde (Siehe Tabelle 1).

Absolute Nervendichte- nNOS pro Sektor	apikal	mittig	basal	Mittelwert entlang apikal-mittig- basal	%-Mittelwert entlang apikal-mittig- basal
anterior	0 / 0,4	0,1 / 1,1	0 / 0	0 / 0,5	0,5 / 3,1
anterolateral	0,4 / 1,6	1,3 / 3,4	4,1 / 5,2	1,9 / 3,4	24,9 / 20
posterolateral	3 / 9	7,4 / 10,6	4,8 / 6,6	5 / 8,8	65 / 51,8
posterior	1,3 / 6,6	0,3 / 3,8	0,6 / 2,3	0,7 / 4,2	9,6 / 25,1
					100 / 100

Tabelle 1: Beispiel einer Tabelle für die Dokumentation der absoluten Nervendichte in diesem Fall mit nNOS gefärbten Nerven. Die Daten sind in das Raster anterior- anterolateral- posterolateral- posterior/ apikal-mittig- basal als Mittelwerte in das jeweilige Segment eingetragen. Nerven der Größe > 200 µm wurden fett eingetragen, solche mit einer Größe von ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(nNOS= Neuronale Stickstoffmonoxid- Synthase.)

Diese waren in die Sektoren anterior, anterolateral, posterolateral und posterior unterteilt, sowie in die Abschnitte apikal, mittig und basal. Auf diese Weise konnte die Lokalisation der Nerven im Rahmen dieses Rasters genau festgehalten werden. Die Anzahl der in einem bestimmten Segment vorhandenen Nerven wurde als Mittelwert in das dafür vorgesehene Feld in der Tabelle eingetragen. Nerven mit einer Größe von > 200 µm wurden fett eingetragen, diejenigen, die eine Größe von ≤ 200 µm aufwiesen, wurden in herkömmlicher Schrift verzeichnet. Für die Berechnung der Daten wurde im Anschluss eine Reihe von weiteren Tabellen erstellt. Das Prinzip des Rasters war jedoch bei allen Tabellen dasselbe.

Sämtliche Tabellen wurden sowohl für nNOS-, als auch für NPY-, und TH-, sowie für CGRP gefärbte Nerven gleichermaßen erstellt.

2.5.2 Berechnungen

Zunächst wurde anhand der Mittelwerte die prozentuale Verteilung der detektierten Nerven für das apikale, das mittlere und basale Drittel einzeln berechnet. Dabei addierten sich die vier Bereiche von anterior bis posterior zu insgesamt 100% (siehe Tabelle 2).

Anteil an nNOS	apikal	mittig	basal
anterior	0/ 2,5	1,2/ 5,9	0/ 0
anterolateral	9,2/ 8,8	13,8/ 17,8	43,6/ 36,9
posterolateral	62,9/ 51,2	81,4/ 56,1	50,4/ 46,9
posterior	27,9/ 37,5	3,6/ 20,2	6/ 16,2
Angaben in %	100/ 100	100/ 100	100/ 100

Tabelle 2: Beispiel einer Tabelle für die Darstellung der prozentualen Verteilung der Nerven (hier nNOS gefärbt) in den Abschnitten apikal, mittig und basal. Die einzelnen Sektoren addieren sich pro Abschnitt zu jeweils 100%. Werte aus der Kategorie > 200 µm wurden fett eingetragen, solche aus ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(nNOS= Neuronale Stickstoffmonoxid- Synthase)

Anschließend wurde anhand der Mittelwerte die prozentuale Verteilung der detektierten Nerven für den anterioren, den anterolateralen, den posterolateralen und den posterioren Bereich einzeln berechnet. Dabei addierten sich die Bereiche Apex, Mitte und Basis zu 100% (siehe Tabelle 3).

Anteil an nNOS	apikal	mittig	basal	
anterior	0/ 28,4	100/ 71,6	0/ 0	100/ 100
anterolateral	7,6/ 15,3	21,6/ 33,2	70,9/ 51,5	100/ 100
posterolateral	19,8/ 34,3	48,7/ 40,5	31,4/ 25,3	100/ 100
posterior	59,6/ 51,9	14,8/ 30,1	25,6/ 18	100/ 100
Angaben in %				

Tabelle 3: Beispiel einer Tabelle für die Darstellung der prozentualen Verteilung der Nerven (hier nNOS gefärbt) in den Sektoren anterior, anterolateral, posterolateral, posterior. Die einzelnen Abschnitte addieren sich pro Sektor zu jeweils 100%. Werte aus der Kategorie > 200 µm wurden fett eingetragen, solche aus ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(nNOS= Neuronale Stickstoffmonoxid- Synthase)

Für den nächsten Schritt wurden die Daten aus Sievert et al. als Grundlage verwendet [Sievert et al., 2009]. In dieser Arbeit wurden die Nerven der Prostataepipherie mit PGP 9.5 (Protein Gene Product 9.5) gefärbt, um sie in ihrer Gesamtheit festzustellen. Da in der vorliegenden Arbeit die Verteilung bestimmter Nervenqualitäten von Interesse war, wurden nun die Nerven der unterschiedlichen Färbungen mit der Gesamtheit der Nerven eines bestimmten Segmentes in Beziehung gesetzt. Auf diese Weise konnte man eine Aussage über die relative Verteilung von Nerven einer bestimmten Qualität treffen.

Dazu wurde zunächst eine Tabelle erstellt, in der für jedes Segment die Anzahl der detektierten Nerven prozentual zu der Gesamtheit der dort vorhandenen Nerven errechnet wurde (siehe Tabelle 4).

Anteil nNOS an PGP	apikal	mittig	basal	Mittelwerte entlang apikal-mittig-basal	%-Mittelwert entlang apikal-mittig-basal
anterior	0/ 12,8	13,9/ 17,6	0/ 0	4,6/ 10,1	1,6/ 10,2
anterolateral	59/ 17,3	86,8/ 22,9	154,5/ 20,2	100,1/ 20,1	35/ 20,3
posterolateral	53,7/ 23,3	146,8/ 29,9	87,3/ 8,6	95,9/ 20,6	33,5/ 20,8
posterior	119,8/ 56,1	48,5/ 67,9	87,7/ 20,7	85,4/ 48,2	29,8/ 48,7
Angaben in %					100/ 100

Tabelle 4: Beispiel einer Tabelle für die Darstellung der hier nNOS gefärbten Nerven prozentual zu der Gesamtheit der in dem jeweiligen Segment detektierten Nerven (gefärbt mit PGP 9.5). Hierfür wurden die nötigen Daten der PGP gefärbten Nerven aus Sievert et al., 2009 herangezogen. Werte aus der Kategorie > 200 µm wurden fett eingetragen, solche aus ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(nNOS= Neuronale Stickstoffmonoxid- Synthase, PGP 9.5= Protein Gene Product 9.5)

2.6 Limitation

Bei der vorliegenden Arbeit ist zu berücksichtigen, dass die Daten von neun Patienten erhoben wurden. Die statistische Aussagekraft ist daher eingeschränkt.

Außerdem kann nicht gewährleistet werden, dass Präparate aus radikal prostatektomierten Prostaten in jedem Fall die komplette Anzahl periprostatischen Nervengewebes darstellen.

Des Weiteren baut die vorliegende Arbeit auf den Ergebnissen aus Sievert et al. (2008) und (2009) auf, dessen Daten für die Auswertungen herangezogen wurden [Sievert et al., 2008 und 2009]. Das Zählverfahren der Nerven wurde nach demselben Prinzip durchgeführt, indem die Nerven in die Kategorien > 200µm und ≤ 200µm unterteilt wurden. Da dies im Falle von großen Nervenbündeln zu

einem gewissen Grad Ermessenssache des Mikroskopierenden ist, kann dies dazu führen, dass mehr Nerven als zuvor z.B. der Kategorie $> 200\mu\text{m}$ zugeordnet werden. Setzt man diese höhere Nervenzahl bei der Berechnung der relativen Nervenverteilungen mit der geringeren Zahl von PGP 9.5 gefärbten Nerven in Beziehung, so entstehen Werte von über 100%. Die resultierende Aussagekraft bleibt jedoch unmissverständlich.

3. Ergebnisse

3.1 Daten

Die Daten wurden aufgrund der Einteilung der Prostata in Apex, Mitte und Basis sowie in die anterioren, anterolateralen, posterolateralen und posterioren Anteile der nicht nerverhaltenen Seite erhoben. Bezogen auf neun Patienten ergaben sich 108 Sektoren pro Färbung, aus denen theoretisch Daten erhoben werden konnten. Manche Segmente konnten aufgrund einer insuffizienten Kapsel jedoch nicht für die Auswertung herangezogen werden. Diese Kapseldefekte sind Ergebnisse intraoperativer Schnellschnittentnahmen und wurden bei der Auswertung nicht berücksichtigt.

So ergaben sich bei 108 möglichen Sektoren für nNOS 90 verwertbare Segmente, für TH 86, für NPY 78 und für CGRP 76.

3.2 Färbeergebnisse

Die immunhistochemischen Färbungen wiesen Unterschiede in der Farbtintensität der angefärbten Nerven entlang der Prostataperipherie auf. So stellten sich die nNOS gefärbten Nerven deutlich rot dar und waren mit den TH- markierten Nerven, die eine bräunliche Farbe aufwiesen, am besten detektierbar. Die Marker NPY stellten sich ebenfalls rot dar und führten zu einem etwas schwächeren, und CGRP schließlich mit einer leichten bräunlichen Färbung zum schwächsten Färbeergebnis.

Bei den Färbungen nNOS und NPY kam der Farbstoff Chromogen zum Einsatz, der eine rote Färbung bewirkt. In den Färbungen TH und CGRP wurde der Farbstoff DAB SK-4100 verwendet, auf den die bräunliche Färbung der Nerven zurückzuführen ist.

Aufgrund klarer Größenunterschiede ließen sich die Nerven in eine Gruppe mit $>200\ \mu\text{m}$ und in eine mit $\leq 200\ \mu\text{m}$ großen Nerven unterteilen.

In manchen Fällen wurden Nerven mit einem der vier Marker angefärbt, die bei der Färbung mit PGP nicht erfasst wurden. Diese Beobachtung spiegelt sich bei der Betrachtung der relativen Nervenverteilung in Werten über 100% wider.

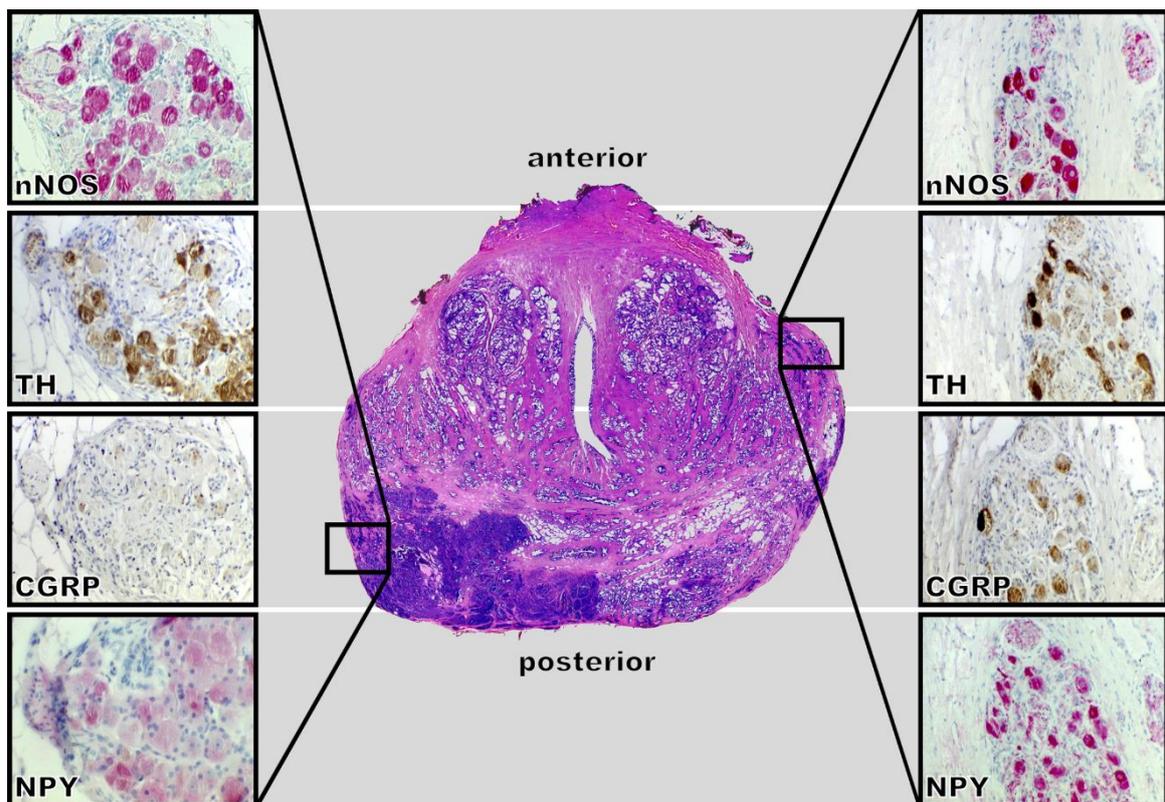


Abbildung 2: Darstellung der immunhistochemischen Färberegebnisse für nNOS-, TH-, CGRP- und NPY gefärbte Nerven, beispielhaft für einen anterolateralen (rechts) und einen posterolateralen (links) Bereich einer Prostata auf mittlerer Höhe nach erfolgter nicht nerverhaltender radikaler Prostatektomie.

(nNOS= neuronale Stickstoffmonoxid- Synthase, TH= Tyrosinhydroxylase, CGRP= Calcitonin Gene- Related Peptide, NPY= Neuropeptid Y)

3.3 Quantifizierungen

3.3.1 Absolute Nervenverteilungen

3.3.1.1 Absolute Nervenverteilung nNOS

Die Ergebnisse der Quantifizierungen der absoluten Nervenzahlen für nNOS sind in Tabelle 5 und in Abbildung 3 zusammengefasst.

Absolute Nervendichte- nNOS pro Sektor	apikal	mittig	basal	Mittelwert entlang apikal-mittig- basal	%-Mittelwert entlang apikal-mittig- basal
anterior	0 / 0,4	0,1 / 1,1	0 / 0	0 / 0,5	0,5 / 3,1
anterolateral	0,4 / 1,6	1,3 / 3,4	4,1 / 5,2	1,9 / 3,4	24,9 / 20
posterolateral	3 / 9	7,4 / 10,6	4,8 / 6,6	5 / 8,8	65 / 51,8
posterior	1,3 / 6,6	0,3 / 3,8	0,6 / 2,3	0,7 / 4,2	9,6 / 25,1
					100 / 100

Tabelle 5: Absolute Nervenzahlen der nNOS gefärbten Nerven. Die Daten sind in das Raster anterior- anterolateral- posterolateral- posterior/ apikal- mittig- basal als Mittelwerte in das jeweilige Segment eingetragen. Nerven der Größe > 200 µm wurden fett eingetragen, solche mit einer Größe von ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(nNOS= Neuronale Stickstoffmonoxid- Synthase)

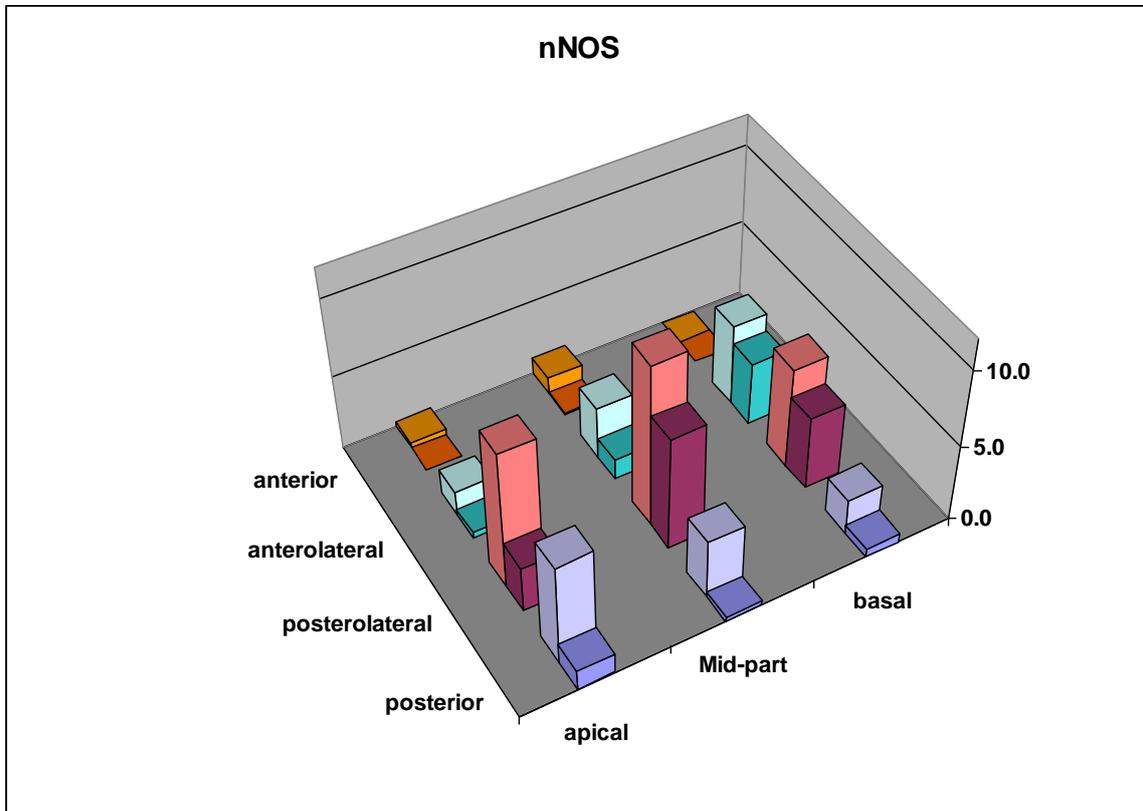


Abbildung 3: Darstellung der absoluten Nervenzahlen der nNOS gefärbten Nerven. Dunkle Balken: Nerven >200µm, helle Balken: Nerven ≤200µm. Die Daten sind in das Raster anterior- anterolateral- posterolateral- posterior/ apikal- mittig- basal eingetragen. Ordinatensachse (y-Achse rechts der Abbildung) mit Skalierung 0- 5- 10 für die absolute Nervenzahl.

(nNOS= Neuronale Stickstoffmonoxid- Synthase)

Die Ergebnisse der Berechnungen entlang der longitudinalen und radialen Verteilungen sind in Tabelle 6 aufgeführt.

Anteil an nNOS	Apikal	mittig	basal
anterior	0/ 2,5	1,2/ 5,9	0/ 0
anterolateral	9,2/ 8,8	13,8/ 17,8	43,6/ 36,9
posterolateral	62,9/ 51,2	81,4/ 56,1	50,4/ 46,9
posterior	27,9/ 37,5	3,6/ 20,2	6/ 16,2
Angaben in %	100/ 100	100/ 100	100/ 100

Anteil an nNOS	Apikal	mittig	basal	
anterior	0/ 28,4	100/ 71,6	0/ 0	100/ 100
anterolateral	7,6/ 15,3	21,6/ 33,2	70,9/ 51,5	100/ 100
posterolateral	19,8/ 34,3	48,7/ 40,5	31,4/ 25,3	100/ 100
posterior	59,6/ 51,9	14,8/ 30,1	25,6/ 18	100/ 100
Angaben in %				

Tabelle 6: Darstellung der prozentualen Verteilung der nNOS gefärbten Nerven in den Abschnitten apikal, mittig und basal (oben). Die einzelnen Sektoren addieren sich pro Abschnitt zu jeweils 100%. Sowie die prozentuale Verteilung in den Sektoren anterior, anterolateral, posterolateral, posterior (unten). Die einzelnen Abschnitte addieren sich pro Sektor zu jeweils 100%. Werte aus der Kategorie > 200 µm wurden fett eingetragen, solche aus ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(nNOS= Neuronale Stickstoffmonoxid- Synthase)

Die nNOS gefärbten Nerven aus der Gruppe >200µm kamen im anterioren Bereich der Prostata basal nicht vor, im mittleren Drittel fanden sich im Schnitt 0,1 Nerven und apikal waren ebenfalls keine Nerven zu detektieren. Im anterolateralen Bereich fanden sich basal 4,1 Nerven, mittig 1,3 und apikal 0,4 Nerven, die eine Färbung aufwiesen. Posterolateral waren im basalen Anteil durchschnittlich

4,8, im mittleren 7,4 und apikal 3 Nerven zu finden. Der Posteriore Bereich wies schließlich basal 0,6, mittig 0,3 und apikal 1,3 angefärbte Nerven auf.

Von den nNOS gefärbten Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ waren im anterioren Bereich der Prostata basal ebenfalls keine Nerven zu finden, im mittleren Anteil waren es im Schnitt 1,1 und apikal 0,4 Nerven. Im anterolateralen Bereich fanden sich basal durchschnittlich 5,2 Nerven, mittig 3,4 und apikal 1,6 gefärbte Nerven. Posterolateral waren im basalen Anteil 6,6, mittig 10,6 und apikal 9 Nerven zu finden, die eine Färbung aufwiesen. Im posterioren Bereich waren im basalen Anteil im Durchschnitt 2,3 Nerven, mittig 3,8 und apikal 6,6 Nerven detektierbar.

Betrachtet man die prozentuale Verteilung der angefärbten Nerven der Gruppe $>200\mu\text{m}$ im apikalen Bereich der Prostata, so lässt sich erkennen, dass im anterioren Anteil 0% der Nerven zu finden sind, anterolateral 9,2%, posterolateral sich das Maximum mit 62,9% befindet und posterior 27,9% der Nerven lokalisiert sind. Im mittleren Bereich nehmen die anterioren Nerven 1,2% des gesamten mittleren Nervenkollektivs ein, anterolateral sind es 13,8%, posterolateral befindet sich das Maximum mit 81,4% und posterior liegt der Anteil bei 3,6%. Im basalen Drittel des Organs stellt der anteriore Teil 0% des basalen Nervenkollektivs dar, der anterolaterale 43,6%, der posterolaterale bildet mit 50,4% den am stärksten innervierten Anteil und im posterioren Anteil sind 6% der basalen Nerven vorhanden.

Betrachtet man die prozentuale Verteilung der angefärbten Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ im apikalen Bereich der Prostata, so bildet der anteriore Anteil 2,5%, der anterolaterale 8,8%, der posterolaterale mit der höchsten Konzentration 51,2% und der posteriore Teil 37,5% des gesamten apikalen Nervenkollektivs. Im mittleren Drittel des Organs stellt der anteriore Teil 5,9% des mittleren Nervenkollektivs dar, der anterolaterale 17,8%, der posterolaterale bildet mit 56,1% den am stärksten innervierten Anteil und im posterioren Anteil sind 20,2% der mittleren Nerven vorhanden. Im basalen Bereich nehmen die anterioren Nerven 0% des gesamten basalen Nervenkollektivs ein, anterolateral sind es 36,9%, posterolateral befindet sich das Maximum mit 46,9% und posterior liegt der Anteil bei 16,2%.

Betrachtet man die prozentuale Verteilung der angefärbten Nerven der Gruppe $>200\mu\text{m}$ im anterioren Bereich, finden sich im apikalen Drittel 0%, im mittleren 100% und im basalen 0% der angefärbten Nerven. Im anterolateralen Bereich finden sich apikal 7,6%, mittig 21,6% und basal die meisten Nerven mit 70,9%. Posterolateral sind im apikalen Segment 19,8%, im mittleren mit 48,7% die meisten und basal 31,4% der Nerven lokalisiert. Im posterioren Viertel des Organs ist apikal mit 59,6% die größte Zahl der Nerven zu finden, mittig sind es 14,8% und im basalen Drittel 25,6%.

Von den nNOS gefärbten Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ finden sich nach prozentualer Verteilung der Nerven des anterioren Bereiches im apikalen Drittel 28,4%, mittig das Maximum mit 71,6% und basal 0% der Nerven. Im anterolateralen Bereich finden sich apikal 15,3%, mittig 33,2% und basal die meisten Nerven mit 51,5%. Das posterolaterale Viertel weist apikal 34,3%, mittig mit 40,5% den größten Anteil, und basal 25,3% der Nerven auf. Posterior stellt sich apikal der größte Anteil der Nerven in diesem Bereich mit 51,9% dar, mittig ergeben sich 30,1% und basal schließlich 18%.

Bei der Verteilung der Nerven der Gruppe $>200\mu\text{m}$, sowie der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ fällt auf, dass sie vorrangig im posterolateralen Bereich der Prostata lokalisiert sind, sowohl apikal als auch im mittleren Drittel sowie basal. Im basalen Bereich lassen sich darüber hinaus für beide Nervengruppen im anterolateralen Anteil ähnlich hohe Werte feststellen wie im benachbarten posterolateralen Anteil. Auffällig wenig Nerven sind im gesamten anterioren Bereich der Prostata für beide Nervengruppen zu verzeichnen.

3.3.1.2 Absolute Nervenverteilung TH

Die Ergebnisse der Quantifizierungen der absoluten Nervenzahlen für TH sind in Tabelle 8 und in Abbildung 4 zusammengefasst.

Absolute Nervendichte-TH pro Sektor	Apikal	mittig	basal	Mittelwert entlang apikal-mittig-basal	%-Mittelwert entlang apikal-mittig-basal
anterior	0/ 0,1	0/ 0,1	0,1/ 0,1	0/ 0,1	0,4/ 0,7
anterolateral	0,7/ 0,4	0,6/ 2,6	8/ 3,3	3,1/ 2,1	28,5/ 13,2
posterolateral	4,3/ 5,3	7,6/ 9,8	8/ 12	6,6/ 9	61,3/ 56,5
posterior	0,5/ 2,1	1/ 6,8	1,7/ 5,3	1,1/ 4,7	9,9/ 29,6
					100/ 100

Tabelle 8: Absolute Nervenzahlen der TH gefärbten Nerven. Die Daten sind in das Raster anterior- anterolateral- posterolateral- posterior/ apikal- mittig- basal als Mittelwerte in das jeweilige Segment eingetragen. Nerven der Größe > 200 µm wurden fett eingetragen, solche mit einer Größe von ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(TH= Tyrosinhydroxylase)

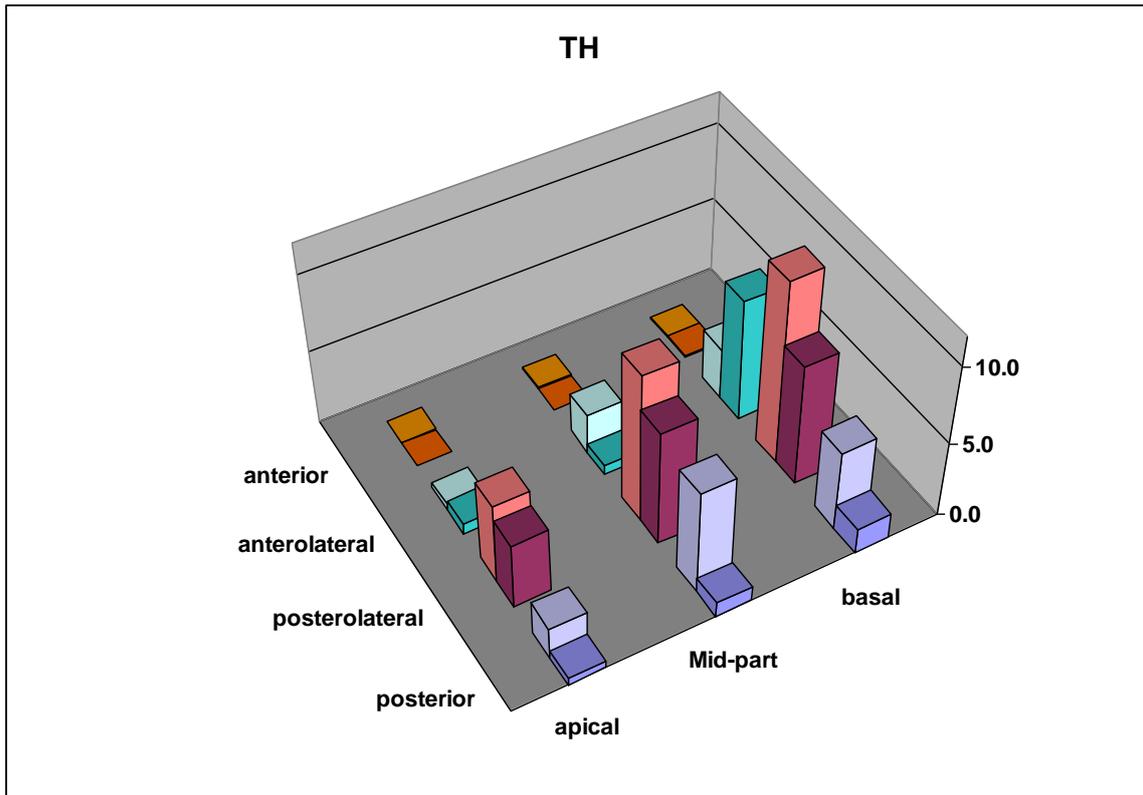


Abbildung 4: Darstellung der absoluten Nervenzahlen der TH gefärbten Nerven. Dunkle Balken: Nerven >200µm, helle Balken: Nerven ≤200µm. Die Daten sind in das Raster anterior- anterolateral- posterolateral- posterior/ apikal- mittig- basal eingetragen. Ordinatenachse (y-Achse rechts der Abbildung) mit Skalierung 0- 5- 10 für die absolute Nervenzahl.

(TH= Tyrosinhydroxylase)

Die Ergebnisse der Berechnungen entlang der longitudinalen und radialen Verteilungen sind in Tabelle 9 aufgeführt.

Anteil an TH	Apikal	mittig	basal
anterior	0/ 1,4	0/ 0,6	0,6/ 0,5
anterolateral	12,4/ 5,6	6,1/ 13,4	44,9/ 15,9
posterolateral	78,4/ 66,2	83/ 50,9	44,9/ 58
posterior	9,2/ 26,9	10,9/ 35,2	9,6/ 25,6
Angaben in %	100/ 100	100/ 100	100/ 100

Anteil an TH	Apikal	mittig	basal	
anterior	0/ 33,3	0/ 33,3	100/ 33,3	100/ 100
anterolateral	7,3/ 7	6,1/ 40,7	86,7/ 52,3	100/ 100
posterolateral	21,4/ 19,4	38,4/ 36,1	40,2/ 44,4	100/ 100
posterior	15,6/ 15	31,2/ 47,6	53,3/ 37,3	100/ 100
Angaben in %				

Tabelle 9: Darstellung der prozentualen Verteilung der TH gefärbten Nerven in den Abschnitten apikal, mittig und basal (oben). Die einzelnen Sektoren addieren sich pro Abschnitt zu jeweils 100%. Sowie die prozentuale Verteilung in den Sektoren anterior, anterolateral, posterolateral, posterior (unten). Die einzelnen Abschnitte addieren sich pro Sektor zu jeweils 100%. Werte aus der Kategorie > 200 µm wurden fett eingetragen, solche aus ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(TH= Tyrosinhydroxylase)

Von den TH gefärbten Nerven aus der Gruppe >200µm ließen sich im anterioren Bereich der Prostata basal im Schnitt 0,1 Nerven finden. Mittig und apikal waren jedoch keine Nerven angefärbt. Im anterolateralen Bereich waren basal 8 Nerven, mittig 0,6 und apikal 0,7 angefärbte Nerven lokalisiert. Im posterolateralen Bereich fanden sich basal 8 Nerven, mittig 7,6 und apikal 4,3 Nerven, die eine Färbung aufwiesen. Posterior waren im basalen Anteil durchschnittlich 1,7, im mittleren 1 und apikal 0,5 Nerven zu finden.

Von den TH gefärbten Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ ließen sich im anterioren Bereich der Prostata basal sowie mittig als auch apikal im Schnitt 0,1 Nerven detektieren. Im anterolateralen Bereich fanden sich basal durchschnittlich 3,3 Nerven, mittig 2,6 und apikal 0,4 gefärbte Nerven. Im posterolateralen Bereich waren basal 12 Nerven, mittig 9,8 und apikal 5,2 Nerven lokalisiert, die eine Färbung aufwiesen. Der posteriore Bereich wies schließlich basal durchschnittlich 5,3, mittig 6,8 und apikal 2,1 Nerven auf.

Betrachtet man die prozentuale Verteilung der angefärbten Nerven der Gruppe $>200\mu\text{m}$ im apikalen Bereich der Prostata, so lässt sich erkennen, dass im anterioren Anteil 0% der Nerven zu finden sind, anterolateral 12,4%, posterolateral sich das Maximum mit 78,4% befindet und posterior 9,2% der Nerven lokalisiert sind. Im mittleren Drittel des Organs stellt der anteriore Teil 0% des mittleren Nervenkollektivs dar, der anterolaterale 6,1%, der posterolaterale bildet mit 83% den am stärksten innervierten Anteil und im posterioren Anteil sind 10,9% der mittleren Nerven vorhanden. Im basalen Bereich nehmen die anterioren Nerven 0,6% des gesamten basalen Nervenkollektivs ein, anterolateral befindet sich genau wie posterolateral das Maximum mit jeweils 44,9% und posterior liegt der Anteil bei 9,6%.

Betrachtet man die prozentuale Verteilung der angefärbten Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ im apikalen Bereich der Prostata, so bildet der anteriore Anteil 1,4%, der anterolaterale 5,6%, der posterolaterale mit der höchsten Konzentration 66,2% und der posteriore Teil 26,9% des gesamten apikalen Nervenkollektivs. Im mittleren Bereich nehmen die anterioren Nerven 0,6% des gesamten mittleren Nervenkollektivs ein, anterolateral sind es 13,4%, posterolateral befindet sich das Maximum mit 50,9% und posterior liegt der Anteil bei 35,2%. Im basalen Drittel des Organs stellt der anteriore Teil 0,5% des basalen Nervenkollektivs dar, der anterolaterale 15,9%, der posterolaterale bildet mit 58% den am stärksten innervierten Anteil und im posterioren Anteil sind 25,6% der basalen Nerven vorhanden.

Betrachtet man die prozentuale Verteilung der angefärbten Nerven der Gruppe $>200\mu\text{m}$ im anterioren Bereich der Prostata, so befinden sich sowohl apikal als

auch mittig 0% der Nerven, basal sind es 100%. Im anterolateralen Bereich sind apikal 7,3%, mittig 6,1% und im basalen Anteil 86,7% der angefärbten Nerven lokalisiert. Posterolateral sind im apikalen Abschnitt 21,4%, im mittleren 38,4% und im basalen Abschnitt 40,2% vorhanden. Im posterioren Bereich stellen sich im apikalen Drittel 15,6%, im mittleren 31,2% und schließlich im basalen Drittel der Großteil der Nerven mit 53,3% dar.

Von den TH gefärbten Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ finden sich nach prozentualer Verteilung der Nerven des anterioren Bereiches sowohl im apikalen Drittel als auch mittig sowie basal 33,3% der Nerven. Das anterolaterale Viertel weist apikal 7%, mittig 40,7%, und basal mit 52,3% den größten Anteil der Nerven auf. Im posterolateralen Bereich finden sich apikal 19,4%, mittig 36,1% und basal der größte Anteil mit 44,4%. Posterior ergeben sich im apikalen Abschnitt 15%, mittig stellt sich der größte Anteil an den Nerven mit 47,6% dar und basal ergeben sich 37,3%.

Auffällig bei der Verteilung der Nerven der Gruppe $>200\mu\text{m}$ ist, dass sie hauptsächlich posterolateral lokalisiert sind, im basalen Bereich zusätzlich auch anterolateral mit einem gleich hohen Wert wie posterolateral. Von basal nach apikal hin nimmt die Anzahl der Nerven ab.

Die Maxima der Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ finden sich ausschließlich im posterolateralen Bereich und heben sich deutlich von den Werten der weiter anterior gelegenen Bereiche ab, nicht so stark jedoch von den weiter posterior gelegenen Bereichen.

3.3.1.3 Absolute Nervenverteilung NPY

Die Ergebnisse der Quantifizierungen der absoluten Nervenzahlen für NPY sind in Tabelle 11 und in Abbildung 5 zusammengefasst.

Absolute Nervendichte- NPY pro Sektor	Apikal	mittig	basal	Mittelwert entlang apikal-mittig-basal	%-Mittelwert entlang apikal-mittig-basal
Anterior	0/ 0,1	0/ 0,5	0/ 0	0/ 0,2	0/ 5,8
Anterolateral	0,2/ 0,1	0/ 0,7	4/ 1,7	1,4/ 0,8	29/ 24,5
posterolateral	1,1/ 0,6	5,4/ 3,7	2,6/ 1,2	3,1/ 1,8	62,8/ 53,4
Posterior	0,1/ 1,1	0,4/ 0,4	0,6/ 0,1	0,4/ 0,6	8,2/ 16,3
					100/ 100

Tabelle 11: Absolute Nervenzahlen der NPY gefärbten Nerven. Die Daten sind in das Raster anterior- anterolateral- posterolateral- posterior/ apikal- mittig- basal als Mittelwerte in das jeweilige Segment eingetragen. Nerven der Größe > 200 µm wurden fett eingetragen, solche mit einer Größe von ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(NPY= Neuropeptid Y)

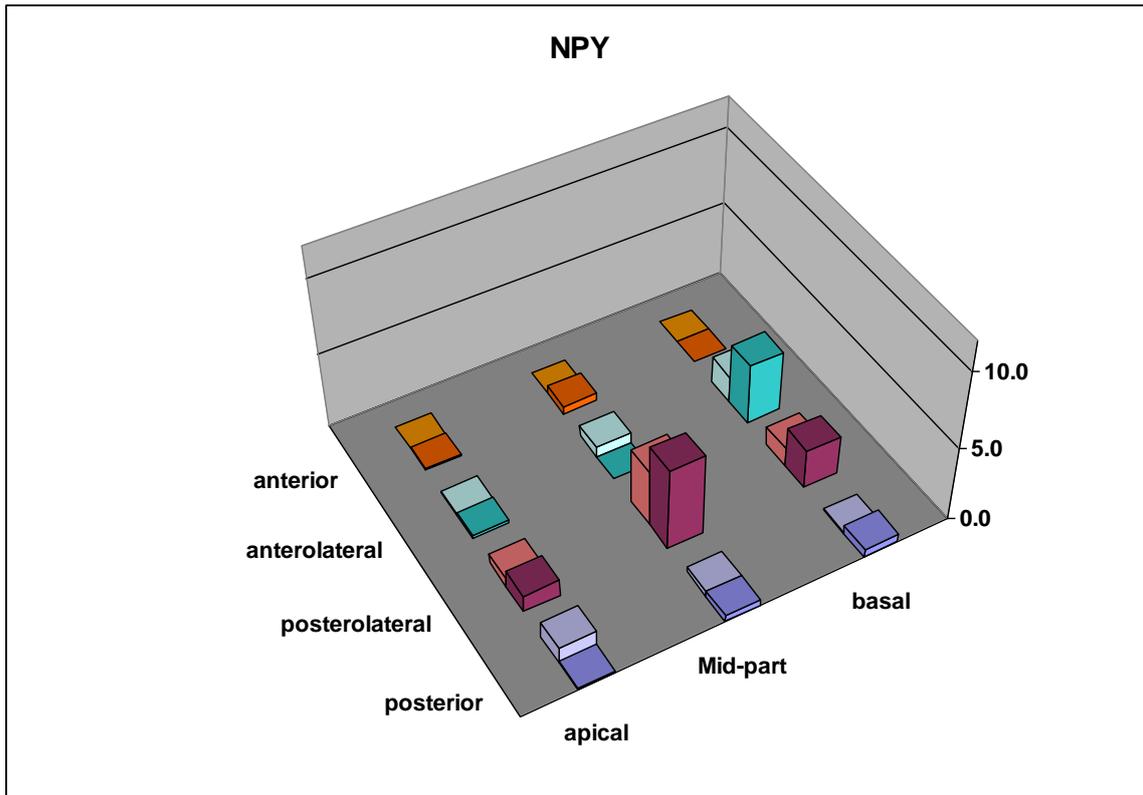


Abbildung 5: Darstellung der absoluten Nervenzahlen der NPY gefärbten Nerven. Dunkle Balken: Nerven >200µm, helle Balken: Nerven ≤200µm. Die Daten sind in das Raster anterior- anterolateral- posterolateral- posterior/ apikal- mittig- basal eingetragen. Ordinatenachse (y-Achse rechts der Abbildung) mit Skalierung 0- 5- 10 für die absolute Nervenzahl.

(NPY= Neuropeptid Y)

Die Ergebnisse der Berechnungen entlang der longitudinalen und radialen Verteilungen sind in Tabelle 12 aufgeführt.

Anteil an NPY	Apikal	mittig	basal
anterior	0/ 5,6	0/ 9,4	0/ 0
anterolateral	14,9/ 5,6	0/ 13,4	55,3/ 56,3
posterolateral	76,4/ 31,8	92,7/ 69,1	36/ 39,5
posterior	8,8/ 57,1	7,3/ 8,1	8,7/ 4,3
Angaben in %	100/ 100	100/ 100	100/ 100

Anteil an NPY	Apikal	mittig	basal	
anterior	0/ 18	0/ 82	0/ 0	100/ 100
anterolateral	5,2/ 4,4	0/ 28,1	94,8/ 67,6	100/ 100
posterolateral	12,3/ 11,5	59,3/ 66,7	28,4/ 21,8	100/ 100
posterior	10,9/ 66,9	36,1/ 25,4	52,9/ 7,7	100/ 100
Angaben in %				

Tabelle 12: Darstellung der prozentualen Verteilung der NPY gefärbten Nerven in den Abschnitten apikal, mittig und basal (oben). Die einzelnen Sektoren addieren sich pro Abschnitt zu jeweils 100%. Sowie die prozentuale Verteilung in den Sektoren anterior, anterolateral, posterolateral, posterior (unten). Die einzelnen Abschnitte addieren sich pro Sektor zu jeweils 100%. Werte aus der Kategorie > 200 µm wurden fett eingetragen, solche aus ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(NPY= Neuropeptid Y)

Die NPY gefärbten Nerven aus der Gruppe >200µm waren im anterioren Bereich der Prostata weder im basalen noch im mittleren oder im apikalen Anteil zu finden. Im anterolateralen Bereich waren basal 4 Nerven vorhanden, der mittlere Anteil blieb ohne angefärbte Nerven und apikal stellten sich im Mittel 0,2 Nerven dar. Posterolateral waren im basalen Anteil durchschnittlich 2,6, mittig 5,4 und apikal 1,1 Nerven zu finden. Im posterioren Bereich waren im basalen Anteil 0,6, mittig 0,4 und apikal 0,1 Nerven lokalisiert.

Von den NPY gefärbten Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ waren im anterioren Bereich der Prostata basal ebenfalls keine Nerven zu finden, im mittleren Anteil waren es im Schnitt 0,5 und apikal 0,1 Nerven. Anterolateral fanden sich im basalen Anteil durchschnittlich 1,7, mittig 0,7 und apikal 0,1 Nerven, die eine Färbung aufwiesen. Im posterolateralen Bereich stellten sich basal 1,2 Nerven, mittig 3,7 und apikal im Mittel 0,6 Nerven dar. Der Posteriore Bereich wies schließlich basal im Durchschnitt 0,1, mittig 0,4 und apikal 1,1 angefärbte Nerven auf.

Betrachtet man die prozentuale Verteilung der angefärbten Nerven der Gruppe $>200\mu\text{m}$ im apikalen Bereich der Prostata, so lässt sich erkennen, dass im anterioren Anteil 0% der Nerven zu finden sind, anterolateral 14,7%, posterolateral sich das Maximum mit 76,4% befindet und posterior 8,8% der Nerven lokalisiert sind. Im mittleren Drittel des Organs stellt der anteriore Teil 0% des mittleren Nervenkollektivs dar, der anterolaterale ebenfalls 0%, der posterolaterale bildet mit 92,7% den am stärksten innervierten Anteil und im posterioren Anteil sind 7,3% der mittig gelegenen Nerven vorhanden. Im basalen Bereich nehmen die anterioren Nerven 0% des gesamten basalen Nervenkollektivs ein, anterolateral befindet sich das Maximum mit 55,3%, posterolateral ergibt sich ein Wert von 36% und posterior liegt der Anteil bei 8,7%.

Betrachtet man die prozentuale Verteilung der angefärbten Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ im apikalen Bereich der Prostata, so bildet der anteriore Anteil 5,6%, der anterolaterale ebenfalls 5,6%, der posterolaterale 31,8% und der posteriore Teil mit der höchsten Konzentration 57,1% des gesamten apikalen Nervenkollektivs. Im mittleren Bereich nehmen die anterioren Nerven 9,4% des gesamten mittleren Nervenkollektivs ein, anterolateral sind es 13,4%, posterolateral befindet sich das Maximum mit 69,1% und posterior liegt der Anteil bei 8,1%. Im basalen Drittel des Organs stellt der anteriore Teil 0% des basalen Nervenkollektivs dar, der anterolaterale bildet mit 56,3% den am stärksten innervierten Anteil, im posterolateralen Anteil sind 39,5% und im posterioren Anteil 4,3% der basalen Nerven vorhanden.

Betrachtet man die prozentuale Verteilung der angefärbten Nerven der Gruppe $>200\mu\text{m}$ im anterioren Bereich der Prostata, so finden sich weder apikal, noch

mittig oder basal angefärbte Nerven. Im anterolateralen Bereich sind apikal 5,2%, mittig 0% und im basalen Anteil mit 94,8% die meisten der angefärbten Nerven lokalisiert. Posterolateral sind im apikalen Abschnitt 12,3%, im mittleren das Maximum mit 59,3% und im basalen Abschnitt 28,4% der Nerven vorhanden. Im posterioren Bereich stellen sich im apikalen Drittel 10,9%, im mittleren 36,1% und schließlich im basalen Drittel der Großteil der Nerven mit 52,9% dar.

Von den NPY gefärbten Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ finden sich nach prozentualer Verteilung der Nerven des anterioren Bereiches im apikalen Drittel 18%, mittig der Großteil mit 82% sowie basal 0% der Nerven. Das anterolaterale Viertel weist apikal 4,4%, mittig 28,1%, und basal mit 67,6% den größten Anteil der Nerven auf. Im posterolateralen Bereich finden sich apikal 11,5%, mittig der größte Anteil mit 66,7% und basal 21,8% der Nerven. Posterior stellt sich im apikalen Abschnitt der größte Anteil an den Nerven mit 66,9% dar, mittig ergeben sich 25,4% und basal 7,7%.

Die Verteilung der Nerven der Gruppe $>200\mu\text{m}$ lässt im posterolateralen Bereich im mittleren Drittel eine auffallend hohe Konzentration erkennen, die an sehr niedrige Konzentrationen anterolateral und anterior grenzt. Ähnlich verhält es sich mit den Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$, deren Werte allerdings einen nicht so starken Kontrast zu den benachbarten Anteilen aufweisen. Basal befinden sich die Maxima anterolateral. Dazu bildet der daran angrenzende anteriore Teil einen starken Kontrast, in dem keine Nerven detektiert wurden. In Richtung posterior fallen die Werte ebenfalls leicht ab.

Apikal finden sich die meisten Nerven der Gruppe $>200\mu\text{m}$ im posterolateralen Bereich, die der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ im posterioren Bereich. Die Maxima des apikalen Drittels sind deutlich niedriger als die des mittleren und ein wenig niedriger als die des basalen Drittels.

3.3.1.4 Absolute Nervenverteilung CGRP

Die Ergebnisse der Quantifizierungen der absoluten Nervenzahlen für CGRP sind in Tabelle 14 und in Abbildung 6 zusammengefasst.

Absolute Nervendichte-CGRP pro Sektor	Apikal	mittig	basal	Mittelwert entlang apikal-mittig-basal	%-Mittelwert entlang apikal-mittig-basal
anterior	0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/ 0
anterolateral	0,1/ 0,3	0,1/ 0	1,4/ 0,4	0,6/ 0,3	31,3/ 21,4
posterolateral	0,6/ 0,6	1,1/ 0,3	1,6/ 0,5	1,1/ 0,5	63,1/ 40,2
posterior	0/ 0,6	0/ 0,3	0,3/ 0,4	0,1/ 0,5	5,6/ 38,5
					100/ 100

Tabelle 14: Absolute Nervenzahlen der CGRP gefärbten Nerven. Die Daten sind in das Raster anterior- anterolateral- posterolateral- posterior/ apikal- mittig- basal als Mittelwerte in das jeweilige Segment eingetragen. Nerven der Größe > 200 µm wurden fett eingetragen, solche mit einer Größe von ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(CGRP= Calcitonin Gene- Related Peptide)

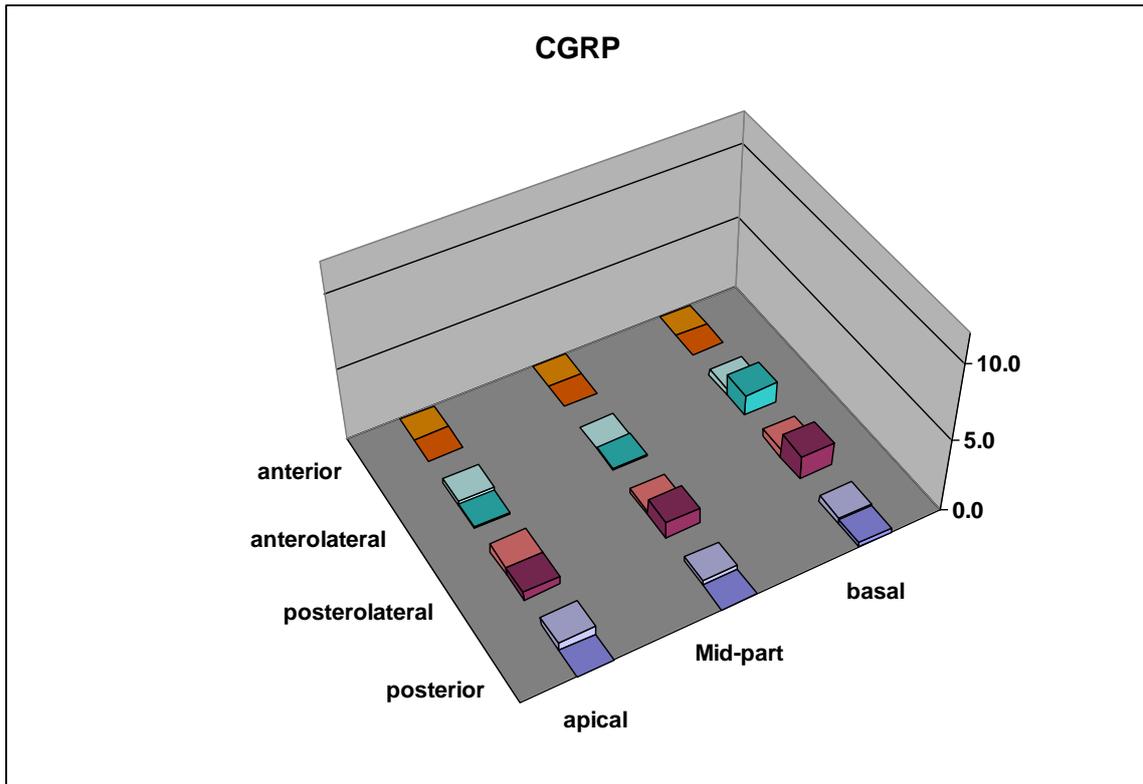


Abbildung 6: Darstellung der absoluten Nervenzahlen der CGRP gefärbten Nerven. Dunkle Balken: Nerven >200µm, helle Balken: Nerven ≤200µm. Die Daten sind in das Raster anterior- anterolateral- posterolateral- posterior/ apikal- mittig- basal eingetragen. Ordinatenachse (y-Achse rechts der Abbildung) mit Skalierung 0- 5- 10 für die absolute Nervenzahl.

(CGRP= Calcitonin Gene- Related Peptide)

Die Ergebnisse der Berechnungen entlang der longitudinalen und radialen Verteilungen sind in Tabelle 15 aufgeführt.

Anteil an CGRP	Apikal	mittig	basal
anterior	0/ 0	0/ 0	0/ 0
anterolateral	14,9/ 20,8	10,2/ 0	42,7/ 31,6
posterolateral	85,1/ 39,6	89,8/ 50	48,7/ 36,8
posterior	0/ 39,6	0/ 50	8,7/ 31,6
Angaben in %	100/ 100	100/ 100	100/ 100

Anteil an CGRP	Apikal	mittig	basal	
anterior	0/ 0	0/ 0	0/ 0	100/ 100
anterolateral	6,6/ 43,4	7,8/ 0	85,6/ 56,6	100/ 100
posterolateral	18,5/ 44,4	33,5/ 20,4	47,9/ 35,2	100/ 100
posterior	0/ 46,7	0/ 21,5	100/ 31,9	100/ 100
Angaben in %				

Tabelle 15: Darstellung der prozentualen Verteilung der CGRP gefärbten Nerven in den Abschnitten apikal, mittig und basal (oben). Die einzelnen Sektoren addieren sich pro Abschnitt zu jeweils 100%. Sowie die prozentuale Verteilung in den Sektoren anterior, anterolateral, posterolateral, posterior (unten). Die einzelnen Abschnitte addieren sich pro Sektor zu jeweils 100%. Werte aus der Kategorie > 200 µm wurden fett eingetragen, solche aus ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(CGRP= Calcitonin Gene- Related Peptide)

Die CGRP gefärbten Nerven aus der Gruppe >200µm waren im anterioren Bereich der Prostata weder im basalen noch im mittleren oder im apikalen Anteil zu finden. Im anterolateralen Bereich waren basal durchschnittlich 1,4 Nerven, mittig 0,1 und apikal ebenfalls 0,1 angefärbte Nerven lokalisiert. Posterolateral waren im basalen Anteil durchschnittlich 1,6 Nerven, mittig 1,1 und apikal 0,6 lokalisiert. Im posterioren Bereich waren im basalen Anteil 0,3 Nerven vorhanden, während sich weder im mittleren, noch im apikalen Anteil angefärbte Nerven finden ließen.

Von den CGRP gefärbten Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ ließen sich im anterioren Bereich der Prostata basal sowie mittig als auch apikal keine Nerven detektieren, die eine Färbung aufwiesen. Im anterolateralen Bereich fanden sich basal durchschnittlich 0,4 Nerven, mittig 0 und apikal 0,3 gefärbte Nerven. Posterolateral waren im basalen Anteil durchschnittlich 0,5, im mittleren 0,3 und apikal 0,6 Nerven zu finden. Im posterioren Bereich waren im basalen Anteil im Durchschnitt 0,4 Nerven, mittig 0,3 und apikal 0,6 Nerven detektierbar.

Betrachtet man die prozentuale Verteilung der angefärbten Nerven der Gruppe $>200\mu\text{m}$ im apikalen Bereich der Prostata, so lässt sich erkennen, dass im anterioren Anteil 0% der Nerven zu finden sind, anterolateral 14,9%, posterolateral sich das Maximum mit 85,1% befindet und posterior 0% der Nerven lokalisiert sind. Im mittleren Bereich nehmen die anterioren Nerven 0% des gesamten mittleren Nervenkollektivs ein, anterolateral sind es 10,2%, posterolateral befindet sich das Maximum mit 89,8% und posterior liegt der Anteil bei 0%. Im basalen Drittel des Organs stellt der anteriore Teil 0% des basalen Nervenkollektivs dar, der anterolaterale 42,7%, der posterolaterale bildet mit 48,7% den am stärksten innervierten Anteil und posterior sind 8,7% der basalen Nerven vorhanden.

Betrachtet man die prozentuale Verteilung der angefärbten Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ im apikalen Bereich der Prostata, so bildet der anteriore Anteil 0%, der anterolaterale 20,8%, und der posterolaterale bildet zusammen mit dem posterioren Teil die höchsten Konzentrationen mit jeweils 39,6%. Im mittleren Drittel des Organs stellt der anteriore Teil 0% des mittleren Nervenkollektivs dar, der anterolaterale ebenfalls 0% und der posterolaterale bildet zusammen mit dem posterioren Teil mit jeweils 50% die am stärksten innervierten Bereiche der mittig lokalisierten Nerven. Im basalen Bereich nehmen die anterioren Nerven 0% des gesamten basalen Nervenkollektivs ein, anterolateral sind es 31,6%, posterolateral befindet sich das Maximum mit 36,8% und posterior liegt der Anteil bei 31,6%.

Betrachtet man die prozentuale Verteilung der angefärbten Nerven der Gruppe $>200\mu\text{m}$ im anterioren Bereich, finden sich weder im apikalen, noch im mittleren oder im basalen Drittel angefärbte Nerven. Im anterolateralen Bereich finden sich

apikal 6,6%, mittig 7,8% und basal die meisten Nerven mit 85,6%. Posterolateral sind im apikalen Segment 18,5%, im mittleren 33,5% und basal mit 47,9% die meisten Nerven lokalisiert. Im posterioren Viertel des Organs sind weder apikal noch mittig Nerven zu finden, somit befinden sich 100% der posterior lokalisierten Nerven im basalen Segment.

Von den CGRP gefärbten Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ finden sich weder im anterioren noch im mittleren oder im basalen Anteil der Prostata angefärbte Nerven. Im anterolateralen Bereich finden sich nach prozentualer Verteilung apikal 43,4%, mittig 0% und basal die meisten Nerven mit 56,6%. Das posterolaterale Viertel weist apikal mit 44,4% den größten Anteil der Nerven auf, mittig sind 20,4% und basal 35,2% lokalisiert. Posterior stellt sich apikal der größte Anteil der Nerven in diesem Bereich mit 46,7% dar, mittig ergeben sich 21,5% und basal 31,9%.

Bei der absoluten Nervenverteilung der CGRP gefärbten Nerven lässt sich, speziell im Gegensatz zu den nNOS- und TH gefärbten Nerven, eine allgemein deutlich geringere Konzentration der Nerven erkennen. Die Maxima der Gruppe $>200\mu\text{m}$ befinden sich im basalen Drittel im anterolateralen und posterolateralen Anteil. Im posterolateralen Anteil des mittleren Drittels ist der Wert etwas geringer und nimmt in Richtung apikal weiter ab.

Einen leichten Unterschied kann man bei der Verteilung der Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ erkennen; hier finden sich, zusätzlich zu den der Gruppe $>200\mu\text{m}$ äquivalenten Maxima, im posterioren Bereich des jeweiligen Drittels ebenso hohe Nervenkonzentrationen.

3.3.2 Relative Nervenverteilungen

3.3.2.1 Relative Nervenverteilung nNOS

Das Verhältnis der nNOS gefärbten Nerven zu der mit PGP gefärbten Gesamtheit der Nerven ist in Tabelle 7 aufgeführt.

Anteil nNOS an PGP	Apikal	mittig	basal	Mittelwerte entlang apikal-mittig-basal	%-Mittelwert entlang apikal-mittig-basal
anterior	0/ 12,8	13,9/ 17,6	0/ 0	4,6/ 10,1	1,6/ 10,2
anterolateral	59/ 17,3	86,8/ 22,9	154,5/ 20,2	100,1/ 20,1	35/ 20,3
posterolateral	53,7/ 23,3	146,8/ 29,9	87,3/ 8,6	95,9/ 20,6	33,5/ 20,8
posterior	119,8/ 56,1	48,5/ 67,9	87,7/ 20,7	85,4/ 48,2	29,8/ 48,7
Angaben in %					100/ 100

Tabelle 7: Darstellung der nNOS gefärbten Nerven prozentual zu der Gesamtheit der in dem jeweiligen Segment detektierten Nerven (gefärbt mit PGP 9.5). Hierfür wurden die nötigen Daten der PGP gefärbten Nerven aus Sievert et al., 2009 herangezogen. Werte aus der Kategorie > 200 µm wurden fett eingetragene, solche aus ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(nNOS= Neuronale Stickstoffmonoxid- Synthase, PGP 9.5= Protein Gene Product 9.5)

Setzt man die absolute Zahl der angefärbten Nerven pro Sektor in das Verhältnis zu der jeweiligen Gesamtheit der Nerven, so erkennt man, dass in der Nervenkategorie >200µm im anterioren Bereich im apikalen Drittel keine der dort vorhandenen Nerven angefärbt wurden. Mittig wurden 13,9% des dort lokalisierten Nervenkollektivs angefärbt und basal sprachen ebenfalls keine Nerven auf die Färbung an. Im anterolateralen Bereich wurden im apikalen Anteil 59% der Nerven angefärbt, mittig waren es 86,8% und basal befindet sich das Maximum mit 154,5%. Posterolateral sprachen im apikalen Drittel 53,7% der Nerven auf die Färbung an, mittig befand sich der größte Anteil mit 146,8% und basal stellten sich 87,3% der Nerven in diesem Sektor angefärbt dar. Im posterioren Bereich befindet sich apikal das Maximum mit 119,8%, mittig wurden 48,5% der dort vorhandenen Nerven detektiert und basal waren es 87,7%.

Betrachtet man das Verhältnis der nNOS gefärbten Nerven der Gruppe ≤200µm zu der jeweiligen Gesamtheit des Nervenkollektivs pro Sektor, so fällt zunächst

eine homogenere Verteilung entlang der Prostataperipherie auf. Dadurch existieren in der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ keine so signifikant hervorgehobenen Maxima wie in der Kategorie $>200\mu\text{m}$, in der sich die Verteilung der Nerven inhomogener darstellt. Im anterioren Bereich des apikalen Drittels wurden 12,8% der dort vorhandenen Nerven angefärbt. Mittig waren es 17,6% und basal sprachen keine Nerven auf die nNOS-Färbung an. Anterolateral stellen sich im apikalen Sektor 17,3% der dort vorhandenen Nerven angefärbt dar, mittig befinden sich 22,9% gefärbte Nerven und basal weisen 20,2% der Nerven in diesem Sektor eine Färbung auf. Im posterolateralen Bereich wurden 23,3% der apikalen Nerven angefärbt, mittig befindet sich das Maximum mit 29,9% und basal wurden 8,6% der Nerven angefärbt. Posterior sind im apikalen Sektor 56,1% der Nerven gefärbt, mittig befindet sich der größte Anteil der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ an der Gesamtheit der Nerven mit 67,9% und basal weisen 20,7% der Nerven in diesem Sektor eine Färbung auf.

Bei den relativen Nervenverteilungen der nNOS gefärbten Nerven fallen in der Gruppe $>200\mu\text{m}$ besonders drei Sektoren dadurch auf, dass der dortige Anteil der gefärbten Nerven an der Gesamtheit des jeweiligen Nervenkollektivs ungefähr doppelt so hoch ist wie in den angrenzenden Sektoren. Des Weiteren liegen einzig in diesen drei Sektoren die Werte über 100% der PGP gefärbten Nerven; der posteriore Anteil des apikalen Drittels mit 119,8%, der posterolaterale Anteil des mittleren Drittels mit 146,8% und schließlich der anterolaterale Anteil des basalen Drittels mit 154,5%.

In der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ fallen zwei Sektoren dadurch auf, dass sie doppelt so hohe Anteile an der jeweiligen Gesamtheit der Nerven im Gegensatz zu den angrenzenden Sektoren darstellen; zum einen ist dies der posteriore Anteil des apikalen Drittels mit 56,1%, zum anderen der posteriore Anteil des mittleren Drittels mit 67,9%.

3.3.2.2 Relative Nervenverteilung TH

Das Verhältnis der TH gefärbten Nerven zu der mit PGP gefärbten Gesamtheit der Nerven ist in Tabelle 10 aufgeführt.

Anteil TH an PGP	apikal	mittig	basal	Mittelwerte entlang apikal-mittig-basal	%-Mittelwert entlang apikal-mittig-basal
anterior	0/ 3,2	0/ 1,7	29/ 1,5	9,7/ 2,1	2,3/ 2,3
anterolateral	89,3/ 4,9	38,9/ 17,4	300,8/ 12,8	143/ 11,7	33,3/ 12,4
posterolateral	76/ 13,6	152/ 27,4	147,1/ 15,6	125/ 18,9	29,1/ 20
posterior	45,5/ 18,1	147,1/ 119,7	263,1/ 47,7	151,9/ 61,8	35,4/ 65,4
Angaben in %					100/ 100

Tabelle 10: Darstellung der TH gefärbten Nerven prozentual zu der Gesamtheit der in dem jeweiligen Segment detektierten Nerven (gefärbt mit PGP 9.5). Hierfür wurden die nötigen Daten der PGP gefärbten Nerven aus Sievert et al., 2009 herangezogen. Werte aus der Kategorie > 200 µm wurden fett eingetragen, solche aus ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(TH= Tyrosinhydroxylase, PGP 9.5= Protein Gene Product 9.5)

Setzt man die absolute Zahl der TH angefärbten Nerven pro Sektor in das Verhältnis zu der jeweiligen Gesamtheit der Nerven, so erkennt man, dass in der Nervenkatgorie >200µm im anterioren Bereich im apikalen Drittel sowie mittig keine der dort vorhandenen Nerven angefärbt wurden, basal wurden 29% der Nerven angefärbt. Im anterolateralen Bereich wurden apikal 89,3% der Nerven dieses Sektors angefärbt, mittig 38,9% und basal befindet sich das Maximum dieser Nervenkatgorie mit einem Anteil von 300,8% angefärbter Nerven an der Gesamtheit des dort vorhandenen Nervenkollektivs. Posterolateral wurden im apikalen Anteil 76%, mittig 152% und basal 147,1% der Nerven in den jeweiligen Sektoren angefärbt. Im posterioren Bereich sind im apikalen Sektor 45,5%, mittig

147,1% der Nerven gefärbt und basal weisen 263,1% der dort vorhandenen Nerven eine Färbung auf.

Betrachtet man das Verhältnis der TH gefärbten Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ zu der jeweiligen Gesamtheit des Nervenkollektivs pro Sektor, so stellen sich im anterioren Bereich im apikalen Sektor 3,2% der dort lokalisierten Nerven angefärbt dar, mittig sind es 1,7% und basal 1,5%. Anterolateral wurden im apikalen Anteil 4,9% der Nerven angefärbt, mittig waren es 17,4% und basal 12,8%. Im Posterolateralen Bereich sprachen im apikalen Drittel 13,6% der Nerven auf die Färbung an, mittig 27,4% und basal stellen sich 15,6% der Nerven in diesem Sektor angefärbt dar. Posterior sprachen im apikalen Sektor 18,1% der dort vorhandenen Nerven auf die Färbung an, mittig befindet sich mit 119,7% mit Abstand der größte Anteil angefärbter Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ an der Gesamtheit des Nervenkollektivs im jeweiligen Sektor entlang der Prostataperipherie und basal weisen 47,7% der Nerven in diesem Sektor eine Färbung auf.

Bei den relativen Nervenverteilungen der TH gefärbten Nerven heben sich in der Gruppe $> 200\mu\text{m}$ besonders zwei Sektoren durch erhöhte Werte hervor; diese sind zum einen im posterioren Anteil des basalen Drittels mit 263,1% sowie im anterolateralen Anteil des basalen Drittels mit 300,8% zu finden.

Auffällig hierbei ist, dass die prozentualen Verteilungen im basalen Drittel verhältnismäßig hohe Werte annehmen. Des Weiteren lässt sich erkennen, dass auf die gesamte Prostata bezogen verhältnismäßig viele der vorhandenen Nerven gefärbt wurden.

In der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ sticht besonders der posteriore Anteil des mittleren Drittels hervor, der mit 119,7% als einziger eine komplette Färbung aufweist. Weiterhin fällt auf, dass bis auf den posterioren Anteil des basalen Drittels mit 47,7% alle anderen Sektoren Werte weit unter 50% aufweisen.

3.3.2.3 Relative Nervenverteilung NPY

Das Verhältnis der NPY gefärbten Nerven zu der mit PGP gefärbten Gesamtheit der Nerven ist in Tabelle 13 aufgeführt.

Anteil NPY an PGP	apikal	mittig	basal	Mittelwerte entlang apikal-mittig-basal	%-Mittelwert entlang apikal-mittig-basal
anterior	0/ 3,2	0/ 7,9	0/ 0	0/ 3,7	0/ 19,6
anterolateral	29,3/ 1,2	0/ 4,8	150,4/ 6,6	59,9/ 4,6	34/ 24,4
posterolateral	20,2/ 1,6	108,4/ 10,3	47,8/ 1,6	58,8/ 4,5	33,4/ 23,7
posterior	11,7/ 9,6	63,2/ 7,6	96,9/ 1,2	57,3/ 6,1	32,6/ 32,3
Angaben in %					100/ 100

Tabelle 13: Darstellung der NPY gefärbten Nerven prozentual zu der Gesamtheit der in dem jeweiligen Segment detektierten Nerven (gefärbt mit PGP 9.5). Hierfür wurden die nötigen Daten der PGP gefärbten Nerven aus Sievert et al., 2009 herangezogen. Werte aus der Kategorie > 200 µm wurden fett eingetragen, solche aus ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(NPY= Neuropeptid Y, PGP 9.5= Protein Gene Product 9.5)

Setzt man die absolute Zahl der NPY angefärbten Nerven pro Sektor in das Verhältnis zu der jeweiligen Gesamtheit der Nerven, so erkennt man, dass in der Nervenkatgorie >200µm im anterioren Bereich sowohl im apikalen Drittel als auch mittig sowie basal keine der dort vorhandenen Nerven angefärbt wurden. Im anterolateralen Bereich wurden im apikalen Anteil 29,3% der Nerven angefärbt, mittig wurden keine der dort vorhandenen Nerven angefärbt und basal befindet sich das Maximum mit 150,4%. Posterolateral wurden im apikalen Anteil 20,2%, mittig 108,4% und basal 47,8% der Nerven in den jeweiligen Sektoren angefärbt. Im posterioren Bereich sind im apikalen Sektor 11,7%, mittig 63,2%

der Nerven gefärbt und basal weisen 96,9% der dort vorhandenen Nerven eine Färbung auf.

Betrachtet man das Verhältnis der NPY gefärbten Nerven der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ zu der jeweiligen Gesamtheit des Nervenkollektivs pro Sektor, so fällt zunächst auf, dass die Anteile der gefärbten Nerven im Gegensatz zu der Nervenkatégorie $>200\mu\text{m}$ deutlich geringer sind. So stellen sich im anterioren Bereich im apikalen Sektor 3,2% der dort lokalisierten Nerven angefärbt dar, mittig sind es 7,9% und basal 0%. Anterolateral stellen sich im apikalen Sektor 1,2% der dort vorhandenen Nerven angefärbt dar, mittig befinden sich 4,8% gefärbte Nerven und basal weisen 6,6% der Nerven in diesem Sektor eine Färbung auf. Im posterolateralen Bereich wurden 1,6% der apikalen Nerven angefärbt, mittig befindet sich das Maximum mit 10,3% und basal wurden 1,6% der Nerven angefärbt. Posterior sind im apikalen Sektor 9,6% der Nerven gefärbt, mittig 7,6% und basal weisen 1,2% der Nerven in diesem Sektor eine Färbung auf.

Bei den relativen Nervenverteilungen der NPY gefärbten Nerven hebt sich in der Gruppe $>200\mu\text{m}$ der anterolaterale Anteil des basalen Drittels mit einem Anteil von 150,4% gefärbter Nerven besonders hervor. Zwei weitere Sektoren mit einem hohen Anteil NPY gefärbter Nerven sind der posterolaterale Teil des mittleren Drittels mit 108,4% sowie der posteriore Teil des basalen Drittels mit 96,9%.

In der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ nahmen deutlich weniger Nerven eine Färbung an. Die höchsten Werte finden sich im posterolateralen Teil des mittleren Drittels mit 10,3% und im posterioren Teil des apikalen Drittels mit 9,6% gefärbter Nerven.

3.3.2.4 Relative Nervenverteilung CGRP

Das Verhältnis der CGRP gefärbten Nerven zu der mit PGP gefärbten Gesamtheit der Nerven ist in Tabelle 16 aufgeführt.

Anteil CGRP an PGP	apikal	mittig	basal	Mittelwerte entlang apikal-mittig-basal	%-Mittelwert entlang apikal-mittig-basal
anterior	0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/ 0	0/ 0
anterolateral	14,7/ 3,7	9/ 0	53,8/ 1,7	25,8/ 1,8	41,7/ 23,4
posterolateral	11,3/ 1,6	22,7/ 0,8	30/ 0,7	21,3/ 1	34,4/ 13,6
posterior	0/ 5,4	0/ 5,1	44,6/ 3,9	14,9/ 4,8	24/ 63
Angaben in %					100/ 100

Tabelle 16: Darstellung der CGRP gefärbten Nerven prozentual zu der Gesamtheit der in dem jeweiligen Segment detektierten Nerven (gefärbt mit PGP 9.5). Hierfür wurden die nötigen Daten der PGP gefärbten Nerven aus Sievert et al., 2009 herangezogen. Werte aus der Kategorie > 200 µm wurden fett eingetragen, solche aus ≤ 200 µm in normaler Schrift.

(CGRP= Calcitonin Gene- Related Peptide, PGP 9.5= Protein Gene Product 9.5)

Setzt man die absolute Zahl der CGRP gefärbten Nerven pro Sektor in das Verhältnis zu der jeweiligen Gesamtheit der Nerven, so erkennt man, dass in der Nervenkatgorie >200µm im anterioren Bereich sowohl im apikalen Drittel als auch mittig sowie basal keine von den dort vorhandenen Nerven angefärbt wurden. Im anterolateralen Bereich wurden apikal 14,7% der Nerven dieses Sektors angefärbt, mittig 9% und basal befindet sich das Maximum dieser Nervenkatgorie mit einem Anteil von 53,8% angefärbter Nerven an der Gesamtheit des dort vorhandenen Nervenkollektivs. Im Posteriolateralen Bereich sprachen im apikalen Drittel 11,3% der Nerven auf die Färbung an, mittig 22,7% und basal stellen sich 30% der Nerven in diesem Sektor angefärbt dar. Posterior sprachen sowohl im apikalen, als auch im mittleren Drittel 0% der Nerven auf die Färbung an. Basal stellen sich 44,6% der Nerven in diesem Sektor angefärbt dar.

Betrachtet man das Verhältnis der CGRP gefärbten Nerven der Gruppe ≤200µm zu der jeweiligen Gesamtheit des Nervenkollektivs pro Sektor, so stellen sich im anterioren Bereich weder im apikalen Sektor noch mittig sowie basal die dort lokalisierten Nerven angefärbt dar. Im anterolateralen Bereich wurden im apikalen

Anteil 3,7% der Nerven angefärbt, mittig wurden keine der dort vorhandenen Nerven angefärbt und basal wiesen 1,7% der dort vorhandenen Nerven eine Färbung auf. Posterolateral wurden im apikalen Anteil 1,6%, mittig 0,8% und basal 0,7% der Nerven in den jeweiligen Sektoren angefärbt. Posterior befindet im apikalen Sektor mit 5,4% das Maximum der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$, mittig sind 5,1% der dort vorhandenen Nerven gefärbt und basal weisen 3,9% der Nerven in diesem Sektor eine Färbung auf.

Bei den relativen Nervenverteilungen der CGRP gefärbten Nerven heben sich in der Gruppe $>200\mu\text{m}$ besonders der anterolaterale Teil des basalen Drittels mit 53,8% sowie der posteriore Teil des basalen Drittels mit 44,6% gefärbter Nerven hervor. Des Weiteren sind der posterolaterale Teil des basalen Drittels mit 30% und der posterolaterale Teil des mittleren Drittels mit 22,7% gefärbter Nerven erwähnenswert. Die übrigen Sektoren zeigen eine deutlich geringere Affinität zu der CGRP- Färbung.

In der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ stellen sich auffallend wenig Nerven entlang der Prostata-peripherie angefärbt dar. Verhältnismäßig viele sind jedoch im posterioren Teil des apikalen Drittels mit 5,4% sowie im posterioren Teil des mittleren Drittels mit 5,1% zu finden. Darüber hinaus heben sich der posteriore Teil des basalen Drittels mit 3,9% sowie der anterolaterale Teil des apikalen Drittels mit 3,7% im Kontrast zu den übrigen Sektoren hervor.

3.4 Vergleich der absoluten mit den relativen Nervenzahlen

3.4.1 Vergleich der absoluten mit den relativen Nervenzahlen nNOS

Setzt man die absoluten mit den relativen Nervenzahlen der nNOS gefärbten Nerven der Gruppe $>200\mu\text{m}$ in Beziehung, so fallen zunächst jene Sektoren auf, bei denen die Färbung einen Anteil von über 100% aufweist. Dies beginnt mit 1,3 Nerven im posterioren Teil des apikalen Drittels, welche 119,8% der gesamten

Nerven dieses Sektors darstellen. Im posterolateralen Abschnitt des mittleren Drittels findet sich das Maximum der nNOS gefärbten Nerven mit 7,4 Nerven und somit einem Anteil von 146,8% am Gesamtkollektiv dieses Sektors. Der letzte Bereich, der vollständig angefärbt wurde, ist der anterolaterale Abschnitt des basalen Drittels. Hier wurden 4,1 Nerven detektiert, welche 154,5% der dortigen Nerven darstellen.

Darüber hinaus lassen sich zwei Sektoren erkennen, in denen zwar verhältnismäßig wenig Nerven gezählt wurden, diese aber einen relativ hohen Gesamtanteil ausmachen. Zum einen handelt es sich dabei um den anterolateralen Teil des mittleren Drittels, in dem 1,3 Nerven gefärbt wurden. Diese stellen jedoch 86,8% des dortigen Kollektivs dar. Zum anderen wurden im posterioren Teil des basalen Drittels lediglich 0,6 Nerven gefärbt, welche allerdings 87,7% der dort vorhandenen Nerven darstellen. Einen ähnlichen Anteil weist im basalen Drittel der posterolaterale Teil auf, jedoch ausgehend von einer höheren absoluten Nervenzahl. Hier wurden 4,8 Nerven angefärbt, welche 87,3% des Kollektivs in diesem Sektor darstellen.

In der Gruppe $\leq 200\mu\text{m}$ nimmt der posteriore Teil des mittleren Drittels mit lediglich 3,8 Nerven 67,9% des dortigen Nervenkollektivs ein.

3.4.2 Vergleich der absoluten mit den relativen Nervenzahlen TH

Betrachtet man die absoluten Werte der TH gefärbten Nerven der Nervenkategorie $>200\mu\text{m}$ in Bezug auf die relativen Werte, so sind zunächst jene Sektoren zu erwähnen, welche vollständig angefärbt wurden: Im posterioren Teil des mittleren Drittels wurde lediglich ein Nerv detektiert, der jedoch 147,1% des dortigen Kollektivs darstellt. Posterolateral im mittleren Drittel wurden 7,6 Nerven gefärbt, welche 152% der dortigen Nerven ergeben. Der anterolaterale Teil des basalen Drittels wies zusammen mit dem posterolateralen/ basalen Teil mit jeweils 8 Nerven die meisten Färbungen auf, welche im anterolateralen Teil 300,8% und im posterolateralen Teil 147,1% der dortigen Nerven darstellen. Ebenfalls wurden

im posterioren Teil des basalen Drittels mit 1,7 Nerven alle dortigen Nerven detektiert; es ergibt sich ein Anteil von 263,1%.

Darüber hinaus wurden im anterolateralen Teil des apikalen Drittels lediglich 0,7 Nerven gefärbt, welche jedoch 89,3% des dortigen Nervenkollektivs ergeben.

Betrachtet man die Nervenkatgorie $\leq 200\mu\text{m}$, so fällt vor allem der posteriore Teil des mittleren Drittels durch eine komplette Färbung der dort vorhandenen Nerven auf; dort wurden mit 6,8 verhältnismäßig viele Nerven detektiert, die in Bezug auf die PGP gefärbten Nerven einen Anteil von 119,7% ausmachen.

3.4.3 Vergleich der absoluten mit den relativen Nervenzahlen NPY

Setzt man die absoluten zu den relativen Nervenzahlen der NPY gefärbten Nerven der Gruppe $>200\mu\text{m}$ in Beziehung, so fällt zunächst auf, dass in den Sektoren, in denen die meisten Nerven detektiert wurden, alle Nerven auf die Färbung ansprachen. Zum einen wurden im posterolateralen Teil des mittleren Drittels 5,4 Nerven gezählt, was 108,4% der PGP gefärbten Nerven ergibt, zum anderen ließen sich im anterolateralen Teil des basalen Drittels 4 Nerven detektieren, welche 150,4% des Nervenkollektivs dieses Sektors ausmachen. Der posteriore Teil des basalen Drittels weist lediglich 0,6 NPY gefärbte Nerven auf. Dieser Wert stellt jedoch 96,9% der dort vorhandenen Nerven dar.

3.4.4 Vergleich der absoluten mit den relativen Nervenzahlen CGRP

Betrachtet man die absoluten Werte der CGRP gefärbten Nerven in Bezug auf die relativen Werte, so erkennt man, dass generell verhältnismäßig wenig Nerven angefärbt wurden und diese einen eher geringen Anteil an der Gesamtheit der jeweiligen Nervenkollektive darstellen. Der höchste Anteil ist hierbei in der

Gruppe $>200\mu\text{m}$ im anterolateralen Teil des basalen Drittels zu finden. Dort wurden 1,4 angefärbte Nerven gezählt, welche 53,8% der PGP gefärbten Nerven dieses Sektors ausmachen.

4. Diskussion

4.1 Allgemeine Bemerkungen

In der vorliegenden Arbeit wurden die Nerven entlang der Prostataperipherie in zwei verschiedenen Größen quantifiziert. Dadurch entzieht man sich einer eventuellen Fehleinschätzung der einem größeren Nerven immanenten Nervenzahl.

Durch die Einteilung der Nerven in $\leq 200\mu\text{m}$ und $>200\mu\text{m}$ können die Ergebnisse dieser Arbeit nur dann mit denen anderer Arbeiten direkt verglichen werden, wenn in diesen die gleiche Einteilung vorgenommen wurde. Da man eine Ansammlung von kleinen Nerven auch als einen großen Nerv interpretieren kann, herrscht bei der Auswertung ein gewisser Ermessensspielraum. Daher ist ein Vergleich der Werte untereinander lediglich innerhalb der vorliegenden Arbeit zulässig. Dennoch bleibt die Aussage am Ende unmissverständlich, unabhängig von der Metrik, und kann z.B. durch eine prozentuale Verteilung mit den Ergebnissen anderer Publikationen in Beziehung gesetzt werden.

4.2 Das Verständnis der periprostatistischen Nervenverteilung

In klassischer Weise werden die für die Potenz und Kontinenz relevanten, periprostatistischen Nerven in der posterolateralen Region der Prostata vermutet. Dort stellen sie sich in Form der neurovaskulären Bündel nach Walsh dar [Walsh & Donker, 1982]. Sie sind dort mit prostatistischen Gefäßen vergesellschaftet, die bei einer radikalen Prostatektomie dem Chirurgen einen Anhaltspunkt über die Lokalisation der neurovaskulären Bündel geben können, da die Nerven mit dem bloßen Auge schwer zu erkennen sind [Raychaudhuri & Cahill, 2008].

Laut aktuellerer Studien findet nicht in allen Fällen eine Anordnung in Form eines neurovaskulären Bündels statt; Myers berichtet über eine fächerartige Verteilung der Bündel- Komponenten im posterolateralen Bereich der Prostata [Myers, 2001]. Raychaudhuri und Cahill kommen in ihrer Arbeit „Pelvic fasciae in urology“ zu dem Ergebnis, dass eine signifikante Anzahl der Nerven abseits der neuronalen Hauptlokalisierung im posterolateralen Bereich liegt [Raychaudhuri & Cahill, 2008]. Kiyoshima et al. fanden heraus, dass bei einer lateralen Verbindung des fibromuskulären Stromas und der lateralen pelvinen Faszie sich das neurovaskuläre Bündel in typischer Weise im posterolateralen Bereich der Prostata darstellt [Kiyoshima et al., 2004]. Ist die Verbindung dieser beiden Strukturen jedoch nicht gegeben, lässt sich das Bündel schlecht lokalisieren und seine Anordnung ist eher als diffus zu bezeichnen.

Laut Takenaka et al. führt das neurovaskuläre Bündel lediglich eine geringe Anzahl an Ästen der *Nn. splanchnici pelvici*. Diese erreichen die Prostata ca. 20mm unterhalb der Blasen- Prostata- Verbindung und scheinen daher eher abseits des neurovaskulären Bündels lokalisiert zu sein [Takenaka et al., 2004].

All diese Studien könnten erklären, warum bei den Versuchen, die Potenz zu erhalten, das Ergebnis noch immer ungewiss bleibt.

Sievert et al. untersuchten daher die Verteilung aller Nerven in der Prostata- peripherie, indem diese mit PGP 9,5 eingefärbt und dokumentiert wurden. Es zeigte sich, dass die Ansammlung der posterolateralen Nerven durch eine hohe Dichte an Nerven im anterolateralen und anterioren Mittelteil der Prostata sowie an der posterioren Oberfläche des Apex ergänzt wurde. Somit war ein Nervenverlauf zu vermuten, der sich von der Basis der Prostata zum Mittelteil hin ausweitet und sich schließlich im posterolateralen und posterioren Bereich des Apex verjüngt [Sievert et al., 2008].

Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurden in der vorliegenden Arbeit die Präparate derselben Patienten im Hinblick auf die verschiedenen Nervenqualitäten gefärbt und dokumentiert.

4.3 Die Verteilung der unterschiedlich markierten Nerven entlang der Prostata

Die hier verwendeten Abbildungen stellen den prozentualen Anteil der unterschiedlich gefärbten Nerven an der Gesamtheit des dort detektierten Nervenkollektivs aus der Studie Sievert et al. (2009) dar [Sievert et al., 2009].

4.3.1 Die Verteilung der nNOS gefärbten Nerven entlang der Prostata

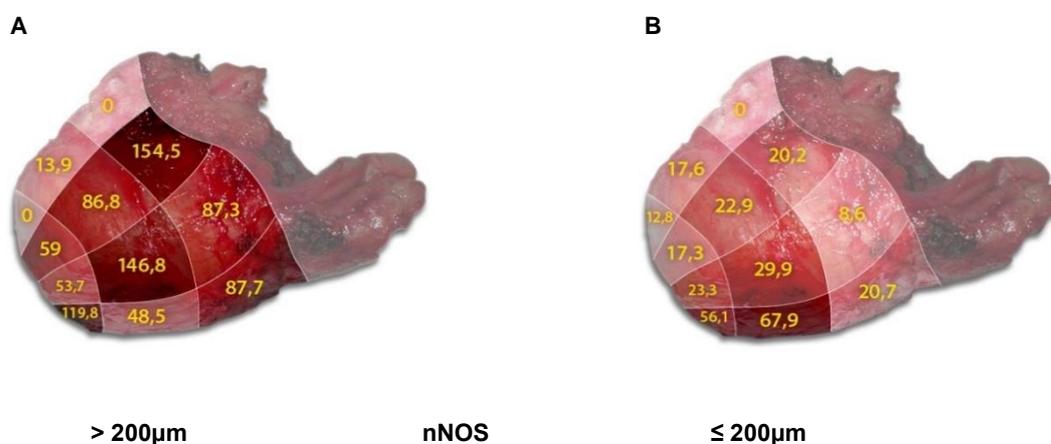


Abbildung 7 AB: Grafische Darstellung des prozentualen Verhältnisses der nNOS gefärbten Nerven zu der mit PGP 9.5 gefärbten Gesamtheit der in den entsprechenden Sektoren vorhandenen Nerven aus Sievert et al., 2009. Die Höhe der Werte findet ihre Entsprechung in der Farbintensität des jeweiligen Sektors. **A:** Nerven der Kategorie > 200µm, **B:** Nerven der Kategorie ≤ 200µm.

(nNOS= Neuronale Stickstoffmonoxid- Synthase, PGP 9.5= Protein Gene Product 9.5)

In Abbildung 7-A lässt sich erkennen, dass die prozentuale Verteilung der nNOS gefärbten Nerven >200µm entlang der Prostata relativ großflächig erfolgt; am

auffälligsten ist hierbei jedoch der Verlauf vom anterolateralen Segment des basalen Drittels über das posterolaterale Segment des mittleren Drittels hin zum posterioren Segment des apikalen Drittels. Dieser Strang nimmt in seiner Intensität von der Basis über die Mitte bis zum Apex hin leicht ab. In seiner Umgebung lässt sich ebenfalls eine sehr ausgeprägte Verteilung erkennen. Sie erstreckt sich vornehmlich im posterioren und posterolateralen Bereich des basalen Drittels sowie im anterolateralen Bereich des mittleren Drittels. Jedoch ist die gesamte Zahl der Nerven im posterioren Bereich der Basis verhältnismäßig gering.

In Richtung apikal nehmen die Ausläufer entsprechend der Verteilung des Hauptstranges etwas ab; sie befinden sich im posterioren Bereich der Mitte sowie im anterolateralen und posterolateralen Bereich des Apex. Auch posterior der Mitte sowie anterolateral des Apex befindet sich eine sehr geringe Gesamtnervenzahl.

Die nNOS gefärbten Nerven weisen im Hinblick auf die absolute Nervenverteilung sowohl im posterolateralen Bereich von Apex, Mitte und Basis als auch im anterolateralen Bereich der Basis ihre Hauptverteilung auf. Als Ausläufer wären hier die Bereiche anterolateral der Mitte und posterior des Apex zu nennen (Tabelle 5).

Die gefärbten Nerven der Größe $\leq 200\mu\text{m}$ (Abbildung 7-B) sind prozentual hauptsächlich in der posterioren Region des apikalen und des mittleren Drittels der Prostata lokalisiert und decken weniger stark die Hauptbereiche der größeren Nerven ab. In absoluten Zahlen korreliert die Färberate jedoch mit der für die Nerven $>200\mu\text{m}$ in den jeweiligen Sektoren (Tabelle 5).

Im Gegensatz zu diesen Verteilungen ließen sich bei Hisasue et al. (2010) die Hauptanteile der nNOS gefärbten Nerven im posterolateralen Bereich der Basis und deutlich weniger anterolateral detektieren. Im mittleren Drittel zeigte sich der Hauptanteil ebenfalls im posterolateralen Bereich. Die Verteilung anterolateral und auch anterior war deutlich geringer als in der vorliegenden Arbeit. Am Apex schließlich zeigten sich weit weniger Nerven im anterolateralen, am auffälligsten aber im posterioren Segment gefärbt. Der Hauptanteil lag hier posterolateral [Hisasue et al., 2010]. Demnach liegt der evidenteste Unterschied der vorliegenden Daten im Hinblick auf die absoluten Nervenverteilungen (Tabelle 5, Abbildung 3)

zu denen aus Hisasue et al. (2010) in einer deutlich weiter Richtung anterior gelegenen Verteilung der nNOS gefärbten Nerven, insbesondere anterolateral der Basis.

Die Darstellung dieser nNOS positiven Verläufe ist im Hinblick auf den Erhalt der Potenz von entscheidendem Interesse. Hisasue et al. (2007) fanden beispielsweise heraus, dass nNOS in den Erhalt und die Wiederherstellung der erektilen Funktion eingebunden ist [Hisasue et al., 2007]. Andere Studien zeigten, dass es nach dem Sezieren der *Nn. cavernosi* in den *Corpora cavernosa* zu einer Reduktion von nNOS und durch das Absterben der glatten Muskulatur zu einer irreversiblen erektilen Dysfunktion kommt [El Sakka et al., 1998], [User et al., 2003]. Daher scheint die Gewährleistung eines durchgängigen Nervenstranges insbesondere nNOS positiver Nerven eine Notwendigkeit für den Potenserhalt zu sein.

Bereits bei Sievert et al. (2008) und bei Eichelberg et al. (2005) wurden anterior des klassischen neurovaskulären Bündels Nervenlokalisationen dokumentiert [Sievert et al., 2008], [Eicheldberg et al., 2005]. Vergleicht man diese Ergebnisse mit den Erhebungen der vorliegenden Arbeit (Abbildung 3, Abbildung 7 AB), so stellen die nNOS gefärbten Nerven vor allem anterolateral der Basis sowie im mittleren Drittel auch anterior ein immunhistochemisches Korrelat zu einem für den Erhalt der Potenz notwendigen, durchgängigen Nervenverlauf dar.

4.3.2 Die Verteilung der TH und NPY gefärbten Nerven entlang der Prostata

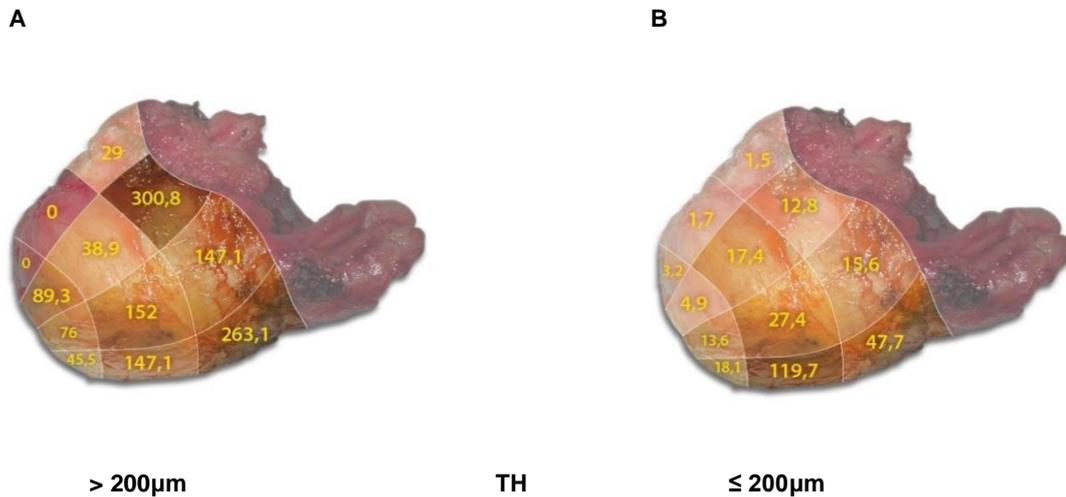


Abbildung 8 AB: Grafische Darstellung des prozentualen Verhältnisses der TH gefärbten Nerven zu der mit PGP 9.5 gefärbten Gesamtheit der in den entsprechenden Sektoren vorhandenen Nerven aus Sievert et al., 2009. Die Höhe der Werte findet ihre Entsprechung in der Farbintensität des jeweiligen Sektors. **A:** Nerven der Kategorie > 200µm, **B:** Nerven der Kategorie ≤ 200µm. (TH= Tyrosinhydroxylase, PGP 9.5= Protein Gene Product 9.5)

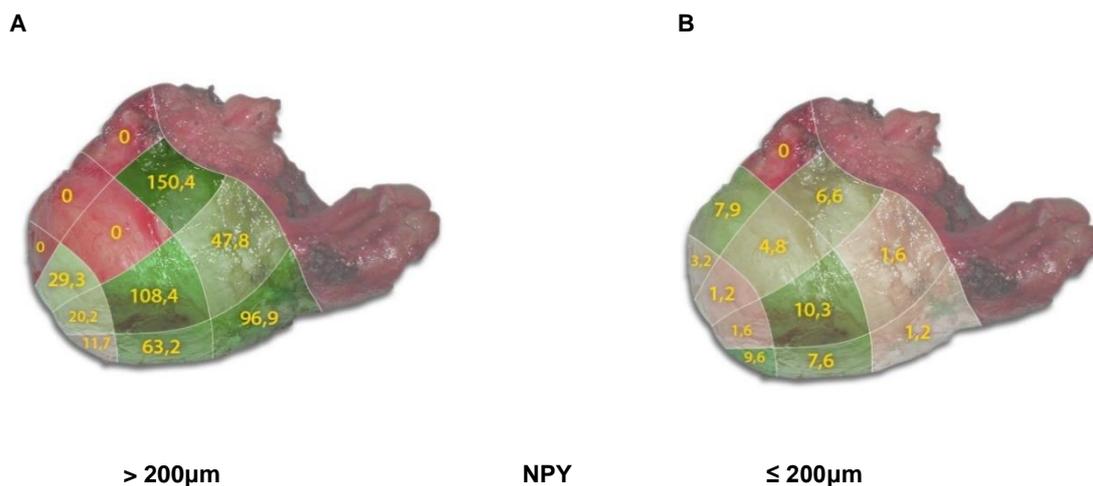


Abbildung 9 AB: Grafische Darstellung des prozentualen Verhältnisses der NPY gefärbten Nerven zu der mit PGP 9.5 gefärbten Gesamtheit der in den entsprechenden Sektoren vorhandenen Nerven aus Sievert et al., 2009. Die Höhe der Werte findet ihre Entsprechung in der Farbintensität des jeweiligen Sektors. **A:** Nerven der Kategorie > 200µm, **B:** Nerven der Kategorie ≤ 200µm. (NPY= Neuropeptid Y, PGP 9.5= Protein Gene Product 9.5)

In Abbildung 8-A treten die TH gefärbten Nerven der Größe $> 200\mu\text{m}$ überwiegend im anterolateralen, im posterolateralen und im posterioren Bereich des basalen Drittels hervor sowie im posterolateralen Bereich des mittleren Drittels. Auch der posteriore Bereich des mittleren Drittels weist eine hohe Färberate auf, zählt allerdings lediglich einen Nerv.

Die Hauptverteilung der TH gefärbten Nerven stellt sich im Hinblick auf die absolute Nervenverteilung sowohl im posterolateralen Bereich von Apex, Mitte und Basis als auch im anterolateralen Bereich der Basis dar (Tabelle 8).

Der größte Anteil von TH gefärbten Nerven $\leq 200\mu\text{m}$ an der Gesamtheit der detektierten Nerven (Abbildung 8-B) findet sich hauptsächlich im posterioren Bereich des mittleren Drittels mit Ausläufern in den posterioren Bereich des basalen Drittels sowie sehr viel schwächer in dem posterolateralen Bereich des mittleren Drittels. Zusätzlich zu der primären Verteilung der absoluten Nerven in den posterolateralen Bereichen von Apex, Mitte und Basis lässt sich für die Kategorie $\leq 200\mu\text{m}$ in den posterioren Bereichen von Mitte und Basis sowie deutlich schwächer im anterolateralen Bereich der Basis ein verhältnismäßig ausgeprägter Nervenverlauf erkennen (Tabelle 8).

Die NPY gefärbten Nerven der Größe $> 200\mu\text{m}$ stellen ihren Hauptanteil an der PGP 9.5 gefärbten Verteilung im posterolateralen Bereich des mittleren Drittels sowie im anterolateralen Bereich des basalen Drittels dar (Abbildung 9-A). Auch die posterioren Bereiche von Mitte und Basis weisen eine hohe Färberate auf, sind aber aufgrund der sehr geringen Gesamtzahl der Nerven in diesen Bereichen vermutlich nicht weiter relevant.

Die NPY gefärbten Nerven der Größe $\leq 200\mu\text{m}$ (Abbildung 9-B) stellen keinen nennenswerten Anteil an der Nervenverteilung dar. Doch auch hier kann man ein Maximum im posterolateralen Bereich der Mitte und etwas weniger anterolateral und posterolateral im basalen Drittel erkennen.

4.3.3 Die Verteilung der CGRP gefärbten Nerven entlang der Prostata

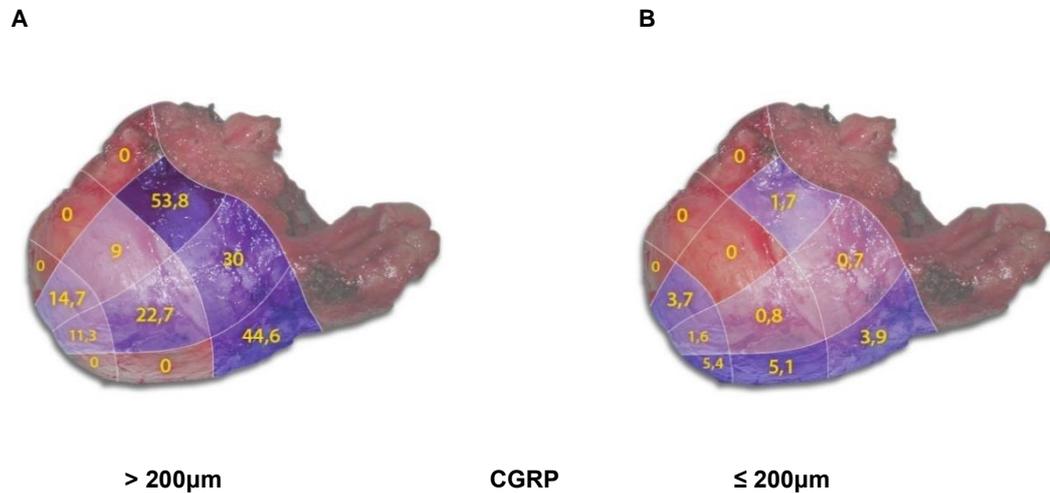


Abbildung 10 AB: Grafische Darstellung des prozentualen Verhältnisses der CGRP gefärbten Nerven zu der mit PGP 9.5 gefärbten Gesamtheit der in den entsprechenden Sektoren vorhandenen Nerven aus Sievert et al., 2009. Die Höhe der Werte findet ihre Entsprechung in der Farbintensität des jeweiligen Sektors. **A:** Nerven der Kategorie > 200µm, **B:** Nerven der Kategorie ≤ 200µm.

(CGRP= Calcitonin Gene- Related Peptide, PGP 9.5= Protein Gene Product 9.5)

Der Anteil der CGRP gefärbten Nerven an der Gesamtnervenverteilung ist deutlich geringer als der der TH-, NPY- und der nNOS gefärbten Nerven. Doch auch hier lassen sich Parallelen zu den Verteilungen der anders markierten Nerven erkennen. Die Hauptlokalisierung der Nerven > 200µm (Abbildung 10-A) befindet sich im anterolateralen- und etwas reduziert im posterioren Bereich des basalen Drittels. Die Ausläufer nehmen in ihrer Intensität vom posterolateralen Bereich der Basis zur Mitte hin ab.

Die Daten der CGRP gefärbten Nerven ähneln in gewisser Weise denen der TH gefärbten Nerven; die Hauptanteile der Nerven > 200µm liegen im anterolateralen und im posterioren Bereich der Basis mit Ausläufern im posterolateralen Bereich der Basis und der Mitte.

Die Nerven $\leq 200\mu\text{m}$ verlaufen hauptsächlich im posterioren Bereich des apikalen und des mittleren Drittels mit einem Ausläufer im posterioren Bereich der Basis und einem ebenso hohen Wert im anterolateralen Bereich des Apex. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass in keinem Bereich ein höherer Wert als 0,6 erreicht wurde (Tabelle 14).

4.4 Schlussfolgerung

Wie aus der Studie von Sievert et al. von 2009 hervorgeht, erstreckt sich die Mehrzahl der periprostatistischen Nerven im posterolateralen Bereich des Organs. Dieser Verlauf ist deckungsgleich mit der Beschreibung des neurovaskulären Bündels seit Walsh und Donker 1982 [Walsh & Donker, 1982]. Darüber hinaus wurden bei Sievert et al. 2009 und auch bei Eichelberg et al. 2005 anterior des klassischen Bündels eine nicht unwesentliche Nervenzahl im anterolateralen Bereich der Mitte und der Basis sowie im posterioren Bereich des Apex ermittelt [Sievert et al., 2009], [Eichelberg et al. 2005]. Für die oben genannten Studien wurde allerdings die bloße Anzahl der Nerven untersucht. Entscheidend ist daher die Frage, ob diese Nerven zur erektilen Funktion beitragen und folglich geschont werden müssen [Eichelberg et al., 2007]. Bringt man diese Ergebnisse mit den qualitätsspezifischen Färbungen der vorliegenden Arbeit zur Deckung, so lässt sich zunächst erkennen, dass die größte Anzahl gefärbter Nerven sich in der Tat in diesem Bereich befindet und dass sich hauptsächlich die Nerven der Größe $> 200\ \mu\text{m}$ anfärben ließen. Der größte Teil der Nerven mit der Größe $\leq 200\mu\text{m}$ blieb ungefärbt.

Für die nNOS gefärbten Nerven lässt sich aus Abbildung 7 A, B und aus Tabelle 5 ein Verlauf vermuten, der von hauptsächlich anterolateral und posterolateral der Basis und posterolateral der Mitte über den posterolateralen und posterioren Teil des Apex das Organ in Richtung Penis verlässt und möglicherweise auf den Ursprung der *Nn. cavernosi penis* schließen lässt, da man nNOS als Indiz für parasymphatische Nerven verstehen kann [Nakaya et al., 2007]. Darüber hinaus

ist laut Hisasue et al. (2007) nNOS sowohl in den Erhalt, als auch in die Wiederherstellung der erektilen Funktion eingebunden [Hisasue et al., 2007]. Dieser Bereich wäre demnach für die Gewährleistung der Erektion von entscheidender Bedeutung.

Dieser Verlauf kann in ähnlicher Weise für die mit TH und NPY gefärbten Nerven angenommen werden, hier jedoch ohne den posterioren Bereich des Apex. Zusätzlich stellen sich für TH die posterioren Bereiche von Mitte und Basis als Ausläufer dar. Diese Nerven können möglicherweise mit sympathischer Qualität in Verbindung gebracht werden [Clausen et al., 2008], [Kelm Junior et al., 2008], [De Fontgalland et al., 2008].

Da CGRP laut Silva et al., Sequeira et al. und Danielson et al. eine sensorische Qualität der Nerven vermuten lässt und diese hier kaum über den mittleren Bereich der Prostata hinausgehen, könnte dies eher auf vegetative Afferenzen der glatten Prostatamuskulatur oder auf Afferenzen aus der Peripherie der Prostata hindeuten und würde somit, im Hinblick auf die sensorische Innervation des Penis, die Zuständigkeit des *N. dorsalis penis* beziehungsweise des *N. pudendus* unterstreichen [Silva et al., 2008], [Sequeira et al., 2005], [Danielson et al., 2006].

Generell zeigen die vorliegenden Daten eine Abnahme der Zahl gefärbter Nerven für alle vier Marker in Richtung Apex. Ob dies auf eine Innervation des Organs oder sogar auf einen weiteren Verlauf in der Peripherie hindeutet, lässt sich nicht mit Sicherheit sagen.

Betrachtet man das prozentuale Verhältnis der gefärbten Nerven zu der Gesamtheit der Nerven, so stellt sich das anterolaterale Segment im basalen Drittel als erwähnenswert heraus; dort lässt sich für die Marker nNOS, TH und NPY eine Färbung aller Nerven der Größe > 200 µm erkennen, was in der vorliegenden Arbeit mit Werten von deutlich über 100% sogar auf eine Gesamtnervenzahl hindeuten könnte, die höher ist als bisher in diesem Bereich vermutet. Ebenso wird dort für den Marker CGRP dessen höchster Wert mit 53,8% erreicht (siehe Abbildung 7, 8, 9, 10; A/B). Somit ist dieser Bereich zwar abseits des bisher vermuteten Verlaufs des neurovaskulären Bündels, jedoch scheint er im Hinblick auf

für Potenz und Kontinenz relevante Nerven eine nicht unwesentliche Rolle zu spielen.

Betrachtet man weiterhin die Zahl der dort gefärbten Nerven, so ist diese für NPY vergleichbar mit dem posterolateralen Bereich der Mitte und sogar deutlich höher als im posterolateralen Bereich des Apex (Abbildung 9 A). Für nNOS ist der Wert ähnlich dem im posterolateralen Bereich des Apex. Zusätzlich stellt sich im posterioren Bereich des Apex zwar eine relativ geringe Nervenzahl dar, diese weist jedoch in jedem Fall eine nNOS Färbung auf und ist numerisch mit dem anterolateralen Segment im mittleren Drittel vergleichbar (Abbildung 7 A).

All das könnte für eine flächigere Verteilung des posterolateralen Nervenverlaufes sprechen, wie es bereits bei Myers beschrieben wurde [Myers, 2001]. Auch ein Fehlen der lateralen Verbindung zum fibromuskulären Stroma spricht laut Kiyoshima et al. für eine eher diffuse Verteilung des neurovaskulären Bündels und deutet auf individuelle Unterschiede hin [Kiyoshima et al., 2004].

Für die operative Technik der radikalen Prostatektomie können diese Ergebnisse dahingehend interpretiert werden, dass die sich über den posterolateralen Verlauf des neurovaskulären Bündels hinaus erstreckenden flächigen Ausläufer von Nervenlokalisationen in Richtung anterior auch als potentiell erektil und für die Kontinenz relevant anzusehen sind. Damit ergeben sich weitere, nunmehr auch funktionell relevante Argumente für deren Schonung im Rahmen einer radikalen Prostatektomie.

Für weiterführende Datenerhebungen wäre eine höhere Auflösung durch eine deutlich feinere Rastereinteilung sinnvoll, welche präzisere Darstellungen individueller Nervenverläufe erlauben könnte.

5. Zusammenfassung

Da postoperative Komplikationen wie erektile Dysfunktion und Inkontinenz mit Entfernen des periprostatischen Nervengewebes im Zuge der radikalen Prostatektomie korrelieren, ist es notwendig, die neuroanatomischen Verhältnisse der Prostataperipherie näher zu evaluieren. Insbesondere in Bezug auf die Nervenqualitäten, die in Verbindung mit Potenz und Kontinenz stehen, kann ein besseres Verständnis der anatomischen Gegebenheiten dazu beitragen, die Operationstechniken zu optimieren.

Vor diesem Hintergrund wurden in der vorliegenden Arbeit Präparate aus radikal prostatektomierten Prostaten von neun Patienten verwendet, deren periprostatistische Nerven immunhistochemisch mit den Markern neuronale Stickoxid-Synthase (nNOS), Tyrosin-Hydroxylase (TH), Neuropeptid Y (NPY), Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) gefärbt wurden und somit eine qualitätsspezifische Aussage erlauben. Anschließend wurde mikroskopisch die Lokalisation der verschiedenen Nervenqualitäten und deren Verteilung über die Prostataoberfläche ermittelt sowie numerisch eingeteilt in Segmente anterior, anterolateral, posterolateral, posterior und apikal, mittig, basal dargestellt.

Es ergab sich für die nNOS gefärbten Nerven eine relativ großflächige Verteilung entlang der Prostata, wobei sich der Hauptanteil vom anterolateralen Segment des basalen Drittels über das posterolaterale Segment des mittleren Drittels bis hin zum posterioren Segment des apikalen Drittels erstreckte. Numerisch sind die angefärbten Nerven der posterolateralen Bereiche von Apex und Basis ebenfalls stark in Erscheinung getreten. Für die TH und NPY gefärbten Nerven ergaben sich klare Hauptanteile im anterolateralen und im posterioren Bereich des basalen Drittels. Auch die posterolateralen und posterioren Bereiche des mittleren Drittels enthielten hohe Zahlen dieser Nervenqualität. Nerven mit TH Färbung ließen sich zusätzlich im posterolateralen Bereich des basalen Drittels vermehrt

detektieren. CGRP Färbungen ließen sich hauptsächlich im basalen Drittel feststellen, jedoch nicht im anterioren Bereich. Generell zeigte CGRP im Vergleich zu den anderen Markern die geringste Rate.

Die Daten der vorliegenden Arbeit unterstreichen einerseits den posterolateralen Verlauf des neurovaskulären Bündels und kennzeichnen als ihr wesentlicher Wissenszugewinn die seit kurzem bekannten flächigen Ausläufer von Nervenlokalisationen in Richtung anterior auch als potentiell erektil und für die Kontinenz relevant. Damit ergeben sich weitere, nunmehr auch funktionell relevante Argumente für deren Schonung im Rahmen einer radikalen Prostatektomie.

6. Literaturverzeichnis

Adolfsson, J.; Steineck, G.; Hedlund, P.O. (1999): Deferred treatment of locally advanced nonmetastatic prostate cancer: a long-term followup. *J Urol.* Feb; 161 (2): 505-8

Akita, K.; Sakamoto, H.; Sato, T. (2003): Origins and courses of the nervous branches to the male urethral sphincter. *Surg Radiol Anat.* Nov-Dec; 25 (5-6): 387-92

Ayala, A. G.; Ro, J. Y.; Babaian, R.; Troncoso, P.; Grignon, D. J. (1989): The prostatic capsule: does it exist? Its importance in the staging and treatment of prostatic carcinoma. *Am J Surg Pathol* Jan; 13 (1): 21-7

Berger, I.; Bohmer, F.; Ponholzer, A.; Madersbacher, S. (2009): Prostate cancer in senior adults: over- or undertreated? *Wien Med Wochenschr.*; 159 (21-22): 521-8

Binder, J.; Kramer, W. (2001): Robotically-assisted laparoscopic radical prostatectomy. *BJU Int.* Mar; 87 (4): 408-10

Böhm, M.; Hallek, M.; Schmiegel, W. (2009): *Innere Medizin.* Urban u. Fischer: 438

Brain, S.D.; Williams, T.J.; Tippins, J.R.; Morris, H.R.; MacIntyre, I. (1985): Calcitonin gene-related peptide is a potent vasodilator. *Nature.* Jan 3-9; 313 (5997): 54-6

Burnett, A. L.; Tillman, S. L.; Chang, T. S.; Epstein, J. I.; Lowenstein, C. J.; Bredt, D. S.; Snyder, S. H.; Walsh, P. C. (1993): Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the autonomic innervation of the human penis. *J Urol* Jul; 150 (1): 73-6

Burnett, A. L. (1995): Role of nitric oxide in the physiology of erection. *Biol Reprod* Mar; 52 (3): 485-9

Bush, P.A.; Aronson, W.J.; Buga, G.M.; Rajfer, J.; Ignarro, L.J. (1992): Nitric oxide is a potent relaxant of human and rabbit corpus cavernosum. *J Urol.* Jun; 147 (6): 1650-5

Chauhan, S.; Coelho, R. F.; Rocco, B.; Palmer, K. J.; Orvieto, M. A.; Patel, V. P. (2010): Techniques of Nerve-Sparing and Potency Outcomes Following Robot-Assisted Laparoscopic Prostatectomy. *Int Braz J Urol.* May-Jun; 36 (3): 259-72

Clausen, N.; Wolloscheck, T.; Konerding, M. A. (2008): How to optimize autonomic nerve preservation in total mesorectal excision: clinical topography and morphology of pelvic nerves and fasciae. *World J Surg* Aug; 32 (8): 1768-75

Cridland, R. A.; Henry, J. L. (1988): Effects of intrathecal administration of neuropeptides on a spinal nociceptive reflex in the rat: VIP, galanin, CGRP, TRH, somatostatin and angiotensin II. *Neuropeptides* Jan; 11 (1): 23-32

Crook, J. M.; Bahadur, Y. A.; Robertson, S. J.; Perry, G. A.; Esche, B. A. (1997): Evaluation of radiation effect, tumor differentiation, and prostate specific antigen staining in sequential prostate biopsies after external beam radiotherapy for patients with prostate carcinoma. *Cancer* Jan; 79 (1): 81-9

Danielson, P.; Alfredson, H.; Forsgren, S. (2006): Distribution of general (PGP 9.5) and sensory (substance P/CGRP) innervations in the human patellar tendon. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* Feb; 14 (2): 125-32

De Fontgalland, D.; Wattchow, D. A.; Costa, M.; Brookes, S. J. (2008): Immunohistochemical characterization of the innervation of human colonic mesenteric and submucosal blood vessels. *Neurogastroenterol Motil* Nov; 20 (11): 1212-26

Eichelberg, C.; Erbersdobler, A.; Michl, U.; Graefen, M.; Hartwig, H. (2005): Nerve distribution along prostatic capsule. *Eur Urol Suppl*; 4(3):131

Eichelberg, C.; Erbersdobler, A.; Michl, U. (2007): Nerve distribution along the prostate capsule. *Eur Urol*; 51:105-11 (discussion 110-1).

Eichenauer, R.; Sandmann, J.; Vanherpe, H. (2009): *Klinikleitfaden Urologie.* Urban und Fischer; 3. Aufl.: 359-413

El-Sakka, A.I.; Hassan, M.U.; Selph, C.; Perinchery, G.; Dahiya, R.; Lue, T.F. (1998): Effect of cavernous nerve freezing on protein and gene expression of nitric oxide synthase in the rat penis and pelvic ganglia. *J Urol.* Dec;160(6 Pt 1):2245-52.

Everaert, K.; de Waard, W.I.; Van Hoof, T.; Kiekens, C.; Mulliez, T.; D'herde, C. (2010): Neuroanatomy and neurophysiology related to sexual dysfunction in male neurogenic patients with lesions to the spinal cord or peripheral nerves. *Spinal Cord.* Mar; 48 (3): 182-91

Ferlay, J.; Parkin, D.M.; Steliarova- Foucher, E. (2010): Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. *Eur J Cancer.* Mar; 46 (4): 765-81

Fritsch, H.; Kühnel, W. (2001): *Dtv- Atlas Anatomie, Band 2, 7. Auflage, 258*

Frota, R.; Turna, B.; Barros, R.; Gill, I.S. (2008): Comparison of radical prostatectomy techniques: open, laparoscopic and robotic assisted. *Int Braz J Urol.* May-Jun; 34 (3): 259-68

Ganzer, R.; Blana, A.; Gaumann, A. (2008): Topographical anatomy of periprostatic and capsular nerves: quantification and computerized planimetry. *Eur Urol;* 54:353-61

Giordano, A.; Song, C. K.; Bowers, R. R.; Ehlen, J. C.; Frontini, A.; Cinti, S.; Bartness, T. J. (2006): White adipose tissue lacks significant vagal innervation and immunohistochemical evidence of parasympathetic innervation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* Nov; 291 (5): R1243-55

Gleave, M.; Goldenberg, S. L.; Bruchofsky, N.; Rennie, P. (1998): Intermittent androgen suppression for prostate cancer: rationale and clinical experience. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* Dec; 1 (6): 289-296

Grubmüller, K.; Grubmüller, B. (2011): *Wiener Klinisches Magazin* 6

Hancock, S. L.; Cox, R. S.; Bagshaw, M. A. (1995): Prostate specific antigen after radiotherapy for prostate cancer: a reevaluation of long-term biochemical control and the kinetics of recurrence in patients treated at Stanford University. *J Urol* Oct; 154 (4): 1412-7

Hautmann, R. (2010): Urologie. Springer Verlag 4. Aufl.: 18

Heidenreich, A.; Aus, G.; Bolla, M.; Joniau, S.; Matveev, V.B.; Schmid, H.P.; Zattoni, F. (2008): European Association of Urology. EAU guidelines on prostate cancer. *Eur Urol.* Jan; 53 (1): 68-80

Hisasue, S.; Kato, R.; Kobayashi, K.; Suetomi, T.; Kiyama, H.; Tsukamoto, T. (2008): Alteration of glial cell line-derived neurotrophic factor family receptor alpha-2 mRNA expression and its co-expression with neuronal nitric oxide synthase in pelvic ganglia following unilateral cavernous nerve injury. *Int J Urol.* Jan;15(1):82-6.

Hisasue, S.; Hashimoto, K.; Kobayashi, K.; Takeuchi, M.; Kyoda, Y.; Sato, S.; Masumori, N.; Tsukamoto, T. (2010): Baseline erectile function alters the cavernous nerve quantity and distribution around the prostate. *J Urol.* Nov;184(5):2062-7.

Holmquist, F.; Hedlund, H.; Andersson, K.E. (1992): Characterization of inhibitory neurotransmission in the isolated corpus cavernosum from rabbit and man. *J Physiol.* Apr; 449: 295-311

Hora, M.; Vozeh, F. (1997): The physiology of erection, *Cas Lek Cesk.* Jun; 136 (12): 363-6

Kaiho, Y.; Nakagawa, H.; Saito, H.; Ito, A.; Ishidoya, S.; Saito, S.; Arai, Y. (2009): Nerves at the ventral prostatic capsule contribute to erectile function: initial electrophysiological assessment in humans. *Eur Urol* Jan; 55 (1): 148-54

Kaplan, I. D.; Bagshaw, M. A. (1992): Serum prostate-specific antigen after post-prostatectomy radiotherapy. *Urology* May; 39 (5): 401-6

Kaul, S.; Bhandari, A.; Hemal, A.; Savera, A.; Shrivastava, A.; Menon, M. (2005): Robotic radical prostatectomy with preservation of the prostatic fascia: a feasibility study. *Urology.* Dec; 66 (6): 1261-5

Kelm Junior, A. R.; Lancellotti, C. L.; Donadio, N.; Auge, A. P.; Lima, S. M.; Aoki, T.; Ribeiro, P. A. (2008): Nerve fibers in uterosacral ligaments of women with deep infiltrating endometriosis. *J Reprod Immunol* Oct; 79 (1): 93-9

Kim, N.; Azadzo, K.M.; Goldstein, I.; Saenz de Tejada, I. (1991): A nitric oxide-like factor mediates nonadrenergic-noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle. *J Clin Invest*. Jul; 88 (1): 112-8

Kim, N.; Vardi, Y.; Padma-Nathan, H.; Daley, J.; Goldstein, I.; Saenz de Tejada, I. (1993): Oxygen tension regulates the nitric oxide pathway. Physiological role in penile erection. *J Clin Invest* Feb; 91 (2): 437-42

Kirkeby, H. J.; Jorgensen, J. C.; Ottesen, B. (1991): Neuropeptide Y (NPY) in human penile corpus cavernosum tissue and circumflex veins--occurrence and in vitro effects, *J Urol*. Mar; 145 (3): 605-9

Kiyoshima, K.; Yokomizo, A.; Yoshida, T.; Tomita, K.; Yonemasu, H.; Nakamura, M.; Oda, Y.; Naito, S.; Hasegawa, Y. (2004): Anatomical features of periprostatic tissue and its surroundings: a histological analysis of 79 radical retropubic prostatectomy specimens. *Jpn J Clin Oncol* Aug; 34 (8): 463-8

Knispel, H.H.; Goessl, C.; Beckmann, R. (1991): Basal and acetylcholine-stimulated nitric oxide formation mediates relaxation of rabbit cavernous smooth muscle. *J Urol*. Nov; 146 (5): 1429-33

Kupelian, P. A.; Elshaikh, M.; Reddy, C. A.; Zippe, C.; Klein, E. A. (2002): Comparison of the efficacy of local therapies for localized prostate cancer in the prostate-specific antigen era: a large single-institution experience with radical prostatectomy and external-beam radiotherapy. *J Clin Oncol* Aug; 20 (16): 3376-85

Layer, G.; van Kaick, G.; Delorme, S. (2007): *Radiologische Diagnostik in der Onkologie*. Springer Verlag; Band 2: 219

Liu, A. J.; Furusato, B.; Ravindranath, L.; Chen, Y. M.; Srikantan, V.; McLeod, D. G.; Petrovics, G.; Srivastava, S. (2007): Quantitative analysis of a panel of gene expression in prostate cancer--with emphasis on NPY expression analysis. *J Zhejiang Univ Sci B* Dec; 8 (12): 853-9

Li, X. Q.; Verge, V. M.; Johnston, J. M.; Zochodne, D. W. (2004): CGRP peptide and regenerating sensory axons. *J Neuropathol Exp Neurol* Oct; 63 (10): 1092-103

Makino, M.; Inoue, S.; Matsuyama, T. A.; Ogawa, G.; Sakai, T.; Kobayashi, Y.; Katagiri, T.; Ota, H. (2006): Diverse myocardial extension and autonomic innervation on ligament of Marshall in humans. *J Cardiovasc Electrophysiol* Jun; 17 (6): 594-9

Marien, T.; Sankin, A.; Lepor, H. (2009): Factors predicting preservation of erectile function in men undergoing open radical retropubic prostatectomy. *J Urol.* Apr; 181 (4): 1817-22

Martínez-Salamanca, J.I.; Martínez-Ballesteros, C.; Portillo, L.; Gabancho, S.; Moncada, I.; Carballido, J. (2010): Physiology of erection, *Arch Esp Urol.* Oct; 63 (8): 581-8

Mas, M. (2010): Molecular mechanisms of penile erection. *Arch Esp Urol.* Oct; 63 (8): 589-98.

McNeal, J. E. (1972): The prostate and prostatic urethra: a morphologic synthesis, *J Urol.* Jun; 107(6):1008-16

McNeal, J. E. (1988): Normal anatomy of the prostate and changes in benign prostatic hypertrophy and carcinoma, *Semin Ultrasound CT MR.* Oct; 1(5): 329-34

Mearini, L.; Zucchi, A.; Costantini, E.; Bini, V.; Porena M. (2011): Intermittent Androgen Suppression in Prostate Cancer: Testosterone Levels and Its Implication. *J Sex Med.* Apr;8(4):1218-27. doi: 10.1111/j.1743-6109.2010.02169. x. Epub Jan 14

Menon, M.; Tewari, A.; Peabody, J. (2003): VIP Team. Vattikuti Institute prostatectomy: technique. *J Urol.* Jun; 169 (6): 2289-92

Mizuno, S.; Takebayashi, T.; Kirita, T.; Tanimoto, K.; Tohse, N.; Yamashita, T. (2007): The effects of the sympathetic nerves on lumbar radicular pain: a behavioural and immunohistochemical study. *J Bone Joint Surg Br* Dec; 89 (12): 1666-72

Myers, R. P. (2001): Practical surgical anatomy for radical prostatectomy. *Urol Clin North Am* Aug; 28 (3): 473-90

Nakaya, M.; Kondo, K.; Kaga, K. (2007): Immunohistochemical study of m1-m5 muscarinic receptors and nNOS in human inferior turbinate mucosa. *Acta Otolaryngol Suppl Dec*; (559): 103-7

Oefelein, M. G.; Smith, N.; Carter, M.; Dalton, D.; Schaeffer, A. (1995): The incidence of prostate cancer progression with undetectable serum prostate specific antigen in a series of 394 radical prostatectomies. *J Urol Dec*; 154 (6): 2128-31

Orimo, S.; Uchihara, T.; Nakamura, A.; Mori, F.; Kakita, A.; Wakabayashi, K.; Takahashi, H. (2008): Axonal alpha-synuclein aggregates herald centripetal degeneration of cardiac sympathetic nerve in Parkinson's disease. *Brain Mar*; 131 (3): 642-50

Paone, D. V.; Staas, D. D. (2009): Calcitonin gene-related peptide receptor antagonists for the treatment of migraine: a patent review. *Expert Opin Ther Pat Dec*; 19 (12): 1675-713

Pickard, R.S.; Powell, P.H.; Zar, M.A. (1991): The effect of inhibitors of nitric oxide biosynthesis and cyclic GMP formation on nerve-evoked relaxation of human cavernosal smooth muscle. *Br J Pharmacol. Nov*; 104 (3): 755-9

Pienta, K.J.; Redman, B.; Hussain, M.; Cummings, G.; Esper, P.S.; Appel, C.; Flaherty, L.E. (1994) Phase- II evaluation of oral estramustine and oral etoposide in hormone- refractory adenocarcinoma of the prostate. *J Clin Oncol* 12:2005- 2012

Prieto, D. (2008): Physiological regulation of penile arteries and veins. *Int J Impot Res. Jan-Feb*; 20 (1): 17-29

Rasiah, K. K.; Kench, J. G.; Gardiner-Garden, M.; Biankin, A. V.; Golovsky, D.; Brenner, P. C.; Kooner, R.; O'Neill, G. F.; Turner, J. J.; Delprado, W.; Lee, C. S.; Brown, D. A.; Breit, S. N.; Grygiel, J. J.; Horvath, L. G.; Stricker, P. D.; Sutherland, R. L.; Henshall, S. M. (2006): Aberrant neuropeptide Y and macrophage inhibitory cytokine-1 expression are early events in prostate cancer development and are associated with poor prognosis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev Apr*; 15 (4): 711-6

Raychaudhuri, B.; Cahill, D. (2008): Pelvic fasciae in urology, *Ann R Coll Surg Engl. Nov*; 90 (8): 633-7

Rohen, J. W.; Lütjen- Decroll, E. (2000): Funktionelle Histologie. Schattauer Verlag, 4. Aufl.: 363- 365

Rosenfeld, M. G.; Mermod, J. J.; Amara, S. G.; Swanson, L. W.; Sawchenko, P.E.; Rivier, J.; Vale, W. W.; Evans, R. M. (1983): Production of a novel neuropeptide encoded by the calcitonin gene via tissue-specific RNA processing. Nature Jul; 304 (5922): 129-35

Rübben, H. (2007): Verfahrensanleitungen zu den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Urologie (DGU) und der Europäischen Gesellschaft für Urologie (EAU) Prostatakarzinom: 14

Rübben, H. et al. (2007): Verfahrensanleitungen zu den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Urologie (DGU) und der Europäischen Gesellschaft für Urologie (EAU) Prostatakarzinom, 21-22

Rübben, H. (2009): Uroonkologie. Springer Verlag; 5. Aufl.: 486-487

Rübben, H. (2009): Uroonkologie. Springer Verlag; 5. Aufl.: 486-496

Rübben, H. (2009): Uroonkologie. Springer Verlag; 5. Aufl.: 501

Ruscica, M.; Dozio, E.; Boghossian, S.; Bovo, G.; Martos Riano, V.; Motta, M.; Magni, P. (2006): Activation of the Y1 receptor by neuropeptide Y regulates the growth of prostate cancer cells. Endocrinology Mar; 147 (3): 1466-73

Ruscica, M.; Dozio, E.; Motta, M.; Magni, P. (2007): Modulatory actions of neuropeptide Y on prostate cancer growth: role of MAP kinase/ERK 1/2 activation. Adv Exp Med Biol; 604: 96-100

Schlegel, P. N.; Walsh, P. C. (1987): Neuroanatomical approach to radical cystoprostatectomy with preservation of sexual function, J Urol. Dec; 138 (6): 1402-6

Schmelz, H. U.; Weidner, W.; Sparwasser, C. (2010): Facharztwissen Urologie, Springer Verlag: 340

Schuessler, W.W.; Schulam, P.G.; Clayman, R.V.; Kavoussi, L.R. (1997): Laparoscopic radical prostatectomy: initial short-term experience. *Urology*. Dec; 50 (6): 854-7

Schwalenberg, T.; Neuhaus, J.; Liatsikos, E.; Winkler, M.; Löffler, S.; Stolzenburg, J. U. (2010): Neuroanatomy of the male pelvis in respect to radical prostatectomy including three-dimensional visualization. *BJU Int*. Jan; 105 (1): 21-7

Seltzer, M. A.; Barbaric, Z.; Belldegrun, A.; Naitoh, J.; Dorey, F.; Phelps, M. E.; Gambhir, S. S.; Hoh, C. K. (1999): Comparison of helical computerized tomography, positron emission tomography and monoclonal antibody scans for evaluation of lymph node metastases in patients with prostate specific antigen relapse after treatment for localized prostate cancer. *J Urol* Oct; 192 (4): 1322-8

Sequeira, I. M.; Haberberger, R. V.; Kummer, W. (2005): Atrial and ventricular rat coronary arteries are differently supplied by noradrenergic, cholinergic and nitrenergic, but not sensory nerve fibres. *Ann Anat* Sep; 187 (4): 345-55

Shah, A.; Okotie, O.T.; Zhao, L.; Pins, M.R.; Bhalani, V.; Dalton, D.P. (2008): Pathologic outcomes during the learning curve for robotic-assisted laparoscopic radical prostatectomy. *Int Braz J Urol*. Mar-Apr; 34 (2): 159-62

Shuklin, A. V.; Shvalev, V. N. (2006): Distribution of nitric oxide synthase in human intracardiac ganglia. *Kardiologia*; 46 (8): 26-8

Sievert, K. D.; Hennenlotter, J.; Laible, I.; Amend, B.; Schilling, D.; Anastasiadis, A.; Kuehs, U.; Nagele, U.; Stenzl, A. (2008): The periprostatic autonomic nerves--bundle or layer? *Eur Urol* Nov; 54 (5): 1109-16

Sievert, K. D.; Hennenlotter, J.; Laible, I. A.; Amend, B.; Nagele, U.; Stenzl, A. (2009): The commonly performed nerve sparing total prostatectomy does not acknowledge the actual nerve courses. *J Urol* Mar; 181 (3): 1076-81

Silva, A. P.; Cavadas, C.; Grouzmann, E. (2002): Neuropeptide Y and its receptors as potential therapeutic drug targets. *Clin Chim Acta* Dec; 326 (1-2): 3-25

Silva, J.; Pinto, R.; Carvallho, T.; Coelho, A.; Avelino, A.; Dinis, P.; Cruz, F. (2008): Mechanisms of Prostate Atrophy after Glandular Botulinum Neurotoxin Type A Injection: An Experimental Study in the Rat. *Eur Urol Jul*;

Sobin L. H.; Gospodarowicz M. K.; Wittekind C. (2009): TNM Classification of Malignant Tumors. UICC; 7. Aufl.

Stenzl, A.; Studer, U. E. (1993): Outcome of patients with untreated cancer of the prostate, *Eur Urol.*; 24 (1): 1-6

Stolzenburg, J.U.; Schwalenberg, T.; Horn, L.C.; Neuhaus, J.; Constantinides, C.; Liatsikos, E.N. (2007): Anatomical landmarks of radical prostatectomy. *Eur Urol. Mar*; 51 (3): 629-39

Takenaka, A.; Murakami, G.; Soga, H.; Han, S. H.; Arai, Y.; Fujisawa, M. (2004): Anatomical analysis of the neurovascular bundle supplying penile cavernous tissue to ensure a reliable nerve graft after radical prostatectomy, *J Urol. Sep*; 172 (3): 1032-5

Tannock, I. F.; Osoba, D.; Stockler, M. R.; Ernst, D. S.; Neville, A. J.; Moore, M. J.; Armitage, G. R.; Wilson, J. J.; Venner, P. M.; Coppin, C. M.; Murphy, K. C. (1996): Chemotherapy with mitoxantrone plus prednisone or prednisone alone for symptomatic hormone-resistant prostate cancer: a Canadian randomized trial with palliative end points. *J Clin Oncol. Jun*; 14 (6): 1756- 64

User, H.M.; Hairston, J.H.; Zelner, D.J.; McKenna, K.E.; McVary, K.T. (2003): Penile Weight and Cell Subtype Specific Changes in a Post-Radical Prostatectomy Model of Erectile Dysfunction. *J Urol. March Volume 169, Issue 3, Pages 1175–1179*

Walsh, P. C.; Donker, P. J. (1982): Impotence following radical prostatectomy: insight into etiology and prevention. *J Urol Sep*; 128 (3): 492-7

Walsh, P. C.; Lepor, H.; Eggleston, J. C. (1983): Radical prostatectomy with preservation of sexual function: anatomical and pathological considerations. *Prostate*; 4 (5): 473-85

Wolff, J.M. (2001): Journal für Urologie und Urogynäkologie; 8 (2) (Ausgabe für Schweiz), 19-23

Wolff, J.; Altwein, J. E. (2004): Prostatakarzinom- Grundlagen und Therapie. Springer Verlag: 1-3, 7, 89-102

Zwergel, U. (2008): Facharztprüfung Urologie. Urban & Fischer: 7-8

7. Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen unter Betreuung von Herrn Professor Dr. med. Arnulf Stenzl durchgeführt.

Die Studie wurde von Herrn Professor Dr. med. Karl- Dietrich Sievert konzipiert.

Die immunhistochemischen Färbungen der Prostatapräparate, die in 2.5.1 und 2.5.2 dargestellt sind, wurden nach Einarbeitung durch Frau Ursula Kühs von mir selbstständig durchgeführt. Anschließend habe ich nach Beratung mit Herrn Dipl. Biol. Jörg Hennenlotter die Daten mittels Mikroskopie (2.6) erhoben und diese daraufhin ausgewertet (2.7). Anhand dieser Ergebnisse habe ich die Tabellen 1- 16 sowie die Abbildungen 7- 10 (A, B) erstellt. Diese Daten nahmen Bezug auf die von Professor Dr. med. Karl- Dietrich Sievert bereitgestellten Ergebnisse aus Sievert et al., (2008) und Sievert et al., (2009).

Herr Dipl. Biol. Jörg Hennenlotter hat die für die Färbung aufbereiteten Prostatapräparate sowie die Abbildungen 1- 6 zur Verfügung gestellt. Für Abbildung 1 wurde die in Abbildung 2 dargestellte Struktur von mir mit einem Raster versehen. Herr Dipl. Biol. Jörg Hennenlotter hat die Arbeit vor Ort betreut und stand mit Anregungen für das Erstellen und Korrigieren des Manuskripts zur Seite.

Die Aufarbeitung der Prostatapräparate sowie die anschließende Herstellung der Großflächenschnitte wurden von Dr. med. dent. Ines Laible für die Arbeit „Immunhistochemische Darstellung peripherer Nerven an radikalen Prostatektomiepräparaten: Anatomische Evaluation der Nervenverläufe und der Verhältnisse nach nervenerhaltender Operationstechnik“ (2010) durchgeführt.

Ich versichere, die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die hier erwähnten Hilfsmittel verwendet zu haben.

8. Danksagung

An erster Stelle danke ich Herrn Professor Dr. med. Arnulf Stenzl, dem ärztlichen Direktor der urologischen Klinik der Eberhard Karls Universität Tübingen für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der zur Durchführung dieser Arbeit notwendigen Mittel.

Ebenso danke ich Herrn Professor Dr. med. Karl-Dietrich Sievert für die freundliche Überlassung dieses Dissertationsthemas, für die Begleitung der Arbeit als Betreuer und für die Korrektur des Manuskripts.

Mein ganz besonderer Dank geht an Herrn Dipl.- Biol. Jörg Hennenlotter. Seine große Fachkenntnis und sein Ideenreichtum haben sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Die enorme Hilfsbereitschaft, Freundlichkeit und Flexibilität sowie die Tatsache, dass seine Tür mir jederzeit für Fragen offenstand, sind gewiss keine Selbstverständlichkeit.

Außerdem bedanke ich mich beim Team des urologischen Labors für die nette Arbeitsatmosphäre und die Hilfsbereitschaft, insbesondere bei Frau Ursula Kühs für die freundliche Betreuung im Zuge der immunhistochemischen Färbung der Prostatapräparate.

Darüber hinaus danke ich meiner Partnerin Verena Vellmer für die Hilfe bei der Formatierung dieses Dokuments und für die Geduld und das Verständnis, welches sie mir immer wieder entgegengebracht hat.

Schließlich danke ich meinen Eltern für die Unterstützung und die Geduld, die ich stets erfahren habe.