

Modulation and adaption in the normal and obstructed urinary bladder : a morphological and functional assessment

Citation for published version (APA):

de Jongh, R. (2009). Modulation and adaption in the normal and obstructed urinary bladder : a morphological and functional assessment. Maastricht: Maastricht University.

Document status and date:

Published: 01/01/2009

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

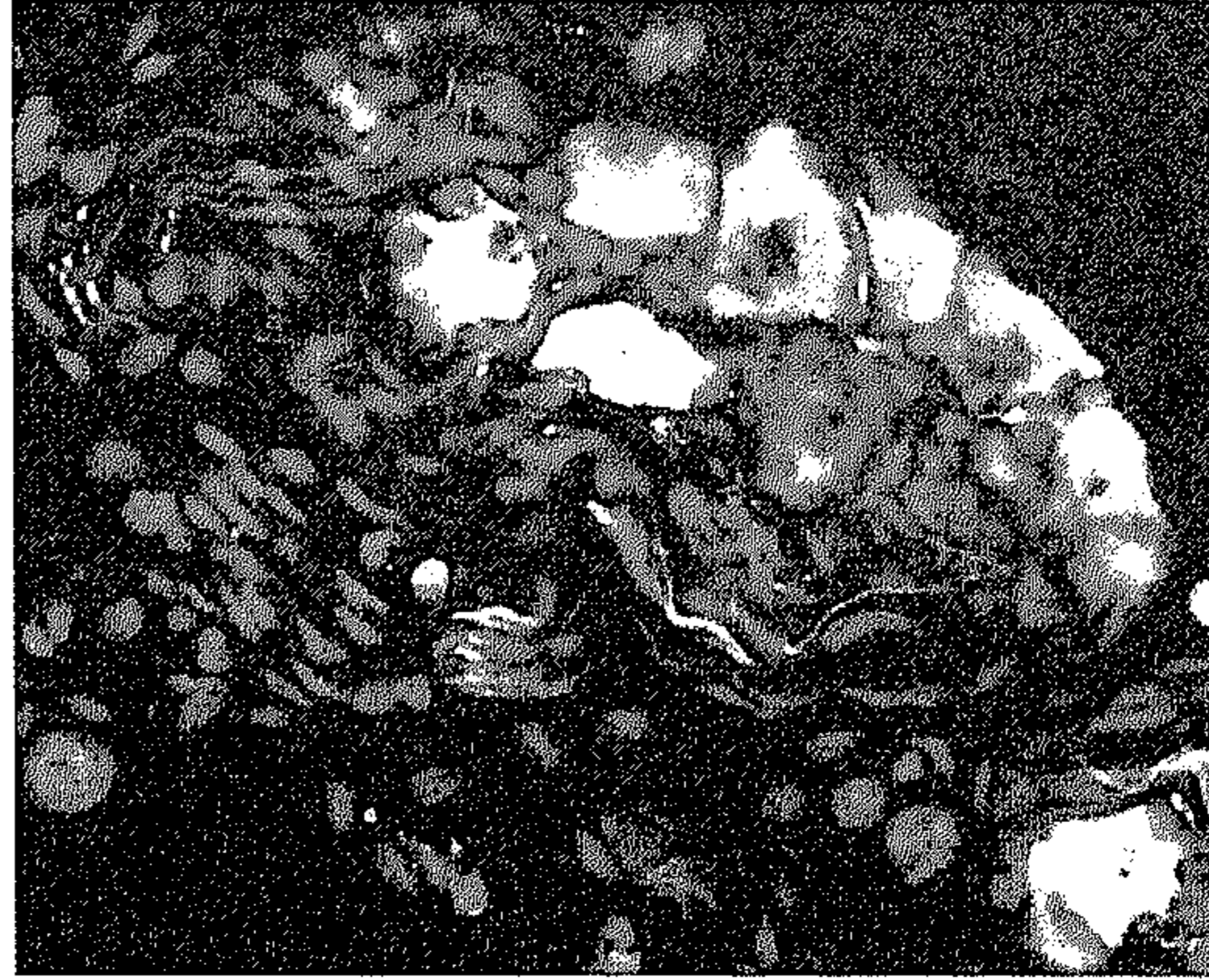
www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.



Summary / Samenvatting

Summary

Patients with an *Overactive Bladder* (OAB) syndrome have symptoms including urinary urgency with or without urgency incontinence, urinary frequency, and nocturia. The overall prevalence of the OAB syndrome is about 16% and the total economic costs are high. Although the OAB syndrome is not life threatening it seriously affects the quality of life and the ability to work. The symptoms of an overactive bladder can be caused by disorders in the brain, in the spinal cord, in peripheral nerves and in the bladder. This dissertation focuses on abnormalities of the bladder and the bladder neck possibly contributing to the OAB syndrome. These bladder disorders are related to an increased afferent activity.

In **Chapter 1**, an introduction is given on the different anatomical components involved in the storage and micturition phase of the lower urinary tract. Pathological conditions of these anatomical components (e.g. brain, central nervous system, peripheral nerves and the bladder) can result in an overactive bladder. An overview of the OAB syndrome is given and the main theories concerning the pathophysiology of this condition are mentioned. The autonomous bladder theory is discussed in more detail. The idea is that autonomous activity is a central part of a motor and sensory system operating within the bladder wall. The localised contractions in the bladder wall stimulate afferent nerves which likely contribute to bladder sensations. Patients with a bladder inflammation or a bladder outlet obstruction can develop symptoms of an overactive bladder. Our hypothesis is that an increased autonomous activity plays a role in the occurrence of OAB symptoms. In order to test this hypothesis we used pathological bladder conditions, such as a bladder outlet obstruction (BOO) and increased levels of prostaglandins in the bladder. This dissertation describes the autonomous bladder activity in both pathological bladder conditions. Since basic research in humans raise moral and ethical dilemmas we used animal models.

In **Chapter 2** we present, the effect of different prostaglandins on the autonomous activity of isolated whole guinea pig bladders. The prostaglandins PGE₁, PGE₂ induced an increase in basal pressure of the bladder. In addition, these prostaglandins increased the amplitude and frequency of the autonomous activity. The prostaglandin mediated responses were blocked by a prostanoid receptor antagonist, reflecting a prostanoid receptor induced effect. Prostaglandin synthesis has been associated with the urothelium and the smooth muscle, however, the precise synthesising cell types are not known. By using an antibody to cyclo-oxygenase type I (COX I) we showed for the first time that COX I immunoreactivity (COX I-IR) was located in cells in the basal and intermediate urothelium, in the lamina propria and in cells on the surface of the inner muscle bundles. Cyclo-oxygenase type II immunoreactivity (COX II-IR) was associated with the nuclei of cells in the urothelium, lamina propria and muscle.

The origin of the autonomous activity and how this is modulated by prostaglandins have not been elucidated yet. It has been suggested that autonomous activity is generated and distributed by a network of specialised cells in the bladder

wall: interstitial cells. Therefore, in **Chapter 3** the relationship between COX I-IR cells and networks of interstitial cells was described by using different immunohistochemical markers for interstitial cells such as vimentin and cGMP. Basically, two types of COX I-IR cells were identified in the lamina propria: complex vimentin-positive/COX I-IR cells and vimentin-negative/COX I-IR cells. On the surface of the inner muscle layer vimentin-negative/COX I-IR cells were present. The vimentin-negative/COX I-IR cells appear to be in close apposition to a continuous network of vimentin-positive cells, also indicated as interstitial cells, which extend from the lamina propria into the inner muscle layers. This interstitial cell network appears to extend into the outer muscle layers. The interstitial cells in the outer muscle layer seem to form a distinctly different sub-type compared to the interstitial cells in the inner muscle layer. Firstly, the interstitial cells in the outer muscle region differ from those in the inner muscle layer by their responsiveness to NO with a rise in cGMP. Secondly, in contrast to the inner muscle layer, COX I-IR cells were rarely associated with the interstitial cells in the outer muscle layers. The physiological significance of the apparent differences in the interstitial cell network is not clear.

As mentioned before, patients with a bladder outlet obstruction frequently develop symptoms of an overactive bladder. In **Chapter 4**, the effect of bladder neck damage and or outlet obstruction on the autonomous activity was discussed. A validated guinea pig model for BOO was used. Initially 3 groups were distinguished: control, sham operated and obstructed guinea pig bladders. The bladder weight in all operated groups, including the sham, were greater than controls. The amplitude of the autonomous activity in operated bladders was significantly greater than in control bladders. The sham operated bladders had the largest transients per gram of bladder tissue. The changes in the sham group suggest that the pathological changes are the result of damage to the bladder neck and not the result of obstruction. Cholinergic stimulation increased the frequency and amplitude of the autonomous activity in control bladders. The mechanism controlling the frequency of the autonomous activity, the pacemaker, becomes progressively supersensitive to muscarinic agonists in sham operated and obstructed bladders. In addition, the distribution network, responsible for the amplitude of autonomous contractions, is increased in operated bladders. These changes in autonomous activity in operated bladders might contribute to the decreased threshold for voiding seen in patients with a bladder outlet obstruction. Furthermore, the cholinergic component of the modified autonomous activity in operated bladders might be the site of therapeutic action of anticholinergic drugs. Since interstitial cells are thought to be responsible for the generation and modulation of autonomous activity, the effects of a BOO on the network of interstitial cells was described in **Chapter 5**. Interstitial cells in the human and guinea pig bladder can be identified by their ability to show a rise in cGMP in response to nitric oxide donors. Different sub-types of cGMP⁺ interstitial cells, based on the location of the cells in the tissue, have been identified: interstitial cells lying in the sub-urothelial layer and in the outer muscle layer. Besides interstitial cells, cGMP staining in normal bladders also identifies other cell structures such as

umbrella cells in the urothelium and some nerves. **Chapter 5**, presents cGMP staining in sham operated and obstructed guinea pig bladders. There were several differences detected between sham operated and obstructed bladders. For example, the sub-urothelial interstitial cell layer was increased in obstructed bladders compared to the sham group. In addition a more developed cGMP⁺ interstitial cells network penetrating and surrounding the muscle bundles occurred in obstructed bladders. Finally, the number of interstitial cells forming the serosal layer was increased in obstructed bladders compared to the sham operated bladders. Besides the interstitial cell network also other bladder wall components were modified in obstructed bladders. For instance, the urothelium is clearly modified in obstructed bladders: the number of cGMP⁺ umbrella cells and the intensity of staining was reduced compared to the sham group. The intermediate layer of the urothelium was modified and consisted of multiple cell layers in obstructed bladders. As in sham operated bladders, nerves were readily found in the lamina propria, however, they were rarely associated with the urothelium. The altered structure of the urothelium in obstructed bladders reflects a modified function. Alteration to the urothelial structure may imply changes in the ability of the urothelium to synthesize substances such as prostaglandins, nitric oxide, ATP and acetylcholine. This may modify the influence of the urothelium on sub-urothelial afferent nerve discharge and may subsequently result in altered bladder sensations.

Patients with a bladder outlet obstruction can develop besides the previous mentioned overactive bladder symptoms, also obstructive symptoms such as a slow urinary stream, hesitancy, intermittence, terminal dribble and eventually urinary retention. The obstructive symptoms are partly related to the contractile dysfunction of the bladder muscle. There is increasing evidence that reactive nitrogen and oxygen species (RNOS) play a role in the functional and structural bladder muscle damage related to a BOO. Decompensated obstructed bladders are associated with ischemia-reperfusion and inflammation in the bladder wall. Ischemia-reperfusion and inflammation are known to induce the production of RNOS. The human body has its own endogenous protection against RNOS consisting of antioxidant enzymes and various antioxidants. In situations such as ischemia-reperfusion and inflammation, free radicals may overwhelm the antioxidant defense system; a situation denoted as oxidative stress. Oxidative stress is regarded as noxious because RNOS are able to destroy virtually any molecule, including proteins, DNA and lipids. Nerves and muscle are especially susceptible to oxidative stress induced damage. In **Chapter 6** the effect of BOO on the endogenous antioxidant status of the bladder in guinea pigs was presented and correlated to changes in bladder structure and function. We found that the total antioxidant capacity, the glutathione and glutathione reductase levels were significantly decreased in obstructed bladders. Furthermore, the amplitude of the electrical field stimulation evoked responses, which are based on neurogenic stimulation, were significantly reduced in obstructed bladders compared to the sham operated group. In addition, the nerve density of the muscle layer was significantly

reduced in the obstructed bladder tissue compared to the sham group. Thus, there seems to be a denervation in obstructed bladders. Since the myogenic response of obstructed bladders did not decrease these bladders seem to be in a compensated stage. In conclusion, our results demonstrated that the antioxidant status of the guinea pig bladder exposed to outlet obstruction decreased. The reduction in nerve density might be caused by oxidative damage. If oxidative stress plays a significant role in the tissue injury of obstructed bladders then direct application of free radicals to bladder tissue over a relevant period of time, at concentrations within the range found *in vivo*, could reproduce some of the tissue injury observed in obstructed bladders. Therefore **Chapter 7** describes the effects of oxidative stress on muscle contractility of pig urinary bladder. Oxidative stress was mimicked by cumene hydroperoxide (CHP), a lipophilic hydroperoxide. Muscle strips from pig urinary bladder were mounted in organ baths and contractile responses to various stimulation pathways were monitored before and after the addition of CHP. The results of our study demonstrated that oxidative stress severely damaged the muscarinic receptor signaling system. L-type calcium channels and or the contractile system were less affected and cholinergic nerves remained largely unaffected. Oxidative damage to lipids is known as lipid peroxidation. Peroxidation of lipids gives rise to various reactive aldehydes such as malondialdehyde (MDA) and 4-hydroxynonenal (HNE). HNE is highly reactive and produced in relative large amounts during lipid peroxidation. Since bladder outlet obstruction is correlated with an increased peroxidation of lipids and HNE is produced in large amounts during lipid peroxidation, we presented in **Chapter 8** the effect of HNE on muscle contractility of pig urinary bladder. Muscle strips from pig urinary bladder were mounted in organ baths and contractile responses to various stimulation pathways were monitored before and after the addition of HNE. We found that HNE severely damaged the L-type calcium channels and or the contractile system of the bladder muscle, however, the cholinergic nerves and the muscarinic receptor signaling system remained largely unaffected. In conclusion, the bladder muscle dysfunction seen in severely obstructed bladders could partly be due to oxidative damage of the smooth muscle. The fact that our *in vitro* oxidative stress model did not result in neuronal damage may implicate that oxidative stress *in vitro* does not provide similar oxidative stress conditions compared to the *in vivo* situation.

In **Chapter 9**, the results of our studies are discussed and an attempt is made to put the fundamental findings of this dissertation in a clinical perspective. In conclusion, this dissertation revealed that bladder outlet obstruction and elevated prostaglandin levels result in an increased autonomous activity in guinea pig bladders. We hypothesize that this modified autonomous activity results in activation of afferent nerves in the bladder wall, eventually contributing to an OAB syndrome. Interstitial cells may be responsible for the generation and distribution of autonomous activity. In addition, this dissertation suggests that oxidative stress is involved in the bladder muscle dysfunction found in some stages of bladder outlet obstruction. Finally, we believe that the results obtained in this dissertation are a

good starting point for developing new basic and clinical studies. Research in the field of interstitial cells and autonomous activity of the bladder may become an important and rewarding research area leading to better treatment options for patients with an overactive bladder.

Samenvatting

Patiënten met een Overactieve Blaas (OAB) syndroom hebben klachten van urgency met of zonder urgency incontinentie, meestal gepaard gaand met vaak moeten plassen en nycturie. Het OAB syndroom heeft een prevalentie van rond de 16% en veroorzaakt voor de maatschappij een forse kostenpost. Het OAB syndroom is geen levensbedreigende aandoening, echter het heeft een significant negatief effect op de kwaliteit van leven van patiënten. Klachten van een overactieve blaas kunnen worden veroorzaakt door afwijkingen in de hersenen, het centrale zenuwstelsel, de perifere zenuwen en de blaas zelf. In dit proefschrift worden lokale afwijkingen in de blaas en of blaashals besproken die waarschijnlijk een bijdrage leveren aan het ontstaan van het OAB syndroom. Deze blaasaandoeningen leiden meestal tot een toename van de hoeveelheid afferente informatie die naar de hersenen wordt gezonden.

In de introductie (**Hoofdstuk 1**) worden de verschillende anatomische componenten - hersenen, centraal zenuwstelsel, perifere zenuwen en de blaas - besproken die betrokken zijn bij de vullings en ledigingfase van de urineblaas. Verder wordt in het bijzonder de theorie van de autonome blaas beschreven. Deze theorie gaat ervan uit dat autonome activiteit (lokale contracties) van de blaaswand een centrale rol speelt in het motorisch sensorisch gekoppeld systeem. Het idee is dat lokale contracties in de blaaswand (motorische activiteit) afferente zenuwen activeren die uiteindelijk resulteren in het optreden van blaassensaties. Onze hypothese is dat een verhoogde autonome blaas activiteit een oorzaak kan zijn voor het ontstaan van het OAB syndroom. Om deze hypothese te toetsen hebben we gebruik gemaakt van pathologische blaascondities, zoals een blaas uitgangsobstructie en een verhoogd prostaglandine gehalte in de blaas. Patiënten met een blaasontsteking (verhoogd prostaglandine gehalte) of met een blaas uitgangsobstructie kunnen klachten ontwikkelen van een overactieve blaas. Vandaar dat dit proefschrift de autonome blaasactiviteit in beide blaascondities beschrijft. Gezien het feit dat fundamenteel onderzoek in mensen ethisch moeilijk te verantwoorden is, hebben we gebruik gemaakt van proefdieren.

Hoofdstuk 2 bespreekt het effect van verschillende prostaglandines op de autonome blaasactiviteit in een caviamodel. Blootstelling aan prostaglandines PGE₁ en PGE₂ resulteert in toename van de amplitude en frequentie van de autonome activiteit. Het door prostaglandine veroorzaakte effect blijkt te berusten op stimulatie van prostanoid receptoren. Het is bekend dat de cyclo-oxygenasen (COX) enzymen verantwoordelijk zijn voor de productie van prostaglandines en dat het urotheel en de spierlaag van de blaas prostaglandines kunnen produceren. We hebben voor het eerst middels immunohistochemische technieken aangetoond dat COX I immunoreactiviteit (COX I-IR) is gelokaliseerd in specifieke cellen behorende tot het urotheel, de lamina propria en cellen rondom de binnenste spierlaag van de blaaswand. Verder zijn COX II immunoreactieve (COX II-IR) cellen gevonden in de kernen van cellen behorende tot het urotheel, de lamina propria en de spierlaag van

de blaaswand.

De bron van autonome activiteit en hoe deze wordt gemoduleerd door prostaglandines is nog niet bekend. Er zijn aanwijzingen dat autonome activiteit wordt gegenereerd en verspreid door een netwerk van gespecialiseerde cellen in de blaaswand, die interstitiële cellen worden genoemd. In **Hoofdstuk 3** hebben we de relatie tussen COX I-IR cellen en netwerken van interstitiële cellen in de caviablaas beschreven door gebruik te maken van verscheidene immunohistochemische markers voor interstitiële cellen zoals vimentine en cGMP. Gedurende het onderzoek hebben we twee typen COX I-IR cellen ontdekt in de lamina propria: complexe vimentine positieve/COX I-IR cellen en vimentine negatieve/COX I-IR cellen. Aan de rand van de binnenste spierlaag hebben we vimentine negatieve/COX I-IR cellen geïdentificeerd. Deze vimentine negatieve/COX I-IR cellen lijken in nauw contact te staan met vimentine positieve interstitiële cellen. Deze interstitiële cellen zijn gelegen in de lamina propria, de binnenste en de buitenste spierlaag. De interstitiële cellen in de buitenste spierlaag blijken andere typen cellen te zijn vergeleken met de interstitiële cellen die behoren tot de binnenste spierlaag. De interstitiële cellen van de buitenste spierlaag reageren, in tegenstelling tot de cellen van de binnenste spierlaag, op NO stimulatie door cGMP aan te maken. Verder zijn er amper COX I-IR cellen gevonden in de buitenste spierlaag terwijl in de binnenste spierlaag deze cellen frequent zijn aangetroffen. De fysiologische en pathofysiologische betekenis van de verschillende interstitiële celnetwerken is nog niet bekend.

Patiënten met een blaas uitgangsobstructie (BOO) als gevolg van benigne prostaat vergroting en of een urethra strictuur krijgen vaak OAB klachten. In **Hoofdstuk 4** hebben we het effect van een BOO en of blaashals beschadiging beschreven op de autonome blaasactiviteit door gebruik te maken van een gevalideerd caviamodel voor BOO. Controle, sham geopereerde en geobstrueerde cavia blazen zijn onderzocht. Het blaasgewicht in alle geopereerde groepen blijkt significant toegenomen vergeleken met de controle groep. Verder blijkt de amplitude van autonome activiteit in geopereerde blazen significant toegenomen vergeleken met de controle groep. De amplitude per gram blaasgewicht is het hoogst in de sham geopereerde groep. Beschadiging van de blaashals speelt mogelijk een belangrijke rol in verandering van de autonome activiteit. In controle blazen resulteert muscarine receptor stimulatie, in toename van de frequentie en amplitude van de autonome activiteit. Een zelfde effect wordt gezien in geopereerde blazen, echter de concentraties die nodig zijn voor een toename van de frequentie is significant lager. Het mechanisme verantwoordelijk voor de frequentie van de autonome activiteit, de interstitiële cel pacemaker, blijkt dus overgevoelig voor cholinerge stimulatie in geopereerde blazen. Wellicht berust het therapeutische effect van anticholinergica in patiënten met een BOO op blokkade van de overgevoelige pacemaker. Verder is het mogelijk dat de veranderingen in autonome activiteit in geopereerde blazen zorgen voor een verhoogde prikkeling van sensorische zenuwen, uiteindelijk resulterend in het optreden van overactieve blaasklachten.

Gezien interstitiële cellen verantwoordelijk lijken te zijn voor het genereren en

moduleren van autonome activiteit, wordt in **Hoofdstuk 5** het effect van een BOO op het netwerk van interstitiële cellen beschreven. Interstitiële cellen in de mens en cavia blaas kunnen gedetecteerd worden doordat ze cGMP aanmaken na blootstelling aan een NO donor. Er zijn verschillende cGMP positieve (cGMP+) interstitiële cellen gevonden in de blaaswand: interstitiële cellen in de sub-urotheliale laag en in de buitenste spierlaag. Naast interstitiële cellen, detecteert cGMP kleuring ook andere cellen in de blaaswand zoals paraplu cellen in het urotheel en bepaalde zenuwen. **Hoofdstuk 5** beschrijft cGMP kleuring in sham geopereerde en geobstrueerde blazen. Er is een significant verschil gevonden tussen sham geopereerde en geobstrueerde blazen. Het aantal cGMP+ interstitiële cellen in en tussen de spierbundels is toegenomen, resulterend in een goed ontwikkeld netwerk in het geobstrueerde blaasweefsel. In de suburotheliale ruimte is gevonden dat het aantal cGMP+ interstitiële cellen in geobstrueerd blaasweefsel is toegenomen ten opzichte van de sham groep. Tenslotte, blijkt het aantal interstitiële cellen in de serosale laag toegenomen in geobstrueerde blazen. Naast de genoemde veranderingen in het netwerk van interstitiële cellen blijkt het urotheel drastisch aangetast in geobstrueerde blazen. Het aantal cGMP+ paraplu cellen en de intensiteit van kleuring is verminderd ten opzichte van de sham groep. De intermediaire laag van het urotheel is veranderd en er zijn veel zenuw vezels gevonden in de lamina propria van geobstrueerd blaasweefsel. De veranderde structuur van het urotheel en het nieuw ontwikkelde interstitiële celnetwerk in geobstrueerde blazen is mogelijk gerelateerd aan de gemoduleerde autonome activiteit. Verder vormen de beschreven histologische veranderingen van de blaaswand in geobstrueerde blazen mogelijk aanknopingspunten voor de oorzaak van de veranderende blaassensaties die optreden bij patiënten met een BOO.

Patiënten met een BOO kunnen naast overactieve blaasklachten ook obstructieve mictieklachten ontwikkelen zoals hesitatie, zwakke urinestraal, nadruppelen, residuegevoel en uiteindelijk urine retentie. De obstructieve mictieklachten kunnen gerelateerd zijn aan een beschadiging van de blaasspier. Er is een sterk vermoeden dat vrije zuurstof radicalen een rol spelen bij het ontstaan van functionele en structurele blaasspier beschadiging secundair aan een BOO. Voornamelijk ernstig geobstrueerde (gedecompenseerde) blazen worden geassocieerd met ischemie-reperfusie in de blaaswand tijdens de vulling en ledigingfase van de urineblaas maar ook met blaasontstekingen. In situaties zoals ischemie-reperfusie en ontstekingen neemt de productie van zuurstof radicalen toe. Het menselijk lichaam bezit een afweersysteem bestaande uit endogene antioxidanten dat ons beschermt tegen het potentieel beschadigende effect van vrije zuurstof radicalen. Situaties waarbij de vrije radicaal productie het beschermende effect van antioxidanten overschrijdt, worden aangeduid als oxidatieve stress. In dergelijke situaties kunnen de vrije radicalen celstructuren aantasten zoals lipiden en proteïnen, met uiteindelijk beschadiging van zenuw en spiercellen tot gevolg. In **Hoofdstuk 6** wordt het effect van een blaas uitgangsobstructie op het endogene antioxidanten systeem van cavia

blaasweefsel beschreven en gecorreleerd aan veranderingen in blaasfunctie en structuur. Er is gevonden dat de totale antioxidanten capaciteit, de glutathione en glutathione reductase gehalten significant verminderd blijken te zijn in geobstrueerd blaasweefsel. Verder blijkt dat de kracht van een door een elektrisch veld (neurogeen) veroorzaakte contractie significant lager is bij spierstrips afkomstig van geobstrueerde blazen in vergelijking met sham blazen. Het muscarine receptor signaal systeem en de contractiliteitseiwitten van de blaasspier bleken nauwelijks aangetast, een teken dat de blazen niet gedecompenseerd waren. Door middel van immunohistochemische technieken is verder aangetoond dat de zenuwdichtheid significant lager is in geobstrueerd blaasweefsel vergeleken met de sham groep. Concluderend blijkt het beschermende effect van antioxidanten te zijn gereduceerd in geobstrueerd blaasweefsel terwijl de productie van zuurstof radicalen juist lijkt te zijn toegenomen. De ontstane situatie van oxidatieve stress is mogelijk een verklaring voor de relatieve hoeveelheid zenuwbeschadiging waargenomen in geobstrueerde blazen.

Indien oxidatieve stress een belangrijke rol speelt in het mechanisme van weefselbeschadiging waargenomen in geobstrueerde blazen dan zou men kunnen verwachten dat directe blootstelling van blaasweefsel aan zuurstof radicalen een deel van de weefselbeschadiging imiteert. **Hoofdstuk 7** beschrijft het effect van oxidatieve stress op de contractiliteit van de varkens blaasspier. Oxidatieve stress wordt nagebootst door cumene hydroperoxide (CHP), een lipofiele hydroperoxide wat wordt gebruikt als modelstof voor oxidatieve stress. Varkensblaas spierstrips zijn geïncubeerd in orgaanbaden en de contractiekrachten veroorzaakt door verschillende stimulatie paden zijn gemeten voor en na blootstelling aan CHP. De resultaten van onze studie laten zien dat cumene hydroperoxide het muscarine receptor signaal systeem het meest aantast. L-type calcium kanalen en het contractiliteits systeem blijken in mindere mate beschadigd terwijl cholinerge zenuwen relatief ongevoelig zijn voor CHP. Oxidatieve beschadiging van lipiden wordt lipid peroxidatie genoemd. Een blaas uitgangsobstructie kan gepaard gaan met een toename van de peroxidatie van lipiden. Tijdens het proces van lipide peroxidatie worden toxische reactieve aldehyden gevormd, waaronder 4-hydroxynonenal (HNE). Aangezien een blaas uitgangsobstructie is geassocieerd met een toegenomen peroxidatie van lipiden in het gladde spierweefsel en HNE in grote hoeveelheden wordt geproduceerd tijdens lipide peroxidatie, beschrijft **Hoofdstuk 8** het effect van HNE op de contractiliteit van de varkens blaasspier. Varkensblaas spierstrips zijn geïncubeerd in orgaanbaden en de contractiekrachten veroorzaakt door verschillende stimulatie paden is voor en na blootstelling aan HNE gemeten. De resultaten van het onderzoek geven aan dat HNE voornamelijk de contractiliteits eiwitten en of de L-type calcium kanalen van de blaasspier beschadigt. De cholinerge zenuwen en het muscarine receptor signaal systeem bleken nauwelijks aangetast. We kunnen tenslotte concluderen dat de blaasspier disfunctie waargenomen in ernstig geobstrueerde blazen deels kan berusten op oxidatieve beschadigende mechanismen op de blaasspier. Echter ons *in vitro* oxidatieve stress model resulteerde niet tot zenuwbeschadiging terwijl dit wel

werd geobserveerd in onze studie van matig geobstrueerde cavia blazen. Dit impliceert dat oxidatieve stress *in vitro*, waarschijnlijk niet dezelfde oxidatieve veranderingen veroorzaakt vergeleken met de *in vivo* situatie.

In **Hoofdstuk 9** worden de resultaten van de studies bediscussieerd en worden de bevindingen van dit proefschrift in een klinisch perspectief geplaatst. Samenvattend kan geconcludeerd worden dat een blaas uitgangsobstructie en verhoogde gehalten aan prostaglandines in het blaasweefsel leidt tot een toename van de autonome activiteit in cavia blazen. Onze hypothese is dat een verhoogde autonome activiteit, sensorische zenuwen in de blaaswand prikkelt resulterend in het ontstaan van overactieve blaas klachten. Interstitiële cellen zijn mogelijk verantwoordelijk voor het genereren en verspreiden van autonome activiteit. Dit proefschrift bediscussieert ook de rol van oxidatieve stress in de etiologie van de blaaspier disfunctie die wordt gevonden in sommige situaties van een blaas uitgangsobstructie. We geloven dat de resultaten van onze studies leidt tot de ontwikkeling van nieuwe fundamentele en klinische studies. Onderzoek op het gebied van interstitiële cellen en autonome activiteit zal in de nabije toekomst waarschijnlijk beter inzicht geven in de oorzaak van overactieve blaas klachten. Hopelijk zal dit leiden tot effectievere behandelingsmogelijkheden voor patiënten met een Overactieve Blaas syndroom.