

Journal für
Urologie und Urogynäkologie

Zeitschrift für Urologie und Urogynäkologie in Klinik und Praxis

Funktionelle in vitro-Effekte

**CAMP/CGMP-modulierender Pharmaka am
humanen Detrusormuskel**

Ückert St, Bischoff E, Jonas U

Lietz B, Neuhaus L, Seemann Ch

Stief Ch G

Journal für Urologie und

*Urogynäkologie 2002; 9 (1) (Ausgabe
für Schweiz), 9-15*

Journal für Urologie und

*Urogynäkologie 2002; 9 (1) (Ausgabe
für Österreich), 7-14*

Homepage:

www.kup.at/urologie

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

Indexed in Scopus

Member of the



www.kup.at/urologie

Krause & Pachernegg GmbH · VERLAG für MEDIZIN und WIRTSCHAFT · A-3003 Gablitz

P. b. b. 022031116M, Verlagspostamt: 3002 Purkersdorf, Erscheinungsort: 3003 Gablitz

FUNKTIONELLE IN VITRO-EFFEKTE CAMP/CGMP-MODULIERENDER PHARMAKA AM HUMANEN DETRUSORMUSKEL

FUNKTIONELLE IN
VITRO-EFFEKTE
CAMP/CGMP-
MODULIERENDER
PHARMAKA AM
HUMANEN
DETRUSORMUSKEL

Summary

Objectives: Recently, the presence of phosphodiesterase (PDE) isoenzymes 1, 2, 3, 4 and 5 in human detrusor smooth muscle and the possible clinical implication of PDE1 inhibitor vinpocetine in the treatment of the unstable bladder was shown. The aim of the present study was to characterize the functional response of isolated normal human detrusor to various inhibitors of PDE-isoenzymes 2, 3 and 5, which have been recently developed, in order to determine new pharmacological agents which may have utility against the dynamic component of the urge syndrome.

Methods: Human detrusor smooth muscle strips were mounted in organ bath chambers under standard conditions and stimulated with 1 µM carbachol. When stable tension plateaus were reached, drugs were added to the bath chambers in cumulative dosage (0.001–10/100 µM) and isometric changes in tissue tension were amplified and recorded. To determine time and dose-dependent effects of the drugs on tissue levels of cAMP and cGMP,

muscle strips were exposed to the substances for 2–10 min.

Quantification of cyclic nucleotide monophosphates (cNMP) was done using respective radioimmunoassays.

Results: Adenylyl cyclase stimulating agent forskolin (F), PDE3 inhibitor HL 725 and PDE5 inhibitor MSPP were the most efficacious drugs tested. Reversion of carbachol induced tension by PDE2-inhibitor MEP1 was found to be less effective. The relaxing properties of F and HL 725 were accompanied by a major increase in tissue levels of cAMP. Stimulation of cGMP by sodium nitroprusside and nitric oxide donor DHP was only related to a minor reversal of cholinergic tension.

Conclusion: We conclude that pharmacological modulation of cyclic nucleotide dependent signal transduction pathways of human detrusor smooth muscle using selective PDE-inhibitors may have utility in bladder storage disorders due to detrusor hyperactivity. Improved isoenzyme-selectivity of 3rd generation PDE-inhibitors make their application feasible to treat urge incontinence.

Dihydropyridin (DHP) und Na⁺Nitroprussid (NNP) verglichen.

Methoden: Streifen humaner Detrusormuskulatur wurden in einer Organbad-Anlage fixiert und mit Carbachol (1 µM) stimuliert. Nach dem Erreichen stabiler Tensionsplateaus wurden die o.g. Substanzen in kumulativer Dosierung (0,001–100 µM) in die Badkammern gegeben und Spannungsänderungen der Muskelstreifen registriert. Zur Bestimmung zeit- und konzentrationsabhängiger Effekte der Substanzen auf den Gewebegehalt zyklischer Nukleotide wurden Muskelstreifen für 2–10 min inkubiert, schockgefroren und homogenisiert. Die Quantifizierung von cAMP und cGMP erfolgte mit radioimmunchemischen Methoden.

Ergebnisse: Die Carbachol-induzierte Tension der Detrusorstreifen wurde am effektivsten durch Forskolin, den PDE5-Inhibitor MSPP und den PDE3-Inhibitor HL 725 antagonisiert. Der PDE2-Inhibitor MEP 1 und die PDE5-Inhibitoren E 4021 und DASPP induzierten eine dosisabhängige Reversion der Tension, erreichten jedoch keine EC₅₀. Der relaxierende Effekt von Forskolin korrespondierte mit einem zeit- und dosisabhängigen Anstieg der Gewebekonzentration von cAMP um einen Faktor 5–100. Supraphysiologische Konzentrationen (100 µM) des PDE3-Inhibitors HL 725 stimulierten den cAMP- und cGMP-Gehalt um einen Faktor 2 bis 6, während keine relevanten Effekte von MSPP und DASPP auf die cGMP-Konzentration registriert wurden. NNP verursachte einen 9- bis 103-fachen Anstieg des cGMP Gehaltes, der jedoch nur mit einer geringen Reversion des cholinergen Tonus verbunden war.

Schlußfolgerungen: Eine Beeinflussung der cNMP-abhängigen zellulären Signalübertragung resultiert in einer Reversion des cholinergen Tonus der Detrusormuskulatur *in vitro*. Die Substanzeffekte korrelieren mit

ZUSAMMENFASSUNG

Allgemeines: Die zyklischen Nukleotidmonophosphate cAMP und cGMP regulieren als intrazelluläre Second Messenger zahlreiche Gewebe- und Organfunktionen. cAMP und cGMP werden von zellulären Adenylat- und Guanylatzyklen synthetisiert und von Phosphodiesterasen degradiert, die somit Schlüsselenzyme im Prozeß der Tonusregulation glatter Muskulatur sind. Die Markteinführung des PDE5-Inhibitors Sildenafil (Viagra®) hat dem Konzept der PDE-Inhibition auch in der Urologie brei-

te Akzeptanz verschafft. Eigene Arbeiten der vergangenen Jahre beschreiben die Präsenz der PDE-Isoenzyme 1, 2, 3, 4 und 5 in der Muskulatur des humanen Detrusors und zeigen das klinische Potential des PDE1-Inhibitors Vinpocetin in der Behandlung der motorischen Dranginkontinenz. Mit dem Ziel der Charakterisierung geeigneter Substanzen für die Pharmakotherapie der Detrusorhyperaktivität haben wir die *in vitro*-Effekte neuer, selektiver Inhibitoren der PDE des Typs 2, 3 und 5 auf isolierte humane Detrusormuskulatur untersucht und mit denen des Diterpens Forskolin (Aktivator der Adenylatzyklase) und der Stickoxid (NO)-Donatoren

Medizinische Hochschule Hannover; *St. Vinzenz-Krankenhaus, Urologische Klinik, Hannover; **Bayer AG, Geschäftsbereich Pharma, Abtl. Herz-Kreislauf und Arterioskleroseforschung, Wuppertal

einer Erhöhung des Gewebegehaltes von cAMP. Die bessere Isoenzym-Spezifität der PDE-Inhibitoren der 3. Generation läßt deren Applikation zur Behandlung der Urge-Symptomatik möglich erscheinen.

EINLEITUNG

Die zyklischen Nukleotidmonophosphate (cNMP) cAMP und cGMP regulieren als intrazelluläre Second Messenger zahlreiche Gewebe- und Organfunktionen. cAMP und cGMP induzieren über eine komplexe intrazelluläre Signaltransduktionskaskade, die u.a. die Aktivierung von cNMP-abhängigen Proteinkinasen sowie die Phosphorylierung verschiedener Membranproteine (Ionenkanäle) einschließt, eine Verringerung der cytoplasmatischen Ca^{2+} -Konzentration, die sich dem kontraktilem Apparat der glatten Muskelzelle mitteilt und somit zu einer Modulation der Muskelspannung führt [1].

Die Bedeutung zyklischer Nukleotidmonophosphate für die Kontraktilität des Myokards und in der Tonusregulation der glatten Muskulatur der arteriellen Gefäße, des Bronchialbaums und des Penischwelkörpers ist Gegenstand zahlreicher Arbeiten [2–5].

cAMP und cGMP werden von zellulären Adenylat (AZ)- und Guanylatzyklasen (GZ) aus den korrespondierenden Nukleosidtriphosphaten ATP und GTP synthetisiert und von Phosphodiesterasen (PDE), einer großen heterogenen Gruppe hydrolytischer Enzyme, degradiert. AZ, GZ und PDE sind somit Schlüsselenzyme der Tonusregulation des glatten Muskels. Die Beeinflussung solcher Schlüsselenzyme stellt heute einen neuen und erfolgversprechenden Ansatz in der pharmakologischen Kontrolle der Tonusregulation

glatter Muskulatur dar. Von besonderem Interesse sind in diesem Zusammenhang die Phosphodiesterase-Isoenzyme, die eine zentrale Position im Prozeß der funktionellen Kontrolle glattmuskulärer Organe und des Myokards einnehmen.

Heute werden 11 verschiedene PDE-Isoenzyme (PDE1–11) unterschieden, diese Isoenzymfamilien werden nach ihren molekularbiologischen und kinetischen Eigenschaften in weitere Subgruppen (Isoformen und Isogene) unterteilt. Die evidente Inhomogenität in der Distribution und regulatorischen Relevanz der PDE-Isoenzyme in den Organen und Geweben des menschlichen Körpers eröffnet die grundsätzliche Möglichkeit einer selektiven pharmakologischen Modulation von Organ- und Gewebefunktion durch die Verwendung selektiver Inhibitoren der PDE-Aktivität [6]. Für die meisten der pharmakologisch relevanten PDE (PDE1, 2, 3, 4 und 5) sind solche Inhibitoren inzwischen verfügbar [7].

Mit der Einführung des PDE5-Inhibitors Sildenafil (Viagra®) hat sich das Konzept der PDE-Inhibition auch in der Urologie durchgesetzt, nachdem PDE-Inhibitoren bisher vor allem in der Behandlung von Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems und des Bronchialbaums Verwendung gefunden haben [4, 8]. In der Pharmakotherapie hypertoner Blasenfunktionsstörungen werden heute zumeist anticholinerge Substanzen verwendet, deren Effektivität durch eine geringe Bioverfügbarkeit und die typischen anticholinergen Nebenwirkungen wie Mundtrockenheit, Sehstörungen, Schwindel, orthostatische Beschwerden und Störungen der Darmmotilität limitiert wird [9]. Die Modulation der Detrusorkontraktilität durch die selektive Inhibition regulatorisch relevanter PDE wäre somit eine interessante, innovative Option in dieser Indikation.

Arbeiten der vergangenen Jahre beschrieben die Präsenz der PDE-

Isoenzyme 1, 2, 3, 4 und 5 in der Muskulatur des humanen Detrusors und zeigten das klinische Potential des PDE1-Inhibitors Vinpocetin in der Behandlung der motorischen Dranginkontinenz [10–12]. Mit dem Ziel der Charakterisierung neuer Substanzen für die Pharmakotherapie der Detrusorhyperaktivität haben wir die funktionellen in vitro-Effekte neuer, selektiver Inhibitoren der PDE des Typs 2, 3 und 5 auf isolierte humane Detrusormuskulatur untersucht und mit denen des Diterpens Forskolin, des Guanylatzyklase-Aktivators BAY 13-1197 und der NO-Donatoren Na^+ Nitroprussid und Dihydropyridin, einer bisher als Antagonist von Kalziumkanälen des L-Typs bekannten Verbindung, die in wässriger Lösung aber auch NO freizusetzen vermag (Persönliche Mitteilung, Bayer AG), verglichen.

MATERIAL UND METHODEN

Gewebeentnahme

Makroskopisch unauffällig erscheinende Muskulatur aus dem Bereich des Daches und der lateralen Wände des Detrusors wurde während radikalchirurgischer Eingriffe (Zystektomien) von männlichen und weiblichen Patienten entnommen und bis zur weiteren Präparation in einer eisgekühlten organprotektiven Lösung (Custodiol®, Fritz Köhler Chemische Fabrik, Alsbach, Deutschland) gelagert.

Registrierung mechanischer Aktivität

Streifenpräparate (ca. 0,8 x 0,4 x 0,4 cm) aus dem Dach und den lateralen Wänden des Detrusors wurden in die mit einer modifizierten Krebs-Ringer-Lösung (NaCl 120 mM, $NaHCO_3$ 25,6 mM, KCl 4,7 mM, $CaCl_2$ 2,5 mM, NaH_2PO_4 1,2 mM, MgCl₂ 1,2 mM, Glucose 22 mM, $2Na^+(Ca^{2+})$)

EDTA 0,1 mM) gefüllten Badkammern (10 ml) einer vertikalen Organbad-Anlage (IOA 5306, Föhr Medical Instruments GmbH, Seeheim, Deutschland) eingespannt. Die Badlösung war auf 37 °C temperiert und wurde kontinuierlich mit einem Gemisch aus 95 % O₂ und 5 % CO₂ begast. Dem Anlegen einer Vorspannung von 10 mN (1 gr.) folgte eine Äquilibrationsphase von 60 min. Anschließend wurden die Gewebestreifen mit 1 µM Carbachol stimuliert. Nach dem Erreichen stabiler Tensionsplateaus wurden die Testsubstanzen in kumulativer Dosierung (0,01–100 µM) in die Badkammern pipettiert und Spannungsänderungen der Muskulatur mit Kraftaufnehmern des Typs FT 3 (Grass Instruments Inc., Quincy MA, USA) und einem Analog-Digital Wandler (MacLab™, AD Instruments, Castle Hill, Australien) registriert.

Jede Substanz wurde an n = 6–12 Muskelstreifen getestet. Relaxierende Effekte der verwendeten Lösungsmittel auf die Detrusorpräparate waren entweder zu vernachlässigen oder wurden vom Substanzeffekt subtrahiert.

Die EC₅₀-Werte (Inhibitorkonzentration, die für eine 50 %ige Relaxation der maximalen Carbachol-induzierten Kontraktion notwendig war) wurden graphisch nach nicht-linearer Regression bestimmt.

Quantifizierung zyklischer Nukleotide

Zur Bestimmung stimulierender Effekte der Testsubstanzen auf den Gewebegehalt zyklischer Nukleotidmonophosphate wurden cholinerg stimulierte Detrusorstreifen den Agenzien in geeigneten Reaktionsgefäßen (2 ml) dosis- und zeitabhängig exponiert.

Während die Muskelstreifen dem Diterpen Forskolin und dem NO-Donor NNP (0,01, 1 und 100 µM) für 2, 5 und 10 min exponiert wur-

den, betrug die Inkubationszeit aller anderen Substanzen (1, 10 und 100 µM) 10 min. Unmittelbar nach dem Ende der Inkubationszeit wurden die Streifenpräparate in ein leeres Reaktionsgefäß transferiert und dieses sofort in flüssigen Stickstoff verbracht. Nach der Homogenisierung des Gewebes, der Ethanolextraktion der zyklischen Nukleotide und Lyophilisierung des ethanolischen Überstandes erfolgte die Quantifizierung von cAMP und cGMP in Aliquots der in RIA-Puffer resuspendierten Lyophilisate mit radioimmunchemischen Methoden (Single Antibody RIA). Pro Substanz und Konzentration wurden 3–6 Streifenpräparate verwendet.

Chemikalien

Alle Chemikalien stammten, soweit im Text nicht näher bezeichnet, von Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) und Merck (Darmstadt, Deutschland). [¹²⁵I] cAMP und [¹²⁵I] cGMP wurden von ICN Radiochemicals (Irvine, CA, USA) bezogen, 9-Erythro-(2-hydroxy-3-nonyl)-adenin-HCl (MEP1) von BIOLOG GmbH, Hamburg, Deutschland, und HL 725 (Trequinsin) von BIOMOL, Plymouth PA, USA. BAY 13-1197, DHP (Dihydropyridin), E 4021, DASPP (Diethylaminosulfonylpyrazolopyrimidin) und MSPP (Morpholinosulfonylpyrazolopyrimidin) wurden freundlicherweise vom Geschäftsbereich Pharma der Bayer AG (Wuppertal, Deutschland) zur Verfügung gestellt, Antikörper gegen acetyliertes cAMP und cGMP vom Niedersächsischen Institut für Peptidforschung GmbH, Hannover, Deutschland.

Stammlösungen der Testsubstanzen (10 mM) wurden entweder mit Ethanol, Methanol oder Dimethylsulfoxid hergestellt und mit physiologischer NaCl-Lösung zum weiteren Gebrauch verdünnt. In den Organbad-Experimenten war die Konzentration der nichtwässrigen Lösungsmittel ≤ 1 %.

ERGEBNISSE

Organbad-Studien

Einige der verwendeten Streifenpräparate zeigten nach dem Anlegen der Vorspannung zunächst spontane mechanische Aktivität, die während der Äquilibrationsphase in der Regel an Intensität verlor.

Die Abbildungen 1–3 und die Tabelle 1 fassen die Resultate der Organbad-Experimente zusammen. Die Carbachol-induzierte Tension der Detrusorstreifen wurde durch das Diterpen Forskolin (EC₅₀ = 5 µM, R_{max} = 99 ± 2 %), den PDE5-Inhibitor MSPP (EC₅₀ = 40 µM, R_{max} = 59 ± 17 %) und den PDE3-Inhibitor HL 725 (EC₅₀ = 50 µM, R_{max} = 55 ± 19 %) deutlich relaxiert. Die NO-Donatoren NNP und DHP, die PDE5-Inhibitoren E 4021 und DASPP und der GZ-Aktivator BAY 13-1197 induzierten zwar eine dosisabhängige Reversion der muscarinergen Tension, erreichten an den Streifenpräparaten jedoch keine EC₅₀. Trotz der Präsenz der PDE Typ 2 (cGMP-abhängige PDE) in der Muskulatur des humanen Detrusors hatte der PDE2-Inhibitor MEP 1 nur geringe relaxierende Effekte. Die Relaxationsantwort des Gewebes blieb selbst bei maximaler Inhibitorkonzentration ≤ 30 %.

Quantifizierung zyklischer Nukleotide

Der relaxierende Effekt des Diterpens Forskolin korrespondierte mit einem zeit- und dosisabhängigen Anstieg der Gewebekonzentration von cAMP um einen Faktor 5–100 über die Kontrolle (Kontrolle: 28 ± 11 pmol cAMP/ mg Protein) (Abb. 4). Supraphysiologische Konzentrationen (100 µM) des PDE3-Inhibitors HL 725 stimulierten den cAMP- und cGMP-Gehalt um einen Faktor 2 bis 6, während keine relevanten Effekte der PDE5-Inhibitoren MSPP und DASPP

Abbildungen 1–3: Tonuslösende Effekte der PDE-Inhibitoren MEP 1, HL 725, E 4021, DASPP und MSPP, der GZ-Aktivatoren BAY 13-1197, NNP und DHP und des Diterpens Forskolin auf die muscarinerge Tension isolierter Streifenpräparate humaner Detrusormuskulatur. Dargestellt sind die Mittelwerte der nach Substanz-Zugabe verbleibenden Carbachol-induzierten Tension aus 6–12 Experimenten.

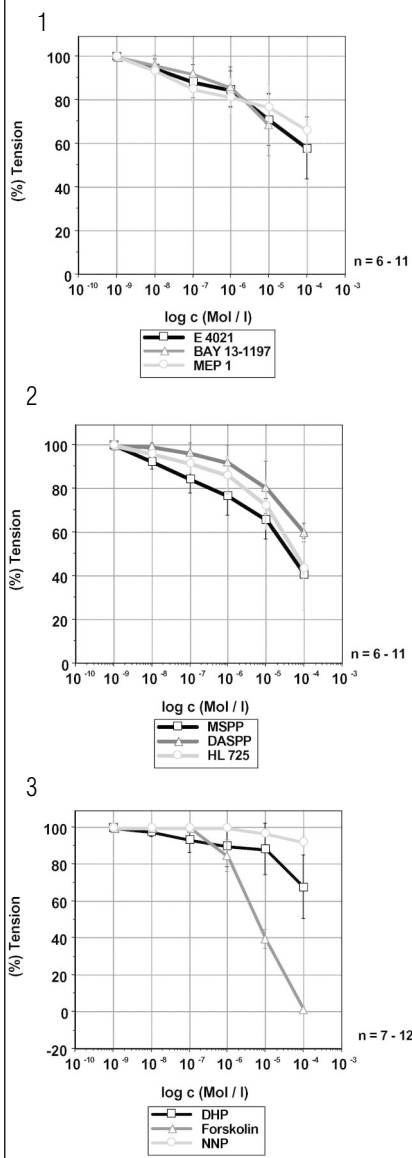


Tabelle 1: Tonuslösende Effekte AZ- und GZ-stimulierender Substanzen und einiger selektiver Inhibitoren der PDE 2, 3 und 5 auf die Carbachol-induzierte Tension isolierter Streifenpräparate humaner Detrusormuskulatur. EC_{50} = Substanzkonzentration, die eine 50 %ige Reversion der Carbachol-induzierten Tension induziert, R_{max} = Relaxation bei maximaler Substanzkonzentration, NB = nicht bestimmbar, d. h. $EC_{50} \gg 100 \mu M$, NNP = Natriumnitroprussid

Substanz	$R_{max} \pm SD$ (%)	EC_{50} (μM)
MEP 1 9-Erythro-(2-hydroxy-3-nonyl) adenin-HCl PDE2-Inhibitor	34 \pm 10,7	NB
E 4021 PDE5-Inhibitor	42 \pm 14	NB
BAY 13-1197	32 \pm 14 (10 μM)	NB
DHP Dihydropyridin	32 \pm 17	NB
MSPP Morpholinosulfonyl-pyrazolopyrimidin PDE5 Inhibitor	59 \pm 17	40
DASPP Diethylaminosulfonyl-pyrazolopyrimidin PDE5-Inhibitor	40 \pm 4,3	NB
HL 725 (Trequinsin) PDE3-Inhibitor	55 \pm 19,4	50
Forskolin	99 \pm 2,0	5,0
NNP	8,0 \pm 3,0	NB

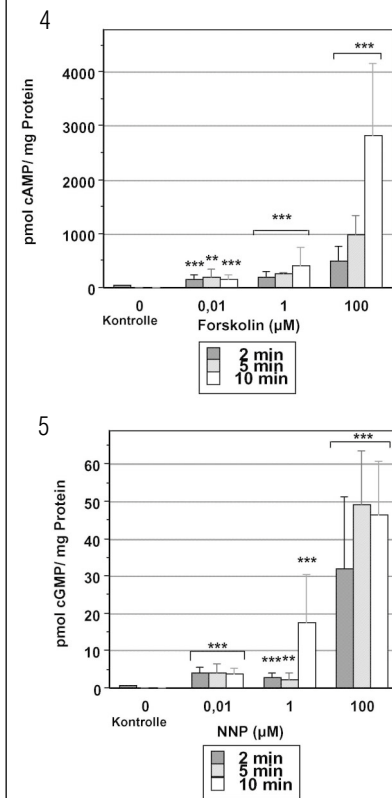
auf die cGMP-Konzentration registriert wurden. 10 min-Inkubationen mit 100 μM des NO-Donors DHP resultierten in einem 5-fachen Anstieg des cGMP-Gehaltes der Streifenpräparate (Kontrolle: 0,53 \pm 0,2 pmol/mg Protein). Überraschenderweise induzierte der Guanylatzyklase-Aktivator BAY 13-1197 in einer Dosierung von 1 μM und 10 μM eine Erhöhung der Gewebekonzentration von cAMP um einen Faktor 2. Dieser Effekt korrespondierte nicht mit einer entsprechenden Reversion der muscarinergen Muskelspannung (Abb. 6–9). Die zeit- und dosisabhängige Stimulation von cGMP durch den NO-Donor NNP verursachte einen 9- bis 103-fachen Anstieg, der jedoch nur mit einer geringen Relaxation des Carbachol-indu-

zierten Tonus ($R_{max} = 8,0 \pm 3,0$ %) verbunden war (Abb. 5).

DISKUSSION

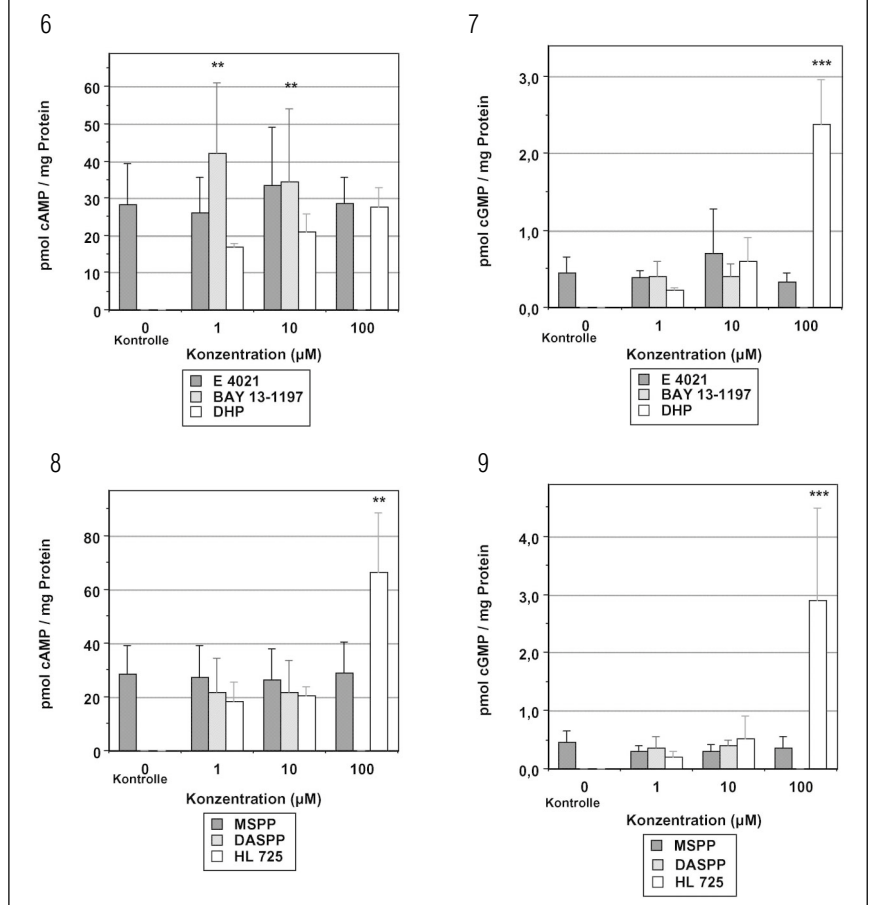
Kontraktionen des Detrusormuskels werden durch Stimulation von Muscarinrezeptoren des Typs M_2 und M_3 hervorgerufen. Durch die orale oder intravesikale Applikation von Anticholinergika können daher unwillkürliche Kontraktionen des Harnblasenmuskels unterdrückt werden [13]. Da sich die Muscarinrezeptoren des Detrusors strukturell nicht wesentlich von denen in ande-

Abbildungen 4 und 5: Zeit- und dosisabhängige Stimulation von cAMP und cGMP in isolierten Streifenpräparaten humaner Detrusormuskulatur in Gegenwart von Forskolin und NNP. Jede Säule repräsentiert den Mittelwert \pm SD von jeweils drei unabhängigen Bestimmungen. **p = 0,01–0,005, ***p < 0,001



ren Organen unterscheiden, ist die klinische Verwendung von anticholinergen Substanzen aufgrund von systemischen Nebenwirkungen jedoch limitiert, die Wirkung oraler Anticholinergika ist zudem durch deren z.T. geringe Bioverfügbarkeit begrenzt [14, 15]. Die klinische Effektivität von Verbindungen mit einer dualen, anticholinergen und direkt muskelrelaxierenden Wirkung, wie z. B. dem Oxybutynin, ist zwar nachgewiesen, jedoch treten auch

Abbildungen 6–9: Effekte der PDE-Inhibitoren E 4021, DASPP, MSPP und HL 725 und der GZ-Aktivatoren BAY 13-1197 und DHP auf die Gewebekonzentration von cAMP und cGMP in isolierten Streifenpräparaten humaner Detrusormuskulatur. Jede Säule repräsentiert den Mittelwert \pm SD von jeweils drei unabhängigen Bestimmungen. **p = 0,01–0,005, ***p < 0,001



unter der Behandlung mit diesen Substanzen Nebenwirkungen auf, die zum Abbruch der Therapie führen können [16].

Nachdem das pharmakologische Konzept der Phosphodiesterase-Inhibition mit der Markteinführung des PDE5-Inhibitors Sildenafil auch in der Urologie breite Akzeptanz gefunden hat, besteht durch die Verfügbarkeit zahlreicher selektiv wirkender PDE-Inhibitoren die Möglichkeit, neben dem Corpus cavernosum penis auch die Funktion anderer glattmuskulärer Organe des oberen

und unteren Harntraktes zu beeinflussen. Durch die Verwendung von PDE-Inhibitoren könnte somit im Falle einer Fehlfunktion oder Dysregulation ein gewünschter therapeutischer Effekt auf das Zielgewebe bei gleichzeitiger Verringerung von Nebenwirkungen erreicht werden.

Zahlreiche Arbeiten lassen darauf schließen, daß das Prinzip der PDE-Inhibition auch in den Indikationen Urolithiasis und BPH/LUTS/BOO sowie bei hypertonen Blasen-funktionsstörungen Anwendung fin-

den könnte [12, 17, 18]. So zeigten Truss et al. als erste die Präsenz der PDE-Isoenzyme des Typs 1, 2, 3, 4 und 5 im humanen Detrusormuskel und schlossen auf der Grundlage der Resultate ihrer kinetischen und funktionellen Untersuchungen auf eine Relevanz der Ca²⁺/Calmodulin-abhängigen PDE1 in der cNMP-vermittelten Kontrolle des Harnblasentonus. Diese Hypothese wurde später durch die Ergebnisse initialer klinischer Studien zur Sicherheit und Effektivität des PDE1-Inhibitors Vinpocetin in der Behandlung der Dranginkontinenz und Low Compliance Bladder bestätigt.

Trotz der proteinchemisch objektivierten Präsenz der PDE-Isoenzyme 3 und 5 berichteten Truss et al. seinerzeit nur von geringen relaxierenden Effekten des PDE3-Inhibitors Milrinon und der PDE5-Inhibitoren Zaprinast und Dipyridamol auf die muscarinerge Tension isolierter Streifenpräparate des humanen Detrusors. Ein Inhibitor der PDE2 wurde in ihren Experimenten nicht verwendet [10, 11].

Bedingt durch die intensive präklinische Forschungstätigkeit der pharmazeutischen Industrie auf dem Gebiet der PDE-Inhibitoren sind inzwischen Verbindungen der 3. Generation mit erheblich modifizierten physikochemischen Eigenschaften verfügbar, die über eine verbesserte Penetrationfähigkeit durch Membranlipidschichten und eine höhere Selektivität zum Zielisozym verfügen. Ziel dieser Arbeit war es deshalb, durch die Verwendung einiger dieser Substanzen die funktionelle Relevanz cAMP- und cGMP-abhängiger Signalübertragungswege in der humanen Detrusormuskulatur umfassender zu charakterisieren. Unsere Ergebnisse unterstützen die These von Truss et al., daß sowohl cAMP als auch cGMP an der Tonusregulation der Detrusormuskulatur beteiligt sind [11], wobei cAMP der zentrale Mediator der Relaxation zu sein scheint. Unsere Daten zeigen,

daß eine pharmakologische Modulation cNMP-abhängiger Signalübertragungswege in einer Änderung des Detrusortonus resultiert, die mit einer Erhöhung der cNMP-Gewebekonzentration korrespondiert. Die Effekte des GZ-Aktivators BAY 13-1197 und des PDE5-Inhibitors DASPP auf den cAMP-Gehalt weisen darauf hin, daß eine pharmakologische Beeinflussung der cGMP-Reaktionskaskade durchaus mit cAMP-Übertragungswegen interferieren kann. Bei der Interpretation der Resultate der Organbad-Studien muß berücksichtigt werden, daß der Umsatz zyklischer Nucleotide in isolierten Gewebepreparaten, bedingt durch eine lediglich basale Aktivität der AZ und GZ, niedrig ist, und daher hohe Konzentrationen eines PDE-Inhibitors notwendig sein können, um einen funktionellen Effekt zu induzieren. In stimulierten in vivo-Systemen wirken PDE-Inhibitoren daher wahrscheinlich wesentlich effektiver [6]. Die pharmakologische Beeinflussung cNMP-abhängiger Signalübertragungswege in der humanen Detrusormuskulatur durch selektive PDE-Inhibitoren ist daher grundsätzlich eine interessante Option in der Therapie des hyperaktiven Detrusors. Die verbesserte Selektivität der PDE-Inhibitoren der 3. Generation läßt ihre Anwendung zur nebenwirkungsarmen Behandlung der Dranginkontinenz sinnvoll erscheinen. Hierfür kommen neben Inhibitoren der PDE1 wohl vor allem solche der cGMP-spezifischen PDE5 in Frage, da die Substanzgruppe der Benzylimidazoquinazoline in der letzten Zeit – initiiert durch den klinischen Erfolg des Sildenafil – eine erhebliche Optimierung ihrer chemischen und pharmakologischen Eigenschaften erfahren hat [19, 20]. Im Gegensatz dazu ist die Verwendung von Inhibitoren der PDE3 trotz der in vitro-Effektivität des Trequinsins aufgrund der zu erwartenden Nebenwirkungen auf das Herz-Kreislaufsystem kaum angezeigt.

Klinische Studien mit Inhibitoren der PDE 1 und 5 werden klären, ob diese Substanzgruppen zukünftig tatsächlich eine praktische Bedeutung in der Therapie hypertoner Störungen der Harnblasenfunktion haben.

Literatur:

1. Morgan KG, Suematsu E. Calcium and vascular smooth muscle. *Am J Hypertension* 1990; 3: 2915–85.
2. Reeves ML, England PJ. Cardiac phosphodiesterase and the functional effects of selective inhibition. In: Beavo J, Houslay MD (eds). *Cyclic nucleotide phosphodiesterases: Structure, regulation and drug action*. Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, 1990; 299–316.
3. Luginier C, Schoeffter P, Le Bec A, Strouthou E, Stoclet JC. Selective inhibition of cyclic nucleotide phosphodiesterases of human, bovine and rat aorta. *Biochem Pharmacol* 1986; 35: 1743–51.
4. Torphy TJ, Udem BJ, Cieslinsky LB, Luttmann MA, Reeves ML, Hay DW. Identification, characterization and functional role of phosphodiesterase isoenzymes in human airway smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 265: 1213–23.
5. Brock G: Sildenafil citrate (VIAGRA™). *Drugs Today* 2000; 36: 125–34.
6. Nicholson CD, Challiss RAJ, Shahid M. Differential modulation of tissue function and therapeutic potential of selective inhibitors of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes. *TIPS* 1991; 12: 19–27.
7. Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications and multiple isoforms. *Physiol Rev* 1995; 75: 725–48.
8. Weishaar RE, Kobylarz-Singer DC, Steffen NP, Kaplan GR. Subclasses of cyclic cAMP-specific phosphodiesterase in left ventricular muscle and their involvement in regulating myocardial contractility. *Circ Res* 1987; 61: 539–47.
9. Milani R, Scalabrino S, Milia R, Sambruni I, Riva D, Pulici L, Avaldi F, Viganò R. Double-blind crossover comparison of flavoxate and oxybutynin

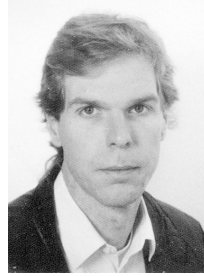
Dr. rer. biol. hum. Stefan Ückert

Geboren 1963 in Hannover. Von 1984 bis 1991 Studium der Chemie und Biologie in Hannover. Seit 1993 wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Physiologischen Arbeitsgruppe der Urologischen Klinik (Direktor: Prof. Dr. med. U. Jonas) der Medizinischen Hochschule Hannover. Untersuchungen zur Physiologie und den Möglichkeiten der pharmakologischen Beeinflussung der glatten Muskulatur von Ureter, Harnblase, Corpus cavernosum, Prostata und Samenblasen. Diese Arbeiten wurden mit Preisen verschiedener nationaler und internationaler Institutionen und Fachgesellschaften ausgezeichnet (u.a. Promotionspreis der Gesellschaft der Freunde der Medizinischen Hochschule Hannover 1999, Posterpreise der Deutschen Gesellschaft für Urologie 1995, 1996 und 2000, C. E. Alken-Preis 1997, Grand Prize und Second Place im Jack Lapidus Essay Contest on Urodynamic and Neurourology Research 1998 und 1999, Peter-Bischoff-Preis der Vereinigung Norddeutscher Urologen 2000, Wolfgang-Mauermeyer-Preis des Arbeitskreises Benigne Prostatahyperplasie der Deutschen Gesellschaft für Urologie 2000, Posterpreis der European Society for Sexual and Impotence Research 2001).

Aktuelle basiswissenschaftliche Schwerpunkte sind Untersuchungen zur Pharmakologie der humanen Harnblase und des glattemuskulären Anteils der Prostata sowie Arbeiten über zentrale und lokale Promotoren und Inhibitoren der penilen Erektion.

Korrespondenzadresse:

Dr. rer. biol. hum. Stefan Ückert
Medizinische Hochschule Hannover, Urologische Klinik
D-30625 Hannover, Carl-Neuberg-Straße 1



in woman affected by urinary urge syndrome. *Int Urogyn J* 1993; 4: 3–8.

10. Truss MC, Ueckert S, Stief CG, Kuczyk MA, Jonas U. Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) isoenzymes in the human detrusor smooth muscle: I. Identification and characterization. *Urol Res* 1996; 24: 123–8.

11. Truss MC, Ueckert S, Stief CG, Kuczyk MA, Jonas U. Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) isoenzymes in the human detrusor smooth muscle: II.

Effect of various PDE-inhibitors on smooth muscle tone and cyclic nucleotide levels in vitro. *Urol Res* 1996; 24: 129–34.

12. Truss MC, Stief CG, Ueckert S, Becker AJ, Schultheiss D, Machtens S, Jonas U. Initial clinical experience with the selective phosphodiesterase (PDE) 1 isoenzyme inhibitor vopocetine in the treatment of urge incontinence and low compliance bladder. *World J Urol* 2000; 18: 439–43.

13. Andersson KE. Advances in the pharmacological control of the bladder. *Exp Physiol* 1999; 84: 195–213.

14. Nilvebrandt L, Andersson KE, Matthiason A. Characterization of the muscarinic cholinergic receptors in the human detrusor. *J Urol* 1985; 134: 418–23.

15. Zorzitto ML, Jewett MAS, Fernie GR, Holliday PJ, Bartlett S. Effectiveness of propantheline bromide in the treatment of geriatric patients with detrusor instability. *NeuroUrol Urodyn* 1986; 5: 133–40.

16. Cardozo LD, Cooper D, Versi DE. Oxybutynin chloride in the management of idiopathic detrusor instability. *NeuroUrol Urodyn* 1987; 6: 256–7.

17. Becker AJ, Stief CG, Meyer M, Truss MC, Forssmann WG, Jonas U. The effect of the specific phosphodiesterase 4 inhibitor rolipram on the ureteral peristalsis in vitro and in vivo. *J Urol* 1998; 160: 920–5.

18. Ueckert S, Kueth A, Stief CG, Truss MC, Lietz B, Borkowski D, Jonas U. Initial characterization of phosphodiesterase isoenzymes from human prostatic tissue. *J Urol* 2001; 165 (Suppl. 5): 209.

19. Ho GD, Silverman L, Bercovici A, Puchalski C, Tulshian D, Xia Y, Czarniecki M, Green M, Clevon R, Zhang H, Fawzi A. Synthesis and evaluation of potent and selective cGMP-phosphodiesterase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 1999; 9: 7–12.

20. Rotella DP, Sun Z, Zhu J, Krupinski J, Pongrac R, Selinger L, Normandin D, Macor JE. Optimization of substituted N-3-benzylimidazoquinazolinone sulfonamides as potent and selective PDE5 inhibitors. *J Med Chem* 2000; 43: 5037–43.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

[Bilddatenbank](#)

[Artikeldatenbank](#)

[Fallberichte](#)

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

[Bestellung e-Journal-Abo](#)

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)