

## Artigos Originais

# Injecção intra-prostática de toxina botulínica do tipo A em doentes com retenção urinária crónica por hiperplasia benigna da próstata e contra-indicação cirúrgica. Efeito no volume prostático e retomar das micções

André Silva<sup>1,2</sup>, João Silva<sup>1,2</sup>, Luís Saraiva<sup>1,2</sup>, Rui Pinto<sup>1,2</sup>, Carlos Silva<sup>1,2,3</sup>, Paulo Dinis<sup>1,2,3</sup>, Francisco Cruz<sup>1,2,3</sup>

1 Serviço de Urologia, Hospital de S. João, Porto

2 Faculdade de Medicina do Porto

3 IBMC – Instituto de Biologia Celular e Molecular do Porto

## Sumário

**Objectivo:** Avaliar o efeito da injecção intra-prostática de toxina botulínica do serotipo A no volume prostático e capacidade de retomar as micções espontâneas em doentes cronicamente algaliados por hiperplasia benigna da próstata.

**Material e métodos:** 21 homens com hiperplasia benigna da próstata e cronicamente algaliados por um período superior a três meses, que eram maus candidatos cirúrgicos devido a comorbilidades graves, foram injectados, por via trans-rectal, sob controlo ecográfico, com 200 U de toxina botulínica do serotipo A, na zona de transição do lobos laterais da próstata. Foram avaliados ao 1º mês e 3º mês após a injecção.

**Resultados:** A idade média dos doente foi  $80 \pm 2$  anos. A injecção intra-prostática foi efectuada sem qualquer procedimento anestésico, como procedimento de ambulatório. Não ocorreram efeitos adversos. O volume prostático basal foi  $70 \pm 10$  ml, tendo diminuído para  $57 \pm 10$  ml ( $p < 0,0006$ ) ao fim do 1º mês e para  $47 \pm 7$  ml ( $p = 0,03$  quando comparado com o 1º mês) aos 3 meses. No 1º mês, 16 doentes (76 %) retomaram as micções espontâneas, com Qmax de  $9,0 \pm 1,2$  ml/s. Ao 3º mês, 17 doentes (81 %) urinavam espontaneamente, com um Qmax de  $10,3 \pm 1,4$  ml/s. O volume residual era de  $80 \pm 19$  ml e  $92 \pm 24$  ml ao 1º e 3º mês, respectivamente. O valor de PSA total diminui de  $6,0 \pm 1,1$  ng/ml no início do estudo para  $5,0 \pm 0,9$  ng/ml aos 3 meses ( $p = 0,04$ ).

**Conclusão:** A injeção intra-prostática de toxina botulínica conduz a uma redução progressiva do volume prostático conduzindo ao retomar da micção espontânea e pode um tratamento promissor naqueles doentes cujo risco cirúrgico elevado contra-indica as diferentes técnicas cirúrgicas.

## Summary

**Objectives:** To evaluate the effect of intraprostatic botulinum toxin A injection on prostate volume and refractory urinary retention in patients with benign prostatic hyperplasia.

**Methods:** Twenty-one men with benign prostatic hyperplasia on chronic indwelling catheter for at least 3 months, who were not candidates for surgery because of poor general condition, received 200 U of botulinum toxin A in the transitional zone of the lateral lobes by transrectal approach, under ultrasound guidance. Patients were reevaluated at 1 and 3 months post-treatment.

**Results:** Patients had a mean age of  $80 \pm 2$  years. Injections were done without anaesthetic support as an outpatient procedure. No significant local effects occurred. Baseline prostate volume of  $70 \pm 10$  ml decreased to  $57 \pm 10$  ml ( $p < 0,0006$ ) at 1 month and to  $47 \pm 7$  ml ( $p = 0,03$  against 1 month) at 3 months. At 1 month, 16 patients (76%) could resume voiding with a mean Qmax of  $9,0 \pm 1,2$  ml/s. At 3 months, 17 patients (81%) voided with a mean Qmax of  $10,3 \pm 1,4$  ml/s. Residual urine was  $80 \pm 19$  ml and  $92 \pm 24$  ml at the two time points, respectively. Mean serum total PSA decreased from  $6,0 \pm 1,1$  ng/ml at baseline to  $5,0 \pm 0,9$  ng/ml at 3 months ( $p = 0,04$ ).

**Conclusions:** Botulinum toxin A injection into the prostate swiftly reduces prostate volume and may be a promising treatment for refractory urinary retention in patients with benign prostatic hyperplasia who are unfit for surgery.

## Introdução

A toxina botulínica do serotipo A (BTX A) é a biotoxina mais potente conhecida. A toxina liga-se à proteína SV2 (synaptic vesical protein type 2), que é expressa na membrana celular nos locais onde as vesículas sinápticas se fundem com a membrana citoplasmática (1). Quando se processa a endocitose das vesículas sinápticas, a toxina obtém acesso ao meio interno celular, permanecendo no interior das ditas vesículas, onde é clivada em duas cadeias, uma leve e outra pesada. A cadeia leve é uma endopeptidase dependente do zinco e inactiva a SNAP-25 (synaptosome-associated protein of 25 KDa). Esta última proteína é essencial para o processo de fusão e libertação do conteúdo das vesículas sinápticas com a membrana celular neuronal e, conseqüentemente, para a libertação dos neurotransmissores contidos nessas mesmas vesículas; o resultado final é o bloqueio da libertação dos neurotransmissores para a fenda sináptica (2,3).

Apesar da sua toxicidade, a BTX A pode ser usada, na sua forma purificada, para tratamento de doenças

que envolvam uma contracção anormalmente exagerada da musculatura esquelética e lisa. Foi aprovada pela FDA (Food and Drug Administration) para o tratamento do estrabismo e blefarospasmo. O seu papel nas distonias musculares, disфонia espasmódica, acalásia esofágica, tiques, e hiperactividade do detrusor é ainda experimental (2,3).

Recentemente tem sido investigado o seu efeito a nível prostático. A injeção intra-prostática nos ratos causou uma apoptose dos elementos glandulares e uma diminuição do volume prostático (4,5). Estes resultados foram também confirmados nas próstatas humanas. Maria e seus colaboradores (6) apresentaram uma série de 15 doentes, nos quais uma injeção intra-prostática de 200 U conduziu a uma diminuição do volume prostático para cerca de metade, um mês após a administração da BTX A. Um outro estudo mostrou uma redução de 30 % do volume de próstatas hiperplasiadas após injeção de 200 U de BTX A (7). Biópsias prostáticas realizadas após administração de BTX A mostraram elevada taxa de apoptose nas células glandulares e do estroma (8).

O aumento do volume prostático é um achado muito frequente nos homens idosos com HBP e é considerado um factor de risco importante para o desenvolvimento de retenção urinária (10). Nos doentes em retenção urinária crónica o tratamento geralmente é cirúrgico, seja através de ressecção trans-uretral ou prostatectomia aberta. Contudo, o tratamento cirúrgico acarreta riscos. A taxa de mortalidade, nos primeiros 30 dias após a RTU-P, é de 0,4 % nos homens com idades compreendidas entre os 65-69 anos, mas aumenta para quase 2 % em indivíduos com idade superior a 80 anos. Além disso, a terapêutica cirúrgica pode estar contra-indicada em doentes com doenças cardiovasculares graves, alterações da coagulação, estados terminais, etc. A vaporização prostática com recurso a laser de KTP tem sido apontada com a solução para estes maus candidatos cirúrgicos, mas, mesmo esta terapêutica, necessita de procedimentos anestésicos. A injeção intraprostática de etanol parece ser uma boa solução, mas esta necessita, em alguns casos, de procedimentos anestésicos para controlo da dor. Por vezes podem surgir complicações sérias como a hemorragia e infecção. O tempo de cateterização após a injeção de etanol é errático. Estes constituem as principais desvantagens desta técnica (13).

Neste estudo pretendemos investigar se a rápida redução de volume prostático observada após administração intra-prostática de BTX A poderia permitir o retomar das micções espontâneas em doentes cronicamente algaliados, que eram maus candidatos para a terapêutica cirúrgica. Os objectivos primários foram a redução no volume prostático e o número de doentes que retomaram as micções espontâneas.

## Material e métodos

21 doentes deram o seu consentimento informado para participar no estudo, que foi previamente aprovado pela comissão de ética do Hospital de S.João. Esta terapêutica foi entendida como uma medida de compaixão para com os doentes cujas comorbilidades impossibilitavam um tratamento cirúrgico. Todos os doentes se encontravam algaliados (por um período superior a três meses) devido a retenção urinária crónica motivada por volume prostático aumentado em consequência de HBP, e refractário a várias tentativas prévias de remoção da sonda vesical após terapêutica com alfa-bloqueantes. No momento de entrada no estudo nenhum doente estava medicado com alfa-bloqueantes ou inibidores da 5 alfa-reductase.

Todos os doentes foram submetidos a uma avaliação médica que incluía a colheita da história clínica, exame objectivo com toque rectal, ecografia reno-vesical e prostática trans-rectal para medição do volume prostático, análises sanguíneas para função renal, ionograma e PSA total. Doentes com forte suspeita clínica de carcinoma da próstata foram excluídos do estudo.

A injeção de toxina botulínica do serotipo A foi efectuada por via trans-rectal sob controlo ecográfico, como procedimento de ambulatório. Duas embalagens de BOTOX® (Allergan, Irvine, CA, Estados Unidos da América), contendo 100 U cada, foram diluídas em 8 cc de soro fisiológico. Utilizou-se uma agulha 21 G, Chiba, que foi colocada num adaptador da sonda trans-rectal de um ecógrafo (Adara sonoline, SIEMENS®, Alemanha). A agulha foi introduzida na região de transição de cada lobo prostático, sendo administradas duas injeções de 2 mL em cada região de transição, perfazendo um total de 4 injeções de 2 mL (cada injeção corresponde a 50 U de BTX A). A difusão da toxina foi controlada por ecografia aparecendo como um padrão hiperecóico na região de transição (fig 1). Não foi utilizada anestesia. Os doentes foram medicados com ciprofloxacina, 500 mg, PO de 12/12 horas durante 7 dias.

Um mês após a injeção de BTX A, os doentes foram submetidos a uma ecografia prostática trans-rectal e a determinação sérica de PSA total. A sonda vesical foi removida. Nos doentes que tiveram micção espontânea, foi avaliado o fluxo máximo ( $Q_{max}$ ) e determinado o resíduo pós-miccional (RPM) através de ecografia. Aqueles doentes que não obtiveram micção espontânea ou cujo RPM foi superior a 200 mL foram novamente algaliados.

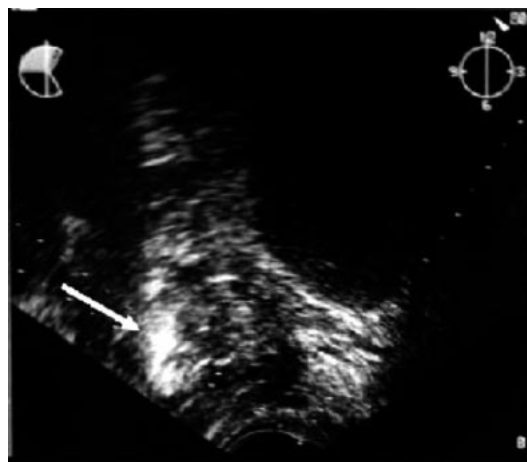


Fig. 1 – injeção intra-prostática trans-rectal de BTX A, sob controlo ecográfico; a seta mostra a difusão da toxina (área hiperecóica).

Três meses após a injeção de BTX A os doentes foram novamente avaliados e foram submetidos a nova ecografia prostática trans-rectal para determinação do volume prostático e determinação sérica de PSA total. Nos doentes que se encontravam em micção espontânea foi realizada nova urofluxometria para determinação de Qmax. Foi avaliado o RPM por via ecográfica. Naqueles doentes que ainda se encontravam algaliados, foi efectuada nova tentativa de remoção da sonda vesical e micção espontânea.

Os resultados são apresentados como médias  $\pm$  erro padrão. O volume prostático e PSA total de todos os doentes foram comparados com os valores iniciais, ao 1.º mês e aos 3 meses, usando o teste de Student t emparelhado. Os Qmax e RPM foram comparados com os valores iniciais da mesma forma. O valor de significância estatística utilizado foi o de  $p < 0,05$ .

## Resultados

Os 21 doentes foram excluídos do tratamento cirúrgico devido a doença cardiopulmonar grave (17 casos) ou doença terminal neoplásica não urológica (4 casos). Nenhum dos doentes estava acamado ou mentalmente incapaz. Todos conseguiam caminhar sozinhos apesar de limitados pela condição clínica de base. A idade média dos doentes foi  $80 \pm 2$  anos (âmbito de 65 - 92 anos). A progressão da agulha Chiba e injeção de BTX A foi facilmente controlada por ecografia trans-rectal. O procedimento foi bem tolerado, não tendo sido necessário recorrer a analgesia pós-injeção de BTX A. Não houve casos de prostatite, hematúria, uretrorragia ou rectorragia. Não houve sintomatologia de botulismo.

Os valor inicial de volume prostático foi  $70 \pm 10$  mL (fig 2) e de PSA total foi  $6,0 \pm 1,1$  ng/mL. No 1.º mês o volume prostático diminuiu em todos os doentes para um volume médio de  $57 \pm 10$  mL ( $p=0,0006$ ). Não se observou áreas de necrose na ecografia trans-rectal um mês após a injeção de BTX A. O valor de PSA total não se alterou em relação ao valor base ( $5,8 \pm 1,3$  ng/mL). Após a remoção da sonda vesical, 16 doentes conseguiram urinar espontaneamente, com um Qmax de  $9,0 \pm 1,2$  mL/sec e um RPM de  $80 \pm 19$  mL.

Aos 3 meses, o volume prostático diminuiu para os  $47 \pm 7$  ml ( $p = 0,03$ , quando comparado com o valor do 1.º mês). O PSA total diminuiu para  $5,0 \pm 0,9$  ng/ml ( $p = 0,04$  quando comparado com o valor de base. Todos os doentes que conseguiram ter micções espontâneas ao primeiro mês pós tratamento, mantiveram micções espontâneas aos 3 meses, e outro doente iniciou micções

VOLUME PROSTÁTICO ml

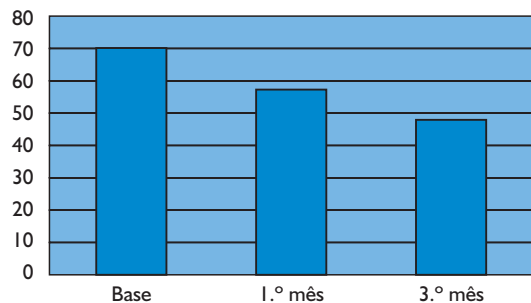


Fig. 2 – Gráfico mostrando o volume médio da próstata no início do estudo, ao 1.º mês e ao 3.º mês, após a injeção de BTX A.

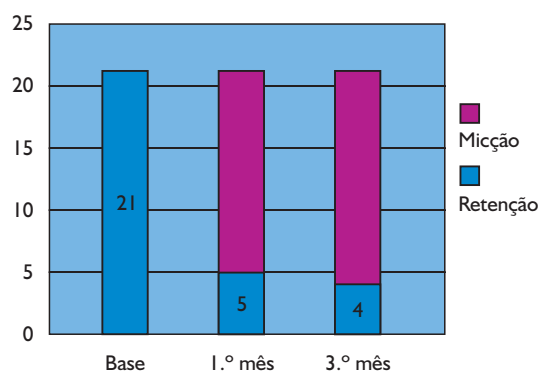


Fig. 3 – Gráfico mostrando o número de doentes em retenção urinária e em micção espontânea no início do estudo, ao 1.º mês e ao 3.º mês.

espontâneas aos 3 meses, perfazendo um total de 17 doentes com micções espontâneas, livres de cateter vesical (fig 3). Os valores de Qmax e RPM destes doentes são  $10,3 \pm 1,4$  ml/sec e  $92 \pm 24$  ml, respectivamente (sem diferença estatisticamente significativa quando comparado com os valores ao 1.º mês).

## Discussão

Todos os doentes envolvidos no estudo tiveram uma redução do volume prostático após a injeção de 200 U de BTX A. Aos 3 meses pós-injeção o volume prostático tinha diminuído 30%; cerca de metade desta diminuição foi obtida no primeiro mês pós-injeção, o que parece indicar um rápido início de ação da toxina botulínica. A diminuição do volume prostático correlacionou-se com o retomar das micções espontâneas em 76% (16 em 21) dos doentes ao 1.º mês, tendo este valor aumentado para 80% (17 em 21) aos 3 meses.

Os quatro doentes que não conseguiram ter micções espontâneas eram aqueles cujas próstatas apre-

sentavam lobos médios proeminentes, que provavelmente não diminuíram com a técnica de injeção utilizada (a injeção foi administrada na região de transição dos lobos laterais).

A administração de toxina botulínica não despertou nenhum sinal ou sintoma de botulismo, apesar da próstata ser um órgão extremamente irrigado, o que, em teoria, poderia fazer predispor ao aparecimento de toxicidade sistémica.

Apesar do número reduzido de doentes envolvidos neste estudo e do volume prostático determinado pela ecografia trans-rectal ser dependente do operador, a redução do volume prostático observada neste estudo está de acordo com a literatura existente; não conseguimos obter uma redução de 50 % do volume, como a observada por Maria e colaboradores, em doentes com volumes prostáticos médios de 50 ml, tratados com 200 U de BTX A (6); no entanto, a redução por nós observada foi semelhante à de Kuo (7) que injectou 200 U de BTX A em doentes com volumes prostáticos médios de 65 ml. Chuang e colaboradores apenas referiram uma redução do volume prostático de 13 %. Estes investigadores injectaram apenas 100 U de BTX A em 16 doentes com volumes prostáticos máximos de 30 ml (8). Face a estes resultados podemos apenas avançar que a injeção intra-prostática de BTX A reduz o volume prostático, sendo ainda prematuro especular qual será a dose ideal para os diferentes volumes prostáticos iniciais.

A necrose da glândula prostática nos locais de injeção de BTX A poderia ser um mecanismo pelo qual se observa a rápida redução do volume desta glândula, mas nas ecografias prostáticas trans-rectais realizadas neste estudo e nos outros publicados (6-8), não se conseguiu identificar áreas de necrose. Portanto, a redução rápida do volume prostático poder-se-á ficar a dever à apoptose generalizada observada na glândula prostática induzida pela toxina botulínica. A apoptose pós administração de BTX A foi relatada em próstatas de ratos, cães e humanas, afectando quer o componente epitelial quer o estroma (4,5,8). Actualmente é difícil de fornecer uma explicação pela qual a toxina botulínica conduz à redução do volume prostático. Parece improvável um efeito directo da neurotoxina sobre o componente epitelial e estroma. A toxina botulínica impede a exocitose (dependente da SNAP-25) dos neurotransmissores contidos nas vesículas sinápticas, reduzindo, consequentemente a sua disponibilidade na fenda sináptica. Face a este mecanismo de acção, a razão para a apoptose observada na glândula prostática deve estar relacionada com a sua inervação e na alteração desta, induzida pela BTX A.

A inervação prostática é feita com recurso a três tipos diferentes de fibras nervosas: aferentes primários, fibras simpáticas e parassimpáticas. A libertação de neurotransmissores, habitualmente presentes nas fibras aferentes primárias, tais como o CGRP (calcitonin gene-related peptide) a nível periférico (14), a substância P e o glutamato a nível central, está diminuída pela acção da BTX A (15). Para além deste efeito, o tráfego dos receptores de membrana dos neurónios aferentes, desde os seus locais de armazenamento no citoplasma até à membrana celular destes, também se encontra diminuído pela acção da BTX-A (16). Os aferentes primários prostáticos foram alvo de um estudo e descrição exaustiva num recente trabalho usando próstatas de doadores cadavéricos (17). As fibras sensitivas são abundantes apenas na zona peri-uretral, estando quase ausentes nas zonas de transição e periférica. Portanto, apesar do conhecido efeito da toxina botulínica sobre as fibras sensitivas, o seu reduzido número na próstata, assim como a falta de uma prova concreta do seu envolvimento no aumento do volume prostático, fazem com que as alterações induzidas pela BTX A nestas fibras contribuam remotamente para a diminuição do volume prostático observado neste e noutros estudos.

Por seu turno, as fibras parassimpáticas abundam entre o componente glandular da próstata, local onde a aplicação de BTX A mostrou induzir a apoptose (4,5). A acetilcolina libertada por estas fibras regula a secreção prostática. Cerca de 70 % do volume prostático (numa próstata de normais dimensões) é constituído pelo componente glandular (19). Embora esta percentagem diminua com o desenvolvimento da hiperplasia benigna prostática (20), é provável que parte da diminuição do volume observado após a injeção intra-prostática de BTX A se deva a uma redução maciça no número de células glandulares e a uma diminuição da secreção mediada pela acetilcolina.

As fibras simpáticas organizam-se num plexo denso ao nível do estroma prostático, local onde a BTX A induziu apoptose marcada. A BTX A diminui a libertação de noradrenalina ao nível das fibras simpáticas (21), incluindo aquelas que inervam o tracto urinário inferior. É importante realçar que foi observada apoptose no estroma de próstatas humanas induzida pelo bloqueio adrenérgico com a terazosina e a doxazosina (22). Para além deste fenómeno, a perda da actividade simpática parece diminuir a produção de EGF (epidermal growth factor), que tem uma actividade trófica na próstata. É, portanto, admissível que a diminuição do volume prostático observada neste estudo, possa, pelo menos em parte, residir na diminuição do tónus adrenérgico con-

sequente à intoxicação das fibras adrenérgicas prostáticas.

Para além de induzir a apoptose, a BTX A diminui o tónus muscular liso da uretra prostática, diminuindo o componente dinâmico na obstrução infravesical da HBP. Vários mecanismos parecem estar envolvidos na diminuição do tónus simpático. Um dos mecanismos é a diminuição da libertação de noradrenalina por parte dos terminais axonais simpáticos, com a consequente redução da estimulação dos receptores alfa-1A (21). Outro mecanismo é a diminuição da densidade de receptores alfa-1A, que se sabe estar aumentada várias vezes na HBP (25). No rato, observou-se uma diminuição dependente da dose deste receptor, atingindo o máximo de 80 % uma semana após a injeção intraprostática de 20 U de BTX A (5). A BTX A pode também interferir com a actividade das células intersticiais do tracto urinário inferior, como foi recentemente descrito (26). Foi demonstrado na próstata, que as células intersticiais são as responsáveis pela iniciação e propagação da actividade contráctil observada nas células musculares lisas (27).

A redução do volume prostático pode explicar a diminuição do PSA total sérico. Embora não tenhamos observado uma diminuição tão grande como a de Maria e colaboradores (6), no presente estudo, a administração de BTX A está associada com uma clara diminuição do PSA total aos 3 meses. A razão pela qual não se observou uma diminuição do PSA total ao 1º mês pode residir no facto destes doentes estarem cronicamente algaliados mesmo na data em que se recolheu o sangue para determinação de PSA total (1º mês após a injeção de BTX A; nessa data também foi removida a sonda vesical e efectuada uma tentativa de micção espontânea).

Neste momento não se sabe quanto tempo será necessário para a próstata recuperar o seu volume pré-injeção de BTX A. No presente estudo, aos 3 meses o volume prostático continua a diminuir; nos estudos disponíveis, sabe-se que mesmo um ano após a administração de BTX A o volume prostático continua a diminuir (6). Este efeito sustentado no tempo não deve ser encarado como surpresa, pois sabe-se que a BTX A tem efeito duradouro quando afecta neurónios do sistema nervoso autónomo. De facto, na experiência acumulada com o tratamento da hiperactividade neurogénica do detrusor com toxina botulínica, sabe-se que o seu efeito paralisante persiste por vários meses (28). No entanto, a aplicação de BTX A não altera a expressão do receptor de androgénios nos tecidos prostáticos (5), mantendo a próstata a capacidade de responder à influência trófica da testosterona e do seu metabolito a dehidrotestoste-

rona. Esta característica poderá encurtar o período de efeito da BTX A; eventualmente poder-se-á combinar a aplicação de BTX A com inibidores da 5 alfa-reductase, tais como o finasteride, numa tentativa de retardar o aumento de volume da próstata pós-injeção de BTX A.

A toxina botulínica tem sido usada durante a última década nos casos de hiperactividade do detrusor refractária à terapêutica convencional. O efeito da toxina botulínica no detrusor parece dever-se à perda de actividade dos neurónios aferentes e eferentes da bexiga. Além deste efeito, parece haver interferência com a normal interacção entre o urotélio, fibras nervosas suburoteliais, e células intersticiais (3). Apesar de existirem analogias óbvias entre a acção da BTX A na bexiga e na próstata, o facto de fenómenos de apoptose só acontecerem na próstata, permanece um mistério.

## Conclusão

O presente trabalho confirma a capacidade da BTX A em reduzir o volume prostático e contribuir para o retomar das micções espontâneas em doentes cronicamente algaliados. Apesar de não se terem observado efeitos laterais graves neste e noutros estudos similares, deve ser recordado que o uso de injeções intraprostáticas de BTX A é um procedimento para o qual o fármaco ainda não está autorizado. Logo qualquer aplicação deste fármaco neste tipo de doentes deverá ser precedida da obtenção de autorização e preferencialmente deve ser realizada no âmbito de estudos clínicos. Estes estudos futuros poderão conduzir à dose ideal de neurotoxina a administrar. No presente momento, as glândulas prostáticas grandes são injectadas com 200 U de BTX A ao passo que as glândulas pequenas são injectadas com 100 U. No futuro será preferível administrar uma dose pré-estabelecida de BTX A por ml de volume prostático.

## Refêrencias

1. Dong M, Yeh F, Tepp WH, et al. SV2 is the protein receptor for botulinum neurotoxin A. *Science* 2006; 312: 592-6.
2. Patel AK, Patterson JM, Chapple CR. Botulinum toxin injections for neurogenic and idiopathic detrusor overactivity: a critical analysis of results. *Eur Urol*. 2006; 50: 684-710.
3. Apostolidis A, Dasgupta P, Fowler CJ. Proposed mechanism for the efficacy of injected botulinum toxin in the treatment of human detrusor overactivity. *Eur Urol* 2006; 49: 644-50.

4. Doggweiler R, Zertmann DH, Ishigooka M, Schimdt RA. Botox-induced prostatic involution. *Prostate* 1998; 37: 44-50.
5. Chuang YC, Huang CC, Kang HY, et al. Novel action of botulinum toxin on the stromal and epithelial components of the prostate gland. *J Urol* 2006; 175: 1158-63.
6. Maria G, Brisinda G, Civello IM, Bentivoglio AR, Sganga G, Albanese A. Relief by botulinum toxin of voiding dysfunction due to benign prostatic hyperplasia: results of a randomized, placebo-controlled study. *Urology* 2003; 62: 259-64.
7. Kuo HC. Prostate botulinum A toxin injection – an alternative treatment for benign prostatic obstruction in poor surgical candidates. *Urology* 2005; 65: 670-4.
8. Chuang YC, Chiang PH, Huang CC, Yoshimura N, Chancellor MB. Botulinum toxin type A improves benign prostatic hyperplasia symptoms in patients with small prostates. *Urology* 2005; 66: 775-9.
9. Arrighi HM, Metter EJ, Guess HA, Fozzard JL. Natural history of benign prostatic hyperplasia and risk of prostatectomy. The Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Urology* 1991; 38 (1 Suppl.): 4-8.
10. Jacobsen SJ, Jacobson DJ, Girman CJ, et al. Natural history of prostatism: risk factors for acute urinary retention. *J Urol* 1997; 158: 481-7.
11. Matani Y, Mottrie AM, Stockle M, Voges GE, Fichtner J, Hohenfellner R. Transurethral prostatectomy: a long-term follow-up study of 166 patients over 80 years of age. *Eur Urol* 1996; 30: 414-7.
12. Hamel MB, Henederson WG, Khuri SF, Daley J. Surgical outcomes for patients aged 80 and older: morbidity and mortality from major noncardiac surgery. *J Am Geriatr Soc* 2005; 53: 424-9.
13. Grise P, Plante M, Palmer J, et al. Evaluation of the transurethral ethanol ablation of the prostate (TEAP) for symptomatic benign prostatic hyperplasia (BPH): a European multi-center evaluation. *Eur Urol* 2004; 46: 496-502.
14. Rapp DE, Turk KW, Bales GT, Cook SP. Botulinum toxin type a inhibits calcitonin gene-related peptide release from isolated rat bladder. *J Urol* 2006; 175: 1138-42.
15. Duggan MJ, Quinn CP, Chaddock JA, et al. Inhibition of release of neurotransmitters from rat dorsal root ganglia by a novel conjugate of a Clostridium botulinum toxin A endopeptidase fragment and Erythrina cristagalli lectin. *J Biol Chem* 2002; 277: 34846-52.
16. Morenilla-Palao C, Planells-Cases R, Garcia-Sanz N, Ferrer-Montiel A. Regulated exocytosis contributes to protein kinase C potentiation of vanilloid receptor activity. *J Biol Chem* 2004; 279: 25665-72.
17. Dnis P, Charrua A, Avelino A, et al. The distribution of sensory fibers immunoreactive for the TRPV1 (capsaicin) receptor in the human prostate. *Eur Urol* 2005; 48: 162-7.
18. Ruggieri MR, Coltan MD, Wang P, et al. Human prostate muscarinic receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 274: 976-82.
19. Epstein JI. The prostate and seminal vesicles. In: Sternberg SS, editor. *Diagnostic surgical pathology*. New York: Raven; 1989. p. 1393-432.
20. Shapiro E, Becich MJ, Hartanto V, Lepor H. The relative proportion of stromal and epithelial hyperplasia is related to the development of symptomatic benign prostate hyperplasia. *J Urol* 1992; 147: 1293-7.
21. MacKenzie I, Burnstock G, Dolly JO. The effects of purified botulinum neurotoxin type A on cholinergic, adrenergic and non-adrenergic, atropine-resistant autonomic neuromuscular transmission. *Neuroscience* 1982; 7: 997-1006.
22. Chon JK, Borkowski A, Partin AW, Isaacs JT, Jacobs SC, Kyprianou N. Alpha1-adrenoceptor antagonists terazosin and doxazosin induce prostate apoptosis without affecting cell proliferation in patients with benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 1999; 161: 2002-8.
23. Marinese D, Patel R, Walden PD. Mechanistic investigation of the adrenergic induction of ventral prostate hyperplasia in mice. *Prostate* 2003; 54: 230-7.
24. Lin ATL, Yang AH, Chen K-K. Effects of botulinum toxin A on the contractile function of dog prostate. *Eur Urol* 2007; 52: 582-9.
25. Nasu K, Moriyama N, Kawabe K, et al. Quantification and distribution of alpha1-adrenoceptor subtype mRNAs in human prostate: comparison of benign hypertrophied tissue and non-hypertrophied tissue. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 797-803.
26. van der AAF, Roskams T, Blyweert W, Ost D, Bogaert G, De Ridder D. Identification of kit positive cells in the human urinary tract. *J Urol* 2004; 171: 2492-6.
27. Exintaris B, Nguyen DT, Dey A, Lang RJ. Spontaneous electrical activity in the prostate gland. *Auton Neurosci* 2006; 126-127: 371-9.
28. Reitz A, Stöhrer M, Kramer G, et al. European experience of 200 cases treated with botulinum A toxin injections into detrusor muscle for urinary incontinence due to neurogenic detrusor overactivity. *Eur Urol* 2004; 45: 510-5.
29. Haferkamp A, Schurch B, Reitz A, et al. Lack of ultrastructural detrusor changes following endoscopic injection of botulinum toxin type A in overactive neurogenic bladder. *Eur Urol* 2004; 46: 784-91.