

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Gynäkologie der Medizinischen Fakultät  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

(Direktor: Professor Dr. med. habil. Christoph Thomssen)

**Untersuchungen zum Beckenbindegewebe der Frau unter besonderer  
Berücksichtigung des Halteapparates und des Gefäßsystems des Uterus  
und der Urethra**

**Klinische und funktionelle Aspekte,  
Immunhistochemie und Elektronenmikroskopie**

**Habilitation**

zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med. habil.

vorgelegt der  
Medizinischen Fakultät der  
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von  
Dr. med. Christian Göpel  
geboren am 22.10.1968 in Halle/S.

Eröffnung des Habilitationsverfahren: 22.01.2013

Abschluss des Habilitationsverfahren: 11.11.2014

Gutachter:

1. Prof. Dr. Dr. h.c. Hans-Rudolf Tinneberg (Universitätsklinikum Giessen und Marburg – Standort  
Giessen)

2. Prof. Dr. Marc Sütterlin (Universitätsmedizin Mannheim)

## Referat

Die Beckenbodeninsuffizienz bei der Frau hat in den letzten Jahren im klinischen Alltag erheblich an Bedeutung gewonnen. Bei der Entwicklung eines Deszensus bzw. Prolaps uteri und einer Belastungsinkontinenz spielen Veränderungen im Bindegewebe eine entscheidende Rolle. In der vorliegenden Arbeit haben wir das Beckenbindegewebe hinsichtlich kollagener und elastischer Fasern sowie der Glykoproteine Fibronectin, Laminin, Tenascin und Vitronectin bei Frauen mit Inkontinenz und Deszensus untersucht. Dabei konnten wir markante Unterschiede herausarbeiten. Wir fanden bei Patientinnen mit Prolaps uteri im Ligamentum sakrouterinum eine erniedrigte Konzentration von Kollagen Typ VI sowie Kollagen Typ I und III im Vergleich zu Frauen ohne Deszensus oder Inkontinenz. Die Färbungen zur Visualisierung von Kollagen Typ IV und V offenbarten keine Unterschiede zum Gewebe von Frauen ohne Deszensus-Problematik. Bei den Glykoproteinen zeigte sich eine auffällige Zunahme der Tenascintinktion bei Patientinnen mit Prolaps und erstmalig eine verminderte Immunfärbung vitronectinpositiver Fasern. Dagegen ist der Laminin- und Fibronectinanteil unverändert. Weiterhin konnte bei Patientinnen mit Prolaps uteri eine Abnahme elastischer Fasern postuliert werden. In den Blutgefäßwänden sind ähnliche Veränderungen wie beim Prolaps im Ligamentum sakrouterinum zu beobachten. Dies betrifft die Abnahme von Kollagentyp VI, Vitronectin und Elastin sowie die Zunahme von Tenascin in der Wand der Arteria uterina bei Patientinnen mit Prolaps uteri im Vergleich zu Frauen ohne genitale Senkung. Bei Patientinnen mit Belastungsinkontinenz fanden wir mittels Immunfluoreszenz periurethral ebenfalls eine Abnahme von Kollagen, insbesondere Kollagentyp VI, aber auch Kollagen Typ I und III sowie einen verminderten Nachweis des Glykoproteins Vitronectin im Vergleich zu Frauen ohne Stressinkontinenz. Die Kollagentyp IV- und V- Immunfärbung sowie die Glykoproteine Fibronectin und Laminin zeigten dagegen keine Unterschiede zwischen beiden Untersuchungsgruppen. Weiterhin wurde elektronenmikroskopisch bei Frauen mit hypotoner Urethra eine zunehmende Zerstörung elastischer Fasern festgestellt. Der Gehalt an Elastin nimmt hierbei deutlich ab. Unsere Befunde dokumentieren eindrucksvoll Bindegewebsveränderungen bei Patientinnen mit Beckenbodeninsuffizienz. Die Veränderungen im Fasersystem des Bindegewebes lassen eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung eines Prolaps bzw. einer Belastungsinkontinenz vermuten und begründen möglicherweise neue Therapiekonzepte.

**Göpel, Christian:** Untersuchungen zum Beckenbindegewebe der Frau unter besonderer Berücksichtigung des Halteapparates und des Gefäßsystems des Uterus und der Urethra

Klinische und funktionelle Aspekte, Immunhistochemie und Elektronenmikroskopie. Halle, Univ., Med. Fak. Habil. 154 Seiten, 12 Tabellen, 69 Abbildungen, 2013

# INHALTSVERZEICHNIS

Seite

<b>1</b>	<b>Einleitung und Zielstellung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Allgemeine, klinische und anatomische Aspekte der weiblichen Belastungsinkontinenz</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Allgemeine, klinische und anatomische Aspekte des Deszensus bzw. Prolaps uteri</b>	<b>7</b>
<b>4</b>	<b>Zusammensetzung des Bindegewebes und Charakterisierung von Bindegewebsproteinen</b>	<b>11</b>
4.1	Kollagen	11
4.2	Glykoproteine	14
4.3	Elastin	17
4.4	Bindegewebe und Belastungsinkontinenz	20
4.5	Bindegewebe und Prolaps	22
<b>5</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>27</b>
5.1	Untersuchungen im Ligamentum sakrouterinum bei Frauen mit und ohne Prolaps uteri	27
5.1.1	Indirekte Immunfluoreszenz und Antikörper	31
5.1.2	Proteinisolierung	31
5.1.3	Antikörperherstellung	32
5.1.4	Antikörperreinigung	33
5.2	Immunhistochemie der Wand der Arteria uterina bei Frauen mit und ohne Prolaps uteri	35
5.3	Periurethrale Bindegewebsuntersuchungen bei Frauen mit und ohne Belastungsinkontinenz	40
5.3.1	Immunfärbung	40

5.3.2	Elektronenmikroskopie	41
5.3.3	Fixierung und Einbettung	46
5.3.4	Kontrastierung	47
5.3.4.1	Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat	47
5.3.4.2	Selektive Kontrastierung mit Tanninsäure	47
<b>6</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>49</b>
6.1	Ligamentum sakrouterinum	49
6.1.1	Bilddokumentation	52
6.2	Arteria uterina	63
6.2.1	Bilddokumentation	65
6.3	Periurethrales Bindegewebe	76
6.3.1	Immunfluoreszenz	76
6.3.2	Bilddokumentation	78
6.3.3	Elektronenmikroskopie	84
6.3.4	Bilddokumentation	85
<b>7</b>	<b>Diskussion der Bindegewebsveränderungen</b>	<b>90</b>
7.1	Ligamentum sakrouterinum	90
7.2	Arteria uterina	98
7.3	Periurethrales Bindegewebe	103
<b>8</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>108</b>
<b>9</b>	<b>Schlussfolgerung und Ausblick</b>	<b>116</b>

<b>10</b>	<b>Literatur</b>	<b>121</b>
<b>11</b>	<b>Curriculum Vitae</b>	<b>147</b>
<b>12</b>	<b>Eidesstattliche Erklärung</b>	<b>151</b>
<b>13</b>	<b>Danksagung</b>	<b>152</b>
<b>14</b>	<b>Thesen</b>	<b>153</b>

## 1 Einleitung und Zielstellung

Beckenbodenprolaps und Harninkontinenz sind ein zunehmendes Problem der alternden Gesellschaft (Subak et al., 2012). Sie beeinträchtigen die Lebensqualität und führen zu steigenden Kosten im Gesundheitswesen (Bump und Norton 1998). Bereits 1997 kosteten beckenbodenchirurgische Eingriffe in den USA ca. 1,2 Milliarden Dollar (Subak et al., 2001).

Die Belastungsinkontinenz als häufigste Form der Inkontinenz der postmenopausalen Frau wird definiert durch unkontrollierten Harnabgang bei körperlicher Belastung z.B. Lachen und Husten, welcher abhängig vom intraabdominalen Druck ist. Die Hauptursache der Belastungsinkontinenz ist ein ineffektiver unzureichender Urethroverschlussdruck. Der ausreichende und damit effektive Urethroverschluss wird durch ein Zusammenspiel der verschiedenen Beckenbodenstrukturen mit der periurethralen Muskulatur gewährleistet. Es ist allgemein anerkannt, dass die suburethrale Vaginalwand und das paraurethrale Bindegewebe hier maßgebend für den Erhalt der Kontinenz sind (Ulmsten und Falconer, 1999). Ein epidemiologischer Faktor ist die vaginale Spontangeburt. Jede zweite Frau, die Kinder geboren hat, ist von einer Inkontinenz postmenopausal betroffen. Kim et al., (2007) geben mittlerweile 3 vaginale Spontangeburt als Risikofaktor an. Die vaginale Spontangeburt kann durch Verletzung der Nerven, der Muskeln und des Bindegewebes die Kontinenz negativ beeinflussen (Retzky und Rogers, 1995). Auch Veränderungen im Alter können die Entwicklung einer Inkontinenz beschleunigen (Mäkinen et al., 1995). Andere Risikofaktoren umfassen die genetischen Prädisposition (Altman et al., 2008), Lebenswandel und medikamentöse Ursachen (Casey et al., 2005).

Der Beckenbodenprolaps hat ebenso eine hohe Prävalenz in jeder Altersgruppe, jedoch eine Häufung zwischen dem 40. und 60. Lebensjahr mit 8 - 70% (Buckley und Lapitan, 2010). Die Risikofaktoren sind ähnlich der Entwicklung einer Inkontinenz (Tinelli et al., 2010). Der Beckenbodenprolaps und die Belastungsinkontinenz können gleichzeitig aber auch zu verschiedenen Zeiten bei derselben Patientin auftreten, wobei der Beckenbodenprolaps die Inkontinenz maskieren kann (Lowder et al., 2010). Diese Form wird als Quetschhahnmechanismus bzw. larvierte Belastungsinkontinenz bezeichnet (Grody, 1998; Romanzi et al., 1999). Bei der Ätiologie der Harninkontinenz und des Beckenbodenprolaps werden demzufolge multifaktorielle Ursachen vermutet. Offensichtlich unterscheidet sich dies auch bei jeder der Betroffenen. Die pathophysiologischen Prozesse bei der Beckenbodeninsuffizienz sind nicht vollständig

geklärt. Dem Bindegewebe des Beckenbodens wird eine entscheidende Rolle zugesprochen. Insbesondere die nachlassende Stabilität der Bindegewebsfasern beeinflusst die Lage der Beckenbodenorgane und führt zu einer Senkung bzw. Prolaps. Bei der Betrachtung des Bindegewebes sind Untersuchungen des Kollagens als deren Hauptbestandteil von grundsätzlicher Bedeutung (Ulmsten et al., 1987; Ulmsten und Falconer, 1999). Verschiedene Publikationen beschäftigten sich mit dem Beckenbodenbindegewebe. Sie wiesen einen verminderten Kollagengehalt z.B. in der vesikovaginalen Faszie, der vorderen Bauchwand und des Ligamentum rotundum bei Patientinnen mit Inkontinenz oder Prolaps im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe auf. Dies wird bei Patienten mit Bindegewebserkrankungen wie dem Ehlers-Danlos- oder Marfan-Syndrom besonders deutlich (Carley und Schaffer, 2000). Jedoch sind die Untersuchungsergebnisse über Veränderungen im Kollagenmetabolismus bezüglich der Insuffizienz des Beckenbodens z.T. widersprüchlich (Chen und Yeh, 2011). Weiterhin spielen die Glykoproteine als Schlüsselemente in der Bindegewebsmatrix eine wichtige Rolle. Sie wurden im Zusammenhang mit einer Beckenbodeninsuffizienz bisher kaum untersucht. Neben Kollagen und Glykoproteinen sind auch reichlich elastische Fasern im Beckenbodenbindegewebe nachzuweisen. Sie sind ein wichtiger Bestandteil der extracellulären Matrix und beeinflussen deren Stabilität und Elastizität (Davis und Mecham, 1998). In den Phasen der Reproduktion wie der Schwangerschaft und im Wochenbett kommt es zu einer erheblichen Beeinflussung des Stoffwechsels und damit der Balance des Auf- und Abbaus – sogenannter Turn over - der kollagenen und elastischen Fasern (Woessner, 1963). Der Turn over wird beeinflusst durch die Kollagen- und Elastinsynthese und der Abbau durch die Proteasen. Bisher bekannt und am besten untersucht sind die Matrix-Metalloproteinasen und Elastasen (Campeau et al., 2011). Früher wurde vermutet der Turn over im ausgereiften Bindegewebe verlangsamt sich mit zunehmendem Alter (Davis, 1993). Heutige Erkenntnisse lassen den Schluss nicht mehr zu. Die Regulatoren der Proteasen wie die Tissue Inhibitor Metalloproteinase (TIMP) als auch Alpha-1 Antitrypsin können jederzeit hoch und runterreguliert werden. Zum einem kann dies durch veränderten Hormonhaushalt, als auch durch unterschiedliche Empfindlichkeit der Hormonrezeptoren in den Fibroblasten geschehen (Skala et al., 2010; Copas et al., 2001). Auch genetische Polymorphismen können die Expression der beteiligten Komponenten hoch oder runterregulieren (Allen-Brady et al., 2009). Davon sind auch

die für die Vernetzung der elastischen und kollagenen Fasern, genannt cross linking, so wichtige Lysyloxidasen betroffen (Klutke et al., 2010).

Zusammenfassend ist diese Balance des Turn over durch Beeinflussung einer oder mehrerer der oben genannten Komponenten gestört. Dies begünstigt unter anderem die Entstehung eines Prolaps bzw. einer Belastungsinkontinenz (Shynlova et al., 2013). Ziel der vorliegenden Untersuchung ist nun die Visualisierung der einzelnen Bindegewebskomponenten und die Beschreibung der Veränderungen in Bezug auf Prolaps und Belastungsinkontinenz. Der Nachweis der Matrixproteine kann in Anbetracht der vielfältigen Regulationsmechanismen nur ein kleiner Baustein zum Verständnis des Bindegewebsgerüsts sein.

## **2 Allgemeine, klinische und anatomische Aspekte der weiblichen Belastungsinkontinenz**

Die Stressinkontinenz ist die häufigste Form der Inkontinenz bei Frauen und gehört zu den zehn am meisten die Lebensqualität postmenopausaler Frauen belastenden Alterserscheinungen (Davis et al., 2013; Hunskaar et al., 2000). In den letzten Jahren hat sie an Bedeutung in der allgemeinen Praxis gewonnen. Man schätzt die Prävalenz auf 64 Prozent, wobei die Angaben jedoch differieren. Nach Nygaard et al., 2008 leiden 16 % aller über 20-jährigen Frauen an einer Belastungsinkontinenz. Postmenopausal sind 30 bis 40 Prozent aller Frauen betroffen (Davis et al., 2013). Es resultieren daraus psychologisch, soziale und hygienische Probleme und eine zunehmende pflegerisch-medizinische und sozioökonomische Herausforderung (Subak et al., 2012; Füsgen, 2005). Die Stressinkontinenz ist als unwillkürlicher Urinverlust bei ansteigendem intraabdominalen Druck (z.B. durch Husten, Niesen oder mechanische Belastung) ohne Kontraktion des Detrusormuskels definiert (Weber et al., 2001).

Unter Stresssituationen z.B. beim Husten kann in der urodynamischen Untersuchung stressinkontinenter Frauen ein deutlich verminderter Urethraverschlussdruck festgestellt werden (Enhörning, 1961). Trotz vieler Studien zur Anatomie der Urethra und des umliegenden Gewebes ist die eindeutige Funktion der periurethralen anatomischen Strukturen bezüglich des Urethraverschlusses nicht endgültig geklärt. Dorschner et al. (2001) favorisierte die sphinkterförmig angeordneten glatten Muskelzellen vesikourethral sowie in der Urethrawand selbst. Dagegen haben Gosling (1979) und Rud et al. (1980) der quergestreifte Muskulatur bzw. den periurethralen Blutgefäßen



eine entscheidende Rolle zugeordnet. Huisman (1983) beschrieb den Venenplexus periurethral als mitverantwortlich für den effizienten Urethraverschluss. In diesem Zusammenhang wurde auch über eine Zunahme der periurethralen Vaskularisation unter Estrogengabe bzw. die Abnahme in der Menopause berichtet (Kobata et al., 2008). Im Zusammenhang mit der Inkontinenz haben auch einige Autoren das Bindegewebe um die Harnröhre in ihre Überlegung mit einbezogen (Enhörning, 1961; Gosling, 1979; Norton, 1996). Nach der Hypothese von Petros und Ulmsten 1990 (Integraltheorie) und DeLancey 1994 (Hängemattenhypothese) wurde eine Verminderung des Urethraverschlussdruckes durch Änderungen im Bindegewebe vermutet.

Der turn over der extracellulären Matrix ist somit deutlich verändert im Sinne einer Imbalance. Der Elastingehalt nimmt periurethral bei einer Belastungsinkontinenz ab (Chen et al., 2004), die Elastaseaktivität und folglich der forcierte Abbau der elastischen Fasern nimmt zu (Chen et al., 2007). Auch der Kollagengehalt nimmt bei Frauen mit Stressinkontinenz ab (Suzme et al., 2007). Zahlreiche weitere Faktoren führen zu einer Belastungsinkontinenz, die aber auch immer wieder kontrovers diskutiert werden wie z.B. das Alter, Hormonstatus, neurologische oder psychiatrische Erkrankungen, Immobilität (McGrother et al., 1998), die vaginale Spontangeburt (Kim et al., 2007, Foldspang et al., 1992), Adipositas (Sustersic und Kralj, 1998) sowie vorausgegangene Beckenbodenchirurgische Eingriffe (Hunskaar et al., 2000). Auch familiäre Häufungen sind zu beobachten. Ein simultanes Auftreten einer Belastungsinkontinenz bei Zwillingen wurde bei der Auswertung der Daten eines schwedischen Zwillingsregisters von Altman et al. (2008) beobachtet und unterstreicht die genetische Determination. McLennan et al. (2008) zeigen ein 1,4 fach erhöhtes Risiko für eine Prolapsentwicklung bei positiver Familienanamnese von Inkontinenz, Prolaps oder Hernien. Dies bestätigt auch Buchsbaum et al. (2006) bei biologischen Schwestern und deren ähnlicher Kontinenzstatus unabhängig einer vorausgegangenen vaginalen Spontangeburt. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit einer umfangreichen Forschung über die Entstehung einer Stressinkontinenz sowie der Prävention und Therapie. In Kurzform folgen die bisherigen Theorien der Entstehung einer weiblichen Belastungsinkontinenz.

1) Drucktransmissionstheorie nach Enhörning (1961)

Der Blasen Hals liegt in seiner normalen anatomischen Lage oberhalb des Beckenbodens im abdominopelvinen Gleichgewicht. Bei Erhöhung des intra-abdominalen Druckes steigt auch der Druck im Blasen Hals und die Kontinenz ist gewährleistet. Bei Verlagerung des Blasen Halses aus dem intraabdominalen Bereich unter die Beckenbodenebene entsteht nun bei einem Anstieg des intrabdominalen Druckes ein Druck entlang des Blasen Halses in der Urethra. Der intravesikale Druck übertrifft den Urethraldruck und es kommt zu einer Inkontinenz.

2) Suburethrale Hängemattentheorie nach DeLancey (1994)

Die vordere Vaginalwand bildet im Bereich des Blasen Halses ein Widerlager unter der Urethra, die suburethrale Hängematte. Die Kontraktion der periurethralen Muskulatur bedingt eine Annäherung des suburethralen Bindegewebes an die Urethra und dadurch den Urethraverschluss und im Gegenzug durch Muskelrelaxation eine Öffnung der weiblichen Harnröhre. Eine Erschlaffung der vorderen Vaginalwand führt zu unvollständiger Kompression und damit Inkontinenz.

3) Integraltheorie nach Petros und Ulmsten (1990, 1993)

Der Miktionszyklus erfolgt durch das Zusammenspiel der pubourethralen Muskulatur und Levatormuskulatur, der Pubourethral Ligamente, der Pubococcygealmuskulatur und der Sakrouterin Ligamente. Sie koordinieren die Wirkung der Muskelkräfte und führen damit zu einer Verlagerung der Vagina, womit die Urethra geöffnet wird oder verschlossen werden kann. Der Funktionsverlust einer dieser Strukturen beeinflusst den Urethraverschlussmechanismus und bedingt die zu Inkontinenz.

Diese Theorien bildeten auch die Grundlage für die operativen Therapien der Stressinkontinenz. Burch beschrieb infolge der Drucktransmissionstheorie die urethrovaginale Fixation der vorderen Vaginalwand an das Coopersche Ligament zur Behandlung der Stressinkontinenz und einer Zystozele 1961 (Burch et al., 1961).

Für viele Jahre galt die Burch-Kolposuspension als Goldstandard. Die Erfolgsrate lag bei 61%-100%, bei einer Komplikationsrate bis zu 41% (Dainer et al., 1999). Ein weiteres Problem ist die häufig folgende Senkung im posterioren Kompartiment (Wiskind et al., 1992). Dies führte auf der Grundlage der Integraltheorie zur Entwicklung der TVT-Operation (Ulmsten et al., 1996). Die Einlage eines spannungsfreien Bandes mittrethral ist mittlerweile als Goldstandard anzusehen (Kilicarslan et al., 2003).

Jedoch sind die Langzeitergebnisse der Kolposuspension nach Burch bezüglich der Inkontinenzbehandlung ähnlich effektiv, allerdings verbunden mit einer längeren OP-Zeit (Ward et al., 2007).

Der sichere Verschluss der weiblichen Harnröhre in Belastungssituationen ist somit abhängig vom Zusammenspiel der verschiedenen intra- und extraurethralen Strukturen. Die wichtigsten extraurethralen Bestandteile sind wie oben beschrieben die suburethrale Vaginalwand, die Pubourethralligamente, die endopelvine Fascie des Muskulus pubococcygeus und die Muskulus levator ani, aber auch das periurethrale Bindegewebe (Ulmsten und Falconer, 1999; DeLancey et al., 2007; Miller et al., 2004). Der Entstehung einer weiblichen Belastungsinkontinenz scheinen anatomische Dysfunktionen, biochemische und ultrastrukturelle Defekte der intra- und extraurethralen Bestandteile vorauszugehen (Falconer et al., 1996). Dies erklärt unter anderem die mit über 10 % sehr hohe Rezidivrate nach Stressinkontinenzoperationen (Leach et al., 1997).

Die Rolle des Bindegewebes spielt somit eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung einer Belastungsinkontinenz und soll ein Schwerpunkt vorliegender Untersuchungen sein.

### **3 Allgemeine, klinische und anatomische Aspekte des Deszensus bzw. Prolaps uteri**

Der Beckenboden als kaudaler Abschluss der abdominalen Cavität trägt die Organe des Abdomens. Er schützt beim aufrechten Gang die Organe vor dem unkontrollierten Tiefertreten und ermöglicht z.B. Sexualverkehr, die Geburt sowie Stuhl- und Urinkontinenz bzw. –entleerung (Milley and Nichols, 1970). Beckenbodeninsuffizienz kann dazu führen, dass bei Druckerhöhung im Bauchraum der Beckenboden nicht mehr in der Lage ist, den Hiatus genitalis zu schließen bzw. die Organe des Beckens vor einer Absenkung zu schützen (Norton et al., 1995).

Der daraus resultierende Prolaps der Organe des weiblichen Beckens insbesondere der Gebärmutter ist weit verbreitet, häufig bei älteren Frauen. Dies führt bei den Betroffenen zu einer erheblichen Beeinträchtigung der Lebensqualität. Es wird angenommen, dass ca. 50 % aller Frauen, die ein oder mehrere Kinder geboren haben, unter einem der verschiedenen Grade des Beckenbodenprolaps leiden (Kim et al., 2007).

Weitere Risikofaktoren sind das Lebensalter (über 70 Jahre), Adipositas, Rasse, Hormonmangel, vorausgegangene beckenbodenchirurgische Eingriffe und neurologische Erkrankungen (Moalli et al., 2003; Smith et al., 1989; Swift et al., 2003). Auch genetische Ursachen sind bereits vermutet worden. So beobachtete Altman et al. (2008) eine Häufung von Prolaps und Inkontinenz bei Zwillingen nach Auswertung der schwedischen Zwillingsregisterstudie.

Über die Hälfte aller über 50-jährigen Frauen haben einen Deszensus, ein Drittel aller betroffenen Frauen leiden an einer symptomatischen Zystozele mit einer Inzidenz von 9 auf 100 Frauenjahre (Handa et al., 2004). Ab dem 80. Lebensjahr sind bereits über 11 % der Frauen am Beckenboden operiert. 1997 sind in den USA über 220 000 Frauen aufgrund eines Prolaps operiert worden und mittlerweile die häufigste Indikation für einen operativen Eingriff einer postmenopausalen Frau (Olsen et al., 1997).

Die Insuffizienz kann nach DeLancey insgesamt 3 Levels des weiblichen Beckenbodens betreffen:

- Level 1:      Betrifft das Ligamentum sakrouterinum bzw. der Ansatz am oberen Scheidendrittel.
- Level 2:      Bezieht sich auf das mittlere Drittel der Scheide, welches durch die laterale, endopelvine Faszie mit dem Arcus tendinus fascia pelvis verankert ist sowie die Fascia superior des Muskulus levator ani.
- Level 3:      Beeinhaltet das untere Drittel der Scheide sowie das Perineum.

Im deutschen Sprachraum gilt folgende Grad-Einteilung des Deszensus genitalis:

- Grad   1:    Senkung nicht bis zum Introitus
- Grad   2:    Senkung bis zum Introitus
- Grad   3:    Die größte distale Ausdehnung reicht bis max. 2 cm vor den Introitus
- Grad   4:    Totalprolaps über den Introitus hinaus  
(entsprechend der Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe)

International wird auch das Pelvic Organ Prolaps Quantifikation System (POP Q) der International Continence Society (ICS) angewendet. Es definiert die Stadien des Prolaps folgendermaßen:

- Stadium 0:   kein Prolaps
- Stadium 1:   die größte distale Prolapsausdehnung ist mehr als 1 cm proximal des Hymenalsaumes
- Stadium 2:   die größte distale Prolapsausdehnung ist 1 cm oder weniger proximal oder distal zur Ebene Hymens
- Stadium 3:   die größte distale Prolapsausdehnung ist mehr als 1 cm unter der Ebene des Hymens, aber nicht mehr als 2 cm weniger als die totale Vaginallänge in Zentimetern.
- Stadium 4:   kompletter Prolaps der gesamten Vaginallänge des unteren Genitaltraktes

(in Anlehnung an die Empfehlungen von Weber et al., 2001).

Während im deutschen Sprachraum der Begriff Deszensus verwendet wird, hat sich im englischsprachigen Raum der Begriff POP, dies steht für pelvic organ prolaps, durchgesetzt. Im deutschen Schrifttum wird in Anlehnung an die Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe unter Prolaps das vollständige Heraustreten des Organs bezeichnet. In dieser Arbeit werden Deszensus und Prolaps synonym verwendet.

In den letzten Jahren hat sich auch das Spektrum operativer Techniken in der plastischen Rekonstruktion des weiblichen Beckenbodens deutlich erweitert. Die Rate an Rezidiven und Folgeeingriffen ist mit 17% sehr hoch (Denman et al., 2008). Deshalb ist es von besonderem Interesse, mehr über die Entstehung eines Beckenbodenprolaps und speziell des Uterusprolaps zu wissen. Die Abnahme des Kollagenanteils bei Frauen mit Prolaps wird bereits seit einigen Jahren postuliert (Chen et al., 2004; Chen et al., 2002; Ulmsen et al., 1987). Dies betrifft auch Regionen außerhalb des Beckenbodens und unterstreicht die These einer allgemeinen Bindegewebsschwäche (Bakas et al., 2004).

Aus dem bisherigen Wissensstand über die Entstehung eines Prolaps uteri können wir annehmen, dass hier das Ligamentum sakrouterinum neben dem Ligamentum cardinale eine herausragende Rolle spielt (Ramanah et al., 2012).

Es gewährleistet die Stabilität des Uterus sowie des oberen Scheidendrittels (DeLancey, 1992).

Auch bei einer Senkung der vorderen Scheidenwand wird dem Ligamentum sakrouterinum eine ursächliche Rolle zugeschrieben (Rooney et al., 2006; Summers et al., 2006).

Bereits 1950 beschrieb Campbell das Ligament als ein Gebilde fibroelastischen Gewebes, glatter Muskulatur und Nervenfasern. Das Ligament zieht dorsolateral der Zervix zur präsakralen Fascie und den Wirbelkörpern S2-S4. Buller et al. (2001) favorisiert S1-S3 als Ansatz sowie eine Faservermischung mit dem Ligamentum cardinale. Auch der Muskel coccygeus, Muskel piriformis sowie das Os sacrum sind als proximale Insertionsstellen beschrieben (Umek et al., 2004).

Das Ligamentum sakrouterinum wird in einen sacralen, mittleren und zervikalen Anteil eingeteilt.

Das zervikale Drittel ist charakterisiert durch Bindegewebe, Muskelfasern sowie kleine Blutgefäße und Nervenstränge. Das mittlere Drittel hat im Vergleich dazu einen höheren Anteil an Bindegewebsfasern, aber weniger Muskelfasern, Blutgefäße und Nervenbündel. Das sakrale Drittel hat weniger Bindegewebsanteile, einige Lymph- und Blutgefäße sowie Fettgewebe (Ramanah et al., 2008).

Die Nervenbündel sind zu einem großen Anteil dem Plexus hypogastricus inferior zuzuordnen (Butler-Manuel et al., 2000).

Der zervikale Anteil kann bis 17 kg halten, bis er nachgibt. Der sakrale Anteil hält dagegen nur 5 kg (Buller et al., 2001). Im sakralen Anteil sind auch deutlich mehr Nervenstränge, insbesondere der Sakralnerven zu sehen, als im zervikalen Anteil (Wieslander et al., 2007).

Die Angaben zur Gesamtlänge differieren zwischen 8,7 cm (Siddique et al., 2006). und 12-14 cm (Vu et al., 2010). Zu erklären ist dies mit den unterschiedlichen Untersuchungsbedingungen z.B. als frische Leiche, nach Paraffineinbettung oder mittels bildgebender Verfahren (Umek et al., 2004). Die rechte Seite ist breiter als die linke Seite (Campbell 1950).

Cole et al. (2006) fanden im Ligamentum sakrouterinum neben Kollagenen auch elastische Fasern sowie Fibroblasten.

Die funktionelle Bedeutung besteht einerseits in der Verankerung und Stabilisierung des Uterus sowie des oberen Scheidendrittels und andererseits in einer Gewährleistung der Flexibilität. Dies betrifft die Blase, die Vagina und das Rektum. Hier erfordern die unterschiedlichen Füllungszustände bzw. Lageveränderungen und Beanspruchung der Organe eine hohe Compliance der Bindegewebsstrukturen.

Für unsere Untersuchungen spielen die immunhistochemischen Färbungen der Biospien aus dem zervikalen Drittel des Ligamentum sakrouterinum eine wichtige Rolle.

## **4 Zusammensetzung des Bindegewebes und Charakterisierung von Bindegewebsproteinen**

Unter der Bezeichnung Bindegewebe wird jenes Gewebe verstanden, welches Organe und Körperteile zusammenhält. Es beinhaltet Zellen und die Intercellularsubstanz. Bestandteile des Bindegewebes sind nach heutigen Auffassungen Bindegewebszellen, geformte (Kollagene, Elastin) und ungeformte Bestandteile (Proteoglykane, Matrix-Glykoproteine) sowie Wasser, Elektrolyte und Glykoproteine aus dem Blut (v. Keyserlingk, 1985).

Das Bindegewebe wird unterteilt in die pericelluläre Matrix, deren Komponenten mit Strukturen der Zellmembran verbunden sind, in das klassische Interstitium, welches den Intercellularraum einnimmt und die Zellen voneinander trennt sowie in die Basalmembran, als Support der epithelialen und endothelialen Zellen (Schuppan 1990). Im aktuellen Schrifttum wie auch in der vorliegenden Arbeit wird der Begriff Bindegewebe und extracelluläre Matrix synonym verwendet. Die extracelluläre Matrix ist für die Entwicklung von multicellulären Organismen unerlässlich (Shoulders und Raines, 2009). Sie liefert den Zusammenhalt der einzelnen Gewebekompartimente, induziert die Zellpolarisation und beeinflusst die Differenzierung und Genexpression (Slavkin, 1982; Mauger et al., 1983). Das Stroma hat damit eine wichtige Funktion für das Zellwachstum und den Erhalt multicellulärer Organismen (Hay 1984). Die Matrixkomponenten spielen des Weiteren in Umbau- und Reparaturvorgängen ausdifferenzierter Gewebestrukturen (Sodek 1977) eine wichtige Rolle. Sie beinhalten Kollagene und Glykoproteine, auf die in den nächsten beiden Abschnitten eingegangen wird.

### **4.1 Kollagen**

Kollagene sind eine Familie von genetisch und funktionell verschiedenen Strukturproteinen (Brinkmann, 2005). Sie repräsentieren nahezu ein Drittel aller Proteine des menschlichen Organismus. Mittlerweile unterscheidet man 28 Kollagentypen (Veit et al., 2006, Shoulders and Raines, 2009). Eine Übersicht in dieser Arbeit verwendeter Kollagene hinsichtlich Strukturzusammensetzung und Lokalisation zeigt Tabelle 1.



**Tabelle 1: Übersicht der untersuchten Kollagentypen (Shoulders and Raines 2009)**

Typ	Strukturzusammensetzung	Lokalisation
I	$\alpha 1(I)2\alpha 2(I)$	Interstitielle Fibrillen in der Haut, Sehnen, Ligamente
III	$\alpha 1(III)3$	Interstitielle Fibrillen in der Haut, Blutgefäße, Magen-Darmtrakt, Ligamente
IV	$\alpha 1(IV)2 \alpha 2(IV)$ $\alpha 3[IV]\alpha 4[IV]\alpha 5[IV]$ $\alpha 5[IV]2\alpha 6[IV]$	Basalmembran
V	$\alpha 1[V]3$ $\alpha 1[V]2\alpha 2[V]$ $\alpha 1[V]\alpha 2[V]\alpha 3[V]$	Interstitielle Fibrillen in der Intima der Blutgefäße, Haut, Ligamente, Plazenta
VI	$\alpha 1(VI)\alpha 2(VI)\alpha 3(VI)$ $\alpha 1[VI]\alpha 2[VI] \alpha 4[VI]$	Interstitielle interfibröse Filamente in der Haut, Ligamente, Kornea

Sämtliche Kollagentypen bestehen entweder aus 3 gleichen oder aus verschiedenen Polypeptidketten, die eine Tripelhelixstruktur formen. Häufig vorkommende Aminosäuren im Kollagen sind Prolin, Hydroxyprolin und Glycin. Hydroxyprolin ist ein typischer Bestandteil des Kollagen (Piez, 1984) und kann für die quantitative Bestimmung herangezogen werden (Suzme et al., 2007; Schultka et al., 1986). Es gibt verschiedene Polypeptidketten ( $\alpha$ -Ketten), die sich in Aminosäuresequenz und Länge unterscheiden. Durch Kombination der Polypeptidketten ergeben sich distinkte Kollagentypen (Bornstein und Sage, 1980). Sie lassen sich in den Gewebekompartimenten nachweisen und unterscheiden sich morphologisch (v. Keyserlingk 1985).

Intracellulär werden die Tripel-Helix-Precursormoleküle - Prokollagene genannt - synthetisiert. Die amino- und carboxy-terminalen Enden enthalten nichtkollagene Peptide (Sage und Bornstein, 1982). Das carboxy-terminale Ende spielt während der Synthese im rauen endoplasmatischen Reticulum eine bedeutende Rolle in Auswahl und korrekter Anordnung der 3  $\alpha$ -Ketten (Schuppan und Hahn, 1987). Dort findet auch die Hydroxylierung der Prolin- bzw. Lysinreste statt. Nach Exprimierung folgt die Spaltung der N- und C-terminalen Prokollagenpeptide (Fessler und Fessler, 1978). Die Molekülanordnung sowie die verschiedenen enzymatisch gesteuerten Stabilisierungsprozesse liefern Voraussetzungen für die Fibrillogenese (Fleischmajer et al., 1983). Die Regulation der Fibrillenbildung unterliegt Einflüssen, die nicht alle endgültig geklärt sind (Kadler et al., 2008). Die Kollagenasen werden im aktuellen Schrifttum als Matrix-Metalloproteinasen (MMP) bezeichnet. Der Regulator der Matrix-Metalloproteinasen sind die Tissue derived Inhibitor Metalloproteinasen, genannt TIMP (Shapiro, 1998). Deren Zusammenspiel garantieren den Abbau des Kollagens und damit die Aufrechterhaltung der Umsatzrate, auch Turn over genannt (Chen et al., 2002).

Die Fasern, die aus Typ I- und III-Kollagen bestehen, bilden den Hauptanteil der Strukturproteine (Henkel und Glanville, 1982; Miller und Gay, 1987).

Kollagen Typ III ist in den frühen Phasen der Wundheilung und bei der Leberfibrose verstärkt nachweisbar (Gay und Miller 1978). Kollagen Typ V wird in filamentösem Material gefunden, welches am Ende der großen Kollagenfibrillen entspringt. Es wird als eine Komponente der sogenannten Kernfibrillen betrachtet (Becker et al., 1991). Typ I- und V-Kollagen werden häufig aneinander assoziiert in einer Faser nachgewiesen (Fitch et al., 1984). Typ V-Kollagen kommt in den meisten Geweben in geringerer Menge als Kollagen Typ I und III vor, ist aber in arteriosklerotisch veränderten Gefäßen, bei Leberfibrose und im Granulationsgewebe vermehrt visualisierbar (Schuppan, 1990). Mit Hilfe immunhistochemischer und elektronenmikroskopischer Verfahren stellen sie sich extracellulär als schmale Fasern und oft an glatte Muskelzellen assoziiert dar (Gay et al., 1981). Lichtmikroskopisch wird Kollagen Typ V in Nähe der Basalmembran und in der Interna der Arterien gefunden (Modesti et al., 1984).

Typ IV-Kollagen ist neben Laminin, Entactin und Heparansulfat eine Hauptkomponente von Basalmembranen. Es unterscheidet sich biochemisch von den fibrillären Kollagenen Typ I, III und V. Prokollagen Typ IV ist deutlich länger (400 nm) als

Prokollagene von Typ I und III (320 nm) (Timpl et al., 1981). Prokollagen Typ IV wird nicht dem extracellulären Processing unterzogen. Es polymerisiert in ein 3-dimensionales Netzwerk, das auf jene terminalen Propeptide zurückzuführen ist, die nicht proteolytisch abgebaut werden (Timpl, 1989). Diese extracellulären Strukturen separieren die Epithelzellen vom darunterliegenden Bindegewebsstroma und spielen eine bedeutende Rolle in der Zelldifferenzierung, der Morphogenese und der Wundheilung. Basalmembranen regulieren somit die Ernährung und Morphe des Epithels und bilden einen selektiven Filter zwischen zirkulatorischen und stromalen Kompartimenten (Miner et al., 2004)

Entgegen früherer Vermutungen ist Typ V-Kollagen kein Bestandteil der Basalmembran. Broeck et al. (1985) und Schuppan et al. (1986) beschreiben Typ V als mikrofibrilläres Kollagen im Bindegewebsstroma, welches nur in Kontakt mit, aber kein Bestandteil der Basalmembran ist. Kollagentyp V ist direkt in die Fibrillogenese involviert und kontrolliert auch die Größe der jeweiligen Bindegewebsfasern.

Kollagen Typ VI - ein mikrofibrilläres Kollagen - ist mit Kollagen Typ I und III assoziiert und oft zusammern in einer Faser integriert. Kollagentyp V und VI sind auch in der Matrix zwischen den Fasern zu finden (Hardingham und Fosang, 1992). Es ist ebenso für die Faserbildung, die sogenannte Fibrillogenese verantwortlich, und dient als Verbindung zwischen Kollagenen und elastischen Fasern (Scott, 1988).

Kollagen Typ VI wird als ubiquitäre Komponente der extracellulären Matrix gefunden (Von der Mark et al., 1984; Bruns et al., 1986). Trueb et al. (1987) beschreiben Typ VI-Kollagen als ein Hauptbestandteil der Strukturkomponenten im Bindegewebe. Prokollagen Typ VI ist mit einer Länge von 105 nm deutlich kürzer als Prokollagene Typ I, III, IV und V, wobei es als antiparalleles Dimer angeordnet ist und 2 von diesen zu einem Tetramer assoziieren (Engel et al., 1985). Bauelementhistochemische Untersuchungen zeigen, dass Kollagen Typ VI-Filamente ein flexibles Netzwerk für die Verankerung z.B. von Blutgefäßen, Nerven und Kollagenfasern in die umgebende Matrix bilden (Bruns et al., 1986).

## **4.2 Glykoproteine**

Neben Kollagen spielen im Intercellularraum auch Glykoproteine eine wichtige Rolle. Sie werden durch Proteine mit relativ kurzen Kohlenhydrat-Seitenketten charakterisiert und sind oft mit anderen Matrixmolekülen verknüpft (v. Keyserlingk, 1985). Glykoproteine sind Schlüsselemente für die strukturelle und funktionelle Organisation der extracellulären Matrix und unter anderem in Vorgänge der

Signaltransduktion involviert (Ruoslahti, 1988). Wichtige Glykoproteine dieser Arbeit sind in Tabelle 2 aufgelistet.

**Tabelle 2: Molekulargewicht und Lokalisation der Glykoproteine (Schuppan et al., 1990)**

Glykoprotein	Molekulargewicht [kDA]	Lokalisation
Vitronektin	70	Interstitium
Fibronektin	540	Interstitium
Tenascin	1200	Interstitium
Laminin	900	Basalmembran

Das Glykoprotein Fibronektin kommt in gelöster Form im Blut und in ungelöster Form auf Zelloberflächen und im Bindegewebe vor (Kadler et al., 2008). Charakteristisch sind spezifische Bindungsstellen für Kollagen und Fibronektin bzw. Fibrin sowie einige Glykosaminoglycane wie Heparansulfat, Heparin und Hyaluronsäure (Hynes, 1985). Es bindet ebenso an Oligosaccharide, die über die Oberflächen der Zellen hinausragen. Da die Bindungsstellen für Kollagen, Glykosaminoglycane, Integrine und Zelloberflächenstrukturen am Molekül an verschiedenen Positionen lokalisiert sind, werden die Strukturen über Fibronektin aneinander gebunden (Engvall und Ruoslahti 1977; Furcht, 1983; Hakamori et al., 1984). Gelöstes Fibronektin wird bei der Blutgerinnung in das Gerinnsel eingeschlossen. Dies liefert die Haftmöglichkeit für das Einwandern von Zellen in das Gerinnsel (Clark, 1987). Bei Wundheilung ist es Bestandteil im Granulationsgewebe noch vor dem Auftreten von Kollagenfasern und verschwindet im Narbengewebe. Fibronektin wird zwischen den Kollagenfibrillen und einem Netzwerk ungebundener Mikrofibrillen, welche Typ V- Kollagen enthalten, nachgewiesen und ist in die Biosynthese des Kollagen involviert (Kadler et al., 2008). Laminin ist ein weiteres Glykoprotein und bildet mit Kollagen Typ IV die Hauptkomponente aller Basalmembranen. Somit wird es in fast allen Organen nachgewiesen (Miner et al., 2004). Als kreuzförmiges Molekül besitzt es Domänen, die spezifisch an Kollagen Typ IV, Heparansulfat, Entactin, Integrine sowie mindestens 2 Klassen von Zellmembranrezeptoren epithelialer und endothelialer Zellen binden (Aumailley et al., 1987). Es wird von den auf der Basalmembran aufsitzenden Epithelzellen produziert und reguliert Wachstum sowie Ernährung der Epithelzellen (Timpl et al., 1979). Es

bindet die Komponenten der Basalmembran an die darunter liegenden Zellstrukturen und stabilisiert sie (Timpl 1989). In der Embryonalentwicklung beeinflusst es die Zellmigration und das Wachstum z.B. der Nervenzellen und Blutgefäße (Schéele et al., 2007). Bei zahlreichen Erkrankungen spielt dieses Glykoprotein eine wichtige Rolle. Bei Patienten mit allergischen Asthma zeigt sich eine Lamininüberproduktion mit Verdickung der Basalmembran (Amin et al., 2005). Dagegen wird die Lamininexpression bei beginnender Tumorinvasion deutlich reduziert (Määttä et al., 2001).

Tenascin umfasst eine Familie von vier multimerischen Glykoproteinen der extracellulären Matrix (Tucker und Chiquet-Ehrismann, 2009). Diese beinhaltet Tenascin C, X, R und W. Das am intensivsten analysierte Mitglied dieser Familie ist Tenascin C, welches auch in dieser Arbeit untersucht wird. Das Glykoprotein Tenascin C – frühere Begriffe sind Cytotactin und Hexabrachion - wird im Mesenchym um das sich entwickelnde Epithelgewebe vieler fetaler Organe gefunden (Aufderheide und Ekblom, 1988).

Zhang et al. (1993) beschreiben Tenascin in Form globulärer Strukturen zwischen lose gepackten Kollagenfibrillen. Es zeigt eine fast konträre Verteilung zu Fibronectin und ist z.B. in die Wundheilungsprozesse eingebunden (Neurath, 1993; Huang et al., 2001). Tenascin C ist ebenso in pathophysiologische Vorgänge, z.B. bei Gefäß-erkrankungen (Ishigaki et al., 2011) involviert, beeinflusst Zellmigration und Wachstum und reguliert unter anderem die Zell-Zell-Adhäsion (Liotta und Kohn, 2001). Es wird jedoch auch im Stroma von Karzinomen beobachtet und ist Marker für die epitheliale Malignität (Chiquet-Ehrismann et al., 1986, 1988). Auch in der Umgebung von invasiven und präinvasiven Tumoren z.B der Brust ist Tenascin lokalisierbar (Goepel et al., 2000; Goepel et al., 2003).

Das multifunktionale Glykoprotein Vitronectin ist ein weiterer Bestandteil der extracellulären Matrix und des Blutplasma (Schvartz et al., 1999). Ähnlich Fibronectin kann es an Zellen und Heparin binden, unterscheidet sich jedoch biochemisch und immunologisch von diesem Glykoprotein (Kost et al., 1992). Es vermittelt die Zelladhäsion sowie Zellmotilität und ist in Vorgänge der Blutgerinnung eingebunden (Hayman et al., 1983; Suzuki et al., 1984). Durch Aktivierung der Matrix-Metalloproteinasen kann es die Degradation der Matrix beeinflussen (Bafetti et al., 1998). Vitronectin wird eine Rolle in der Angiogenese, bei der Wundheilung und

Tumorprogression zugeschrieben (Seiffert, 1997; Varner und Cheresch, 1996). Es assoziiert einerseits an kollagene Fasern (Gebb et al., 1986) aber auch an elastisches Material (Dahlbäck et al., 1986).

### **4.3 Elastin**

Die Organe des weibliche Reproduktionstraktes sind bekanntermaßen reich an elastischen Fasern (Lin et al., 2007). Der Hauptbestandteil der elastischen Fasern ist das Protein Elastin, welches in monetärer Form als Tropoelastin, eine Vorstufe des Elastins, bezeichnet wird (Kagan und Li, 2003). Reife elastische Fasern setzen sich hauptsächlich aus zwei Komponenten zusammen: Elastin und den Mikrofibrillen (Ross, 1970; Rosenbloom, 1982; Kreis und Vale, 1993). Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, dass Elastin den Kern dieser Fasern bildet, dagegen Mikrofibrillen in deren Peripherie verteilt sind. Das Protein Elastin stellt mit einem Anteil von etwa 90 Prozent den Hauptbestandteil reifer elastischer Fasern dar (Ross, 1973). Elastin besitzt im Vergleich zu anderen Proteinen den stärksten hydrophoben Charakter (Cleary und Gibson, 1996). Gewährleistet wird dies durch den außergewöhnlich hohen Gehalt an apolaren Aminosäuren wie Alanin, Valin, Glycin und Prolin (Ross, 1970). Diese Aminosäuren treten häufig in der Sequenz Val-Pro-Gly-Val-Gly innerhalb des Elastinmoleküls auf (Urry et al., 1995). Die hydrophoben Regionen sind von Bedeutung für die räumliche Struktur des Elastins und die reversible Dehnbarkeit bis zu etwa 150 Prozent (Cleary und Gibson, 1996). Solche hydrophobe Wechselwirkungen innerhalb des Moleküls bedingen das Auftreten von  $\beta$ -Spiralen und gedrehten Filamenten (Urry et al., 1995). Eine Dehnung der Fasern führt dabei zu einer Entropieabnahme. Der Wegfall der dehnenden Kraft hat die sofortige Entropiezunahme und damit die Rückkehr in den Ausgangszustand zur Folge. Zur Erklärung der reversiblen Verformbarkeit dienen auch andere räumliche Modelle des Elastinmoleküls (Rosenbloom, 1982). Das oiled-coil-Arbeitsmodell von Gray et al. (1973) beschreibt die Ausbildung von  $\alpha$ -Helices und deren hydrophoben Wechselwirkungen.

Die reversible Dehnbarkeit und Verformbarkeit des Elastins erklärt das reichliche Vorkommen reifer elastischer Fasern in entsprechend belasteten Organen und Strukturen, wie Lunge (Starcher, 1986; Chambers und Laurent, 1996), Knorpel (Keith et al., 1977), Bandscheiben (Johnson et al., 1982), Blutgefäßen (Lethias et al., 1987) und Endokard (Klein und Böck, 1983). Veränderungen der Elastin-DNA auf

Chromosom 7, der m-RNA oder des Elastins selbst sind bei unterschiedlichsten Erkrankungen feststellbar, z.B. bei der Aortenstenose, bei Cutis laxa (Davidson et al., 1995) und Pseudoxanthoma elasticum (Hashimoto und DiBella 1967). Der vielfach nachgewiesene Abbau von Elastin durch Elastase (Bodley und Wood, 1972; Oakes und Bialkower, 1977; Oxlund und Andreassen, 1980) kann bei Pathologie z.B. in der Lunge zur Ausbildung eines Lungenemphysems mit erheblich verschlechterter Compliance dieses Organs führen (Pierce et al., 1995).

Bei der postmenopausalen Frau unterliegt das elastische Fasergewebe einem verlangsamten Auf- und Abbau, dem turn over. Bei Schwangerschaft und Geburt ist der Auf- und Abbau erheblich beschleunigt (Woessner et al., 1963). Ein Zusammenhang zwischen veränderter Homöostase der elastischen Fasern im Alter und einer Bindegewebsinsuffizienz wird von Liu et al. (2006) vermutet. Lysyloxidasen beeinflussen die Bindung zwischen Elastin und Kollagen und damit die Stabilität der Bindegewebsfasern. Dies betrifft das cross linking zwischen Tropoelastin, der Vorstufe des Elastin, und Prokollagen zu einer reifen funktionellen Kollagen- bzw. Elastinfaser (Kagan et al., 2003). Damit sind extreme Größenveränderungen im weiblichen Genitaltrakt z.B. unter der Geburt oder in der Rückbildungsphase möglich.

In dieser Arbeit wird bei Mäusen, bei denen die Lysinoxidase gehemmt wurde, eine massive Beeinträchtigung des elastischen Fasersystems gesehen und damit die Entwicklung von Beckenbodenprolaps und Inkontinenz beschleunigt. Damit wird auch den elastischen Fasern eine Rolle in der Erhaltung der Stabilität des Beckenbodens zugeschrieben (Alarab et al., 2010).

Untersuchungen an Lunge (Vitellaro-Zuccarello et al., 1994), Limbus corneae (Carrington et al., 1984) und Arteria basilaris (Chopard et al., 1998) dokumentieren eine Abnahme an reifen elastischen Fasern mit zunehmendem Lebensalter. Robert et al. (1988) stellten dagegen in der Haut eine Zunahme elastischer Fasern mit zunehmenden Lebensalter fest.

Permanente Dehnungsreize ziehen Veränderungen im elastischen Fasersystem nach sich (Zong et al., 2010). Insbesondere bei obstruktiven Erkrankungen der Harnröhre mit verstärkter Ablagerung von Elastin in der überdehnten Harnblasen-wand (Levy und Wight, 1990; Ewalt, 1992) wird dies als „Hyperelastose“ bezeichnet (Elbadawi et al., 1998).

Die mechanische Belastung führt bei den Mikrofibrillen zu einer Längenzunahme und einer Verminderung ihres Durchmessers (Jonas und Riede, 1980). Eine Über-

belastung zieht den Verlust ihrer reversiblen Dehnbarkeit nach sich (Kiely et al., 2002). Lichtmikroskopische Studien zum Nachweis elastischer Fasern führten bereits Moraller et al. (1912) und v. Möllendorff (1930) in den Ligamenta rotunda, sacro-uterina, ovarii propria und lata durch. Sie enthalten ein verzweigtes Netzwerk elastischer Fasern und glatter Muskelzellen, welche eine Art Schutzvorrichtung für die darin verlaufenden Blutgefäße bilden (Petry, 1942). Im Septum rektovaginale zeigen sich elastischen Fasern eng anliegend an glatten Muskelzellen (Milley und Nichols, 1968). Die Bindegewebsmatrix im Bereich des Hiatus muscoli levatoris ani enthält neben kollagenen auch elastische Fasern und garantiert die Verankerung der weiblichen Urethra (Shafik 1999, 2000). In den Ligamenta pubourethralia, welche die Harnröhre am Schambein fixieren und damit die Integration in die umliegenden Strukturen gewährleisten, verlaufen elastische Fasern parallel zu kollagenen Fasern. Veränderungen in der Matrix dieser Haltestrukturen im Sinne einer „Auflockerung“ des Bindegewebes kann die Entstehung einer Belastungsinkontinenz begünstigen (Zacharin 1963). Dagegen konnte Wilson et al. (1983) in licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen das Vorkommen elastischer Fasern in den Ligamenta pubourethralia weder bei harnkontinenten noch bei stressinkontinenten Frauen bestätigen. Widersprüchliche Untersuchungsergebnisse sind bei Untersuchungen des Beckenbodenbindegewebes häufig anzutreffen. Auch das Verhältnis der Fasern untereinander bzw. zur umliegenden Matrix ist für die physikalischen Besonderheiten des Bindegewebes ausschlaggebend. Die Fibroblasten sind eingebettet in das von ihr produzierte komplizierte Fasersystem und Wechselwirkungen unterworfen. Diese Zellen exprimieren Matrixproteine, welche sich letztendlich zu Bindegewebsfasern organisieren und beeinflussen als Rückkopplung wiederum die Proteinproduktion der Fibroblasten. Das Verhältnis zwischen den kollagenen und elastischen Fasern sowie den umliegenden Matrixkomponenten z.B. Glykoproteinen oder Lysyloxidasen beeinflusst das Zusammenspiel aller bisherig genannten Faktoren und damit die physikalischen Eigenheiten der jeweiligen Bindegewebsregion bezüglich Stabilität, Verformbarkeit und Reversibilität (Norton, 1993).



#### 4.4 Bindegewebe und Belastungsinkontinenz

Der wirksame Verschluss der weiblichen Harnröhre ist an die Funktionstüchtigkeit mehrerer anatomischer Strukturen geknüpft. Bei Frauen mit Stressharninkontinenz scheint das Bindegewebe, welches an die Urethra grenzt bzw. in deren Nachbarschaft liegt, hinsichtlich seiner Kollagenfasermenge und –qualität verändert zu sein und funktionell nicht mehr zu genügen (Ulmsten und Falconer, 1999). Histochemische Untersuchungen des paraurethralen Bindegewebes zeigen Kollagenfasern mit zunehmend größerem Durchmesser bei stressinkontinenten Frauen (Falconer et al., 1996). Der Anteil von Kollagentyp I und III nimmt bei Patientinnen mit einer Stressinkontinenz nachweislich ab (Wang et al., 2013). Andere Autoren (Verelst et al., 2002) fanden keine Unterschiede bei inkontinenten Frauen im Vergleich zu kontinenten Frauen und deuten die Schwierigkeit der Interpretation der Untersuchungsergebnisse im Zusammenhang mit der Ausprägung einer Belastungsinkontinenz an.

Das Beckenbodenbindegewebe ist auch hier vor allem aus Kollagen, Elastin sowie Proteoglykanen und Glykoproteinen, welches die wichtigsten extracelluläre Matrixkomponenten beeinhaltet, zusammengesetzt. Wen et al. (2008) vermuten die Ursache aufgrund einer schwangerschaftsbedingten Veränderung des Beckenbodenbindegewebes und einer sich daraus entwickelten Inkontinenz. Falconer et al. (1998) favorisieren altersabhängige Prozesse. Die Zusammensetzung des Bindegewebes wird verändert durch den Turn over, welcher zum Beispiel durch Expression von Proteinasen wie Elastinasen, Matrix-Metalloproteinasen und deren Proteinaseinhibitoren gewährleistet wird (Shynlova et al., 2013). Das Bindegewebe unterliegt während aller Lebensphasen der Frau einem Turn over (Vassilev et al., 2005). Eine Imbalance dieses Auf- und Abbaus und des Gleichgewichtes zwischen Synthese und Break down der Matrixproteine, ihrer Regulatoren sowie Rezeptoren führen oft zu einer Schwächung des Beckenbodenbindegewebes (Zong et al., 2010).

Da die nachgewiesenen Elemente des Bindegewebes der Periurethralregion in die Pathogenese der Entwicklung einer weiblichen Belastungsinkontinenz involviert sind, waren vorliegende Untersuchungen darauf gerichtet, die einzelnen Stroma-komponenten in Strukturen des Beckenbodenbindegewebes zu verifizieren. Insbesondere die bisher nicht beachteten Glykoproteine (Vitronektin, Laminin

Tenascin und Fibronectin) und elastischen Fasern spielen neben den kollagenen Fasern in den baustein histochemischen Untersuchungen eine zentrale Rolle. Wir untersuchten das periurethrale Stroma bei postmenopausalen Patientinnen, die sich einem beckenbodenchirurgischen Eingriff unterzogen, mit und ohne Inkontinenz. Weiterhin gingen wir der Frage nach, ob sich bei stressinkontinenten Patientinnen Unterschiede in der Zusammensetzung der Periurethralregion zwischen Frauen mit normo- bzw hypotoner Urethra erkennen lassen.

Die Untersuchungen der Bindegewebsveränderungen bei inkontinenten Frauen sollen einen weiteren Beitrag zur Ätiologie der weiblichen Belastungsincontinenz leisten. Der Untersuchungszeitraum fällt in die Jahre 1997 bis 2003. Somit blieb es bei der Analyse der einzelnen Matrixproteine, die bis dahin noch nicht umfassend analysiert wurden. Die folgenden Jahre brachten zahlreiche Ergebnisse zu den Regulatoren der Kollagen- und Elastinsynthese, wie die Matrix-Metalloproteinasen, Tissue Inhibitor of Metalloproteinase, Elastasen, Lysyloxidasen, Alpha-1-Anti-Trypsin, hormonelle Einflüsse und deren Hormonrezeptorsensitivität.

Ebenso habe genetische Untersuchung zur Typisierung der für den Aufbau der extracellulären Matrix verantwortlichen Gene und zahlreiche Polymorphismen-nachweise zum Grundverständnis einer Beckenbodeninsuffizienz beigetragen. Der Nachweis der Matrixproteine ist daher eine eher statische Analyse, soll jedoch im Kontext mit dem heutigen Wissensstand insbesondere des Turn over im Bindegewebe des weiblichen Beckenbodens diskutiert werden.

#### 4.5 Bindegewebe und Prolaps

Obwohl viele Frauen unter einer Dysfunktion des Beckenbodens leiden, sind die Ursachen der Entstehung noch nicht ausreichend bekannt (Kerkhof et al., 2009; MacLennan, 2000). Der Prolaps der Beckenbodenorgane ist mit einer deutlichen Einschränkung der Lebensqualität verbunden (Subak et al., 2001). Vermutet wird, dass die stabile Verankerung der Beckenbodenorgane durch komplexe Interaktionen zwischen der Scheidenwand, des Rektums, des Musculus levator ani und des Bindegewebes um die Harnröhre gewährleistet wird. Die Insuffizienz der Levatormuskulatur geht oft mit der Entwicklung eines Prolaps einher (Boreham et al., 2002). Trotzdem sind alle Mechanismen, die zur Entstehung eines Prolaps führen, noch nicht endgültig geklärt (Campeau et al., 2011; Bidmead und Cardozzo 1998). Norton et al. (1992) vermuteten bereits eine Schwäche der Bindegewebefaserstrukturen bzw. der Reparaturmechanismen, was letztendlich zu insuffizienten Fasern führt. Heute wissen wir, dass der Turn over und damit die Balance zwischen Kollagen- und Elastinsynthese bzw. dem Break down der Matrixproteine entscheidend für die Stabilität des Bindegewebes ist (Moalli et al., 2005). Dieser wird gewährleistet durch die Matrix-Metalloproteinasen und Elastasen sowie deren Inhibitoren, die TIMP (Shapiro et al., 1998). Bei den von Prolaps betroffenen Frauen wird MMP und Elastase vermehrt und TIMP reduziert exprimiert (Connell et al., 2008; Mathrubutham et al., 2001). Weiterhin sinkt die Synthese des Elastaseinhibitors Alpha-1 Anti-Trypsin (Chen et al., 2007) und die für das cross linking erforderliche Lysyloxidase (Kagan et al., 2003).

Schon seit längerem ist bekannt, dass sich im Fascienanteil der Beckenbodenmuskulatur im Alter zahlreiche Veränderungen nachweisen lassen (Smith et al., 1989). Auch ein allgemeiner Estrogenmangel wurde als eine der Ursachen beschrieben (Mokrzycki et al., 1997). Mittlerweile gehen wir davon aus, dass bereits physiologische Schwankungen des Hormonlevel z.B. während des Menstruationszyklus den Aufbau der extracellulären Matrix, über Aktivierung der MMP bzw. Hemmung der TIMP und der Lysyloxidase beeinflussen (Shynlova et al., 2013). Postmenopausal kommt es ebenso durch Hormonabfall zu einer Downregulierung von TIMP und folgedessen zu einer verstärkten Synthese von MMP und so zu einem Kollagen Break down mit nachfolgender Beckenbodeninsuffizienz. Dies erklärt, warum mehr ältere Frauen von einem Prolaps betroffen sind (Nygaard et al., 2008). Die positiven Effekte durch Estrogengabe (Skala et al., 2010) mit Hemmung der MMP und verstärkter

Kollagensynthese können therapeutisch genutzt werden. In unseren Analysen wurden diese möglichen Verfälschungen der Kollagensynthese minimiert durch gezielte Patientinnenauswahl. Jedoch können auch Beeinträchtigungen der Sensivität der Hormonrezeptoren die Kollagensynthese beeinflussen (Ewies et al., 2004). Sogenannte Polymorphismen (SNP-Single nucleotide polymorphism) verändern die Rezeptoraffinität. Bei Frauen mit Prolaps sind bestimmte Polymorphismen häufiger anzutreffen (Chen et al., 2008; Chen et al., 2009). Aufgrund dessen sind familiäre Dispositionen zunehmend beleuchtet worden (Allen-Brady et al., 2009).

Von herausragender Bedeutung für die Beckenbodenstabilität bei der Frau ist das Ligamentum sakrouterinum (Reay Jones et al., 2003). Nach DeLancey et al. (1992) hat das Uterosakralligament eine besondere Bedeutung für die Fixierung der Zervix und des oberen Drittels der Scheide. Dieses Ligament ist mesenchymalen Ursprungs und enthält Blutgefäße, Nerven, Fettzellen und vor allem Bindegewebe. Eine Insuffizienz des Ligamentum sakrouterinum beeinflusst die stabile Verankerung des Uterus (Ramanah et al., 2012). Wichtiger Bestandteil des Ligamentes und damit auch verantwortlich für deren Stabilität ist die extracelluläre Matrix bestehend aus Elastin, Kollagen und Glykoproteinen sowie deren Rezeptoren und Integrine (Ulmsten und Falconer 1999; Phillips et al., 2006; Gabriel et al., 2005; Suzme et al., 2007, Chen et al., 2004). Neue Erkenntnisse über die Erkrankungen des Beckenbodens haben auch zu neuen OP-Techniken geführt (Amundsen et al., 2003; Drutz und Alarab, 2006). Jedoch verstehen wir immer noch zu wenig über die histomorphologischen Veränderungen im Ligamentum sakrouterinum (Ramanah et al., 2012).

Einige Autoren sehen ebenso einen Zusammenhang zwischen dem Prolaps und einer veränderten Elastinproduktion (Karam et al., 2007; Klutke et al., 2008; Goepel 2008). Die molekularen Mechanismen bei der Produktion und Formung elastischer Fasern unterliegen zahlreichen Regulationen. Elastin beeinflusst bekanntermaßen die Dehnungsfähigkeit einer Bindegewebsfaser sowie deren Elastizität (Scott, 1988). In der elastischen Faser gibt es neben hochdehnbaren Anteilen auch Mikrofibrillen, die für die Stabilität dieser Struktur verantwortlich sind (Cleary, 1996). Eine insuffiziente Elastinproduktion, insbesondere bei erblichen Bindegewebskrankheiten, ist für einen Zustand der Überdehnung der Bindegewebsfaser verantwortlich, welche nicht mehr in ihre ursprüngliche Form zurückkehren kann (Uitto et al., 1991). Dieses Phänomen kann man vorrangig bei der alternden Haut (Fazio et al., 1988) oder auch bei der Entwicklung eines Prolaps beobachten (Yamamoto et al., 1997). Oft ist die Ursache

der Entwicklung einer insuffizienten Bindegewebsfaser in einem sich ungünstig veränderten Anteil stabilisierender und elastischer Elemente zu finden. Die Entwicklung eines Prolaps wird in diesem Zusammenhang oft auch als eine Bindegewebserkrankung bzw. –schwäche gesehen (Carley und Schaffer, 2000). Biochemisch lassen sich im Turn over und damit im Metabolismus der Matrixproteine eindeutig Hinweise darauf finden (Alarab et al., 2010). Die Metalloproteinase- und Elastaseaktivität steigt signifikant bei Frauen mit Prolaps, die TIMP-, Alpha 1-Antitrypsin- sowie Lysyloxidase-Expression nimmt ab. Der Abbau der kollagenen und elastischen Bindegewebsfasern, Break down, führt zu einem insuffizienten Bindegewebe und ist mitverantwortlich für den Prolaps (Alarab et al., 2008).

Des Weiteren finden sich Glykoproteine als Netzwerk um die Bindegewebsfasern und beeinflussen deren Stabilität. Dies trifft ebenso auf die Glykoproteine Fibronectin, Vitronectin, Tenascin und Laminin zu, welche die Verbindung zwischen den Kollagenfasern bzw. von den Kollagenfasern zu den Proteoglykanen vermitteln (Hardingham und Fosang, 1992). Damit werden auch die physikalischen Eigenschaften einer Bindegewebsfaser charakterisiert (Buller et al., 2001). Insbesondere über die Expression von Tenascin im Bindegewebe des Beckenbodens haben wir kaum Daten in der Literatur. Tenascin ist ein Glykoprotein, welches hauptsächlich in Wundheilungsprozessen nachgewiesen wurde (Neurath, 1993). Tenascin wird bei der Embryonalentwicklung zum Beispiel bei der Entwicklung der Neuralrohres exprimiert sowie bei der Skelettentstehung bzw. der Vaskulogenese. Es ist überexprimiert bei der Regeneration von Nervenbahnen, aber auch in die Tumorgenese, Metastasenbildung und vaskulären Erkrankungen (Crossin, 1996).

Mehrere Autoren vermuten eine Insuffizienz speziell im Ligamentum sacro- bzw. vesikouterinum als Ursache für die Entwicklung eines Prolaps. Bis Ende der 90er Jahre konzentrierten sich nur wenige Studien auf das Bindegewebe und damit den Zusammenhang mit einer Bindegewebsschwäche. Insbesondere die Matrix der Vaginalwände standen zunächst im Zentrum des Interesses (Norton et al., 1995). Bezogen auf die anatomischen Haltestrukturen hat DeLancey bereits die Vaginalwand insbesondere die tieferen Stromaschichten, bestehend aus Kollagen und glatten Muskelzellen, und die dortigen histochemischen Veränderungen als Ursache für die Entwicklung eines Prolaps postuliert. Die gegenseitigen Wechselwirkungen zwischen den Bindegewebsfasern und der umliegenden Matrix beeinflussen die physikalischen

Eigenschaften des Gewebes (Norton, 1993). In unseren Untersuchungen haben wir uns dieses Mal auf die Rolle des Bindegewebes im Ligamentum sakrouterinum konzentriert und untersuchten Kollagene und Glykoproteine sowie Elastin bei postmenopausalen Frauen mit und ohne Prolaps.

Allgemein anerkannt ist die mittlerweile die Erkenntnis, dass Frauen mit einem Prolaps einen niedrigeren Gehalt an Kollagen (insbesondere Typ I und III) bzw. ein höheren Anteil an unreifen Kollagenfasern haben im Vergleich zu nicht betroffenen Frauen (Yucel et al., 2013; Wang et al., 2013). Dies führt zu einem insuffizienten Bindegewebe und begünstigt die Prolapsentwicklung (Jackson et al., 1996), aber auch die operativen Therapien bzw. deren Misserfolge. Die klassische operative Therapie einer Senkung im vorderen Kompartiment der Zystozele ist die anteriore Kolporrhaphie. Sie ist jedoch mit einer hohen Rezidivrate verbunden (Maher et al., 2011). Fast 30% unterziehen sich einem Rezidiveingriff. Die Ursache dieser schlechten Resultate liegen an der Stabilität des Bindegewebes (Chen et al., 2008).

Während jedoch einige Autoren die Bindegewebsveränderungen deutlich in einen Zusammenhang mit der Entwicklung eines Prolaps bringen (Chen and Yeh, 2011), sehen wiederum andere Autoren diese Stromaveränderungen nur als Effekt und nicht als Ursache des Prolaps (Skorupski et al., 2010). Wir haben deshalb die extracelluläre Matrix der Wände der Arteria uterina (Kollagen, Glykoproteine und elastische Fasern) bei postmenopausalen Frauen mit und ohne Prolaps mit untersucht. Sie sind nicht für den Prolaps verantwortlich aber beim Deszensus uteri mitbetroffen. Wir haben diese Ergebnisse verglichen mit den Veränderungen im Ligamentum sakrouterinum bei Patientinnen mit und ohne Prolaps und versuchten der Frage nachzugehen, ob die Bindegewebsveränderungen aufgrund einer Überdehnung zustande kommen und somit keine Ursache sondern Ausdruck der Prolapsentwicklung sind.

Folglich fokussierten wir uns bei den Bindegewebsuntersuchungen des weiblichen Beckenbodens auf die Bindegewebsproteine Kollagen Typ I, III, IV, V und VI und Elastin. Vor allem Kollagen Typ V und VI wurden bisher nicht analysiert. Des Weiteren färbten wir immunhistochemisch die Glykoproteine Fibronectin, Laminin, Tenascin und Vitronectin bei Frauen mit und ohne Deszensus im Ligamentum sakrouterinum.

Glykoproteine haben trotz mittlerweile zahlreicher histologischer Untersuchungen im weiblichen Beckenboden bis zum Untersuchungszeitpunkt keine zentrale Rolle gespielt. Sämtliche Untersuchungen wurden auch in den Blutgefäßwänden der Arteria uterina bei Frauen mit und ohne Prolaps durchgeführt. Hier wurde die Tunica interna, Tunica media und externa auf Ihren immunhistochemischen Nachweis der Matrixproteine durchforstet und fotodokumentiert. Wir sind uns bewusst, dass die Interpretation der Ergebnisse aufgrund der zahlreichen Einflussfaktoren auf das Bindegewebe eingeschränkt ist. Der Hormonstatus, das Körpergewicht, Voroperationen und die Aktivität der Proteasen sind ebenso zu beachten. Auch sind Probeentnahmestellen der am Bindegewebe forschenden Kollegen nicht standardisiert. Somit liegt für zukünftige Untersuchungen noch erhebliches Verbesserungspotential vor.

## **5 Material und Methoden**

### **5.1 Untersuchungen im Ligamentum sakrouterinum bei Frauen mit und ohne Prolaps uteri**

Postmenopausale Frauen, die sich einer Hysterektomie unterzogen, wurden in diese Studie eingebracht, nachdem sie ihr Einverständnis gaben. Präoperativ wurde eine urogynäkologische Untersuchung durchgeführt, diese beinhaltete die Patientenanamnese, klinische Untersuchungen, perinealer und vaginaler Ultraschall, die Nephrosonographie und Urinuntersuchungen. Es wurde der Restharn bestimmt sowie eine Zystometrie, ein Urethradruckprofil in Ruhe und unter Stresssituation durchgeführt mit Elypse, Andromeda (Taufkirchen/Potzharn, Deutschland). Ebenfalls wurde ein klinischer Stresstest (Hustenprovokation) in stehender und sitzender Position zum Ausschluss einer klinischen Stressinkontinenz durchgeführt. Bei den Patientinnen mit Prolaps wurde zum Ausschluss bzw. Beweis einer larvierten Belastungsinkontinenz während der Untersuchung der Prolaps eleviert. Patientinnen mit einer Belastungsinkontinenz, bekannter Malignomanamnese, Bindegewebskrankungen, Emphysem, systemischer Hormonersatztherapie, Endometriose oder Adnexitis bzw. vorausgegangenen Beckenbodenchirurgischen Eingriffen wurden ausgeschlossen. Die Patientinnen wurden mit einem Spekulum untersucht und deren Prolaps entsprechend der POP-Q-(Pelvic Organ Prolapse-Quantification) – Klassifikation der internationalen Kontinenzgesellschaft eingeteilt (Bump et al., 1996). 10 Frauen wurden in die Untersuchung eingeschlossen (Alter 63 bis 81 Jahre – Median 70 Jahre). Diese Frauen wurden an der Klinik für Gynäkologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg operiert. In der Studiengruppe hatten alle operierten Patientinnen einen Prolaps Grad 4 und in der Kontrollgruppe keinen Prolaps (Tabelle 3 und 4). In der Kontrollgruppe wurde die Entfernung der Gebärmutter aufgrund eines bekannten Uterus myomatosus durchgeführt. Alle Frauen hatten zwei oder drei Geburten. Bei allen Patientinnen wurde eine vaginale Hysterektomie durchgeführt (Abbildung 1).





**Abbildung 1:** 72-jährige Patientin mit Totalprolaps zur vaginalen Hysterektomie

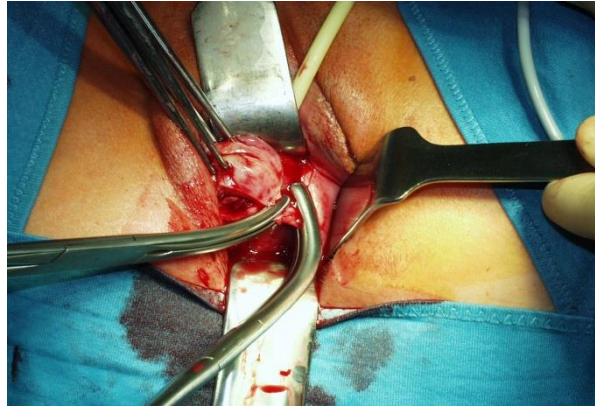
**Tabelle 3: Frauen ohne Prolaps**

<u>Patient</u>	<u>Alter (J.)</u>	<u>Geburten</u>	<u>Menopause (Lj.)</u>
1	63	2	48
2	68	2	52
3	71	2	51
4	69	3	49
5	70	2	47

**Tabelle 4: Patientinnen mit Totalprolaps (Prolaps Grad IV)**

<u>Patient</u>	<u>Alter (J.)</u>	<u>Geburten</u>	<u>Menopause (Lj.)</u>
6	72	2	47
7	66	3	49
8	71	2	53
9	69	2	55
10	81	3	51

Bei den 5 operierten Patientinnen mit Prolaps wurde im Anschluss an die Hysterektomie ein Beckenbodenrekonstruktiver Eingriff durchgeführt. Alle Patientinnen erhielten präoperativ lokal 4 Wochen Estrogene. Bei der Hysterektomie wurde am Ansatz des Ligamentum sakrouterinum eine Gewebeprobe von ca. 5 mm<sup>3</sup> entfernt und in das Forschungslabor gegeben (Abbildung 2 und 3). Diese Gewebeprobe wurde 1 cm lateral des Ansatzes des Ligamentum sakrouterinum beidseits an der Zervix bei jeder Patientin an gleicher Stelle entnommen. Daraufhin folgte die immunhistochemische Untersuchung. Gewebeproben wurden schockgefroren in Hexan, in Trockeneis und bei -70 Grad aufbewahrt. Es wurden 5 µm Gefrierschnitte angefertigt, luftgetrocknet bei Raumtemperatur und anschließend 10 min in Aceton fixiert. Alle Proben wurden untersucht auf die Lokalisation und Verteilung von Kollagentyp I, III, IV, V und VI, Elastin sowie der Glykoproteine Fibronectin, Laminin, Tenascin und Vitronectin.



**Abbildung 2:** Gewebeentnahme am Ligamentum sakrouterinum links bei einer 71-jährigen Patientin ohne Prolaps. Das Gewebe zwischen den Wertheimklemmen wird untersucht.



**Abbildung 3:** ca 5 mm<sup>3</sup> Gewebeprobe aus dem Ligamentum sakrouterinum links

### **5.1.1 Indirekte Immunfluoreszenz und Antikörper**

Alle Schnitte wurden inkubiert mit primären Antikörpern in einer Konzentration von 20 µg/ml für 60 min. Anschließend wurden Trimethylrhodamin-Isothiocyanat konjugierte Antikörper (TRITC) [Schweininmoglobulin, Antikaninchenglobulin (Dakopatt, Denmark)] eingesetzt zur Visualisierung von Kollagentyp I, III, IV, V, VI, Elastin sowie der Glykoproteine Fibronectin, Laminin, Tenascin und Vitronectin. Nach einer weiteren Inkubationszeit von 30 min bei Raumtemperatur wurden die Schnitte in einer PBS-Lösung pH = 7,2 und 0,1 % iger Rinderserumalbuminlösung (BSA, Sigma chemical Co. St. Louis, MO, USA) gewaschen. Die Kontrollen erhielten kein Immunsereum. Die Immunfluoreszenz wurde beurteilt im Fluoreszenzmikroskop (Axioskop, Axiophot, Zeiss, Jena – Deutschland). Mit einer Skalierung wurden Farbaufnahmen mit Kodak Ektachrome angefertigt. Die polyklonalen affinitätsgereinigten Antikörper gegen Kollagentyp I, III, IV, V und VI sowie die Glykoproteine Fibronectin, Laminin und Vitronectin wurden charakterisiert in den Publikationen von Becker und Schuppan (1986,1991) von denen wir auch die Antikörper bezogen haben. Die Antikörper sind in Tabelle 5 charakterisiert. Die Primärantikörper gegen Elastin (Clone no BA-4 1:16000, Novacastra Laboratories, Newcastle upon Tyne, UK) und Tenascin (Clone no. BC-24 1:100 000, Sigma- Aldrich, UK) waren mausmonoclonale Antikörper. Letzere richteten sich gegen eine Isoform des humanen Tenascin C.

Nachfolgende Angaben informieren kurz über Proteinisolierung, Antikörpergewinnung und -reinigung.

### **5.1.2 Proteinisolierung**

Menschliche Kollagene von Typ I, III, IV [7 S long (lange Form des tetrameren aminoterminalen Propeptid von Typ IV-Prokollagen), Tripelhelix und NC1- (Dimeres carboxyterminales Propeptid von Typ IV-Prokollagen) domänen], V- und VI-Kollagen sowie das Laminin-Fragment P1 (zentrales pepsinresistentes Fragment des kreuzförmigen Lamininmoleküls) wurden von der menschlichen Placenta extrahiert, gereinigt und charakterisiert (Becker et al., 1986; Schuppan et al., 1985, 1986). Die Isolierung von humanem Plasmafibronektin gelingt nach einer Methode von Miekka et al. (1982). Typ III-Prokollagen (mit aminoterminalen, aber ohne carboxyterminalen Propeptid) wurde von Kalb oder Affenhaut nach Novack et al. (1976) gewonnen.

Alle Antigene wurden nach fraktionierter Salzpräzipitation und Säulenchromatographie von pepsindigestiver Placenta gewonnen. Die Isolierung von 7 S-Kollagen (lange Form) erfolgte aus einem Gemisch von Typ IV-Kollagen-Fragmenten nach Kollagenasedigestion und Molekularsiebchromatographie (Risteli et al., 1980; Schuppan, Rühlmann und Hahn, 1985; Schuppan et al., 1986). Die Reinigung von Typ V-Kollagen ist detailliert in Schuppan et al. (1986) beschrieben. Typ VI-Kollagen wurde durch verschiedene Präzipitationsschritte, z.B. mit Carboxymethylcellulose und Agarose-Chromatographie gereinigt (Schuppan et al., 1985). Laminin-Fragment P1 läßt sich vom Kollagen durch Kollagenasedigestion und Molekularsiebchromatographie trennen (Risteli und Timpl, 1981; Schuppan et al., 1986). Die Antigene wurden durch SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (Laemli, 1970) und multipler Aminosäureanalyse (Durrum D-500 analyser) nach Hydrolyse in 6 mol/l HCl und Nitrogen für 20 Stunden bei 110 °C gereinigt.

### **5.1.3 Antikörperherstellung**

Eine ausführliche Darstellung der Antiserengewinnung der Kollagentypen I, III, IV, V und VI sowie Fibronectin und Lamininfragment P1 finden sich in Becker et al. (1986a, b) und Schuppan et al. (1985, 1986a, b).

Kollagene von Typ V, VI und Laminin-Fragmente wurden in 0,3 ... 2 mg / 0,5 ml PBS (Phosphate-buffered saline), pH = 7,2 aufgelöst und mit den gleichen Volumina von komplettem Freund's Adjuvans (Difco, Minnesota, USA) gemischt. Danach wurden die Proteine subcutan in weiße Kaninchen (New Zealand white rabbits) injiziert. Nach 1 Monat erfolgte die Boosterung der Tiere alle 2 Wochen mit inkomplettem Freund's Adjuvans. Bei 7 S-Kollagen (lange Form) sind 2 Ziegen auf dieselbe Weise mit 4 mg Antigen (in 2 ml PBS aufgelöst) behandelt worden. Die Antiserengewinnung gegen Ziegen- oder Kaninchen-IgG gelang in Kaninchen oder Ziegen mit 2 mg IgG in 2 ml PBS. Das hyperimmune Serum konnte wiederholt nach der 2. Boosterung aus der Ohrarterie der Kaninchen oder der Jugularvene der Ziegen entnommen werden und wurde bei allen Experimenten verwendet.

Gereinigtes Kollagen Typ V [0,3 mg (0,5 ml in PBS; 50 mmol/l Natriumphosphat, pH = 7,4)] wurde mit dem gleichen Volumen von komplettem Freund's Adjuvans (Difco) versetzt und subcutan in weiße Kaninchen (New Zealand white rabbits) injiziert. Nach

3 Boosterinjektionen mit inkomplettem Freund's Adjuvans in 3 Wochen-Intervallen erfolgte die Blutentnahme durch Ohrvenen- oder Aortenpunktion.

#### **5.1.4 Antikörperreinigung**

Menschliches Kollagen (Typ I, III, IV [7 S-Kollagen], V und VI), Lamininfragment P1 und Plasmafibronektin wurden an CNBr-aktivierter Sepharose CL 4B in einer Konzentration von 1 – 3 mg/ml Gel gekoppelt (Schuppan et al., 1986). Antiserum mit weniger als 1 mg/ml Gel wurde durch Säulen mit den obengenannten Antigenen gepumpt (3ml/h) und die Antikörper schließlich mit 3 mol/l KSCN/PBS vom Antigen eluiert. Nach Dialyse gegen PBS enthält die Antikörperlösung 10 - 50 µg Protein /ml, diese wurde bei T = -20 °C gelagert.

Antikörper gegen Typ V-Kollagen sind hinreichend in Schuppan et al. (1986) charakterisiert. Die Spezifität der Antikörper gegen Typ VI-Kollagen, 7 S-Kollagen (lange Form) und Lamininfragment P1 (mit über 50 µg/ml) wurde durch Verdünnungen mit J<sup>125</sup> markierten Kollagenen von Typ I, III, IV (Tripelhelix und 7 S-Domäne), V und VI, Laminin P1 und Plasmafibronektin geprüft, gefolgt von Präzipitation der Immunkomplexe mit Antiserum gegen Kaninchen- (Ziegen-) IgG. Antigenmarkierung und Radioimmunoassays sind detailliert in Schuppan et al. (1985, 1986) angegeben.

**Tabelle 5: Antikörper und deren Quellen zum Nachweis von Bindegewebsproteinen in den Proben des Ligamentum sakrouterinum von Frauen mit und ohne Prolaps**

<u>Antikörper</u>	<u>Quellen</u>
Rabbit anti-human collagen type I	Becker et al. (1986a, 1986 b)
Rabbit anti-monkey procollagen type III	Becker et al. (1991) Schuppan et al. (1990)
Rabbit anti-human collagen type IV	Schuppan et al. (1986a, 1986b)
Rabbit anti-human collagen type V	Schuppan et al. (1986a, 1986b)
Rabbit anti-human collagen type VI	Schuppan et al. (1986a, 1986b)
Rabbit anti-human fibronectin	Zhang et al. (1993) Telios (La Jolla, CA)
Rabbit anti-human laminin P1	Stallmach et al. (1990)
Rabbit anti-human vitronectin	Telios (La Jolla, CA)
Mouse antibodies anti-human elastin	Clone no. BA-4 1:1600 Novacastra Laboratories (Newcastle upon Tyne, UK)
Mouse antibodies anti-human tenascin	Clone no. BC-24 1:100.000 Sigma-Aldrich Company Ltd., UK

## **5.2 Immunhistochemie der Wand der Arteria uteri bei Frauen mit und ohne Prolaps uteri**

Weiterhin wurde die Wand der Arteria uterina immunhistochemisch analysiert. Patientinnen, die für eine Hysterektomie auf Grund eines Prolaps oder bei Patientinnen ohne Prolaps auf Grund gutartiger Veränderungen geplant waren, wurden in diese Studie eingeschlossen. Die Patientinnen gaben ihr schriftliches Einverständnis, an dieser Studie teilzunehmen. Es wurde eine urogynäkologische Untersuchung einschließlich Anamnese, klinische Untersuchung, transvaginaler Ultraschall, Nephrosonographie und Urinuntersuchung durchgeführt. Weiterhin wurde die Restharnbestimmung, die Zystometrie, das Urethraruhedruck- und Stressprofil mit dem Urodynamikgerät Elipse (Fa. Andromeda, Taufkirchen/Potzharn, Deutschland) durchgeführt. Die weiteren Untersuchungsschritte entsprachen dem Vorgehen wie in Kapitel 5.1 dargelegt. Patientinnen, die anamnestisch einen bösartigen Tumor, Endometriose oder andere Erkrankungen bzw. Operationen im kleinen Becken hatten, wurden von der Studie ausgeschlossen. Alle Patientinnen wurden entsprechend der POP (Pelvic Organ Prolaps) Klassifikation (Bump et al., 1996) untersucht und der Prolaps entsprechend eingeteilt. Eingeschlossen wurden 21 postmenopausale Frauen im Durchschnittsalter von 65 Jahren (59-81 Jahre). Sie wurden an der Klinik für Gynäkologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg operiert. Es bestand bei keiner Patientin ein Bluthochdruck oder eine bekannte Arteriosklerose. Die zwei Gruppen bestanden aus den Patientinnen mit Prolaps Stadium 4, die Kontrollgruppe hatte keinen Prolaps. Die Kontrollgruppe (siehe Tabelle 6) bestand aus 8 kontinenten Frauen ohne Zeichen einer Senkung der Vaginalwände (POP-Q, Punkt C – 6, median). Representativ wird die Urodynamik der 63-jährigen Patientin aus der Kontrollgruppe gezeigt (Abbildung 4). Alle Patientinnen hatten spontane Vaginalgeburten. Die Gebärmutter wurde durch den vaginalen Zugangsweg entfernt. 13 Frauen aus der Patientinnengruppe mit Prolaps (siehe Tabelle 7) unterzogen sich im Anschluss an die Operation einem beckenbodenrekonstruktiven Eingriff (POP-Q Punkt C + 5, median). Sie erhielten 4 Wochen präoperativ die lokale Estrogentherapie. Eine systemische Hormonersatztherapie wurde bei den Patientinnen nicht beschrieben.



**Tabelle 6: Zusammenstellung der Daten der untersuchten Frauen zur Hysterektomie und Entnahme einer Probe an der Arteria uterina (Kontrollgruppe)**

Lebensalter der Frau	Klinische Diagnose	Jahre nach der Menopause	POP-Q Punkt C	Lokalisation der Probenentnahme
64	Uterus myomatosus mit Wachstumstendenz und Beschwerden	12	-7	links
63	Glandulär-zystische Endometriumhyperplasie	21	-7	links
63	Glandulär-zystische Endometriumhyperplasie	13	-5	links
71	Glandulär-zystische Endometriumhyperplasie mit Übergang in eine adenomatöse Hyperplasie ohne Atypien	22	-6	rechts
69	Vaginale Dauerblutung unter Marcumar	17	-5	links
59	Rezidivierende Postmenopausenblutung	8	-6	links
72	Zystischer Ovarialtumor (seröses Zystadenom rechts) zur Adnexextirpation und gleichzeitiger Hysterektomie (Wunsch der Patientin)	19	-7	rechts
80	Glandulär-zystische Endometriumhyperplasie mit Übergang in eine adenomatöse Hyperplasie ohne Atypien	30	5 -	links

**Tabelle 7: Zusammenstellung der Daten der untersuchten Frauen zur Hysterektomie und Entnahme einer Probe an der Arteria uterina (Prolapsgruppe)**

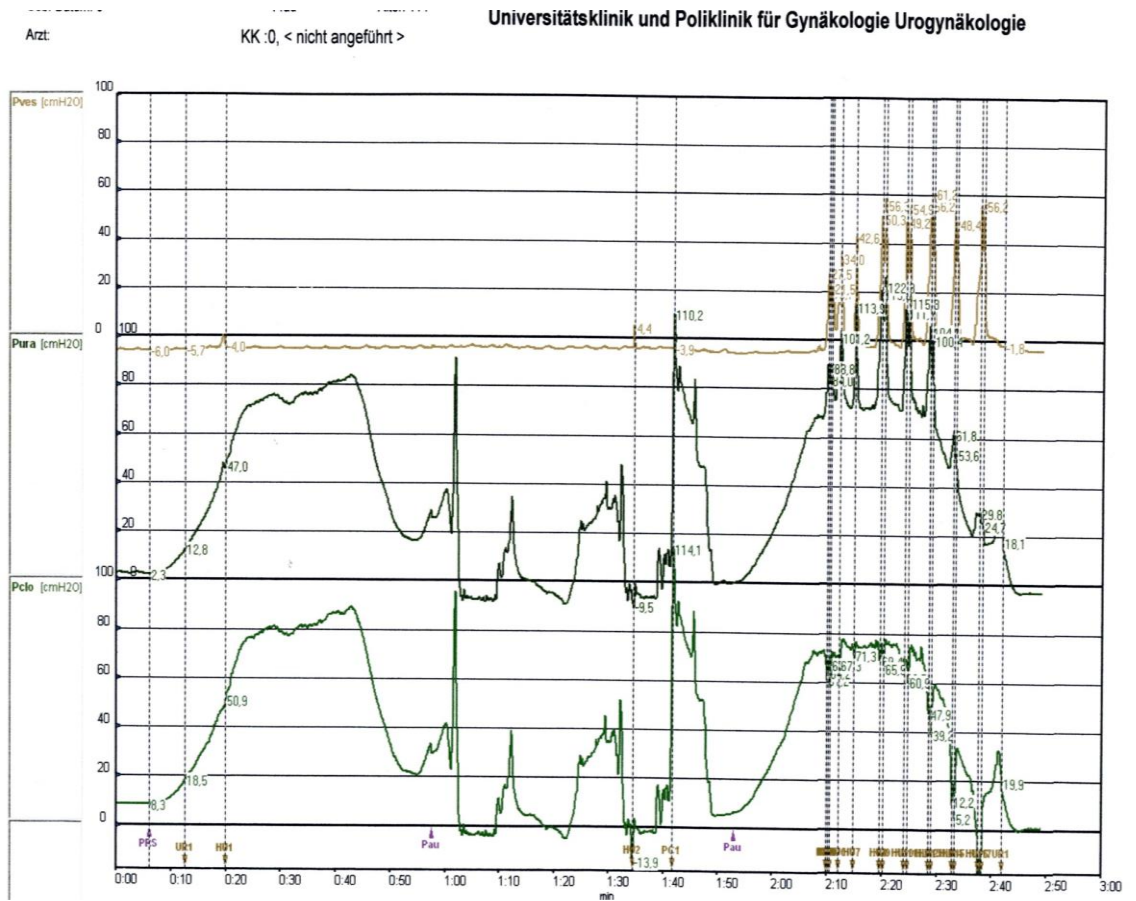
Lebensalter der Frau	Klinische Diagnose	Jahre nach der Menopause	POP-Q Punkt C	Lokalisation der Probenentnahme
60	Deszensus vaginae et uteri	8	+4	links
62	Deszensus vaginae et uteri	8	+5	links
62	Isolierter Deszensus uteri	10	+7	rechts
63	Deszensus vaginae et uteri	13	+7	links
68	Deszensus vaginae et uteri	17	+6	links
69	Deszensus vaginae et uteri	10	+7	links
71	Deszensus vaginae et uteri	13	+6	links
71	Deszensus vaginae et uteri	18	+5	rechts
74	Deszensus vaginae et uteri	24	+5	links
75	Deszensus vaginae et uteri	28	+4	links
75	Deszensus vaginae et uteri	21	+7	rechts
80	Isolierter Deszensus uteri ( Zustand nach vorderer und hintere vaginaler Plastik)	31	+7	links
81	Deszensus vaginae et uteri	30	+6	rechts

Proben der Arteria uterina wurden während der Hysterektomie durchgeführt. Die Gewebebiopsieprobe bestand aus ca. 5 mm<sup>3</sup>. Die Proben wurden an immer gleicher anatomischer Stelle lateral des Corpus uteri entnommen. Alle Biopsien wurden histologisch analysiert. Die Gewebeproben wurden schockgefroren in N-Hexan in Trockeneis und bei -70 Grad gelagert in einer Acetonlösung, Gefrierschnitte (5 µm) nach Lufttrocknung bei Raumtemperatur angefärbt und anschließend in Aceton für 10 Minuten fixiert. Alle Biopsien wurden untersucht auf den Nachweis der Kollagentypen I, III, IV, V und VI, Elastin sowie der Glykoproteine Fibronectin, Laminin, Tenascin und Vitronectin sowie anschließend im Immunofluoreszenzmikroskop durchgemustert. Vorrangig ging es um den Nachweis der Proteine. Die subjektive Einteilung der Fluoreszenzintensität ließ einen Vergleich zwischen den Untersuchungsgruppen hinsichtlich der Quantifizierung zu.

Die Immunhistochemie entsprach dem in Kapitel 5.1.1 aufgezeichneten Vorgehen.

**Abbildung 4:**

Urodynamik – Urethradruckprofil einer 63-Jährigen Patientin aus der Kontrollgruppe zur Hysterektomie und Entnahme eine Probe der Arteria uterina - Ruhedruck- und Stressprofil, dazwischen Artefakte. Die Bindegewebsprobe dieser Patientin wird in Abbildung 20 a dargestellt.



### **5.3 Periurethrale Bindegewebsuntersuchungen bei Frauen mit und ohne Belastungsinkontinenz**

#### **5.3.1 Immunfärbung**

Wir schlossen 29 Frauen (mittleres Alter 58,9 Jahre – 49 bis 74 Jahre) mit einem Genitalprolaps ein, die sich bei uns einer operativen Korrektur unterzogen. 9 Frauen (31 %) hatten einen Prolaps Grad 1, 10 Frauen (34,5 %) einen Prolaps Grad 2 und 10 Frauen (34,5 %) einen Prolaps Grad 3. Die Belastungsinkontinenz wurde bei 15 Frauen diagnostiziert. Unsere Kontrollgruppe bestand aus 14 kontinenten Frauen allerdings mit Prolaps. Sie gaben ein schriftliches Einverständnis an dieser Studie teilzunehmen. Wir führten die urogynäkologische Untersuchung durch, wie in Kapitel 5.1 beschrieben. Eine Patientin war nulli para, 14 Patientinnen primi para, 14 Patientinnen hatten 2 oder mehr Spontangeburt. Alle Patientinnen unterzogen sich einem beckenbodenchirurgischen rekonstruktiven Eingriff. Keine Patientin erhielt eine Hormonersatztherapie. Alle Patientinnen wurden präoperativ lokal mit Hormonen versorgt. Alle Patientinnen erhielten eine vordere vaginale Plastik und Vaginaefixatio sacrospinalis. Die Patientinnen mit einer Belastungsinkontinenz erhielten zusätzlich eine Inkontinenzoperation (TVT tension free vaginal tape). Während der Operation wurden jeweils zwei Biopsien der rechten und linken Paraurethralregion entnommen. Die Aufarbeitung der Schnitte entsprach den bereits beschriebenen Prozeduren beim Ligamentum sakrouterinum bzw. der Arteria uterina.

In dieser Patientinnengruppe wurde nur die Immunhistochemie mit der in Kapitel 5.1.1 gekennzeichneten Technik eingesetzt. Tenascin-Antikörper wurden hier nicht verwendet.

### 5.3.2 Elektronenmikroskopie

Es wurde periurethrales Beckenbindegewebe von 34 Frauen im Alter von 32 bis 81 Jahren mit klinisch und urodynamisch gesicherter Stressinkontinenz elektronenmikroskopisch untersucht. Ein Deszensus sowie eine Dranginkontinenz lag nicht vor. Zur Objektivierung der Inkontinenz wurde eine urodynamische Messung entsprechend der Empfehlung von Skala et al. (2003) durchgeführt. Bei 25 Patientinnen, Tabelle 8, wurde eine normotone (maximaler Urethroverschlussdruck über 60 cm H<sub>2</sub>O – Abbildung 5) und bei 9 Frauen, Tabelle 9, eine hypotone Urethra (maximaler Urethroverschlussdruck 25 cm H<sub>2</sub>O – Abbildung 6) gesichert. Präoperativ wurde eine 4-wöchige lokale Estrogenisierung durchgeführt. Perioperativ erfolgte nach schriftlicher Einwilligung entsprechend der Rechtsprechung des Bundesgerichtshofes in Deutschland (Reisenauer et al., 2003) im Rahmen einer Tension free vaginal tape-Implantation (Ulmsten et al., 1996) die periurethrale Gewebeentnahme (Abbildung 7). Die Auswahl des operativen Verfahrens der TVT-Schlingentechnik erfolgte nach den Richtlinien von Kölbl und Petri auf der Grundlage evidenzbasierter Medizin (Kölbl und Petri, 2003). Die Proben wurden in cacodylat-gepuffertem Glutar- und Paraformaldehyd fixiert, in gepuffertem Osmiumtetroxid nachfixiert, in einer aufsteigenden Acetonreihe entwässert, anschließend in Durcupan eingebettet und ultradünne Schnitte hergestellt. Letztere wurden mit 5%iger Tanninsäure/ 5%igem Uranylacetat und Bleicitrat (Gray et al., 1973) kontrastiert und mit einem Transmissionselektronenmikroskop EM 900 (Carl Zeiss) durchmustert. Auf die Visualisierungstechnik wird im Kapitel 5.3.3. und 5.3.4 eingegangen.

**Tabelle 8: Patientengut zur periurethralen Gewebentnahme bei Belastungsinkontinenz mit normotoner Urethra**

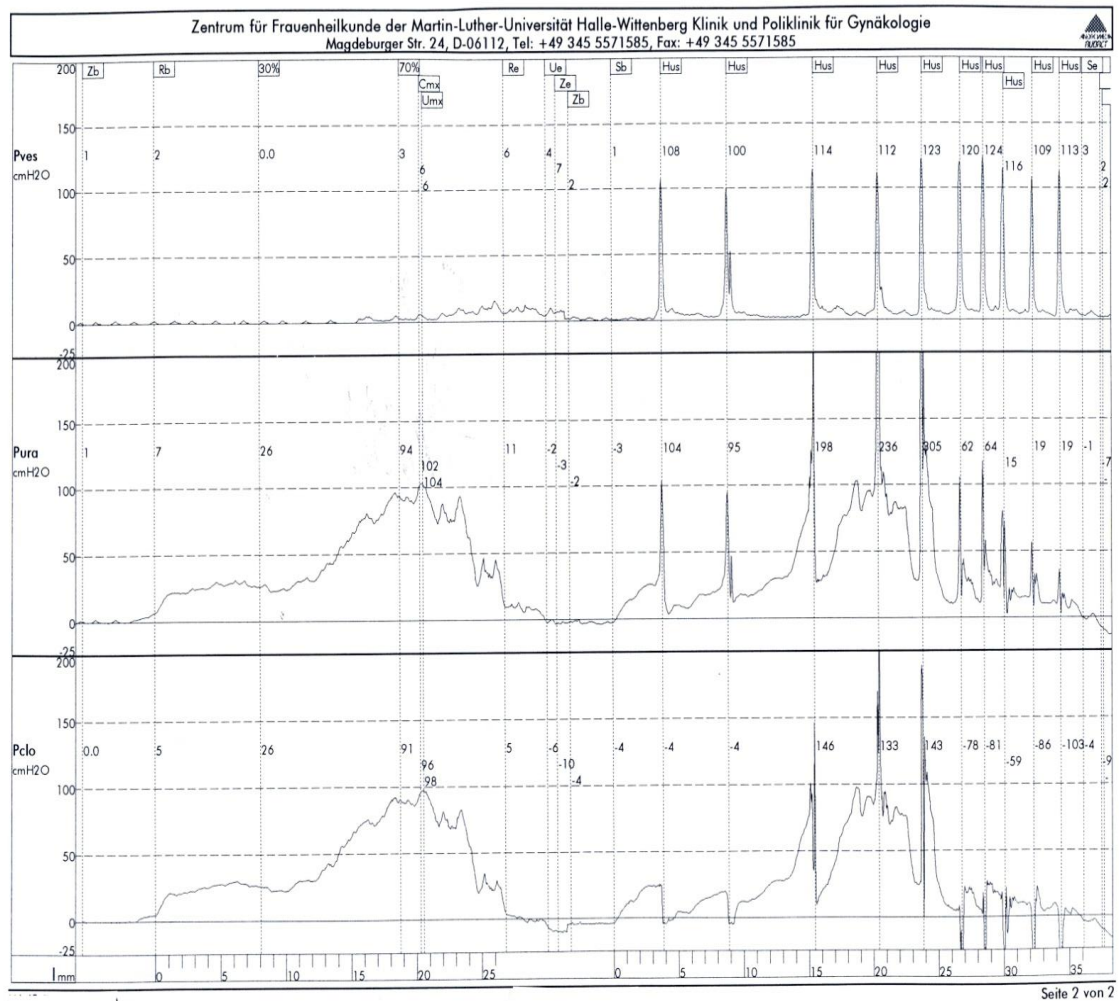
Lebensalter der Frau	maximaler Urethraverschlussdruck in Ruhe
32	114
34	65
35	90
42	95
45	82
47	84
51	98
52	101
52	97
54	98
55	68
56	92
57	94
58	112
58	96
60	83
63	70
63	85
64	85
65	93
69	90
70	94
73	78
74	84
76	92

**Tabelle 9: Patientengut zur periurethralen Gewebentnahme bei Belastungsinkontinenz mit hypotoner Urethra**

Lebensalter der Frau	maximaler Urethraverschlussdruck in Ruhe
37	18
39	22
41	21
44	12
61	5
62	8
66	17
71	16
76	25

### Abbildung 5:

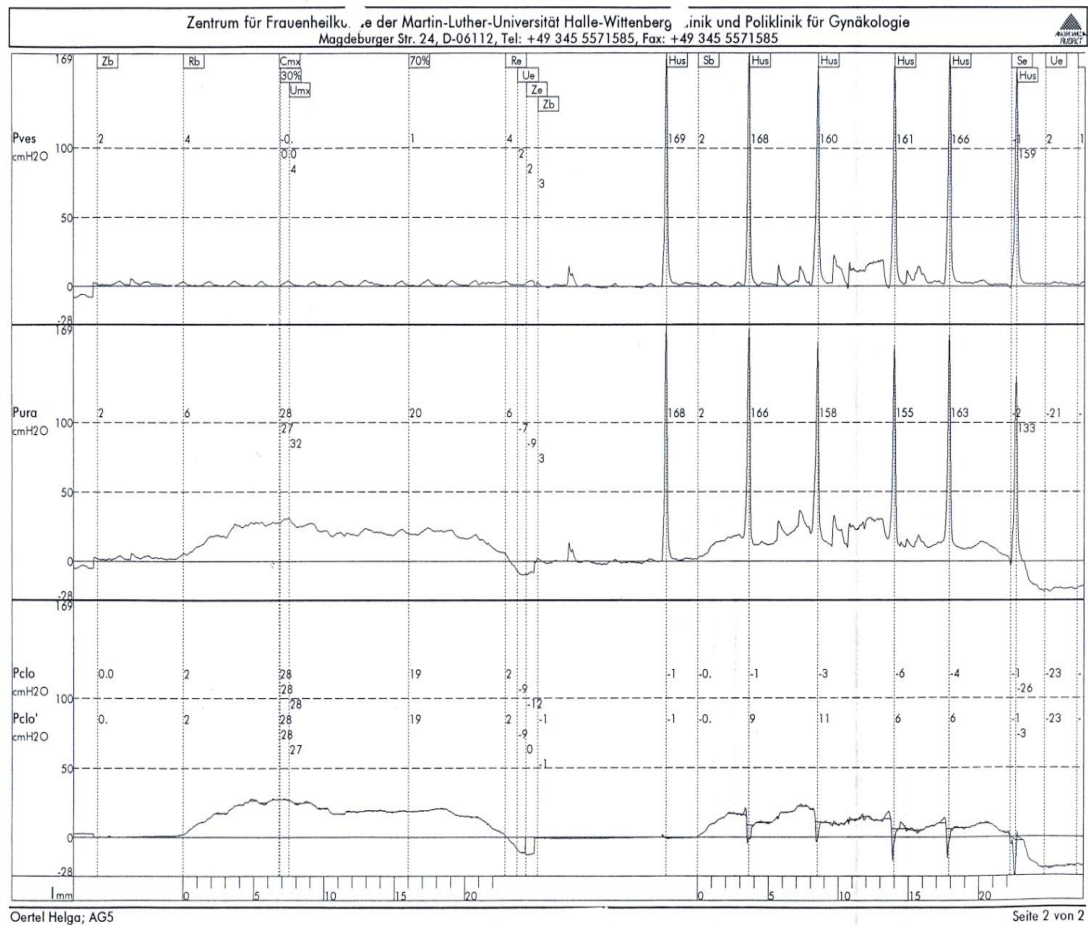
Urodynamik – Urethradruckprofil einer 54-jährigen Patientin (Ruhedruck- und Stressprofil). Die periurethrale Bindegewebsprobe dieser Patientin zur elektronenmikroskopischen Untersuchung wird in Abbildung 37 a dargestellt.

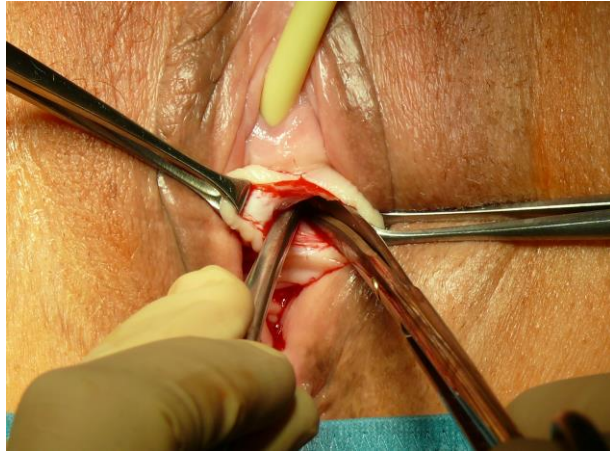




### Abbildung 6:

Urodynamik – Urethradruckprofil einer 76-jährigen Patientin (Ruhedruck- und Stressprofil). Die periurethrale Bindegewebsprobe dieser Patientin zur elektronenmikroskopischen Untersuchung zum Nachweis von Elastin wird in Abbildung 40 b dargestellt.





**Abbildung 7:** Paraurethrale Gewebeprobe vor der TVT-Operation einer 69-jährigen Patientin. Links im Bild ist die Pinzette zu sehen, rechts die Schere zur Gewebeentnahme.

### 5.3.3 Fixierung und Einbettung

Das frische Untersuchungsmaterial wurde zunächst in etwa 1 mm<sup>3</sup> große Stückchen zerlegt und diese anschließend in cacodylat-gepuffertem Glutar- und Paraformaldehyd (Merck, Darmstadt) fixiert (t = 2 h, T = 4 °C bei pH = 7,4). Das Fixierungsgemisch hatte folgende Zusammensetzung: 2%iges Glutaraldehyd und 4%iges Paraformaldehyd gelöst in 0,1 M Natrium-Cacodylat-Puffer. Die Pufferstammlösung enthielt dreifach hydriertes Dimethylarsinsäure-Natriumsalz (pH = 9 - 9,5), welches in Aqua dest. gelöst und mit Chlorwasserstoffsäure (HCl) auf pH = 7,4 eingestellt wurde.

Nach Spülung in 0,1 M Natrium-Cacodylat-Puffer (t = 2 x 15 min bei Raumtemperatur) wurden die Gewebestückchen in gepuffertem Osmiumtetroxid nachfixiert (1%iges Osmiumtetroxid in 0,1 M Natrium-Cacodylat-Puffer, t = 2 h bei Raumtemperatur) und anschließend nochmals in die Pufferlösung gebracht.

Da das Einbettungsmedium nicht wasserlöslich ist, erfolgte zunächst die schrittweise Entwässerung des Untersuchungsmaterials mit Aceton in aufsteigender Konzentration (Aceton 30%: t = 15 min; Aceton 50%: t = 30 min; Aceton 70%: über Nacht; Aceton 90%: t = 30 min; Aceton wasserfrei: t = 2 x 1 h jeweils bei Raumtemperatur).

Über steigende Mischungsverhältnisse zwischen dem Einbettungsmedium Durcupan ACM (Fluka, Buchs) und wasserfreiem Aceton wurde das Untersuchungsmaterial schließlich in reines Durcupan ACM überführt und in Silikon-Kautschuk-Formen mit eingearbeiteter Nummerierung eingebettet. Die Aushärtung des so präparierten Gewebes erfolgte über 63 Stunden bei T = 70 °C.

Semidünnschnitte (0,25 µm) und Ultradünnschnitte (50 nm) wurden mit dem Ultramikrotom (Reichert Ultracut, Leica, Wien) hergestellt. Als Träger für die Ultradünnschnitte dienten Kupfer-, Gold- und Nickelgrids (Plano, Wetzlar).

### **5.3.4 Kontrastierung**

#### **5.3.4.1 Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat**

Die Doppelkontrastierung der Ultradünnschnitte erfolgte mit 5%iger Uranylacetatlösung (Serva, Heidelberg) und Bleicitrat (Leica, Bensheim).

Nach der Spülung in Aqua destilata ( $t = 2 \times 3$  min bei Raumtemperatur) wurden die ultradünnen Schnitte in 5%iger Uranylacetatlösung inkubiert ( $t = 60$  min;  $T = 4$  °C). Im Anschluss an eine erneute Spülung in Aqua dest. ( $t = 3 \times 3$  min bei Raumtemperatur) erfolgte unter Abdunkelung die Kontrastierung mit Bleicitrat ( $t = 1$  min bei Raumtemperatur). Dabei wurden Natriumhydroxidplättchen eingesetzt, um das atmosphärische  $\text{CO}_2$  zu binden und so die Ausfällung von Bicarbonatkristallen auf den Präparaten zu verhindern. Abschließend wurden die ultradünnen Schnitte nochmals in Aqua destilata gespült ( $t = 5 \times 5$  min bei Raumtemperatur) und auf Filterpapier getrocknet.

#### **5.3.4.2 Selektive Kontrastierung mit Tanninsäure**

Die Verwendung von Tanninsäure, einem Gemisch aus Estern der D-Glucose mit Gallussäure, ermöglicht den selektiven elektronenmikroskopischen Nachweis des Proteins Elastin (Kajikawa et al., 1975). Dies beruht auf der Affinität des Elastins für anionische Farbstoffe (Cleary und Gibsonm 1996). Auch Klein und Böck (1983) sowie Böck (1999) erreichten durch den Zusatz von Tanninsäure zur Kontrastierung eine intensive Tinktion elastinhaltiger Bindegewebsfasern.

Die Ultradünnschnitte wurden zunächst in Aqua dest. gespült ( $t = 3 \times 5$  min) und anschließend in 5%iger Tanninsäure inkubiert ( $t = 15$  min;  $\text{pH} = 7$ ). Nach erneuter Spülung in Aqua dest. ( $t = 3 \times 3$  min) wurden die Schnitte unter Abdunkelung in Uranylacetatlösung gelegt ( $t = 60$  min;  $T = 4$ °C) und danach wieder in Aqua dest. gespült ( $t = 3 \times 3$  min). Abschließend erfolgten die Einbringung der Ultradünnschnitte in Bleicitrat ( $t = 1$  min; unter Abdunkelung) und die nochmalige Spülung in Aqua destilata ( $t = 6 \times 2$  min). Soweit nicht anders beschrieben, wurden alle Arbeitsschritte bei Raumtemperatur durchgeführt.

Sämtliche Lösungen wurden vor Gebrauch durch Spritzenfilter gegeben.

Die kontrastierten Schnitte wurden mit einem Transmissionselektronenmikroskop EM 900 (Carl Zeiss, Oberkochen) bei 50 kV durchmustert. Die Dokumentation der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe einer integrierten Planfilmkamera für Kodak Electron Microscope Film 4489.

Die angewandte Technik erlaubt eine selektive Visualisierung von elastinhaltigen Komponenten des elastischen Fasersystems, die aufgrund ihres unterschiedlichen Elastingehaltes als reife elastische Fasern erkannt werden können.

## 6 Ergebnisse

### 6.1 Ligamentum sakrouterinum

Bei den Negativkontrollen konnte keine Färbung nachgewiesen werden (Abbildung 8). Die Einteilung der Intensität wurde klassifiziert als minus für negativ, plus für schwach positiv (+), zweifach plus für mäßig positiv (++) und dreifach plus für stark positiv (+++). Wir sind uns bewusst, dass sich eine deskriptive Einschätzung der Fluoreszenzintensität einer statistischen Auswertung entzieht.

Alle untersuchten Proteine wurden in unseren Proben beider Gruppen gefunden. Hinsichtlich der Lokalisation gab es keine Unterschiede beim Nachweis von Kollagen und Glykoproteinen in unseren Färbungen. Bindegewebsfasern wurden um die Blutgefäße herum sowie nahe der Basalmembran unterhalb des Vaginalepithels visualisiert. Über das ganze Stroma verteilt finden wir Kollagentyp I, III und VI. Bei Patientinnen mit Prolaps ist Kollagentyp I etwas geringer stark positiv im Vergleich zu Proben des Ligamentes sakrouterinum bei Frauen ohne Prolaps. (Abbildung 9). Ähnlich ist der Befund bei Kollagentyp III (Abbildung 10). Im tieferliegenden Stroma im untersuchten Ligament von Frauen mit einem Prolaps ist allerdings Kollagentyp III vermehrt nachzuweisen (Abbildung 10 b). Hier ist die Immunreaktion deutlich stärker. Bei Patientinnen ohne Prolaps fanden wir im gesamten Stroma eine starke Färbung beim Nachweis von Kollagentyp VI (Abbildung 11 a), wohingegen bei Patientinnen mit Prolaps Kollagentyp VI deutlich vermindert im Ligamentum sakrouterinum nachgewiesen wird (Abbildung 11 b). Kollagentyp V wird als fibrilläres Kollagenetzwerk gefunden. Die zarten Fasern reichen durch das gesamte Stroma und scheinen ein Fasernetz zu bilden (Abbildung 12). Es werden hier keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen gefunden. Kollagentyp IV wird fast ausschließlich in Höhe der Basalmembran und den Blutgefäße gefunden, aber auch in den Muskelzellen, Fibroblasten und Nervenbündeln (Abbildung 13). Auch hier sehen wir ebenfalls keine Unterschiede der beiden untersuchten Gruppen. Des Weiteren wiesen wir die Glykoproteine Fibronectin und Laminin nach. Die Färbung von Fibronectin ist deutlich schwächer positiv im Vergleich zu Kollagen Typ I, III und VI, jedoch auch auf die gesamte Matrix verteilt, ähnlich Kollagen Typ V (Abbildung 14). Laminin hat die gleiche Verteilung wie Kollagentyp IV in Höhe der Basalmembran und der Blutgefäßwände und zeigt keine Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen (Abbildung 15).

Interessant ist die Tinktion von reichlich vitronektinpositiven Fasern im Bindegewebe des Ligamentum sakrouterinum bei Patientinnen ohne Prolaps (Abbildung 16 a), während dieses Glykoprotein in Proben des Ligamentum sakrouterinum von Frauen mit Prolaps kaum noch erscheint (Abbildung 16 b). Hier stellen sich keine immunfluoreszenzpostiven Fasern dar.

Elastin wird im gesamten Stroma des Ligamentum sakrouterinum nachgewiesen (siehe Abbildung 17 a). Die elastischen Fasern sind in engen Kontakt mit den Muskelzellen zu sehen. Bei Patientinnen ohne Prolaps färbt sich das gesamte Bindegewebe stark positiv. Im Gegensatz dazu zeigt die Gewebeprobe des Ligamentum sakrouterinum bei Patientinnen mit Prolaps nur vereinzelte elastische Faserstrukturen in geringem Ausmaß. Diese Fasern zeigen sich hier granulär bzw. fibrös und zum Teil auch amorph (Abbildung 17 b). Das Glykoprotein Tenascin wurde ebenfalls in unseren Proben untersucht. Eine schwache Tenascinreaktion finden wir bei Proben des Ligamentum sakrouterinum bei Patientinnen ohne Prolaps. Es ist etwas verstärkt nachzuweisen nahe der Basalmembran und in den Blutgefäßwänden. Bei Patientinnen mit Grad 4 Prolaps zeigt sich eine starke Immunreaktion in den Gewebeproben bei der Färbung mit Tenascinantikörpern (siehe Abbildung 18). Wir finden hier Tenascin im gesamten Bindegewebe und nahe von Blutgefäßen. Somit nimmt bei Frauen mit Prolaps uteri die Immunfärbung im Bindegewebsstroma des Ligamentum sakrouterinum noch einmal zu. Insbesondere sind die Myofibroblasten reaktiv.

Die Verteilung der Kollagentypen und Glykoproteine, welche in diesen Untersuchungen analysiert wurden, ist in Tabelle 10 dargestellt.

**Tabelle 10: Bindegewebsstatus im Ligamentum sakrouterinum**

ECM Protein	Frauen ohne Prolaps n=5	Frauen mit Prolaps n=5
Kollagen Typ I	+++	++
Kollagen Typ III	+++	++
Kollagen Typ IV	+	+
Kollagen Typ V	+	+
Kollagen Typ VI	+++	+
Fibronektin	+	+
Laminin	+	+
Vitronektin	++	-
Elastin	+++	+
Tenascin	+	+++

— = negativ; + = schwach; ++ = mittel und +++ = stark positive Immunreaktivität



### 6.1.1 Bilddokumentation



**Abbildung 8:**

Ligamentum sakrouterinum einer 69-jährigen Frau mit Totalprolaps des Uterus; die Kontrollfärbung mit Kaninchen IGG ist negativ (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

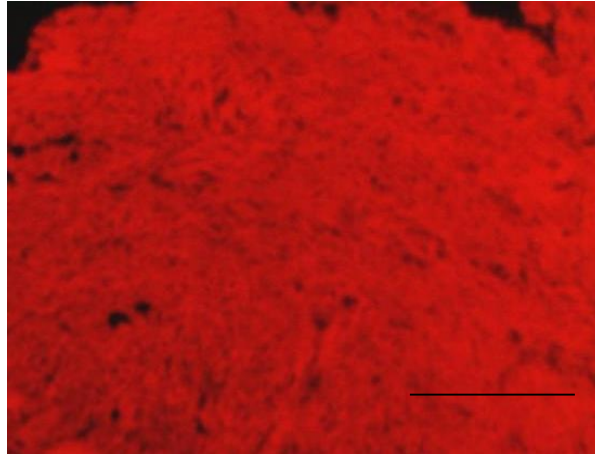


Abb. 9 a

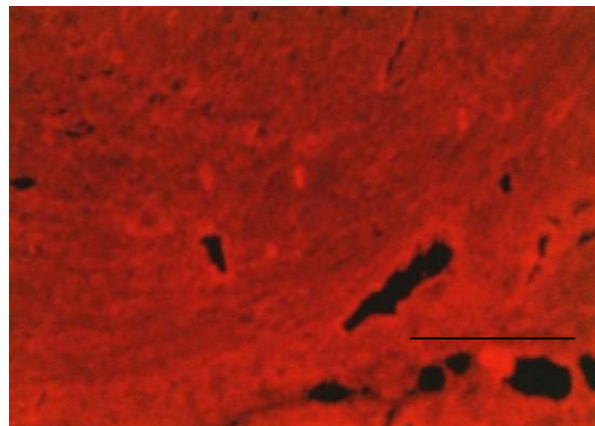


Abb. 9 b

**Abbildung 9 a:**

Immunfärbung Typ I-Kollagen. Probebiopsie des Ligamentum sakrouterinum einer 63-jährigen Frau ohne Prolaps. Das Stroma ist intensiv gefärbt. Das Bindegewebe besteht aus dichten stark gefärbten Bindegewebsfasern (Skalierung 50 µm).

**Abbildung 9 b:**

Biopsie des Ligamentum sakrouterinum einer 81-jährigen Frau mit Totalprolaps. Färbung von Kollagentyp I. Die Färbung von Kollagentyp I ist schwächer positiv im gesamten Bindegewebe, konzentriert sich aber perivaskulär (Skalierung 50 µm).

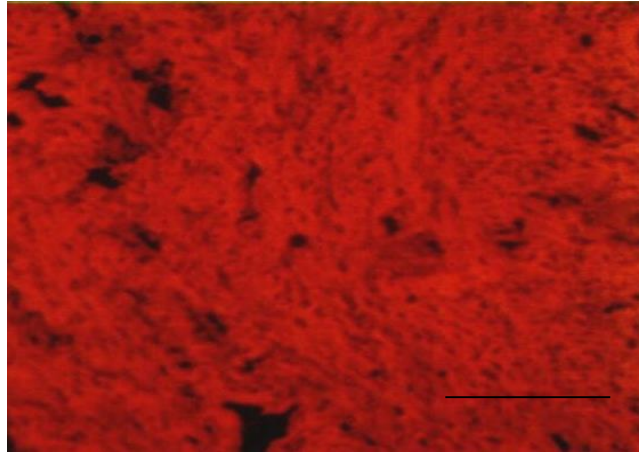


Abb. 10 a

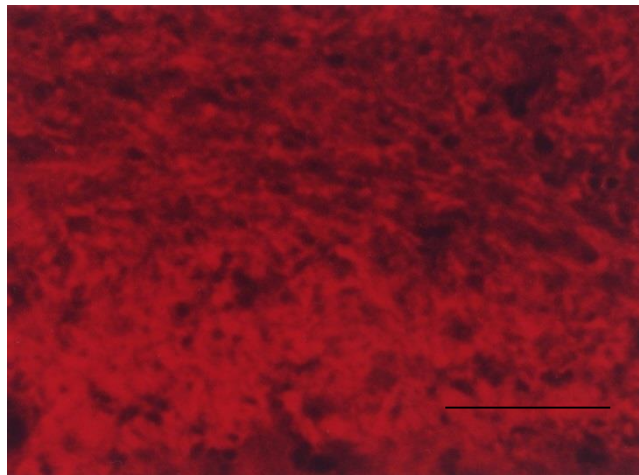


Abb 10 a

**Abbildung 10 a:**

Immunfärbung Typ III-Kollagen. Gewebe des Ligamentum sakrouterinum einer 63-jährigen Frau ohne Prolaps. Die Bindegewebsmatrix ist intensiv gefärbt. Das Stroma besteht aus stark positiv tingierten Bindegewebsfasern (Skalierung 50  $\mu$ m).

**Abbildung 10 b:**

Biopsie des Ligamentum sakrouterinum einer 81-jährigen Frau mit Totalprolaps. Färbung von Kollagentyp III. Die Immunreaktion von Kollagentyp III ist mäßig positiv, insbesondere im tieferliegenden Stroma - hier untere Bildhälfte (Skalierung 50  $\mu$ m).



Abb. 11 a

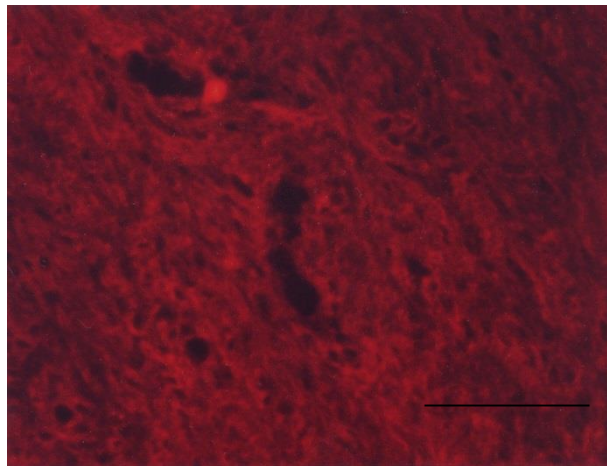


Abb. 11 b

**Abbildung 11 a:**

Probebiopsie des Ligamentum sakrouterinum einer 63-jährigen Frau ohne Prolaps zum Nachweis von Typ VI-Kollagen. Das Stroma ist hoch positiv gefärbt. Das Bindegewebe besteht aus stark positiv tingierten Bindegewebsfasern (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 11 b:**

Biopsie des Ligamentum sakrouterinum einer 81-jährigen Frau mit Totalprolaps. Färbung von Kollagentyp VI. Die Färbung von Kollagentyp VI ist nur schwach positiv im gesamten Bindegewebe (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

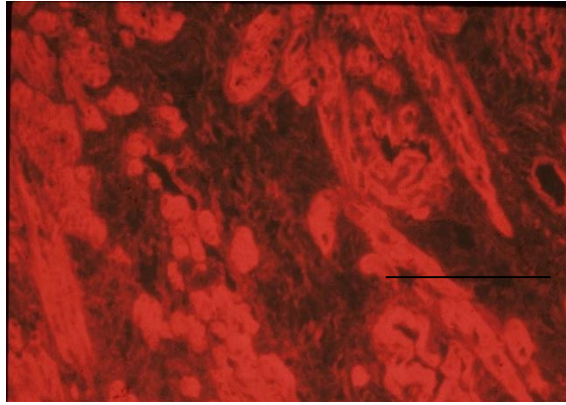


Abb 12 a

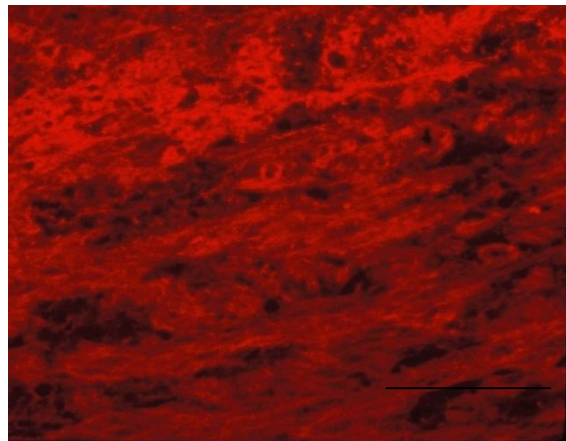


Abb. 12 b

**Abbildung 12 a:**

Probebiopsie des Ligamentum sakrouterinum einer 71-jährigen Frau ohne Prolaps zum Nachweis von Typ V-Kollagen. Das Stroma ist schwach positiv gefärbt. Die Immuntinktion konzentriert sich auf glatte Muskelzellen und Fibroblasten.

**Abbildung 12 b:**

Biopsie des Ligamentum sakrouterinum einer 71-jährigen Frau mit Totalprolaps. Färbung von Kollagentyp V. Die Färbung von Kollagentyp V ist nur schwach positiv im gesamten Bindegewebe. Gering tingierte Fasern ziehen durch den interstitiellen Raum nahe der Basalmembran, hier obere Bildhälfte (Skalierung 50 µm).

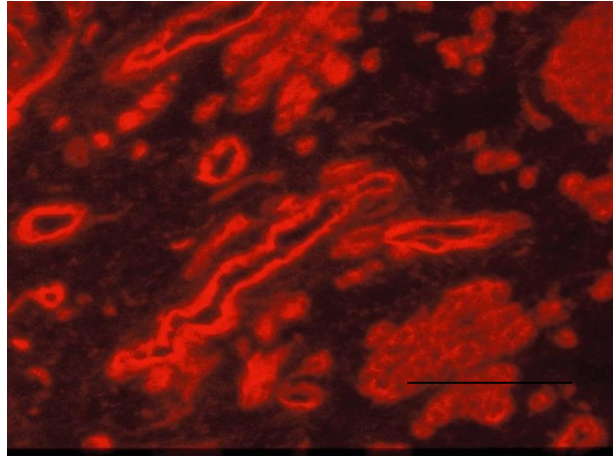


Abb. 13 a

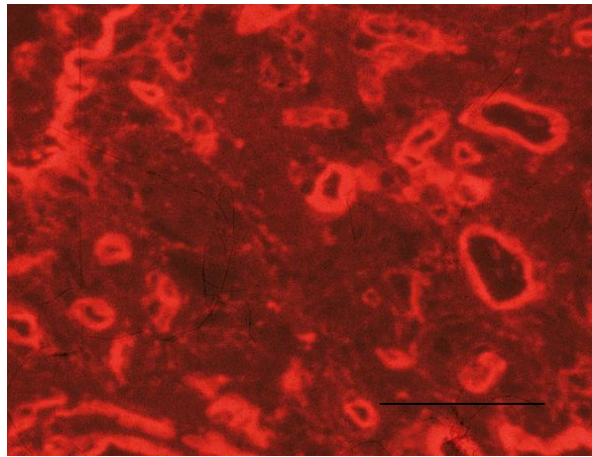


Abb. 13 b

**Abbildung 13 a:**

Probebiopsie des Ligamentum sakrouterinum einer 63-jährigen Frau ohne Prolaps zum Nachweis von Typ IV-Kollagen. Muskelzellen, Fibroblasten, Blutgefäßwände und Nervenbündel sind hier immunreaktiv (Skalierung 50 µm).

**Abbildung 13 b:**

Biopsie des Ligamentum sakrouterinum einer 71-jährigen Frau mit Totalprolaps zur Tinktion von Kollagentyp IV. Die Fluoreszenz von Kollagentyp IV ist im Bindegewebe schwächer, aber in Höhe der Basalmembran – oben im Bild links - und Blutgefäßwänden stark positiv (Skalierung 50 µm).

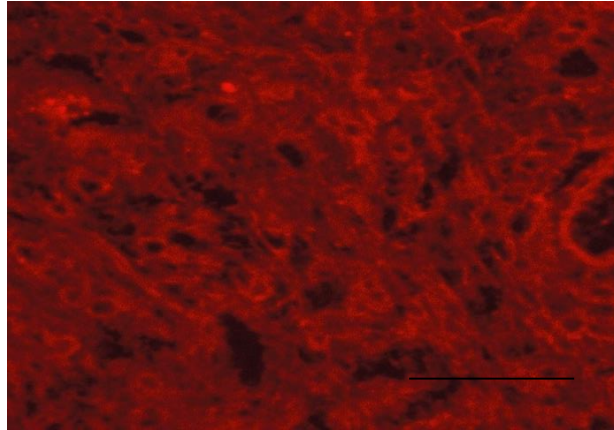


Abb. 14 a

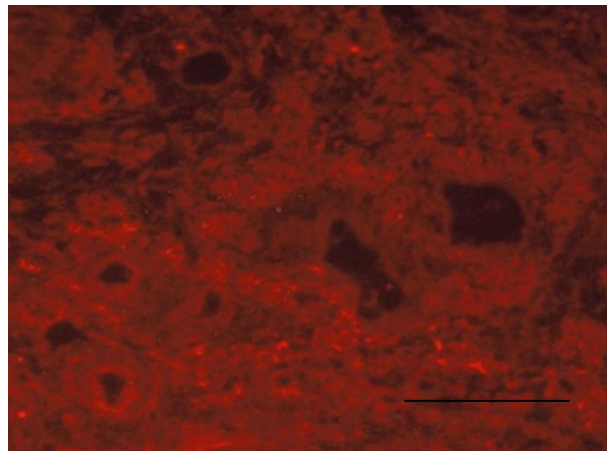


Abb. 14 b

**Abbildung 14 a:**

Probibiopsie des Ligamentum sakrouterinum einer 71-jährigen Frau ohne Prolaps zum Nachweis des Glykoproteins Fibronektin. Das Stroma ist schwach positiv gefärbt (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 14 b:**

Biopsie des Ligamentum sakrouterinum einer 72-jährigen Frau mit Totalprolaps. Färbung von Fibronektin. Die Immuntinktion von Fibronektin ist nur schwach positiv im gesamten Bindegewebe, aber auch in Blutgefäßwänden (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

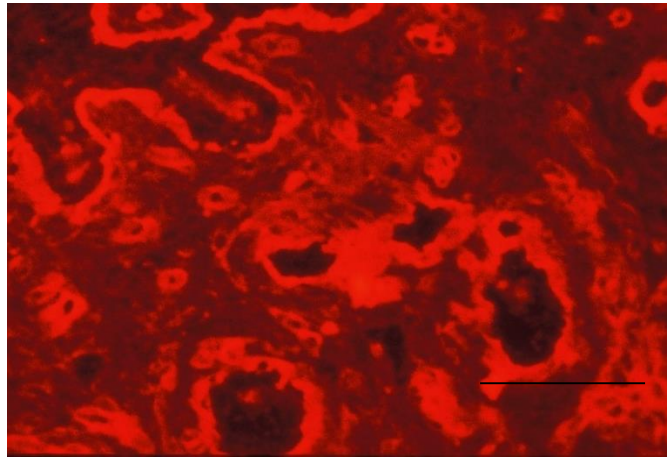


Abb. 15 a

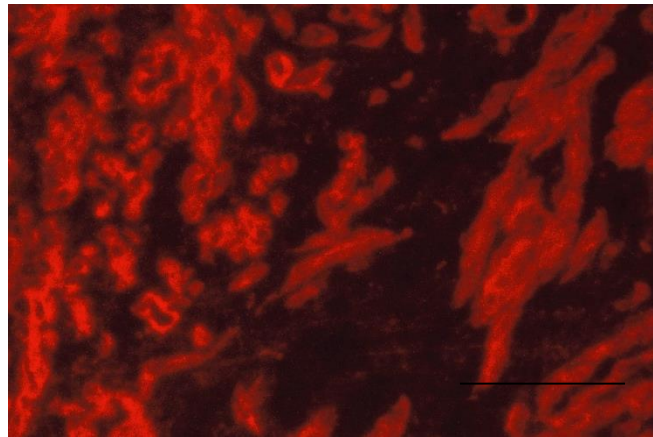


Abb. 15 b

**Abbildung 15 a:**

Probebiopsie des Ligamentum sakrouterinum einer 63-jährigen Frau ohne Prolaps zum Nachweis von Laminin. Die Färbung konzentriert sich auf Muskelzellen, Fibroblasten, Blutgefäßwände und ist im dazwischenliegenden Gewebe kaum vorhanden (Skalierung 50 µm).

**Abbildung 15 b:**

Biopsie des Ligamentum sakrouterinum einer 72-jährigen Frau mit Totalprolaps zur Tinktion von Laminin. Die Fluoreszenz von Laminin ist wie bei Kollagentyp IV im Bindegewebe schwach, aber in Höhe der Basalmembran, Myofibroblasten und Blutgefäßwänden gut nachzuweisen (Skalierung 50 µm).



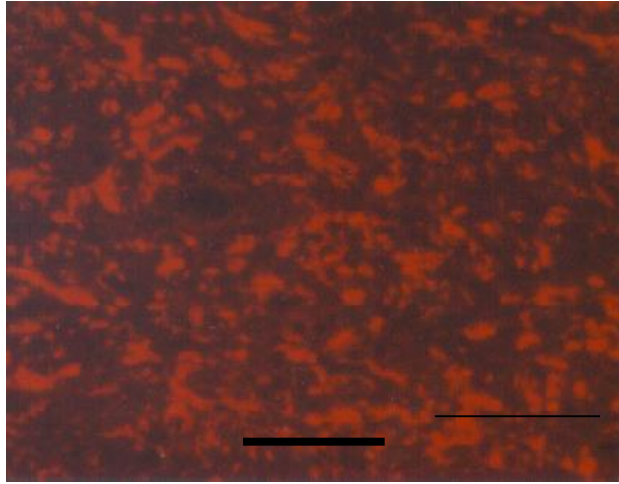


Abb. 16 a

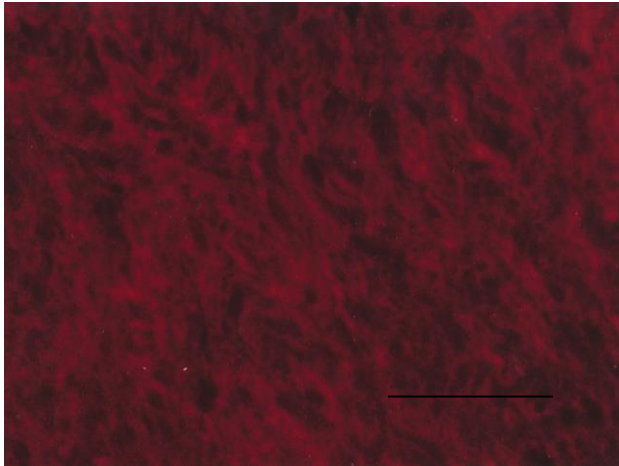


Abb. 16 b

**Abbildung 16 a:** Nachweis von Vitronektin im Ligamentum sakrouterinum einer 69-jährigen Frau ohne Prolaps. Vitronektinpositive Fasern sind mäßig positiv und im gesamten Untersuchungsareal verteilt (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 16 b:** Negative Vitronektinfärbung im Uterosakralligament einer 72-jährigen Frau mit Prolaps Grad IV. Vitronektinpositive Fasern sind nicht darstellbar (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

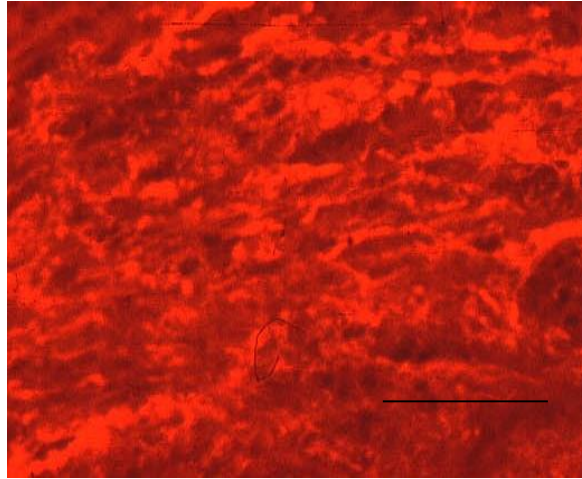


Abb. 17 a

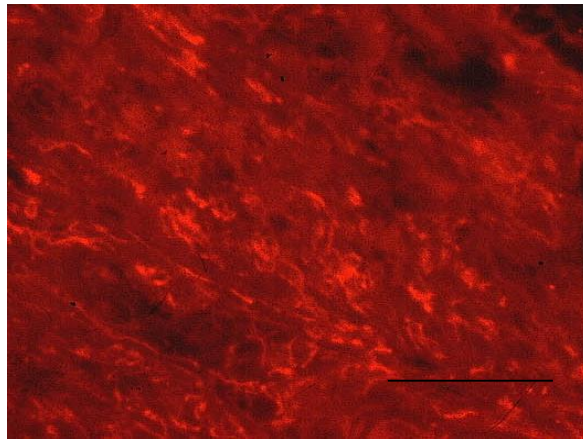


Abb. 17 b

**Abbildung 17 a:** Tinktion des Elastins im Ligamentum sakrouterinum einer 71-jährigen Frau ohne Prolaps. Elastingefärbte positive Bindegewebsfasern sind deutlich und stark positiv zu sehen (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 17 b:** Elastinfärbung im Ligamentum sakrouterinum einer 71-jährigen Patientin mit Totalprolaps des Uterus. Die Elastinfasern sind nur noch schwach bis mäßig positiv nachweisbar bzw. sehr vereinzelt anzutreffen (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

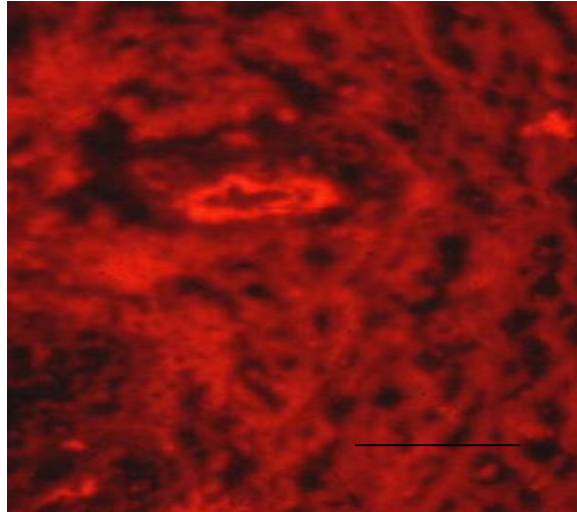


Abb. 18 a

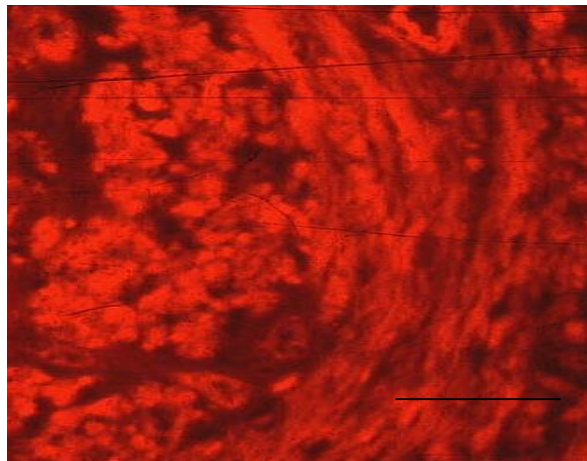


Abb. 18 b

**Abbildung 18 a:** Probe am Ligamentum sakrouterinum einer 63-jährigen Frau ohne Prolaps. Die Intensität der Färbung von Tenascin ist schwach positiv im Bindegewebe (Skalierung 40  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 18 b:** Ligamentum sakrouterinum einer 69-jährigen Frau mit Totalprolaps des Uterus zeigt das Glykoprotein Tenascin. Insbesondere die Myofibroblasten sind im Vergleich zu den Proben von Frauen ohne Prolaps stark positiv gefärbt (Skalierung 40  $\mu\text{m}$ ).

## 6.2 Arteria uterina

Zunächst kann postuliert werden, dass unabhängig vom Vorhandensein des Prolaps alle Kollagentypen (I, III, IV, V und VI) in der Wand der Arteria uterina nachgewiesen worden. Die Kontrolle war entsprechend negativ (Abbildung 19). Dicke Bindegewebsfasern sind insbesondere zirkulär um die Arteria in der Tunica adventitia zu finden. Streng positiv gefärbt sind beim Nachweis aller Kollagene die Tunica interna. In der Tunica media ist vor allem Kollagentyp I, III und VI zu finden. Hauptsächlich Kollagentyp VI ist in der Tunica media bei Patientinnen ohne Prolaps hoch positiv. Bei Patientinnen mit Prolaps finden wir in der Tunica media der Arteria uterina einen erhöhten Anteil von Kollagentyp III, dafür ist er in der Adventitia geringer als bei Frauen ohne Prolaps (Abbildung 20). Dagegen ist ein geringerer Nachweis von Kollagentyp VI in der Tunica media der Arteria uterina bei Frauen mit Prolaps im Vergleich zur Blutgefäßwand von Frauen ohne Prolaps zu sehen. Perivaskulär nimmt die Nachweisintensität von Kollagen VI wieder zu (Abbildung 21). Kollagentyp I ist in beiden Gruppen ähnlich intensiv verteilt (Abbildung 22), nur in der Tunica media bei beiden Gruppen etwas schwächer. Kollagentyp V ist als ein feinfibrinöses Netzwerk nachzuweisen, es ist vorwiegend in der Tunica interna und media und nur teilweise mit der Tunica adventitia zu sehen. Bei der Immunfärbung von Kollagentyp V sind keine Unterschiede hinsichtlich Verteilung und Lokalisation in den untersuchten Gruppen zu finden (Abbildung 23). Beim Einsatz von Kollagentyp IV-Antikörpern finden wir ebenfalls keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen, Typ IV-Kollagen ist hauptsächlich in der Tunica interna und media verteilt (Abbildung 24). Wir untersuchten weiterhin die Glykoproteine Fibronectin, Laminin und Vitronectin. Die Fibronectinfärbung ist geringergradig positiv im Vergleich zu Kollagen. Fibronectin ist in allen Schichten gut sichtbar, konzentriert sich jedoch auf die Tunica interna (Abbildung 25). Laminin ist in der Tunica interna und media ähnlich verteilt wie Kollagentyp IV (Abbildung 26). Zwischen den Untersuchungsgruppen konnten keine Unterschiede sichtbar gemacht werden. Vitronectin ist ebenso in der Tunica interna und media nachzuweisen und die Immunfärbung ist schwach positiv in der Tunica adventitia der Arteria uterina bei Patientinnen ohne Prolaps (Abbildung 27). Dagegen ist das Glykoprotein nur noch vermindert visualisierbar in der Tunica media, schwächer positiv in der Interna und kaum noch in der Tunica adventitia bei Proben der Arteria uterina bei Patientinnen mit Prolaps. Vitronectinpositive Strukturen sind hier jedoch

teilweise amorph und nur an einigen Stellen sichtbar, aber nicht mehr als eine komplette Faserstruktur.

Elastin ist in erster Linie lokalisiert in der Tunica interna und media der Arteria uterina bei Patientinnen ohne Prolaps (Abbildung 28). Hier ist auch ein enger Kontakt zu den Muskelzellen der Tunica media zu sehen. Bei Patientinnen mit Prolaps ist Elastin in der Interna nur noch mäßig positiv und in der Tunica media und Tunica adventitia gering positiv sichtbar.

Die Tenascinfärbung ist bei Patientinnen ohne Prolaps in der Arteria uterina speziell in der Tunica media positiv und in gleicher Weise in der Tunica interna. Allerdings nimmt die Färbung in der Tunica media bei Patientinnen mit Prolaps noch einmal deutlich zu (Abbildung 29), s. Kapitel 6.2.1.

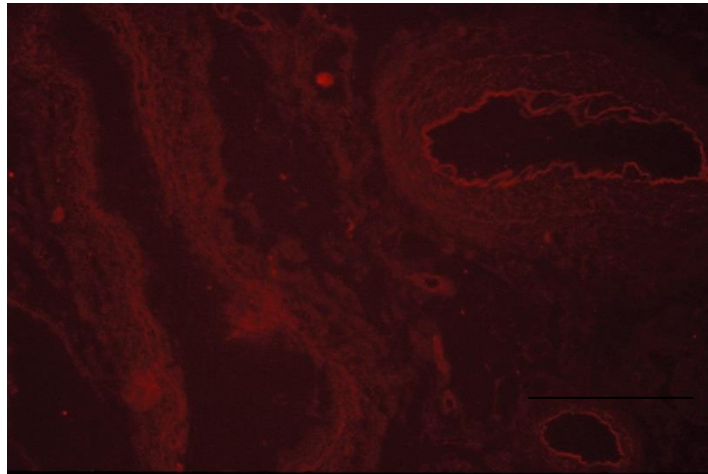
Tabelle 11 zeigt die Lokalisation und Verteilung von Kollagen und der extracellulären Matrixproteine, welche analysiert worden.

**Tabelle 11: Nachweis von Matrixproteinen in der Wand der Arteria uterina**

ECM	Arteria uterina von Frauen ohne Prolaps			Arteria uterina von Frauen mit Prolaps		
	Interna	Media	Adventitia	Interna	Media	Adventitia
Koll. Typ I	+++	++	+++	+++	++	+++
Koll. Typ III	+++	++	+++	+++	+++	++
Koll. Typ IV	+++	++	+	+++	++	+
Koll. Typ V	++	+	+	++	+	+
Koll. Typ VI	+++	+++	+++	+++	+	+++
Fibronectin	++	+	+	++	+	+
Laminin	++	++	+	+++	++	+
Vitronectin	+++	++	+	++	+	+
Elastin	+++	++	+	++	+	+
Tenascin	++	++	-	++	+++	-

- = negativ; + = schwach; ++ = mittel und +++ = stark positive Immunoreaktivität

## 6.2.1 Bilddokumentation



**Abbildung 19** : Kontrollfärbung mit Kaninchen-IGG, Probe der Arteria uterina einer 63-jährigen Frau ohne Prolaps. Bis auf eine unspezifische Anreicherung in der Interna negative Kontrollreaktion (Skalierung 480  $\mu\text{m}$ ).

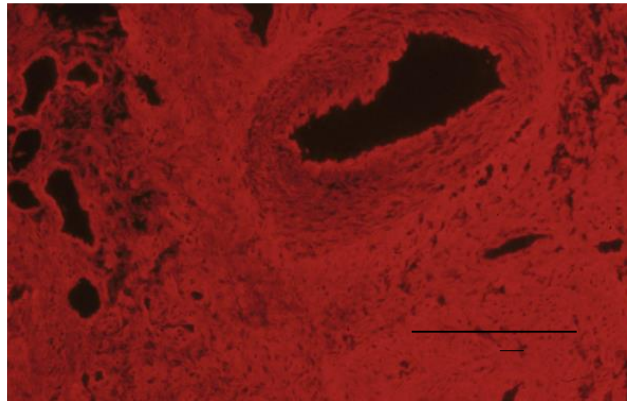


Abb. 20 a

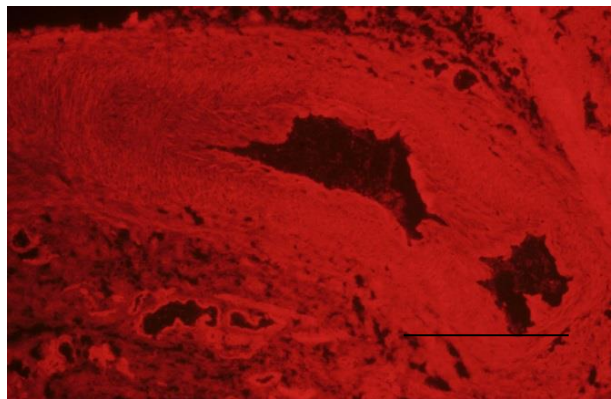


Abb. 20 b

**Abbildung 20 a:** Immunfärbung vom Kollagen Typ III, Probe der Arteria uterina einer 63-jährigen Frau ohne Prolaps. Das Stroma der Tunica adventitia ist intensiv gefärbt. Die Tunica interna besteht aus dichtgepackten intensiv gefärbten Fasern, die Media ist nur mäßig stark positiv (Skalierung 480  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 20 b:** Immunfärbung vom Kollagen Typ III, Probe der Arteria uterina einer 81-jährigen Frau mit Prolaps. Starke Reaktivität der Tunica media, dagegen ist die Adventitia schwächer positiv (Skalierung 500  $\mu\text{m}$ ).

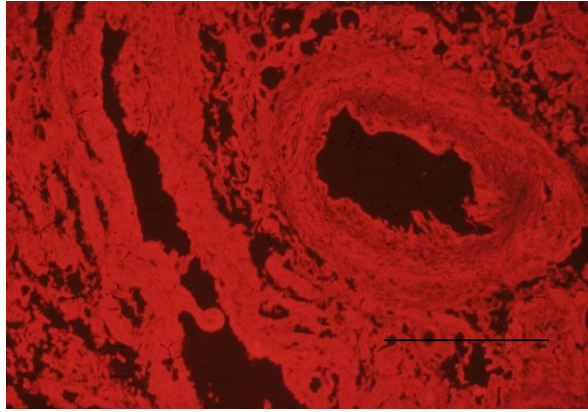


Abb. 21 a

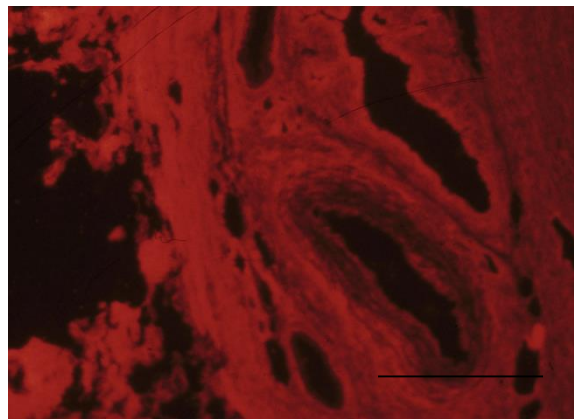


Abb. 21 b

**Abbildung 21 a:** Immunfärbung vom Kollagen Typ VI, Wand der Arteria uterina einer 69-jährigen Frau ohne Prolaps. Das Stroma der Tunica interna, media und der Tunica adventitia sind stark reaktiv (Skalierung 480  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 21 b:** Tunica media der Arteria uterina einer 71-jährigen Frau mit Prolaps zeigt eine geringer stark positive Immunofluoreszenz beim Nachweis von Kollagentyp VI (Skalierung 480  $\mu\text{m}$ ).



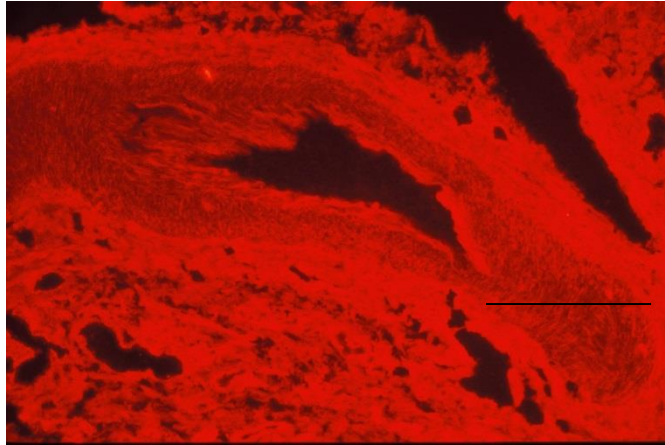


Abb. 22 a

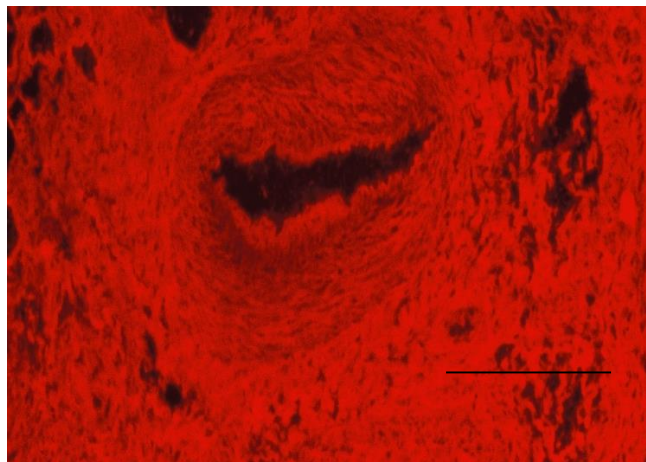


Abb. 22 b

**Abbildung 22 a:** Immunfärbung vom Kollagen Typ I, Probe der Arteria uterina einer 63-jährigen Frau ohne Prolaps. Das Stroma der Tunica adventitia ist intensiv gefärbt. Die Tunica interna besteht aus dichtgepackten intensiv gefärbten Fasern, die Media ist nur mäßig stark positiv, dagegen die Adventitia wieder stark gefärbt (Skalierung 480  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 22 b:** Immunfärbung vom Kollagen Typ I, Probe der Arteria uterina einer 81-jährigen Frau mit Prolaps. Starke Reaktivität der Tunica interna und adventitia, dagegen ist die Media schwächer positiv (Skalierung 500  $\mu\text{m}$ ).

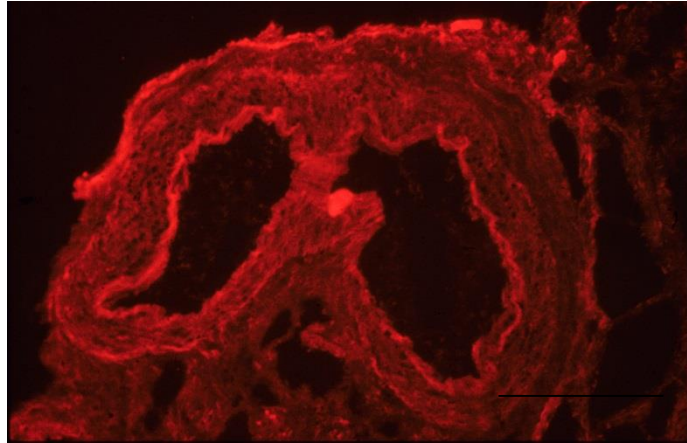


Abb. 23 a

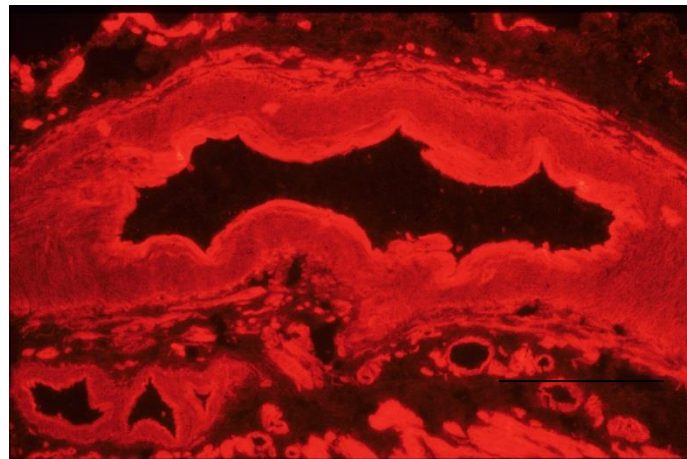


Abb. 23 b

**Abbildung 23 a:** Arteria uterina-Färbung einer 69-jährigen Frau ohne Prolaps. Kollagentyp V-positive Strukturen sind mäßig positiv in der Tunica interna und moderat in der Media und Adventitia der Arterie (rechts im Bild) gefärbt (Skalierung 480  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 23 b:** Kollagentyp V in der Arteria uterina einer 71-jährigen Frau mit Prolaps. Hier sind schwächer positive Strukturen nachweisbar in der Tunica media und Tunica adventitia, dagegen mäßig bis stark positiv in der Tunica interna (Skalierung 500  $\mu\text{m}$ ).

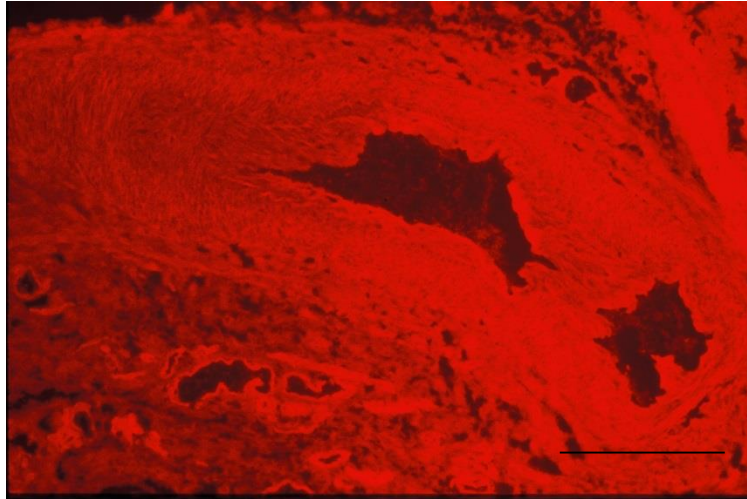


Abb. 24 a

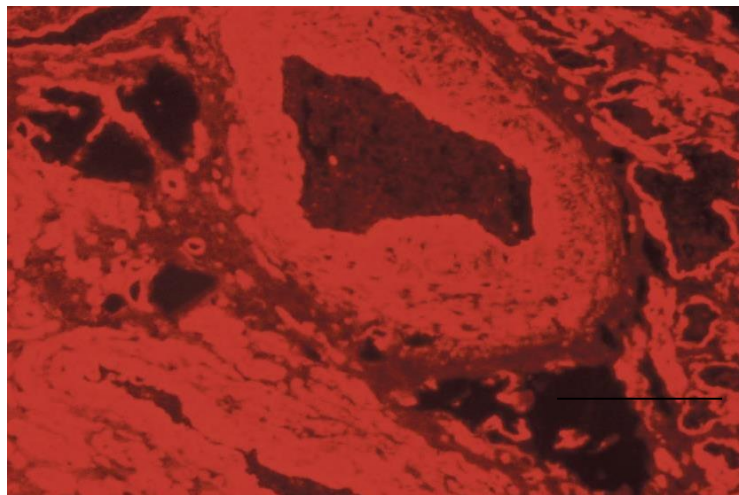


Abb. 24 b

**Abbildung 24 a:** Arteria uterina-Färbung einer 63-jährigen Frau ohne Prolaps. Kollagentyp IV - positive Strukturen sind stark positiv in der Tunica interna und moderat in der Media und schwach positiv in der Adventitia der Arterie gefärbt (Skalierung 480  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 24 b:** Kollagentyp IV in der Arteria uterina einer 71-jährigen Frau mit Prolaps. Hier sind schwächer positive Strukturen nachweisbar in der Tunica adventitia, dagegen mäßig in der Tunica media und stark positiv in der Tunica interna (Skalierung 500  $\mu\text{m}$ ).

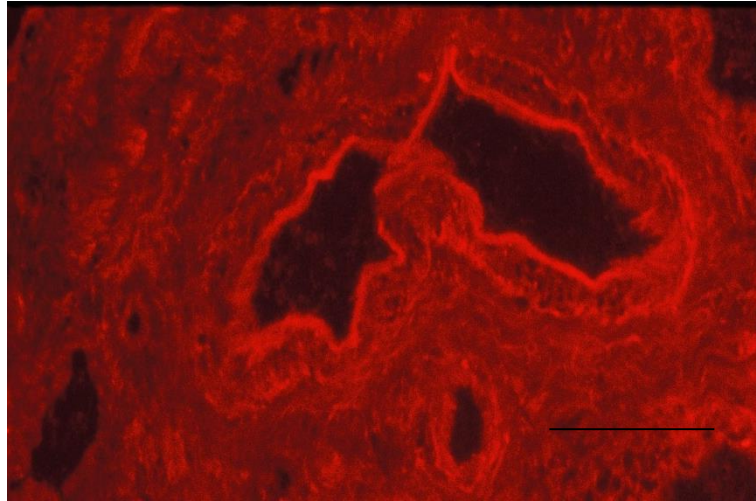


Abb. 25 a

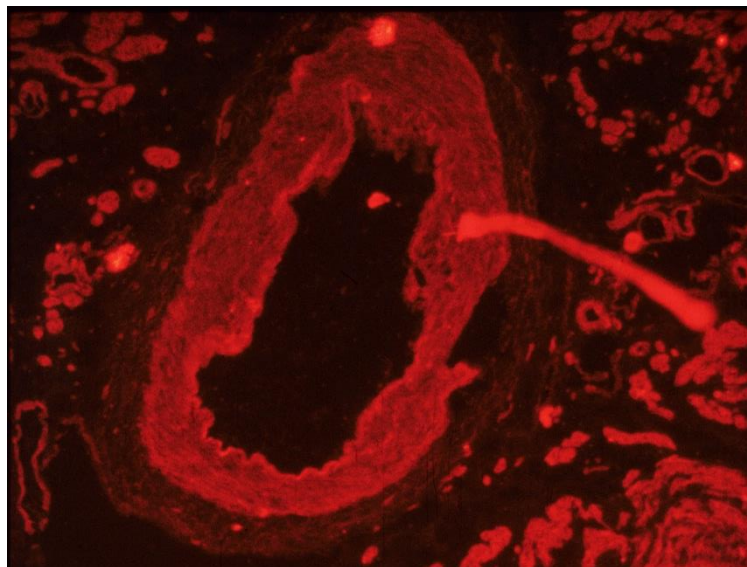


Abb. 25 b

**Abbildung 25 a:** Arteria uterina-Färbung einer 69-jährigen Frau ohne Prolaps. Mäßig Fibronectinpositive Strukturen sind in der Tunica interna und schwächer positiv in der Media und Adventitia der Arterie gefärbt (Skalierung 480  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 25 b:** Fibronectinnachweis in der Arteria uterina einer 63-jährigen Frau mit Prolaps. Hier sind schwach bis mäßig positive Strukturen sichtbar in der Tunica media und Tunica adventitia, dagegen stärker positiv in der Tunica interna (Skalierung 500  $\mu\text{m}$ ).

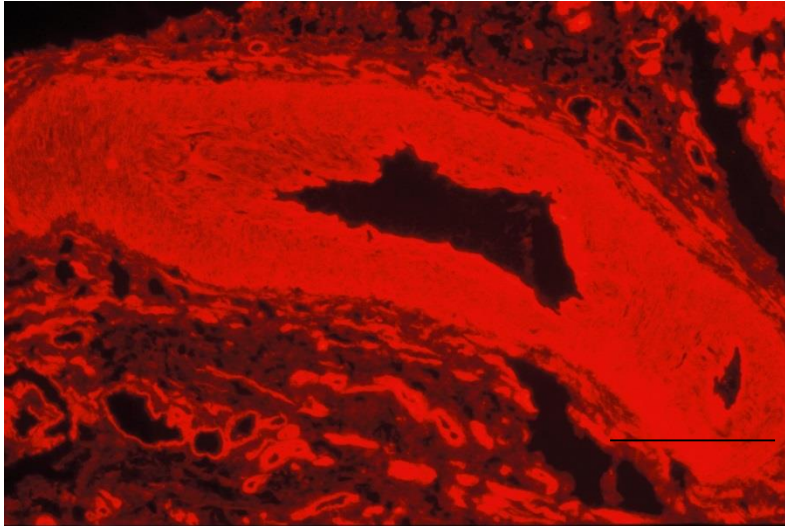


Abb. 26 a

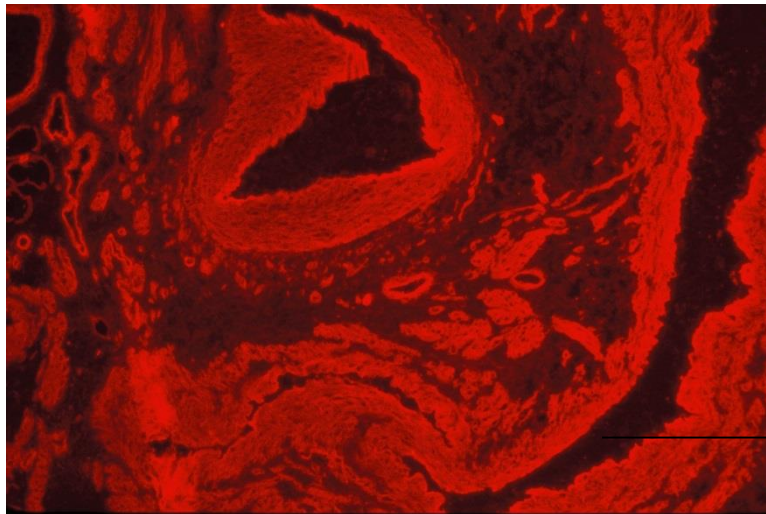


Abb. 26 b

**Abbildung 26 a:** Arteria uterina-Färbung einer 59-jährigen Frau ohne Prolaps. Laminin-positive Strukturen sind stark positiv in der Tunica interna und moderat in der Media und schwach positiv in der Adventitia der Arterie gefärbt (Skalierung 480  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 26 b:** Laminin in der Arteria uterina einer 74-jährigen Frau mit Prolaps. Hier sind schwach positive Strukturen nachweisbar in der Tunica adventitia, dagegen mäßig in der Tunica media und stark positiv in der Tunica interna (Skalierung 500  $\mu\text{m}$ ). Rechts unten im Bild ist ein venöses Blutgefäß dargestellt.

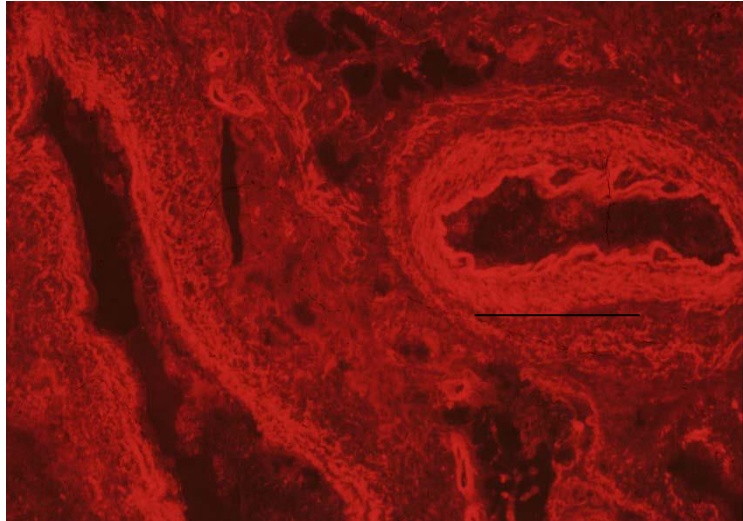


Abb. 27 a

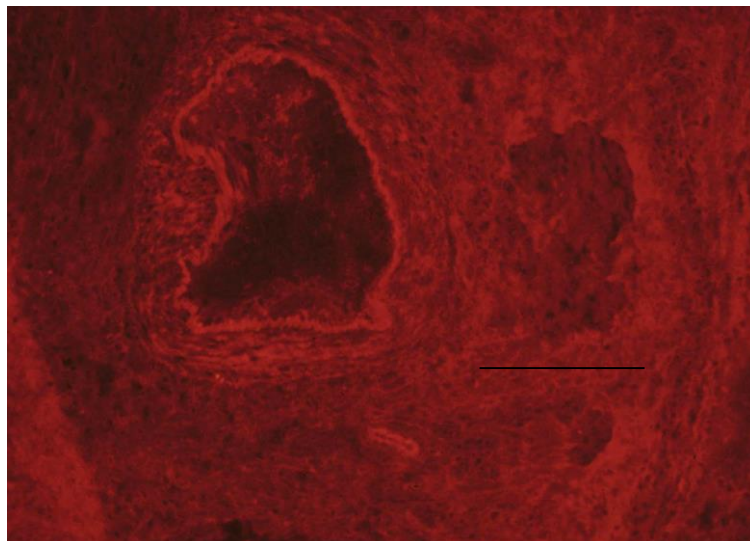


Abb. 27 b

**Abbildung 27 a:** Arteria uterina-Färbung einer 69-jährigen Frau ohne Prolaps. Vitronectinpositive Strukturen sind intensiv bei der Tunica interna und moderat in der Media und Adventitia der Arterie (rechts im Bild) gefärbt. Die Tunica media und interna der Vene ist hier ebenfalls dargestellt (links im Bild) und positiv (Skalierung 480  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 27 b:** Vitronectin in der Arteria uterina einer 71-jährigen Frau mit Prolaps. Hier sind vitronectinpositive Strukturen nur zart nachweisbar an der Tunica media und Tunica adventitia, die Interna ist mäßig positiv (Skalierung 500  $\mu\text{m}$ ).

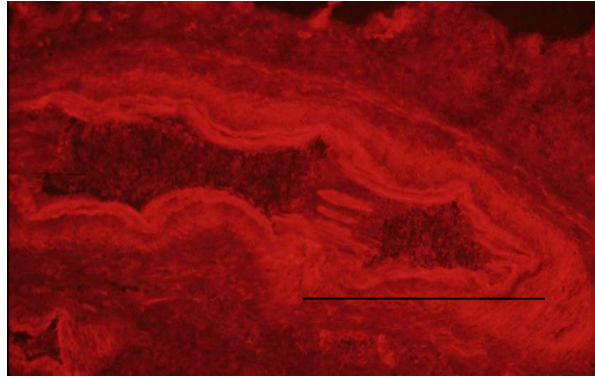


Abb. 28 a

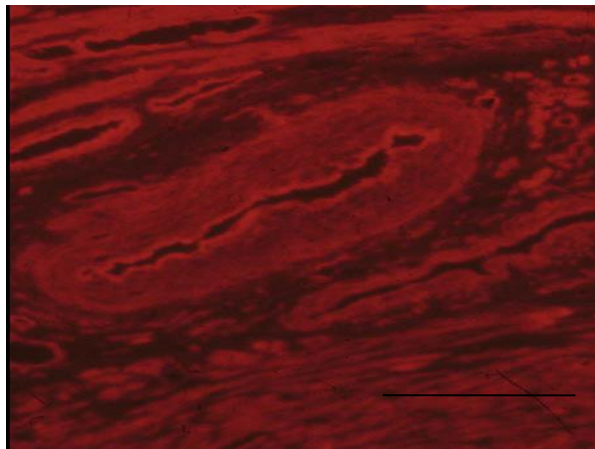


Abb. 28 b

**Abbildung 28 a:** Arteria uterina einer 69-jährigen Frau ohne Prolaps. Elastinpositive Fasern sind stark immunreaktiv an der Tunica interna und hier dicht gelagert, aber auch an der medianen Tunica adventitia (Skalierung 500  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 28 b:** Arteria uterina einer 63-jährigen Frau mit Prolaps, elastinpositive Strukturen sind deutlich abgeschwächt nachweisbar in der Interna und nur noch gering positiv in der Tunica media und adventitia. Insgesamt nachlassende Intensität bei der Elastinfärbung der Arteria uterina von Frauen mit Prolaps im Vergleich zur Kontrollgruppe (Skalierung 480  $\mu\text{m}$ ).

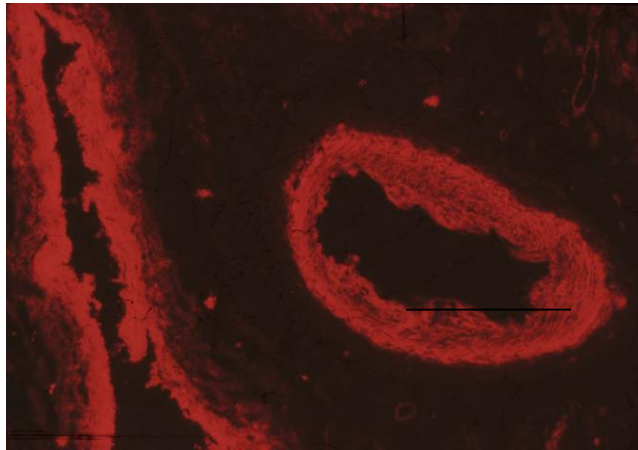


Abb. 29 a

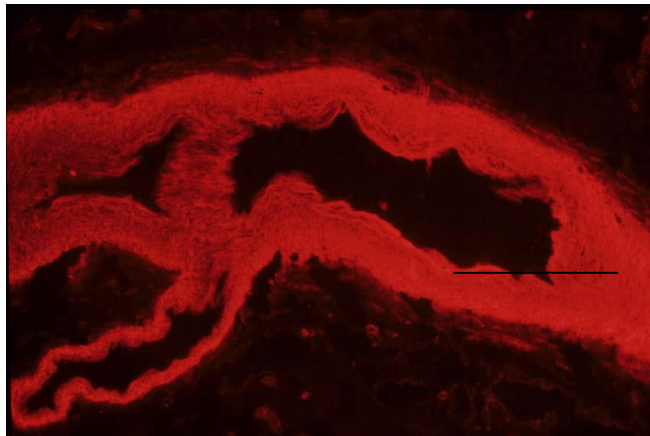


Abb. 29 b

**Abbildung 29 a:** Arteria uterina einer 63-jährigen Frau ohne Prolaps. Die Tenascinfärbung ist insbesondere in der Tunica media und interna zu sehen, aber auch in den Venen – hier links im Bild - ist sie deutlich sichtbar (Skalierung 480  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 29 b:** Die Arteria uterina einer 81-jährigen Frau mit Totalprolaps des Uterus. Die Myofibroblasten der Tunica media sind stark immunreaktiv und die Färbeintensität nimmt im Vergleich zu den Proben von Frauen ohne Prolaps noch einmal deutlich zu, bleibt aber auf die Media beschränkt (Skalierung 500  $\mu\text{m}$ ).



## **6.3 Periurethrales Bindegewebe**

### **6.3.1 Immunfluoreszenz**

Unabhängig vom Vorhandensein einer Belastungsinkontinenz wurden alle Kollagentypen (I, III, IV, V und VI) in unseren Gewebeproben nachgewiesen. Wir fanden keine Unterschiede beim Nachweis von Kollagen, welcher in Abhängigkeit zum Prolapsgrad gebracht werden konnte. Die immunohistochemisch positiv gefärbten Bindegewebsfasern konzentrieren sich vorwiegend auf Blutgefäße und reichen bis an die Region unterhalb des Scheidenepithels. Unterhalb der Basalmembran des Vaginalepithels war die Immunreaktion zur Färbung von Kollagentyp I und III besonders stark. Insgesamt sind aber Kollagentyp I, III und VI in allen Bereichen der untersuchten Stromaanteile sichtbar. Bei kontinenten Frauen sahen wir im periurethralen Bindegewebe beim Nachweis von Kollagentyp I, III und VI eine starke Immunreaktion. Dagegen konnten bei inkontinenten Frauen eine verminderte Immunreaktion zur Visualisierung von Kollagentyp I, III und VI dokumentiert werden (Abbildung 30 zeigt die Färbung von Kollagentyp I, Abbildung 31 die Färbung von Kollagentyp VI). Kollagentyp V präsentiert sich in unserer Immunohistochemie als geringer stark positiv. Die feinen Fasern sind durchgehend sichtbar im periurethralen Bindegewebe. Sie bilden ein Netzwerk, welches sich über die gesamten untersuchten Bindegewebsareale verteilt. Wir fanden keinen Unterschied bei der Immunfärbung von Kollagentyp V zwischen der Gruppe mit Kontinenz bzw. Inkontinenz (Abbildung 32). Kollagentyp IV war insbesondere in der Basalmembran und in den Blutgefäßen sichtbar ohne Unterschiede zwischen beiden untersuchten Gruppen (Abbildung 33). Die Basalmembran bei den immer älter werdenden Patientinnen scheint zunehmend dicker zu werden. Wir untersuchten des Weiteren die Glykoproteine Fibronectin und Laminin. Die Fibronectin-Immunfärbung war geringer stark positiv als Kollagen, aber ebenso in allen Proben verteilt (Abbildung 34). Laminin hat die gleiche Verteilung wie Kollagentyp IV in der Basalmembran und in den Blutgefäßwänden. Wir fanden keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Vitronectin wurde gleichfalls in dem periurethralen Bindegewebe aller kontinenten Frauen positiv nachgewiesen. Allerdings ist dieses Glykoprotein bei Patientinnen mit Inkontinenz im periurethralen Bindegewebe nur noch fragmentiert bzw. kaum noch visualisierbar (Abbildung 35). Die Negativkontrolle war ohne spezifische Fluoreszenzreaktion (Abbildung 36).

Die Verteilung aller Kollagentypen und Glykoproteine werden zusammenfassend in Tabelle 12 dargestellt.

**Tabelle 12: Periurethraler Immunhistochemischer Nachweis von Matrixproteinen**

ECM Protein	Kontinente Frauen	Inkontinente Frauen
Kollagen Typ I	+++	++
Kollagen Typ III	+++	++
Kollagen Typ IV	+	+
Kollagen Typ V	+	+
Kollagen Typ VI	+++	+
Fibronectin	+	+
Laminin	+	+
Vitronectin	++	— (+)

- = negativ; + = schwach; ++ = mittel und +++ = stark positive Immunreaktivität

### 6.3.2 Bilddokumentation

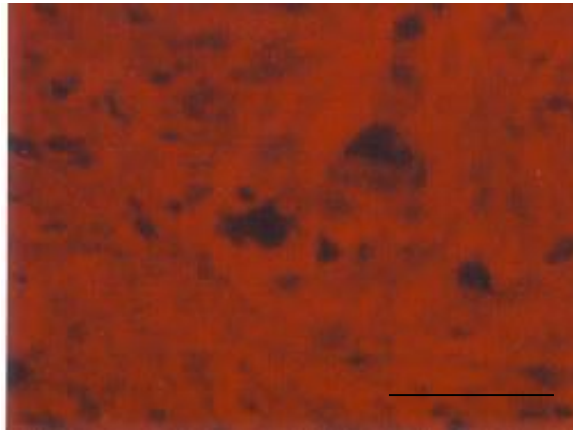


Abb. 30 a

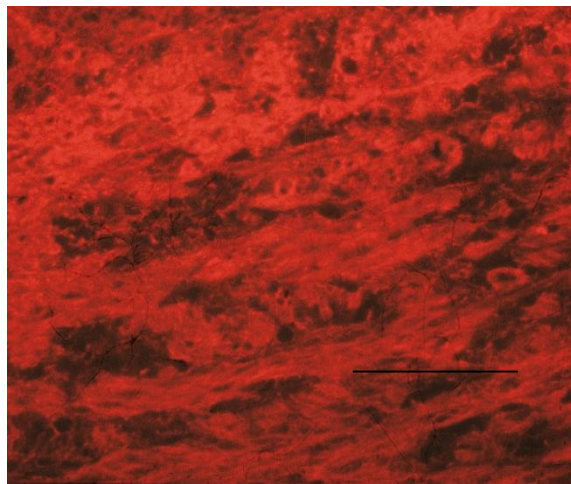


Abb. 30 b

**Abbildung 30 a:** Färbung von Kollagen Typ I im periurethralen Bindegewebe einer 49-jährigen Frau mit Zystozele Grad I ohne Belastungsinkontinenz. Das Stroma ist intensiv gefärbt (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 30b:** Periurethrales Bindegewebe einer 72-jährigen Frau mit Zystozele Grad II mit Belastungsinkontinenz. Die Immunreaktivität von Kollagen Typ I ist schwächer positiv im periurethralen Bindegewebe inkontinenter Frauen im Vergleich zu kontinenten Frauen (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

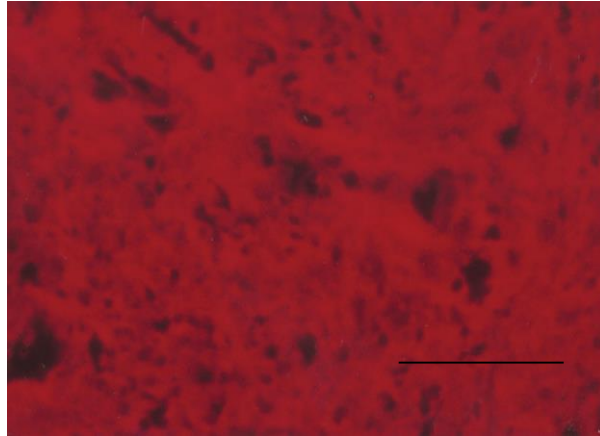


Abb. 31 a

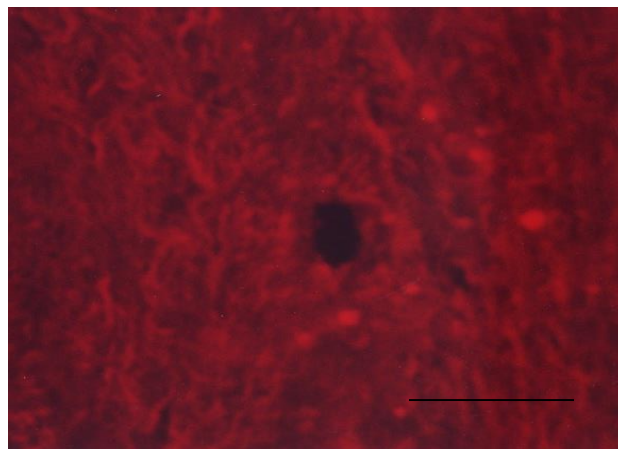


Abb. 31 b

**Abbildung 31 a:** Färbung von Kollagen Typ VI im periurethralen Bindegewebe einer 49-jährigen Frau mit Zystozele Grad I ohne Belastungsinkontinenz. Das Stroma ist ähnlich Kollagentyp I intensiv gefärbt (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 31 b:** Periurethrales Bindegewebe einer 72-jährigen Frau mit Zystozele Grad II mit Belastungsinkontinenz. Die Immunreaktivität von Kollagen Typ VI ist deutlich abgeschwächt.

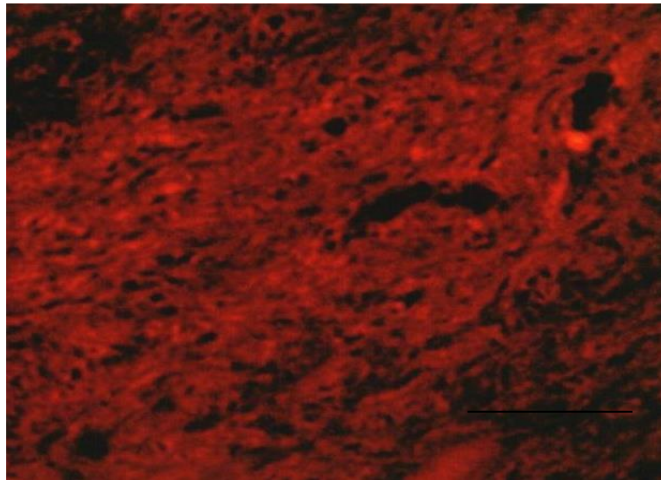


Abb. 32

**Abbildung 32:** 71-jährige Patientin, Zystozele ohne Stressinkontinenz, periurethrales Bindegewebe mit Färbung von Kollagentyp V. Die Reaktivität ist schwächer als beim Kollagen Typ I und III - Nachweis. Im Stroma zeigen sich schwach positiv tingierte Bindegewebsfasern als feine fibrilläre Matrix (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

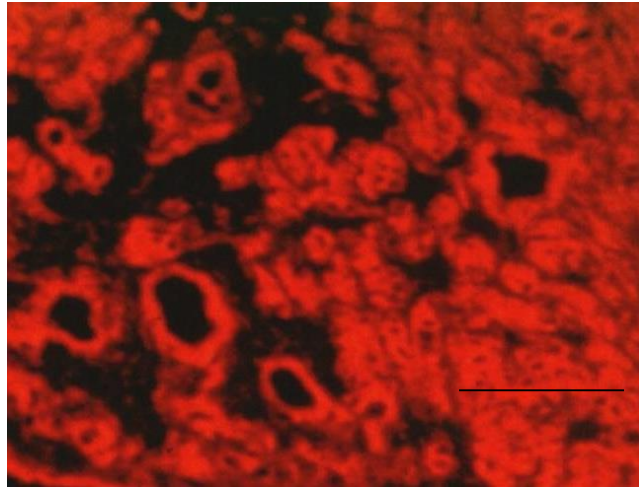


Abb. 33

**Abbildung 33:** 63-jährige Patientin ohne Belastungsincontinenz, periurethrales Bindegewebe. Typ IV Kollagen wird fast ausschließlich in der Basalmembran und in den Wänden der Blutgefäße und Nervenbündeln gefunden (Skalierung 40  $\mu\text{m}$ ).

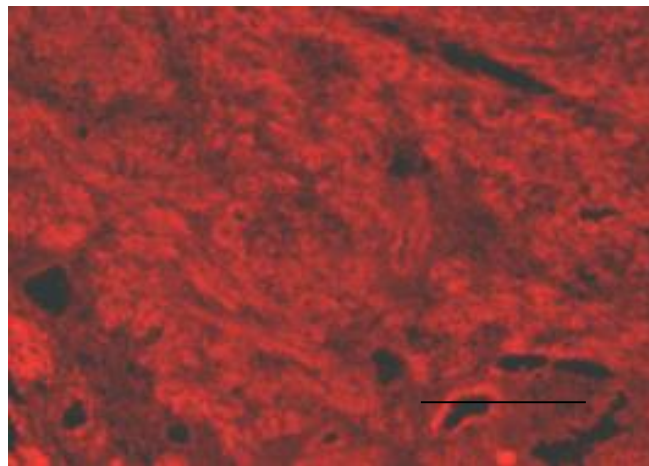


Abb. 34

**Abbildung 34:** 65-jährige Patientin, Stressinkontinenz mit Zystozele Grad I, periurethrales Bindegewebe mit Fibronektinfärbung. Die feinen Bindegewebsfasern sind schwach positiv tingiert und gleichmäßig verteilt (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

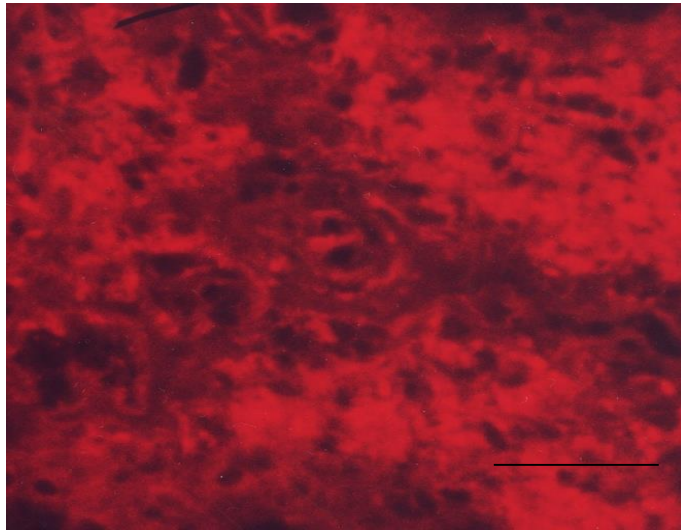


Abb. 35 a

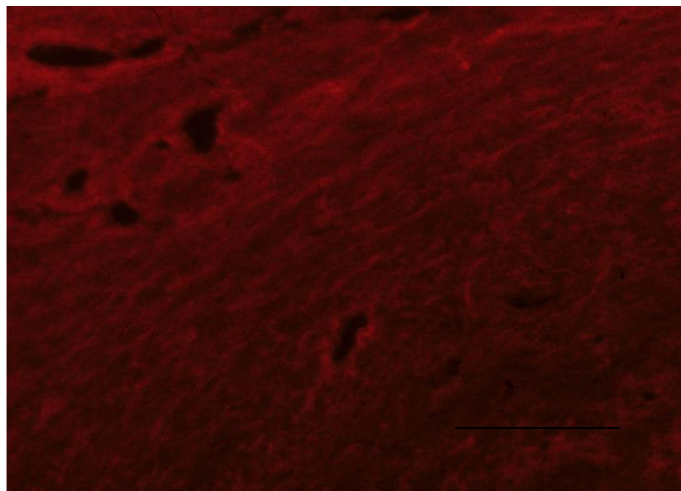


Abb. 35 b

**Abbildung 35 a:** Färbung von Vitronectin im periurethralen Bindegewebe einer 49-jährigen Frau mit Zystozele Grad I ohne Belastungsinkontinenz. Das Stroma ist mit mäßig positiv gefärbten Fasern durchsetzt. (Skalierung 40  $\mu\text{m}$ ).

**Abbildung 35 b:** Periurethrales Bindegewebe einer 72-jährigen Frau mit Zystozele Grad II mit Belastungsinkontinenz. Die Intensität der Vitronectinreaktion ist schwach positiv, teils negativ im periurethralen Bindegewebe inkontinenter Frauen im Vergleich zu kontinenten Frauen (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).

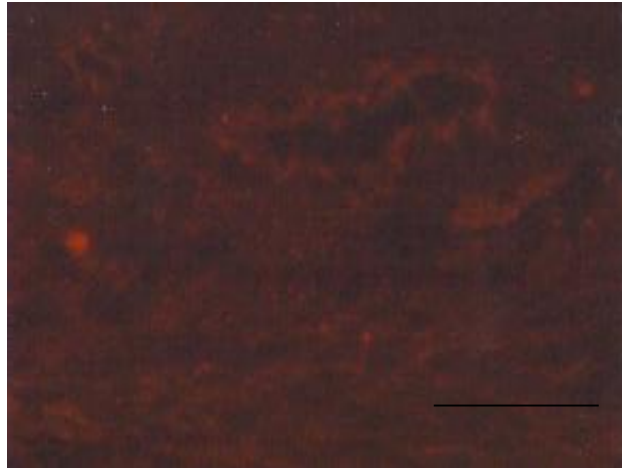


Abb. 36

**Abbildung 36:** Periurethrales Bindegewebe einer 72-jährigen Frau mit Zystozele Grad II mit Belastungsinkontinenz. Die Intensität der Kontrollfärbung ist negativ bzw. unspezifisch im periurethralen Bindegewebe (Skalierung 50  $\mu\text{m}$ ).



### 6.3.3 Elektronenmikroskopie

Die mit Tanninsäure gefärbten und schwarz darstellbaren elastischen Fasern wurden in allen von uns untersuchten Proben gefunden.

Zwischen den beiden Gruppen findet man aber deutliche Unterschiede.

In Proben von Frauen mit normotoner Urethra sahen wir gut ausgebildete intakte elastische Fasern eingebettet in kollagenes Fasermaterial. Die Struktur des Gewebes erscheint nicht verändert. Elastinreiche reife elastische Fasern haben einen engen Kontakt zu glatten Muskelzellen oder liegen vereinzelt zwischen kollagenen Faserbündeln und Fibrozytenausläufern (Abbildung 37 a).

Sie erreichen erhebliche Ausdehnungen und spannen sich netzartig zwischen kollagenen Faserbündeln. Dies garantiert offensichtlich eine gute Balance zwischen Stabilität und Elastizität im Bindegewebe.

Dagegen zeigte sich im periurethralen Gewebe hypotoner Frauen ein völlig anderes Bild. Neben einem geringfügig verminderten Kollagengehalt ist bei der Darstellung elastischer Fasern eine völlige Zerstörung der Faserstruktur bei unverändertem starken Nachweis von elastischem Nativmaterial im periurethralen Bindegewebe von Patientinnen mit hypotoner Urethra (Abbildung 37 b) auffällig. Das Material zerfällt hier in einzelne Elastininseln eingebettet in kollagene Fasern. Komplette gut ausgebildete Fasern fehlen im periurethralen Bindegewebe hypotoner Frauen. Die Visualisierung zerstörter elastischer Fasern ist in allen Proben von Frauen mit hypotoner Urethra anzutreffen (Vergleichsabbildung 38). Kollagene Fasern werden nicht mehr aneinander gebunden. Sie sind hier zwar z.T. reichlich sichtbar, dabei erscheinen sie aber bruchstückhaft und flockig verändert. Ebenso ist eine Reduktion im extracellulären Raum allgemein zu beobachten (Vergleichsabbildung 39). Diese Beobachtung zog sich durch alle Untersuchungen und demonstrieren den Verlust elastischer Faser bei Frauen mit hypotoner Urethra im extracellulären Raum, zwischen den Kollagenfasern (Abbildung 40) und an den Fibroblasten (Abbildung 41). Offensichtlich geht der abnehmende Urethraverschlussdruck unabhängig von einer Inkontinenz mit einem Verlust elastischer Fasern einher.

Die in Kapitel 6 dargestellten Untersuchungsergebnisse wurden teilweise bereits publiziert (Goepel et al., 2003; Göpel et al., 2005; Goepel et al., 2006, Goepel 2008; Goepel et al., 2011). In der vorliegenden Arbeit werden diese Ergebnisse zum Teil aktualisiert und neue, noch nicht publizierte Daten dargestellt.

### 6.3.4 Bilddokumentation

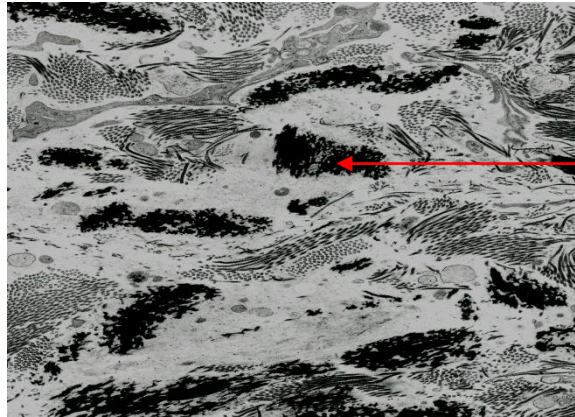


Abb. 37 a

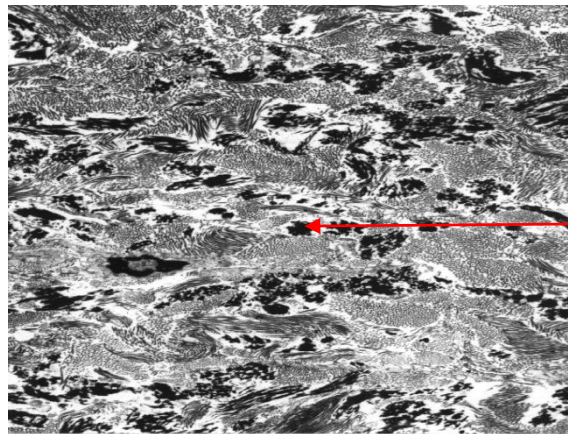


Abb. 37 b

**Abbildung 37 a:** Periurethrales Bindegewebe einer 54-jährigen Frau mit klinisch und urodynamisch gesicherter Stressharninkontinenz bei normotoner Urethra; 9200:1; Elastische Fasern (Pfeil) liegen in enger Nachbarschaft und formen ein elastisches Netzwerk. Sie sind an kollagene Fasern und Fibrozyten assoziiert.

**Abbildung 37 b:** Periurethrales Bindegewebe einer 61-jährigen Frau mit klinisch und urodynamisch gesicherter Stressharninkontinenz bei hypotoner Urethra; 6200:1; Viele kleine elastische Faseranteile (Pfeil) sind in kollagene Faserbündel eingebettet. Sie sind fragmentiert und ohne Zusammenhalt.

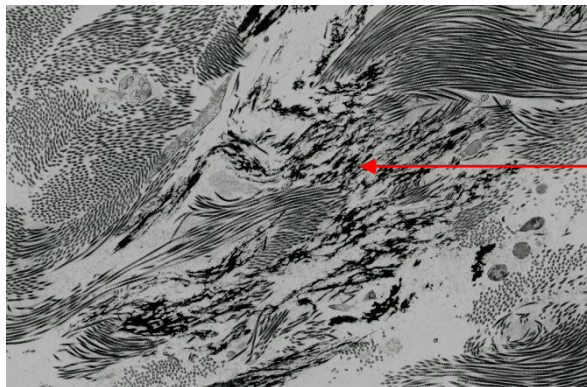


Abb. 38 a

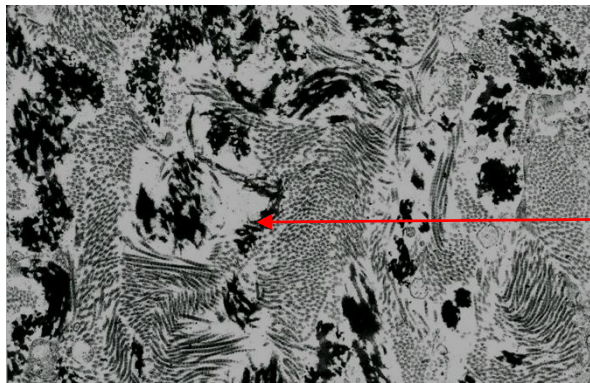


Abb. 38 b

**Abbildung 38 a:** Periurethrales Bindegewebe einer 56-jährigen Frau mit klinisch und urodynamisch gesicherter Stressharninkontinenz bei normotoner Urethra; 8200:1; Elastische Fasern (Pfeil) liegen assoziiert zwischen den kollagene Fasern und binden diese aneinander.

**Abbildung 38 b:** Periurethrales Bindegewebe einer 62-jährigen Frau mit klinisch und urodynamisch gesicherter Stressharninkontinenz bei hypotoner Urethra; 12000:1; Viele kleine elastische Faseranteile (Pfeil), die jedoch die kollagenen Fasern nicht mehr aneinander binden.

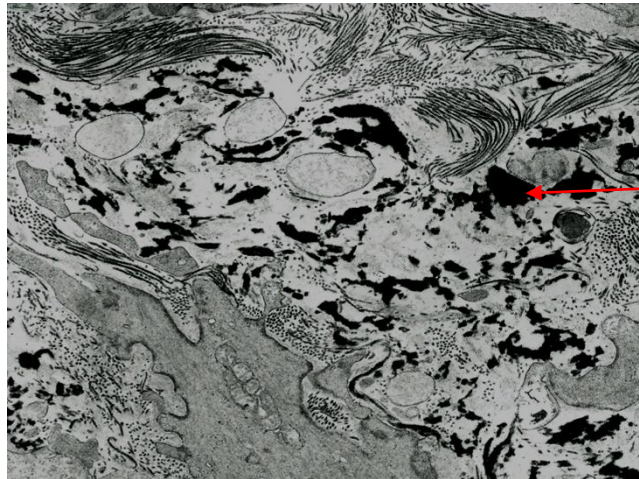


Abb. 39 a

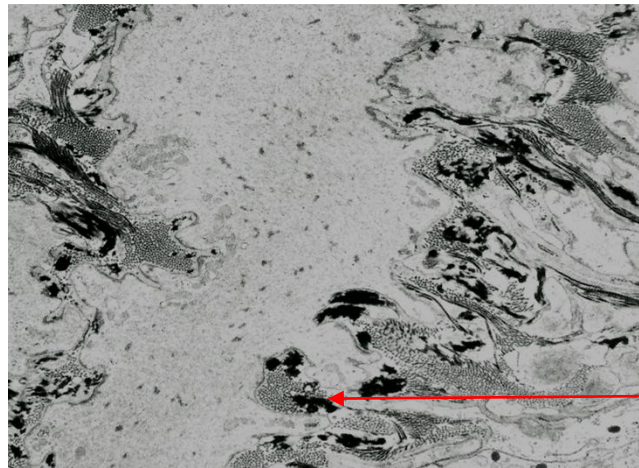


Abb. 39 b

**Abbildung 39 a:** Periurethrales Bindegewebe einer 64-jährigen Frau mit klinisch und urodynamisch gesicherter Stressharninkontinenz bei normotoner Urethra; 7200:1; Reichlich elastisches Material (Pfeil), welches die Fibroblasten in den extracellulären Raum exprimieren.

**Abbildung 39 b:** Periurethrales Bindegewebe einer 66-jährigen Frau mit klinisch und urodynamisch gesicherter Stressharninkontinenz bei hypotoner Urethra; 8000:1; Deutlich verminderter Nachweis von elastischem Material (Pfeil) im extracellulären Raum.

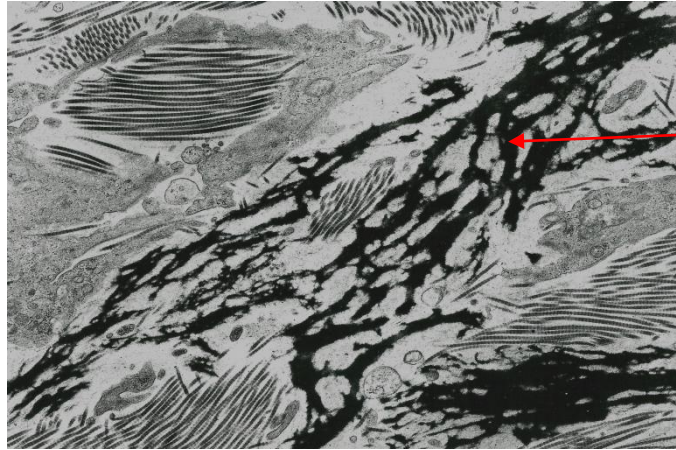


Abb. 40 a

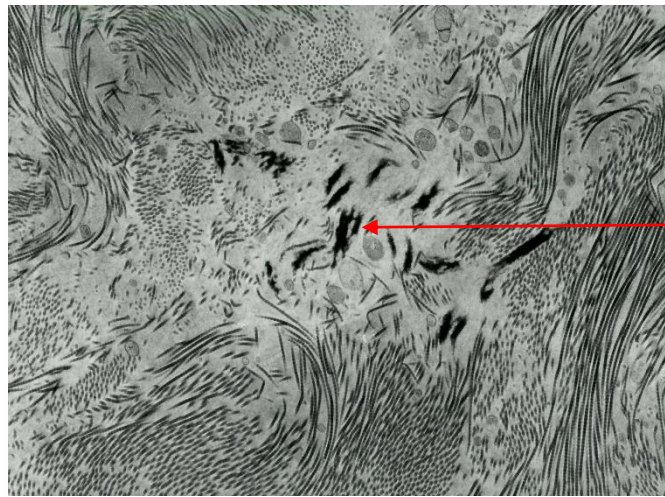


Abb. 40 b

**Abbildung 40 a:** Periurethrales Bindegewebe einer 65-jährigen Frau mit klinisch und urodynamisch gesicherter Stressharninkontinenz bei normotoner Urethra; 9200:1; Reichlich elastisches Material (Pfeil) zwischen den Kollagenfasern.

**Abbildung 40 b:** Periurethrales Bindegewebe einer 76-jährigen Frau mit klinisch und urodynamisch gesicherter Stressharninkontinenz bei hypotoner Urethra; 8000:1; Deutlich verminderter Nachweis von elastischem Material (Pfeil) zwischen den Kollagenfasern.

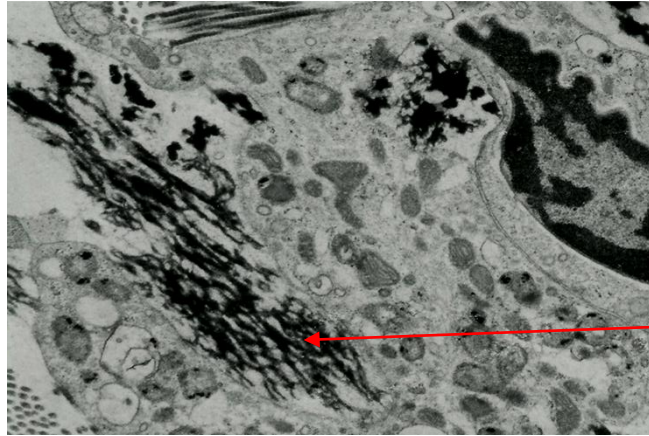


Abb. 41 a

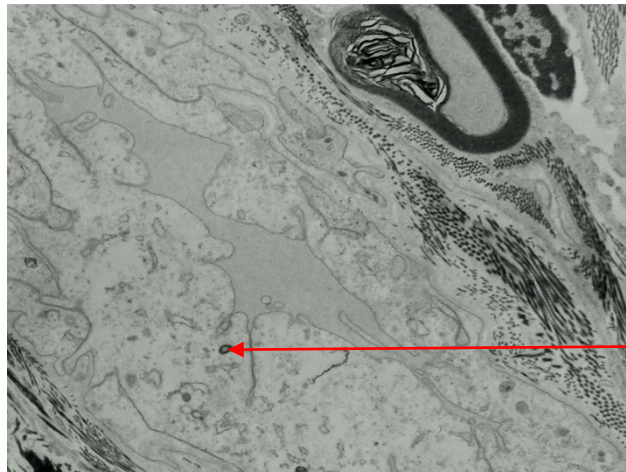


Abb. 41 b

**Abbildung 41 a:** Periurethrales Bindegewebe einer 60-jährigen Frau mit klinisch und urodynamisch gesicherter Stressharninkontinenz bei normotoner Urethra; 8200:1; Reichlich elastisches Material (Pfeil) in unmittelbarer Umgebung der Fibroblasten.

**Abbildung 41 b:** Periurethrales Bindegewebe einer 71-jährigen Frau mit klinisch und urodynamisch gesicherter Stressharninkontinenz bei hypotoner Urethra; 6000:1; es ist kaum elastisches Material (Pfeil) im untersuchten Gewebe nachzuweisen.

## **7 Diskussion der Bindegewebsveränderungen**

### **7.1 Ligamentum sakrouterinum**

Die Entwicklung des Prolaps ist ein multifaktorieller Prozess mit angeborenen und erworbenen Faktoren (Moali et al., 2003; Bump und Norton, 1998). Neben der sogenannten Bindegewebschwäche, die die Patientin von Beginn an in sich trägt, finden sich erworbene Risikofaktoren wie die Schwangerschaft und Geburt (Quiroz et al., 2010). Weitere Faktoren, die einen Prolaps begünstigen, sind Erkrankungen des neuromuskulären Systems, pulmonale Erkrankungen, Adipositas, Rauchen, Obstipation, Altersprozesse und die Änderung der hormonellen Situation in der Postmenopause (Shynlova et al., 2013, Drutz und Alarab, 2006; Bradley et al., 2007; Kim et al., 2007). Bezogen auf den Prolaps uteri ist das Ligamentum sakrouterinum für die Fixation des Uterus im kleinen Becken von herausragender Bedeutung (Ramanah et al., 2012; Campbell, 1950; DeLancey, 1992). Frühere Studien zeigen den immunhistochemischen Nachweis einiger Kollagentypen im Stroma. Gabriel et al. (2005, 2006) postulieren pathophysiologische Prozesse im Bindegewebe des Ligamentum sakrouterinum als Ursache für die Entwicklung eines Prolaps uteri. Auch Phillips et al. (2005) vermuten eine Bindegewebschwäche im Ligament bei Prolaps uteri. Es gibt bereits einige Arbeiten, die die Bindegewebsveränderungen bei der Prolapsentwicklung untersucht haben (Campeau et al., 2011). Oft wird dies als eine Imbalance zwischen Auf- und Abbau verschiedener Kollagenfasern und Elastin in der extracellulären Matrix gesehen (Budatha et al., 2013).

Andere Autoren diskutieren einen Zusammenhang hormoneller Einflüsse z.B. des abnehmenden Estrogenspiegels in der Menopause auf die Bindegewebsarchitektur (Zong et al., 2010). Dabei spielt die hormonabhängige Metalloproteinaseaktivität und deren Inhibitoren wie die Tissue Inhibitor Metalloproteinase eine entscheidende Rolle (Liang et al., 2012).

Lin et al. (2007) beschrieben bereits Kollagentyp I, III, IV, V und VI als Bestandteil der Vaginalwand. In unseren Befunden können wir das Vorhandensein dieser Kollagentypen im Ligamentum sakrouterinum ebenso bestätigen. Liapis et al. (2001) fanden im Bereich der Vaginalwand eine Reduktion von Kollagentyp III bei Patientinnen mit Genitalprolaps im Vergleich zu Frauen ohne Prolaps. Die Veränderungen im Bindegewebsstroma der Vaginalwand und damit Begünstigung eines Prolaps stehen hier im Zusammenhang mit einer allgemeinen Erhöhung des intraabdominalen Drucks auf die Vaginalwand (O'Dell et al., 2007; Al-Taher et al.,

1987). Insgesamt stellt sich die Datenlage zur Untersuchung von Bindegewebsveränderungen bei Patientinnen mit und ohne Prolaps teilweise kontrovers dar. Falconer und Mitarbeiter (1998) beschrieben eine erhöhte Kollagenexpression mit zunehmendem Alter. Dies betrifft Proben der Scheidenwand, Perinealhaut, Paravaginalgewebe und Paraurethralgewebe prä- und postmenopausaler Frauen. Andere Autoren können dies nicht bestätigen (Skorupski et al., 2010.) In unseren Untersuchungen des Ligamentum sakrouterinum finden wir deutliche Unterschiede zwischen Frauen mit und ohne Prolaps. Dies betrifft die Abnahme der Färbintensität vorrangig bei der Tinktion von Kollagentyp III und VI bei Patientinnen mit Prolaps im Ligamentum sakrouterinum. Ewies et al. (2003) finden ebenfalls einen verminderten Anteil von Kollagentyp III bei Patientinnen mit Prolaps. Offenkundig führt dieser Verlust an Kollagentyp III zu einer Verminderung der mechanischen Stabilität der Bindegewebsstrukturen. Insgesamt sind die Untersuchungen der Autoren zu der sogenannten Bindegewebschwäche bzw. verminderten oder vermehrten Kollagenproduktion bei Prolaps sehr unterschiedlich. Jackson et al. (1996) fand keine Veränderung des Verhaltens von Kollagentyp I und III bei Patientinnen mit und ohne Prolaps. Andere Studien wiesen einen erhöhten Anteil von Kollagentyp III (Kökcü et al., 2002; Gabriel et al. 2005) bzw. verminderten Anteil von Kollagentyp I (Moalli et al., 2005) nach.

Unsere Untersuchungen lassen keinen Zweifel daran, dass der Kollagengehalt des Ligamentum sakrouterinum im Vergleich bei Patientinnen mit und ohne Deszensus eine Veränderung erfährt. Dies bestätigen auch neueste Untersuchungen zum Nachweis von Kollagen Typ I (Aznal et al., 2012)

Offensichtlich scheint es eine Gegenregulation zur Verhinderung eines Prolaps mit vermehrter Kollagenproduktion bei einigen Frauen zu geben (Zong et al., 2010). Die neugebildeten Kollagenfasern, die sich oft als insuffiziente Fasern herausstellen, können den Prolaps jedoch nicht verhindern. Häufig haben sich allerdings die Untersuchungen anderer Autoren auf den Nachweis von Kollagentyp I und III im Ligamentum sakrouterinum konzentriert (Fu et al., 1995). Wir haben in diesem Fall weitere Kollagentypen untersucht. Deshalb beschränkte sich die Kollagenfärbung nicht nur auf Kollagentyp I und III, sondern es wurden Kollagentyp IV, V und VI sowie verschiedene Glykoproteine mit einbezogen. Kollagentyp I wird hauptsächlich in der Haut, in Sehnen und im Knochen gefunden und stellt mit 80-99 % des Gesamtkollagens den entscheidenden Anteil dar (Uldbjerg et al., 1983). Kollagentyp



III ist ähnlich verteilt wie Kollagentyp I nur in einem geringeren Anteil am Gesamtkollagen. Kollagentyp I und III beeinflussen hinsichtlich ihres Anteils die physikalischen Eigenschaften der Bindegewebsfasern. Während Kollagentyp I überwiegend für die Stabilität der Faserstrukturen verantwortlich ist, spielt Kollagentyp III hauptsächlich eine Rolle zur Gewährleistung der Elastizität und Dehnung der Bindegewebsfasern (Mays et al., 1991). In unseren Untersuchungen sind bis auf Kollagen Typ IV, welches in Blutgefäßen lokalisiert ist, alle untersuchten Kollagentypen ubiquitär im Stroma verteilt. Auch neueste Untersuchungen wie Meijerink et al. (2013) können bezüglich Kollagen Typ IV keine Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen mit und ohne Prolaps herausarbeiten. Eine Relevanz zur Prolapsentwicklung zeigt sich nach heutigem Erkenntnisstand nicht.

Da nun alle untersuchten Kollagentypen gefunden wurden, gehen wir davon aus, dass das Verhältnis der Kollagentypen untereinander eine entscheidende Rolle spielt. Zahlreiche Untersuchungen anderer Organe weisen auf permanente Veränderungen im Verhältnis von Kollagentyp I und III hin, oft auch altersabhängig (Strinic et al., 2010; Mays et al., 1988). Den Regulatoren wie die Metalloproteinasen wird hier eine wichtige Rolle zugeschrieben (Budatha et al., 2013). Für MMP-1 kann z.B. eine Zunahme der Enzymaktivität bei postmenopausalen Patientinnen mit Prolaps im Ligamentum sakrouterinum beschrieben werden (Aznal et al., 2012).

Kollagentyp V durchzieht als Bestandteil der Kollagenfasern die gesamte Architektur des Bindegewebes im Ligamentum sakrouterinum. Es wird als kleine interstitielle Mikrofibrillen hauptsächlich perizellulär lokalisiert gefunden. Dies entspricht auch dem Verteilungsmuster in anderen Organen wie z.B. der Leber (Fransson, 1987). Kollagentyp V ist insgesamt nur ein geringer Teil des Gesamtkollagen, scheint aber beim Aufbau von Kollagenfasern eine wichtige Rolle zu spielen (Adachi et al., 1991). Unsere Ergebnisse lassen keine Unterschiede bei Frauen mit und ohne Prolaps erkennen. Auffällig ist eine geringfügige Verdickung der Kollagentyp V positiven Fasern mit zunehmendem Alter.

Erstmalig wurde nun Kollagentyp VI untersucht, welches sich um Blutgefäße konzentriert und sich im gesamten Stroma verteilt, ähnlich Kollagentyp I und III. Bemerkenswert ist eine Abnahme der Immunfärbung von Kollagentyp VI bei postmenopausalen Patientinnen mit Prolaps uteri. Dies ist bisher so noch nicht beschrieben worden. Diese Befunde unterstreichen die aus unserer Sicht wichtige

Rolle der Bindegewebsfasern bei der Prolapsentwicklung, vordringlich durch die sich ändernde Zusammensetzung im Stroma.

Die Glykoproteine Fibronectin und Laminin werden in allen untersuchten Bindegewebsproben nachgewiesen. Fibronectin zeigt sich in der extracellulären Matrix gleichmäßig verteilt, ähnlich Kollagentyp V im Interstitium und in den Blutgefäßwänden. Laminin ist ähnlich lokalisiert wie Kollagen Typ IV in der Basalmembran und in Blutgefäßwänden. Bei beiden Glykoproteinen zeigten sich keine prägnanten Unterschiede zwischen der Prolaps- und der Kontrollgruppe.

Im Gegensatz dazu wird in unseren Untersuchungen bei Patientinnen mit Prolaps uteri das Glykoprotein Tenascin im Sakrouterinligament vermehrt nachgewiesen. Hier konnten wir bei Patientinnen mit Prolaps Grad 4 eine deutliche Zunahme der Immunreaktion visualisieren. Dies wurde bis zum Untersuchungszeitpunkt erstmalig in unseren Arbeiten nach Durchsicht des Schrifttums festgestellt. Tenascin spielt eine wichtige Rolle bei Wachstumprozessen, in der Embryonalentwicklung (Liu et al., 1995), in entzündlichen Prozessen bzw. in der Tumorgenese (Crossin 1996; Goepel et al., 2000; Goepel et al., 2003). Im ausdifferenzierten Gewebe wird es speziell bei der Wundheilung nachgewiesen (Wallner et al., 1999). Die auffällige Zunahme des Tenascinanteils bei Patientinnen mit Prolaps uteri könnte ein Hinweis auf eine traumatische Genese z.B. durch die Geburt, stattgehabte Entzündungen oder Voroperationen sein (Aznal et al., 2012). Meyer et al. (1998) vermuteten bereits eine verminderte Reparaturfähigkeit des Gewebes nach Trauma z.B. der vaginalen Spontangeburt. Söderberg et al. (2004) untersuchten unter anderem biochemische Fähigkeiten der Bindegewebsfasern beim Prolaps und fanden hier eine Verminderung des cross-linkings zwischen den Bindegewebsfasern. Derartige eingeschränkte Reparaturmechanismen im Bindegewebe könnten die Zunahme ebenso erklären (Connell et al., 2008). Möglicherweise könnte sie auch ein Ausdruck der sich ändernden Zusammensetzung der Matrix und des Verhältnisses der Fibroblasten untereinander sein, da Tenascin auch ein Marker für Zellmigration ist (Aufderheide und Eckblom, 1988). Letztendlich bleibt das Auftreten unklar und lässt den Prolaps auch als proliferativen Prozess ins wissenschaftliche Blickfeld rücken.

Wir vermuten, dass die erhöhte Tenascinreaktion eine Folge aller Prozesse ist, die im Laufe eines Lebens auf das Ligamentum sakrouterinum einwirken. Dies betrifft natürlich Schwangerschaft und Geburt, aber auch Operationen, Entzündungs-

prozesse, Gewichtszunahme und der sich verändernde Hormonhaushalt. Weitere Sekretionsmarker sollten jedoch in zukünftigen Studien zur Anwendung kommen.

Weiterhin sind bei der Vitronektinfärbung Unterschiede zwischen den beiden Gruppen auffällig. Während bei Frauen ohne Prolaps zahlreiche Vitronektinfasern gefunden wurden, zeigen sich bei Patientinnen mit Prolaps kaum noch reguläre Fasern. Sie sind dann oft fragmentiert bzw. nicht mehr sichtbar. Das Glykoprotein Vitronektin hat bekannte adhäsive Eigenschaften und wird oft in Assoziation zum elastischen Bindegewebe gefunden (Ruoslahti, 1989). In in-vitro-Untersuchungen bindet es hauptsächlich an den Kollagentyp I, III, IV, V und VI (Hardingham und Fosang, 1992). Unsere Untersuchungen können diese bekannten Hypothesen auch im Ligamentum sakrouterinum bestätigen. Mit der Abnahme von Kollagentyp I, III und VI sinkt auch die Intensität der Immunfärbung von Vitronektin.

Die verminderte Immuntinktion von Vitronektin sowie der vermehrte Nachweis von Tenascin im Ligamentum sakrouterinum der Frauen mit Prolaps uteri sind Hinweise auf ungenügende Stützfunktionen des Bindegewebes im Ligament.

Im Ligamentum sakrouterinum sind des Weiteren elastinhaltige Fasern sichtbar. Bei Patientinnen mit Prolaps uteri stellt sich eine gut dokumentierbare Fragmentierung und Desorganisation der elastischen Fasern dar. Diese Ergebnisse konnten erwartet werden, da auch Vitronektin deutlich abnimmt bei Patientinnen mit Prolaps. Vitronektin wird oft an elastische Fasern assoziiert gefunden (Dahlbäck et al., 1986).

Unsere Ergebnisse widersprechen den Daten von Gabriel et al. (2005) und Kökcü et al. (2002). Sie haben keine Unterschiede bezüglich des Elastinnachweises bei Frauen mit und ohne Prolaps gefunden und den elastischen Fasern keine entscheidende Rolle zugesprochen. Nach unseren Analysen ist dies aufgrund der Abnahme von elastischen Fasern bei Patientinnen mit Prolaps uteri im Ligamentum sakrouterinum jedoch anzunehmen. Einschränkend muss angemerkt werden, dass altersabhängige Veränderungen im Elastinmetabolismus bekannt sind und die Interpretation der Ergebnisse erschweren.

Obwohl der Elastingehalt im menschlichen Organismus lange Zeit gleichbleibend ist, nimmt Elastin allgemein im Alter ab. Dies wird auch in den Organen der Haut, der Fascia transversalis und beim Duktus deferens dokumentiert (Rodrigues et al., 1990). Offensichtlich sind diese Veränderungen mit einem fortschreitenden Abbau des Elastins einhergehend. Dies wird unterstützt durch Untersuchungen an der Lunge

(Vitellaro-Zucarello et al., 1994) und der Arteria basilaris (Chopard et al., 1998), die eine Reduktion elastischer Fasern in diesen Organen altersabhängig ergaben. Neben diesen altersabhängigen Veränderungen im Beckenbindegewebe kann eine Reduktion elastischer Fasern z.B. auch durch den Einfluss der Estrogene ausgelöst werden (Aznal et al., 2012; Hextal und Cardoso et al., 2001; Moalli et al., 2002). Rezeptoren dieser Hormone wurden in den Zellkernen von Fibrozyten, glatten Muskelzellen des Ligamentum teres uteri und des Muskulus levator ani nachgewiesen (Skala et al., 2010, Smith et al., 1993). Estrogene regen zum einem die Proliferation des Harnröhren-, Blasen- und Vaginalepithels an und steigern die Durchblutung der Harnröhrenwand (Thyroff et al., 1998). Damit wird das Bindegewebe und die Muskulatur ganz allgemein gestärkt (Viereck et al., 2000). Eine Verbesserung der Urethroverschlussdruckes durch Zunahme der periurethralen Vaskularisation unter Estrogengabe publizierten bereits Klutke et al. (1995) und Long et al. (2006). Zum anderen wird der Elastinhaushalt durch Aktivierung der TIMP und Lysyloxidase beeinflusst. Diese führt zu einer Hemmung der Matrix-Metalloproteinen, die auch den Elastinabbau vermindert. Die Lysyloxidasen wiederum verbessern das cross linking zwischen den elastischen aber auch kollagenen Fasern (Shynlova et al., 2013). Trotzdem sind therapeutische Effekte auch von der Hormonrezeptorsensitivität abhängig. Bekanntlich nimmt die Sensitivität im Alter ab (Townsend et al., 2009) bzw. unterliegen Polymorphismen (Ewies et al., 2004).

Die Wirkung der Estrogene auf Kollagenexpression ist schon früher untersucht worden (Falconer et al., 1996). Chen et al. (2003) wiesen eine TIMP-1-Zunahme unter Estrogengabe nach. Dies bedeutet eine MMP-Hemmung und damit vermehrte Kollagensynthese (Shapiro et al., 1998). Der gegenteilige Effekt tritt unter Hormonmangel ein. Dabei wird nicht nur TIMP vermindert nachgewiesen, auch die für die Elastinfaserstruktur so wichtige Lysyloxidase (Shynlova et al., 2013) nimmt ab. Postmenopausal finden Liang et al. (2012) die Abnahme von TIMP-2 sowie Alpha-1 Antitrypsin und die MMP-2 Zunahme im Ligamentum sakrouterinum bei Frauen mit Prolaps uteri.

Diese Erkenntnisse haben wichtige therapeutische Konsequenzen, da auch die Elastinfasern eine bedeutende Funktion im Beckenbodenbindegewebe haben. Natürlich kann das Auftreten fragmentierter elastinhaltiger Fasern bei Patientinnen mit Harninkontinenz und Polaps uteri auch eine mechanische Überbeanspruchung

bedeuten (Zong et al., 2010). Oft wird dies hervorgerufen durch die enorme Belastung und Traumatisierung des Beckenbodenbindegewebes zum Beispiel während der Schwangerschaft und Geburt, welches später das Auftreten einer Stressinkontinenz bzw. Prolaps uteri begünstigt (Aznal et al., 2012; Kölbl 2001). Weiterhin spielen gynäkologische Voroperationen und deren Auswirkung auf das Gewebe bei der Entstehung einer Inkontinenz bzw. eines Prolaps uteri eine wichtige Rolle (Mc Grother et al., 1998). Aznal et al. (2012) sehen einen Zusammenhang mit dem Estrogenmangel. Dies beeinträchtigt neben der Kollagen- auch die Elastinsynthese. Wichtige Verlinkungssubstanzen wie die Lysyloxidase werden estrogenabhängig produziert und fehlen im Alter. Eine Wiederherstellung von intakten elastischen Fasermaterial ist oft nicht mehr möglich.

Morphologischen Veränderungen elastinhaltiger Fasern in der extracellulären Matrix des Beckenbodens sind bereits bekannt. Ein permanenter Dehnungsreiz z.B. bewirkt die exzessive Ablagerung von Elastin im Sinne einer Überexpression wie dies bereits in der Wand der Harnblase bei Harnröhrenobstruktion gezeigt werden konnte (Levy und Weight, 1990; Elbadawi, 1998). Insgesamt haben die auf morphologischer Ebene festgestellten Alterationen der Bindegewebsfasern mit großer Wahrscheinlichkeit eine Auswirkung auf die Veränderungen und Verlust der Funktionalität der untersuchten Regionen (Zong et al., 2010). Sie sind Ausdruck einer Erschlaffung der bandartigen Strukturen und auch einer verminderten Belastbarkeit. Kontraktionen glatter Muskelzellen verlieren an Effektivität, da ihre Kraft nicht mehr adäquat auf die entsprechenden Faserelemente übertragen werden kann. Auch büßen damit die glatten Muskelzellen einen Einfluss auf den Spannungszustand des Beckenbindegewebes ein. Das sich auf diese Weise einstellende Missverhältnis zwischen Belastbarkeit der Bindegewebsstrukturen im kleinen Becken einerseits und der Belastbarkeit durch körperliche Aktivität bzw. Füllung und Leerung der Beckenorgane andererseits begünstigten das Auftreten von Senkung und Vorfällen weiblicher Genitalorgane (Schmidt-Matthiesen, 1998). Bezogen auf die elastischen Fasern können wir das durch eindrucksvolle Veränderungen bei Patientinnen mit Prolaps uteri bestätigen.

Zusammenfassend kann postuliert werden, dass zu unserer Überraschung bei Patientinnen mit Prolaps in den Proben des Ligamentum sakrouterinum beeindruckende Veränderungen nachgewiesen worden. Wir konnten zum Untersuchungszeitpunkt erstmalig feststellen, dass der Gehalt an Kollagentyp VI und

Vitronektin im Stroma bei Patientinnen mit Prolaps abnimmt einhergehend mit einer signifikant erhöhten Tenascinreaktivität. Dies können wir uns nur mit der mechanischen Belastung beim permanenten Druck durch den Prolaps uteri erklären. Aber die Regulatoren und deren Inhibitoren der Matrixproteine bedürfen weitere Untersuchungen, um den veränderten Matrixproteinmetabolismus besser verstehen zu können.

Weiterhin wird eine Abnahme Elastins beim Prolaps dokumentiert. Der zunehmende Druck nach unten kann den Verlust der elastischen Fasern nicht vollständig erklären. Weiterführende Untersuchungen zu Substanzen, die den Elastinstoffwechsel bzw. den Fasergerüstaufbau betreffen (Elastase und deren Inhibitor Alpha-1 Antitrypsin, sowie die verschiedenen Formen der Lysyloxidase), müssen folgen.

Unsere Untersuchungen weisen durch die z.T. deutlich sichtbaren Veränderungen bei Prolaps uteri den Bindegewebsfasern eine zentrale Rolle bei der Entwicklung einer Beckenbodeninsuffizienz zu. Jedoch sind die Ergebnisse mit anderen Autoren oft schwierig zu vergleichen, da die Biopsiestellen nicht standardisiert sind. Eine einheitliche Vorgehensweise wäre für zukünftige Untersuchungen wünschenswert.

## 7.2 Arteria uterina

Zur Zeit gibt es überhaupt keine Untersuchungen der extracellulären Matrix der Arteria uterina bei Patientinnen mit und ohne Prolaps. Wir haben uns hauptsächlich auf die Untersuchung postmenopausaler Frauen konzentriert. Oft wird darauf hingewiesen, dass die Stromaveränderungen auch durch den permanenten Druck auf den weiblichen Beckenboden herbeigeführt sein können und somit Folge und nicht Ursache der Prolapsentwicklung sind (Zong et al., 2010). Die Arteria uterina sind nur in den Prolapsprozess involviert und nicht die Ursache, deshalb sollen die Veränderungen im Bindegewebe der Arterienwand mit den Veränderungen im Ligamentum sakrouterinum verglichen werden. Interessanterweise fanden wir den Anstieg von Kollagentyp III in der Tunica media der Wand der Arteria uterina bei Patientinnen mit Prolaps. Bereits Söderberg et al. (2004) haben bei insgesamt geringerem Nachweis von Kollagen bei Patientinnen mit Prolaps unabhängig vom Alter bzw. vorangegangenen Schwangerschaften auch einen höheren Anteil von Kollagentyp III gefunden. Ein erhöhter Anteil vom Kollagentyp III kann auch eine Antwort des Körpers auf die mechanische Überbelastung sein (Yucel et al., 2013). Auch unter Estrogengabe nimmt die Kollagentyp III Synthese deutlich zu (Tomaszewski et al., 2010). Moalli et al. (2002) fanden bei Patientinnen mit Prolaps unter anderem eine erhöhte MMP-9 (Matrix-Metalloproteinasen) – Aktivität. Die vermehrte Metalloproteinaseaktivität geht einher mit einem erhöhten Anteil von Kollagentyp III und ist hinsichtlich der Histomorphologie zu vergleichen mit den Prozessen der Wundheilung.

In den letzten Jahren wurde des Weiteren das Problem des sich ändernden Kollagenmetabolismus, der Kollagenexpression und die oft damit einhergehende Prolapsentwicklung im Zusammenhang mit dem Alter kontrovers diskutiert. Falconer et al. (1998) zeigten einen erhöhten Anteil von Kollagen im Bindegewebe mit zunehmendem Alter. Dies wird jedoch nicht von allen Autoren so bestätigt (Kerkhof et al., 2009). Jedoch kann in den letzten Jahren ein Trend bestätigt werden, der einen abnehmenden Kollagengehalt postmenopausal und bei sinkendem Estrogenlevel postuliert. Die Mechanismen sind vielfältig. Estrogen aktiviert TIMP und hemmt folglich die MMP (Alarab et al., 2008). Ebenso ist die Lysyloxidasesekretion unter

Estrogengabe deutlich erhöht (Mogami et al., 2010). Dies erklärt den Kollagenabbau unter abfallendem Hormonlevel.

Kollagene Fasern sind ein wichtiger Bestandteil der extracellulären Matrix und übernehmen Stützfunktionen in Blutgefäßen (Staubesand, 1977). Dabei sind die Endothelzellen in der Lage, Kollagen zu sezernieren (Sage et al., 1979). Die Funktion der extracellulären Matrix in der Intima besteht darin, einerseits Endothelzellen in der umgebenden Matrix zu verankern, andererseits eine thrombogene Oberfläche mit Förderung der Thrombozytenaggregation sowie Thrombosebildung nach Verletzung des Endothels zu erhalten.

In der Arteria uterina zeigen Kollagentyp I (Hauptbestandteil des Kollagens) und VI das gleiche Verteilungsmuster. Sie sind insbesondere in der Interna anzutreffen. Die glatten Muskelzellen der Media sind ebenfalls zur Kollagensynthese befähigt (Burke et al., 1977). In arteriosklerotisch veränderten Blutgefäßen erhöht sich die Kollagensekretion, wobei das Kollagen zwischen Media und Adventitia abgelagert wird (Reinker, 1993). Diese Prozesse sind folgerichtig bei der Interpretation zu bedenken. Auch bei unseren Untersuchungen kommt es zu einer verstärkten Färbung zwischen Media und Adventitia. Ein Zusammenhang mit der Überdehnung beim Prolaps ist aber nicht auszuschließen.

Bei der Immunfärbung von Kollagentyp IV in der Arteria uterina sind die Media und Interna stark positiv. Die zelluläre Reaktion in der Muskelschicht ist auffällig. Weiterhin ist Kollagentyp V charakteristischer Bestandteil der Interna und einer schmalen Zone zwischen Media und Adventitia. Dagegen werden Media und Adventitia geringertüchtig. Bezogen auf die Ergebnisse der Untersuchung der Arteria uterina zeigt sich auch hier Kollagentyp V als feinfaseriges Netzwerk ohne Abweichung zwischen beiden untersuchten Patientengruppen. Beim Nachweis von Kollagentyp VI finden wir wiederum erhebliche Unterschiede im Bindegewebe. Auffällig ist eine verminderte Immunfluoreszenz in der Tunica media postmenopausaler Frauen mit Prolaps uteri. Dies entspricht den Veränderungen im Ligamentum sakrouterinum bei Frauen mit Prolaps und stützt die Auffassung, dass die Änderungen in der Matrixzusammensetzung Ausdruck und nicht Ursache für die Prolapsentwicklung sind.

Fibronektin wird ohne Differenzen zwischen Patientinnen mit und ohne Prolaps uteri vorrangig in Höhe der Tunica interna und media verstärkt gesehen. In Übereinstimmung mit Stenman und Vahery (1978) könnte dieses Glykoprotein zur



Elastizität von Arterien beitragen. Gefäßendothelzellen sind gleichfalls dazu befähigt, Kollagentyp IV, Laminin und Fibronectin zu sezernieren (Merker et al., 1987). Die Interna der Arteria uterina reagiert in ähnlicher Weise bei der Darstellung dieser Proteine stark positiv, zeigt allerdings keine Veränderung zwischen den untersuchten Gruppen. Bei der Färbung von Laminin werden Media und Interna der untersuchten Blutgefäße in beiden Gruppen gleich stark tingiert ähnlich der Lokalisation von Kollagentyp IV.

Im menschlichen Bindegewebe ist Vitronektin vor allem für die adhäsive Fähigkeiten und die Assoziation zum elastischen Fasergewebe bekannt (Ruoslahti, 1989). In invitro Untersuchungen findet man Vitronektin adhärent an den Kollagentypen I, III, IV, V und VI (Hardingham und Fosang, 1992). Wir gehen davon aus, dass im Bindegewebe des weiblichen Beckenbodens ähnliche Phänomene existieren. Es zeigen sich in unseren Untersuchungen beachtenswerte Unterschiede beim Nachweis von Vitronektin. Bei postmenopausalen Frauen finden wir Vitronektin in der Arteria uterina vorwiegend in der Tunica media und interna. Bei Patientinnen mit Prolaps ist dagegen Vitronektin kaum noch sichtbar. Die vitronektinreaktiven Fasern sind nur noch als vereinzelte Inseln und fragmentiert zu visualisieren. Die Färbintensität korreliert sehr stark mit dem der elastischen Fasern. Auch unsere Untersuchungen der Arteria uterina zeigen ein ähnliches Reaktionsmuster vitronektinpositiver und elastischer Fasern. In der Interna der Arterie bei Frauen ohne Prolaps ist neben der stark positiv reagierenden Interna auch die Media durchsetzt von elastischen Fasern. In dieser Schicht nehmen sie bei Patientinnen mit Prolaps merklich ab.

Frühere Publikationen (Ewies et al., 2003; Goepel, 2008) zeigen bei Patientinnen mit Prolaps einen verminderten Anteil von Elastin und vermuten auch hier einen Zusammenhang mit der Entwicklung eines Prolaps durch verminderte Elastinproduktion. Wir konnten feststellen, dass im Ligamentum sakrouterinum durchaus vergleichbare Ergebnisse zwischen beiden Patientengruppen zu finden sind. Bei Frauen ohne Prolaps finden wir reichlich elastisches Gewebe, jedoch ist dies deutlich vermindert nachweisbar bei Patientinnen mit Prolaps - hier sind die Fasern im Ligamentum sakrouterinum zum Teil fragmentiert. Überraschenderweise fanden wir nun ähnliche Reaktionsmuster auch in der Tunica media der Arteria uterina. Auch hier sind bei Patientinnen mit Prolaps vermindert elastische Fasern nachweisbar. Elastische Fasern sind für die Erhaltung der Integrität der Ligamente von Bedeutung,

jedoch grundsätzliche Zusammenhänge mit dem Prolaps sind bisher nicht eindeutig postuliert (Chadwick und Goode, 1995). Yamamoto (1997) wies eine deutlich verminderte Elastinproduktion bei Patientinnen mit Prolaps nach im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne Prolaps. Er vermutet hier einen Zusammenhang mit der Regenerationsunfähigkeit elastischer Fasern. Die Möglichkeit zur Regeneration suffizienter Bindegewebsfasern wird offensichtlich erheblich beeinträchtigt (Cleary, 1996).

Bisher sind im ausdifferenzierten Bindegewebe Veränderungen des elastischen Bindegewebes z.B. nach UV-Einstrahlung zu beobachten (Bernstein et al., 1994), jedoch auch bei verschiedensten Erkrankungen zum Beispiel dem Lungenemphysem (Pierce et al., 1995). Oft liegt der Minderwertigkeit des Gewebes eine abhanden gekommene Regenerationsfähigkeit zugrunde. Veränderungen des Bindegewebes als Ursache des Prolaps uteri werden immer wieder diskutiert. Die Kollagensynthese, aber auch die Dysbalance zwischen Auf- und Abbau des Kollagens, wird hier besonders favorisiert (Norton et al., 1992). Elastische Fasern scheinen hier eine besonders wichtige Rolle zu spielen, vorzugsweise in den größeren arteriellen Blutgefäßen und den spezifischen Ligamenten. Die Bindegewebszellen steuern die Synthese des Kollagens, Elastins und der anderen extracellulären Matrixproteine (Yamamoto et al., 2000). Jedoch sind die Faktoren, die zur Formation elastischer Fasern führen, noch nicht alle untersucht. Eine wichtige Rolle für den Verlust der Regeneration von funktionellen elastischen Fasern scheint das Fehlen wichtiger Zusatzsubstanzen zu sein, die für die Bildung suffizienter elastischer Fasern verantwortlich sind z.B. Fibullin (Zhao und Zhou, 2012) oder der Lysyloxidase (Kagan et al., 2003). Auch in diesen Untersuchungen wird von insuffizienten nicht-regenerierfähigen elastischen Fasern ausgegangen.

Bei Patientinnen mit Prolaps uteri kommt es zu einer Änderung des immunhistochemischen Reaktionsmusters beim Nachweis des Proteins Tenascin C. Die Wände der Blutgefäße sind hier stark positiv tingiert. Die Funktion dieses Proteins, ein Marker für Zellmigration und Wachstum (Crossin 1996), in der Wand der Arteria uterina ist noch unklar. Glatte Muskelzellen arterieller Gefäße sind zur Tenascinproduktion befähigt (LaFleur et al., 1994). Das Glykoprotein Tenascin ist charakteristischer Bestandteil in der Tunica media der Arteria uterina insbesondere der äußeren Zonen. Zur Interna hin nimmt die starke immunhistochemische Färbung

ab. Auffällig ist in den Untersuchungen der Arteria uterina von Patientinnen mit Prolaps uteri eine nochmals zunehmende Immunreaktion in der Media, welche die gesamte Schicht durchdringt.

Dies ist ein Hinweis auf Überdehnung und Proliferation im Gewebe. Tenascin wird bei Angiogenesprozessen, in der Embryonalentwicklung, aber auch im schnell wachsenden Tumorgewebe verstärkt nachgewiesen (Van Obberghen-Schilling et al., 2011). In den glatten Muskelzellen der Blutgefäßwände kommt es insbesondere bei proliferativen Prozessen zu einer verstärkten Tenascinproduktion (Jones and Jones, 2000). Deshalb kann die Tenascinanreicherung beim Prolaps auch als eine Reaktion des Gewebes auf den Prolaps gewertet werden (Aznal et al., 2012). Diese Resultate sind für zukünftige Interpretationen von Untersuchungsergebnissen beim Prolaps von grundsätzlicher Bedeutung und zeigen, dass alle bisherigen Befunde auch als Effekt und nicht ausschließlich als Ursache des Prolaps gewertet werden müssen. Fibroblasten verändern z.B. Ihre Matrixproteinexpression bei permanenten Druck von aussen (Kuiper et al., 2008). Der Strechingeffekt ist aber nur einer von vielen Überlegungen als Ursache für Bindegewebssalterationen. Auch die Geburtenzahl, Voroperation und das Körpergewicht muss bei den Interpretationen mitbeachtet werden.

In zukünftigen Analysen müssen auch der Hormonstatus, die Polymorphismen der für die Matrixproteine verantwortlichen Gene, die Proteasen (MMP, Elastase) und deren Inhibitoren (TIMP, Alpha-1-Anti-Trypsin) sowie die für das cross linking mitentscheidende Lysyloxidase und alle deren Unterformen berücksichtigt werden. Dann sind genauere Aussagen über den veränderten Bindegewebsmetabolismus möglich.

### 7.3 Periurethrales Bindegewebe

Zahlreiche Faktoren beeinflussen den Urethraverschlussdruck, hauptsächlich die neuronale, muskuläre und Bindegewebskomponente. Die Untersuchungen über das Kollagen, Elastin und Glykoproteine im periurethralen Bindegewebe standen insbesondere in den 90er Jahren des letzten Jahrhunderts im Mittelpunkt. Einige Autoren haben bereits verschiedene Kollagentypen nachgewiesen (Falconer et al., 1998). Daraus folgend wird der extracellulären Matrix eine wichtige Rolle zugeschrieben. In den letzten Jahren konzentrierten sich die Arbeitsgruppen zunehmend auf die Regulatoren des Turn over der Matrixproteine. Aber auch hormonabhängige Bindegewebsveränderungen, insbesondere mit Beginn der Menopause, sind beschrieben worden (Chen et al., 2003). Bezüglich der altersabhängig periurethral sich ändernden Kollagenexpression aber auch zu einer Inkontinenz liegen widersprüchliche Daten vor. Falconer et al. (1998) wiesen einen erhöhten Kollagenanteil mit zunehmendem Alter nach. Sie dokumentieren eine Überexpression kollagener Fasern bei inkontinenten Frauen im periurethralen Bindegewebe. Dagegen sehen andere Autoren eine verminderte Kollagenexpression bei inkontinenten Frauen (Trabucco et al., 2007). Jedoch sind die Arbeiten meistens auf den Nachweis von Kollagentyp I und III begrenzt (Yucel et al., 2013; Ulmsten und Falconer, 1999), während in den vorliegenden Untersuchungen Kollagentyp I, III, IV, V und VI sowie verschiedene Glykoproteine nachgewiesen werden. Die Beschreibung bis dahin noch nicht untersuchter Matrixproteine war die Grundlage unserer Bindegewebsuntersuchungen. Kollagentyp I, III, IV, V und VI wurde in allen Proben unserer Untersuchungen gefunden, wobei sich Kollagentyp IV überwiegend in der Basalmembran sowie in den Blutgefäßwänden konzentriert. Kollagentyp V ist ein geringerer Bestandteil der extracellulären Matrix und bildet feine Mikrofibrillen, die sich vor allem pericellulär netzwerkartig lokalisieren. Erstmals wurde Kollagentyp VI im periurethralen Bindegewebe gefunden, etwas mehr konzentriert um die Blutgefäße. Jedoch finden wir Kollagentyp VI stark reduziert im periurethralen Bindegewebe inkontinenter Frauen. Dies betrifft auch Kollagen Typ I und III, jedoch hier nicht so ausgeprägt. Weiterhin wurden Fibronectin und Laminin nachgewiesen. Fibronectin finden wir in erster Linie im Extracellulärraum und in den Blutgefäßwänden, Laminin hauptsächlich in der Basalmembran und in den Blutgefäßwänden.

Interessant war für uns der Nachweis des Glykoproteins Vitronectin, vornehmlich aufgrund der bekannten adhäsiven Fähigkeiten und einer Assoziation zum elastischen

Bindegewebe (Liakka und Autio-Harmanen, 1992). In vitro bindet dies an Kollagentyp I, III, IV, V, VI (Gebb et al., 1986). Bei den kontinenten postmenopausalen Frauen zeigt sich eine hoch positive Vitronektinexpression. Bei den Patientinnen mit Belastungsinkontinenz wurde ein deutlich verminderter Nachweis von vitronektinpositiven Fasern gesehen. Oft sind diese Fasern stark fragmentiert bzw. nur noch als vereinzelte Inselgruppen zu visualisieren. Das entspricht auch dem Bild bei elastischen Fasern. Bekanntermaßen ist Vitronektin an elastischen Fasern gebunden und scheint offensichtlich eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Belastungsinkontinenz zu spielen. Eingeschränkt muss man sagen, dass alle untersuchten Patientinnen einen Prolaps entwickelt haben, aufgrund dessen sie operiert wurden. Jedoch fanden wir erstmalig hinsichtlich der Kollagen Typ VI – Expression und erstmalig beim Vitronektinnachweis deutliche Unterschiede bei postmenopausalen Frauen mit und ohne Inkontinenz. Somit ist auch das periurethrale Bindegewebe ein komplexes Netzwerk verschiedener Kollagentypen und Glykoproteine. Dieses unterliegt bemerkenswerten Veränderungen. Unsere Daten stützen die Theorie einer Bindegewebskomponente für die Entwicklung einer Belastungsinkontinenz. Für den Vitronektin- und Kollagentyp VI - Nachweis fehlen Vergleichsdaten anderer Autoren.

Ein weiterer Aspekt unserer Untersuchungen waren die elastischen Fasern. Sie lagern sich dicht an Kollagenfasern, Fibrozyten und glatte Muskelzellen. Für die Erhaltung der Elastizität des Bindegewebes sind sie von herausragender Bedeutung (Cleary und Gibson, 1983). Bezüglich des Urethradruckmechanismus wird hier der Kontakt zu den Muskelzellen herausgestellt (Dorschner et al., 2001). Ein ausdifferenziertes komplexes System von elastischen und Kollagenfasern sowie Muskelzellen um die Harnröhre hält die Balance zwischen Dehnbarkeit des Gewebes und mechanischer Resistenz. Die Harnröhre ist natürlich bei der Geburt oder der Füllung der anderen Beckenbodenorgane einer besonderen Belastung ausgesetzt (Kölbl, 2001). Enhörning (1961) hat die korrekte anatomische Position der Urethra als Hauptfaktor für den Erhalt der Kontinenz beschrieben. Seine Überlegungen betrafen die Transmission des erhöhten intraurethralen Drucks auf die Blase, jedoch auch auf die proximale Urethra. Findet sich die Urethra nicht mehr in dieser Position, kommt es zu einer ungenügenden Drucktransmission und damit zu einer Entwicklung der Inkontinenz. Die elastischen Fasern spielen für den Erhalt der Drucktransmission eine ausschlaggebende Rolle. Deshalb vermuten wir, dass insuffiziente elastische Fasern für die Entwicklung einer

Stressinkontinenz bzw. einen abnehmende Urethroverschlussdruck verantwortlich sein könnten. Unterstützt wird dies von der Arbeitsgruppe Söderberg et al. (2010) die das für die Elastinfaserstruktur funktionell wichtige Fibrillin-1 bei Frauen mit Belastungsinkontinenz vermindert nachwies. Sie vermuten als Ursache für die weibliche Stressinkontinenz ein insuffizientes Elastinfasergerüst. Eine altersabhängige Abnahme elastischer Fasern können Stadler und Orfanos (1978) und Rodrigues et al. (1990) in anderen anatomischen Strukturen z.B. der Haut sowie in der Fascia transversalis des Menschen nachweisen und mit einer insuffizienten Funktionalität in Zusammenhang bringen. Offensichtlich spielt durch zunehmenden Abbau von elastischen Fasern die eingeschränkte Funktion der glatten Muskelzellen eine Rolle. Die Kontraktionskraft wird nicht mehr auf die Bindegewebsfasern übertragen und kann damit den Urethroverschluss beeinflussen. Wir müssen andererseits festhalten, dass sich bei älteren vorrangig postmenopausalen Frauen das Fasergewebe signifikant verändert. Die Belastungsinkontinenz ist bekanntermaßen ein Problem der älteren Frauen. Wir gehen davon aus, dass durch den Hormonabfall ausgelöste Veränderungen im Bindegewebe die Funktionalität und Integrität des periurethralen Bindegewebes beeinflusst ist und folglich auch der Urethroverschluss. Das Kollagen- und Elastinfasergerüst erfährt durch die estrogenabhängige TIMP-Reduktion einen MMP-Anstieg und folglich einen Kollagen- und Elastinabbau (Chen et al., 2003). Für die Lysyloxidase sind des Weiteren eine reduzierte Expression unter Estrogenabfall beschrieben worden. Ein abnehmender Urethroverschlussdruck aufgrund dieser Bindegewebsveränderungen kann zu einer weiblichen Belastungsinkontinenz führen.

In unseren elektronenmikroskopischen Untersuchungen konnten wir nun belegen, dass sich mit abnehmendem Urethroverschlussdruck (hypotone Urethra) zerstörte elastische Fasern darstellen im Vergleich zu Frauen mit normotoner Urethra. In Bezug auf Veränderungen bei normo- und hypotoner Urethra gibt es keine vergleichbaren Arbeiten anderer Autoren. Ein Zusammenhang zwischen dem klinischen Bild einer schweren Belastungsinkontinenz mit hypotoner Urethra und dem ultrastrukturellen Nachweis von Veränderungen im elastischen Fasersystem ist neu. Aus der Embryonalentwicklung wissen wir, dass paraurethrales Bindegewebe im weiblichen Feten noch nicht voll ausgebildet ist. Lichtmikroskopisch lässt sich in ihnen kein elastisches Material nachweisen (Fritsch, 1993). In den von uns untersuchten Strukturen aus dem Beckenbindegewebe von Frauen im Alter zwischen 32 und 81 Jahren konnten wir jedoch ultrastrukturell Anteile des elastischen Fasersystems

sichtbar machen. Unsere Analysen lassen auch erkennen, dass hauptsächlich im höheren Alter im paraurethralen Bindegewebe das elastinhaltige Material stärker vertreten ist, jedoch nicht als kompakte Faserstruktur. Ein möglicher Zuwachs an elastinhaltigen Faserstrukturen zwischen fetalem und erwachsenem Alter wurde für die Ligamenta vocalia und die Arteria basilaris (Chopard et al., 1998) beschrieben. In späteren Lebensabschnitten bleibt der Gehalt dieser zuletzt genannten Strukturen an elastischem Material weitestgehend konstant. Das Verteilungsmuster elastischer Fasern, welche sich durch ihren unterschiedlichen Gehalt an Mikrofibrillen und Elastin differenzieren lassen (Cotta-Pereira et al., 1976), ist abhängig von der mechanischen Beanspruchung eines Gewebes. Die Eigenschaften des Elastins garantieren die nach Krafteinwirkung eintretende Rückkehr des Gewebes in den Ausgangszustand. In den nun vorliegenden Untersuchungen ist zwar eine Zunahme von Elastin im Alter zu verzeichnen, jedoch fehlt eine komplexe Faserstruktur. Dies lässt sich nicht mit der hormonabhängigen Suppression der Tissue Inhibitor Metalloproteinasen erklären. Hier werden offensichtlich für den Aufbau einer elastischen Faser wichtige Zusatzstoffe vermindert exprimiert. Dies betrifft das Fibrillin-1 (Söderberg et al., 2009) als auch die Lysyloxidase (Kagan et al., 2003). Bei der Belastungsincontinenz sind auch oft Polymorphismen an den Hormonrezeptoren nachgewiesen worden. Chen et al. (2003) wiesen eine geminderte Hormonrezeptorsensibilität bei Frauen mit Belastungsincontinenz nach. Dies ist auch die Ursache familiärer Häufigkeiten als auch der Wirkungslosigkeit einer Hormontherapie bei einigen Betroffenen. Die Existenz des elastischen Fasersystems mit ihren Verbindungen zu anderen Strukturen des Beckenbindegewebes wie zu kollagenen Fasern, glatten Muskelzellen oder Fibrozyten, lässt eine optimale Anpassung an mögliche Füllungs- oder Kontraktionszustände der Beckeneingeweide erwarten. Die auftretenden Druck- und Zugkräfte werden von den Beckenbindegewebsstrukturen abgefangen (Stadtler und Orfanos, 1978). Nach Ulmsten et al. (1987) können Veränderungen der kollagenen Fasern im weiblichen Beckenbindegewebe zu Störungen des urethralen Verschlussmechanismus und zur Stressharninkontinenz führen. Wir finden nun in unseren Untersuchungen erstmals auch elektronenmikroskopisch Veränderungen im elastischen Fasersystem. Bei Frauen mit hypotoner Urethra zeigen sich völlig zerstörte elastische Fasern im Gegensatz zum periurethralen Gewebe normotoner Frauen. Damit wird die Theorie des insuffizienten Bindegewebes um die Harnröhre als Faktor für die Entwicklung einer weiblichen Belastungsincontinenz unterstützt (DeLancey,

1994). Weitere Untersuchungen werden sich auf den gestörten Elastinmetabolismus konzentrieren. Das betrifft zum einen die Elastase, die bei Proben von Frauen mit Belastungsinkontinenz deutlich erhöht ist (Chen et al., 2007).

Auch MMP sind in der Lage, Elastin abzubauen und sollten weiter analysiert werden. Die vermehrte Elastaseaktivität lässt sich auch im Serum bei Frauen mit Inkontinenz nachweisen (Mathrubutham et al., 1999). Dagegen nimmt die Aktivität des Elastaseinhibitors Alpha-1 Anti-Trypsin ab (Chen et al., 2007). Die insuffizienten Fasern im periurethralen Gewebe von Frauen mit hypotoner Urethra sollen vermutlich kompensiert werden durch massive Produktion elastischen Fasermaterials. Trotzdem kommt es nicht zur Ausbildung intakter Fasern und damit zu einer Gewebeinsuffizienz. Die Ursachen sind nicht endgültig geklärt (Chen et al., 2012). Auch ein Zusammenhang mit vorausgegangen Geburten und Hormonmangel können zu Beeinträchtigungen des periurethralen Elastinmetabolismus mit Bildung nicht intakter elastischer Fasern führen (Lin et al., 2010). Die Imbalance zwischen der Elastasenaktivität und deren Inhibitor sowie die auch für den Kollagenstoffwechsel verantwortlichen Matrix Metalloproteinasen sowie Tissue Inhibitor Metalloproteinasen kann für das schwache periurethrale Bindegewebe ursächlich sein. Das Fehlen weiterer wichtiger Substanzen für das Bindegewebsfasergestütze wie Fibrillin-1 (Söderberg et al., 2010) und des Glykoproteines Vitronektin (Goepel et al., 2003) könnten dafür mitverantwortlich sein. Ähnliche Vermutungen wurden auch für das Glykoprotein Fibulin 5 postuliert (Budatha et al., 2013; Zhao and Zhou, 2012). Die morphologischen Veränderungen der Periurethralregion wie der Zerfall elastischer Fasern können ein Hinweis auf eine tragende Bindegewebskomponente bei der Entstehung einer Stressharninkontinenz mit hypotoner Urethra sein. Unabhängig von der klinischen Diagnose einer Belastungsinkontinenz scheint der verminderte Nachweis intakter elastischer Fasern einherzugehen mit einem abnehmenden Urethraverschlussdruck. Dies unterstreicht die Bedeutung intakter Bindegewebsfasern für den Urethraverschlussmechanismus.

Weitere Untersuchungen zum Proteinstoffwechsel der an der Bindegewebsfaserbildung beteiligten Faktoren werden folgen.



## 8 Zusammenfassung

Die weibliche Beckenbodeninsuffizienz geht nachweislich mit einer eingeschränkten Lebensqualität einher. Obwohl sie nicht lebensbedrohlich ist, sind die Ausprägung eines Prolaps und einer Belastunginkontinenz für die Betroffenen mit einem z.T. hohen Leidensdruck verbunden. Der Deszensus vaginae bzw. Prolaps geht mit einer Senkung in mindest einem Kompartiment des weiblichen Beckenbodens einher. Oft ist dies mit einer Belastunginkontinenz vergesellschaftet (Lowder et al., 2010). Fast 24% aller Frauen über dem 20. Lebensjahr sind von einer Beckenbodeninsuffizienz betroffen, 16% von Ihnen leiden unter einer Belastunginkontinenz, ca. 3 Prozent unter einem Prolaps (Nygaard et al., 2008). Die Ursachen für eine Beckenbodeninsuffizienz sind vielfältig (Moalli et al., 2003).

Der Anteil der Betroffenen steigt mit zunehmendem Alter, Hormonabfall und ausgetragenen Schwangerschaften, jedoch scheinen bei der Prolapsentstehung noch andere Faktoren, wie z.B. Nervenläsion im Beckenboden und die Sphinkterschädigung eine Rolle zu spielen, welche eher nicht mit einer Inkontinenz einhergehen. Unter anderem deshalb ist von zwei unterschiedlichen Erkrankungen auszugehen. Buckley und Lapitan (2010) sehen die Häufigkeit in jeder Altersgruppe, jedoch ist ein Anstieg der Prävalenz zwischen dem 40. und 60. Lebensjahr zu verzeichnen.

Die mit dem Ehlers-Danlos- und Marfan-Syndrom oft einhergehende Inkontinenz bzw. Prolapsentwicklung ließ schon lange eine ursächliche Bindegewebskomponente vermuten (Carley und Schaffer, 2000). Dies betrifft weiterhin die häufig gleichzeitig auftretende Hernienentstehung (Sergev et al., 2009). Ebenso sind Varizen und Hämorrhoiden bei Prolapspatientinnen häufiger zu beobachten (Miedel et al., 2009). Kim et al. (2007) geben ein Lebensalter über 70 Jahre, mehr als drei Spontangeburt und die Menopause als unabhängige Risikofaktoren an. Biochemische Veränderungen und ihre genetische Determinatoren sind neben den klassischen Risikofaktoren ursächlich für die Entstehung einer Belastunginkontinenz bzw. eines Prolaps verantwortlich (Campeau et al., 2011).

Auch familiäre Häufungen sind zu beobachten. Ein simultanes Auftreten bei Zwillingen von Prolaps und Belastunginkontinenz wurde bei der Auswertung der Daten eines schwedischen Zwillingsregisters von Altman et al. (2008) beobachtet und unterstreicht die genetische Determination. McLennan et al. (2008) zeigen ein 1,4fach erhöhtes Risiko für eine Prolapsentwicklung bei positiver Familienanamnese von Inkontinenz,

Prolaps oder Hernien. Dies bestätigt auch Buchsbaum et al. (2006) bei biologischen Schwestern und deren ähnlicher Kontinenzstatus unabhängig einer vorausgegangenen vaginalen Spontangeburt. Bezüglich einer Prolapsentwicklung scheint jedoch die vaginale Entbindung das Risiko für Frauen einen Prolaps zu entwickeln, noch einmal zu erhöhen (Buchsbaum et al., 2005). Nikolova et al. (2007) vermuten einen autosomal dominanten Übertragungsmechanismus. Jedoch ist die Datenlage zu diesem Thema nur durch sehr wenige Studien untermauert.

Der weibliche Beckenboden ist ein anatomisch komplexes Gerüst, bestehend aus glatter und quergestreifter Muskulatur, Ligamenten und Fascienstrukturen. Hauptbestandteil der Ligamente ist die extracelluläre Matrix, bestehend aus Glykoproteinen, Proteoglykanen, Kollagen (hauptsächlich Kollagen Typ I und III) sowie Elastin. Dies garantiert Stabilität, aber auch die nötige Elastizität vor allem während der Geburt. Ebenso ist die extracelluläre Matrix einem ständigen Umbau mit Synthese und Abbau unterworfen. Kollagen Typ I ist der stabilisierende Anteil in der Bindegewebsfaser. Kollagen Typ III, welches häufig an der Oberfläche der Faser zu finden ist, gewährleistet dagegen die Elastizität (Fleischmajer et al., 1990). Für die Entstehung eines Prolaps bzw. einer Inkontinenz spielen pathophysiologische Veränderungen im Bindegewebe der Frau eine entscheidende Rolle. Die Stützfunktionen des Beckenbodens werden hierdurch beeinflusst und ziehen Funktionseinschränkungen nach sich. Verschiedene Autoren haben das Bindegewebe von Frauen mit Prolaps oder Inkontinenz untersucht. Salman et al. (2010) konnten lichtmikroskopisch im Ligamentum cardinale bei Frauen mit Prolaps uteri zwar dickere, aber insgesamt nur spärlich auftretende Fasern visualisieren im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne Prolaps. Immunhistochemisch nimmt der Gehalt an Kollagen Typ III bei Frauen mit Prolaps in der vorderen Vaginalwand ab (Lin et al., 2007). Ebenso sinkt der Anteil von Kollagen Typ I und III im Ligamentum sakrouterinum sowie die HOXA 11 Expression bei Frauen mit Prolaps (Connell et al., 2008).

Die Abnahme des Kollagenanteils bei Frauen mit Prolaps wird bereits seit einigen Jahren postuliert (Chen et al., 2004; Chen et al., 2002; Ulmsen et al., 1987). Dies betrifft auch Regionen außerhalb des Beckenbodens und unterstreicht die These einer allgemeinen Bindegewebschwäche (Bakas et al., 2004). Auch wenn die Datenlage heterogen und zum Teil widersprüchlich ist, zeigt sich doch mehrheitlich eine

veränderte Zusammensetzung der kollagenen und elastischen Fasern (Campeau et al., 2011).

Auch die hormonelle Beeinflussung der Enzymaktivität ist bereits postuliert (Shynlova et al., 2013). Der komplexe Prozess des Zusammenspiels zwischen Enzymen, Proteinen und Molekülen ist noch nicht endgültig geklärt.

Auch bei der Belastungsinkontinenz zeigt sich periurethral eine gestörte Kollagenfasertextur (Trabucco et al., 2007). Dies wird unter anderem dem veränderten Proteoglykangehalt angelastet (Song et al., 2007; Söderberg 2009). Allerdings sind in allen Arbeiten oft nur sehr wenige Biopsien ausgewertet worden, so dass eine endgültige Aussage noch nicht getroffen werden kann.

Kollagen wird hauptsächlich in den Fibroblasten produziert. Die Alpha-Ketten, synthetisiert im endoplasmatischen Retikulum, werden durch Lysin und Proline zu der bekannten Triple-Helix geformt. Dieses Prokollagen gelangt nun in den extracellulären Raum und bildet Kollagenfibrillen und Fasern. Die Ergebnisse zahlreicher Studien bei der Beckenbodeninsuffizienz sind oft nicht einheitlich, aber ein verminderter Kollagengehalt bzw. erhöhter Kollagenabbau bei Inkontinenz bzw. Prolaps ist anzunehmen. Der Gehalt an Elastin nimmt ebenso bei den betroffenen Frauen ab. Edwall et al. (2008) beschrieben bei Frauen mit Prolaps eine Zunahme der Kollagensynthese. Die Autoren erklären dies mit einer Reaktion der Fibroblasten auf den vermehrten Kollagenabbau.

Biopsien am Ligamentum sakrouterinum bei Frauen mit Prolaps und Belastungsinkontinenz zeigen eine Abnahme von Hydroxyprolin und damit des Kollagengehaltes im Vergleich zu einer Kontrollgruppe. Andere Kollagensynthesemarker, die im Serum untersucht wurden, zeigten dagegen keine Unterschiede (Suzme et al., 2007). Auch bezüglich der Belastungsinkontinenz konnten Autoren wie Chen et al. (2004) keine Unterschiede in der Kollagensynthese herausarbeiten.

Noch kann keine endgültige Aussage getroffen werden, ob eine Bindegewebsinsuffizienz Folge eines gesteigerten Kollagenabbau ist oder eine insuffiziente Kollagensynthese bzw. Proteinexpression die Gewebeschwäche hervorruft.

Den Kollagenabbau gewährleisten die Matrix-Metalloproteinasen (MMP). Als Pro-Enzyme sezerniert, können sie in eine aktive Form umgewandelt werden. Die Aktivität

der 23 bisher bekannten unterschiedlichen Typen werden durch die TIMP (Tissue derived Inhibitor Metalloproteinasen) reguliert. Jackson et al. (1996) wiesen bei Patienten mit Prolaps eine erhöhte MMP-2 und MMP-9-Aktivität nach. Für MMP-2 fanden auch andere Autoren (Connell et al., 2008; Gabriel et al., 2006; Phillips et al., 2008) eine zunehmende Aktivität in den untersuchten Proben von Frauen mit Prolaps im Vergleich zu den Kontrollgruppen.

Für MMP-1 beschrieben Chen et al. (2002) eine vermehrte Aktivität bei Frauen mit Belastungsinkontinenz und Prolaps. Sie fanden außerdem eine verminderte TIMP-1 Sekretion (Chen et al., 2003). Sie postulieren eine verminderte MMP-Aktivitätshemmung durch einen niedrigeren TIMP-Level. TIMP 4 und Lysyloxidase 2 ist bei postmenopausalen Frauen mit Prolaps ebenso deutlich erniedrigt (Shynlova et al., 2013)

Kollagenabbauprodukte wie z.B. das Helikalpeptid Alpha 1 wird bei Frauen mit Belastungsinkontinenz vermehrt im Urin ausgeschieden (Kushner et al., 2004). Edwall et al. (2005) konnten eine verminderte Kollagensynthese bei Frauen mit Stressinkontinenz dokumentieren.

Die Rolle der MMP-Aktivität und damit des Kollagenabbau ist bei Patientinnen mit Prolaps und Inkontinenz somit gut dokumentiert. Die genetische Determination dieser Enzyme kann z.B. familiäre Häufigkeiten erklären. Der TIMP-Aktivitäten bedürfen noch weiterer Analysen.

Elastin als ebenso wichtige Komponente der extracellulären Matrix gewährleistet die Elastizität der Bindegewebsstrukturen und damit die Möglichkeit, nach Dehnung wieder den Ausgangszustand zu erreichen. Abnormer Elastinmetabolismus ermöglicht die Ausprägung z.B. eines Emphysems oder eines Aortenaneurysma.

Lysyloxidasen beeinflussen die Bindung zwischen Elastin und Kollagen und damit die Stabilität der Bindegewebsfasern. So sind extreme Größenveränderungen im weiblichen Genitaltrakt z.B. unter der Geburt und in der Rückbildungsphase möglich. Im Ligamentum sakrouterinum sind elastische Fasern bei Frauen mit Prolaps deutlich geringer anzutreffen (Goepel et al., 2008, Karam et al., 2007). Ebenso kann eine verminderte Lysyloxidasenexpression bei Frauen mit Prolaps beschrieben werden (Klutke et al., 2008, Klutke et al., 2010, Alarab et al., 2010).

Zong et al. (2010) fanden bei Frauen mit Prolaps einen erhöhten Anteil an Tropoelastin, einer Vorstufe des Elastins. Die für den Abbau des Elastin mitverantwortlichen MMP zeigen unterschiedliche Aktivitäten. Während MMP-9 bei

Frauen mit Prolaps vermehrt nachgewiesen wird, sinkt hier die MMP-2-Expression. Die Autoren erklären dies mit den spezifischen regenerativen Gewebeaktivitäten nach mechanischer Belastung. Auch in unseren Überlegungen spielt die veränderte Gewebezusammensetzung, insbesondere der vermehrte Tenascinnachweis im Ligamentum sakrouterinum bei Prolaps uteri, als Folge einer mechanischen Belastung eine Rolle.

Trotz aller Fortschritte bei den Analysen der Enzymaktivitäten wies die Arbeitsgruppe Man et al. (2009) auf eine notwendige Standardisierung der Gewebeproben bzw. deren Lokalisation hin. Ihnen fiel auf, dass z.B. die Lysyloxidaseaktivität zwischen den Gewebeproben der vorderen und hinteren Scheidenwand der gleichen Patientin mit Prolaps z.T. deutlich schwankt. Dies sollte bei zukünftigen Studien mehr Beachtung finden.

Die Elastase-Aktivität ist bei Frauen mit Stressinkontinenz deutlich erhöht (Mathrubutam et al., 1999, 2001). Dies bedeutet sowohl Elastin- als auch Kollagenabbau. Der Verlust von elastischen Fasern stimuliert dagegen wieder die Elastin- als auch die Kollagenproduktion (Chen et al., 2007). Dies wird weiterhin über die Elastase-Inhibitoren gesteuert, ähnlich der MMP und TIMP-Aktivitäten bei Kollagenstoffwechsel.

Die Imbalance zwischen einer Elastase-Aktivität und deren Inhibitoren kann auch zu einem gestörten Elastinfasergerüst und damit zu einem insuffizienten Bindegewebe führen, wie im periurethralen Bindegewebe inkontinenter Frauen bereits beschrieben (Söderberg et al., 2010).

Trotz unterschiedlicher Daten der jeweiligen Arbeitsgruppen ist ein Trend zu einem verminderten Elastingehalt bei Frauen mit Beckenbodeninsuffizienz zu beobachten. Zukünftige Projekte sollten sich weiterhin auf die Marker der Elastinsynthese (z.B. Lysyloxidase), des Elastinabbau (z.B. Neutrophil-Elastase) und der Elastase-inhibitoren (z.B. Alpha-1 Antitrypsin) konzentrieren (Campeau et al., 2011).

Der Einfluss der Sexualhormone auf den Metabolismus der extracellulären Matrix ist ebenso vielfältig. Die Estrogene aktivieren die TIMP (Tissue Inhibitor Matrix-Metalloproteinasen) und hemmen damit die MMP (Matrix-Metalloproteinasen) bzw. den Abbau des Kollagens und der elastischen Fasern (Edwall et al., 2009; Chen et al., 2003).. Dies erklärt die positiven Effekte der Estrogensubstitution auf die Prolaps- und Inkontinenzentwicklung bzw. das verstärkte Auftreten in der Postmenopause (Shynlova et al., 2013). Dies betrifft insbesondere die lokale Estrogentherapie. Die

systemische Hormonersatztherapie mit konjugierten Estrogenen kann diese positiven Effekte nicht zeigen. Hier ist sogar von einer Verschlechterung aller Inkontinenzformen die Rede (Hendrix et al., 2005; Townsend et al., 2009; Townsend et al., 2009), jedoch nicht statistisch signifikant für die Belastungsinkontinenz.

Deshalb wurden die Hormonrezeptoren als Vermittler der Wirkung der Estrogene auf das Gewebe untersucht. Hier fanden Ewies et al. (2004) unterschiedliche Progesteronrezeptoraffinitäten bei Patientinnen mit Prolaps im Vergleich zu einer Kontrollgruppe. Bestimmte Polymorphismen an den Rezeptoren (SNP – Single nucleotide polymorphism) können Progesteronrezeptorgene verändern. Bei einem bestimmten Genotyp ist der Prolaps häufiger anzutreffen (Chen et al., 2009). Ähnliche Mechanismen lassen sich auch bei den Estrogenrezeptorgenen beobachten (Chen et al., 2008).

Des Weiteren scheinen die Hormone postmenopausal nicht den gleichen Effekt auf das Bindegewebe zu haben wie prämenopausal. Die unterschiedlichen Effekte auf MMP und TIMP in den Patientengruppen scheinen das zu bestätigen.

Bei der Stressinkontinenz sind die Ergebnisse auch nicht mehr eindeutig. Zwar lassen sich bei Frauen mit Belastungsinkontinenz ein geringeres Estrogenlevel feststellen (Xie et al., 2007; Bai et al., 2004; Lang et al., 2003), jedoch reagieren die Fibroblasten nicht mit einer erhöhten Kollagensynthese bei Estrogengabe. Dies erklärt sich mit einer nachlassenden Sensitivität der Estrogenrezeptoren in dieser Patientengruppe (Edwall et al., 2009; Chen et al., 2003). Die nun nicht mehr ausreichende TIMP-Expression führt zur MMP-Aktivierung und resultierend in einen weiteren Kollagenabbau bei Frauen mit Belastungsinkontinenz.

Testosteron hemmt darüber hinaus die MMP-Produktion und damit den Kollagenabbau (Ishikawa et al., 2007),

Auch auf andere Vorgänge wie z.B eine vermehrte Vaskularisation haben Estrogene einen Einfluß. So ist unter lokaler Estrogengabe eine vermehrte periurethrale Vaskularisation zu beobachten (Long et al., 2006). Dies erhöht auch den Urethraverschlussdruck und bringt damit eine Besserung der Stressinkontinenz (Klutke et al., 1995).

Trotz der allgemeinen Annahme, dass Sexualhormone und deren veränderter Level in die Entstehungsmechanismen von Stressinkontinenz und Prolaps involviert sind, ist die Datenlage noch nicht ausreichend (Campeau et al., 2011).

Aufgrund familiärer Prädispositionen sind weiterhin die Untersuchungen zu Mutationen oder Polymorphismen intensiviert worden. Bei der Bindegewebsschwäche betrifft das die Polymorphismen der Gene der dazugehörigen Matrixkomponenten. Dies sind die Gene der Proteine, Proteasen und deren Regulatoren sowie der Rezeptoren. Mutationen können damit die Kollagen- oder Elastinsynthese als auch deren Abbau beeinflussen.

Die Transkription des Gen vom Kollagentyp III ist das COL3A1. Ein Single Nukleotid Polymorphismus wird hier bei Patientinnen mit Prolaps festgestellt (Kluivers et al., 2009). Für das Gen COL1A1, welches verantwortlich für die Kollagen Typ I-Transkription ist (Rodrigues et al., 2008), sind solche Unterschiede im Polymorphismus nicht auffällig bei den verglichenen Untersuchungsgruppen mit und ohne Prolaps (Cho et al., 2009).

Gen-Polymorphismen sind bei Frauen mit Prolaps weiterhin für die MMP-9-Gene (Chen et al., 2010), MMP-3-Gene (Skorupski et al., 2013) und MMP-1-Gene (McKenzie et al., 2010) entdeckt worden.

Aufgrund der bereits vorliegenden Ergebnisse eröffnet dies Möglichkeiten der Gentyptisierung, um Risikogruppen besser zu erkennen (Allen-Brady et al., 2009). Neben dem Erkennen von allgemeinen Risikofaktoren können die präventiven Therapiemöglichkeiten gezielter angewendet werden.

Im Hinblick auf die operativen Therapien spielen diese Erkenntnisse über die Gewebeschwäche ebenso eine wichtige Rolle. Dieses schwache Bindegewebe erklärt unter anderem die hohe Rezidivrate nach der klassischen Kolporrhaphie-Operation zur Behebung der Zysto- oder Rektozele (Mangera et al., 2013). Dies führte bereits 1955 zu Operationen mit Einsatz von Fremdmaterial zur Stabilisierung der einzelnen Kompartimente (Moore et al., 1955), jedoch mit hohen Komplikationsraten. Auch sogenannte Biomesh-Implantate mit einem Anteil von Rinder- oder Schweinehautkollagen wurden zeitweise eingesetzt, ohne jedoch eine langfristige Verbesserung der postoperativen Resultate im Vergleich zur klassischen Kolporrhaphie-Operation zu erreichen (Mescia et al., 2007, Göpel et al., 2005, Göpel et al., 2006).

In den 1990-er Jahren begann die Weiterentwicklung der Polypropylenetze zum Einsatz in der rekonstruktiven Beckenbodenchirurgie. Erfreulicherweise sank die Rezidivrate, da auf Stabilisierung mit dem körpereigenen schwachen Gewebe verzichtet wurde (Jia et al., 2008). Aber die Komplikationsrate (z.B. vaginale Erosionen) durch die alloplastischen Materialien stieg rasant an (Abed et al., 2011). Partiiell absorbierbare Materialien konnten zumindest eine etwas niedrigere Erosionsrate aufweisen (Farthmann et al., 2013).

Deshalb muss auch unter Beachtung der Erkenntnisse der Bindegewebforschung nach weiteren verbesserten Therapiemöglichkeiten gesucht werden.

In Zukunft werden die Stammzelltherapien (Tissue engineering) an Bedeutung gewinnen. Sie könnten eine echte Therapieoption unter Nutzung der Erkenntnisse der Vorgänge zum Auf- und Abbau der extrazellulären Matrixproteine sein (Boennelycke et al., 2012).

In den kommenden Jahren wird somit das Verständnis über den defekten Bindegewebstoffwechsel bzw. die Imbalance des Matrixproteinmetabolismus, den Hormoneinfluss sowie die genetischen Ursachen die Therapie der weiblichen Beckenbodeninsuffizienz entscheidend beeinflussen.



## 9 Schlussfolgerung und Ausblick

Es wurden signifikante Bindegewebsveränderungen bei Frauen mit Prolaps bzw. Inkontinenz beschrieben. Wir fanden deutliche Unterschiede beim Nachweis von Kollagentyp I und III und insbesondere bei Kollagentyp VI bei Patientinnen mit Prolaps uteri. Die Tinktion ist deutlich schwächer im Vergleich zu Frauen ohne Prolaps uteri. Diese Resultate unterstreichen die Rolle der kollagenen Fasern bei der Prolapsentwicklung. Dies gilt auch für die in den vorliegenden Arbeiten untersuchten Glykoproteine. Zum ersten Mal wurde Tenascin im Bindegewebe der Frau bei Patientinnen mit und ohne Prolaps untersucht. Tenascin wird bei Patientinnen mit Prolaps deutlich stärker positiv nachgewiesen im Vergleich zu Frauen ohne Prolaps im Ligamentum sakrouterinum. Das Glykoprotein Tenascin ist hauptsächlich für Zellwachstum und Zellmigration verantwortlich. In der extracellulären Matrix ausdifferenzierten Gewebes ist es oft nur temporärer Bestandteil, insbesondere bei der Wundheilung und proliferativen Prozessen. Wir können uns den erhöhten Anteil von Tenascin nur durch ein Gewebetrauma und Überdehnung erklären, jedoch scheint die zunehmende Tenascinproduktion zumindest eine Involvierung dieses Glykoproteins in die Prolapsentstehung zu bedeuten. Der Vitronektin- und Elastinanteil dagegen nimmt bei Frauen mit Prolaps ab. Bezüglich der elastischen Fasern gibt es in der Literatur widersprüchliche Angaben. Eine vermehrte Elastinproduktion, wie es einige Autoren gesehen haben, ist offensichtlich nur durch eine Überregulation des Körpers mit insuffizientem Elastin zu erklären. Dies würde auch die Abnahme des für den Aufbau dieser Fasern so wichtigen Vitronektins exemplifizieren, welches unsere immunhistochemischen Färbungen zeigten. Insgesamt differieren die Ergebnisse der Autoren zur Bindegewebsschwäche und sind zum Teil auch kontrovers. Tendenziell ist aber von einer Kollagen- und Elastinabnahme bei Frauen mit Prolaps und Inkontinenz auszugehen. Deshalb wurde auch die Arteria uterina von Frauen mit und ohne Prolaps in die Studien mit einbezogen. Die Blutgefäße sind jedoch nicht für die Prolapsentwicklung ursächlich, eher nur in Mitleidenschaft gezogen z.B. durch Überdehnung. Wir konnten unerwartet ähnliche Veränderungen in der Zusammensetzung der extracellulären Matrix in der Wand der Arterie uterina beschreiben. Dies betraf insbesondere die Abnahme von Kollagentyp VI, des Glykoproteins Vitronektin, Elastin und die Zunahme von Tenascin in der Arteria uterina bei Patientinnen mit Prolaps uteri.

Diese vorliegenden Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass die Veränderungen der extracellulären Matrix auch Folge und nicht die Ursache des Prolaps sein können. Kritisch müssen wir jedoch anmerken, dass die Regulatoren des Turn over sowie die hormonelle Situation nicht analysiert wurden. Auch vorangegangene Geburten, Operationen, Gewichtszunahme, Hormonmangel, Alterungsprozesse und stattgehabte Entzündungen können den Matrixproteinstoffwechsel beeinflussen (Aznal et al., 2012)

Unsere Untersuchungen können die Genese des Beckenbodenprolaps nicht eindeutig klären. Die Beschreibung von Bindegewebsproteinen reicht dafür nicht aus. Weitere Informationen über die Qualität des Kollagens, der Kollagenvernetzung, des Auf- und Abbaus und dessen Verhältnis zum Prolaps sind notwendig. Die Einbeziehung jüngerer Patientinnen in die Untersuchungsgruppen zur besseren Abgrenzung altersbedingter Veränderungen sollte Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein. Des Weiteren wird die Proteasenaktivität und deren Inhibitoren weiter analysiert werden müssen.

Bei der Untersuchung des periurethralen Bindegewebes sind beeindruckende Unterschiede bei Frauen mit Belastungsinkontinenz bzw. bei Stressinkontinenz mit hypotoner Urethra zu erkennen. Den Ergebnissen zufolge können wir den kollagenen und elastischen Fasern sowie Glykoproteinen als wichtigen Bestandteil des Stromas eine Funktion für den Urethradruckmechanismus zuschreiben. Wir finden eine Abnahme von Kollagen, insbesondere Kollagen Typ VI sowie des Glykoproteins Vitronektin bei inkontinenten Frauen.

Mit elektronenmikroskopischen Methoden konnten wir erstmalig bei Frauen mit hypotoner Urethra zerstörte elastische Fasern im Gegensatz zur normotonen Urethra darstellen. Diese ultrastrukturell nachweisbaren Veränderungen im periurethralen elastischen und kollagenen Fasersystem sind als Ursache für den insuffizienten urethralen Verschlussmechanismus denkbar.

Schlussfolgernd können somit folgende bisher in der Literatur bekannte Daten postuliert werden, die den Metabolismus der Matrixproteine verändern.

Bei Patientinnen mit Prolaps finden die Autoren unter anderem eine Abnahme der Kollagenfaserdichte (Salman et al., 2010), erhöhte MMP-2 (Connell et al., 2008) und erhöhte MMP-9 Aktivität (Zong et al., 2010). Ebenso finden wir Polymorphismen in den

COL3A1-Genen (Kluivers et al., 2009), MMP 9-Genen (Chen et al., 2010), MMP-3-Genen (Skorupski et al., 2013) und den MMP-1-Genen (McKenzie et al., 2010).

Der Elastingehalt nimmt ab (Klutke et al., 2008), die elastischen Fasern werden schmaler (Karam et al., 2007), das LOX-Level sinkt (Alarab et al., 2010) und der Tropoelastingehalt nimmt zu (Zong et al., 2010).

Für die Stressinkontinenz ist ein niedrigerer Elastingehalt (Chen et al., 2004) und eine erhöhte Ausscheidung von Kollagenabfallprodukten (Kushner et al., 2004) beschrieben. Ebenso ist eine Verringerung von Elastinfasern (Goepel et al., 2006), erhöhte Neutrophilelastase-Expression (Chen et al., 2007), verminderte alpha 1-Anti-Trypsin-Aktivität (Chen et al., 2007) sowie eine zunehmende Elastase-Aktivität (Mathurubutam et al., 2001) bei Frauen mit Stressinkontinenz publiziert. Bei Patientinnen mit Belastungsinkontinenz und Prolaps sind bereits eine erhöhte MMP-1- und abnehmende TIMP-1-Aktivität (Chen et al., 2002) sowie ein niedrigerer Hydroxyprolingehalt (Suzme et al., 2007) bekannt.

Dies beweist sehr eindeutig die Hypothese, dass der sich ändernde Bindegewebsproteinstoffwechsel der extracellulären Matrix in die Pathophysiologie von Inkontinenz und Prolaps involviert ist. Zwar sind die Studien teilweise widersprüchlich, jedoch verdichten sich die Daten zu einer allgemein akzeptierten Abnahme von Kollagen und Elastin bei Frauen mit Prolaps und Stressinkontinenz. Noch ist nicht klar, ob dies durch eine verminderte Synthese oder verstärkten Abbau zu erklären ist. Die Rolle der MMP und deren Regulation (TIMP) ist hier ein wichtiger Aspekt. Die Polymorphismen der jeweiligen Gene beeinflussen sowohl die Expression der Matrixproteine als auch deren Abbau.

Des Weiteren spielen die Sexualhormone eine Rolle im Metabolismus der extracellulären Matrix. Zum einem können der Hormonlevel als auch die Empfindlichkeit der Rezeptoren alterieren.

Ein zunehmendes Verständnis für die Entstehungsmechanismen der Beckenbodeninsuffizienz durch eine Imbalance im Turn over ist auch klinisch relevant. 11-19 % aller Frauen tragen das Risiko eines Eingriffs zur Behebung eines Prolapses (Smith et al., 2010). Die Erkennung der Risikogruppen z.B. durch Analyse der Polymorphismen bzw. Gentypisierung kann präventive Maßnahmen nach sich ziehen als auch andere Risikofaktoren bewusst minimieren.

Ein weiterer Aspekt betrifft die operative Versorgung.

Die Rate an Rezidiven und Folgeeingriffen klassischer Operationsmethoden z.B. mit Raffung von Nativgewebe (Kolporrhaphia anterior und posterior) ist mit 17% sehr hoch (Denman et al., 2008). Deshalb wurde der Einsatz von synthetischen Netzen zur Behebung eines Prolaps sehr populär (Maher et al., 2011). Die Rezidivrate sank deutlich und brachte eine verbesserte Stabilität und postoperative Erfolgsrate (Altman et al., 2011). Eine prospektiv randomisierte Studie verglich die anteriore Kolporrhaphie mit transobturatorischer Netzeinlage bei Zystozele Grad 2 und mehr. 12 Monate postoperativ war die Erfolgsrate mit 89% deutlich besser als die Kolporrhaphiegruppe mit 64% (de Tayrac et al., 2013).

In unserer Klinik wurden im Rahmen der multizentrischen Prolift M- und Prosimastudie ebenso Netzeinlagen zur Stärkung des vorderen und hinteren Kompartimentes durchgeführt.

Die Daten der Prolift-M Studie konnten in 86,2% eine Verbesserung der Lebensqualität 12 Monate postoperativ nachweisen. Die Erosionsrate lag bei 10,2 % (Milani et al., 2011). In der Prosimastudie konnte in einem Follow up nach 24-34 Monaten (median 29 Monate) eine Verbesserung in 69,1 % erreicht werden. Die Erosionsrate lag hier bei 9,1% (Sayer et al., 2012; Zyczynski et al., 2010).

Dementsprechend ist die Rate an vaginalen Erosionen, Schmerzen und Infektionen unakzeptabel hoch (Jia et al., 2008; De Ridder, 2008; Ostergard, 2011). Dies führte auch zu einer Warnung durch die FDA 2011. Publierte Netzerosionsraten reichen von 4-19% (Vollebregt et al., 2011). Operateure müssen bei Einsatz von Netzen von einer durchschnittlich zu erwartenden Erosionsrate von 10,3 % ausgehen (Abed et al., 2011). Somit nehmen wir die niedrigere Rezidivrate mit einer etwas erhöhten Morbidität in Kauf (de Tayrac et al., 2013).

Deshalb muss unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Grundlagenforschung nach weiteren Alternativen gesucht werden.

Adipöse Stammzellfettzellen zeigen bei der Differenzierung zu Fibroblasten eine vermehrte Produktion von Kollagen Typ I, III und Elastin. Im Tierversuch führt dies zu einer morphologisch nachweisbaren Stärkung des Bindegewebes in der

Scheidenwand. Resultierend auch aus unseren Erkenntnissen wäre dies eine echte Therapieoption für die Zukunft, da sie die direkt an der Hauptursache des Prolaps, der Gewebeschwäche, angreift (Hung et al., 2013, Mange et al., 2013).

Auch mit Kollagentyp I beschichtete Netze sollen die Bindung der Polypropylenetze an die umgebende Matrix verbessern (Guerrete et al., 2009, Siniscalchi et al., 2013).

Somit könnten die Erkenntnisse über den Aufbau des Bindegewebes und seiner Veränderungen die Prolaps- und Inkontinenztherapie der Zukunft z.B. durch Beeinflussung des Proteinstoffwechsels bzw. der Fibroblastenaktivität mitbestimmen.

## 10 Literatur

Abed H, Rahn DD, Lowenstein L, Balk EM, Clemons JL, Rogers RG: Incidence and management of graft erosion, wound granulation, and dyspareunia following vaginal prolapse repair with graft materials: a systematic review. *Int Urogynecol J* 2011, 22: 789–798

Adachi E, Hayashi T, Hashimoto PH: A comparison of the immunofluorescent localization of collagens types I, III, and V with the distribution of reticular fibers on the same liver sections of the snow monkey (*Macaca fuscata*). *Cell Tiss Res* 1991, 264: 1–8

Alarab M, Bortolini MA, Drutz H, Lye S, Shynlova O: LOX family enzymes expression in vaginal tissue of premenopausal women with severe pelvic organ prolapse. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2010; 21: 1397–404

Alarab M, Shynlova O, Drutz H, Lye S: Extracellular Matrix remodeling is increased in Vaginal Tissue of Premenopausal Patients with Pelvic organ Prolapse. *Reproductive Sci* 2008; 15: abstract 311A

Allen-Brady K, Norton P, Farnham J, Teerlink C, Cannon-Albright L: Significant linkage evidence for a predisposition gene for pelvic floor disorders on chromosome 9q21. *Am J Hum Genet* 2009, 84: 678–82

Al-Taher H, Sutherst JR, Richmond DH, Brown MC: Vaginal pressure as an index of intra-abdominal pressure during urodynamic evaluation. *Br J Urol* 1987, 59: 529-32

Altman D, Forsman M, Falconer C, Lichtenstein P: Genetic influence on stress urinary incontinence and pelvic organ prolapse. *Eur Urol* 2008, 54: 918–22

Altman D, Väyrynen T, Engh ME, Axelsen S, Falconer C: Anterior colporrhaphy versus transvaginal mesh for pelvic-organ prolapse. *N Engl J Med* 2011, 364:1826–1836

Amin K, Janson C, Sevéus L, Miyazaki K, Virtanen I, Venge P: Uncoordinated production of Laminin-5 chains in airways epithelium of allergic asthmatics. *Respir Res* 2005, 6: 110

Amundsen CL, Flynn BJ, Webster GD: Anatomical correction of vaginal vault prolapse by uterosacral ligament fixation in women who also require a pubovaginal sling. *J Urol* 2003, 169: 1770–1774

Aufderheide, E, Eckblom P: Tenascin during gut development - Appearance in the mesenchyme, shift in molecular forms and dependence on epithelial - mesenchymal interactions. *J Cell Biol* 1988, 105: 599 – 608

Aumailley M., Nurcombe V, Edgar D: The cellular interactions of laminin fragments. Cell adhesion correlates with two fragment-specific high affinity binding sites. *J Biol Chem* 1987, 262: 11532 – 11538

Aznal SS, Meng FG, Nalliah S, Tay A, Chinniah K, Jamli MF: Biochemical evaluation of the supporting structure of pelvic organs in selected numbers of premenopausal and postmenopausal Malaysian women. *Indian J Pathol Microbiol* 2012, 55: 450-5

Bafetti LM, Young TN, Itoh Y, Stack MS: Intact vitronectin induces matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinases-2 expression and enhanced cellular invasion by melanoma cells. *J Biol Chem* 1998, 273: 143-9

Bai SW, Jung YW, Kwon HS, Yoon JM, Shin JS, Kim SK, Park KH, Park JH: The role of estrogen receptor, progesterone receptor and p53 in development of stress urinary incontinence. *Yonsei Med J* 2004, 45: 885–90

Bakas PG, Liapis AE, Zervolea I, Voutsinas G, Kletsas D, Creatsas G: mRNA assessment for procollagen production in women with genuine stress urinary incontinence. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2004, 15: 429–31, discussion 431

Becker J, Schuppan D, Benzian H, Bals T, Hahn EG, Cantaluppi C, Reichart P: Immunohistochemical distribution of collagens types IV, V, and VI and of pro-collagens types I and III in human alveolar bone and dentine. *J Histochem* 1986, 34: 1417–29

Becker J, Schuppan D, Hahn EG, Albert G, Reichart P: The immunohistochemical distribution of collagens type IV, V, VI and of laminin in the human oral mucosa. *Archs oral Biol* 1986, 31: 179–86

Becker J, Schuppan D, Rabanus J-P, Rauch R, Niechoy U, Gelderblom HR: Immunoelectron microscopic localization of collagens type I, V, VI and pro-collagen type III in human periodontal ligament and cementum. *J Histochem Cytochem* 1991, 39: 103–10

Bernstein EG, Chen YQ, Tamai K, Shepley KJ, Resnik KS, Zhang H, Tuan R, Mauville A, Uitto J: Enhances elastin and b<sup>1</sup> fibrillin gene expression in chronically photodamaged skin. *J Invest Dermatol* 1994, 103: 182-6

Bidmead J, Cardozo LD: Pelvic floor changes in the older woman. *Br J Urol* 1998, 82: 18–25

Bodley HD, Wood RL: Ultrastructural studies on elastic system fibers using enzymatic digestion of thin sections. *Anat Rec* 1972, 172: 71-88

Boennelycke M, Gras S, Lose G: Tissue engineering as a potential alternative or adjunct to surgical reconstruction in treating pelvic organ prolapse. *Int Urogynecol J* 2012, doi:10.1007/s00192-012-1927-4

Boreham MK, Wai CY, Miller RT, Schaffer JI, Word RA: Morphometric analysis of smooth muscle in the anterior vaginal wall of women with pelvic organ prolapse. *Am J Obstet Gynecol* 2002, 187: 56-63

Bornstein P, Sage H: Structurally distinct collagen types. *An Rev Biochem* 1980, 49: 957–1003

Bradley CS, Zimmerman MB, Qi Y, Nygaard IE: Natural history of pelvic organ prolapse in postmenopausal women. *Obstet Gynecol* 2007, 109: 848-54

Brinkmann J: Collagens at a glance 2005, *Top Curr Chem* 247: 1-6

Bruns RR, Press W, Engvall E, Timpl R, Gross J: Type VI collagen in extracellular, 100nm periodic filaments and fibrils - Identification by immunoelectron microscopy. *J. Cell Biol* 1986, 103: 393–404

Buchsbaum G, Duecy E, Kerr L, Huang L-S, Guzick D: Urinary incontinence in nulliparous women and their parous sisters. *Obstet Gynecol* 2005, 106: 1253–8

Buchsbaum G, Duecy E, Kerr L, Huang L-S, Perevich M, Guzick D: Pelvic organ prolapse in nulliparous women and their parous sisters. *Obstet Gynecol* 2006, 108: 1388–93

Buckley B, Lapitan MCM: Prevalence of urinary incontinence in men, women, and children—current evidence: findings of the Fourth International Consultation on Incontinence. *Urology* 2010, 76: 265–70

Budatha M, Silva S, Montoya TI, Suzuki A, Shah-Simpson S, Wieslander CK, Yanagisawa M, Word RA, Yanagisawa H: Dysregulation of protease and protease inhibitors in a mouse model of human pelvic organ prolapse. *PLoS One* 2013, 8: e56376

Buller JL, Thompson JR, Cundiff GW, Krueger Sullivan L, Schon Ybarra MA, Bent AE: Uterosacral ligament: description of anatomic relationships to optimize surgical safety. *Obstet Gynecol* 2001, 97: 873–879

Bump RC, Mattiasson A, Bo K, Brubaker LP, DeLancey JO, Klaskov P, Shull BL, Smith AR: The standardization of terminology of female pelvic organ prolapse and pelvic floor dysfunction. *Am J Obstet Gynecol* 1996, 175: 10-7

Bump RC, Norton PA: Epidemiology and natural history of pelvic floor dysfunction. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1998, 25: 723–746

Burch JC: Urethrovaginal fixation to Cooper's ligament for correction of stress incontinence, cystocele, and prolapse. *Am J Obstet Gynecol*. 1961, 81:281-90

Burke, JM, Balian G, Ross R, Bornstein P: Synthesis of type I and III procollagen and collagen by monkey aortic smooth muscle cells in vitro. *Biochemistry* 1977, 46: 3243-9

Butler-Manuel SA, BATTERY LD, Polak JM, A'Hern R, Barton DP: Autonomic nerve trauma at radical hysterectomy: the nerve content and subtypes within the superficial and deep uterosacral ligaments. *Reprod Sci* 2008, 15: 91–96

Campeau L, Gorbachinsky I, Badlani GH, Andersson KE: Pelvic floor disorders: linking genetic risk factors to biochemical changes. *BJU Int*. 2011, 108: 1240-7



Campbell RM: The anatomy and histology of the sacrouterine ligaments. *Am J Obstet Gynecol* 1950, 59: 1-12

Carley ME, Schaffer J: Urinary incontinence and pelvi organ prolapse in women with Marfan or Ehlers Danlos syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 1021-3

Carrington SD, Alexander RA, Grierson I: Elastic and related fibres in the normal cornea and limbus of the domestic cat. *J Anat* 1984, 139: 319-32

Casey BM, Schaffer JI, Bloom SL, Heartwell SF, McIntire DD, Leveno KJ: Obstetric antecedents for postpartum pelvic floor dysfunction. *Am J Obstet Gynecol* 2005, 192: 1655-62

Chadwick D., Goode J: Ciba foundation symposium: the molecular biology and pathology of elastic tissues. Wiley, New York 1995

Chambers RC, Laurent GJ: The lung. In: Comper WD (Hrsg): *Extracellular Matrix*. Vol. 1, Tissue function. OPA, Amsterdam, 1996, 378-409

Chen H-Y, Chung Y-W, Lin W-Y, Chen W-C, Tsai F-J, Tsai C-H: Progesterone receptor polymorphism is associated with pelvic organ prolapse risk. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2009, 88: 835–8

Chen HY, Chung YW, Lin WY, Wang JC, Tsai FJ, Tsai CH: Collagen type 3 alpha 1 polymorphism and risk of pelvic organ prolapse. *Int J Gynaecol Obstet* 2008, 103: 55–58

Chen Y, DeSautel M, Anderson A, Badlani G, Kushner L: Collagen synthesis is not altered in women with stress urinary incontinence. *Neurourol Urodyn* 2004, 23: 367–73

Chen HY, Lin YN, Chen YH, Chen WC: Stress urinary incontinence following vaginal trauma involves remodeling of urethral connective tissue in female mice. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012 , 163:224-9

Chen H-Y, Lin W-Y, Chen Y-H, Chen W-C, Tsai F-J, Tsai C-H: Matrix metalloproteinase-9 polymorphism and risk of pelvic organ prolapse in Taiwanese women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010, 149: 222–4

Chen H-Y, Wan L, Chung Y-W, Chen W-C, Tsai F-J, Tsai C-H: Estrogen receptor beta gene haplotype is associated with pelvic organ prolapse. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008, 138: 105–9

Chen BH, Wen Y, Li H, Polan ML: Collagen metabolism and turnover in women with stress urinary incontinence and pelvic prolapse. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2002, 13: 80–7; discussion 87

Chen B, Wen Y, Polan ML: Elastolytic activity in women with stress urinary incontinence and pelvic organ prolapse. *Neurourol Urodyn* 2004, 23: 119-26

Chen B, Wen Y, Wang H, Polan ML: Differences in estrogen modulation of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-1 expression in cultured fibroblasts from continent and incontinent women. *Am J Obstet Gynecol* 2003, 189: 59–65

Chen B, Wen Y, Yu X, Polan ML. The role of neutrophil elastase in elastin metabolism of pelvic tissues from women with stress urinary incontinence. *Neurourol Urodyn* 2007; 26: 274–9

Chen B, Yeh J: Alterations in connective tissue metabolism in stress incontinence and prolapse. *J Urol* 2011, 186: 1768-72

Chiquet-Ehrismann, R, Kalla P, Pearson CA, Beck K, Chiquet M: Tenascin interferes with fibronectin action. *Cell* 1988, 53: 383– 90

Chiquet-Ehrismann R, Mackie EI, Pearson CA, Sakakura T: Tenascin - an extracellular matrix protein involved in tissue interactions during fetal development and oncogenesis. *Cell* 1986, 47: 131–139

Cho H, Jung H, Kim S, Choi J, Cho N, Bai S: Polymorphism of a COLIA1 gene Sp1 binding site in Korean women with pelvic organ prolapse. *Yonsei Med J* 2009, 50: 564–8

Chopard RP, Lucas GA, Gerhard R, Lourenco MG: A histomorphological study in age related changes in the elastic fiber system of the basilar artery. *Int J Anat Embryol* 1998, 103: 157-175

Clark RF: Potential roles of fibronectin in cutaneous wound repair. *Arch Dermatol* 1987, 124: 204–206

Cleary EG, Gibson MA: Elastin-associated microfibrils and microfibrillar proteins. *Int Rev connect Tissue Res* 1983, 10: 97-209

Cleary EG: Skin. In: W. Comper (Ed.), *Extracellular matrix*, vol. 1 Harwood, Amsterdam 1996, 77–109

Cleary EG, Gibson MA: Elastic tissue, elastin and elastin-associated microfibrils. In: Comper WD (Hrsg): *Extracellular Matrix. Vol. 2, Molecular Components and Interactions*. OPA, Amsterdam, 1996, 95-140

Cole EE, Leu PB, Gomelsky A, Revelo P, Shappell H, Scarpero HM, Dmochowski RR: Histopathological evaluation of the uterosacral ligament: is this a dependable structure for pelvic reconstruction? *BJU Int* 2006, 97: 345–348

Connell KA, Guess MK, Chen H, Andikyan V, Bercik R, Taylor HS: HOXA11 is critical for development and maintenance of uterosacral ligaments and deficient in pelvic prolapse *J Clin Invest* 2008, 118: 1050-5

Copas P, Bukovsky A, Asbury B, Elder RF, Caudle MR: Estrogen, progesterone, and androgen receptor expression in levator ani muscle and fascia. *J Womens Health Gend Based Med* 2001, 10: 785-95

Cotta-Pereira G, Guerra Rodrigo F, Bittencourt-Sampaio S: Oxytalan, Elaunin, and elastic fibers in the human skin. *J Invest Dermatol* 1976; 66: 143-8

Crossin KL: Tenascin: a multifunctional extracellular matrix protein with a restricted distribution in development and disease. *J Cell Biochem* 1996, 61: 592-8

Dahlbäck K, Löfberg H, Dahlbäck B: Localization of vitronectin (S-protein of complement) in normal human skin. *Acta Derm Venereol* 1986, 66: 461–467

Dainer M, Hall CD, Choe J, Bhatia NN: The Burch procedure: a comprehensive review. *Obstet Gynecol Surv* 1999, 54: 49–60

Davidson JM, Zang MC, Zoia O, Giro MG: Regulation of elastin synthesis in pathological states. *Ciba Found Symp* 1995, 192: 81-94

Davis EC: Smooth muscle cell to elastic lamina connections in developing mouse aorta. Role in aortic medial organization. *Lab Invest* 1993, 68: 89-99

Davis EC, Mecham RP: Intracellular trafficking of tropoelastin. *Matrix Biol.* 1998, 17: 245-54

Davis NF, Kheradmand F, Creagh T: Injectable biomaterials for the treatment of stress urinary incontinence: their potential and pitfalls as urethral bulking agents. *Int Urogynecol J* 2013, 24: 913-9

DeLancey JOL: Anatomic aspects of vaginal eversion after hysterectomy, *Am J Obstet Gynecol* 1992, 166: 1717–1724

DeLancey JO: Structural support of the urethra as it relates to stress urinary incontinence: the hammock hypothesis. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 1713-20

DeLancey JO, Morgan DM, Fenner DE, Kearney R, Guire K, Miller JM, Hussain H, Umek W, Hsu Y, Ashton-Miller JA: Comparison of levator ani muscle defects and function in women with and without pelvic organ prolapse. *Obstet Gynecol* 2007, 109: 295-302

Denman MA, Gregory WT, Boyles SH, Smith V, Edwards SR, Clark AL. Reoperation 10 years after surgically managed pelvic organ prolapse and urinary incontinence. *Am J Obstet Gynecol* 2008, 198: 555.e1-5

De Ridder D: Should we use meshes in the management of vaginal prolapse? *Curr Opin Urol* 2008, 18: 377–382

de Tayrac R, Cornille A, Eglin G, Guilbaud O, Mansoor A, Alonso S, Fernandez H. Comparison between trans-obturator trans-vaginal mesh and traditional anterior colporrhaphy in the treatment of anterior vaginal wall prolapse: results of a French RCT. *Int Urogynecol J* 2013, 20

Dorschner W, Stolzenburg JU, Neuhaus J: Structure and function of the bladder neck. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 2001, 159: 1-109

Drutz HP, Alarab M: Pelvic organ prolapse: demographics and future growth prospects. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct*, 2006: 6-9

Edwall L, Carlström K, Jonasson AF: Different estrogen sensitivity of urogenital tissue from women with and without stress urinary incontinence. *Neurourol Urodyn* 2009, 28: 516–20

Edwall L, Carlström K, Jonasson A: Markers of collagen synthesis and degradation in urogenital tissue from women with and without stress urinary incontinence. *Neurourol Urodyn* 2005, 24: 319–24

Edwall L, Carlström K, Jonasson A: Endocrine status and markers of collagen synthesis and degradation in serum and urogenital tissue from women with and without stress urinary incontinence. *Neurourol Urodyn* 2007, 26: 410–5

Edwall L, Carlström K, Jonasson AF: Markers of collagen synthesis and degradation in urogenital tissue and serum from women with and without uterovaginal prolapse. *Mol Hum Reprod* 2008, 14: 193–7

Elbadawi A, Diokno AC, Millard RJ: The aging bladder: morphology and urodynamics. *World J Urol* 1998, 16: 10-34

Engel J, Furthmayer H, Odermatt E: Structure and macromolekular organization of type VI collagen. *Ann NY Acad Sci* 1985, 460: 25–37

Engvall E, Ruoslathi E: Binding of a soluble form of fibroblast surface protein, fibronectin, to collagen. *Int J Cancer* 1977, 20: 1–5

Enhörning G: Simultaneous recording of the intravesical and intraurethral pressure. *Acta Chir Scand* 1961, 276: 1-68

Ewalt DH, Howard PS, Blyth B, Snyder HM, Duckett JW, Levin RM, Macarak EJ: Is lamina propria matrix responsible for normal bladder compliance? *J Urol* 1992, 148: 544-549

Ewies AA, Al-Azzawi F, Thompson J: Changes in extracellular matrix proteins in the cardinal ligaments of postmenopausal women with or without prolapse: a computerized immunohistomorphometric analysis, *Hum Reprod* 2003, 18: 2189–2195

Ewies AA, Thompson J, Al-Azzawi F: Changes in gonadal steroid receptors in the cardinal ligaments of prolapsed uteri: immunohistomorphometric data. *Hum Reprod* 2004, 19: 1622–8

Falconer C, Blomgren B, Johansson O, Ulmsten U, Malmström A, Westergren-Thorsson G, Ekman-Ordeberg G: Different organization of collagen fibrils in stress incontinent women of fertile age. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998, **77**: 87–97

Falconer C, Eckman-Ordeberg G, Blomgren B, Johansson O, Ulmsten U, Westergren-Thorsson G, Malmström A: Paraurethral connective tissue in stress incontinent women after menopause. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998, **77**: 95–100

Falconer C, Ekman-Ordeberg G, Ulmsten U, Westergren-Thorsson G, Barchan K, Malmström A: Changes in paraurethral connective tissue at menopause are counteracted by oestrogen. *Maturitas* 1996, 24: 197–204

Farthmann J, Watermann D, Niesel A, Fünfgeld C, Kraus A, Lenz F, Augenstein HJ, Graf E, Gabriel B. Lower exposure rates of partially absorbable mesh compared to nonabsorbable mesh for cystocele treatment: 3-year follow-up of a prospective randomized trial. *Int Urogynecol J* 2013, 24:749-58

Fazio MJ, Olsen DR, Kuivaniemi H, Chu ML, Davidson JM, Rosenbloom J, Uitto J: Isolation and characterization of human elastin cDNAs and age-associated variation in elastin gene expression in cultured skin fibroblasts, *Lab Invest* 1988, 58: 270–277

FDA Safety Communication: UPDATE on Serious Complications Associated with Transvaginal Placement of Surgical Mesh for Pelvic Organ Prolapse

Fessler JH, Fessler LI: Biosynthesis of procollagen. *Ann Rev Biochem* 1978, 47: 129–162

Fitch JM, Gross J, Mayne R, Johnson-Wint B, Linsenmayer TF: Organization of collagen types I and V in the embryonic chicken cornea - Monoclonal antibody studies. *Proc Natl Acad Sci. USA* 1984, 81: 2791–2795

Fleischmajer R, Olsen BR, Timpl R, Perlish JS, Lovelace O: Collagen fibril formation during embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983, 80: 3354–3358

Fleischmajer R, Perlish J, Burgeson R, Shaikh-Bahai F, Timpl R: Type I and type III collagen interactions during fibrillogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 1990, 580: 161–75

Foldspang A, Mommsen S, Lam GW, Elving L: Parity as a correlate of adult female urinary incontinence prevalence. *J Epidemiol Commun Health* 1992, 46: 595-600

Fransson LA: Structure and function of cell-associated proteoglycans. *TIBS* 1987, 12: 406–11

Fritsch H: Development and organization of the pelvic connective tissue in the human fetus. *Ann Anat* 1993, 175: 531-539

Furcht LT: Structure and function of the adhesive glycoprotein fibronectin. In: Satir B. (Ed), *Modern Cell Biology* Alan R. Liss, New York 1983, 53-117

Füsgen I: Urinary incontinence in old age – state of the art. *Z Gerontol Geriatr* 2005, 38: 14-9

Fu X, Johansson P, Siltberg H, Johnson P, Ulmsten U: Viscoelastic properties and muscular function of the human anterior vaginal wall. *Int Urogynecol J* 1995, 6: 229–34

Gabriel B, Denschlag D, Gobel H, Fittkow C, Werner M, Gitsch G, Watermann D: Uterosacral ligament in postmenopausal women with or without pelvic organ prolapse. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2005, 16: 475-9

Gabriel B, Watermann D, Hanke K, Gitsch G, Werner M, Tempfer C, zur Hausen A: Increased expression of matrix metalloproteinase 2 in uterosacral ligaments is associated with pelvic organ prolapse. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2006, 17: 478-82

Gay S, Martinez-Hernandez A, Rhodes RK, Miller EJ: The collagenous exocytoskeleton of smooth muscle cells. *Coll Rel Res* 1981, 1: 377 – 384

Gay S, Miller EJ: *Collagen in the physiology and pathology of connective tissue*. G Fischer, Stuttgart, New York, 1978

Gebb C, Hayman EG, Engvall E, Ruoslahti E: Interaction of vitronectin with collagen. *J Biol Chem* 1986, 261: 16698 – 16703

Goepel C: Differential elastin and tenascin immunolabeling in the uterosacral ligaments in postmenopausal women with and without pelvic organ prolapse. *Acta histochemica* 2008, 110: 204-209

Goepel C, Buchmann J, Schulka R, Koelbl H: Tenascin - A Marker for the Malignant Potential of Preinvasive Breast Cancers. *Gynecologic Oncology* 2000, 79: 372-378

Goepel C, Hefler L, Methfessel HD, Koelbl H: Perimenopausal connective tissue status of postmenopausal women with genital prolapse with and without stress incontinence. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003, 82: 659-664

Goepel C, Kantelhardt JE, Karbe I, Stoerer S, Dittmer J: Changes of glycoprotein and collagen immunolocalization in the uterine artery wall of postmenopausal women with and without pelvic organ prolapse. *Acta Histochem* 2011, 113: 375-81

Goepel C, Stoerer S., Koelbl H: Tenascin in Preinvasive Lesions of the Vulva and Vulvar Cancer. *Anticancer Research* 2003, 23: 4587-92

Göpel, C., Störer S., Kantelhardt EJ: Kollagen-Matrix-Implantate in der operativen Therapie der Zystozele. *Gynäkol Geburtshilfliche Rundsch* 2008, 48: 31-34

Göpel C., Störer S., Ulbrich EJ, Thomssen C: Kollagen-Matrix-Mesh-Implantate (Veritas) in der operativen Therapie der Rektozele. *Geburtsh Frauenheilk* 2006, 66: 952-955

Göpel C, Störer S., Thomssen C: Ist die hypotone Urethra stressharninkontinenter Frauen eine Folge der Zerstörung von Bindegewebsfasern? Eine elektronenmikroskopische Studie. *Geburtsh Frauenheilk* 2005, 65: 786-789

Goepel C, Thomssen C: Changes in the extracellular Matrix in periurethral tissue of women with stress urinary incontinence. *Acta Histochem* 2006, 108: 441-445

Gosling J: The structure of the bladder and urethra in relation to function. *Urol Clin N Am* 1979, 6:31-8

Gray WR, Sandberg LB, Foster JA: Molecular model for elastin structure and function. *Nature* 1973, 246: 461-466

Grody MH: Urinary incontinence and concomitant prolapse. *Clin Obstet Gynecol* 1998, 41: 777-85

Guerrete N, Peterson TV, Aguirre OA, VanDrie DM, Biller DH, Davila GW (2009) Anterior repair with or without collagen matrix reinforcement. A randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2009, 114:59–65

Hakamori S, Fukuda M, Sekiguchi K, Carter WG: Fibronectin, laminin and other extracellular glycoproteins. In: Piez, K. A., A. H. Reddi (Eds), *Extracellular Matrix Biochemistry* 1984, 229–272

Handa VL, Garrett E, Hendrix S, Gold E, Robbins J: Progression and remission of pelvic organ prolapse: a longitudinal study of menopausal women. *Am J Obstet Gynecol* 2004: 190:27–32

Hardingham TE, Fosang AJ: Proteoglycans: many forms and many functions. *FASEB J* 1992; 6: 861–70

Hashimoto K, DiBella RJ: Electron microscopic studies of the normal and abnormal elastic fibers of the skin. *J Invest Dermatol* 1967, 48: 405-423

Hay E: Cell-matrix interactions in the embryo: Cell shape, cell surface, cell skeletons, and their role in differentiation. In: Trelstrad RL (Ed), *The Role of the Extracellular Matrix in Development*, Alan R. Liss, New York 1984, 1–31

Hayman EG, Pierschbacher MD, Öhgren Y, Ruoslathi E: Serum spreading factor (vitronectin) is present at the cell surface and in tissues. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1983, 80: 4003–4007

Hendrix S, Cochrane B, Nygaard I, Handa VL, Barnabei VM, Iglesia C, Aragaki A, Naughton MJ, Wallace RB, McNeeley SG: Effects of estrogen with and without progestin on urinary incontinence. *JAMA* 2005, 293: 935–48

Henkel W, Glanville RW: Covalent cross-linking between molecules of type I and type III collagen: The involvement of the N-terminal, nonhelical regions of the  $\alpha 1$  (I) and  $\alpha 1$  (III) chains in the formation of intermolecular cross-links. *Eur J Biochem* 1982, 122: 205–213

Hextall A, Cardozo L: The role of estrogen supplementation in lower urinary tract dysfunction. *Int Urogynecol J* 2001, 12: 258-261

Huang W, Chiquet-Ehrismann R, Moyano JV, Garcia-Pardo A, Orend G: Interference of tenascin-C with syndecan-4 binding to fibronectin blocks cell adhesion and stimulates tumor cell proliferation. *Cancer Res* 2001, 61: 8586-94

Huisman AB: Aspects on the anatomy of the female urethra with special relation to urinary continence. *Contrib Gynecol Obstet* 1983, 10: 1-31

Hung MJ, Wen MC, Huang YT, Chen GD, Chou MM, Yang VC: Fascia tissue engineering with human adipose-derived stem cells in a murine model: Implications for pelvic floor reconstruction. *J Formos Med Assoc* 2013, 18: S0929-6646(13)00167-8

Hunskar S, Arnold EP, Burgio K, Diokno AC, Herzog AR, Mallett VT: Epidemiology and natural history of urinary incontinence. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2000, 11: 301-19

Hynes RO: Molecular biology of fibronectin. *Ann. Rev. Cell Biol.* 1985, 1: 67–90  
Ishigaki T, Imanaka-Yoshida K, Shimojo N, Matsushima S, Taki W, Yoshida: Tenascin-C enhances crosstalk signaling of integrin  $\alpha\beta3$ /PDGFR- $\beta$  complex by SRC recruitment promoting PDGF-induced proliferation and migration in smooth muscle cells. *J Cell Physiol* 2011, 226: 2617-24

Ishikawa T, Harada T, Kubota T, Aso T: Testosterone inhibits matrix metalloproteinase-1 production in human endometrial stromal cells in vitro. *Reproduction* 2007, 133: 1233–9

Jackson SR, Avery NC, Tarlton JF, Eckford SD, Abrams R, Bailey AJ: Changes in metabolism of collagen in genitourinary prolapse. *Lancet* 1996, 347: 1658-61

Jia X, Glazener C, Mowatt G, MacLennan G, Bain C, Fraser C, Burr J: Efficacy and safety of using mesh or grafts in surgery for anterior and/or posterior vaginal wall prolapse: systematic review and meta-analysis. *BJOG* 2008, 115:1350–1361

Johnson EF, Chetty K, Moore IM, Stewart A, Jones W: The distribution and arrangement of elastic fibres in the intervertebral disc of the adult human. *J Anat* 1982, 135: 301-309

Jonas IE, Riede UN: Reaction of oxytalan fibers in human periodontium to mechanical stress. *J Histochem Cytochem* 1980, 28: 211-216

Jones R, Abrams P, Hilton P, Ward K, Drake M: Risk of tape-related complications after TVT is at least 4%. *Neurourol Urodyn* 2010, 29: 40-1

Jones PL, Jones FS: Tenascin-C in development and disease: gene regulation and cell function. *Matrix Biol* 2000, 19: 581-96

Kadler KE, Hill A, Canty Laid ED: Collagen fibrillogenesis: fibronectin, integrins, and minor collagens as organizers and nucleators. *Curr Opin Cell Biol* 2008, 20: 495-501

Kagan HM, Li W: Lysyl oxidase: properties, specificity, and biological roles inside and outside of the cell. *J Cell Biochem* 2003, 88: 660-72

Kajikawa K, Yamaguchi T, Katsuda S, Miwa A: An improved electron stain for elastic fibers using tannic acid. *J Electron Microscop* 1975, 24: 287-289

Karam JA, Vazquez DV, Lin VK, Zimmern PE: Elastin Expression and elastic fibre width in the anterior vaginal wall of postmenopausal women with and without prolapse. *BJU Int* 2007, 100: 346-50



Keith DA, Paz MA, Gallop PM, Glimcher MJ: Histologic and biochemical identification and characterization of an elastin in cartilage. *J Histochem Cytochem* 1977, 25: 1154-1162

Kerkhof MH, Hendriks L, Brölmann HA: Changes in connective tissue in patients with pelvic organ prolapse – a review of the current literature. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2009, 20: 461-74

Keyserlingk D von: Bindegewebe. In: Benninghoff, Makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen (J. Staubesand, Ed.), Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore 1985. Bd. I, 14. Aufl., 110–131

Kielty CM, Baldock C, Lee D, Rock MJ, Ashworth JL, Shuttleworth CA: Fibrillin: from microfibril assembly to biomechanical function. *Phil Trans R Soc Lond B* 2002, 357: 207-217

Kilicarslan H, Guvenal T, Ayan S, Gokce G, Cetin A, Gultekin EY: Comparison of outcomes of three different surgical techniques performed for stress urinary incontinence. *Int J Urol* 2003, 10:126–130

Kim CM, Jeon MJ, Chung DJ, Kim SK, Kim JW, Bai SW: Risk factors for pelvic organ prolapsed. *Int J Gynaecol Obstet* 2007: 248-51

Klein W, Böck P: Elastica-positive material in the atrial endocardium. Light and electron microscopic identification. *Acta Anat* 1983, 116: 106-13

Kluivers K, Dijkstra J, Hendriks JCM, Lince S, Vierhout M, van Kempen LCL: COL3A1 2209G>A is a predictor of pelvic organ prolapse. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2009, 20: 1113–8

Klutke J, Bergman A: Hormonal influence on the urinary tract. *Urol Clin North Am* 1995, 22: 629–39

Klutke J, Ji Q, Campeau J, Starcher B, Felix JC, Stanczyk FZ: Decreased endopelvic fascia elastin content in uterine prolapse. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008, 87: 111-5

Klutke J, Stanczyk F, Ji Q, Campeau J, Klutke C: Suppression of lysyl oxidase gene expression by methylation in pelvic organ prolapse. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2010, 21: 869–72

Kobata SA, Girao MJ, Baracat EC, Kajikawa M, Di Bella V Jr, Sartori MG, Jármy-Di Bella ZI: Estrogen therapy influence on periurethral vessels in postmenopausal incontinent women using Dopplervelocimetry analysis. *Maturitas* 2008, 61: 243–7

Kökcü A, Yanik F, Cetinkaya M, Alper T, Kandemir B, Malatyalioglu E: Histopathological evaluation of the connective tissue of the vaginal fascia and the uterine ligaments in women with and without pelvic relaxation. *Arch Gynecol Obstet* 2002, 266: 75-8

Kölbl H: Schwangerschaft, Geburt und Beckenboden. *Zentralbl Gynäkol* 2001, 123: 666-671

Kölbl H, Petri E: Evidenzbasierte Medizin in der weiblichen Stressinkontinenzchirurgie. *Geburtsh Frauenheilk* 2003, 63: 524-528

Kost C, Stüber W, Ehrlich HJ, Pannekoek H, Preissner KT: Mapping of binding sites for heparin, plasminogen activator inhibitor-1, and plasminogen to vitronectin's heparin-binding region reveals a novel vitronectin-dependent feedback mechanism for the control of plasmin formation. *J Biol Chem* 1992, 267: 12098-105

Kreis T, Vale R: *Guidebook to the extracellular matrix and adhesion proteins*. Oxford University Press, 1993

Kushner L, Mathrubutham M, Burney T, Greenwald R, Badlani G: Excretion of collagen derived peptides is increased in women with stress urinary incontinence. *Neurourol Urodyn* 2004, 23: 198–203

Kuiper N, Gabriel N, Griffiths S, Tew S: Shaping and sensing the extracellular matrix. *Int J Exp Pathol* 2008, 89: A1–A29

LaFleur DW, Fagin JA, Forrester JS, Rubin SA, Sharifi BG: Cloning and characterization of alternatively spliced isoforms of rat tenascin. Platelet-derived growth factor-BB markedly stimulates expression of spliced variants of tenascin mRNA in arterial smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1994, 269: 20757-63

Lang JH, Zhu L, Sun ZJ, Chen J: Estrogen levels and estrogen receptors in patients with stress urinary incontinence and pelvic organ prolapse. *Int J Gynaecol Obstet* 2003, 80: 35–9

Leach GE, Dmochowski RR, Appell RA, Blaivas JG, Hadley HR, Lubner KM, Mostwin JL, O'Donnell PD, Roehrborn CG: Female stress urinary incontinence clinical guidelines panel summary report on surgical management of female stress urinary incontinence. The American Urological Association. *J Urol* 1997, 158: 875–880

Lethias C, Hartmann DJ, Masméjean M, Ravazzola M, Sabbagh I, Ville G, Herbage D, Eloy R: Ultrastructural immunolocalization of elastic fibers in rat blood vessels using the protein A-gold technique. *J Histochem Cytochem* 1987, 35: 15-21

Levy BJ, Wight TN: Structural changes in the aging submucosa: new morphologic criteria for the evaluation of the unstable human bladder. *J Urol* 1990, 144: 1044-1055

Liakka KA, Autio-Harmainen HJ: Distribution of the extracellular matrix proteins tenascin, fibronectin, and vitronectin in fetal, infant, and adult human spleens. *J Histochem. Cytochem* 1992, 40: 1203–1210

Liang CC, Huang HY, Chang SD: Gene expression and immunoreactivity of elastolytic enzymes in the uterosacral ligaments from women with uterine prolapse. *Reprod Sci* 2012, 19: 354-9

Liapis A, Bakas P, Pafiti A, Frangos-Plemenos M, Arnoyannaki N, Creatsas G: Changes of collagen type III in female patients with genuine stress incontinence and pelvic floor prolapse. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001, 97: 76–79

Lin G, Ning H, Wang G, Banie L, Lue TF, Lin CS: Effects of birth trauma and estrogen on urethral elastic fibers and elastin expression. *Urology* 2010, 76:1018: 8-13

Lin SY, Tee YT, Ng SC, Chang H, Lin P, Chen GD: Changes in the extracellular matrix in the anterior vagina of women with or without prolapse. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2007, 18: 43-8

Liotta LA, Kohn EC: The microenvironment of the tumor-host interface. *Nature* 2001, 411: 375-9

Liu SN, Yang RS, al-Shaikh R, Lane JM: Collagen in tendon, ligament, and bone healing. A current review. *Clin. Orthop Relat Res* 1995, 318: 265-78

Liu X, Zhao Y, Pawlyk B, Damaser M, Li T: Failure of elastic fiber homeostasis leads to pelvic floor disorders. *Am J Pathol* 2006, 168: 519-28

Long CY, Liu CM, Hsu SC, Chen YH, Wu CH, Tsai EM: A randomized comparative study of the effects of oral and topical estrogen therapy on the lower urinary tract of hysterectomized postmenopausal women. *Fertil Steril* 2006, 85: 155-60

Lowder J, Frankman E, Ghetti C, Burrows LJ, Krohn MA, Moalli P, Zyczynski H: Lower urinary tract symptoms in women with pelvic organ prolapse. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2010; 21: 665-72

Määttä M, Virtanen I, Burgeson R, Autio-Harmainen H: Comparative analysis of the distribution of laminin chains in the basement membranes in some malignant epithelial tumors: the alpha1 chain of laminin shows a selected expression pattern in human carcinomas. *J Histochem Cytochem* 2001, 49: 711-26

MacLennan AH: The descent of woman 2000, 3: 225-226

Maher CM, Feiner B, Baessler K, Glazener CM: Surgical management of pelvic organ prolapse in women: the updated summary version Cochrane review. *Int Urogynecol J* 2011, 22: 1445-1457

Mäkinen JI, Pitkänen YA, Salmi TA, Grönroos M, Rinne R, Paakkari I: Transdermal estrogen for female stress urinary incontinence in postmenopause. *Maturitas* 1995, 22: 233-8

Man W, Ho J, Wen Y, Sokol E, Polan M, Chen B: Is lysyl oxidase-like protein-1, alpha-1 antitrypsin, and neutrophil elastase site specific in pelvic organ prolapse? *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2009, 20: 1423-9

Mangera A, Bullock AJ, Roman S, Chapple CR, Macneil S: Comparison of candidate scaffolds for tissue engineering for stress urinary incontinence and pelvic organ prolapse repair. *BJU Int* 2013, 112: 674-85

Mathrubutham M, Aybek Z, Fogarty J, Lee J, Rao SK, Badlany GH, Kushner L: Plasma Elastase Regulation in Stress Urinary Incontinence. *Neurourology Urodynamics* 1999, 18: 281-2

Mathrubutham M, Rao S: Single microassay for matrix degrading enzymes. *Front Biosci* 2001, 6: A13–6

Mauger A., Demarchez M, Herbage D, Grimaud J A, Druguet M, Hartmann DJ, Foidart JM, Sengel P: Immunofluorescent localization of collagen types I, III, IV, fibronectin and laminin during morphogenesis of scales and scaleless skin in the chick embryo. *Roux's Arch Dev Biol* 1983, 192: 205–215

Mays PK, Bishop JE, Laurent GI: Age-related changes in the proportion of types I and III collagen. *Mechanisms of Ageing and Development* 1988, 45: 203–212

Mays PK, Mc Anulty RJ, Campa JS, Laurent GJ: Age-related changes in collagen synthesis and degradation in rat tissue. Importance of degradation newly synthesized collagen in regulation of collagen production. *Biochem J* 1991, 276: 307-313

Mc Grother C, Resnick M, Yalla SV, Kirschner, Hermanns, Broseta E, Müller C, Welz-Barth A, Fischer GC, Mattelaer J, McGuire EJ: Epidemiology and etiology of urinary incontinence in the elderly. *World J Urol* 1998, 16: 3-9

McKenzie P, Rohozinski J, Badlani G: Genetic influences on stress urinary incontinence. *Current Opinion Urology* 2010, 20: 291–5

McLennan M, Harris J, Kariuki B, Meyer S: Family history as a risk factor for pelvic organ prolapse. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2008, 19: 1063–9

Meijerink AM, van Rijssel R H, van der Linden PJQ: Tissue Composition of the Vaginal Wall in Women with Pelvic Organ Prolapse 2013, *Gynecol Obstet Invest*: 75: 21–27

Merker H J, Bremer D, Barrach HJ, Gossrau R: The basement membrane of the persisting maternal blood vessels in the placenta of callithrix jacchus. *Anat Embryol* 1987, 176: 87–97

Meschia M, Pifarotti P, Bernasconi F, Magatti F, Riva D, Kocjancic E: Porcine skin collagen implants to prevent anterior vaginal wall prolapse recurrence: a multicenter, randomized study 2007, *J Urol* 177: 192–195

Meyer S, Schreyer A, De Grandi P, Hohlfeld P: The effects of birth on urinary continence mechanisms and other pelvic-floor characteristics. *Obstet Gynecol* 1998, 92: 613-8

Miedel A, Tegerstedt G, Mæhle-Schmidt M, Nyrén O, Hammarström M: Nonobstetric risk factors for symptomatic pelvic organ prolapse. *Obstet Gynecol* 2009, 113: 1089–97

Milani AL, Hinoul P, Gauld JM, Sikirica V, van Drie D, Cosson M; Prolift+M Investigators. Trocar-guided mesh repair of vaginal prolapse using partially absorbable mesh: 1 year outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 2011, 204:74.e1-8

Miller EJ, Gay S: Collagen: An overview. *Methods Enzymol* 1982, 82 A: 3–32

- Miller EJ, Gay S: The collagens: An overview and update. *Methods Enzymol* 1987, 144: 3–41
- Miller JM, Umek WH, Delancey JO, Ashton-Miller JA: Can women without visible pubococcygeal muscle in MR images still increase urethral closure pressures? *Am J Obstet Gynecol* 2004, 191: 171-5
- Milley PS, Nichols DH: A correlative investigation of the human rectovaginal septum. *Anat Rec* 1968, 163: 443-452
- Milley PS, Nichols DH: The relationship between the pubo-urethral ligaments and the urogenital diaphragm in the human female. *Anat Rec* 1970, 170: 281-284
- Miner JH, Yurchenco PD: Laminin functions in tissue morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004, 20: 255-84
- Moalli PA, Jones Ivy S, Meyn LA, Zyczynski HM: Risk factors associated with pelvic floor disorders in women undergoing surgical repair. *Obstet Gynecol* 2003, 101: 869-74
- Moalli PA, Klingensmith WL, Meyn LA, Zyczynski H. Regulation of matrix metalloproteinase expression by estrogen in fibroblasts that are derived from the pelvic floor. *Am J Obstet Gynecol* 2002, 187: 2-9
- Moalli PA, Shand SH, Zyczynski HM, Gordy SC, Meyn LA: Remodeling of vaginal connective tissue in patients with prolapsed. *Obstet Gynecol* 2005, 106: 953-63
- Modesti A, Kalebic T, Scarpa S, Togo S, Grotendorst G, Liotta LA, Triche TJ: Type V collagen in human amnion is a 12 nm fibrillar component of the pericellular interstitium. *Eur J Cell Biol.* 1984, 35: 246-55
- Mogami H, Keller P, Acevedo JF, Word RA: Differential regulation of Lysyl oxidases in uterine and cervical tissues during pregnancy, parturition, and the puerperium. *Reproductive Sciences* 2010, 17: 76A, abstract 34
- Mokrzycki M, Mittal K, Smilen S, Blechman A, Porges R, Demopolous R: Estrogen and progesterone receptors in the uterosacral ligament, *Obstet Gynecol* 1997, 90: 402–404
- v. Möllendorf W, Schröder R. *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*. Berlin: Springer; 1930: 126pp
- Moore J, Armstrong JT, Willis SH: The use of tantalum mesh in cystocele with critical report of ten cases. *Am J Obstet Gynecol* 1955, 69:1127–1135
- Moraller F, Hoehl E, Meyer R: *Atlas der normalen Histologie der weiblichen Geschlechtsorgane*. J. A. Barth, Leipzig, 1912

Nikolova G, Lee H, Berkovitz S, Nelson S, Sinsheimer J, Vilain E, Rodríguez LV: Sequence variant in the laminin gamma1 (LAMC1) gene associated with familial pelvic organ prolapse. *Hum Genet* 2007, 120: 847–56

Neurath M: Expression of tenascin, laminin and fibronectin following traumatic rupture of the anterior cruciate ligament, *Z Orthop* 1993, 131: 168–172

Norton P, Baker J, Sharp H, Warenski J: Genitourinary prolapse and joint hypermobility in women. *Obstet Gynecol* 1995, 85: 225–228

Norton P, Boyd C, Deak S: Collagen synthesis in women with genital prolapse or stress urinary incontinence, *Neurol Urodyn* 1992, 11: 300–301

Norton PA: Pelvic floor disorders: the role of fascia and ligament. *Clin Obstet Gynecol* 1993, 36: 926–938

Norton PA: Pathogenesis of stress urinary incontinence: the role of connective tissue. In: Ostergard DR, Bent AE (Eds.): *Urogynecology and urodynamics*. Williams & Wilkins, Baltimore, London, Los Angeles, 1996, 283-286

Nygaard I, Barber M, Burgio K, Kenton K, Meikle S, Schaffer J, Spino C, Whitehead WE, Wu J, Brody DJ: Pelvic Floor Disorders Network. Prevalence of symptomatic Pelvic floor disorders in US women. *JAMA* 2008, 300: 1311–6

Oakes BW, Bialkower B: Biomechanical and ultrastructural studies on the elastic wing tendon from the domestic fowl. *J Anat* 1977, 123: 369-387

O'Dell KK, Morse AN, Crawford SL, Howard A: Vaginal pressure during lifting, floor exercises, jogging, and use of hydraulic exercise machines. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2007, 18: 1481-9

Olsen AL, Smith VJ, Bergstrom JO, Colling JC, Clark AL: Epidemiology of surgically managed pelvic organ prolapse and urinary incontinence. *Obstet Gynecol* 1997, 89: 501-6

Ostergard DR: Degradation, infection and heat effects on polypropylene mesh for pelvic implantation: what was known and when it was known. *Int Urogynecol J* 2011, 22: 771-4

Oxlund H, Andreassen TT: The roles of hyaluronic acid, collagen and elastin in the mechanical properties of connective tissues. *J Anat* 1980, 131: 611-620

Petri G: Das elastisch-muskulöse System der Plica lata uteri und seine Bedeutung für den Lymphabfluss des Uterus. *Morphol Jahrb* 1942, 87: 85-115

Petros PE, Ulmsten UI: An integral theory of female urinary incontinence. Experimental and clinical considerations. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1990, 153: 7-31

Petros P, Ulmsten U: An integral theory and its method for the diagnosis and management of female urinary incontinence. *Scan J Urol Nephrol* 1993, 153: 1–93

Phillips CH, Anthony F, Benyon C, Monga AK: Collagen metabolism in the uterosacral ligaments and vaginal skin of women with uterine prolapse. *BJOG* 2006, 113: 39-46

Pierce RA, Mariani TJ, Senior RM: Elastin in lung development and disease. *Ciba Found Symp* 1995, 192: 199-212

Piez KA: Molecular and aggregate structures of the collagens. In: Piez, K. A., A. H. Reddi (Eds), *Extracellular Matrix Biochem.*, pp. 1-39. Elsevier, New York 1984

Quiroz LH, Muñoz A, Shippey SH, Gutman RE, Handa VL: Vaginal parity and pelvic organ prolapse. *J Reprod Med.* 2010, 55: 93-8

Ramanah R, Berger MB, Parratte BM, DeLancey JO: Anatomy and histology of apical support: a literature review concerning cardinal and uterosacral ligaments. *Int Urogynecol J.* 2012, 23: 1483-94

Ramanah R, Parratte B, Arbez-Gindre F, Maillet R, Riethmuller D: The uterosacral complex: ligament or neurovascular pathway? Anatomical and histological study of fetuses and adults. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2008, 19: 1565–1570

Reay Jones NH, Healy JC, King LJ, Saini S, Shousha S, Allen-Mersh TG: Pelvic connective tissue resilience decreases with vaginal delivery, menopause and uterine prolapse. *Br J Surg* 2003, 90: 466-72

Reinker G, Bloch W, Woditsch I, Schrör K, Addicks K: Strukturelle Veränderungen in der Frühphase der Atherosklerose: Untersuchungen der großen Coronararterien und des cardialen Bindegewebes. *Verh Anat Ges* 1993, 88: 178-179

Reisenauer C, Dettmeyer R, Wallwiener D: Aufklärungserfordernisse vor urogynäkologischen Operationen. *Geburtsh Frauenheilk* 2004, 64: 250-254

Retzky SS, Rogers RM Jr: Urinary incontinence in women. *Clin Symp* 1995, 47: 2-32

Robert C, Lesty C, Robert AM: Ageing of the skin: study of elastic fiber network modifications by computerized image analysis. *Gerontology* 1988, 34: 291-296

Rodrigues AM, Girão MJ, da Silva ID, Sartori MG, Martins Kde F, Castro Rde A: COL1A1 Sp1-binding site polymorphism as a risk factor for genital prolapse. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2008, 19: 1471–5

Rodrigues Júnior AJ, de Tolosa EM, de Carvalho CA.: Electron microscopic study on the elastic and elastic related fibres in the human fascia transversalis. *Gegenb Morphol Jahrb* 1990, 136: 645-52

Romanzi LJ, Chaikin DC, Blaivas JG: The effect of genital prolapse on voiding. *J Urol* 1999, 161: 581-6

Rooney K, Kenton K, Mueller ER, FitzGerald MP, Brubaker L: Advanced anterior vaginal wall prolapse is highly correlated with apical prolapse. *Am J Obstet Gynecol* 2006, 195: 1837–1840

Rosenbloom J: Elastin: biosynthesis, structure, degradation and role in disease processes. *Connect Tiss Res* 1982, 10: 73-91

Ross R: The elastic fiber – a review. *J Histochem Cytochem* 1973, 21: 199-208

Ross R, Bornstein P: Studies of the components of the elastic fiber. In: Balasz EA (Hrsg): *Chemistry and molecular biology of the intercellular Matrix*. Vol. I: Collagen, Basal Laminae, Elastin. Academic Press, London, New York, 1970, 641-655

Rud T, Andersson KE, Asmussen M, Hunting A, Ulmsten U: Factors maintaining the intraurethral pressure in women. *Invest Urol* 1980, 17: 343-7

Ruoslahti E: Fibronectin and its receptors. *Annu Rev Biochem* 1988, 57: 375–413

Ruoslahti E: Proteoglycans in cell regulations. *J Biol Chem* 1989, 264: 13369–13372

Sage H, Bornstein P: Preparation and characterization of procollagens and procollagen-collagen intermediates. *Methods Enzymol* 1982, 82: 96–127

Sage H, Crouch E, Bornstein P: Collagen synthesis by bovine aortic endothelial cells in culture. *Biochemistry* 1979, 18: 5433–5442

Salman M, Ozyuncu O, Sargon M, Kucukali T, Durukan T: Light and electron microscopic evaluation of cardinal ligaments in women with or without uterine prolapse. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2010, 21: 235–9

Sayer T, Lim J, Gauld JM, Hinoul P, Jones P, Franco N, Van Drie D, Slack M; Prosima Study Investigators: Medium-term clinical outcomes following surgical repair for vaginal prolapse with tension-free mesh and vaginal support device. *Int Urogynecol J* 2012, 23: 487-93

Schéele S, Nyström A, Durbeej M, Talts JF, Ekblom M, Ekblom P: Laminin isoforms in development and disease. *J Mol Med* 2007, 85: 825-36

Schinköthe Claudia: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum System der elastischen Fasern im Beckenbindegewebe harnkontinenter und stressinkontinenter Frauen., Halle, Univ., Med. Fak., Diss 2002

Schmidt-Matthiesen H: Lageveränderungen der Genitalorgane, Harninkontinenz, Entleerungsstörungen. In: Schmidt-Matthiesen H, Hepp H (Hrsg): *Gynäkologie und Geburtshilfe*. Schattauer, Stuttgart, New York, 1998: 409-419

Schultka R, Kirschke H, Peil J: Age-dependent changes of the collagen content of the human oviduct. *Acta Histochem* 1986, 80: 41-51

Schuppan D: Structure of the extracellular matrix in normal and fibrotic liver. *Collagens and glycoproteins*. *Semin Liver Dis* 1990, 10: 1-10

Schuppan D, Becker J, Boehm H, Hahn EG: Immunofluorescent localization of type V collagen as a fibrillar component of the interstitial connective tissue of human oral mucosa, artery and liver. *Cell Tiss Rec* 1986, 243: 535–43



Schuppan D, Besser M, Schwarting R, Hahn EG: Radioimmunoassay for the carboxyterminal cross-linking domain of type IV (basement membrane) procollagen in body fluids. Characterization and application to collagen type IV metabolism in fibrotic liver disease. *J Clin Invest* 1986, 78: 241–8

Schuppan D, Cantaluppi MC, Becker J, Veit A, Bunte T, Troyer D, Schuppan F, Schmid M, Ackermann R, Hahn AG: Undulin, an extracellular matrix glycoprotein associated with collagen fibrils. *J Biol Chem* 1990, 265: 8823–8832

Schuppan D, Hahn EG: Components of the extracellular matrix (collagens, elastin, glycoproteins and proteoglycans). In: Wolff JR, Berry M, Sievers J (eds.): *Mesenchymal–Epithelial Interactions in Neural Development*. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 1987: 3–29

Schuppan D, Riecken ED: Molecules of the extracellular matrix: Potential role of collagens and glycoproteins in intestinal adaptation. *Digestion* 1990, 46: 2-11

Schuppan D, Rühlmann T, Hahn EG: Radioimmunoassay for human type VI collagen and its application to tissue and body fluids. *Anal Biochem* 1985, 149: 238–47

Schwartz I, Seger D, Shaltiel S: Vitronectin. *Int J Biochem Cell Biol*. 1999, 31: 539-44

Scott JE: Proteoglycan-fibrillar collagen interactions. *Biochem J* 1988, 252: 313-23

Segev YAR, Feiner B, Lissak A, Lavie O, Abramov Y: Are women with pelvic organ prolapse at a higher risk of developing hernias? *Int Urogyneco. J Pelvic Floor Dysfunct* 2009, 20: 1451–3

Seiffert D: Constitutive and regulated expression of vitronectin. *Histol Histopathol* 1997, 12: 787-97

Shafik A: Levator ani muscle: new physioanatomical aspects and role in the micturition mechanism. *World J Urol* 1999, 17: 266-273

Shafik A: The role of the levator ani muscle in evacuation, sexual performance and pelvic floor disorders. *Int Urogynecol J* 2000, 11: 361-376

Shapiro SD: Matrix metalloproteinase degradation of extracellular matrix: biological consequences. *Curr Opin Cell Biol* 1998, 105:602-8

Shoulders MD, Raines RT: Collagen Structure and Stability. *Annu Rev Biochem* 2009, 78: 929-58

Shynlova O, Bortolini MA, Alarab M: Genes responsible for vaginal extracellular matrix metabolism are modulated by women's reproductive cycle and menopause. *Int Braz J Urol*. 2013, 39: 257-67

Siddique SA, Gutman RE, Schon Ybarra MA, Rojas F, Handa VL: Relationship of the uterosacral ligament to the sacral plexus and to the pudendal nerve. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2006, 17: 642–645

Siniscalchi RT, Melo M, Palma PC, Fabbro IM, de Campos Vidal B, Riccetto CL: Highly purified collagen coating enhances tissue adherence and integration properties of monofilament polypropylene meshes. *Int Urogynecol J* 2013, 4

Skala C, Hanf V, Emmons G, Viereck V: Urodynamische Funktionsdiagnostik heute. *Geburtsh Frauenheilk* 2003, 63: 1004-1009

Skala CE, Petry IB, Albrich SB, Puhl A, Naumann G, Koelbl H: The effect of hormonal status on the expression of estrogen and progesterone receptor in vaginal wall and periurethral tissue in urogynecological patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010, 153: 99-103

Skorupski P, Jankiewicz K, Miotla P, Marczak M, Kulik-Rechberger B, Rechberger T: The polymorphisms of the MMP-1 and the MMP-3 genes and the risk of pelvic organ prolapse. *Int Urogynecol J* 2013, 24: 1033-8

Skorupski P, Miotla P., Jankiewicz K und Rechberger T: MMP-1 and MMP-3 gene encoding polymorphism and the risk of the development of pelvic organ prolapse and stress urinary incontinence, *Ginekol Pol* 2010, 81: 594-9

Slavkin HC: Extracellular matrix influences on gene expression. *J Craniofac Genet Dev Biol* 1982, 2: 97-8

Smith P: Estrogens and the urogenital tract. *Acta Obstet Gynecol Scand* 72,1993: 1-26

Smith P, Heimer G, Norgren A, Ulmsten U: The round ligament: a target organ for steroid hormones. *Gynecol Endocrinol* 1993, 7: 97-100

Smith FJ, Holman CD, Moorin RE, Tsokos N. Lifetime risk of undergoing surgery for pelvic organ prolapse. *Obstet Gynecol* 2010, 116:1096-100

Smith AR, Hosker G L, Warrell DW: The role of partial denervation of the pelvic floor in the aetiology of genitourinary prolapse and stress incontinence of urine. A neurophysiological study, *Br J Obstet Gynecol*, 1989, 96: 24–28

Sodek J: A comparison of the rates of synthesis and turnover of collagen and non collagen proteins in adult rat periodontal tissues and skin using a microassay. *Arch Oral Biol* 1977, 22: 655–665

Song Y, Hong X, Yu Y, Lin Y: Changes of collagen type III and decorin in paraurethral connective tissue from women with stress urinary incontinence and prolapse. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2007, 18: 1459–63

Söderberg MW, Bystrom B, Hammarstrom M, Malmstrom A, Ekman-Ordeberg G: Decreased gene expression of fibrillin-1 in stress urinary incontinence. *Neurourol Urodyn* 2010, 29: 476–81

Söderberg M, Byström B, Kalamajski S, Malmström A, Ekman-Ordeberg G: Gene expressions of small leucine-rich repeat proteoglycans and fibulin-5 are decreased in pelvic organ prolapse. *Mol Hum Reprod* 2009, 15: 251–7

Söderberg MW, Falconer C, Byström B, Malmström A, Ekamann G: Young women with genital prolapse have a low collagen concentration. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004, 83: 1193-8

Stadler R, Orfanos CE: Reifung und Alterung der elastischen Fasern. *Arch Derm Res* 1978, 262: 97-111

Stallmach A, Schuppan D, Dax J, Hanski C, Riecken EO. Identification of laminin binding proteins in cell membranes of a human colon adenocarcinoma cell line. *Gut* 1990, 31: 70–6

Starcher BC: Elastin and the lung. *Thorax* 1986, 41: 577-585

Staubesand J: Intracellular collagen in smooth muscle: The fine structure of the artificially occluded rat artery in ureter, and of human varicose and arteriosclerotic vessels. *Beitr Path* 1977, 161: 187–193

Stenman S, Vaheiri A: Distribution of a major connective tissue protein, fibronectin, in normal human tissues. *J Exp Med* 1978, 147: 1054-64

Strinic T, Marko V, Tomic S, Capkun V, Stipid I, Alujevic I: Increased expression of matrix metalloproteinases-1 in uterosacral ligaments from women with pelvic organ prolapse. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2010; 89: 832-4

Subak LL, Marinilli Pinto A, Wing RR, Nakagawa S, Kusek JW, Herman WH, Kuppermann M: Program to Reduce Incontinence by Diet and Exercise. Decrease in urinary incontinence management costs in women enrolled in a clinical trial of weight loss to treat urinary incontinence. *Obstet Gynecol* 2012; 120: 277-83

Subak LL, Waetjen LE, van den Eeden S, Thom DH, Vittinghoff E, Brown JS: Cost of pelvic organ prolapse surgery in the United States. *Obstet Gynecol* 2001; 98: 646-51

Summers A, Winkel LA, Hussain HK, DeLancey JO: The relationship between anterior and apical compartment support. *Am J Obstet Gynecol* 2006, 194: 1438–1443

Sustersic O, Kralj B: The influence of obesity, constitution and physical work on the phenomenon of urinary incontinence in women. *Int Urogynecol J* 1998, 9: 140-144

Suzme R, Yalcin O, Gurdol F, Gungor F, Bilir A. Connective tissue alterations in women with pelvic organ prolapse and urinary incontinence. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2007, 86: 882–888

Suzuki S, Pierschbacher MD, Hayman EG, Nguyen K, Öhgren Y, Ruoslahti E: Domain structure of vitronectin. *J Biol Chem* 1984, 259: 15307–15314

Swift SE, Tate SB, Nicholas J. Correlation of symptoms with degree of pelvic organ support in a general population of women: what is pelvic organ prolapse? *Am J Obstet Gynecol* 2003, 189: 372-379

Thüroff JW, Chartier-Kastler E, Corcus J, Humke J, Jonas U, Palmtag H, Tanagho EA: WHO Konsensus Konferenz: Harninkontinenz im Alter Urologe (B) 1998, 38: 23-36

Timpl R: Structure and biological activity of basement membrane proteins. *Eur J Biochem* 1989, 180: 487–502

Timpl R, Rohde H, Robey PG, Rennard SI, Foidart JM, Martin GR: Laminin - a glycoprotein from basement membranes. *J Biol Chem* 1979, 254: 9933–9937

Timpl R, Wiedemann H, Delden VV, Furthmayr H, Kuhn K: A network model for the organization of type IV collagen molecules in basement membranes. *Eur J Biochem* 1981, 120: 203–211

Tinelli A, Malvasi A, Rahimi S, Negro R, Vergara D, Martignago R, Pellegrino M, Cavallotti C: Age-related pelvic floor modifications and prolapse risk factors in postmenopausal women. *Menopause* 2010, 17: 204-12

Tomaszewski J, Adamiak-Godlewska A, Bogusiewicz M, Brzana W, Juszcak M, Rzeski W, Rechberger T: Collagen type III biosynthesis by cultured pubocervical fascia fibroblasts surrounding mono and multifilament polypropylene mesh after estrogens and tamoxifen treatment. *Ginekol Pol* 2010, 81: 493-500

Townsend MK, Curhan GC, Resnick NM, Grodstein F: Oral contraceptive use and incident urinary incontinence in premenopausal women. *J Urol* 2009, 181: 2170–5

Townsend MK, Curhan GC, Resnick NM, Grodstein F: Postmenopausal hormone therapy and incident urinary incontinence in middle-aged women. *Am J Obstet Gynecol* 2009, 200: 86 e1–5

Trabucco E, Söderberg M, Cobellis L, Torella M, Bystrom B, Ekman-Ordeberg G, Petraglia F, Colacurci N: Role of proteoglycans in the organization of periurethral connective tissue in women with stress urinary incontinence. *Maturitas* 2007, 58: 395-405

Trueb B, Schreier T, Bruckner P, Winterhalter KH: Type VI collagen represents a major fraction of connective tissue collagens. *Eur J Biochem* 1987, 166: 699–703

Tucker RP, Chiquet-Ehrismann R: The regulation of tenascin expression by tissue microenvironments. *Biochim Biophys Acta* 2009, 1793: 888-92

Uitto J, Fazio M, Bashir M, Rosenbloom J: Elastic fibres of the connective tissue. In: Goldsmith L, editor. *Physiology, biology of the skin*. New York: Oxford University Press 1999, 533-57

Uldbjerg N., Ekman G., Malenström A, Olssen K, Ulmsten U. Ripening of the human uterine cervix related to changes in collagen, glycosaminoglycans and collagenolytic activity. *Am J Obstet Gynecol* 1983, 147: 662-666

Ulmsten U, Eckman G, Gierts G, Malmström A: Different biochemical composition of connective tissue in continent and stress incontinent women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1987, 66: 455–457

Ulmsten U, Falconer C: Connective tissue in female urinary incontinence, *Curr Opin Obstet Gynecol* 1999, 11: 509–515

Ulmsten U, Henriksson L, Johnson P, Varhos G: An ambulatory surgical procedure under local anesthesia for treatment of female urinary incontinence. *Int Urogynecol J* 1996, 7: 81–6

Umek WH, Morgan DM, Ashton-Miller JA, DeLancey JO: Quantitative analysis of uterosacral ligament origin and insertion points by magnetic resonance imaging. *Obstet Gynecol* 2004, 103: 447–451

Urry DW, Luan CH, Peng SQ: Molecular biophysics of elastin structure, function and pathology. *Ciba Found Symp* 1995, 192: 4-22

Van Obberghen-Schilling E, Tucker RP, Saupe F, Gasser I, Cseh B, Orend G: Fibronectin and tenascin-C: accomplices in vascular morphogenesis during development and tumor growth. *Int J Dev Biol* 2011, 55: 511-25

Varner JA, Cheresh DA: Integrins and cancer *Curr Opin Cell Biol* 1996: 724-30

Vassilev V, Pretto CM, Cornet PB, Delvaux D, Eeckhout Y, Courtoy PJ, Marbaix E, Henriët P: Response of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases messenger ribonucleic acids to ovarian steroids in human endometrial explants mimics their gene- and phase-specific differential control in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 5848-57

Veit G, Kobbe B, Keene DR, Paulsson M, Koch M, Wagener R: Collagen XXVIII, a novel von Willebrand factor A domain-containing protein with many imperfections in the collagenous domain. *J Biol Chem* 2006, 281: 3494-504

Verelst M, Maltau JM, Orbo A: Computerised morphometric study of the paraurethral tissue in young and elderly women. *Neurourol Urodyn* 2002, 21: 529-33

Viereck V, Rappe N, Krauß T, Heyl W, Emons G: Urogenitales Altern. *Reproduktionsmedizin* 2000, 16: 90-102

Vitellaro-Zuccarello L, Cappelletti S, Dal Pozzo Rossi V, Sari-Gorla M: Stereological analysis of collagen and elastic fibers in the normal human dermis: variability with age, sex, and body region. *Anat Rec* 1994, 238: 153-164

Vollebregt A, Fischer K, Gietelink D, van der Vaart CH: Primary surgical repair of anterior vaginal prolapse: a randomised trial comparing anatomical and functional outcome between anterior colporrhaphy and trocar-guided transobturator anterior mesh. *BJOG* 2011, 118: 1518–1527

von der Mark H, Aumailley M, Wick G, Fleischmajer R, Timpl R: Immunocytochemistry, genuine size and tissue localization of collagen VI. *Eur J Biochem* 1984, 142: 493-502

- Vu D, Haylen BT, Tse K, Farnsworth A: Surgical anatomy of the uterosacral ligament. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2010, 21: 1123–1128
- Wallner K, Li C, Shah PK, Fishbein MC, Forrester JS, Kaul S, Sharifi BG: Tenascin-C is expressed in macrophage-rich human coronary atherosclerotic plaque. *Circulation* 1999, 99: 1284-9
- Wang L, Han LY, Li HL: Etiological study of pelvic organ prolapse and stress urinary incontinence with collagen status and metabolism. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2013, 93: 500-3
- Ward KL, Hilton P; UK and Ireland TVT Trial Group. Tension-free vaginal tape versus colposuspension for primary urodynamic stress incontinence: 5-year follow up. *BJOG* 2008, 115: 226-33
- Weber AM, Abrams P, Brubaker L, Cundiff G, Davis G, Dmochowski RR, Fischer J, Hull T, Nygaard I, Weidner AC: The standardization of terminology for researchers in female pelvic floor disorders. *Int Urogynecol J* 2001, 12: 178-186
- Wen Y, Zhao YY, Polan ML, Chen B: Effect of relaxin on TGF-beta1 expression in cultured vaginal fibroblasts from women with stress urinary incontinence. *Reprod Sci* 2008, 15: 312-320
- Wieslander CK, Roshanravan SM, Wai CY, Schaffer JI, Corton MM: Uterosacral ligament suspension sutures: anatomic relationships in unembalmed female cadavers. *Am J Obstet Gynecol* 2007, 197: 672.e1–672
- Wilson PD, Dixon JS, Brown ADG, Gosling JA: Posterior pubo-urethral ligaments in normal and genuine stress incontinent women. *J Urol* 1983, 130: 802-805
- Wiskind AK, Creighton SM, Stanton SL: The incidence of genital prolapse after the Burch colposuspension. *Am J Obstet Gynecol* 1992, 167: 399–404
- Woessner JF: Age-related changes of the human uterus and its connective tissue framework. *J Gerontol* 1963, 18: 220–226
- Xie Z, Shi H, Zhou C, Dong M, Hong L, Jin H: Alterations of estrogen receptor-alpha and -beta in the anterior vaginal wall of women with urinary incontinence. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007, 134: 254–8
- Yamamoto K, Yamamoto M, Akazawa K, Tajima S, Wakimoto H, Aoyagi M: Decrease in elastin gene expression and protein synthesis in fibroblasts derived from cardinal ligaments of patients with prolapsus uteri, *Cell Biol Int* 1997, 21: 605–611
- Yamamoto M, Akazawa K, Aoyagi M, Yamamoto K: Changes in biological characteristics during the cellular aging of ligament fibroblasts derived from patients with prolapsus uteri, *Mech Ageing Dev* 2000, 115: 175–187
- Yucel N, Usta A, Guzin K, Kanter M, Bilgic E, Ozel NO, Ozgul M: Immunohistochemical analysis of connective tissue in patients with pelvic organ prolapse. *J Mol Histol* 2013, 44: 97-102

Zacharin RF: The suspensory mechanism of the female urethra. *J Anat* 1963, 97: 423-427

Zhang X, Schuppan D, Becker J, Reichert P, Gelderblom HR: Distribution of undulin, tenascin, and fibronectin in the human periodontal ligament and cementum: Comparative immunoelectron microscopy with ultrathin cryosection. *J Histochem Cytochem* 1993, 41: 245–51

Zhao BH, Zhou JH: Decreased expression of elastin, fibulin-5 and lysyl oxidase-like 1 in the uterosacral ligaments of postmenopausal women with pelvic organ prolapsed. *J Obstet Gynaecol Res* 2012, 38: 925-31

Zong W, Jallah ZC, Stein SE, Abramowitch SD, Moalli PA: Repetitive mechanical stretch increases extracellular collagenase activity in vaginal fibroblasts, *Female Pelvic Med Reconstr Surg* 2010, 16: 257-262

Zong W, Stein SE, Starcher B, Meyn LA, Moalli PA: Alteration of vaginal elastin metabolism in women with pelvic organ prolapse. *Obstet Gynecol* 2010, 115: 953-61

Zyczynski HM, Carey MP, Smith AR, Gauld JM, Robinson D, Sikirica V, Reisenauer C, Slack M: Prosima Study Investigators. One-year clinical outcomes after prolapse surgery with nonanchored mesh and vaginal support device. *Am J Obstet Gynecol.* 2010, 203: 587.e1-8

## 11 CURRICULUM VITAE

Name: Göpel, Christian

Geburtsdatum: 22. Oktober 1968

Geburtsort: Halle/Saale

Staatsangehörigkeit: BRD

Familienstand: verheiratet mit Veronika Göpel geb. Pajor

Kinder: Leonard Göpel, geb. 27.10.2002  
Oliver Göpel, geb. 18.12.2004

Adresse: Schleiermacherstraße12,  
06114 Halle/Saale,

Nov 1989 bis 1995 Medizinstudium

Juni 1994 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung /  
Staatsexamen

von Okt. 1994 Praktisches Jahr im St. Elisabeth-  
bis Sept. 1995 Krankenhaus auf den Gebieten Chirurgie  
und Innere Medizin und in der  
Universitätsfrauenklinik Halle im Fach  
Gynäkologie

30. Sept. 1995 Hochschulabschluß in der Grund-  
studienrichtung Medizin



## Wissenschaftlicher Werdegang

01. Okt. 1995 Teilapprobation
03. Nov. 1995 Verteidigung meiner Dissertation an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
- Okt. 1995 – März 1997 Arzt im Praktikum an der Klinik und Poliklinik für Gynäkologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg auf der operativen und onkologischen Station
21. Februar 1996 Verleihung des akademischen Grades doctor medicinae (Dr. med.) und Übergabe der Promotionsurkunde mit dem Prädikat "summa cum laude"  
Überreichung der Luther-Medaille durch den Rektor der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
01. April 1997 Approbation als Arzt  
Assistenzarzt an der Klinik und Poliklinik für Gynäkologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
1. April 1998 bis 31. Dezember 1999 Stationsarzt der Operativen Station 1 (Allgemeine Gynäkologie und Urogynäkologie) der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
Wissenschaftliche Arbeiten im Labor der Frauenklinik zum Thema Bindegewebsveränderungen bei Mamma- und Vulvatumoren sowie Publikationen
1. Januar bis 31. Dezember 2000 Geburtshilfliche Ausbildung in der Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von 01. 01. 2001 bis 30.4.2002	Stationsarzt der Operativen Station 1 (Allgemeine Gynäkologie und Urogynäkologie) der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Durchführung urogynäkologischer operativer Eingriffe und der urogynäkologischen Sprechstunde unter Anleitung von Herrn Professor Dr. H. Kölbl
22.04. 2002	Facharztprüfung
01.05.2002	Ernennung zum Oberarzt und Leiter des Bereichs Urogynäkologie und Beckenbodenchirurgie
seit 2003	OP-Workshops mit Live-Operationen, Zahlreiche Vorträge und Publikationen, Teilnahme am Vorlesungsbetrieb, Übernahme von jeweils drei Hauptvorlesungen im 6. und 9. Semesters, Aufbau einer wissenschaftlichen Arbeitsgruppe mit dem Schwerpunkt der Bindegewebsforschung bei Beckenbodeninsuffizienz und entsprechende Publikationen
seit 2005	Entwicklung neuer OP-Methoden in der Beckenbodenchirurgie mit Fa. Mentor-Porges; Op-Workshops mit Fa. Ethicon sowie "Flying doctor" in Deutschland, Österreich, Griechenland und Ungarn
seit 2006	Reviewer für die Fachzeitschriften: International Urogynecological Journal, American Journal of Obstetrics and Gynecology, American Journal of Urology und Human Reproduktion, Zertifikat als Beratungsstelle der Deutschen Kontinenz Gesellschaft

seit 2007

monatliche urogynäkologisch-operative Workshops, Zertifikat AGUB III der Arbeitsgemeinschaft für Urogynäkologie und plastische Beckenbodenrekonstruktion, Publikationen innovativer OP-Techniken sowie aus dem klinischen Schwerpunkt Beckenbodenchirurgie

ab 2012

Moderation nationaler und internationaler urogynäkologischer Veranstaltungen mit Live-Operationen

## **12 EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Habilitationsleistung selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Quellen angefertigt habe.

Gleichzeitig erkläre ich, dass an keiner anderen Fakultät oder Universität ein Habilitationsverfahren anhängig ist bzw. jemals anhängig gewesen ist.

Halle/S., 30. September 2013

Dr. med. Christian Göpel

### **13 DANKSAGUNG**

Mein herzlichster Dank gilt Herrn Institutsdirektor Professor Dr. habil. Christoph Thomssen, der mich seit 2003 an der Klinik für Gynäkologie großzügig unterstützt und mir stets mit vollem Vertrauen zur Seite gestanden hat. Sehr wichtig war für mich die Freiheit, die er mir für die Entwicklung meiner Ideen und Projekte eingeräumt hat, verbunden mit dem Vertrauen in mein fachliches Können, das er in mich gesetzt hat, um die Arbeitsgruppe Urogynäkologie weiter aufzubauen.

Ein wesentlicher Initiator für viele der vorliegenden und aktuellen Arbeiten ist Professor Dr. Rüdiger Schultka. Die langjährige intensive Kooperation mit den Mitarbeitern seines Institutes und die Zeit als Gastwissenschaftler in seinem Labor (Institut für Anatomie) haben zu einer Reihe von erfolgreichen Publikationen geführt. Sein Ehrgeiz und Enthusiasmus waren und sind ein großer Ansporn für mein eigenes wissenschaftliches Schaffen.

Wichtig für die Etablierung der Arbeitsgruppe war die Förderung durch Professor Dr. Hans Dietrich Methfessel und vor allem Professor Dr. Heinz Kölbl. Zu den Ergebnissen dieser Arbeit hat ebenso Professor Dr. Jürgen Dittmer beigetragen. Allen Koautoren und anderweitig an den Arbeiten beteiligten Kollegen ein herzliches Dankeschön. Nicht möglich wären die experimentellen Ergebnisse ohne die hervorragenden Probenpräparationsleistungen der medizinisch-technischen Assistenten der Klinik für Anatomie, insbesondere von Frau Ute Beyer, gewesen.

Darüber hinaus danke ich allen Kolleginnen und Kollegen meiner Klinik für das Verständnis der mitunter recht unkonventionellen und zeitaufwendigen Arbeitsweise der urogynäkologischen Arbeitsgruppe und die Unterstützung unserer Arbeit in vielfältiger Weise.

Meinem Vater Wolfgang Göpel danke ich, dass er immer an mich geglaubt hat. Meiner Frau Veronika Göpel und meinen Söhnen Leonard und Oliver danke ich für die stete Kompromissbereitschaft und besonders dafür, mir immer wieder zu zeigen, dass es neben der Arbeit noch weitere wichtige Dinge im Leben gibt.

## 14 Thesen

1. Die immunhistochemischen Analysen der extracellulären Matrix sind Gegenstand zahlreicher Publikationen. Literaturergebnisse belegen ihre Bedeutung für Stabilität, Wachstums- und Reparaturvorgänge im menschlichen Organismus. Das Bindegewebe des Beckenbodens war bislang selten Gegenstand von systematischen Untersuchungen.
2. Der extracellulären Matrix wird eine wichtige Rolle bei der Entwicklung eines Prolaps bzw. einer weiblichen Belastungsinkontinenz zugeschrieben.
3. Eine Voraussetzung für Untersuchungen am Bindegewebe des weiblichen Beckenbodens ist die immunhistochemische und elektronenmikroskopische Visualisierung von Matrixproteinen. Dies betrifft u. a. die Kollagentypen I, III, IV, V, und VI, Elastin sowie die Glykoproteine Fibronectin, Laminin, Tenascin und Vitronectin.
4. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die einzelnen Bindegewebsproteine hinsichtlich ihrer Veränderungen bei Patientinnen mit und ohne Prolaps bzw. mit und ohne Inkontinenz zu vergleichen.
5. Im Bindegewebe des weiblichen Beckenbodens lassen sich die Kollagentypen I, III, IV, V, VI und die Glykoproteine Fibronectin, Laminin, Tenascin und Vitronectin sowie Elastin darstellen.
6. Im Ligamentum sakrouterinum bei Patientinnen mit Prolaps uteri nimmt Kollagentyp I und III und insbesondere Kollagentyp VI bei Patientinnen mit Prolaps uteri deutlich ab.
7. Im Gegensatz dazu ist Tenascin vermehrt im Ligamentum sakrouterinum nachweisbar bei Frauen mit Prolaps. Dies kann einerseits Ausdruck für Bindegewebsveränderungen durch den Prolaps sein. Andererseits können Geburten, Voroperationen oder stattgehabte Entzündungen für das verstärkte Auftreten dieses Markers für Zellmigration und Wachstums in Betracht kommen.
8. Signifikant ist bei Frauen mit Prolaps eine Abnahme vitronectinpositiver Fasern sowie eine Verringerung des Elastins.
9. Bei den untersuchten Kollagentypen IV und V sowie bei der Tinktion der Glykoproteine Fibronectin und Laminin zeigen sich keine Unterschiede beider Patientengruppen.

10. Bei Untersuchungen der Wand der Arteria uterina sind ähnliche Veränderungen wie im Ligamentum sakrouterinum zu erkennen.
11. Kollagen sowie Vitronektin und Elastin sind auffällig schwächer positiv bei Frauen mit Prolaps in der Arteria uterina. Dagegen nimmt der Tenascinanteil hauptsächlich in der Tunica media deutlich zu.
12. Dies lässt den Schluss zu, dass diese veränderte Zusammensetzung der Matrix auch Folge und nicht nur Ursache des Prolaps sein kann.
13. Bei Patientinnen mit Inkontinenz lassen sich periurethral beeindruckende Veränderungen beim Nachweis von Kollagen und Glykoproteinen sowie Elastin dokumentieren.
14. Es ist eine Abnahme von Kollagen, insbesondere Kollagentyp VI, im periurethralen Bindegewebe bei Patientinnen mit Inkontinenz zu beobachten.
15. Das Glykoprotein Vitronektin lässt sich bei Inkontinenz periurethral ebenso kaum noch darstellen.
16. Es werden elektronenmikroskopisch zerstörte elastische Fasern periurethral visualisiert bei Patientinnen mit Inkontinenz und hypotoner Urethra. Dies unterstreicht die Bedeutung intakter Bindegewebsfasern für den Urethraverschlussdruck.
17. Die vorliegenden immunhistochemischen und elektronenmikroskopischen Befunde stützen die Auffassung, dass Bindegewebsveränderungen im Beckenboden der Frau mitverantwortlich für die Entstehung eines Prolaps bzw. einer Inkontinenz sind. Für das System der Grundregulation dürfte dieses veränderte Reaktionsverhalten der Matrixproteine von funktioneller Bedeutung sein.
18. Die Beeinflussung der Veränderungen im Fasersystem begründen möglicherweise neue Therapiekonzepte. Mit dem Einsatz von Stammzellen könnte z.B. der in unseren Untersuchungen nachgewiesene Verlust kollagener und elastischer Fasern durch eine erhöhte Matrixproteinproduktion ausgeglichen werden.