

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**SIÇANLARDA TESTOSTERON ile OLUŞTURULAN
BENİGN PROSTAT HİPERPLAZİSİ (BPH) MODELİNDE,
BOTULİNUM TOKSİN ENJEKSİYONU ve LİZOZİM'İN
ANTİHİPERPLASTİK ETKİSİ**

Dr. OSMAN ERGÜN

**ÜROLOJİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. ALİM KOŞAR**

**Tez No:
2011 ISPARTA**

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**SİÇANLARDA TESTOSTERON ile OLUŞTURULAN
BENİGN PROSTAT HİPERPLAZİSİ (BPH) MODELİNDE,
BOTULİNUM TOKSİN ENJEKSİYONU ve LİZOZİM'İN
ANTİHİPERPLASTİK ETKİSİ**

Dr. OSMAN ERGÜN

**ÜROLOJİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. ALİM KOŞAR**

Tez No:

2011 ISPARTA

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2088-TU-10).

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana örnek teşkil eden ve bundan sonraki mesleki hayatımda da devamlı örnek alacağım, üroloji ve genel tıp alanındaki bilgi ve birikimlerini büyük bir şevk ve heyecanla bana aktaran, hekimliğin sadece teorik ve pratik bilgilerden ibaret olmadığını, sosyal ve kültürel faktörleri göz önüne almamız gerektiğini, hastaların sadece hasta değil aynı zamanda bir insan olduklarını, onlarında kendine has bir yaşam tarzlarının olduğunu, hastalıkları tedavi ederken tüm bu faktörleri göz önüne almam gerektiğini, insanı ve doğasını bir bütün olarak değerlendirmeden başarıya ulaşamayacağını bana öğreten, asistanı olmaktan gurur duyduğum hocam Prof. Dr. Alim KOŞAR'a teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

İhtisas sürem boyunca birlikte çalışmaktan gurur duyduğum ve eğitim sürecime büyük katkıları olan hocalarım; Prof. Dr. Tekin Ahmet Serel'e, Prof. Dr. Hakkı Perk'e, Doç. Dr. Sedat Soyupek'e, Doç. Dr. Abdullah Armağan'a ve Yrd. Doç. Dr. Taylan Oksay'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmanın her aşamasında desteklerini hiç esirgemeyen sayın hocalarım Pınar Aslan Koşar, İbrahim Onaran ve Hakan Darıcı'ya da teşekkürlerimi sunarım.

Zorlu 5 yıllık eğitim sürecinde bana desteklerini hiç eksik etmeyen aileme ve eşim Dr. Ayşegül ERGÜN'e teşekkür eder, kızlarım Nigar ve Havva'dan eğitim sürecim boyunca kendilerine yeterli zaman ayıramadığım için özür diler bundan sonraki süreçte her zaman yanlarında olacağıma söz veririm.

Dr. Osman ERGÜN

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|-------------|
| TEŞEKKÜR | i |
| İÇİNDEKİLER | ii |
| KISALTMALAR | iv |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | v |
| RESİMLER DİZİNİ | vi |
| TABLolar DİZİNİ | viii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Prostat Anatomisi | 3 |
| 2.2. Prostat Embriyolojisi | 7 |
| 2.3. Prostat Histolojisi | 9 |
| 2.4. Prostat Fizyolojisi | 11 |
| 2.5. Kemirgenlerde Prostat | 12 |
| 2.6. BPH'nın Tanımı, Etyolojisi, Epidemiyolojisi ve Patofizyolojisi | 14 |
| 2.7. Benign Prostat Hiperplazisinde Tedavi | 16 |
| 2.7.1. İzlem | 16 |
| 2.7.2. Medikal Tedaviler | 17 |
| 2.7.2.1. Alfa Adrenarjik Blokerler | 18 |
| 2.7.2.2. 5 α -Redüktaz İnhibitörleri | 19 |
| 2.7.2.3. Kombinasyon Tedavisi | 20 |
| 2.7.2.4. Fitoterapi | 20 |
| 2.7.3. Minimal İnvaziv Girişimler | 20 |
| 2.7.4. Cerrahi Tedaviler | 21 |
| 3. MATERYAL VE METOD | 23 |
| 3.1. Hayvanlar ve Gruplar | 23 |
| 3.2. Deneysel BPH Oluşturulması | 23 |
| 3.3. BOTOX Enjeksiyonu | 23 |
| 3.4. Lys (Lizozim) Hazırlanması ve Enjeksiyonu | 24 |
| 3.4.1. Gerekli Malzemeler | 24 |
| 3.4.1.1. Biyokimyasal maddeler ve Kitler | 24 |

| | |
|--|-----------|
| 3.4.1.2. Alet-Teçhizat | 24 |
| 3.4.1.3. Sarf Malzemeler..... | 24 |
| 3.4.2. Gereçlerden Bazılarının Genel Özellikleri ve Kullanım Amaçları..... | 25 |
| 3.4.2.1. pHM6 Memeli Ekspresyon Vektörü..... | 25 |
| 3.4.2.2. DOTAP (Lipozom)..... | 25 |
| 3.4.2.3. Endotoxin-free Plazmit Midiprep Kit [PLED-35 (Sigma)] | 26 |
| 3.4.3. Yöntem..... | 26 |
| 3.4.3.1. Plazmitlerin E. coli'ye Transformasyonu | 27 |
| 3.5. Deney Protokolü ve Cerrahi Teknik | 29 |
| 3.6. Histolojik Takip, Boyama ve Değerlendirme | 30 |
| 3.7. İstatistiki Analiz | 34 |
| 4. BULGULAR..... | 35 |
| 4.1. Ölçümsel Bulgular | 35 |
| 4.2. Histolojik Bulgular..... | 43 |
| 4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular | 55 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ | 60 |
| ÖZET..... | 81 |
| SUMMARY | 82 |
| KAYNAKLAR | 83 |
| EKLER..... | 91 |

KISALTMALAR

- AÜSS:** Alt üriner sistem semptomları
BMP: Kemik morfogenetik proteinleri
BOTOX: Botulinum toksin
BPH: Benign prostat hiperplazisi
cm: Santimetre
DHT: Dihidrotestosteron
DMSO: Dimetilsulfoksit
DNA: Deoksiribo Nükleik asit
EDTA: Ethylene Diamine Tetra Asetik Asit
EGF: Epidermal büyüme faktörü
FGF: Fibroblast büyüme faktörü
g: Gram
IL: İnterlökin
Lys: Lizozim
M: Molar
µg: Mikogram (1/1000 mg)
µL: Mikrolitre (1/1000 ml)
mm: Milimetre
mRNA: Mesajcı Ribo Nükleik asit
ng: Nano gram
PAF: Prostatik asit fosfataz
PBS: Fosfat tamponlu salin
PSA: Prostat spesifik antijen
Shh: Sonic Hedgehog
TGF: Dönüştürücü büyüme faktörü
TUR-P: Transüretral prostat rezeksiyonu
VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 1. Prostatın anatomik yerleşimi ve komşulukları..... | 3 |
| Şekil 2. Prostatın zonal anatomisi | 5 |
| Şekil 3. Prostatın anatomik olarak kanlanması | 6 |
| Şekil 4. Kemirgenlerde prostat anatomisi | 13 |
| Şekil 5. pHM6 memeli ekspresyon vektörü..... | 25 |
| Şekil 6. Histolojik skorlamaya göre BPH kesim değeri..... | 46 |
| Şekil 7. Histolojik skorlamaya göre prostat kanseri kesim değeri..... | 46 |

RESİMLER DİZİNİ

- Resim 1. Normal prostat dokusu. Asinus şekli düzgün, lümendeki salgı homojen ve bağ doku normal yoğunlukta görünmekte. Küçük resimde epiteli alçak prizmatik olarak görünmekte. Boya Hematoksilen-Eozin (H-E), büyütme 200X, küçük resim 400X. 43
- Resim 2. Hiperplastik prostat dokusu. Asinus epiteli prizmatik ve aşırı kıvrımlı, asinus şekli düzensiz ve bağ doku fibrotik olarak görünmekte. (H-E, 200X). 44
- Resim 3. Prostat dokusuna derecelendirilmiş çeşitli bez tipleri. Resimler; normal (A), villöz (B), papiller (C) ve kribriform (D) asinus tiplerini göstermekte. (H-E, sırasıyla 100X, 200X, 200X, 400X)..... 44
- Resim 4. Hiperplastik prostat dokusunda pilling up formasyonu oluşturmuş (yıldızlar) asinus görüntüsü. (H-E, 600X). 45
- Resim 5. Atipik hiperplastik prostat dokusu. Asinusların içi ve stroma neoplastik hücreler tarafından doldurulmuş durumda (H-E, 100X)..... 45
- Resim 6. Grup 1'e ait antikör eklenmemiş (negatif kontrol) prostat kesiti. Bağ doku endojen peroksidaz aktivitesinin yoğunluğundan dolayı yanacı pozitif boyama gösteriyor ancak epitel hücreleri antikör ile işaretlenmediği için boyama göstermemekte. Zıt boyama Hematoksilen, Büyütme 400X..... 55
- Resim 7. 1. gruba ait prostat kesiti. Aktif kaspaz 3 antikoru ile boyanan apoptotik epitel hücreleri kahverengi renkte görülüyor (oklar). Prostat salgısı ve bağ doku endojen peroksidaz aktivitesinin yoğunluğundan dolayı yanacı pozitif boyama gösteriyor. Zıt boyama Hematoksilen, Büyütme 400X. 56
- Resim 8. 2. gruba ait prostat kesiti. Aktif kaspaz 3 antikoru ile boyanan apoptotik epitel hücreleri kahverengi renkte görülüyor (oklar). Zıt boyama Hematoksilen, Büyütme 600X. 56
- Resim 9. 3. gruba ait prostat kesiti. Aktif kaspaz 3 antikoru ile boyanan apoptotik epitel hücreleri kahverengi renkte görülüyor (oklar). Zıt boyama Hematoksilen, Büyütme 600X. 57

- Resim 10. 4. gruba ait prostat kesiti. Aktif kaspaz 3 antikoru ile boyanan apoptotik epitel hücreleri kahverengi renkte görülüyor (oklar). Zıt boyama Hematoksilen, Büyütme 400X. 57
- Resim 11. 5. Gruptan lizozim verilen sıçanlara ait prostat örneği. Aktif kaspaz 3 antikoru ile boyanan apoptotik epitel hücreleri kahverengi renkte görülüyor (oklar). Zıt boyama Hematoksilen, Büyütme 600X..... 58
- Resim 12. 5. Gruptan botox verilen sıçanlara ait prostat örneği. Aktif kaspaz 3 antikoru ile boyanan apoptotik epitel hücreleri kahverengi renkte görülüyor (oklar). Zıt boyama Hematoksilen, Büyütme 600X..... 58

TABLOLAR DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Tablo 1. Prostat dokusunun histopatolojik skorlaması | 32 |
| Tablo 2. Grupların sıfırıncı gün vücut ağırlığı değerleri (Ortalama \pm Standart sapma) ve dağılımlarının normallik ve homojenlik anlamlılık düzeyi | 35 |
| Tablo 3. Gruplara göre 40 ve 47. günlerdeki ortalama vücut ağırlıkları ve gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi..... | 36 |
| Tablo 4. Grupların kendi içlerinde farklı tarihlerdeki vücut ağırlık ölçüm değerlerine göre analizi..... | 36 |
| Tablo 5. Grup 1'deki sıçanların prostat loplalarının farklı tarihlerde yapılan ölçümlere göre tahmini prostat ağırlıkları ortalamaları ve kendi içlerinde ölçüm verilerinin analizi. | 37 |
| Tablo 6. Grup 1'deki sıçanların 47. gündeki grup 2, 3, 4 ve 5'deki sıçanların BPH oluşumunun meydana geldiği düşünülen 40. gündeki tahmini prostat ağırlıklarının dağılımı | 38 |
| Tablo 7. Grup 1'deki sıçanların tahmini prostat ağırlığına göre grup 2, 3, 4 ve 5'deki hayvanların tahmini prostat ağırlıklarının karşılaştırmalı analizi..... | 38 |
| Tablo 8. Grup 2, 3, 4 ve 5'deki sıçanların tahmini prostat ağırlıkları ortalamaları, grupların normal dağılım durumu ve homojenliği, gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi..... | 38 |
| Tablo 9. Grup 2, 3 ve 4'deki sıçanların 47. gündeki tahmini prostat ağırlıkları dağılımı ve grup ortalamaları..... | 39 |
| Tablo 10. Tahmini prostat ağırlıkları bakımından grupların kendi aralarında karşılaştırmalı analizi | 39 |
| Tablo 11. Grup 3 ve 4'deki sıçanlar 40. ve 47. günlerdeki tahmini prostat ağırlık ortalamaları ve grupların kendi içlerindeki anlamlılık düzeyi..... | 40 |
| Tablo 12. Grup 5'deki sıçanların tahmini prostat ağırlıkları ortalamaları ve BOTOX ve Lys tedavisinin tahmini prostat ağırlığı üzerine birbirleri ile aralarındaki anlamlılık düzeyi..... | 40 |
| Tablo 13. Gruplara göre sıçanların cerrahi eksizyon sonrası hassas tartı ile ölçülen gerçek prostat ağırlıkları | 41 |

| | |
|---|----|
| Tablo 14. Grup 1 ve 2'deki sıçanların gerçek prostat ağırlıkları bakımından karşılaştırmalı analizi | 41 |
| Tablo 15. Gerçek prostat ağırlıkları bakımından grupların kendi aralarında karşılaştırmalı analizi | 42 |
| Tablo 16. Grup 5'deki sıçanların gerçek prostat ağırlıkları ortalamaları ve BOTOX ve Lys tedavisinin gerçek prostat ağırlığı üzerine birbirleri ile aralarındaki anlamlılık düzeyi..... | 43 |
| Tablo 17. Gruplara göre histolojik skor ortalamaları..... | 47 |
| Tablo 18. Grup 1, 2, 3, 4'ün histolojik skora göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi ve grup 5'in histolojik skora göre grup içindeki anlamlılık düzeyi..... | 48 |
| Tablo 19. Prostat asinüslerinin lümen şekline göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi..... | 48 |
| Tablo 20. Asinüslerin şekline göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi..... | 49 |
| Tablo 21. Asinüsler arası boşluğa göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi | 50 |
| Tablo 22. Stroma yönünden gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi | 50 |
| Tablo 23. Epitel şekline göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi..... | 51 |
| Tablo 24. Epitelyal tabaka sayısına göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi..... | 51 |
| Tablo 25. Çekirdek dizilimine göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi..... | 52 |
| Tablo 26. Epiteldeki hücre topluluk ve formasyonlarına göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi..... | 53 |
| Tablo 27. Epitel hücrelerinin çekirdek şekillerine göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi..... | 53 |
| Tablo 28. Alan başı mitoz sayısına göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi | 54 |
| Tablo 29. Bazal membran yapısına göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi..... | 54 |
| Tablo 30. Apoptozis durumuna göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi..... | 59 |

1. GİRİŞ

Benign prostat hiperplazisi (BPH) histopatolojik bir tanımlanma olup, prostatın stromal ve epitelial elemanlarının hiperplazisi olarak tanımlanmaktadır. Yaşlanma ile sıklığı artan ve kişilerin yaşam kalitelerini etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. Erkeklerdeki alt üriner sistem semptomlarının (AÜSS) en sık nedeni BPH'dır. Yaşlanma ile erkeklerde görülen AÜSS obstrüksiyona bağlı olabileceği gibi mesane işlev bozukluğu veya nörolojik hastalıklar gibi başka nedenlere de bağlı olabilir. AÜSS orta ve ileri yaş erkek nüfusunda sık görülmektedir ve yaşlanmaya bağlı hastalık insidansında da artış gözlenmektedir. Bu durum hem sağlık hem de ekonomi uzmanlarını endişelendirmektedir (1). BPH, bütün gelişmiş bilgilere karşın, hala oluşumunda etkili yaşlanma ve androjen varlığı dışında bir etkenin kesin olarak tanımlanamadığı bir hastalık konumundadır. Yapılan çalışmalar sonucunda hastalığın patofizyolojisi konusunda daha fazla bilgi edinilmiştir. Bu durumun doğal sonucu olarak da tedavi seçeneklerinde hızlı bir artış gözlemlenmiştir. Alternatif tedavi yöntemlerinin artması biz hekimlere önemli bir rahatlık sağlamaktadır. Geçen yüzyılın son çeyreğine kadar BPH tedavisinde iki çeşit cerrahi yaklaşım (açık prostatektomi, Transüretral prostat rezeksiyonu) ön plandayken, zaman içerisinde minimal invaziv tedavi seçeneklerinin ve medikal tedavinin tanımlanması ile birlikte alternatif tedavi yöntemleri de uygulanmaya başlanmıştır.

Şu an için BPH tedavisinde kullanılan medikal tedaviler beklendiği kadar yüz güldürücü değildir. Çünkü medikal tedavide kullanılan ilaçlar BPH'ı geriletme veya tedavi etmeye yönelik değil sadece hastada oluşan AÜSS'nı düzeltme veya hafifletmeye yöneliktir. Bundan dolayı BPH'ın medikal tedavisi konusunda ilaç firmaları ve çeşitli kuruluşlar her geçen yıl harcamalarını arttırmakta ve bu alandaki çalışmalar için genel bütçelerinden önemli miktarda para ayırmaktadırlar. Bu konuda karşılaşılan en büyük sıkıntı bulunan tedavi yöntemlerinin gerek etik gerekse de kanuni yönden direkt olarak insan üzerinde uygulanamamasıdır. Bu durum hayvan modelleri üzerinde yapılan araştırmaların önemini arttırmıştır. İnsan prostat morfolojisini ve patolojisini en güzel taklit eden hayvan modeli köpekler üzerinde oluşturulabilmektedir. Ancak yüksek omurgalılar sınıfına giren bu hayvanlara yeterli sayıda ulaşılamamakta ve maliyet çok yüksek olmaktadır. Bu bakımdan prostat

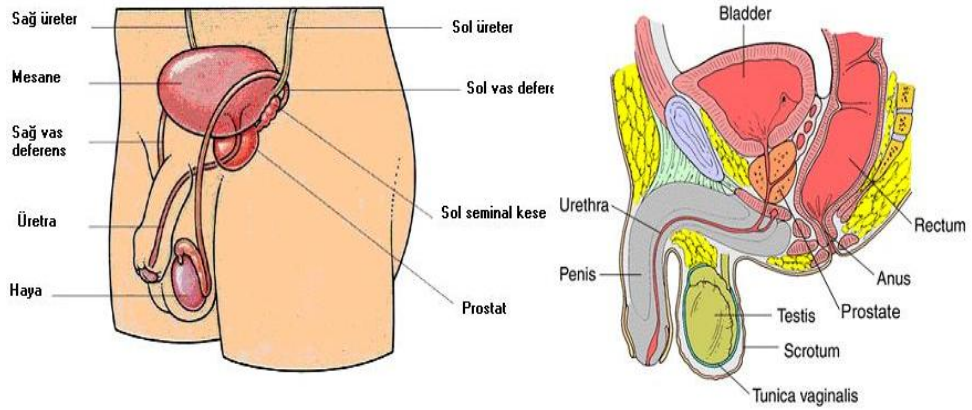
üzerine yapılan çalışmalar obstrüktif patern oluşturulmamasına da insan prostatının morfoloji ve patolojisini en güzel taklit eden fareler ve sıçanlar üzerinde yapılmaktadır. Literatür incelendiğinde testosteron replasmanı yapılarak sıçanlarda BPH oluşturulabildiği bildirilmektedir (2-6). BPH tedavisinde güncel konulardan biride prostata intraprostatik botulinum toksin (BOTOX) enjeksiyonudur. Literatür incelendiğinde bu konuda yapılan çalışmaların randomize kontrollü olmadığı ve çelişkili sonuçların verildiği gözlemlenmektedir. Bu çalışmaların az bir kısmı insanlar üzerinde yapılmış olup çoğu köpek ve sıçan prostat dokuları üzerinde gerçekleştirilmiştir (7-13). Prostat sekretuar bir organdır. Prostat sekresyonunun içinde değişik birçok molekül ve madde bulunmaktadır, bunlardan bir tanesi de lizozim'dir (Lys). Lys'in antibakteriyel etkisinin yanında antitümör ve immünomodülatör etkileri de vardır (14). Bu çalışmadaki amacımız sıçanlarda BPH modeli oluşturmak ve BPH oluşumu esnasında meydana gelen histopatolojik değişiklikleri ortaya koymaktır. Oluşturduğumuz BPH modeli üzerinde intraprostatik BOTOX ve Lys enjeksiyonunun prostat dokusunda meydana getirdiği etkileri değerlendirmeyi ve histopatolojik değişiklikleri ortaya koymayı amaçlıyoruz. BPH'nin dünya üzerindeki erkek nüfusunu yaşlanmaya bağlı olarak daha çok etkilemesinden ve bu konudaki non invaziv tedavilerin yetersiz kalmasından dolayı bu çalışmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Prostat Anatomisi

Normal prostat, elastik bir organdır. Şekli klasik olarak ters çevrilmiş ve sıkıştırılmış koni olarak tarif edilir. Erişkinde normal ağırlığı 20 gr kadardır. Kranio-kaudal çapı yaklaşık 4 cm, ön-arka çapı yaklaşık 2,5 cm ve sağ sol çapı yaklaşık 3 cm'dir. Tabanı mesane tabanına yaslanır ve bu yapı ile devamlılık içerisinde. Apeksi ise inferiora, ürogenital diaframın süperior fasyası üzerine uzanır.

Prostatın posterior, anterior ve 2 adet inferolateral yüzeyi vardır (Şekil 1). Prostatın posterior yüzeyi transvers düzlemde düz, vertikal düzlemde ise biraz konvexdir. Posterior komşuluğundaki rektum ile arasında gevşek bir bağ dokusu bulunur. Bu bölgede Denonviller fasyası ile rektumdan ayrılır. Denonviller fasyası embriyolojik dönemde pelvik tabana doğru ilerleyen rektovezikal peritoneal boşluğun daha sonra oblitere olması sonucu oluşur ve prostat ile rektum arasında önemli bir cerrahi ve anatomik bariyer işlevi görür. Bu sınır radikal ürolojik pelvik cerrahilerde çok önemli yer tutmaktadır. Posteriordan mesane ile birleştiği bölgede vesicula seminalisler ve vas deferenslerin ampullası bulunmaktadır.



Şekil 1. Prostatın anatomik yerleşimi ve komşulukları

Prostatın anterior yüzeyi ile Symphysis pubis arasında yaklaşık 2 cm'lik bir mesafe bulunur. Bu boşluğu Santorini ven pleksusu ve bir miktar yağ dokusu

doldurur. Ligamentum puboprostatikum aracılığı ile her iki tarafta pubisin arka yüzüne tutunur.

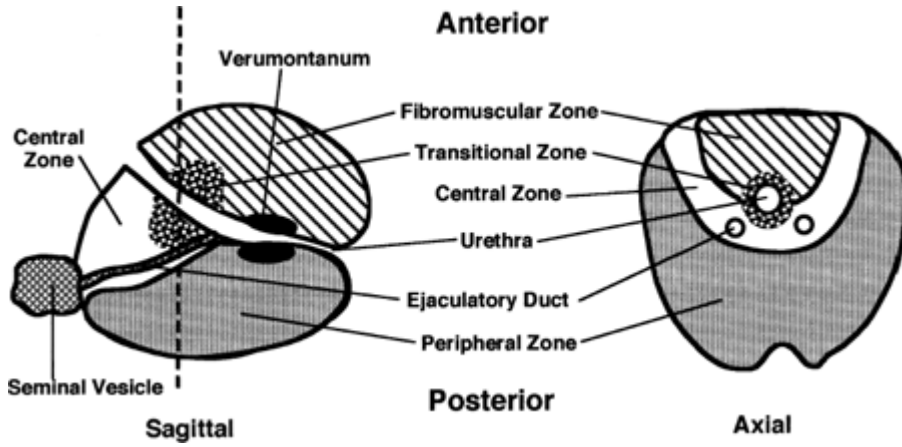
Prostatın lateral komşuluklarını, inferiorda bilateral levator ani kasları ve süperiorda obturator internus kasları oluşturur. Levator ani kasının üzerini örten pariyetal endopelvik fasya prostatın üzerinde 'lateral prostatik fasya' olarak adlandırılır (15). Kavernoza sinirler ve damarlar prostatın posterolateral yüzünde pariyetal endopelvik fasya içinde seyrederek. Bu oluşumların yerlerinin bilinmesi sinir koruyucu radikal prostatektomilerde önemlidir.

Prostat, bağ dokusu ve kas elemanlarından oluşan prostatı tamamen saran ve sıkıca yapışık dayanıklı fibröz kapsülle çevrilidir. Kapsül apekte eksternal sfinkter, tabanda mesane ve seminal keseler ile devam ederken ön lateral yüzlerde endopelvik fasyayla birleşir. Ayrı bir anatomik yapı olmayıp 2–3 mm kalınlığındadır. Parankimi çevre bağ dokusundan ayırıyor gibi görünmekle birlikte mikroskopik olarak prostat bezinin bir parçasıdır ve ondan ayrılamaz. İlerleyen yaşla birlikte içteki transizyonel zona ait glandüler hücreler hiperplaziye uğrar ve iç kısım hacimce genişlemeye başlar ve çevre dokuları sıkıştırır. Prostatın dış kısmındaki sıkışmış olan bu yapıya cerrahi kapsül denir.

Posterior üretra prostat içinden geçer ve yaklaşık 2,5 cm uzunluktadır. Prostat içinde apeks ve bazis arasındaki mesafenin hemen hemen ortasında öne doğru 35 derecelik bir açı yapar. Ejakulator kanallar prostata posteriordan girerler ve oblik bir seyirle öne ve aşağıya doğru ilerleyerek eksternal sfinkterin hemen proksimalinde veru montanumun içinden prostatik üretraya açılırlar.

Mc Neal, 1968'de bugünün zonal anatomi kavramını geliştirmiştir (16). Prostatı anterior fibromuskuler stroma, transizyonel zon, santral zon ve periferik zon olarak ayırmıştır (Şekil 2). Transizyonel zon prostat bez yapısının %5-10'unu oluşturur. Preprostatik üretranın alt, arka ve yanlarını saran. Fibromuskuler bir bant ile prostatın diğer bez yapılarından ayrılır. Transizyonel zon'dan BPH gelişimi esnasında fibromuskuler bant periferik doğru itilerek cerrahi kapsülü oluşturur. Adenokarsinomların %20'si bu zondan kaynaklanır. Santral zon prostat bez yapısının

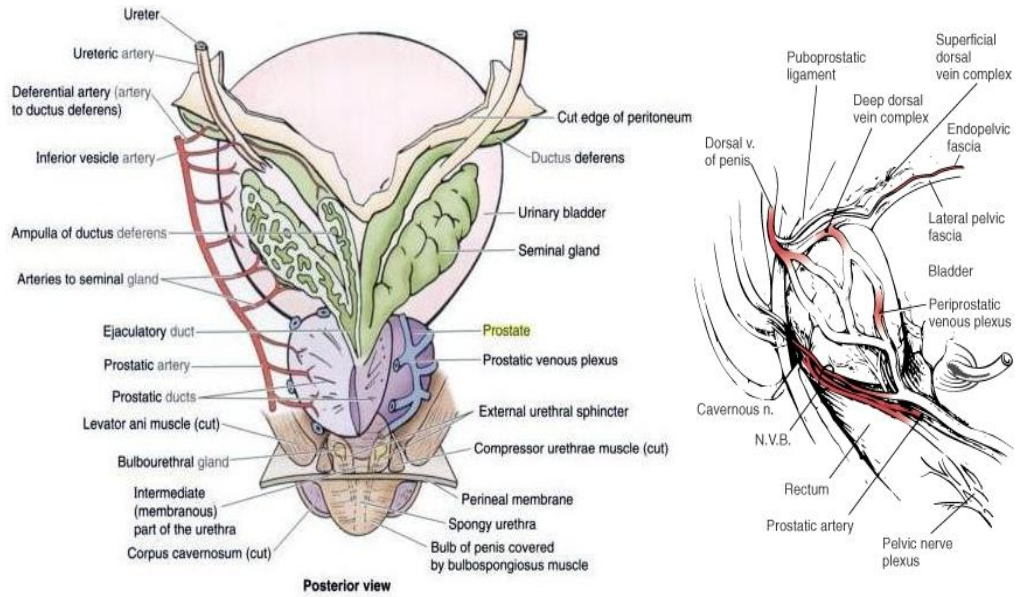
%25'ini oluşturur. Koni şeklinde ejakulatuvar kanalların çevresini sarar. Bu zondaki bez yapıları embriyolojik olarak Wolf kanalı kaynaklıdır. Prostat kanserlerinin %1-5'i bu zondan gelişir. Periferal zon prostat bez yapısının %70'ini oluşturur. Prostatın arka ve her iki yanını kaplar. Prostat kanserlerinin %70'i buradan köken alır ve kronik prostatit en sık bu zonu etkiler. Anterior fibromuskuler stroma prostat kitlesinin %30'undan fazlasını oluşturur. Bez yapısı içermez. Mesane tabanından apeksdeki eksterna sfinktere kadar uzanır. Bu zondan nadiren kanser gelişir.



Şekil 2. Prostatın zonal anatomisi

Prostatın arteriyel dolaşımı inferior vezikal arterden köken alır. Bu arter, hipogastrik arterin anterior parçasının bir dalıdır. İnferior vezikal arter vezika seminalislere, mesane tabanına ve prostata vezikodeferansiyel dalları verdikten sonra prostatta; üretral ve kapsüler dallar vererek sonlanır (Şekil 3). Üretral arterler, prostatovezikal bileşkeyi posterolateralden girerler ve üretraya dik olarak içe doğru seyrederek. Mesane boynu ile prostatın periüretral kısmını beslerler (17). BPH'ya bağlı prostat cerrahisinde görülen kanamalar genellikle bu daldan ve özellikle bu dalın posterior segmentlerinden kaynaklanır. Kapsüler arter prostatik arterin ikinci ana dalıdır. Büyük bir kısmı kavernoöz sinirlerle beraber prostatın posterolateralinde seyrederek (nörovasküler yapı) ve pelvik diyaframda sonlanır. Prostatın dış yüzeyini beslerler. Kapsüler arterler ve venler zengin sinir fibrilleri tarafından sarılmıştır. Dolayısıyla kapsüler damarlar, korpus kavernozumları inerve eden pelvik pleksusdan kaynaklanan küçük sinir dallarının olduğu bölgeyi göstermesi açısından önemlidir (18). Arteria pudentalis interna ve arteria rektalis media da prostatın arteriyel beslenmesine yardımcı olan diğer arterlerdir.

Prostatın venöz drenajı esas olarak prostatın anterior ve lateralinde bulunan anterior venöz pleksus (Santoroni) yoluyla olur (Şekil 3). Penisin derin dorsal veni Buck fasyasının altında korpus kavernozumlar arasından penisi terk eder ve ürogenital diyafragmayı delerek yüzeysel, sağ ve sol lateral venöz pleksuslar olmak üzere üç gruba ayrılır (19). Yüzeysel dallar puboprostatik ligamentlerin arasından prostat ve mesane boynuna doğru orta hatta uzanır. Lateral venöz pleksuslar ve ana ven yapısı prostatik ve endopelvik fasyalar tarafından sarılmıştır. Prostatik venöz pleksusun bir kısmı vezikal venöz pleksusa ve bu yolla internal pudental vene dökülür, büyük bir kısmı ise inferior vesikal venlere ve bu yolla internal iliak venlere dökülür. Pelvik kemiklerin emisser venleri ve vertebral pleksus venleri ile prostatın venleri arasında bağlantılar vardır. Batson venleri olarak da bilinen bu bağlantıların prostattaki enfeksiyon veya tümörün pelvik kemikler ve vertebralara kolayca yayılmasını sağladığı düşünülür (17).



Şekil 3. Prostatın anatomik olarak kanlanması

Prostatın lenfatikleri obturator, presakral ve internal pudental lenf nodları ile temel olarak internal iliak lenf nodlarına dökülür. Prostattan çıkan bazı az sayıda lenfatikler ise sakral ve presiatik lenf nodlarına dökülerler.

Prostat sempatik, parasempatik ve somatik innervasyona sahiptir. Sempatik innervasyon L1 ve L2'den kaynaklanan süperior hipogastrik pleksus yoluyla gelir.

Parasempatik ve somatik innervasyon S2, S3 ve S4'den kaynaklanan inferior hipogastrik pleksus ve pudental sinir yoluyla olur. Sempatik ve parasempatik sinirler anal hattın 5-11 cm yukarıda rektumun her iki yanında seminal keselerin ucu hizasında retroperitoneal bölgede pelvik pleksusu oluştururlar. Prostatı inerve eden sinirler prostata girmeden önce prostat kapsülü ve Denonvillier fasyasının dışında seyrederek. Sinirler kapsüler arter dallarını takip ederek glandüler ve stromal elemanları inerve ederler. Korpus kavernozum ve membranaöz üretraya giden sinir lifleri ise lateral pelvik fasyanın içerisinde prostat kapsülünün dışında dorsolateral olarak prostat ve rektum arasında seyrederek. Bu yapı radikal prostatektomilerde erektil fonksiyonun korunması açısından hayati öneme sahiptir. Yerleşim yeri ancak cerrahın küçük kapsüler damarları belirlemesi ile ortaya konulabilir. Kapsüler damarların ve sinir demetlerinin oluşturduğu bu yapıya Walsh'ın nörovasküler demeti denir (20).

2.2. Prostat Embriyolojisi

Prostat glandi, embriyonik hayatın 12. haftasından itibaren, endodermden köken alan ürogenital sinustan gelişir. Primitif ürogenital sinusun mezonefrik kanala yakın olan kısmı, vezikouretral kanal halini alır. Mezonefrik kanaldan uzak olan kısmı gerçek ürogenital sinusu oluşturur. Verumontanumun her iki yanında, ürogenital sinusun posteriorunda oluşan küçük 5 tane epitelyal tomurcuklar, prostatı oluşturmak üzere mezenkime penetre olur. Üst çift tomurcuklar prostatın mezoderm orjinli iç zonunu oluşturur. Alt dallar ise prostatın dış zonunu oluşturur ve endoderm orjinlidir. Bu embriyolojik gelişimin önemi prostat kanserlerinin dış zondan kaynaklanmasından, BPH'nin ise iç zondan kaynaklanmasından dolayı önemlidir. Prostatın her iki zonu üretranın etrafında konsantrik bir daire olarak gelişir. Dış yandaki uzun dallanmış kanallar, gerçek prostat dokusunun yoğun dış tabakasını oluşturur.

Prostat embriyonel hayatın dördüncü ayında farklılaşmasını büyük ölçüde tamamlamıştır. Fakat başkalaşımı tüm hayat boyunca devam eder. Aktif bir süreç olan başkalaşımın devam etmesi BPH'nin nedeni olarak gösterilmektedir (21).

Doğumdan 6-7 hafta sonrasına dek glandda belirgin duktal hiperplazi ve duktal epitelde skuamöz metaplazi oluşur. Bu değişiklikler fütal dolaşımında bulunan maternal östrojenlere bağlanmaktadır. Bu süre sonunda puberteye dek prostat boyutlarında yavaş fakat devamlı bir artış gözlenir. Pubertede ise gland boyutları altı ay gibi kısa bir zamanda iki misline katlanmaktadır. Bu hızlı boyut artışının ana nedeni glandüler dokudaki testosterona bağımlı hiperplazidir. Sonuçta stromal elemanların prostattaki oranı azalmakta ve prostat erişkin formunu almaktadır. Böylece prostat yaklaşık 18-20 gr ağırlığa ve 3x2,5x2,5 cm (transvers x antero-posterior x sagittal) boyutlara ulaşır.

Androjenlerin prostatik gelişim için gerekli olduğu bilinmektedir. Ancak etkinliklerini nasıl gösterdikleri halen tartışma konusudur. Bu konudaki bilgiler çoğunlukla kemirgen temel bilim çalışmalarına dayanmaktadır. Kemirgenlerden elde edilen bilgiler insanlar içinde öngörülse de her zaman doğru olmadığı açıktır. Androjenler mezenkimal ve parakrin yollarla prostat morfogenezini ve hücrenel başkalaşımı düzenlemektedir. Bu mekanizmanın araştırılmasında son zamanlarda bazı genlerin önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Bu genlerden en dikkat çekicileri; homeobox genlerden Nkx ailesine ait Nkx 3.1, Hox gen ailesinden Hoxb 13, Hoxa 10 ve forkhead Fox A1 genleridir (22-24). Sonic Hedgehog (Shh)'lar, Kemik morfogenetik proteinleri (BMP), Fibroblast büyüme faktörleri (FGF) ve Wnt'lerin kendi aralarındaki ve yukarıda bahsettiğimiz genlerle etkileşimleri önemlidir.

BMP'ler transforming growth factor (TGF) üst ailesine üyedirler. Genel olarak gelişim sırasında inhibitör rol oynarlar. BMP 4'ün prostat büyümesinin negatif düzenlemesinde rolü varken, BMP 7'nin büyümeyi uyarıcı etkisi vardır (25).

Shh mezenkimal arayüzdeki epitelyal hücreler tarafından salgılanan bir glikoproteindir. Prostatın büyüme ve dallanma morfogenezinde önemli rol oynar. Shh indüksiyonu androjen bağımlıdır ve bu yolun engellenmesi prostatik kanal oluşumunu bozar. BMP 4 ve FGF 10 ile etkileşimleri sayesinde Shh'nın duktal gelişimde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (26).

FGF 10 prostatik tomurcuklanma, duktal gelişim ve dallanma morfogenezinde önemli bir faktördür (27). Shh, BMP 7, Hoxb 13 ve Nkx 3.1 gibi düzenleyici genlerin ekspresyonunu arttırırken BMP 4 seviyelerini düşürerek prostatik duktal gelişim üzerine uyarıcı etki gösterir. İnsülin benzeri büyüme faktörü, TGF alfa ve beta da prostat gelişiminde rol oynamaktadır.

DHT dışında prostat gelişiminde etkili bir diğer hormon östrojendir. İnsanlarda maternal ve plasental östrojenlerin etkisi altında prostatik epitelda yoğun skuamöz metaplazi görülür ve doğum sonrasında östrojen seviyesindeki düşmeye bağlı olarak bu tabaka dökülür (28). Östrojen'in etkisini hem stromada hem de epitelda gösterdiği düşünülmektedir (29). Son dönemde yapılan çalışmalarda embriyolojik dönemde prostat gelişiminde rol alan bu sistemlerin aynı zamanda ileri dönemde malign ve benign hastalık zeminini oluşturduğu görülmektedir (30).

2.3. Prostat Histolojisi

Prostat dokusu bağ ve kas dokusundan oluşan fibromuskuler stroma ve bu yapı ile içiçe geçmiş olan epitelyal glandüler elemanlardan oluşur. Tubulo alveolar yapıdaki bez dokusu histolojik olarak bölgelere ayrılır. Bez epiteli esas olarak tek katlı prizmatik ise de yer yer çok sıralı görünüm kazanır. Prostat taşlarının bulunduğu durumlarda isoprismatik ve hatta yassı epitel karakterine geçer. Bez içinde çoğu yerde epitelden lümeneye doğru villöz veya papiller uzantılar bulunur. Glandüler yapıların belirgin bazal membranları vardır ve birbirlerinden fibromuskuler stroma ile ayrılmışlardır. Glandlar 16 ile 32 arasında değişen sayıda ekskretuar kanalla verumontanumun iki yanından prostatik üretraya açılmaktadır. Gland lümeni ise 40 mikron ile 2 mm arasında değişen çapa sahiptir. Glandüler kompeneti ise duktus ve asini yapıları meydana getirir.

Epitelyal bölümde, kök hücreler, bazal epitelyal hücreler, uzun geçiş hücreleri, nöroendokrin hücreler ve luminal sekretuar hücreler bulunur (31). Stromal bölüm yapısal desteği sağlar ve başlıca bağ dokusu, düz kas hücreleri ve fibroblastları içerir (32).

Prostatta en fazla bulunan ve uzun boylu diferansiasyonunu tamamlamış kolumnar sekretuvar epitelyal hücrelerdir. Düşük proliferatif indekse sahiptirler (31,32). Epitelyal hücrelerin en önemli bölümünü oluştururlar. Prostatik asit fosfataz (PAF) ve prostat spesifik antijen (PSA) sentezleyen hücrelerdir. Yalnızca prostat asinuslarında değil prostatik kanallar ve prostatik üretrada da bulunurlar. Sıralanmış çubuk çitler şeklinde görünürler, adhezyon molekülleri ile bir diğer hücre ile bağlantılıdır. Bu hücrelerin apikal kısımları lümene doğru uzanırken tabanı integrin reseptörleri aracılığı ile bazal membrana yapışmıştır (31). Bu hücreler androjen reseptörü içermektedir (33).

Nöroendokrin hücreler normal prostat glandında intraglandüler ve intraduktal yerleşimli olup, sekretuvar epitele oldukça bağımlı olan hibrid epitelyal hücrelerdir (31). Gland boyunca dağılmış olmalarına rağmen periüretral kanallar ve verrumontanum çevresinde yoğun olarak bulunurlar. Androjen reseptörü, PSA ve Bcl-2 eksprese etmezler. Tipik olarak kromogranin-A, nöronspesifik enolaz, serotonin ve sinaptozin eksprese ederler (34). Nöroendokrin hücrelerin prostat epitelunun büyüme, diferansiasyon ve sekretuvar aktivitesini parakrin ve otokrin kontrol aracılığı ile ayarladığı düşünülmektedir (34). Nöroendokrin hücreler regülatuvar aktivitelerini, hormonal polipeptid veya bu hücreler için en sık belirleyici olan serotonin gibi biyojenik aminleri salgılayarak gösterirler. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ölçümlerinde normal insan prostat dokusunun her gramı 1400 ng serotonin içermektedir ve buda bu hücrelerin önemini vurgulamaktadır (20).

Geçici güçlenen hücreler epitelyal bölümün bazal tabakasında lokalizadirlir. Undiferansiye kök hücreleri ile bazal tabaka arasında bulunurlar (35). Androjen reseptörleri negatiftir. Yüksek molekül ağırlıklı keratinlere 5, 8, 14, 18 sahiptirler. Bu keratinler diferansiye sekretuvar hücreler için sekretuvar biyomarkerlardır. Geçici güçlenen hücreler p53 ile ilişkili p63, mRNA, c-MET, hepatosit büyüme faktörü için plazma reseptörü ve Bcl-2 üretirler (36).

Bazal hücreler bazal membranda bulunurlar. Stoplazmadan fakir, iyi sınırlı, küboidal veya kısa kolumnar hücrelerdir. Bazal hücrelerin biyolojisinin anlaşılması önemlidir, çünkü birçok neoplazmın kök hücre hastalığı ile ilgili olduğuna ait

bulgular vardır (31,35). Sekretuar hücrelerden farklı olarak PAF ve PSA ile boyanma göstermezler. Fokal olarak androjen reseptörleri ile güçlü boyandıkları gösterilmiştir (37). Androjen baskılanması bazal hücreleri etkilemezken, daha diferansiye hücrelerde apoptozisi başlatır. Kastrasyondan sonra, testosteron verilmesi ile prostat büyümesi kök hücre çoğalması ile gerçekleşir (38).

Stroma, fibröz ve muskuler dokudan yapılmıştır. Düz kas hücreleri asiner yapının ve kapsülün etrafında demetler oluşturur. Nöral stimülasyon ile ejakulat sıvısının mekanik dışa atılımında rol oynar. Prostatik stromal hücreler androjen reseptörü içerirler (37). Tüm memeli hücreleri mikrotübül ağı, mikrofilamanlar ve orta filamanlar içeren hücre içi sitomatriks veya sitoskeloton içerirler. Sitomatriks nüklear matriks ile birleşerek hücrenin merkezinde sonlanır. Prostatik epitelyal hücreler böylece DNA'dan plazma membranına matriks sistemi aracılığı ile direkt bağlantı kurmuş olurlar. Sitomatriks daha sonra bazal membran, ekstrasellüler matriks ve stromanın asıl maddesi ile direkt ilişki kurar. Bu iç içe giren dokunun tümü doku matriksi olarak adlandırılır (31). Özet olarak, bir hücrenin şekli, o hücrenin fonksiyon ve histolojisini belirler. Bu şekil, hücreyi DNA'ya sıkıca bağlayan, doku matriks sisteminin biçimlenmesi ile belirlenir. Bu sayede DNA uygun bir yöntemle kendi çevresini algılar ve cevap verir. Kanserde, doku matriks sisteminin kompozisyonunda dramatik bir değişiklik vardır (39).

2.4. Prostat Fizyolojisi

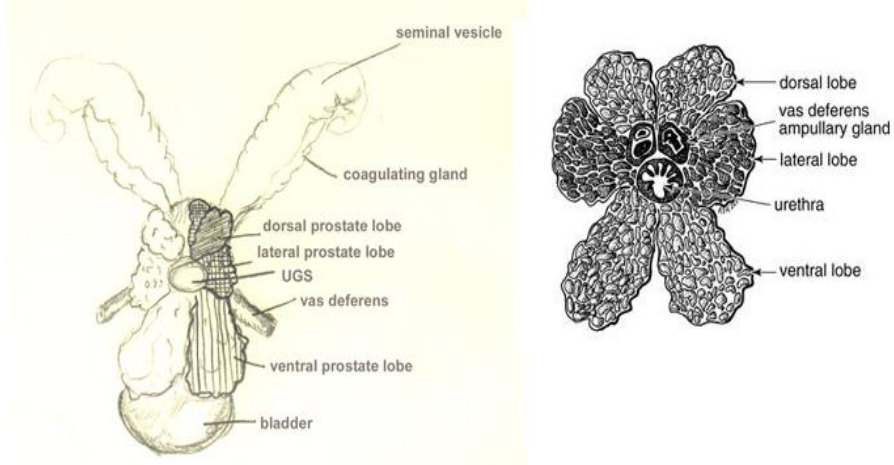
Prostat bezi görünüm ve renk olarak süte benzer bir sıvı salgılar. Bu sıvı sitrat iyonları, kalsiyum, fosfat iyonları, bir pıhtılaşma enzimi ve fibrinolizin içerir. Emisyon sırasında, prostat bezinin kapsülü, vas deferensle eşzamanlı olarak kasılırlar. Böylece ince, sütümsü prostat sıvısı, semen kitlesine eklenir. Prostat salgısının alkalen yapısı fertilizasyonda önemlidir. Çünkü vas deferens'den gelen ejakulat bileşeni asidik özelliktedir. Kadınların vajen salgılarında asidiktir. Böyle asidik bir ortamda spermin en uygun canlılık ve hareketlilik göstermesi pek mümkün değildir. İşte bu noktada prostat sıvısının alkalen yapısı önem kazanır. Asidik ortamı nötralize ederek spermin hareket ve fertilizasyon yeteneğinin artmasını sağlar.

PSA prostatik epiteldan salgılanan ve ejakulatın seminal plazmasında bulunan bir proteinaz olup molekül ağırlığı 29 kilodaltondur. PSA'nın tripsin ve kimotripsin benzeri enzimatik aktivitesi vardır. PSA'nın ejakulat pıhtısını eritmek gibi bir özelliği vardır. Ancak bu mekanizmanın fertilizasyon için önemi tam olarak aydınlatılmamıştır. Aynı zamanda prostat kanseri tanı, tedavi ve takibinde kullanılan çok önemli bir belirteçtir.

Plazmadaki serbest testosteron prostat dokusunda steroidlere metabolize edilir. Testosteron'un büyük kısmı 5 alfa redüktaz enzimi ile dihidrotestosterona (DHT) dönüştürülür. DHT prostatın embriyolojik gelişiminde önemli bir etkiye sahiptir ve erkek dış genital organlarının farklılaşmasını sağlar(40).

2.5. Kemirgenlerde Prostat

Kemirgen prostatı ile insan prostatı birbirinin tam olarak homoloğu değildir. Ancak her iki prostat dokusu da benzer şekilde üretra duvarından köken alır. Her iki cinsteki bezlerin bileşenleri arasında belirgin histolojik benzerlik vardır. Kemirgenlerdeki prostat dokusu insan prostatından farklı olarak birçok lobun birleşiminden oluşmaktadır. Geçen yüzyılın başlarında bu lobların anatomik olarak adlandırılması tartışmalara yol açmıştır. Günümüzdeki adlandırma Deanesly and Parke'nin 1933 yılındaki sınıflandırmasına göre yapılmaktadır (41). Prostatı ventral, dorsal ve anterior lob olarak ayırmışlardır. Anterior loba ampullar lobun küçük orta bez ile birleştiğini tarif etmişlerdir. 1941 yılında Fekete bu tübular orta bezin duktus deferense komşu olarak uzandığını ve duktusun ampullasına açıldığını tarif etmiştir (42). Burrows ise 1945 yılında bu bir çift anterior loba 'coagulating glands' adını vermiştir (43). Günümüzde kemirgenlerde prostat lobları dorsal, ventral, lateral ve anterior (coagulating glands) loblar olarak adlandırılmaktadır (Şekil 4).



Şekil 4. Kemirgenlerde prostat anatomisi

Prostat bezinin gelişimi gelişmekte olan mesanenin hemen altındaki endodermal kökenli ürogenital sinusdan epitelyal tomurcuklanma ile başlar. Bu tomurcuklanma prostat gelişiminde görülen ilk bulgudur. Farelerde gestasyonun 17,5'inci gününde sıçanlarda 19. Günde ortaya çıkmaktadır (44). Ürogenital sinusun dorsokranial, dorsokaudal ve ventral bölgelerinden başlar. Bunu bölgesel mezenşimin uyarıcı etkisi altındaki lateral ve dorsomedial bölgelerden tomurcuklanma takip eder (45,46). Bu büyüme ve dallanma adölesan döneme kadar (4-8 hafta) devam eder ve gelişen epitelyal tomurcuklar prostat bezinin değişik loblarını (dorsal, lateral ve ventral) oluştururlar (47). İnsan fetüslerinde ventral tomurcuk regrese olur. Bu yüzden kemirgenlerdeki ventral prostat lobunun insanlarda homoloğu yoktur (48).

Prostat dokusunun gelişimi ürogenital sinusun epitelyal ve mezenkimal katmaları arasındaki sinyal etkileşimine bağlıdır. Embriyonel dönemin 15. gününde sıçan ürogenital sinusunda düz kas dokuları gözlenmeye başlar ve muhtemelen epitelyal sinyallere yanıt olarak mezenkimal hücrelerin farklılaşması ile oluşur (49). Üretral epitelun etrafını çevreleyen mezenkim 3 zona ayrılmaktadır. Periüretral mezenkimin ilk zonu hemen bazal membranın komşuluğundadır. Bu subepitelyal zon embriyonel yaşamın 15. Gününde düz kas dokusu farklılaşmasının başladığı bir zon ile çevrilidir. Bu tabakada ventral mezenkimal yatağı içeren 3. bir mezenkimal zon ile parsiyel olarak çevrilidir. Düz kas dokusu üretrayı çevreler ve proksimal bölümde detrüssör kası ile karışarak devam eder. Mesanede düz kas dokusu kalındır ve

mesane fonksiyonu için gerekli destek ve esnekliği sağlar. Düz kas dokusu üretrada üretral epiteli ve periüretral mezenkimi örten bir tüp formasyonu oluşturur. Üretra ve mesanenin düz kas dokusu tabakası mesanenin altında ventral mezenkimal yatağı içeren prostatın köken aldığı bölgede gözlemlenir. Prostat ve diğer organlardaki düz kas farklılaşması epitelyal sinyaller tarafından düzenleniyor gibi durmaktadır. Bu durum insan veya sıçan ürogenital epiteli kullanılarak yapılan doku rekombinasyon çalışmalarında gösterilmiştir. İnsan prostatik epiteli mezenkimal dokudan kalın bir düz kas tabakası oluşumunu indüklemekte iken, kemirgen prostatik epiteli ince bir düz kas dokusu farklılaşmasını indüklemektedir (49). Düz kas farklılaşmasında rol oynayan epiteliden mezenkime olan sinyalizasyonun doğası bilinmemektedir. Bununla birlikte stromal hücre kültürlerinde TGF beta ailesi üyeleri kültürde düz kas markerlarının ekspresyonuna neden olmaktadır (50). Prostatın duktal tomurcuklanma ve farklılaşmasında birçok değişik büyüme ve sinyalizasyon faktörleri rol oynar. Farelerde embriyonik dönemde prostat dokusunun geliştiği mezenkim östrojen reseptörü eksprese ederken, epitel etmez (51). Bununla birlikte prostat epitelinin luminal tabakası androjen bağımlı sekretuar hücreleri içerir (52). Yapılan çalışmalarda prostat epitelundaki hücresel proliferasyonun daha çok distal uçta yoğunlaştığı gözlemlenmiştir. Kanalların proksimal alanlarının ise nöroepitelyal prostat kanseri gelişimine katkısı olabilecek nöroendokrin androjene duyarlı hücreler içerdiği düşünülmektedir (53).

2.6. BPH'nın Tanımı, Etyolojisi, Epidemiyolojisi ve Patofizyolojisi

BPH'nın standardize bir tanımı yoktur. Prostatın periüretral bölgesindeki epitelyal ve stromal hücrelerin sayıca artması (hiperplazi) ile karakterizedir. Bu durumun ya epitelyal ve stromal proliferasyon veya apoptosiz azalması veya her iki durum nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir. BPH'nın başlangıç safhalarında hızlı proliferasyon olmasına karşın, hastalığın oturmuş evrelerinde proliferasyon hızında düşüş olabilmektedir. Prostatın büyüklüğü doğum ile puberte arasındaki dönemde çok az değişir. Puberte döneminde prostatın büyüklüğünde hızlı bir artış meydana gelir. Erkeklerde 30 yaşından sonra normal prostat dokusunun büyüklüğündeki artış yıllık ortalama 0,4 gr'dır (54). BPH insidansı yaşla birlikte artmaktadır ve dokuzuncu dekatta %88 oranında histolojik olarak BPH tespit edilmektedir (1). Yapılan

epidemiyolojik çalışmalarda klinik BPH için değişik insidans yüzdeleri bildirilmektedir. Ancak 40-49 yaşları arası erkeklerin %13'ünde ve 70 yaşından büyük erkeklerin %28'inde orta ile ağır siddette semptomların meydana gelebildiği gösterilmiştir (55).

BPH'nın etyolojisi çok faktörlüdür. Sigara içmenin, vazektominin ya da fazla alkol almanın klinik BPH gelişiminde birer risk faktörü olduğunu gösteren hiçbir güçlü kanıt bulunmamaktadır (56). BPH gelişimi ile ilgili risk faktörleri sadece yaş ve hormonal durumdur (57).

Androjenler prostat dokusu için en güçlü mitojendir. BPH gelişimine neden olmazlar ancak normal prostatik gelişim ve sekretuar fizyoloji için önemlidirler. Prostatta testosteron ve DHT'un etkisi indirekt olarak otokrin ve parakrin yolla olmaktadır. Androjenler prostatta normal hücre çoğalmasını sağlayarak ve hücre ölümünü inhibe ederek antagonistik etki gösterirler. BPH'da da hücre sayısında artış veya programlanmış hücre ölümünde azalma ile hücre birikimi olur (58). Östrojenlerde BPH gelişiminde etkin rol oynamaktadırlar. İleriki yaşlarda testosteron üretimi azalıp periferik dokularda testosteronun östrojene dönüşümünün hızlanması nedeni ile serum testosteron seviyesi düşmektedir. Östrojenin testosteronu oranı %40'ın üzerine çıkmaktadır. BPH'lı hastalarda prostat içi östrojen seviyesinin artmasının stromal hiperplaziyi başlattığı, epitelyal hiperplaziyi indüklediği belirtilmektedir (59).

BPH'in ilk histolojik belirtisi, transizyonel bölgedeki periüretral alanda stromal nodüllerin ortaya çıkmasıdır. Nodül oluşumunu glandüler hiperplazi takip etmektedir. Prostat büyümesine bağlı mesane çıkım obstrüksiyonu derecesi ile prostat büyüklüğü arasında bir korelasyon mevcut değildir. BPH'nin histopatolojik tanısı geniş prostat doku örneklemesine olanak tanıyan TUR-P, açık veya radikal prostatektomi gibi operatif süreçlerden sonra konulabilir.

BPH nodülleri başlangıçta fibröz bağ dokusu ve düz kas dokusundan oluşan stromal karakterdedir. Periüretral bölgede submukozal olarak yerleşim gösterirler. Büyük boyutlara ulaşmazlar. Transizyonel zonun lateral bölgesinden gelişen nodüller

ise çok sayıda ve daha büyüktürler. Glandüler karakter bu nodüllerde daha belirgindir. Periüretral bölgedeki nodüller büyük boyutlara ulaşırsa mesane lümenine doğru prostatın orta lobunu oluştururlar. Transizyonel zondaki büyük nodüller ise prostatik üretraya bası yaparlar.

Mikroskopik olarak saf stromal veya glandüler / stromal hücre proliferasyonu ile karakterizedirler. Stromal nodüller miksoid veya hyalinize matriks içinde yer alan iğsi hücrelerden oluşur. Kısa demetler veya girdap yapıları oluşturan bu hücreler arasında kalın duvarlı damar yapıları ve düzensiz dağılım gösteren lenfositler görülebilir. Sitolojik atipi ve mitoz izlenmez. Epitelyal komponenti baskın nodüller ise sekretuar ve bazal hücreler ile dōşeli değişik çap ve şekillerde glandlardan meydana gelir. Bu glandların bir kısmında kistik genişlemeler gözlenir ve epitel hücreleri basıklaşır. BPH nodüllerini oluşturan glandların çevresinde nodüler veya diffüz karakterde lenfosit infiltrasyonları görülebilir. Ancak bu hastaların çoğunda klinik olarak prostatit semptomları bulunmaz. Kistik değişiklik, inflamasyona bağlı duktus rüptürü, sküamöz metaplazi ve infarktüs gibi sekonder değişiklikler gelişebilir (60).

2.7. Benign Prostat Hiperplazisinde Tedavi

BPH 50 yaş üstü erkeklerde yaygındır. Tedavinin iki ana amacı vardır. İlk olarak AÜSS'nin şiddetini azaltarak hastanın yaşam kalitesinin artırılması amaçlanır. İkinci olarak ise hastalığın doğal seyrinden kaynaklanan komplikasyonların gelişimini engellemek gelir. Günümüzde BPH'li erkeklerde standart tedavi seçenekleri; izlem (bekle-gör), medikal tedavi, minimal invaziv tedavi ve cerrahi tedaviler başlıkları altında toplanır.

2.7.1. İzlem

BPH yavaş ilerleyen, bazı bireylerde alevlenme gösterirken bazılarında remisyona uğrayan kronik bir hastalıktır. BPH'lı hastaları izlem tedavisine yönlendirirken, mutlak cerrahi endikasyon gerektirecek durum olup olmaması, hastanın semptom şiddeti, ilaç kullanmaya yönelik düşünceleri, muhtemel diğer

tedavilerden tam bilgi sahibi olması gibi faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Semptomlardan çok rahatsız olmayan hafif-orta derecede, komplikasyonsuz AÜSS'li erkekler, izlem denemesi için uygundurlar. İzlem metodu seçilecek ise hastalara durumları ile ilgili ayrıntılı bilgi verilmelidir. Hastalıklarının doğal süreci ve olası komplikasyonlar hakkında bilgilendirme yapılmalı ve hastanın anladığından emin olunmalıdır. Çünkü hasta ile kurulacak doğru diyalog hastanın kontrollere gelmesini ve kendide zaman içinde gelişen farklılıkları gözlemleyerek doktora doğru bilgilendirmede bulunmasını sağlayacaktır. Hastalara yaşam tarzlarında yapmaları gereken bazı değişiklikler konusunda bilgi verilmelidir. Örneğin; noktüri şikâyeti belirgin olan hastalara yatmadan 2 saat önce aldıkları sıvı miktarını kısıtlamaları gerektiği önerilebilir. Alkol ve kafein alımı diüretik ve iritativ etkilere neden olduğundan dolayı azaltılmalıdır. Bu durumun nedeni de hastaya açıklanmalıdır. Böylece hastanın uyum derecesi artırılabilir. Başka rahatsızlıklardan dolayı kullandıkları ilaçlar var ise bu ilaçlar gözden geçirilmelidir. Gerekir ise bu ilaçların uygulama zamanları düzenlenmeli ve üriner etkisi fazla olanlar az olanlar ile değiştirilmelidir. Mesane kapasitesi düşük olan hastalara mesane eğitimi verilebilir. İzlem metodu kullanılan hastaların bir kısmının eninde sonunda cerrahi tedaviye aday oldukları bir gerçektir. Ancak hafif orta derecede semptomları olan, BPH'ne bağlı olarak yaşam kaliteleri minimal düzeyde etkilenen, BPH nedeni ile ek bir komplikasyon gelişmeyen hastalarda izlem metodu bir seçenek olarak kullanılabilir.

2.7.2. Medikal Tedaviler

BPH'nin temel tedavi seçeneği 1970'li yıllara kadar cerrahi yöntemler olmasına karşın insan prostat düz kasında adrenoreseptörlerin gösterilmesi ile birlikte α blokerler tedavi alanına girmiştir. BPH'ne bağlı obstrüksiyon basitçe iki nedenden ötürü ortaya çıkmaktadır. Bunlar; adrenerjik reseptörlerin aracılık ettiği prostatik üretra ve prostat düz kaslarının kasılmasını içeren dinamik bileşen, diğeri ise üretra lümenini baskılayan ve sıkıştıran hiperplazik asiner veya stromal doku kitlesi ile bağlantılı bir mekanik obstrüktif bileşendir.

2.7.2.1. Alfa Adrenarjik Blokerler

Çok sayıda α_1 selektif α bloker bulunur (Tamsulosin, Alfuzosin, Doksazosin, indoramin, Prazosin, Terazosin). Genel anlamda hepsi benzer etkinliğe ve yan etki profiline sahiptir. Medikal tedavide kullanılan ilaçlar arasında en çok tercih edilenler α blokerlerdir. Prostat düz kaslarında reseptörlerin yaklaşık %60-75'i α_{1a} , %25-30'u α_{1d} , detrüssör kasında ise %60-70 oranında α_{1d} , %30-40 oranında α_{1a} 'dır. İlaç firmaları bu nedenle α_{1a} reseptör blokajına spesifik ilaçlar geliştirmeye çalışmaktadırlar. Alfa blokerlerle ilgili yapılan bir metaanalizde pleseboya kıyasla genel olarak semptomlarda %30-40, akım hızlarında %16-25 iyileşme oluşturduğu saptanmıştır (61).

Alfuzosin, doksazosin ve terazosin α_1 reseptör alt tiplerine selektif değildirler. Tamsulosin ise α_{1a} adrenerjik reseptörlere yüksek selektivite ve afinite ile bağlanmaktadır (62). Ancak bu yüksek selektivitesine rağmen tamsulosin'in etkinlik açısından diğer α blokerlere üstünlüğü yoktur. Kan damarlarında α_{1b} reseptörü baskındır. Bundan dolayı tamsulosin diğer preparatlara göre daha az kardiyovasküler yan etki gösterir. Alfuzosin kısa etkili bir α blokerdir. Ardışık doz alımlarında plazma pik konsantrasyonunda dalgalanmalar oluşması nedeni ile etki süresini uzatan yavaş salımlı ER (XL) formu geliştirilmiştir. Böylece doz titrasyonuna gerek kalmadan tek doz olarak kullanılabilir. Hidrofiliktir ve molekül ağırlığı en düşük α blokerdir. Bu nedenle kan beyin bariyerini geçemez ve yan etkileri daha azdır. Terazosin ve doksazosin uzun etkili α blokerlerdir. Terazosin ve doksazosinin α blokaj dışında prostat dokusu üzerinde epitelyal ve stromal apoptozisi uyardığı iddia edilmiştir (63). Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda böyle bir etkinin olmadığı gösterilmiştir. Alfa blokerlerin BPH tedavisinde etkili dozları; Alfuzosin 10 mg, Terazosin 5 mg ve 10 mg, Doksazosin 4 mg ve 8 mg, Tamsulosin 0.4 mg ve 0.8 mg'dır. Alfa blokerler alındıktan 2-3 saat sonra etkinliklerini gösterirler ve mesane çıkım obstrüksiyonunu ortadan kaldırarak AÜSS'nda hızlı düzelme sağlarlar.

2.7.2.2. 5 α -Redüktaz İnhibitörleri

Embriyonel olarak prostatın gelişimi DHT'a bağımlıdır. Testosteron 5 α -redüktaz enzimi ile aktif formu olan DHT'a çevrilmektedir. DHT'un prostat gelişimindeki rolünden yola çıkılarak BPH tedavisinde 5 α -redüktaz enzim inhibitörlerinin (5-ARI) kullanımı gündeme gelmiştir. Androjenlerin baskılanması prostatik epitelyal hücrelerde gerilemeye neden olmaktadır. Bunun sonucu olarakta prostat volümünde %15-25'lik bir azalma gözlenmektedir (64). BPH'lı hastalarda statik komponentin oluşturduğu mesane çıkım obstrüksiyonu prostattaki volüm kaybı ile azalmaktadır. 5-ARI iki önemli örneği Finasterid ve Dutasteridtir.

Finasterid tip II 5 α -redüktaz izoenziminin selektif inhibitörüdür. Cilt ve karaciğerdeki tip I izoenzimi inhibe edemediğinden dolayı DHT seviyeleri kastre seviyelere inememektedir. Finasterid DHT'u serumda %70, prostatta %90 oranında baskılamaktadır. Prostat hacminde yaklaşık %20 azalma sağlamaktadır. Ayrıca BPH'a bağlı rekürren hematüriyi azaltmada etkindir (65). 750 BPH hastasının katıldığı bir çalışmada 5 mg'lık finasterid tedavisinin serumda DHT seviyesini %62, serum PSA değerini %46, prostat hacmini %22 oranında azalttığı tespit edilmiştir (66). Finasterid kullananlarda serum PSA değerlerinde %50'lere varan düşmeler meydana gelebilmektedir (67). Finasterid tedavisine başlayacak hastalara bazal bir PSA değeri olması açısından tedavi öncesi PSA çalışılmalıdır. Tedavi altındaki hastalarda PSA yükselmesi meydana gelirse biyopsi önerilmelidir.

Dutasterid hem tip I hem de tip II 5 α -redüktaz enziminin dual inhibitörüdür. Serum DHT seviyesini 4 hafta içinde %90'dan fazla azaltabilmektedir (68). PROSCAR uzun dönem etkinlik ve güvenilirlik çalışmasında (Proscar Long-term Efficacy and Safety Study, PLESS.) dutasterid 4325 hastada kullanılmıştır. Akut idrar retansiyonu gelişme ve cerrahiye gidiş riskini belirgin olarak azalttığı gösterilmiştir (69,70). En sık görülen yan etkisi empotans, ejakulasyon bozukluğu ve jinekomastidir.

2.7.2.3. Kombinasyon Tedavisi

Kombinasyon tedavisi bir α bloker ile 5-ARI'nın birlikte kullanılmasıdır. Böylelikle her iki ilacın farklı etki mekanizmaları nedeni ile bir birlerini tamamlayacağı düşünülmektedir. BPH semptomlarının ortadan kalkmaya başlaması α blokerler ile birkaç haftayı, 5-ARI ile ise 3-6 ayı bulmaktadır (68). MTOPS (The Medical Therapy of Prostatic Symptoms) çalışması kombinasyon tedavisinin etkinliği ve BPH'ne bağlı cerrahi girişim geçirme riski bakımından yapılmış en geniş çalışmalardan biridir (71). Bu çalışmaya 50 yaş ve üzeri 3047 BPH'lı hasta alınmıştır. Ortalama takip süresi 4,5 yıldır. Çalışma plasebo, doksazosin, finasterid ve kombinasyon olmak üzere dört kola ayrılmıştır. Çalışmanın sonucunda kombinasyon tedavisinin BPH progresyonunu α bloker, 5-ARI monoterapileri ve plaseboya göre anlamlı oranda azalttığı bildirilmiştir.

2.7.2.4. Fitoterapi

Avusturya, Almanya ve Fransa gibi ülkelerde bitki özütleri pazarlarda %30'a ulaşan oranlarda pay alabilmektedir (72). Bu ajanlar çeşitli bitki özütlerinin karışımından oluşur ve hangi bileşenin esas biyolojik aktiviteye sahip olduğunu belirlemek zordur. Fitoterapötik olarak en sık kullanılan bitkiler; *Hypoxis rooperi*, *Serenoa repens/Sabal serrulata*, *Pygeum africanum*, *Secale cereale* ve *Curcubita Pep*'dir. Bu bitkilerin in vitro olarak 5- α redüktaz inhibisyonu, aromataz aktivitesi, androjen blokajı, α 1-blokajı, prostoglandin sentez inhibisyonu ve antiinflamatuvar etkiye sahip oldukları ileri sürülmesine rağmen bu etkiler in vivo olarak gösterilememiştir (73). BPH ile ilgili tüm guideline'larda ve kaynaklarda bitki özütlerinin tedavide kullanımı tartışmalıdır. Fitoterapi konusunda net bir yargıya varabilmemiz için bağımsız araştırmacılar tarafından yapılacak, geniş, çok merkezli, kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.7.3. Minimal İnvaziv Girişimler

BPH'nin cerrahi tedavisinde 60 yılı aşkın süredir TUR-P altın standart olma özelliğini korumaktadır. Teknolojik gelişmelere karşın TUR-P yapılan hastaların

%0,2'sinde mortalite ve %16'sında çeşitli morbiditeler görülmesi araştırmacıları daha az invaziv ancak TUR-P'ye yakın klinik sonuçları olan yöntemleri araştırmaya itmiştir. Bunlara minimal invaziv girişimler adı verilmektedir. Bunlar;

- Prostatik stentler
 - *Geçici stentler*
 - *Kalıcı stentler*
- Prostatın transüretal iğne ile ablasyonu (TUNA)
- Transüretal mikrodalga tedavisi (TUMT)
 - *Düşük enerjili TUMT*
 - *Yüksek enerjili TUMT*
- Lazer prostatektomi

Kısaca özetlediğimiz tüm bu minimal invaziv girişimler literatürde değişik araştırmacılar tarafından çalışılmış ve değerlendirilmiştir. Tüm çalışmalarda referans olarak altın standart tedavi olduğu için TUR-P operasyonu kullanılmıştır. Minimal invaziv girişim modellerinden hiç birisi şu anda TUR-P'nin yerini dolduracak gibi gözükmemektedir. Ancak lazer tedavileri uzun vadede, teknolojik gelişimin getireceği düzenlemeler ile birlikte TUR-P'nin yerine alternatif olabilir.

2.7.4. Cerrahi Tedaviler

BPH'nın neden olduğu mesane çıkım obstrüksiyonlarında tedavi seçenekleri geçen yüzyılın son iki dekadında medikal ve minimal invaziv girişim tekniklerinin gelişmesi ile genişlemiştir. Ancak elde edilen tüm bu gelişmelere rağmen;

- Kronik üriner retansiyon
- Tekrarlayan üriner sistem enfeksiyonu
- BPH'ya bağlı böbrek yetmezliği
- 5-ARI'lerine refrakter tekrarlayan hematurü
- Mesane taşı

olan hastalarda TUR-P yada açık prostatektomi endikedir. TUR-P ile karşılaştırıldığında açık prostatektomi; daha düşük yeniden tedavi oranları, direkt görüş altında prostat adenomunun daha komplet çıkartılması ve TUR-P uygulanan hastaların yaklaşık %2'sinde gelişen dilüsyonel hiponatremi riskinden kaçınma gibi avantajlara sahiptir. Dezavantajları ise cerrahi insizyon gerektirmesi, perioperatif kanama riskinde artış, daha uzun hastanede kalış ve iyileşme süresine gereksinim duyulmasıdır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Hayvanlar ve Gruplar

Çalışmada Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilen, 46 adet 200-400 gr ağırlığında Wistar cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar deney hayvanları merkezinden alınarak sıcaklığı 22,4 °C ve 12 saat karanlık/aydınlık olacak şekilde ışığı ayarlanmış odada 5 tanesi bir kafeste olacak şekilde tutuldular. Ad libitum beslenme uygulandı ve su kısıtlamasına gidilmedi. Hayvanlar 5 gruba randomize edildi:

I. Grup: Kontrol (n:10)

II. Grup: Testosteron replasmanı (n:10)

III. Grup: Testosteron + Botulinum toksin (n:10)

IV. Grup: Testosteron + Lizozim (n:10)

V. Grup: Testosteron + Botulinum toksin + Lizozim (n:6)

Deneyler etik ve deney hayvanları konusunda sertifikalı araştırmacılar tarafından yürütüldü. Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındı (29.12.2009/03-Ek-1) ve deneylere izin alındıktan sonra başlandı.

3.2. Deneysel BPH Oluşturulması

Sıfırıncı günde tüm sıçanların vücut ağırlıkları ölçüldü, sonra grup 2, 3, 4, 5'deki hayvanlara deneysel BPH oluşturmak için sağ gluteal kasa intramuskuler olarak 20 mg/kg'dan Testosteron undekonat (Nebido®; Bayer Schering Pharma) enjeksiyonu yapıldı. Deneysel BPH oluşumu için 40 gün beklendi.

3.3. BOTOX Enjeksiyonu

Testosteron enjeksiyonundan 40 gün sonra grup 3'deki sıçanları sağ ve sol ventral prostat loblarına, grup 5'deki sıçanların ilk üçünün sol ventral prostat lobuna,

son üçünün ise sağ ventral prostat lobuna 0,2 ml izotonik ile sulandırılmış olan 10 U BOTOX (Abdi İbrahim İlaç Pazarlama AŞ) anestezi altında intraprostatik enjekte edildi. Enjeksiyonda 1 ml'lik insülin enjektörleri kullanıldı. İğne prostat dokusundan çıkarılmadan önce tüm solüsyonun doku içine zerk edildiğinden emin olundu. Enjeksiyon işlemini takiben iğnenin çıkarıldığı alana kısa bir süre zerk edilen ilacın doku dışına çıkmayacağından emin olunana kadar hafifçe bastırıldı.

3.4. Lys (Lizozim) Hazırlanması ve Enjeksiyonu

3.4.1. Gerekli Malzemeler

3.4.1.1. Biyokimyasal maddeler ve Kitler

pHM6 memeli plazmit vektörü, Geneticin (G 418), Lipozom (DOTAP) (Roche), EDTA, tris baz, borik asit, sükröz, lizozim (Sigma), HCl, NaOH, SDS, agaroz, akrilamit, bisakrilamit, APS, TEMED, NaCl, Trypton, Yeast extract, Potasyum ferrosiyanit ($K_4Fe [CN]_6$), Potasyum ferrisiyanit ($K_3Fe [CN]_6$), Ampisilin, Tetrasiklin, Gentamisin, DMSO, $MgCl_2$, NP-40, gluteraldehit, formaldehit, Potasyum hidrojen fosfat, Sodyum hidrojen fosfat dihidrat. Endotoxin-free Plazmit Midiprep Kit (PLED-35).

3.4.1.2. Alet-Teçhizat

Yatay elektroforez tankları, güç kaynağı, pH metre vorteks, manyetik karıştırıcı, hassas terazi, su banyosu, mikrodalga fırın, buz dolabı, jel görüntüleme ve dokümantasyon sistemi, mikro pipetler, sallamalı etüv, temiz hava kabini (lamin airflow), derin dondurucu, CO_2 , inkübatörü, etüv, santrifüj, kumpas, spektrofotometre sıvı azot tankı.

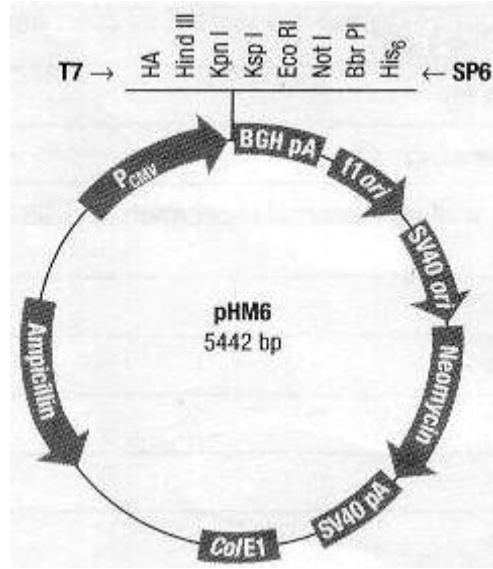
3.4.1.3. Sarf Malzemeler

Petri kutuları, erlenmayerler, filtreli steril mikropipet uçları, pamuk tıkaçlı steril cam pipetler, enjektörler, endorff tüp, cam baget.

3.4.2. Gereçlerden Bazılarının Genel Özellikleri ve Kullanım Amaçları

3.4.2.1. pHM6 Memeli Ekspresyon Vektörü

pHM6 memeli ekspresyon vektörü 5442 bp uzunluğunda bir plazmit vektör olup birçok *E. coli* suşunda da çoğalabilme özelliğinde mekik bir vektördür. Çoklu klonlama bölgesine takılan bir genin memeli hücrelerinde yüksek düzeyde ekspresyonunu sağlayacak şekilde tasarlanmıştır. Vektörün genel haritası Şekil 7’de gösterildi. Vektör ve *E. coli* XL1-Blue MRF’ bakteri Rize Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalından temin edildi.



Şekil 5. pHM6 memeli ekspresyon vektörü

3.4.2.2. DOTAP (Lipozom)

Kimyasal adı: N-[1-(2,3-Dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimethylammonium methylsulfate

Moleküler formülü: C₄₃H₈₃NO₈S

Moleküler ağırlığı: 774,21

Ökaryotik hücrelerde gen regülasyonu ve ekspresyonunu çalışmak amacıyla çok çeşitli DNA aktarım (transfeksiyon) yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemlerde karşılaşılan en büyük sorunlardan bazıları hücre toksisitesi, zayıf üreme ve hücrelere yeterli miktar DNA aktaramamaktır. Transfeksiyon repertuarına önemli bir ilave kationik lipozom formülasyonlarının kullanımı olmuştur (lipofeksiyon). DNA,

RNA, ribonükleoprotein partikülleri ve proteinler DOTAP'la etkin bir şekilde hücrelere aktarılabilen ve karşılaşılan sorunları da önleyebilmektedir. DOTAP'ın DNA ile karıştırılması pozitif yüklü bu küçük lipid kesecikleri (lipozomlar) ile negatif yüklü DNA molekülleri arasında dayanıklı kompleksler oluşumunu sağlamaktadır. DOTAP ile hem *in vitro* hem de *in vivo* ortamlara başarılı bir şekilde DNA transferi yapılabilmekte ve 150 µg/ml'ye kadar hücreler için toksik olmadığı bildirilmektedir (74).

3.4.2.3. Endotoxin-free Plazmit Midiprep Kit [PLED-35 (Sigma)]

Kit, bakteriyel endotoksin içermeyen ve transfeksiyon işlemlerinde kullanılacak kalitede plazmit DNA izole etmek için kullanıldı. Kitte rutin olarak kullanılmakta olan alkalın denatürasyon prensibi esas alınmış olmakla birlikte ilaveten endotoksin arıtıcı tampon ve DNA'nın tutulduğu midi kolonlar bulunmakta idi. İzolasyon basamakları kısaca şöyle idi; kullanılacak plazmiti pHM6mLys taşıyan bakteri 50 µg/ml ampisilin içeren LB besi ortamında bir gece üretilirdi. Üreme ortamı santrifüjlenerek bakteri peleti elde edildi. Pelet süspanse edildi ve lizis tampon ilavesiyle de nazik bir şekilde parçalandı. Nötralizasyon tamponu ilavesiyle ortam pH'sı aniden düşürüldü ve yoğun bir presipitat oluşturuldu. Oluşan çökelti santrifüj yapılarak uzaklaştırıldı ve süpernatant midi kolonların bulunduğu tüplere aktarıldı. Plazmit DNA kolondaki destek ortam tarafından tutuldu, yıkama tamponu ile de her türlü hücre artıkları temizlendi. Elüzyon tamponu (saf su) ilave edilerek DNA destekten ayırım sağlandı. Elde edilen plazmit DNA oldukça saf ve süper sarmal oranı yüksek idi. Ökaryotik hücrelere zarar veren bakteriyel endotoksinlerden de arıtılmış durumda idi.

3.4.3. Yöntem

Tez çalışmasının amacını, fare lizozim genlerinin pHM6 memeli ekspresyon vektörüne klonlanması ve rat prostat dokusu üzerine *in vivo* etkilerinin değerlendirilmesi oluşturmaktadır. Bu amaca yönelik olarak yapılan uygulama ve kullanılan yöntemler; Lipozomal Transfeksiyon, fare denemeleri, verilerin alınması ve analizidir.

3.4.3.1. Plazmitlerin *E. coli*'ye Transformasyonu

Mevcut pHM6, plazmit vektörüne ait DNA molekülleri sınırlı miktarda olduğu için öncelikle *E. Coli*'ye aktarıldı. Bu vektörlerle transforme rekombinant bakteri stoklarının oluşturuldu. Bu sayede plazmit ihtiyacı duyulduğu zaman ilgili bakteri kültüre alınarak plazmit DNA izolasyonu yapılabildi. Bu vektörler için konakçı olarak kullanılan *E. coli* XL1-Blue MRF' suşu bakterinin kültür, kompetent hale getirme ve plazmit DNA molekülleri ile transformasyon işlemleri aşağıda verildi.

Gliserol stoku olarak saklanan bakteri;

- Stoktan (-20⁰ C) alınan tüp 37⁰ C'de yaklaşık 30 sn tutularak çözülür,
- 5000 rpm'de 3-5 dakika santrifüjlenir ve kabin (%70'lik alkolle silinerek steril hale getirilir) içine alınır,
- Tüp kapağı açılarak alevden geçirilir,
- Bakteri pelleti ile 200-300 µl sıvı bırakılarak süpernatant atılır,
- Pellet, kalıntı sıvı ile dikkatli bir şekilde çözülür ve tamamı 10 ml LB besi ortamı içeren erlene aktarılarak sallamalı etüvde (37⁰ C'de) üremeye bırakılır,
- LB-Agar plaklarında ise;
- Kabin içine alınan plak alkol alevi önünde açılır,
- Ucu yakılıp soğutulmuş olan öze ile bir koloni alınarak 10 ml LB besi ortamı içeren erlene dikkatli bir şekilde aktarılır ve sallamalı etüvde (37⁰ C'de) üremeye bırakılır (75).

Yukarıdaki ekimlerle üretilmiş olan kültürden tetrasiklin (12,5 µg/ml) ve ampisilin (12,5 µg/ml) içeren iki ayrı erlendeki LB besi ortamına aşılama yapıldı (XL1 MRF tetrasikline dirençli, ampisiline hassastır). Bu kültür kontrol amaçlıdır çünkü bakteriyolojik çalışmalardaki en büyük sorunlardan biri kontaminasyondur. Tetrasiklinli ortamda üreme var ampisilinde yok ise, tetrasiklinli ortamdan 10 ml'lik yeni besi ortamına %1 oranında inokülasyon yapıldı ve 37⁰ C'de erken log evresine gelene kadar (3-4 saat) üretildi. Etüvden alınan bakteri kültürü buz üzerine konarak soğutuldu ve yine buz üzerinde bulunan iki kültür tüpüne 5'er ml paylaştırıldı. Tüpler

soğutmalı santrifüje (+4⁰ C) alınarak 5000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Süpernatant döküldü ve pellet 5 ml soğuk MgCl₂ (0,1 M) ile nazik bir şekilde pipetlenerek çözüldü. 5000 rpm'de 10 dakika (+4⁰ C'de) santrifüjlendi. Süpernatant döküldü ve pellet 3 ml soğuk CaCl₂ (0,1 M) ilave edilerek nazik bir şekilde pipetlenerek çözüldü. Buz üzerinde en az 20 dakika inkübe edildi. 5000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Süpernatant döküldü ve pellet 1ml soğuk CaCl₂ (0,1 M) ile tekrar çözüldü. Tüplerdeki sıvılar birleştirildi ve nazikçe pipetlendi. Bakteri transformasyona hazır hale getirildi. Geriye kalan miktar ise %20'lik gliserol stoku oluşturularak saklandı. Hazırlanan kompetent bakterinin kontrolü amacıyla yine aynı miktarlarda (100 µl) bakteri 5'er ml LB içeren üç ayrı erlene (normal, tetrasiklinli ve ampisilinli) inoküle edilerek etüve alındı.

Yukarıdaki işlemler sonunda bakteri, ortamdaki DNA moleküllerini hücre içine alabilecek duruma getirildi. Daha sonra, kompetent bakteri bulunduran ependorf tüp(ler) buz üzerine konuldu. Bu işlemler yapılırken yine tüplerden biri kontrol olarak kullanıldı ve bu tüpe de (plazmit ilave edilmeksizin) bütün işlemler uygulandı. Her tüpe pHM6 plazmitinden yaklaşık olarak 50 ng (10 ng/µl stoktan 5 µl) ilave edilerek dikkatli bir şekilde pipetlendi, parmak darbeleriyle vurularak karıştırıldı. Buz üzerinde en az 30 dakika bekletildi. 42⁰ C' de 90 saniye tutuldu ve süre sonunda tekrar buz üzerine alındı. Tüplerdeki sıvıların üzerine 0,5 ml LB besi ilave edildi ve 37⁰ C'de 1 saat inkübe edildi. Her bir tüpten 100 µl alınarak LB-agar katı besi yerlerine (ampisilin ve X-gal içeren) cam bagetle iyice yayıldı (bu işlemler steril kabinde ve alkol alevi önünde yapıldı) ve 37⁰ C'de bir gece inkübe edildi. İnkübasyon sonunda beklenen yalnızca plazmiti alan bakterilerin koloni (pHM6 beyaz koloni) oluşturması idi. Plaklar üzerindeki iyi gelişmiş ve diğerlerinden ayrı olan birer koloni alınarak ampisilinli (50 µg/ml) LB besi ortamında üretildi ve Endotoxin-free Plazmit Midiprep kiti kullanılarak plazmit DNA izolasyonları yapıldı.

İzole edilen plazmit DNA % 0,8'lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutularak hangi formlarda izole edilmiş olduğu kontrol edildi. Transfeksiyon için ideal olarak istediğimiz form süper-koil formdaki plazmit DNA idi. Bu şekilde izolasyonları yapılan plazmit tüpte toplanarak spektrofotometrik ölçümleri yapıldı ve kullanım

zamanına kadar +4⁰ C'de saklandı. Lipozomal transfeksiyon için üretici firmanın önerileri doğrultusunda ve benzer protokoller incelenerek DOTAP/DNA kompleksi (1 µg DNA için 5-10 µg DOTAP) hazırlandı. Hazırlık aşamasını kısaca özetler isek; Uygulamalar oda ısısında gerçekleştirildiğinden öncelikle plazmit DNA solüsyonu, DOTAP ve HBS'nin oda ısısına gelmesi sağlandı. Steril bir cam tüpe 25 µl DOTAP (1 µg/µl'den) alındı ve 75 µl HBS (20 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7.4) ilave edilerek nazikçe pipetaj yapıldı (toplam 100 µl). Başka bir tüpe 10 µl (0.5 µg/µl'den) (yaklaşık 5 µg) pHM6mLys DNA alındı ve 40 µl HBS ilave edilerek nazikçe pipetajlandı (toplam 50 µl). DNA solüsyonu DOTAP solüsyonu üzerine ilave edilerek nazik bir şekilde birkaç defa pipetajlandı. Bu işlemler sırasında kesinlikle vorteks ve santrifüj kullanılmadı. Karışım oda ısısında 15-20 dakika bekletildi. Lipit vezikülleri ve pHM6mLys DNA kompleks oluşturduktan sonra deney modelinde kullanıma hazır hale geldi.

Testosteron enjeksiyonundan 40 gün sonra grup 4'deki hayvanların sağ ve sol ventral prostat loblarına, grup 5'deki hayvanların ilk üçünün sağ ventral prostat lobuna, son üçünün ise sol ventral prostat lobuna anestezi altında intraprostatik olarak 10µL hacim içinde ~ 50µg plazmid DNA/lipozom kompleksi enjekte edildi.

3.5. Deney Protokolü ve Cerrahi Teknik

Deneyin başlangıcında tüm sıçanların vücut ağırlıkları Pioneer marka hassas tartı ile ölçüldü ve kaydedildi. Bugüne sıfır günü veya deneyin başlangıç günü denildi. Sıfır gününde grup 1'deki sıçanlara anestezi sağlamak amacıyla; intraperitoneal olarak 10 mg/kg xylazin hidroklorid (Rompun®; Bayer Healthcare, Leverkusen, Almanya) ve 90 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar®; Pfizer, İstanbul, Türkiye) uygulandı. Sıçanlar süpin pozisyonda yerleştirildi. Cerrahi bölge hem ameliyat öncesi hem de sonrasında %10'luk povidone iodine (Batticon®; Adeka, Samsun, Türkiye) solüsyonu ile temizlendi. Küçük orta hat abdominal insizyonla girildi. Prostatın sağ ve sol ventral lobları ortaya konuldu. Prostat loblarının en, boy ve derinlikleri Hart marka mekanik kumpas ile ölçülerek kaydedildi. Grup 2, 3, 4 ve 5'deki sıçanlara intramuskuler olarak testosteron enjeksiyonu yapıldı. Grup 4'deki 6 nolu sıçan testosteron uygulamasını takip eden ikinci hafta içinde öldü.

Testosteron enjeksiyonundan 40 gün sonra tüm sıçanların vücut ağırlıkları ölçüldü. Grup 2, 3, 4 ve 5'deki sıçanlara anestezi altında küçük orta hat abdominal insizyonla girildi. Prostatın sağ ve sol ventral lobları ortaya konuldu. Prostat loblarının kumpas ile en, boy ve derinlikleri ölçülerek kaydedildi. Daha sonra grup 3'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat loblarına Botox enjeksiyonu yapıldı. Grup 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat loblarına Lys enjeksiyonu yapıldı. Grup 5'deki sıçanların ilk üçünün sağ lobuna lizozim, sol lobuna Botox enjeksiyonu yapıldı. Son üçünün ise sağ lobuna Botox, sol lobuna Lys enjeksiyonu yapıldı.

Testosteron enjeksiyonundan 47 gün sonra yani ilaç tedavilerinden 1 hafta sonra tüm sıçanların vücut ağırlıkları ölçüldü. Anestezi altında daha önce tarif edilen şekilde prostat boyutları ölçüldü. Tüm hayvanların sağ ve sol ventral prostat lobları cerrahi olarak eksize edildi. Prostat loblarının ağırlığı hassas tartı ile ölçüldü ve kaydedildi. Egsanguinasyon yöntemi ile tüm hayvanlar sakrafiye edildi.

3.6. Histolojik Takip, Boyama ve Değerlendirme

Dokular tamponlanmış %4'lük paraformaldehit (Merck) içine alındı. Fikse olmaları için 24-48 saat beklendikten sonra doku takip işlemine başlandı. Öncelikle bir gece boyunca akarsuda yıkama yapıldı. Fiksatiften arındırılan dokular yükselen derecelerdeki alkollerden (Merck) geçirilerek dehidrate edildi. Daha sonra şeffaflaşmaları için ksilol (Merck) içerisinde bekletildi. Gömme işlemi için 65 °C'lik etüvde, 1:1 oranında ksilol-parafin ve parafin içerisinde bekletildikten sonra parafin bloklara gömüldü.

Takip sırasında kullanılan kimyasallar ve süreleri şu şekildedir:

| Kullanılan kimyasal | Süre |
|----------------------------|-------------|
| Çeşme suyunda yıkama | 1 gece |
| %50'lik etil alkol | 2 saat |
| %70'lik etil alkol | 1 saat |
| %80'lik etil alkol | 1 saat |
| %90'lık etil alkol | 1 saat |

| | |
|---------------------|---------|
| %96'lık etil alkol | 1 saat |
| %100'lük etil alkol | 1 saat |
| %100'lük etil alkol | 1 saat |
| Ksilol | 1-10 dk |
| Ksilol-Parafin | 1-10 dk |
| Parafin | 3 saat |

Elde edilen parafin bloklardan Leica marka kızaklı mikrotomda 4-5 μ m kalınlığında kesitler alındı. Kesitler rutin histolojik incelemeler için normal lamlara, immünohistokimyasal incelemeler için Poly-L-lysine kaplı lamlara (Thermo Scientific) alındı. Rutin histolojik incelemeler için dokular Hematoksilen-Eosin boyaları ile boyandı.

Işık mikroskopunda asinüslerin lümen şekli, asinüs içi boşluğun genişliği, asinüsün şekli ve stroma durumu 10x'lik büyütmede değerlendirildi. 20x-40x'lik büyütmede epitelyal hücre tipi, tabaka sayısı, çekirdek dizilimi (polar, apolar), piling up, budding, çekirdek şekli, çekirdek boyutu, alan başı mitoz ve bazal membran değerlendirildi.

Hiperplastik nodül, çekirdek sayısındaki fokal artışa bağlı olarak epitel tabakasında tabaka sayısında artış ile birlikte kümelenme olması olarak tanımlandı. Piling up, hiperplastik nodülün asiner lümen içine protrude olması ancak bazal membranı aşmaması durumu olarak tanımlandı.

Budding, epitelyal nodülün bazal membranın dışına stromal bağ dokuya doğru çıkması olarak tanımlandı. Her preparat bu histolojik özelliklere göre skorlandı (Tablo 1). Genel histolojik değerlendirme sonucunda dokular normal, BPH ve atipik olarak sınıflandırıldı ve konulan tanı daha önce doldurulmuş olan histolojik skorlama formunun altına yazıldı.

Tablo 1. Prostat dokusunun histopatolojik skorlaması

| Hayvan No: | | | | | Skor |
|--------------------------------|---------------|----------------|-------------------------------|--|------|
| Düşük büyütme (10X) | | | | | |
| Lümen şekli | Düzenli (1) | Villöz (3) | Papiller (4) | Kribriform (5) | |
| Asiner şekil | Tübüler (1) | Dallı (3) | Düzensiz (5) | | |
| Asinuslar arası boşluk | Geniş (1) | Orta (1) | Sırt sırta (5) | | |
| Stroma | İyi (1) | Orta (3) | Fibrotik (5) | | |
| Yüksek Büyütme (20-40X) | | | | | |
| Epitel şekli | Yassı (1) | Küboidal (1) | Silindirik (3) | Hekzagonal (5) | |
| Tabaka sayısı | Mono (1) | oligo[2-4] (3) | pluri[>5] (6) | Mono-diffüz (1) Oligo veya pluri Fokal (2), diffüz (4) | |
| Hücre dizilimi | Polar (1) | Apolar (3) | | | |
| Format hücre | Piling up (3) | Budding (5) | | | |
| Lezyon dağılımı | İzole (2) | Multiple (6) | (apolar ve format hücre için) | | |
| Çekirdek şekli | Yuvarlak (1) | İrregüler (5) | | | |
| Çekirdek boyutu | Küçük (2) | Geniş (2) | Küçük geniş bir arada (4) | | |
| Alan başı mitoz | Yok (0) | izole[1-2] (2) | Orta [3-5] (5) | Aşırı [>6] (10) | |
| Bazal membran | İntakt (1) | Kesintili (5) | İnce (1) | Kalın (5) | |
| Patolojik tanı: | | | | Toplam değer: | |

İmmünohistokimya için lizinli lamlara alınan dokular deparafinizasyon için etüvde 15-60 dk ısıtıldıktan sonra ksilol ve dereceli alkollerden geçirilerek hidrate edildi. Endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için metanolde çözülmüş %3'lük H₂O₂ (Merck) solüsyonunda bekletilen dokular PBS'te (Fosfat tamponlu salin) (Sigma) yıkandı. Ardından Sitrata tamponuna (Thermo Scientific) alınan dokular ısı aracılı epitop açığa çıkarma işlemi için mikrodalga fırında iki kez ısıtılıp soğutuldu ve yine PBS'te yıkandı.

Kullanılacak kimyasalların birbirine karışması ve fazla kimyasal kullanılmasının engellenmesi için bu aşamadan itibaren lamların üzerindeki doku örneklerinin çevresi hidrofobik PAP pen kalem ile çizildi ve boyama süresinde bu işlem gerektiğçe tekrarlandı. Nonspesifik antikor bağlanmasını engellemek için Ultra V Block (Thermo Scientific) solüsyonu damlatılan dokular PBS-Tween 20 (Thermo Scientific) solüsyonunda yıkandı. Bloklamanın ardından inkübasyon kabına alınan lamlar üzerine antikor olarak Rabbit Aktif Kaspaz-3 (Santa Cruz, sc-44976) damlatılarak +4 °C'de bir gece bekletildi. Buraya kadarki aşamalar aşağıda özetlenmiştir:

| Kullanılan kimyasal | Süre |
|--|----------------|
| 1. Ksilol-1 | → 10 dk |
| 2. Ksilol-2 | → 10 dk |
| 3. % 100'lük Etil Alkol | → 5dk |
| 4. % 100'lük Etil Alkol | → 5dk |
| 5. % 90'lık Etil Alkol | → 5dk |
| 6. % 80'lik Etil Alkol | → 5dk |
| 7. % 70'lik Etil Alkol | → 5dk |
| 8. Distile Su | → 5dk |
| 9. % 3'lük H ₂ O ₂ | → 5 - 10 dk |
| 10. PBS'te yıkama | → 5 dk x 3 kez |
| 11. Sitrat tamponunda mikrodalga fırında | → 1,5 - 2 dk |
| 12. Oda ısısında soğutma | → 20 dk |
| 13. Sitrat tamponunda mikrodalga fırında | → 1 dk |
| 14. Oda ısısında soğutma | → 20 dk |
| 15. PBS'te yıkama | → 5 dk x 3 kez |
| 16. Ultra V Block | → 5 - 10 dk |
| 17. PBS-Tween 20 | → 5 dk x 3 kez |
| 18. Primer antikor (+4 °C'de) | → 1 gece |

Boyama işleminin geri kalanına rabbit ABC Staining Kit (Santa Cruz, sc-2018) kullanılarak devam edildi. Firmanın talimatlarına göre hazırlanan solüsyonlar aşağıdaki sırayla kesitlere uygulandı:

| Kullanılan kimyasal | Süre |
|------------------------------|----------------|
| 1. PBS'te yıkama | → 5 dk x 3 kez |
| 2. Biotinli sekonder antikor | → 30 dk |
| 3. PBS'te yıkama | → 5 dk x 3 kez |
| 4. AB enzyme reagent | → 30 dk |
| 5. PBS'te yıkama | → 5 dk x 3 kez |
| 6. Peroksidaz substrat | → 2 - 8 dk |
| 7. Distile suda yıkama | → 5 dk x 3 kez |
| 8. Hematoksilen (Mayer) | → 20 sn - 1 dk |

9. Distile suda yıkama → 5 dk x 3 kez
10. % 70'lik Etil Alkol → 5dk
11. % 80'lik Etil Alkol → 5dk
12. % 90'lık Etil Alkol → 5dk
13. % 100'lük Etil Alkol → 5dk
14. Ksilol-1 → 10 dk
15. Ksilol-2 → 10 dk
16. Kapatma

Entellan kullanılarak lamel ile kapatılan dokular kuruduktan sonra ışık mikroskobunda inceleme için saklandı.

3.7. İstatistik Analiz

Veriler SPSS 15.0 (Statistical Package for the Social Sciences for Windows) İstatistik Paket Programı ile analiz edildi. Verilerin merkezi eğilim ve dağılım ölçütleri değerlendirildi. Verilerin normallik ve homojenliği Kolmogorov Smirnov Testi ve One-Way ANOVA (Homogeneity of variance) Testi ile analiz edildi. Bağımsız iki grup karşılaştırmalarında Mann Whitney U Testi kullanıldı. Bağımlı iki grup karşılaştırmalarında Wilcoxon T Testi kullanıldı. Bağımsız çoklu grup karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. Bağımsız çoklu grup karşılaştırmalarında Friedman varyans analizi kullanıldı. En uygun kesim noktasını saptamak için ROC analizi yapıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Ölçümsel Bulgular

24 Ağustos 2010 – 7 Ekim 2010 tarihleri arasında randomize, kontrollü, prospektif olarak yapılan çalışmada 46 adet Wistar cinsi sıçanda testosteron ile deneysel BPH modeli oluşturuldu. Sıçanlarda BPH gelişim durumu, Botox ve Lys'in BPH üzerine etkileri, metrik sistem ile ağırlık ve boyut ölçümü yapılarak, histolojik olarak ve immünohistokimyasal olarak değerlendirildi.

Tüm hayvanların deney başlangıcındaki (sıfırinci gün) vücut ağırlıkları ortalamaları $305,3 \pm 43,8$ (208-402) g idi. Gruplara göre ağırlık dağılımları normal dağılıma uymakta idi ve veriler homojendi. Gruplara göre sıfırinci gündeki ortalama ağırlık verileri tablo 2'de özetlendi. Gruplar arasında sıfırinci gün ağırlıkları bakımından istatistiki olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,404$).

Tablo 2. Grupların sıfırinci gün vücut ağırlığı değerleri (Ortalama \pm Standart sapma) ve dağılımlarının normallik ve homojenlik anlamlılık düzeyi

| | Ortalama ağır | P* | P ⁺ |
|---------------|------------------|-------|----------------|
| Grup 1 (n:10) | 296,9 \pm 29,9 | 0,999 | 0,812 |
| Grup 2 (n:10) | 298,8 \pm 47,3 | | |
| Grup 3 (n:10) | 297,7 \pm 47,7 | | |
| Grup 4 (n:10) | 302,2 \pm 44,5 | | |
| Grup 5 (n:6) | 347,2 \pm 38,5 | | |

±: standart sapma,
P* : normal dağılım (*Kolmogorov Smirnov Testi*),
P⁺: homojenlik (*One-Way ANOVA-Homogeneity of variance*).

Tüm grupların 40. ve 47. günlerdeki vücut ağırlığı ortalama değerleri tablo 3'de özetlendi. Gruplar arasında 40. gündeki vücut ağırlıkları bakımından istatistiki olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,176$). Yine gruplar arasında 47. gündeki vücut ağırlıkları bakımından istatistiki olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,149$).

Tablo 3. Gruplara göre 40 ve 47. günlerdeki ortalama vücut ağırlıkları ve gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi

| | 40. gün ort. ağı. | p | 47. gün ort. ağı. | p |
|--|-------------------|-------|-------------------|-------|
| Grup 1 (n:10) | 325,7±35,2 | 0,176 | 325,4±35,4 | 0,149 |
| Grup 2 (n:10) | 322±48,8 | | 325,8±47,8 | |
| Grup 3 (n:10) | 318,2±54,9 | | 317,5±54,9 | |
| Grup 4 (n:10) | 313,1±50,1 | | 314,6±49,6 | |
| Grup 5 (n:6) | 367±35,8 | | 367,7±35,8 | |
| ort.ağı.: ortalama ağırlık ±: standart sapma, P: <i>Kruskal-Wallis varyans analizi</i> | | | | |

Gruplar sıfırncı, kırkncı ve kırkyedinci günlerdeki vücut ağırlıklarına göre kendi içlerinde değerlendirildi. Farklı tarihlerde yapılan ölçümlere göre gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde arada istatistiki olarak anlamlı fark bulundu (Grup 1 p=0,000 – Grup 2 p=0.002 – Grup 3 p=0,025 – Grup 4 p=0.001 – Grup 5 p=0.036). Bu farkın hangi ölçümden kaynaklandığını anlamak için Bonferroni düzeltmesi ile Wilcoxon İşaretli Sıralar analizi kullanıldı (Tablo 4). P değerinin 0,016'dan küçük olması istatistiki olarak anlamlı kabul edildi. Aradaki istatistiki farkın tüm gruplarda hayvanların sıfırncı gündeki vücut ağırlıkları ölçümlerinin diğer günlerdeki ölçümlerden düşük olmasından kaynaklandığı tespit edildi. Yapılan değerlendirmeler sonucunda hayvanların deney süreci boyunca sağlıklı bir şekilde kilo alımlarını sürdürdükleri sonucuna ulaşıldı.

Tablo 4. Grupların kendi içlerinde farklı tarihlerdeki vücut ağırlık ölçüm değerlerine göre analizi

| | 1. ölçüm – 2. Ölçüm p | 1. ölçüm – 3. ölçüm p | 2. ölçüm – 3. ölçüm p |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Grup 1 | 0,005 | 0,005 | 0,666 |
| Grup 2 | 0,009 | 0,008 | 0,030 |
| Grup 3 | 0,015 | 0,015 | 0,263 |
| Grup 4 | 0,008 | 0,008 | 0,126 |
| Grup 5 | 0,012 | 0,013 | 0,330 |
| 1.ölçüm: 24 ağustostaki ölçüm 2.ölçüm: 30 eylüldeki ölçüm 3.ölçüm: 7 ekimdeki ölçüm P: <i>Bonferroni düzeltmesi ile Wilcoxon İşaretli Sıralar analizi</i> | | | |

Grup 3'deki 7 ve 9 numaralı sıçanlarda deney sonunda yapılan histolojik incelemede atipik prostat hiperplazisi tespit edildiği için prostat ölçüm, ağırlık ve histolojik verilerin analizinden çıkarıldı. Sıçanların prostat boyutları sağ ve sol ventral prostat lobu için ayrı ayrı olmak üzere en, boy ve yükseklik olarak ölçüldü ve

veriler kaydedildi. Tahmini prostat ağırlıkları “en x boy x yükseklik x 0,5236” formülü kullanılarak hesaplandı. Grup 1’deki sıçanların prostat boyutları sıfıncı günde ve kırkyedinci günde ölçüldü. Grup 2, 3, 4 ve 5’deki sıçanların prostat boyutları ise kırkıncı ve kırkyedinci günde ölçüldü. Sıfıncı günde grup 1’deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobu için sırası ile tahmini prostat ağırlığı ortalaması 93,5±39,7 mg ve 80,4±49,9 mg idi. Kırkyedinci günde grup 1’deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobu için sırası ile tahmini prostat ağırlığı ortalaması 94,4±39,5 mg ve 90,8±34,8 mg idi. Grup 1’de sıfıncı gündeki tahmini sağ ve sol ventral prostat ağırlığı ile kırkyedinci gündeki tahmini sağ ve sol ventral prostat ağırlıkları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 5).

Tablo 5. Grup 1’deki sıçanların prostat loplarnın farklı tarihlerde yapılan ölçümlere göre tahmini prostat ağırlıkları ortalamaları ve kendi içlerinde ölçüm verilerinin analizi.

| Grup 1 | 0. gün | 47. gün | p |
|--|-----------|-----------|-------|
| Sağ ventral prostat | 93,5±39,7 | 94,4±39,5 | 0,674 |
| Sol ventral prostat | 80,4±49,9 | 90,8±34,8 | 0,237 |
| ±: standart sapma, P: Wilcoxon işaretli sıralar testi | | | |

Grup 1’deki sıçanların 47. gündeki tahmini prostat ağırlıkları ve grup 2, 3, 4 ve 5’deki sıçanların BPH oluşumunun meydana geldiği düşünölen 40. gündeki tahmini prostat ağırlıklarının dağılımı tablo 6’da verildi. Ayrı ayrı yapılan analizlerde grup 1’deki hayvanların 47. gün tahmini prostat ağırlıkları ile grup 2, 3, 4 ve 5’deki hayvanların 40. gün tahmini prostat ağırlıkları arasında istatistiki olarak anlamlı fark vardı (Tablo 7). BPH oluşturulduğu düşünölen grup 2, 3, 4 ve 5 arasında ise istatistiki olarak anlamlı fark bulunmadı (sağ ventral prostat p=1,000, sol ventral prostat p=0,583). Grup 2, 3, 4 ve 5’deki sıçanların tahmini prostat ağırlıkları grup içlerinde değerlendirildiğinde normal dağılıma uymakta idi ve veriler homojendi (Tablo 8). Tüm bu veriler değerlendirildiğinde grup 2, 3, 4 ve 5’deki sıçanlar grup 1 ile karşılaştırıldığında anlamlı prostat büyümesi oluştuğu ve grup 2, 3, 4 ve 5’deki sıçanların prostatlarında boyutsal büyüme bakımından fark olmadığı ve homojen oldukları tespit edildi.

Tablo 6. Grup 1'deki sıçanların 47. gündeki grup 2, 3, 4 ve 5'deki sıçanların BPH oluşumunun meydana geldiği düşünülen 40. gündeki tahmini prostat ağırlıklarının dağılımı

| | Grup 1 (47. Gün) | | Grup 2 (40. Gün) | | Grup 3 (40. Gün) | | Grup 4 (40. Gün) | | Grup 5 (40.gün) | |
|----|---------------------|--------|---------------------|--------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|--------------------|-------|
| | Sağ | Sol | Sağ | Sol | Sağ | Sol | Sağ | Sol | Sağ | Sol |
| 1 | 119,34 | 83,78 | 124,72 | 132,29 | 188,50 | 127,29 | 113,10 | 105 | 167,6 | 167,6 |
| 2 | 146,61 | 164,93 | 138,23 | 113,10 | 108,96 | 95,97 | 94,98 | 85,1 | 161,3 | 110 |
| 3 | 60,69 | 103,67 | 301,59 | 250,38 | 155,66 | 123,10 | 235,62 | 145,4 | 62,8 | 113,1 |
| 4 | 75,25 | 100,53 | 229,91 | 229,44 | 123,67 | 104,82 | 251,33 | 209,4 | 150,8 | 141,4 |
| 5 | 39,27 | 31,42 | 113,67 | 111,25 | 186,93 | 161,27 | 177,55 | 150,8 | 167,6 | 167,6 |
| 6 | 109,55 | 83,78 | 166,61 | 184,72 | 184,31 | 124,82 | * | * | 167,6 | 146,6 |
| 7 | 98,96 | 87,96 | 129,25 | 125,66 | 439,82 ^o | 135,97 ^o | 124,25 | 138,2 | | |
| 8 | 113,29 | 87,96 | 115,19 | 102,25 | 118,96 | 145,97 | 109,96 | 134,3 | | |
| 9 | 142,94 | • | 168,37 | 165,61 | 125,66 ^o | 164,82 ^o | 207,35 | 155,5 | | |
| 10 | 37,70 | 73,30 | 135,66 | 127,10 | 121,96 | 102,83 | 155,51 | 207,4 | | |

*: Ex
•: Tek loblu
°: Atipik hiperplazi gelişen sıçanlar istatistikî değerlendirilmeden çıkarıldılar.

Tablo 7. Grup 1'deki sıçanların tahmini prostat ağırlığına göre grup 2, 3, 4 ve 5'deki hayvanların tahmini prostat ağırlıklarının karşılaştırmalı analizi

| | Sağ ventral prostat p | Sol ventral prostat p |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Grup 1-2 | 0,007 | 0,002 |
| Grup 1-3 | 0,007 | 0,009 |
| Grup 1-4 | 0,018 | 0,009 |
| Grup 1-5 | 0,012 | 0,007 |
| P= Mann-Whitney U testi | | |

Tablo 8. Grup 2, 3, 4 ve 5'deki sıçanların tahmini prostat ağırlıkları ortalamaları, grupların normal dağılım durumu ve homojenliği, gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi.

| | Ortalama ağır | | P* | | P ⁺ | | p [•] | |
|------------------|---------------|------------|-------|-------|----------------|-------|----------------|-------|
| | Sağ | Sol | Sağ | Sol | Sağ | Sol | Sağ | Sol |
| Grup 2 (n:10) | 162.3±60 | 154,2±51.9 | 0,177 | 0,697 | 0,651 | 0,077 | 0,993 | 0,394 |
| Grup 3 (n:8) | 148.6±34.2 | 123.3±22.3 | | | | | | |
| Grup 4 (n:9) | 163.3±57.8 | 147.9±41 | | | | | | |
| Grup 5 (n:6) | 146.3±41.4 | 141±25.2 | | | | | | |

±: standart sapma,
P*: normal dağılım (Kolmogorov Smirnov Testi),
P⁺: homojenlik (One-Way ANOVA-Homogeneity of variance).
P[•]: Kruskal-Wallis varyans analizi

Grup 2'deki sıçanların 47. gündeki tahmini prostat ağırlıkları, grup 3'deki sıçanların Botox tedavisinden ve grup 4'deki sıçanların Lys tedavisinden sonraki 47. gündeki tahmini prostat ağırlıklarının dağılımı tablo 9'da verildi.

Grup 2, 3 ve 4 kendi aralarında ayrı ayrı analiz edildi (Tablo 10). Sağ ventral prostat için grup 2'ye göre grup 3'deki sıçanların tahmini prostat ağırlıklarındaki azalma istatistiki olarak anlamlı idi. Grup 2'ye göre grup 4'deki sıçanların sağ ventral prostat tahmini ağırlıklarındaki azalma istatistiki olarak anlamlı idi. Grup 3 ve 4'deki sıçanlar arasında sağ ventral prostat tahmini ağırlıkları açısından istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Sol ventral prostat için grup 2'ye göre grup 3 ve 4'deki sıçanların tahmini prostat ağırlıklarındaki azalma istatistiki olarak anlamlı idi. Grup 3 ve 4'deki sıçanlar arasında sol ventral prostat tahmini ağırlıkları açısından istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmedi.

Tablo 9. Grup 2, 3 ve 4'deki sıçanların 47. gündeki tahmini prostat ağırlıkları dağılımı ve grup ortalamaları

| | Grup 2 (47. Gün) | | Grup 3 (47. Gün) | | Grup 4 (47. Gün) | |
|---|---------------------|------------|---------------------|------------|---------------------|-----------|
| | Sağ | Sol | Sağ | Sol | Sağ | Sol |
| 1 | 125,66 | 131,95 | 134,04 | 87,96 | 67,96 | 87,70 |
| 2 | 138,23 | 113,10 | 75,40 | 77,12 | 37,70 | 80,94 |
| 3 | 300,73 | 251,33 | 84,82 | 85,40 | 146,61 | 124,98 |
| 4 | 230,33 | 230,38 | 94,25 | 70,27 | 164,93 | 131,95 |
| 5 | 113,10 | 109,96 | 146,61 | 109,96 | 107,29 | 102,63 |
| 6 | 165,66 | 184,31 | 138,23 | 106,55 | * | * |
| 7 | 132,96 | 125,66 | □ | □ | 75,40 | 103,67 |
| 8 | 115,19 | 104,72 | 75,40 | 123,98 | 64,82 | 110,69 |
| 9 | 168,17 | 167,55 | □ | □ | 128,23 | 141,37 |
| 10 | 138,23 | 125,66 | 62,83 | 83,98 | 80,95 | 141,37 |
| Ort | 162,8±59,5 | 154,5±52,2 | 119,8±70,4 | 100,5±23,2 | 97,1±42,2 | 95,3±27,7 |
| *: Ex | | | | | | |
| Ort: Ortalama tahmini prostat ağırlığı | | | | | | |
| □: Atipik prostat hiperplazisi gelişen sıçanlar | | | | | | |

Tablo 10. Tahmini prostat ağırlıkları bakımından grupların kendi aralarında karşılaştırmalı analizi

| | Sağ ventral prostat p | Sol ventral prostat p |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Grup 2-3 | 0,026 | 0,002 |
| Grup 2-4 | 0,014 | 0,006 |
| Grup 3-4 | 0,735 | 0,923 |
| P= Mann-Whitney U testi | | |

Grup 3 ve 4'deki sıçanlar 40. ve 47. günlerdeki tahmini prostat ağırlıklarına göre kendi içlerinde değerlendirildi (Tablo 11). İntraprostatik Botox tedavisi grup 3'deki sıçanların tahmini prostat ağırlığında istatistiki olarak anlamlı azalma sağlamakta idi. İntraprostatik Lys tedavisi grup 4'deki sıçanların tahmini prostat ağırlığında istatistiki olarak anlamlı azalma sağlamakta idi.

Tablo 11. Grup 3 ve 4'deki sıçanlar 40. ve 47. günlerdeki tahmini prostat ağırlık ortalamaları ve grupların kendi içlerindeki anlamlılık düzeyi

| | 40. gün sağ | 47. gün sağ | p | 40. gün sol | 47. gün sol | p |
|---|-------------|-------------|-------|-------------|-------------|-------|
| Grup 3 | 148,6±34,2 | 101,4±33 | 0,012 | 123,3±22,3 | 93,2±18,4 | 0,012 |
| Grup 4 | 163,3±57,8 | 97,1±42,2 | 0,008 | 147,9±41 | 95,3±27,7 | 0,008 |
| ±: standart sapma, P: <i>Wilcoxon işaretli sıralar testi</i> | | | | | | |

Grup 5'deki sıçanların ilk üçünde sağ ventral prostata Lys enjeksiyonu sol ventral prostata BOTOX enjeksiyonu yapıldı. Kalan üç sıçanın ise sağ ventral prostata BOTOX sol ventral prostata Lys enjeksiyonu yapıldı. Grup 5'deki sıçanlar 5a (1, 2, 3 nolu sıçanlar) ve 5b (4, 5, 6 nolu sıçanlar) olarak ikiye ayrıldı. Grup 5a'daki sıçanlar tahmini sağ ve sol ventral prostat ağırlıklarına göre değerlendirildiğinde Lys uygulanan sağ ventral prostata tahmini prostat ağırlığı ile BOTOX uygulanan sol ventral prostata tahmini prostat ağırlığı arasında istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,285$). Grup 5b'deki sıçanlar tahmini sağ ve sol ventral prostat ağırlıklarına göre değerlendirildiğinde BOTOX uygulanan sağ ventral prostata tahmini prostat ağırlığı ile Lys uygulanan sol ventral prostata tahmini prostat ağırlığı arasında istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,180$). Grup 5'deki sıçanların tahmini prostat ağırlıkları ortalamaları ve ilaçların etki durumunun analizi tablo 12'de verildi.

Tablo 12. Grup 5'deki sıçanların tahmini prostat ağırlıkları ortalamaları ve BOTOX ve Lys tedavisinin tahmini prostat ağırlığı üzerine birbirleri ile aralarındaki anlamlılık düzeyi

| | Ort - İlaç | p | Ort - İlaç | p |
|---|------------------|-------|--------------------|-------|
| SaVP | Lys 110±40,4 | 0,285 | BOTOX 121,5±7,3 | 0,180 |
| SoVP | BOTOX 99±29,9 | | Lys 103,7±13,7 | |
| Ort: Ortalama tahmini prostat ağırlığı ±: standart sapma, SaVP: Sağ ventral prostat SoVP: Sol ventral prostat P: <i>Wilcoxon işaretli sıralar testi</i> | | | | |

Tüm gruplardaki sıçanların cerrahi eksizyon sonrası hassas tartı ile ölçülen gerçek prostat ağırlıklarının dağılımı tablo 13'de verildi. Grup 1'deki sıçanların gerçek sağ ve sol ventral prostat ağırlıkları ortalaması sırası ile 275,2±114,6 mg, 258,9±105 mg idi. Grup 2'deki sıçanların gerçek sağ ve sol ventral prostat ağırlıkları ortalaması sırası ile 388,6±91,5 mg, 354,8±60 mg idi. Grup 3'deki sıçanların gerçek

sağ ve sol ventral prostat ağırlıkları ortalaması sırası ile 290,6±91,4 mg, 211,1±59 mg idi. Grup 4'deki sıçanların gerçek sağ ve sol ventral prostat ağırlıkları ortalaması sırası ile 248,4±70,1 mg, 207±71,8 mg idi.

Tablo 13. Gruplara göre sıçanların cerrahi eksizyon sonrası hassas tartı ile ölçülen gerçek prostat ağırlıkları

| | Grup 1 | | Grup 2 | | Grup 3 | | Grup 4 | | Grup 5 | |
|----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|
| | Sağ | Sol | Sağ | Sol | Sağ | Sol | Sağ | Sol | Sağ | Sol |
| 1 | 263 | 500 | 372 | 330 | 280 | 223 | 236 | 159 | 251 | 381 |
| 2 | 245 | 210 | 312 | 310 | 182 | 130 | 149 | 88 | 311 | 269 |
| 3 | 208 | 238 | 590 | 504 | 276 | 255 | 357 | 197 | 106 | 375 |
| 4 | 197 | 216 | 469 | 326 | 235 | 212 | 214 | 213 | 427 | 351 |
| 5 | 135 | 126 | 432 | 371 | 334 | 316 | 275 | 213 | 372 | 318 |
| 6 | 394 | 207 | 344 | 385 | 490 | 156 | * | * | 393 | 340 |
| 7 | 292 | 293 | 264 | 296 | ° | ° | 192 | 203 | | |
| 8 | 361 | 313 | 370 | 320 | 252 | 174 | 240 | 203 | | |
| 9 | 501 | • | 340 | 333 | ° | ° | 355 | 363 | | |
| 10 | 156 | 227 | 393 | 373 | 276 | 223 | 218 | 224 | | |

*: Ex
•: Tek loblu
°: Atipik hiperplazi gelişen sıçanlar

Grup 1'deki sıçanların gerçek sağ ventral lob prostat ağırlığı ile grup 2'deki sıçanların gerçek sağ ventral lob prostat ağırlıkları arasında istatistiki olarak anlamlı fark vardı (p=0,028). Grup 1'deki sıçanların gerçek sol ventral lob prostat ağırlığı ile grup 2'deki sıçanların gerçek sol ventral lob prostat ağırlıkları arasında istatistiki olarak anlamlı fark vardı (p=0,006). Testosteron sıçanlarda istatistiki olarak anlamlı düzeyde prostat ağırlığında artışa neden olmakta idi (Tablo 14).

Tablo 14. Grup 1 ve 2'deki sıçanların gerçek prostat ağırlıkları bakımından karşılaştırmalı analizi

| | Grup 1- Grup 2 p |
|---------------------|---------------------|
| Sağ ventral prostat | 0,028 |
| Sol ventral prostat | 0,006 |

P= Mann-Whitney U testi

Grup 2'deki sıçanların gerçek sağ ventral lob prostat ağırlığı ile grup 3'deki sıçanların gerçek sağ ventral lob prostat ağırlıkları arasında istatistiki olarak anlamlı fark vardı (p=0,021). Grup 2'deki sıçanların gerçek sol ventral lob prostat ağırlığı ile grup 3'deki sıçanların gerçek sol ventral lob prostat ağırlıkları arasında istatistiki olarak anlamlı fark vardı (p=0,001). Grup 2'deki sıçanların gerçek sağ ventral lob

prostat ağırlığı ile grup 4'deki sıçanların gerçek sağ ventral lob prostat ağırlıkları arasında istatistiki olarak anlamlı fark vardı ($p=0,003$). Grup 2'deki sıçanların gerçek sol ventral lob prostat ağırlığı ile grup 4'deki sıçanların gerçek sol ventral lob prostat ağırlıkları arasında istatistiki olarak anlamlı fark vardı ($p=0,001$). Grup 3'deki sıçanların gerçek sağ ventral lob prostat ağırlığı ile grup 4'deki sıçanların gerçek sağ ventral lob prostat ağırlıkları arasında istatistiki olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,248$). Grup 3'deki sıçanların gerçek sol ventral lob prostat ağırlığı ile grup 4'deki sıçanların gerçek sol ventral lob prostat ağırlıkları arasında istatistiki olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,772$). BOTOX tedavisi sol ve sağ ventral prostat ağırlığında testosteron verilen gruba göre istatistiki olarak anlamlı azalma sağlamakta idi. Lys tedavisi hem sağ hemde sol ventral prostat ağırlığında testosteron verilen gruba göre istatistiki olarak anlamlı azalma sağlamakta idi. Prostat ağırlığına etkileri bakımından BOTOX ve Lys tedavisinin birbirlerine istatistiki olarak bir üstünlüğü yoktu (Tablo 15).

Tablo 15. Gerçek prostat ağırlıkları bakımından grupların kendi aralarında karşılaştırmalı analizi

| | Sağ ventral prostat p | Sol ventral prostat p |
|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Grup 2-3 | 0,021 | 0,001 |
| Grup 2-4 | 0,003 | 0,001 |
| Grup 3-4 | 0,248 | 0,772 |
| P= <i>Mann-Whitney U testi</i> | | |

Grup 5a'daki sıçanlar gerçek sağ ve sol ventral prostat ağırlıklarına göre değerlendirildiğinde Lys uygulanan sağ ventral prostatın gerçek prostat ağırlığı ile BOTOX uygulanan sol ventral prostatın gerçek prostat ağırlığı arasında istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,285$). Grup 5b'deki sıçanlar gerçek sağ ve sol ventral prostat ağırlıklarına göre değerlendirildiğinde BOTOX uygulanan sağ ventral prostatın gerçek prostat ağırlığı ile Lys uygulanan sol ventral prostatın gerçek prostat ağırlığı arasında istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,109$). Grup 5'deki sıçanların gerçek prostat ağırlıkları ortalamaları ve ilaçların etki durumunun analizi tablo 16'da verildi.

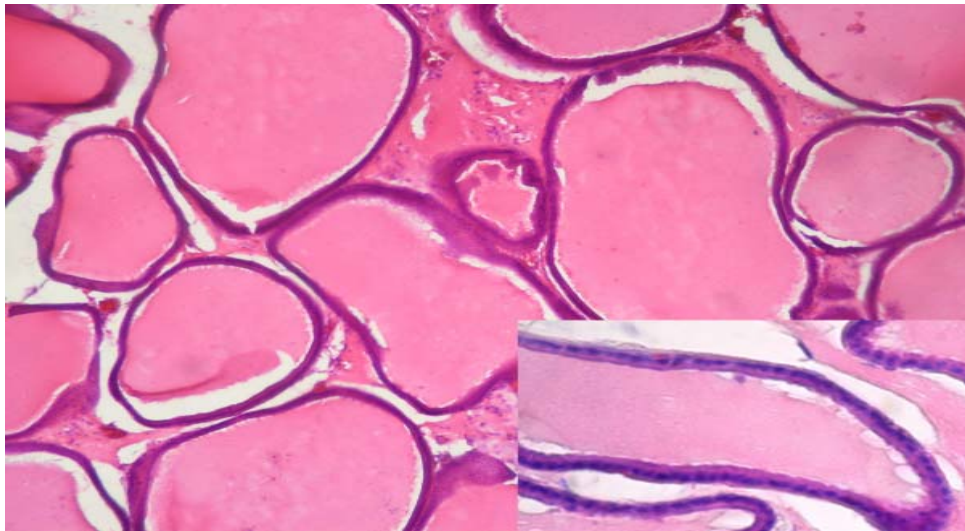
Tablo 16. Grup 5'deki sıçanların gerçek prostat ağırlıkları ortalamaları ve BOTOX ve Lys tedavisinin gerçek prostat ağırlığı üzerine birbirleri ile aralarındaki anlamlılık düzeyi

| | Ort - İlaç | p | Ort - İlaç | p |
|------|--------------------|-------|---------------------|-------|
| SaVP | Lys 222,7±105,4 | 0,285 | BOTOX 397,3±27,8 | 0,109 |
| SoVP | BOTOX 341,7±63 | | Lys 336,3±16,8 | |

Ort: Ortalama tahmini prostat ağırlığı
±: standart sapma,
SaVP: Sağ ventral prostat
SoVP: Sol ventral prostat
P: *Wilcoxon işaretli sıralar testi*

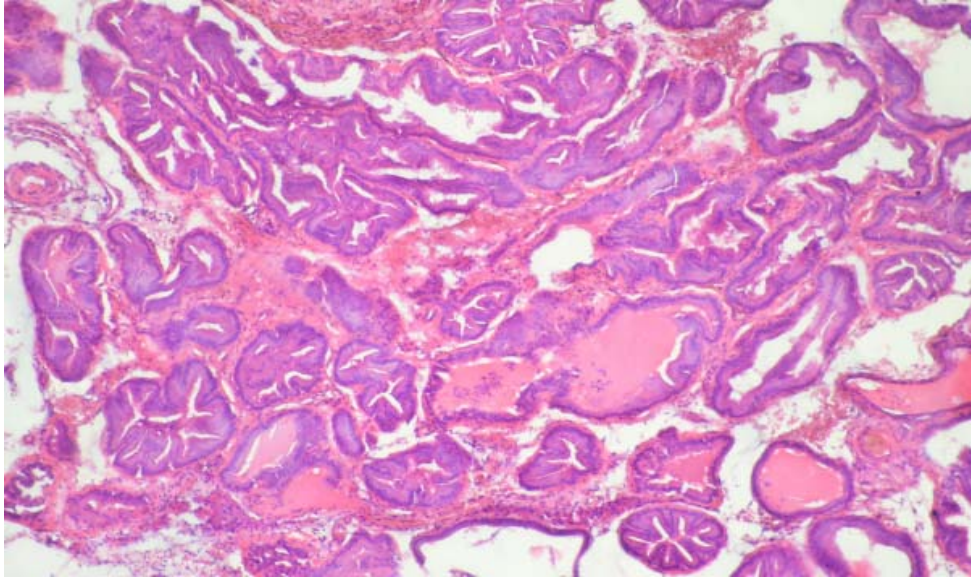
4.2. Histolojik Bulgular

Yapılan histolojik incelemede testosteron verilen grup 2, 3, 4 ve 5'deki sıçanlarda BPH ile uyumlu histolojik değişikliklerin olduğu tespit edildi. Ancak Grup 3'deki 7 ve 9 numaralı sıçanlarda prostat kanseri ile uyumlu atipik histolojik değişiklikler tespit edildi. Grup 1 histolojik yönden genel olarak değerlendirildiğinde asinüslerin lümen, yapısal şekil ve asinüsler arası boşluk bakımından düzenlerini korudukları tespit edildi. Asinüs lümeninin homojen asidofilik materyal ile dolu olduğu ve bazı vakalarda çok hafif villöz projeksiyonlar olabileceği gözlemlendi. Gland epitelinin tek tabakalı olduğu ve küçük, yuvarlak çekirdekli, genellikle kübik veya alçak prizmatik hücrelerden oluştuğu gözlemlendi. Asinüsler ince bir stroma ile çevrili, bazal membran ince ve kesintisiz idi (Resim 1).

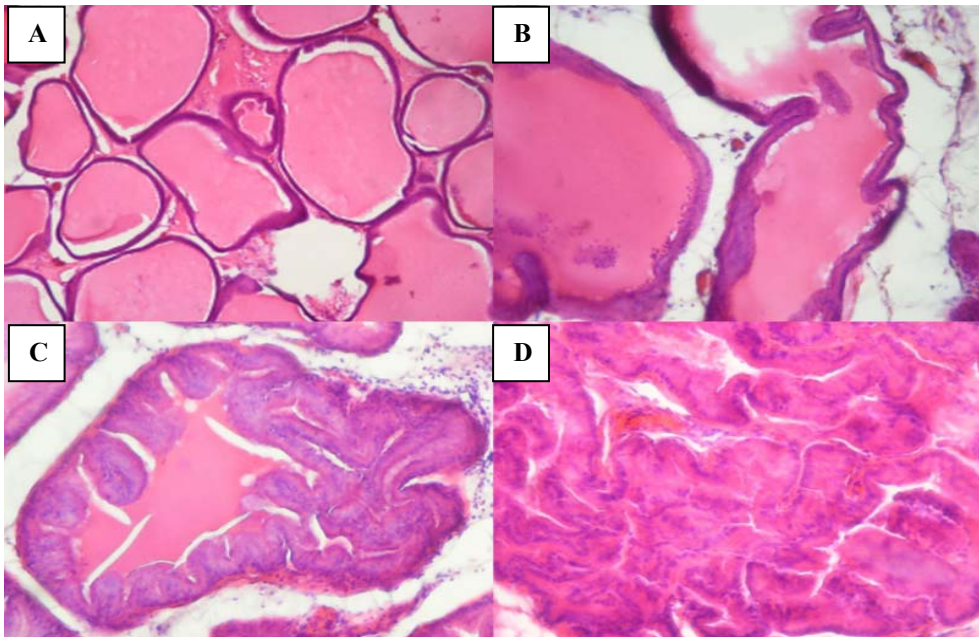


Resim 1. Normal prostat dokusu. Asinüs şekli düzgün, lümendeki salgı homojen ve bağ doku normal yoğunlukta görünmekte. Küçük resimde epiteli alçak prizmatik olarak görünmekte. Boya Hematoksilen-Eozin (H-E), büyütme 200X, küçük resim 400X.

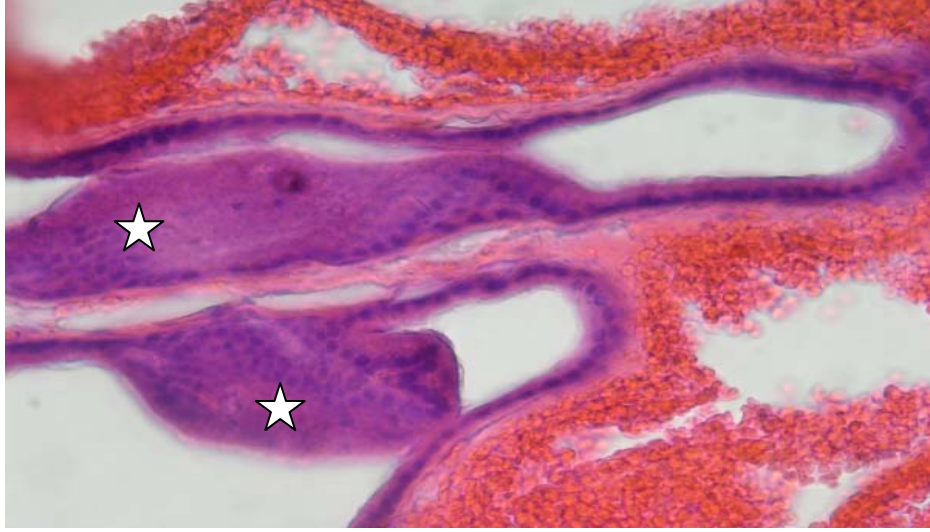
Testosteron uygulanan gruplar değerlendirildiğinde ise değişen miktarda stroma ile birlikte irregüler aciner büyüme paterni gözlemlendi (Resim 2, 3; A, B, C, D). Epitelin kübik veya silindirik yapıda olduğu tespit edildi. Çekirdek yuvarlak veya ovoid idi. Bazı hücrelerde mitotik aktivite gözlemlendi. Bazı vakalarda izole veya multiple alanlarda üst üste yığılı hücre toplulukları (piling up formasyonu) gözlemlendi (Resim 4). Bazal membranda ince ve kesintisiz idi.



Resim 2. Hiperplastik prostat dokusu. Asinus epiteli prizmatik ve aşırı kıvrımlı, asinus şekli düzensiz ve bağ doku fibrotik olarak görünmekte. (H-E, 200X).

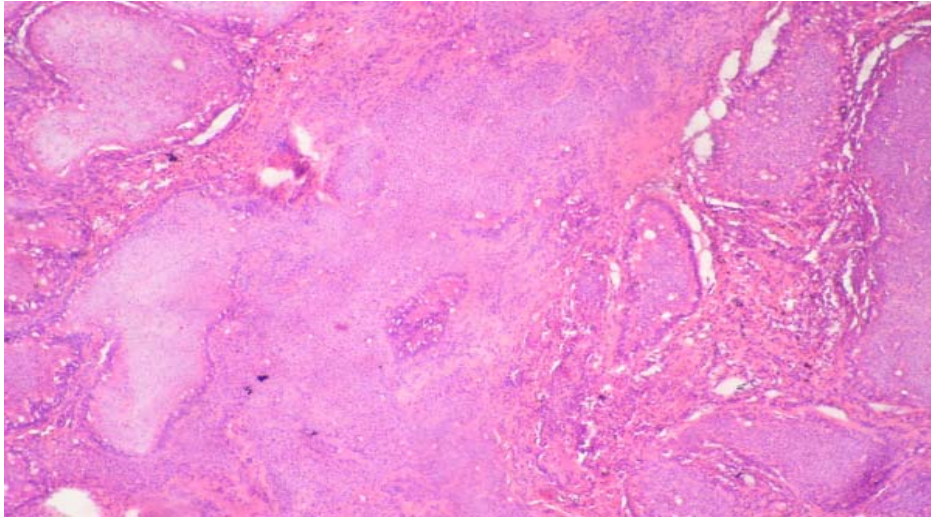


Resim 3. Prostat dokusuna derecelendirilmiş çeşitli bez tipleri. Resimler; normal (A), villöz (B), papiller (C) ve kribriform (D) asinus tiplerini göstermekte. (H-E, sırasıyla 100X, 200X, 200X, 400X).



Resim 4. Hiperplastik prostat dokusunda piling up formasyonu oluşturmuş (yıldızlar) asinus görüntüsü. (H-E, 600X).

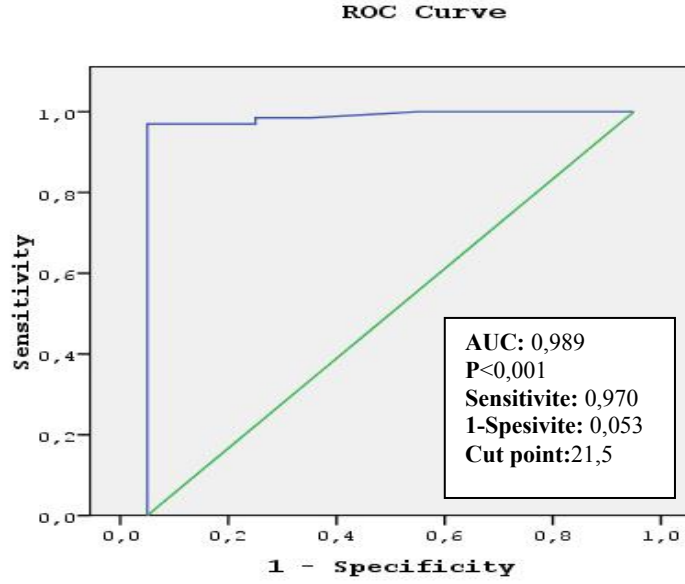
Grup 3'deki daha önce belirtilen iki adet atipik hiperplastik örnekte; fibrotik stroma ile birlikte asinüs düzeninin tamamen kaybolduğu, asinüs lümeni ve stromanın poligonalepitel hücreleri tarafından istila edildiği tespit edildi. Çekirdek polaritesinin kaybolduğu ve çekirdek şeklinin irregüler olduğu gözlemlendi. Bazal membranın bütünlüğü bozulmuş idi (Resim 5).



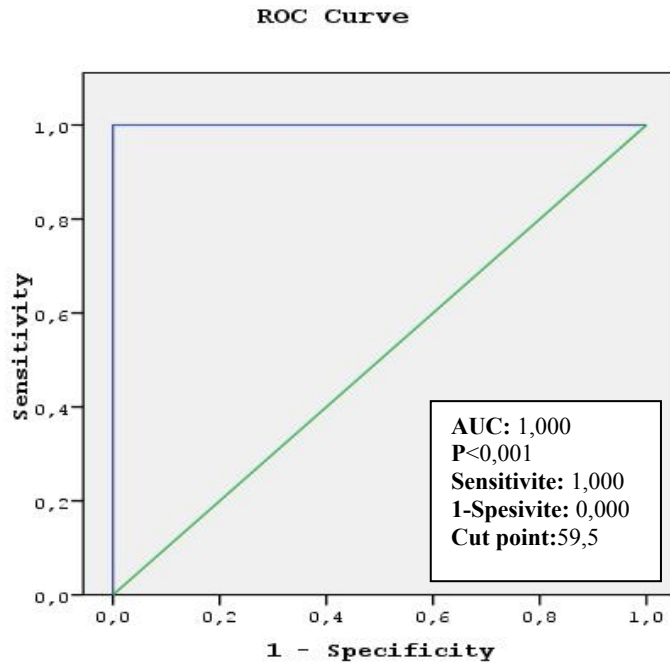
Resim 5. Atipik hiperplastik prostat dokusu. Asinusların içi ve stroma neoplastik hücreler tarafından doldurulmuş durumda (H-E, 100X).

Histolojik tanıya göre histolojik skorlama sonuçları için kesim noktaları hesaplandı (Şekil 6, 7). BPH için histolojik skorlamada en uygun kesim değeri olan

21,5 için eğri altında kalan alan 0,989 ve $p < 0,001$ idi ve prostat kanseri için en uygun kesim değeri olan 59,5 için eğri altında kalan alan 1,000 ve $p < 0,001$ idi.



Şekil 6. Histolojik skorlamaya göre BPH kesim değeri



Şekil 7. Histolojik skorlamaya göre prostat kanseri kesim değeri

Grupların histolojik skora göre skor ortalamaları ve standart sapma değerleri tablo 17’de özetlendi. Grup 1 ve 2’nin sağ ve sol histolojik skorları karşılaştırıldı, arada istatistik olarak anlamlı fark tespit edildi ($p < 0,001$ – $p < 0,001$). Grup 2 ve

3'nin sağ ve sol histolojik skorları karşılaştırıldı, arada istatistiki olarak anlamlı fark tespit edildi ($p=0,044 - p=0,003$). Grup 2 ve 4'ün sağ ve sol histolojik skorları karşılaştırıldı, arada istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,367 - p=0,164$). Grup 3 ve 4'ün sağ ve sol histolojik skorları karşılaştırıldı, arada istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,733 - p=0,664$).

Yapılan karşılaştırmalar sonucunda testosteron uygulamasının histolojik skor derecesini arttırdığı ve yapılan histolojik değerlendirmeye görede BPH oluşumuna yol açtığı tespit edildi. BOTOX ve Lys tedavilerinin etkinliği grup 2'nin histolojik skorlaması referans alınarak değerlendirildi. BOTOX tedavisinin testosteron verilen gruba göre histolojik skorda artış yönünde istatistiki olarak anlamlı fark oluşturduğu tespit edildi. Lys tedavisi ile testosteron arasında histolojik skor bakımından anlamlı bir fark tespit edilmedi. Lys tedavisi grubu ile BOTOX tedavisi grubunun histolojik skorlaması arasında da istatistiki olarak anlamlı bir fark yoktu. Dolayısı ile Lys tedavisi BOTOX tedavisine göre testosteron grubu ile karşılaştırıldığında histolojik skorda daha az artış yapmaktadır.

Grup 5'de ilk üç sıçan arasında Lys ve BOTOX tedavisi açısından sağ ve sol prostat loblarının histolojik skorlamasında istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,655$). Grup 5'de son üç sıçan arasında BOTOX ve Lys tedavisi açısından sağ ve sol prostat loblarının histolojik skorlamasında istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,109$). Aynı sıçanlar üzerinde BOTOX ve Lys tedavisinin birinin sağ diğerinin sol loba uygulanması ve daha sonra bu tedavilerin uygulandıkları lobların değiştirilmesi histolojik skorlama açısından istatistiki bir farklılığa yol açmamakta idi. Histolojik skorlamaya göre gruplar arasındaki ve grup 5'in kendi içindeki karşılaştırmalı analizi tablo 18'de özetlendi.

Tablo 17. Gruplara göre histolojik skor ortalamaları

| | sağ | sol |
|---------|----------|----------|
| Grup 1 | 18,3±2,7 | 17,3±2 |
| Grup 2 | 31,6±4,5 | 31,1±3,2 |
| Grup 3 | 37,5±6,8 | 38,3±4 |
| Grup 4 | 34,3±9,6 | 35,3±8,7 |
| Grup 5a | 32,3±9,5 | 23,3±3,5 |
| Grup 5b | 34,3±8,3 | 32±6 |

±: Standart sapma

Tablo 18. Grup 1, 2, 3, 4'ün histolojik skora göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi ve grup 5'in histolojik skora göre grup içindeki anlamlılık düzeyi

| | Sağ (p) | Sol (p) |
|--|--------------------|---------|
| Grup 1-2 | <0,001* | <0,001* |
| Grup 2-3 | 0,044* | 0,003* |
| Grup 2-4 | 0,367* | 0,164* |
| Grup 3-4 | 0,733* | 0,664* |
| Grup 5a (ilk üç 3/6) | 0,655 [□] | |
| Grup 5b (son üç 3/6) | 0,109 [□] | |
| p*: Mann-Whitney U testi | | |
| p [□] : Wilcoxon işaretli sıralar testi | | |

Grup 1 ve 2'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları lümen şekli bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0,032 - p=0,018$). Grup 1'deki sıçanlarda lümen şekli daha çok düzenli iken grup 2'deki sıçanların lümen şekli villöz ve papiller idi. Grup 2 ve 3'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları lümen şekli bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,026 - p=0,017$). Grup 3'deki sıçanlarda grup 2'deki sıçanlara göre villöz görünüm azalıp papiller ve kribriiform paternin görülme sıklığı artmış idi. Grup 2 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları lümen şekli bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0,001 - p=0,001$). Grup 4'deki sıçanlarda grup 2'ye göre villöz görünümün azalıp papiller ve kribriiform paternlerin görülme sıklığının arttığı tespit edildi. Grup 3 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları lümen şekli bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,421 - p=0,306$). Gruplar arasında lümen şekline göre yapılan istatistiki analiz sonuçları tablo 19'da özetlendi.

Tablo 19. Prostat asinüslerinin lümen şekline göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi

| | Sağ (p) | Sol (p) |
|-------------------------------|---------|---------|
| Grup 1-2 | 0,032 | 0,018 |
| Grup 2-3 | 0,026 | 0,017 |
| Grup 2-4 | 0,001 | 0,001 |
| Grup 3-4 | 0,421 | 0,306 |
| p*: Ki-kare bağımsızlık testi | | |

Grup 1 ve 2'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları asinüs şekli bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0,004 - p=0,002$). Grup 1'deki sıçanların asinüsleri daha tübüler yapıda iken

Grup 2’deki sıçanların asinüsleri daha çok dallı ve bazı olgularda irregüler şekilde idi. Grup 2 ve 3’deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları asinüs şekli bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,216 - p=0,181$). Grup 2 ve 4’deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları asinüs şekli bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0,001 - p=0,001$). Grup 4’deki sıçanlarda asinüs şekli bakımından dallı formun azalıp irregüler formun arttığı tespit edildi. Grup 3 ve 4’deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları asinüs şekli bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0,026 - p=0,018$). Grup 4’deki sıçanlarda grup 3’deki sıçanlara göre irregüler asiner şekil daha fazla oranda gözlemlenmekte idi (%33,3-%66,7). Gruplar arasında asinüs şekline göre yapılan istatitiki analiz sonuçları tablo 20’de özetlendi.

Tablo 20. Asinüslerin şekline göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi

| | Sağ (p) | Sol (p) |
|-----------------|---------|---------|
| Grup 1-2 | 0,004 | 0,002 |
| Grup 2-3 | 0,216 | 0,181 |
| Grup 2-4 | <0,001 | 0,001 |
| Grup 3-4 | 0,026 | 0,018 |

p*: *Ki-kare bağımsızlık testi*

Grup 1 ve 2’deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları asinüsler arası boşluk bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0,003 - p=0,004$). Grup 1’deki sıçanların asinüsler arası boşluğu grup 2’dekilere göre biraz daha geniş idi. Grup 2 ve 3’deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları asinüsler arası boşluk bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,660 - p=0,878$). Grup 2 ve 4’deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları asinüsler arası boşluk bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,367 - p=0,248$). Grup 3 ve 4’deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları asinüsler arası boşluk bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,116 - p=0,061$). Gruplar arasında asinüsler arası boşluğa göre yapılan istatitiki analiz sonuçları tablo 21’de özetlendi.

Tablo 21. Asinüsler arası boşluğa göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi

| | Sağ (p) | Sol (p) |
|--------------------------------------|---------|---------|
| Grup 1-2 | 0,003 | 0,004 |
| Grup 2-3 | 0,660 | 0,878 |
| Grup 2-4 | 0,367 | 0,248 |
| Grup 3-4 | 0,116 | 0,061 |
| p*: <i>Ki-kare bağımsızlık testi</i> | | |

Grup 1 ve 2'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları stroma bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p < 0,001$ – $p < 0,001$). Grup 2'deki sıçanlarda stroma alanı grup 1'dekilere göre azalmasına rağmen stromadaki lif yoğunluğunun arttığı tespit edildi. Grup 2 ve 3'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları stroma bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p = 0,152$ – $p = 0,125$). Grup 2 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları stroma bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p = 0,336$ – $p = 0,455$). Grup 3 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları stroma bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p = 0,382$ – $p = 0,735$). Gruplar arasında stroma bakımından istatistiki analiz sonuçları tablo 22'de özetlendi.

Tablo 22. Stroma yönünden gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi

| | Sağ (p) | Sol (p) |
|--------------------------------------|---------|---------|
| Grup 1-2 | <0,001 | <0,001 |
| Grup 2-3 | 0,152 | 0,125 |
| Grup 2-4 | 0,336 | 0,455 |
| Grup 3-4 | 0,382 | 0,735 |
| p*: <i>Ki-kare bağımsızlık testi</i> | | |

Grup 1 ve 2'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları epitel şekli bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p < 0,001$ – $p < 0,001$). Grup 1'deki sıçanların epiteli genellikle kübik veya alçak prizmatik epitel hücrelerinden oluşur iken, grup 2'de epitel daha yaygın olarak prizmatik hücrelerden oluşmakta idi. Grup 2 ve 3'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları epitel şekli bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p = 0,697$ – $p = 0,454$). Grup 2 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları epitel şekli bakımından karşılaştırıldığında arada

istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,410 - p=0,540$). Grup 3 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları epitel şekli bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,415 - p=0,171$). Gruplar arasında epitelium şekline göre yapılan istatitiki analiz sonuçları tablo 23'de özetlendi.

Tablo 23. Epitel şekline göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi

| | Sağ (p) | Sol (p) |
|-------------------------------|---------|---------|
| Grup 1-2 | <0,001 | <0,001 |
| Grup 2-3 | 0,697 | 0,454 |
| Grup 2-4 | 0,410 | 0,540 |
| Grup 3-4 | 0,415 | 0,171 |
| p*: Ki-kare bağımsızlık testi | | |

Grup 1 ve 2'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları tabaka sayısı bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0,001 - p<0,001$). Grup 2'deki sıçanlarda epiteldeki tabaka sayısı artmış idi. Grup 2 ve 3'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları tabaka sayısı bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,158 - p=0,092$). Grup 2 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları tabaka sayısı bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,459 - p=0,411$). Grup 3 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları tabaka sayısı bakımından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,587 - p=0,581$). Gruplar arasında epitelial tabaka sayısına göre yapılan istatitiki analiz sonuçları tablo 24'de özetlendi.

Tablo 24. Epitelial tabaka sayısına göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi

| | Sağ (p) | Sol (p) |
|-------------------------------|---------|---------|
| Grup 1-2 | <0,001 | <0,001 |
| Grup 2-3 | 0,158 | 0,092 |
| Grup 2-4 | 0,459 | 0,411 |
| Grup 3-4 | 0,587 | 0,581 |
| p*: Ki-kare bağımsızlık testi | | |

Grup 1 ve 2'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları epitel hücrelerindeki çekirdek diziliminin polar apolar olma durumlarına göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0,003 - p=0,002$). Grup 2'deki sıçanların epitel hücrelerinde çekirdek diziliminin bozulduğu

tespit edildi. Grup 2 ve 3'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları epitel hücrelerindeki çekirdek diziliminin polar, apolar olma durumlarına göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,340$ – $p=0,382$). Grup 2 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları epitel hücrelerindeki çekirdek diziliminin polar, apolar olma durumlarına göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,590$ – $p=0,820$). Grup 3 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları epitel hücrelerindeki çekirdek diziliminin polar apolar olma durumlarına göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,064$ – $p=0,126$). Gruplar arasında çekirdek dizilimine göre yapılan istatitiki analiz sonuçları tablo 25'de özetlendi.

Tablo 25. Çekirdek dizilimine göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi

| | Sağ (p) | Sol (p) |
|-----------------|---------|---------|
| Grup 1-2 | 0,003 | 0,002 |
| Grup 2-3 | 0,340 | 0,382 |
| Grup 2-4 | 0,590 | 0,820 |
| Grup 3-4 | 0,064 | 0,126 |

p*: *Ki-kare bağımsızlık testi*

Grup 1'deki sıçanların hiçbirinde pilling up veya buding görülmez iken, grup 2'deki sıçanlarda piling up (n:3/10) yapısı ve buding (n:1/10) yapısı gözlemlendi. Grup 2 ve 3'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları tabaka hücrelerin pilling up, buding gibi lezyonların görülme durumlarına göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0,001$ – $p<0,001$). Grup 3'deki sıçanlarda pilling up formasyonu grup 2'deki sıçanlara göre artmış idi. Grup 2 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları tabaka hücrelerin pilling up, buding gibi lezyonların görülme durumlarına göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0,001$ – $p<0,001$). Grup 4'deki sıçanlarda pilling up formasyonu grup 2'deki sıçanlara göre artmış idi. Grup 3 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları tabaka hücrelerin pilling up, buding gibi lezyonların görülme durumlarına göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,176$ – $p=0,121$). Gruplar arasında epiteldeki hücre topluluk ve formasyonlarına göre yapılan istatitiki analiz sonuçları tablo 26'de özetlendi.

Tablo 26. Epiteldeki hücre topluluk ve formasyonlarına göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi

| | Sağ (p) | Sol (p) |
|-------------------------------|--|---------|
| Grup 1-2 | Grup 1 hücre formasyonu: 0 Grup 2 hücre formasyonu: 4 | |
| Grup 2-3 | 0,001 | <0,001 |
| Grup 2-4 | 0,001 | <0,001 |
| Grup 3-4 | 0,176 | 0,121 |
| p*: Ki-kare bağımsızlık testi | | |

Grup 1'deki sıçanların hepsinin çekirdekleri yuvarlak şekilde iken grup 2'deki 2 sıçanda irregüler şekilli çekirdek yapısı tespit edildi. Grup 2 ve 3'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları epitel hücrelerinin çekirdek şekline göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0,048$ – $p=0,028$). Grup 3'deki sıçanlarda irregüler şekildeki çekirdek yapısı miktarı grup 2'dekilere göre azalmış idi. Grup 2 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları epitel hücrelerinin çekirdek şekline göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0,007$ – $p=0,012$). Grup 4'deki sıçanlarda irregüler şekildeki çekirdek yapısı miktarı grup 2'dekilere göre azalmış idi. Grup 3 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları epitel hücrelerinin çekirdek şekline göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,128$ – $p=0,089$). Gruplar arasında epitel hücrelerinin çekirdek şekillerine göre yapılan istatistiki analiz sonuçları tablo 27'de özetlendi.

Tablo 27. Epitel hücrelerinin çekirdek şekillerine göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi

| | Sağ (p) | Sol (p) |
|-------------------------------|---|---------|
| Grup 1-2 | Grup 1 çekirdek: Yuvarlak Grup 2 irregüler çekirdek: 2 | |
| Grup 2-3 | 0,048 | 0,28 |
| Grup 2-4 | 0,007 | 0,012 |
| Grup 3-4 | 0,128 | 0,089 |
| p*: Ki-kare bağımsızlık testi | | |

Grup 1 ve 2'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları alan başı mitoz gözlenme durumuna göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0,001$ – $p<0,001$). Grup 2'deki sıçanlarda mitoz görülme oranı grup 1'dekilere göre yüksek idi. Grup 2 ve 3'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları alan başı mitoz gözlenme durumuna göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,258$ – $p=0,202$). Grup 2 ve 4'deki

sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları alan başı mitoz gözlenme durumuna göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,428$ – $p=0,226$). Grup 3 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları alan başı mitoz gözlenme durumuna göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,121$ – $p=0,287$). Gruplar arasında alan başı mitoz sayısına göre yapılan istatitiki analiz sonuçları tablo 28'de özetlendi.

Tablo 28. Alan başı mitoz sayısına göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi

| | Sağ (p) | Sol (p) |
|-----------------|---------|---------|
| Grup 1-2 | <0,001 | <0,001 |
| Grup 2-3 | 0,258 | 0,202 |
| Grup 2-4 | 0,428 | 0,226 |
| Grup 3-4 | 0,121 | 0,287 |

p*: *Ki-kare bağımsızlık testi*

Bazal membranın yapısı kesintili veya kesintisiz, ince veya kalın olması durumuna göre ayrı ayrı analiz edildi. Grup 1 ve 2'deki sıçanların hepsinde bazal membranın yapısı kesintisiz ve ince idi. Grup 2 ve 3'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları bazal membran durumuna göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,647$ - $p=0,862$). Grup 2 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları bazal membran durumuna göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,328$ - $p=0,112$). Grup 3 ve 4'deki sıçanların sağ ve sol ventral prostat lobları bazal membran durumuna göre karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,825$ - $p=0,465$). Gruplar arasında bazal membran yapısına göre yapılan istatitiki analiz sonuçları tablo 29'da özetlendi.

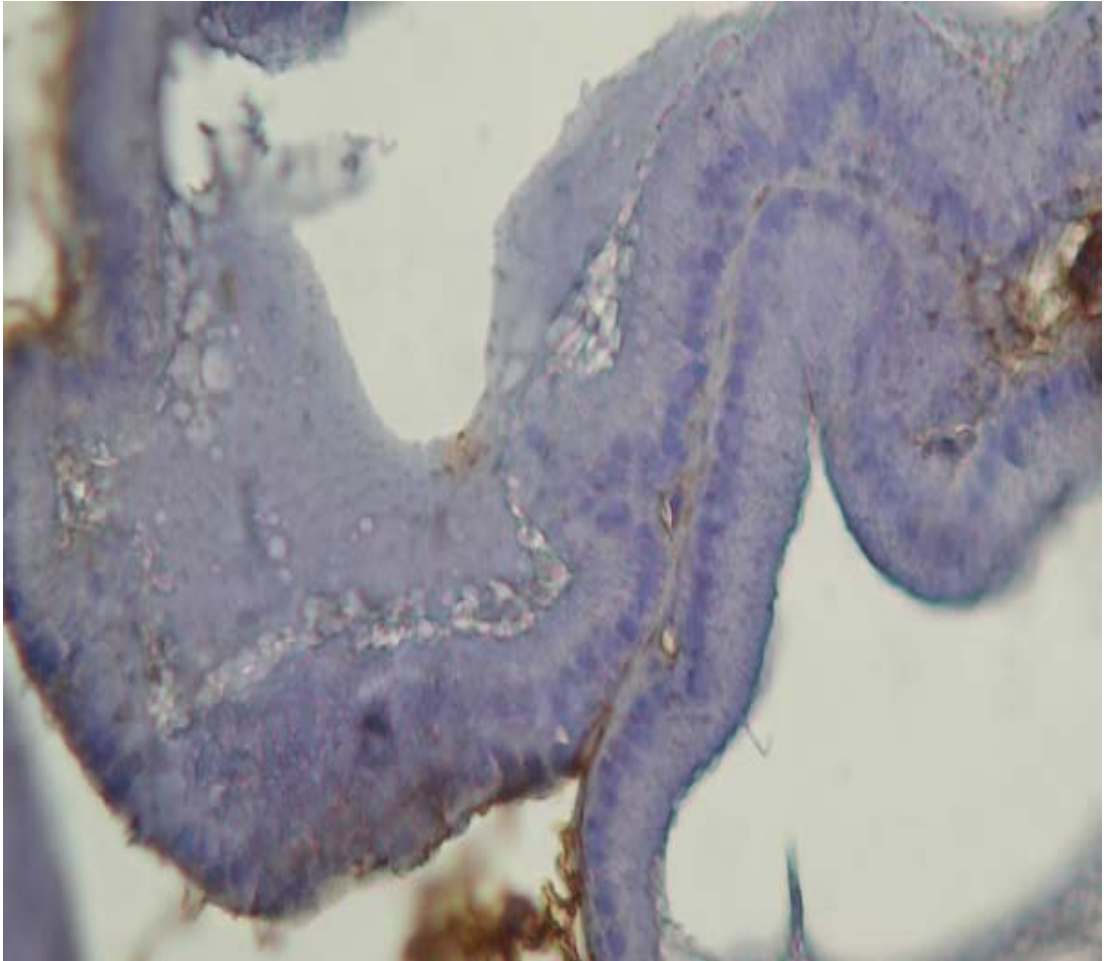
Tablo 29. Bazal membran yapısına göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi

| | Sağ (p) | Sol (p) |
|-----------------|--|---------|
| Grup 1-2 | Grup 1: Kesintisiz ince Grup 2: Kesintisiz ince | |
| Grup 2-3 | 0,647 | 0,862 |
| Grup 2-4 | 0,328 | 0,112 |
| Grup 3-4 | 0,825 | 0,465 |

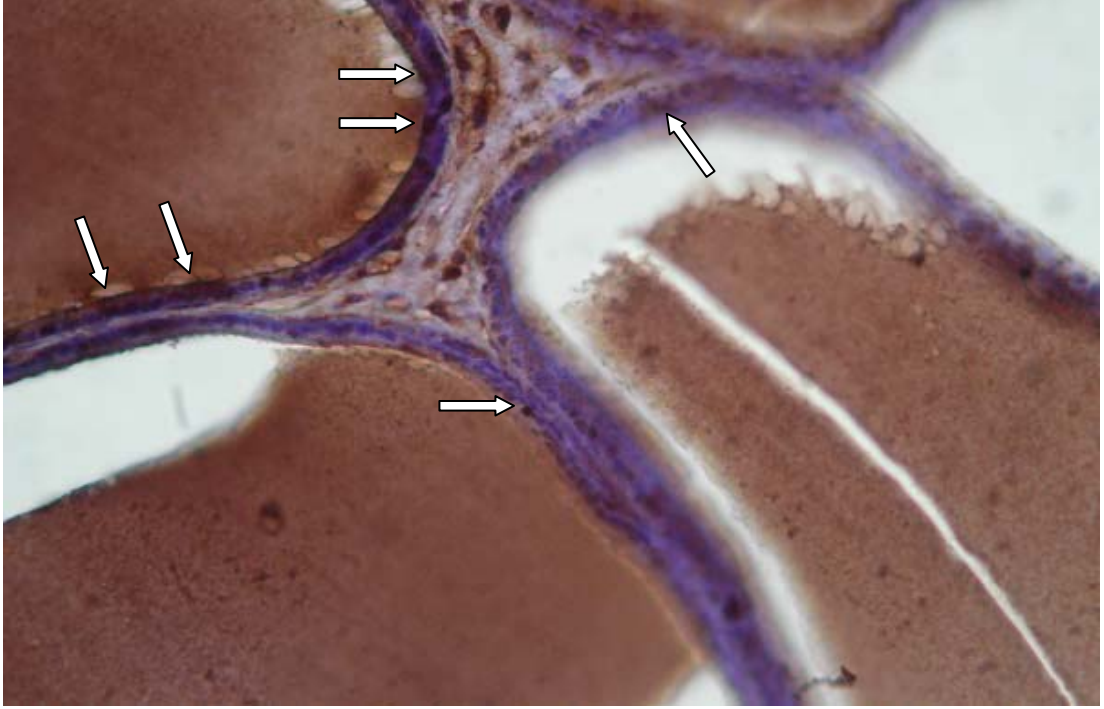
p*: *Ki-kare bağımsızlık testi*

4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

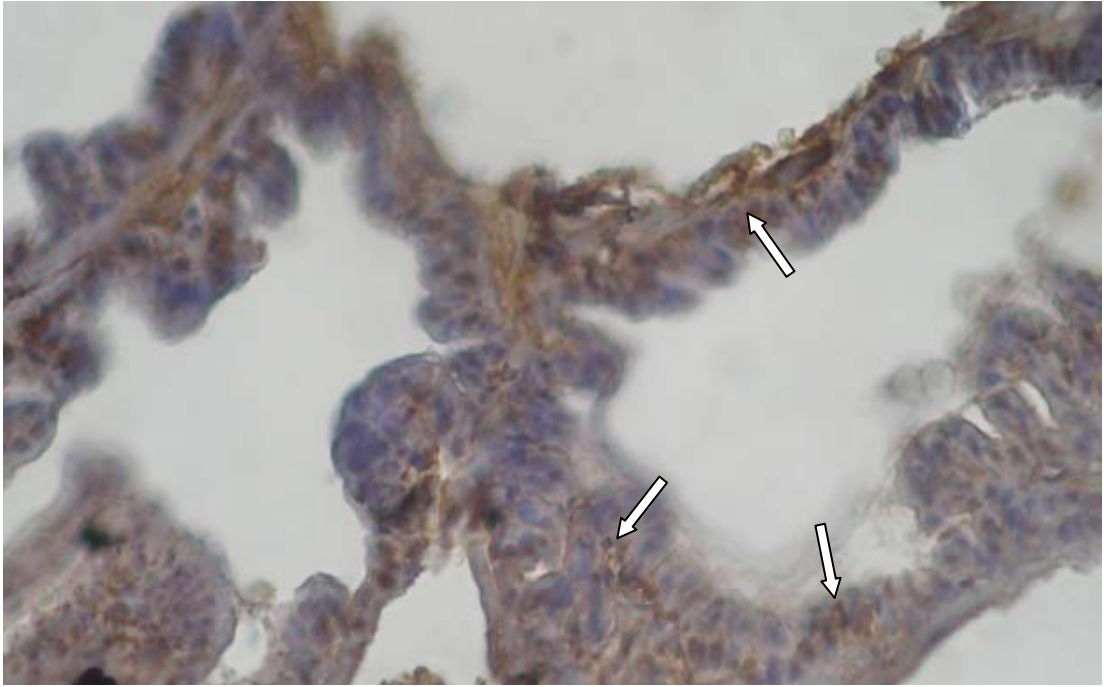
Örneklerdeki apoptoz miktarını belirlemek için immünohistokimya yöntemi uygulandı. Apoptozun son aşamasında aktive olan aktif kaspaz 3 antijeni apoptoz belirteci olarak kullanıldı. Her hayvana ait örnekler immünohistokimyasal olarak boyandı. Örneklerdeki rastgele seçilen alanlardaki asinuslardan 400'lük büyütmede fotoğraflar çekildi (Resim 6-12). Çekilen fotoğraflarda her örnek için rastgele bir alandan 100 adet epitel hücresi sayıldı ve bu hücrelerin kaç adedinin aktif kaspaz 3 için pozitif boyama verdiği belirlendi.



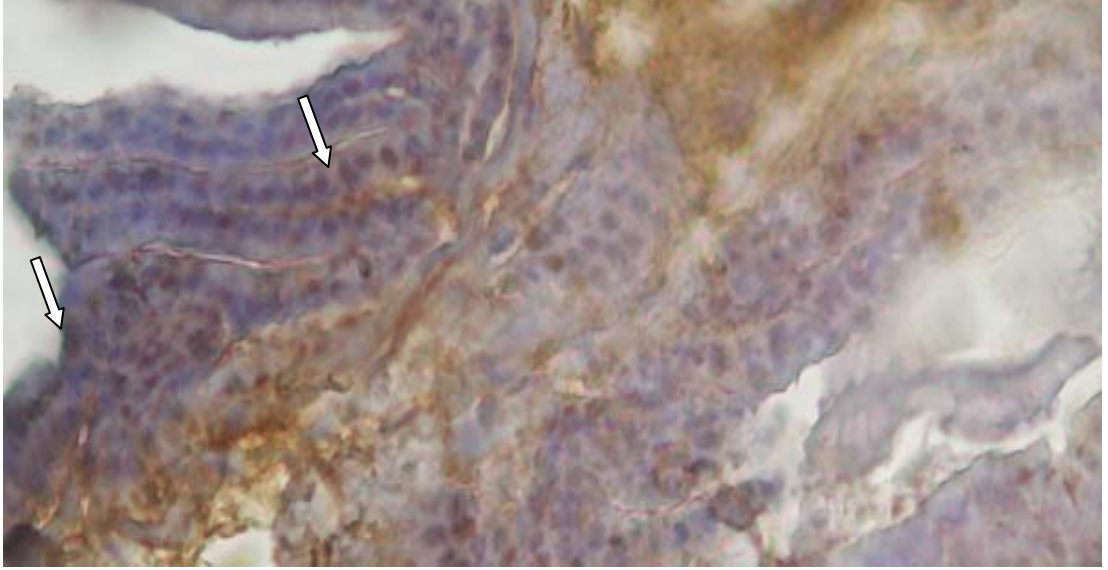
Resim 6. Grup 1'e ait antikor eklenmemiş (negatif kontrol) prostat kesiti. Bağ doku endojen peroksidaz aktivitesinin yoğunluğundan dolayı yanacı pozitif boyama gösteriyor ancak epitel hücreleri antikor ile işaretlenmediği için boyama göstermemekte. Zıt boyama Hematoksilen, Büyütme 400X.



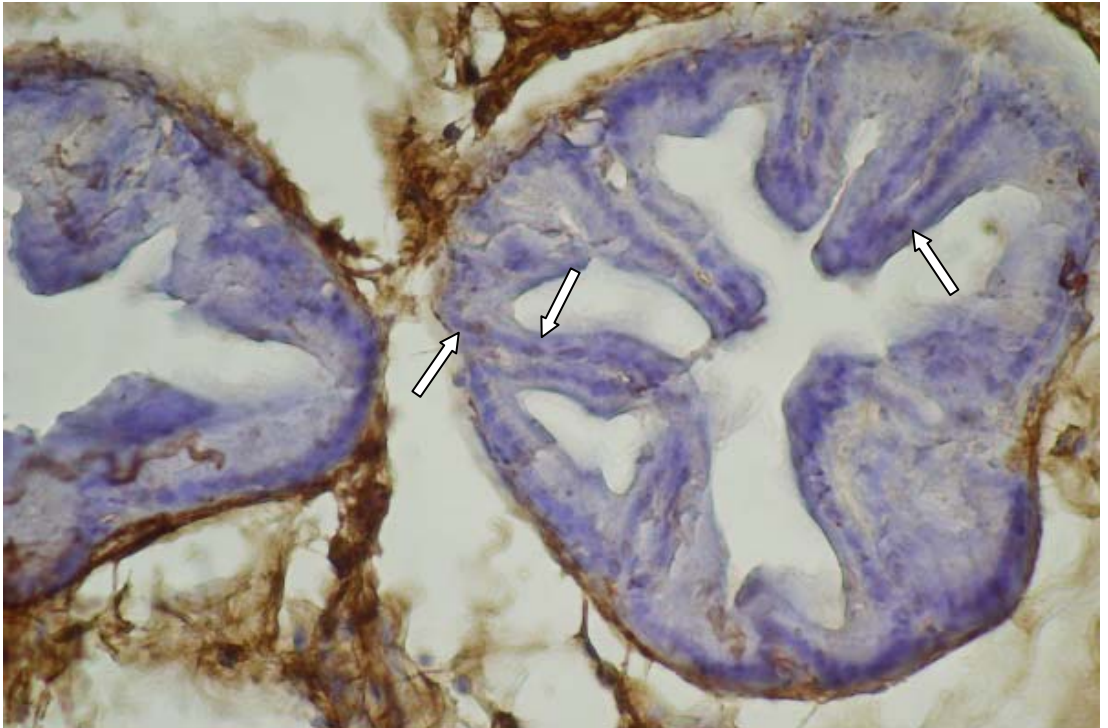
Resim 7. 1. gruba ait prostat kesiti. Aktif kaspaz 3 antikorü ile boyanan apoptotik epitel hücreleri kahverengi renkte görölüyor (oklar). Prostat salgısı ve bağ doku endojen peroksidaz aktivitesinin yoğunluğundan dolayı yanacı pozitif boyama gösteriyor. Zıt boyama Hematoksilen, Büyütme 400X.



Resim 8. 2. gruba ait prostat kesiti. Aktif kaspaz 3 antikorü ile boyanan apoptotik epitel hücreleri kahverengi renkte görölüyor (oklar). Zıt boyama Hematoksilen, Büyütme 600X.



Resim 9. 3. gruba ait prostat kesiti. Aktif kaspaz 3 antikoruna ile boyanan apoptotik epitel hücreleri kahverengi renkte görülüyor (oklar). Zıt boyama Hematoksilen, Büyütme 600X.



Resim 10. 4. gruba ait prostat kesiti. Aktif kaspaz 3 antikoruna ile boyanan apoptotik epitel hücreleri kahverengi renkte görülüyor (oklar). Zıt boyama Hematoksilen, Büyütme 400X.



Resim 11. 5. Gruptan lizozim verilen sıçanlara ait prostat örnekleri. Aktif kaspaz 3 antikoruna ile boyanan apoptotik epitel hücreleri kahverengi renkte görülüyor (oklar). Zıt boyama Hematoksilin, Büyütme 600X.



Resim 12. 5. Gruptan botox verilen sıçanlara ait prostat örnekleri. Aktif kaspaz 3 antikoruna ile boyanan apoptotik epitel hücreleri kahverengi renkte görülüyor (oklar). Zıt boyama Hematoksilin, Büyütme 600X.

Ortalama apoptotik hücre sayısı grup 1'de $26,1 \pm 7,3$ idi, grup 2'de $30,4 \pm 8,2$ idi, grup 3'de $19,2 \pm 4,3$ idi, grup 4'de $17,4 \pm 6$, grup 5'de BOTOX uygulananlarda $19,7 \pm 5,7$ ve grup 5'de Lys uygulananlarda $17,6 \pm 7,4$ idi. Grup 1 ve 2 apoptozis

açısından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,383$). Grup 3 ile hem grup 1'in hemde grup 2'nin arasında apoptozis açısından istatistiki olarak anlamlı fark vardı ($p=0,019 - p=0,001$). Botox uygulanan grupta apoptozis grup 1 ve 2'ye göre azalmakta idi. Grup 4 ile hem grup 1'in hemde grup 2'nin arasında apoptozis açısından istatistiki olarak anlamlı fark vardı ($p=0,017 - p=0,003$). Lys uygulanan grupta apoptozis grup 1 ve 2'ye göre azalmakta idi. Grup 3 ve 4 apoptozis açısından karşılaştırıldığında arada istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,495$). Prostat lobunun birine Lys karşı eşine BOTOX uygulanan sıçanlardan oluşan grup 5'de Lys ve BOTOX arasında apoptozis açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,646$). Gruplar arasında apoptozis durumuna göre yapılan istatistiki analiz sonuçları tablo 30'da özetlendi.

Tablo 30. Apoptozis durumuna göre gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi

| Grup 1 | Grup 2 | Grup 3 | Grup 4 |
|----------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Grup 1 | $p=0,383$ | $p=0,019$ | $p=0,017$ |
| | Grup 2 | $p=0,001$ | $p=0,003$ |
| | | Grup 3 | $p=0,495$ |
| p : Mann-Whitney U testi | | | |

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

BPH histopatolojik bir tanım olup, prostatın stromal ve epitelial elemanlarının hiperplazisi olarak tanımlanmaktadır. BPH insidansının yaşla paralel olarak arttığı bilinmektedir. Özellikle gelişmiş ülkelerde yaşlı nüfus toplumun çoğunluğunu oluşturmaktadır. Özellikle 1980’li yıllardan sonra ülkemizde de yaşlı nüfusun sayısı artarak genç nüfusa yaklaştırmaya başlamıştır. İçinde bulunduğumuz yüzyılın ilereleyen dekatlarında ülkemizde de dünyadaki gelişmiş ülkelere paralel bir şekilde yaşlı nüfus oranının artacağı bir gerçektir. Yaşam süresinde gözlenecek olan bu artış beraberinde yaşla birlikte insidansında artış gözlenen rahatsızlıkların toplum oranının artışıında getirecektir. BPH’da bu bağlamda yaşlanma ile sıklığı artan ve kişilerin yaşam kalitelerini etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. Erkeklerdeki AÜSS en sık nedeni BPH’dır.

BPH gibi yaşla insidansı artan hastalıkların, insanların yaşam süresi uzadıkça toplumsal görülme oranının artması tüm dünyada hem sağlık hem de ekonomi uzmanlarını endişelendirmektedir (5). BPH, bütün gelişmiş bilgilere karşın, hala oluşumunda etkili yaşlanma ve androjen varlığı dışında bir etkenin kesin olarak tanımlanamadığı bir hastalık konumundadır. Yapılan çalışmalar sonucunda hastalığın patofizyolojisi konusunda daha fazla bilgi edinilmiştir. Bu durumun doğal sonucu olarak da tedavi seçeneklerinde hızlı bir artış gözlemlenmiştir. Medikal alanda çalışan sektörel kuruluşlar ve bilim adamları daha etkili, daha ucuz ve daha az invaziv tedavi yöntemleri geliştirmek için emek harcamaktadırlar. Bulunan yöntemlerin insanlar üzerinde uygulanabilmesi için Faz 1, 2 ve 3 çalışmalarının yapılması, tüm bunlar yapılırkende etik kuralların dışına çıkılmaması gerekmektedir. Tüm bu araştırma süreçlerinin nasıl işleyeceği ve sınırları gelişmiş ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de net bir şekilde kanun ve yönetmeliklerle belirlenmiştir. Araştırması yapılan tedavi yönteminde yapılacak hata veya doğacak zararlar araştırmacılara vicdani ve etik sorumluluklar getirmesi yanında çok ağır kanuni sorumluluk ve cezalarda getirmektedir. Tüm bu durumlar hayvan modelleri üzerinde yapılan araştırmaların önemini arttırmıştır. İnsan prostat morfolojisini ve patolojisini en güzel taklit eden hayvan modeli köpekler üzerinde oluşturulabilmektedir. Ancak

yüksek omurgalılar sınıfına giren bu hayvanlara yeterli sayıda ulaşılamamakta ve maliyet çok yüksek olmaktadır. Bu bakımdan prostat üzerine yapılan çalışmalar obstrüktif patern oluşturulmaması da insan prostatının morfoloji ve patolojisini en güzel taklit eden fareler ve sıçanlar üzerinde yapılmaktadır.

Kemirgenler üzerinde bir çalışma yapılması planlanıyor ise öncelikle çalışılacak organ veya dokunun kemirgenlerdeki anatomisi çok iyi bilinmelidir. Kemirgen prostatı ile insan prostatı birbirinin tam olarak homoloğu değildir. Kemirgen prostatı insan prostatından farklı olarak birçok lobdan oluşmaktadır. Bu durum lobların adlandırılması konusundaki tartışmalarıda beraberinde getirmiştir. Günümüzdeki adlandırma Deanesly and Parke'nin 1933 yılındaki sınıflandırmasına göre yapılmaktadır (41). Kemirgenlerde prostat lobları dorsal, ventral, lateral ve anterior (coagulating glands) loblar olarak adlandırılmaktadır. Genellikle ventral lob BPH çalışmalarında, dorsal ve lateral lob ise prostat kanseri çalışmalarında kullanılmaktadır. Bizde sıçanlarda oluşturduğumuz BPH modelini ventral loblar üzerinde çalıştık.

Literatür değerlendirildiğinde kemirgen prostatında BPH modeli oluşturmak için genellikle testosteron propionat, testosteron enanthate, DHT, estradiol, tetosteron/estrodial, fenilefrin, büyüme faktörleri (EGF, FGF vb), citral (3,7 dimethyl-2,6 octadienal), fetal ürogenital sinüs implantları vb kullanılmaktadır. BPH oluşturmak için kullanılan farmakolojik ajanlar kadar üzerinde deney yapılacak olan sıçan cinside önem arz etmektedir.

Scolnik ve ark. yaşları 42-50 gün arasında değişen 238 adolesan erkek sıçanın ventral prostatında benign ve atipik prostat hiperplazisi durumunu incelemişlerdir (5). Araştırmalarını Wistar, Sprague-Dawley, Fischer ve ACI/Ztm sıçan cinsleri üzerinde yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda prostatların farmakolojik ajanlara sıçan cinsine göre farklı benign ve atipik hiperplastik değişikliklerle yanıt verdiklerini bulmuşlardır. Sıçan prostatlarındaki değişiklikleri değerlendirmek için kendi oluşturdukları bir histoskorlama sistemini kullanmışlardır. Wistar ve Sprague-Dawley cinsi sıçanlarda atipik prostat hiperplazisi ve BPH durumunda görülen skor ortalamasını diğer cinslerden rölatif olarak yüksek bulmuşlardır. Fischer ve ACI/Ztm

cinsi sıçanlarda ise bu lezyonlarda görülen skor ortalaması hemen hemen kontrol grubu ile eş bulunmuş. Elde ettikleri verilerin analizi sonucunda Wistar grubu sıçanların prostat hiperplazisi indüksiyonu için en uygun cins olduğunu bildirdiler. Prostat hiperplazisine en dirençli grubu ise Fischer cinsi sıçanlar oluşturmakta idi. Fisher grubu sıçanların testislerinde spontan interstisyel hücreli hiperplazi ve leydig hücreli tümör gözlenebilmektedir (76). Ayrıca Fischer cinsi sıçanlarda prostat karsinomu görülme insidansıda düşüktür (77). ACI/Ztm cinsi sıçanlarda spontan prostat kanseri görülebilmektedir (5). Yapılan başka bir çalışmada 55 adet Brown Norway cinsi sıçan değerlendirilmiş (78). Sıçanlar genç (4-6 ay) ve yaşlı (21-24 ay) olmak üzere iki gruba ayrılmışlar. Sıçanların serum testosteron ve estradiol konsantrasyonları ölçülmüş. Histomorfolojik değerlendirme yapılmış ve prostat dokularının protein ve DNA içerikleri ölçülmüş. Brown Norway cinsi sıçanlarda yaşla birlikte serum testosteron ve estradiol seviyelerinde düşüş saptanmış. Rölatif olarak serum testosteronunda estradiole göre görülen daha fazla düşüşün serum testosteron/estradiol oranında düşüşe neden olduğu bildirildi. Yaşlı sıçanlarda testosteron seviyeleri her ne kadar düşsede bu duruma paradoksal olarak dorsal ve lateral prostat loblarında androjen duyarlılığında, prostat ağırlığında, protein ve DNA içeriklerinde istatistiki olarak anlamlı artış olduğu gözlemlenmiş. Yaşlı sıçanların dorsal ve lateral prostat loblarında gözlemlenen ağırlık ve protein içeriğindeki artış histolojik değerlendirmede hiperplaziyi gösteren epitelyal hücrelerde artışı ile uyumlu iken çekirdek boyutundaki değişimden bağımsız olduğu tespit edilmiş. Sonuç olarak Brown Norway cinsi sıçanlarda yaşlanma ile birlikte serum testosteron seviyelerinde azalma gözlemlense de bu sıçanların dorsal ve lateral prostat loblarında spontan yaşa bağımlı hücre büyümesi tespit edilmiş. Wistar cinsi bazı sıçanlarda spontan hipertansiyon gözlemlene bilmektedir. Bu cins sıçanlarda artmış sempatik aktivite gözlemlenmekte ve fibroblast, vasküler düz kas hücreleri gibi primer hücrelerin proliferasyon oranında artış olmaktadır. Spontan hipertansiyonlu sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada bu sıçanların ventral prostat lobu değerlendirilmiş (79). Çalışmaya 1 yaşında wistar cinsi 9 adet erkek spontan hipertansiyonlu sıçan ve 10 adet normal sıçan alınmıştır. Yapılan histolojik değerlendirmenin sonucunda spontan hipertansiyonlu grubun ventral prostat lobunda benign adenomatöz

hiperplazi ile uyumlu bulgular tespit edilmiştir. Biz çalışmamızda deneysel BPH modeli oluşturmak için tüm bu bilgilerin ışığında Wistar cinsi sıçanları tercih ettik.

Kemirgen prostatında BPH modeli oluşturmak için değişik ajanlar kullanılmıştır. Bu ajanlardan en sık kullanılanları testosteron propionattır. Pourmarin ve ark. testosteron propionatı Sprague-Dawley cinsi sıçanlarda 3mg/kg dozunda 15 gün kullanmışlardır (80). Çalışmada sıçanların yaş aralığı verilmemiştir. Testosteron uygulanan grupta %75 oranında prostat ağırlığında artış tespit etmişlerdir. Testosteronun prostat üzerindeki etkisini sadece ağırlık artışı ile değerlendirmişlerdir. Histopatolojik inceleme yapmamışlardır. Testosteronun ET_A ve ET_B endotelin mRNA düzeyi üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. Testosteron tedavisi ile oluşturulan prostat hipertrofisi durumunda endotelin reseptörlerinin etkilenmediği sonucuna ulaşmışlardır.

Yapılan başka bir çalışmada 350-375 g ağırlığındaki Sprague-Dawley cinsi sıçanlar üzerinde prostat tekrar büyümesinde erken faz androjen uyarısı esnasındaki gen aktiviteleri değerlendirilmiştir (81). Çalışmada da sıçanların yaş aralığı verilmemiştir. Deneyin başlangıcında tüm sıçanlar cerrahi olarak kastre edilmiştir. Kastrasyon sonrası ventral prostat lobunda regresyonun meydana gelmesi için 7 gün beklenmiştir. Bu 7 gün boyunca testosteron propionat 2mg/kg dozunda 12 saat aralıklarla uygulanmıştır. Testosteron uygulamasının değişik zamanlarında sıçanlar sakrafiye edilmiştir. Proliferatif dönemden önceki periyotta hücre büyümesi ile ilişkili transkripsiyon gen kodlama ürünleri tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu ürünleri ve buldukları genleri bir zaman eğrisine yerleştirerek kastasyon sonrası testosteron ile elde edilen tekrar prostat büyümesinin erken safhasındaki gen haritasını ortaya koydular. Bu çalışmada testosteronun prostat üzerine etkileri genetik düzeyde değerlendirilmiştir. Aşırı aktif mesane sendromunda oksibütinin etkinliğinin değerlendirildiği başka bir çalışmada Sprague-Dawley cinsi sıçanlarda testosteron propionat (3 mg/kg) ile prostat hipertrofisi oluşturulmuştur (82). Çalışmada sıçanların yaş aralığı verilmemiştir ve histopatolojik değerlendirme yapılmamıştır. Çalışmada testosteron propionatın kontrol grubuna göre prostat ağırlığını %73 arttırdığı bildirilmiştir. Ağırlık artışının prostatın hangi loblarında olduğu bildirilmemiştir. Wistar cinsi sıçanlarda testosteron propionat (3 mg/kg, 4 hafta) ile

oluşturulan benign prostat hiperplazisi modelinde oral kateksin tedavisinin antihiperplastik etkisi değerlendirilmiştir (83). Çalışmada sıçanların yaş aralığı verilmemiştir ve histopatolojik değerlendirme yapılmamıştır. Ölçülen prostat ağırlıkları kontrol grubunda $330\pm 40,7$ mg, BPH oluşturulan grupta $970\pm 1,1$ mg, oral finasterid tedavisi alan grupta $358\pm 39,9$ mg, oral kateksin tedavisi alan grupta $415\pm 45,3$ mg olarak bildirilmiştir. Ağırlık artışının prostatın hangi loblarında olduğu bildirilmemiştir.

Banerjee ve ark. Brown Norvay cinsi sıçanlarda prostatın androjene yaşa ve loba spesifik olarak yanıtını değerlendirmişlerdir (84). Androjen olarak testosteron ile doldurulmuş ve subkutan olarak implante edilmiş silikon tüpler kullanmışlardır. Sıçanları genç (6 aylık) ve yaşlı (18-24 aylık) olarak iki gruba ayırmışlardır. Genç ve yaşlı sıçanlarda ventral, dorsal ve lateral prostat loblarında ağırlık ve protein içeriğinde doza bağımlı bir şekilde artış tespit etmişlerdir. Testosteron uygulaması sonrası serum testosteron konsantrasyonları fizyolojik düzeyde ölçülenlerde dorsal ve lateral lob ağırlık ve protein konsantrasyonu yaşlı sıçanlarda gençlere göre daha yüksek bulunmuş. Bu lobların yaş faktöründen etkilendiği sonucuna ulaşmışlar. Artmış serum testosteron konsantrasyon seviyelerinde ise ventral lob ağırlık ve protein içeriğindeki artışın genç ve yaşlı sıçanlarda aynı olduğunu tespit etmişlerdir. Testosteron uygulamasının ventral prostat lobunda distal segment kolumnar epitel hücrelerinin yüksekliğinde %35-40, proksimal segment kübik epitel hücrelerinde 6 aylık sıçanlarda %16, 24 aylık sıçanlarda %62 artış meydana getirdiğini tespit etmişlerdir. Testosteron tedavisinin dorsal ve lateral lob proksimal ve distal segment hücrelerinde yükseklik ve genişlik artışı oluşturduğunu bildirmişlerdir. Prostat loblarında stromal kompartman bakımından bir değişiklik tespit etmemişlerdir.

Holtzman cinsi 3 aylık 42 adet sıçanda prostat hiperplazisi oluşturmak için 25 mg dozunda testosteron enanthate kullanılmış (85). Kontrol grubunda prostat ağırlığı 280 ± 20 mg, testosteron grubunda $746,5\pm 26,45$ mg tespit edilmiştir. Prostat ağırlıkları ventral prostat üzerinde değerlendirilmiştir. Ancak histopatolojik inceleme yapılmamıştır.

Weigui ve ark. yaptıkları çalışmada 75 adet 6 haftalık BALB/c erkek fare kullanmışlardır (86). Fareleri 5 gruba ayırmışlardır; kontrol grubu (A), kastrasyon yapılan grup (B), kastrasyon + testosteron verilen grup (C), kastrasyon + N-methyl-N-nitrosourea verilen grup (D), kastrasyon + testosteron + N-methyl-N-nitrosourea (E). Testosteron propionat $12,5 \text{ mg/kg}^{-1}$ dozunda abdominal kaviteye enjekte etmişlerdir. C grubunda, epitel hücrelerinde ve çekirdeklerinde büyüme, atipik değişiklikler olmadan çekirdeklerde homojen kromazi, lümenlerde genişleme ve içe doğru uzantılar yapma, yüksek kolumnar epitel tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Fibromuskuler kılıf ve düz kas dokusunda ise hiperplazi gözlemlemişlerdir. C grubunda prostat ağırlığında ve serum testosteron, testosteron/estradiol, VEGF seviyelerinde artış tespit etmişlerdir. Tüm bu sonuçları değerlendirerek C grubunda BPH oluşturduklarını bildirdiler. Prostat kanserini daha çok dorsal lobda, BPH'ı ise ventral lobda gözlemlemişlerdir.

Scolnik ve ark. 238 adet 42-50 günlük adölesan intakt ve kastre Wistar, Sprague–Dawley, Fischer, ACI/Ztm cinsi sıçanlarda ventral prostat lobunun citral, testosteron (40mg testosteron içeren silikon implantlar), citral + testosteron tedavilerine yanıtını değerlendirmişlerdir (5). Hiçbir tedavi veya uygulama yapılmayan Wistar cinsi sıçanlarda ventral prostat lobunun histolojik olarak bazal pozisyonda bulunan yuvarlak çekirdekli, yüksek kübik hücreler içeren regüler asinüsler ile karakterize olduğunu bildirmişlerdir. Hücrelerin supranükleer zonunu perinükleer zonundan daha translusen tespit etmişlerdir. Hücrelerin ince fakat kesintisiz bir bazal membran ile çevrili şekilde düzenli tek tabaka olarak dizildiklerini gözlemlemişlerdir. Asiner lümenlerin villöz projeksiyonlar olmadan homojen veya granüler asidofilik materyal ile dolu olduğunu bildirdiler. Asinusların ince bir interstisyel stroma içerisine yerleşmiş olduklarını tespit etmişlerdir. Wistar ve Sprague–Dawley cinsi sıçanlarda stromada subjektif bir artış olabileceğini bildirmişlerdir. İntakt sıçanlarda uygulanan citral veya testosteronun değişen miktarda stroma ile birlikte irregüler aciner büyüme paternini indüklediğini tespit etmişlerdir. Epitelin yüksek silindirik yapıda olduğunu ve apikal zonlarında yuvarlak sekretuar vakuoller içerdiklerini bildirmişlerdir. Çekirdeğin yuvarlaktan ovoite doğru değiştiğini ve bazal membrana yakın olarak yerleştiğini gözlemlemişlerdir.

Bazı prostat loblarında izole mitotik aktivite tespit etmişlerdir. Asiner duvarın hafif intralüminal villöz projeksiyonlar gösterebileceğini bildirmişlerdir. Bazı vakalarda hücre polaritesinin kaybı ile birlikte olan epitelyal izole nodüler hiperplazi tespit etmişlerdir. Bu nodüllerin piling up şeklinde luminal yüze bakabileceği gibi, budding şeklinde bazal membrandan stromaya doğru protrude de olabileceğini bildirdiler. Testosteron tedavisinin intakt Wistar cinsi sıçanlarda %40 civarında budding formasyonu oluşturabileceğini bildirmişlerdir.

BPH gelişiminin altında yatan moleküler mekanizmayı araştırmak için Kim ve ark. tekrarlayan fenilefrin uygulamaları ile Wistar cinsi sıçanlarda kronik α -1 adrenerjik stimülasyon yaparak sıçan prostatında insan BPH'ına benzer histomorfolojik değişiklikler oluşturmuşlardır (87). Fenilefrin 0, 1, 5 veya 10 mg/kg gün dozunda 4, 7, 14 veya 28 gün uygulanmıştır. Çalışmacılar tarafından sıçanların ventral, dorsalateral ve anterior prostat lobları eksize edilmiştir. Yaptıkları histolojik analizler sonucunda fenilefrin uygulamasının glandüler morfolojide dramatik değişikliklere yol açtığını tespit ettiler. Fenilefrin grubunda asinüs sayı ve hacminde azalma bildirdiler. Fenilefrin grubunda kolumnar epitelde bozulma ve katlanma şeklinde kendini gösteren elongasyon ve intraluminal projeksiyon tespit ettiler. Çekirdekte genişleme ve dizilimde düzensizleşme olduğunu bildirdiler. Tedavi süresindeki artışın hücre morfolojisinde gözlemledikleri değişikliklerin şiddetini arttırdığını bildirdiler.

Yapılan çalışmalarda fetal dönemde yüksek doz östrojen maruziyetinin prostat gelişimini engellediği bildirilmiştir. Bu bulgudan yola çıkarak vom Saal ve ark. fetal dönemde maruz kalınan düşük doz estradiol veya dietilstilbestrolün CF-1 cinsi farelerin prostatları üzerine etkisini değerlendirmişlerdir (88). Erkek fetüsde anneye silastik estradiol implantasyonu yapılması ile elde edilen, serum serbest estradiol düzeyindeki %50'lik artışın fetal hayatta gelişmekte olan prostatik gland sayısını %40 arttırdığını bildirdiler. Takip eden yetişkin dönemde ise hücre başı adrojen reseptör sayısının 2 kat arttığını, prostat boyutunun ise kontrol grubuna göre hiperplaziye bağlı olarak %30 arttığını tespit ettiler. Ancak erkek fetüsdeki serum serbest estradiol konsantrasyonu 2 katdan 8 kata kadar arttığında, %50'lik estradiol artışı olan duruma göre yetişkin prostat ağırlığında rölatif azalma gözlemlenmiştir.

Yazarlar bu bulgulardan yola çıkarak östrojen düzeyindeki küçük bir artışın, prostat farklılaşmasını düzenleyen androjenik olaylara etki ettiğini ve prostattaki androjen reseptör sayısında ve prostat ebadında artış ile sonuçlandığını düşündüklerini bildirdiler.

Yapılan bir çalışmada 1 mg testosteron + 0,01 mg estradiol uygulamasının Wistar cinsi erkek sıçanlarda ventral prostat ağırlığını ortalama $604 \pm 129,9$ mg'dan $857 \pm 106,4$ mg'a ($p < 0.05$) çıkardığı tespit edilmiştir (89). Kontrol grubunda glandüler epitelyal hücrelerin tek katlı olduğunu ve silindirik epitelle döşeli olduklarını bildirmişlerdir. Glandüler epitelyal hücrelerin sitoplazmasının belirgin şekilde eozinofilik boyandığını ve çekirdeklerin epitelin bazal bölgesinde lokalize olduğunu gözlemlemişlerdir. Ventral prostatın asinüslerinin lümenine doğru uzanan sığ papiller projeksiyonlar ile birlikte göreceli olarak geniş olduğunu bildirmişlerdir. Kastrasyon yapıp testosteron + estradiol tedavisi verilen grubun ise glandüler epitel hücrelerinin hipertrofik olduğunu ve asinüs içine uzanan papiller projeksiyon sayısında artış olduğunu bildirmişlerdir. Glandüler hiperplazinin histolojik bulgularını bu grupta tespit etmişlerdir. Wistar cinsi 40 adet sıçan üzerinde yapılan başka bir çalışmada 4 hafta değişik dozlarda estradiol/testosteron tedavisi uygulanmıştır (90). Kastrasyon sonrası androjen tedavisi uygulana grupta kübik veya kolumnar epitel ile döşeli glandüler yapıların restore olduğu gözlemlenmiştir. Kastrasyon sonrası estradiol ve testosteron verilen grupta ise çok tabakalı stromal hücreler ile çevrili glandüler asinüslerle birlikte stromal hiperplazi tespit edilmiştir. 1:100 oranındaki estradiol/testosteron tedavisinin belirgin stromal hiperplaziye neden olduğunu bildirmişlerdir. Sıçan ventral prostatında 1:100 estradiol/testosteron tedavisinin yaşlı erkeklerdekine benzer şekilde prostatik hipertrofiye yol açtığını bildirdiler. İnsan prostat stromasının ana hücre tipleri düz kas hücreleri ve fibroblastlardır. Yazarlarda epiteli çevreleyen düz kas hücrelerinin SMA pozitif boyandığını ve asinüsler arasında vimentin pozitif fibroblastlar bulunduğunu tespit etmişlerdir. Estradiol/testosteron tedavisinin düz kas hücre tabakasında istatistiki olarak anlamlı kalınlaşma meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Sprague–Dawley cinsi yetikin sıçanlarda ventral prostat lobuna orthotopik olarak EGF ve FGF prostat büyümesi üzerine olan etkilerini değerlendirmek için

enjekte edilmiştir (91). Tek doz 0,1 ng'lık EGF veya FGF enjeksiyonundan 3 hafta sonra ventral prostat loblarının ağırlığında istatistiki olarak anlamlı ($p \leq 0,025$) artış tespit edilmiştir. Oluşturulan prostat büyümesinin ligand spesifik olduğu çünkü EGF ve FGF prostat ağırlığında meydana getirdiği artışın nötralizan antikor enjeksiyonu ile ortadan kaldırıldığı bildirilmiştir. Tek doz 0,1 ng büyüme faktörü enjeksiyonu etkisinin uzun süreli olduğu bildirilmiştir. Histolojik değerlendirmede 0,1 ng dozunda EGF ve FGF arasında stroma ve epitel oranı bakımından bir farklılık tespit edilmemiştir. EGF 10 ng dozunda uygulandığı loblarda prostatik epitelde hafif bir hiperplazi gözlemlendiği bildirilmiştir. Sıçan ventral prostatında EGF ve FGF prostatik epitelde büyümeyi eşit oranda uyardığı sonucuna ulaşıldığı bildirilmiştir.

Chung ve ark. fare ürogenital sinüsünü 16 günlük fetüslerden disekte etmişlerdir (92). Ürogenital sinüsten ürogenital mezenkim ve epiteli ayırmışlardır. BALB/c-nu fareler implantasyon için konak olarak kullanılmıştır. Farelerin yaşları 50 – 90 arasında değişmekte imiş. Ürogenital sinüs veya ürogenital mezenkim dokularını konakların ventral veya anterior prostat loblarına diseksiyon mikroskobu ile yerleştirilmişlerdir. Ventral ve anterior prostat loblarının karşı eşleri sham kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Bazı farelerin ventral prostatına ürogenital sinüs veya epitel implante edilmeden önce, ısı, radyasyon, dondurma veya oda sıcaklığında bekleme muamelelerine maruz bırakılmıştır. Ventral prostata fetal ürogenital sinüs dokusu implantasyonunun prostat büyümesini 10 ile 20 kat arttırdığını bildirmişlerdir. Büyümüş ventral prostatın androjen bağımlı olduğu ve büyüme ve gelişmenin devamı için endojen androjen gereksiniminin olduğunu düşündüklerini bildirmişlerdir. Fetal ürogenital sinüs implantasyonunun fetal ürogenital mezenşim implantasyonuna göre ventral prostat büyümesinde 2 ile 4 kat daha potent olduğunu bildirmişlerdir. Prostatta gözlemledikleri büyümenin, fetal ürogenital sinüs dokusu ile yetişkin prostat glandı arasındaki yakın hücresel etkileşimler sonucu ortaya çıktığını tespit etmişlerdir. Histolojik ve enzim verilerinin analizi sonucunda ürogenital sinüsün uyardığı büyümenin (DNA içeriği), yaklaşık yarısının konak prostat dokusunda proliferasyon ile sonuçlandığını bildirdiler.

Kimyasal veya cerrahi yolla uygulanan kastrasyon sonrası prostat epitel hücrelerinde artmış apoptozis gözlenir. Kastrasyon sonrası uygulanan androjen

tedavileri epitel hücrelerinde proliferasyon ve diferansiyasyonu uyararak prostatın yeniden gelişimine olanak tanır. Sıçan ventral prostatında büyüme, farklılaşma ve apoptotik hücre ölümü androjenler tarafından düzenlenir (93,94). Apoptozis kaspaz ailesine ait proteinler tarafından oluşturulmaktadır. Omezzine ve ark. yaptıkları çalışmada sıçan ventral prostatında apoptozisi değerlendirmişlerdir (95). Çalışmalarında Sprague–Dawley cinsi 60 günlük sıçanları kullanmışlardır. Sıçanlara kastrasyon uygulamışlar ve bir gruba tedavi vermezken diğer gruba testosteron tedavisi vermişlerdir. Ventral prostat loblarında kastrasyonu takiben birinci günden itibaren ağırlık azalması tespit etmişlerdir. Ağırlıktaki bu azalma 7 gün sonunda maksimum seviyeye ulaşmıştır. Testosteron uygulamasının ise birinci günden başlayarak prostatda meydana gelen ağırlık kaybını düzeltmeye başladığını ve 3 ile 7. günlerde normal ağırlık seviyelerine ulaştığını bildirmişlerdir. Anterior ve dorsolateral prostat loblarında ise kastrasyona bağlı androjen çekilmesine cevap gözlemlenmemişlerdir. Ventral prostat lobunda kastrasyon sonrası üçüncü günde apoptotik hücre sayısının maksimuma ulaştığını bildirmişlerdir. Testosteron uygulanan grupta ise kastrasyon sonrası günlerin herhangi birinde apoptotik hücre tespit etmemişlerdir. Testosteron verilen grupta apoptotik hücre ölümünün aktif kaspaz seviyelerindeki ve kaspaz 3 ve 6-mRNA üretimindeki azalma ile ilişkili bulmuşlardır. Testosteron tedavisinin kastre sıçanlardaki kaspaz 3, 6-mRNA ve protein seviyelerindeki yükselmeyi engellediğini tespit etmişler.

Biz çalışmamızda 20 mg/kg'dan Testosteron undekonat kullandık. Deney süresince hayvanların sağlıklı bir şekilde normal yaşamlarını sürdürdüklerini ispatlamak için hayvanların vücut ağırlıkları aralıklı olarak ölçüldü ve kaydedildi. Yapılan istatistiki analizler sonucunda 47 günlük periyoda hayvanların düzenli olarak kilo alımlarını sürdürdüklerini ortaya koyduk. Testosteron verilen veya diğer tedavi modelitelerinin uygulandığı grup ile hiçbir tedavi verilmeyen grup 1 arasında kilo alımı açısından bir fark yoktu. Sıçanlarda gruplara göre bir saldırganlık artışı gözlemlenmedi. Birçok çalışmada bildirilen testosteron uygulanan gruplardaki sıçanlarda gözlemlenen saldırganlık, genel durum bozukluğu bizim çalışmamızdaki hiçbir grupta gözlemlenmedi. Bizce saldırganlık gibi davranışlar testosteron dozu yüksek kullanılan durumlarda gözlenmektedir. Sıçanların kilo alım durumlarını ve

genel durumlarını değerlendirdiğimizde 20 mg/kg'dan Testosteron undekonat dozu bizce güvenli bir doz aralığıdır.

Yapılan alışmalar değerlendirildiğinde gözlemlenen en büyük sıkıntılardan biride çalışmaların çoğunlukla deney sonrası eksize edilen prostat ağırlıkları üzerinden yapılmış olmasındır. Yani deney başlangıcındaki sıçanların prostat ağırlığı bilinmemektedir. Bu handikapı ortadan kaldırmak için ise genellikle ağırlıklar kontrol grubu ile karşılaştırılmaktadır. Bu tip uygulamalar doğru olmakla beraber yinede bazı soru işaretleri oluşturmaktadır.

Belkide kontrol grubundaki sıçanlarında prostat ağırlığı artmıştı ancak kontrol grubundaki sıçanların başlangıçtaki prostat boyutu daha düşük idi. Bu durumda BPH oluşturulan sıçanlardaki ağırlık artışının testosterondan mı kaynaklandığını yoksa normal süreçteki bir artışı mı olduğunu bilemeyecektik. Bu soru işaretini gidermek için sıçanlara deney süresince belirli tarihlerde bir dizi cerrahi işlem uygulandı. Küçük orta hat abdominal insizyonla girilerek prostatın sağ ve sol ventral lobları ortaya konuldu ve kumpas ile prostat lobları en, boy ve yükseklik olarak ölçüldü. lm değerleri kaydedildi. Klinik uygulamalarda çok sık kullandığımız “en x boy x yükseklik x 0,5236” formülü ile prostatların tahmini ağırlıkları hesaplandı ve kaydedildi. Tahmini prostat ağırlıkları üzerinden yaptığımız istatistiki analizler sonucunda grup 1'deki sıçanlarda deney başlangıcındaki ve sonundaki değerler arasında fark bulunmadı. Testosteron uyguladığımız sıçanların tahmini prostat ağırlığının bu gruptaki sıçanlardan yüksek olduğunu tespit ettik. Sıçanların gerçek prostat ağırlıklarını cerrahi eksizyon sonrası ölçtük. Bu lmler sonrasında testosteron grubunun gerçek prostat ağırlığının grup 1'den yüksek olduğunu tespit ettik. BPH oluşturduğumuz grupta gözlemlendiğimiz prostat ağırlık artışının normal sürecin bir sonucu olmadığı, testosteron tedavisine bağlı olarak oluştuğu sonucuna ulaştık. 20 mg/kg Testosteron undekonat uygulamasının sıçanlarda prostat ağırlığını % 39 arttırdığını tespit ettik.

Yaptığımız histolojik incelemelerde grup 1'deki sıçanların asinüs şekillerinin düzgün, asinüs lümeninin homojen asidofilik materyal ile dolu olduğunu tespit ettik. Asinüsler genel olarak tübüler yapıda olmakla beraber bazı vakalarda çok hafif villöz

projeksiyonlar olabileceğini gözlemlendik. Gland epiteli tek tabaka idi ve küçük, yuvarlak çekirdekli, genellikle kübik veya alçak prizmatik hücrelerden oluştuğu gözlemlendi. Asinüsler ince bir stroma ile çevrili, bazal membran ince ve kesintisiz idi.

Testosteron uygulanan sıçanlarda prostat glandı değişen miktarda stroma ile birlikte irregüler aciner büyüme paterni göstermekte idi. Epitelin kübik veya silindirik yapıda olduğunu gözlemledik. Bazı epitel hücrelerinde mitotik aktivite tespit ettik. Bazı sıçanların gland epitelinde izole veya multiple alanlarda üst üste yığılı hücre toplulukları mevcuttu. Bazal membran yapısı ince ve kesintisiz olarak gözlemlendi. Bulgular literatür ile uyumlu idi. Gruplar arasında daha kesin karşılaştırma yapabilmek için histolojik skorlama sistemi kullandık. Yapılan analizler sonucunda testosteron uygulanan sıçanların grup 1'e göre daha yüksek skor değerine sahip olduklarını tespit ettik. Skorlama sistemine göre yapılan analizlerde lümen şekli, asinüs şekli, asinüsler arası boşluk, stroma, epitel hücrelerinin tipi, tabaka sayısı ve çekirdek dizilimi bakımından her iki grup arasında fark olduğu tespit edildi.

Testosteron uyguladığımız grubun apoptotik hücre sayısı grup 1'den yüksek idi ancak bu yükseklik istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı. Literatürdeki çalışmalar genellikle kastrasyon sonrası verilen testosteronun apoptozis üzerine etkilerini değerlendirmektedir. Kastrasyon sonrası prostat lobları %50 ile 70 oranında ağırlıklarını kaybetmekte ve atrofiye uğramaktadırlar. Bu süreçte aşırı apoptozis görülmesi normaldir. Testosteron uygulamasının kastre prostatlarda yeniden gelişim sürecini uyardığı ve prostat boyutunu tekrar normal seviyelere getirdiği bilinmektedir. Kastrasyon durumunda prostat testosteron kaynağından yoksun kalmakta ve eksojen verilen testosteron onun yerine geçmektedir. Yani endojen testosteron üretimi olmadığı için testosteron reseptörlerinin duyarlılığı artmakta ve eksojen testosterona daha hızlı ve iyi yanıt vermektedirler. Bu durumda hücre diferansiyasyonu ve proliferasyonuna yansımaktadır. Yeni oluşum sürecinin çok hızlı olduğu bu periyotta apoptozisin kastre sıçanlara göre azalması normaldir. Bu durumda yapılan analizde testosteronun apoptozisi engellediği sonucunun çıkması normaldir. Bizim modelimizde ise endojen testosteron üretimi devam etmektedir. Atrofiye giden bir doku olmadığı için kontrol grubunda artmış apoptozis gözlenmesi

ve testosteron verilmesi ile bu apoptozis oranının azalması beklenemez. Apoptozis yönünden sonuçlarımızın literatür ile çelişiyor gibi görünmesinin nedeni bu olabilir. Tabi bu noktada çalışmaların temelinden ve kullanılan yöntemlerin farklılıklarından kaynaklanabilecek faktörler göz ardı edilmemelidir. Histolojik bulgular ve prostat ağırlık ölçümleri değerlendirildiğinde Wistar cinsi sıçanlarda testosteron undekonat uygulaması ile başarılı bir şekilde deneysel BPH modeli oluşturulduğu sonucuna ulaşıldı.

1897 yılında keşfedilen BOTOX, 1977 yılından beri terapötik ajan olarak kullanılmaktadır. BPH üzerindeki etkileri ise 2003 yılından beri araştırılmaktadır. Zehirden tedavi yöntemine dönüşümü yüz yıllık çalışmaların sonucu meydana gelmiştir. BOTOX'un sekiz serotipi vardır: A, B, C1, C2, ve D'den G2' ye kadar. Benzer yapıları olan tüm proteazlar, disülfid bağları ile ağır zincire bağlı hafif zincirlerden oluşmuştur. Blefaro spazm, strabismus, fokal distoni ve akalazyta tedavilerinde başarı ile kullanılmaktadır. Alt üriner sistem disfonksiyonu olan hastalarda üretra veya mesaneye BOTOX enjeksiyonu 6 ay veya daha uzun süre semptomatik rahatlama sağlamaktadır (96). Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda üretral norepinefrin salınımını inhibe ettiği ve intraprostatik enjeksiyonlarda seçici denervasyon yaparak prostat bezinde atrofiye yol açtığı bildirilmiştir (97, 98). Yapılan bir çalışmada Mongrel cinsi köpekler ve 8 insana intraprostatik BOTOX enjeksiyonu uygulanmıştır (11). Tedavi transrektal ultrason eşliğinde transperineal olarak uygulanmıştır. Köpeklerin prostat ağırlıkları ölçülmüş ve BOTOX ile kontrol grubu arasında bir fark olmadığı bildirilmiştir. Araştırmacılar kontrol grubundaki hayvanların prostatlarında 1. ve 3. aylarda yaptıkları histolojik incelemeler sonucunda hipertrofik bez yapıları tespit etmişler. BOTOX tedavisi uygulanan hayvanların prostatlarının 1 ve 3. aylardaki histolojik incelemelerinde ise dejenerasyon gözlemlenmiştir. Kontrol grubundaki hayvanlar çok düşük sayıda apoptozis gösterirken, tedavi grubunun daha yüksek apoptozis gösterdiğini bildirmişlerdir.

Silva ve ark. BOTOX tedavisini 21 adet düşükün ileri yaştaki hastada kullanmışlardır (7). Tedavi sonrası 6. ayda yaptıkları ölçümlerde prostat volümünün 82 ml'den 49 ml'ye gerilediğini ve yaklaşık %40'lık bir azalma gözlemlediklerini

bildirdiler. Prostatın tedavi başlangıcındaki boyutuna ise yaklaşık 18 ay içinde ulaştığını tespit ettiler. Köpek prostatının kontraktıl fonksiyonuna BOTOX tedavisinin etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada 100 ve 200 ünite dozunda enjeksiyon uygulanmıştır (9). 100 ünite uygulamasında orta derecede 200 ünite ise daha yüksek prostat atrofisi gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Stromal komponentte 200 ünitelik uygulamada rölâtif bir artış olduğunu tespit etmişlerdir. Stromadaki düz kas hücrelerinin sitoplazmasında 200 ünite tedavi uygulanan grupta vakuolleşme gözlemlenmiştir. İmmünohistokimyasal metotlar ile bu vakuollerin matür düz kas hücrelerinde olduğunu tespit etmişlerdir. 100 ünite uygulanan grupta ise bu vakuoller gözlemlenmemişlerdir. BOTOX tedavisinin kas hücrelerini değil nöral dokuları hedef aldığı düşünülürse araştırmacılarda bu bulguyu kafa karıştırıcı bulmuşlardır. 100 ünite grubunda bu değişimi gözlemlemedikleri için prostatdaki düz kas hücreleri üzerine BOTOX tedavisinin doz bağımlı toksik etkilerinin olabileceği yorumunu yapmışlardır.

Silva ve ark. 300-350 g ağırlığındaki 24 adet Wistar cinsi sıçanlar üzerinde yaptıkları başka bir çalışmada BOTOX tedavisi sonrası görülen prostat atrofisinin mekanizmalarını değerlendirmişlerdir (12). 6 adet sıçana sadece salin enjeksiyonu, 18 adet sıçana 10 ünite BOTOX ve BOTOX verdikleri sıçanlardan 6 tanesinde 0,05 mg/kg'dan fenilefrin uygulamışlardır. BOTOX enjeksiyonu yapılan sıçanların 6 adetine de 2 mg/kg'dan betanekol vermişlerdir. Uygulamalardan 1 hafta sonra ise tüm sıçanları sakrafiye etmişlerdir. TUNEL pozitif hücre sayımında 200X'lik alandaki pozitif hücre sayısı kullanılmıştır. BOTOX enjeksiyonu yaptıkları sıçanların prostat ağırlığının salin enjeksiyonu yaptıkları gruba göre azaldığını tespit etmişlerdir. BOTOX ve fenilefrin uyguladıkları grupta ise anlamlı prostat ağırlık azalması tespit etmemişlerdir. BOTOX ve betanekol uygulanan grubun prostat ağırlığı ise sadece BOTOX uygulanan grup ile eş bulunmuş ve bunlardaki ağırlık azalmasında salin grubuna göre anlamlı tespit etmişlerdir. BOTOX tedavisi uyguladıkları gruptaki TUNEL pozitif hücre sayısını 8,75 olarak bulmuşlardır ve bu miktar kontrol grubuna göre yüksek olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda pozitif hücre sayısını 0,25 ve BOTOX + fenilefrin uygulanan grupta ise 3,25 olarak tespit etmişlerdir. Fenilefrin grubu ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak anlamlı bir

fark tespit etmemişlerdir. Ancak BOTOX grubu ile arada pozitif hücre sayısı bakımından istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit etmişlerdir. BOTOX tedavisine bağlı prostat atrofisinin sempatik sinirlerdeki bozulmaya ve glandın adrenerjik uyarımındaki azalmaya bağlı olabileceğini bildirmişlerdir.

Biz çalışmamızda 0,2 ml izotonik ile sulandırılmış olan 10 ünite BOTOX'u kullandık. BOTOX'un prostat ağırlığı üzerindeki etkinliğini değerlendirmek için testosteron uygulayarak BPH geliştirdiğimiz grup 2'yi referans olarak aldık. Grup 3'deki sıçanların testosteron uygulamasından sonraki 40. günde prostat boyutları ölçüldü ve sonra BOTOX enjeksiyonu yapıldı. Kontrol grubunun tahmini prostat ağırlığı ile grup 3'ün 40. gündeki tahmini prostat ağırlıkları arasında fark vardı. Grup 3'ün testosteron tedavisine yanıt olarak prostat ağırlığı artmış idi. BOTOX tedavisi uyguladığımız grup 3'deki sıçanlarda uygulamadan 1 hafta sonra yani 47. günde yaptığımız ölçümlerde hem tahmini prostat ağırlığında hemde gerçek prostat ağırlığında azalma tespit ettik. 10 ünite BOTOX uygulaması sıçanlarda BPH durumundaki prostat ağırlığını % 32,5 oranında azaltmakta idi.

Histolojik değerlendirme sonucunda grup 3'deki iki adet sıçanın prostat dokularında atipik hiperplazik değişiklikler tespit ettik. Bu iki sıçanda fibrotik stroma ile birlikte asinüs düzeninin tamamen kaybolduğunu, asinüs lümeni ve stromanın poligonal epitel hücreleri tarafından istila edildiğini gözlemledik. Çekirdek polariteleri kaybolmuştu ve çekirdek şekillerinde irregülerite vardı. Bazal membranın bütünlüğü bozulmuş idi. Bu iki sıçan bu durumlar nedeni ile istatistiki analizlerden çıkarılmıştır.

BOTOX tedavisinin testosteron verilen gruba göre histolojik skoru arttırdığını gözlemledik ve bu artış istatistiki olarak anlamlı idi. BOTOX'un sıçanlarda gland lümenin villöz görünüm azaltıp, papiller ve kribriiform paternin görülme sıklığını arttırdığını tespit ettik. Asinüslerin genel şekli üzerinde ise BPH grubuna göre bir farklılık oluşturmamakta idi. BOTOX tedavisinin epitel tabakasındaki fokal hücre yığılanması olarak özetleyebileceğimiz pilling up formasyonunu arttırdığını gözlemledik.

BOTOX tedavisi verdiğimiz sıçanların prostat dokularını immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirdik. BOTOX tedavisi uygulanan grupta hem kontrol hemde testosteron grubuna göre apoptotik hücre sayısında azalma vardı ve bu azalma istatistiki olarak anlamlı idi.

Literatüre göre BOTOX tedavisi prostat ağırlığında azalma yapmaktadır. Bizde çalışmamızda literatür ile uyumlu sonuçlara ulaştık. BOTOX otonom sinir sisteminin prostat bezi üzerindeki trofik etkisini muskuronik reseptörlerin asetilkolin tarafından etkilenmesini inhibe ederek engellemektedir. Otonom sinir sistemi prostatik sekresyonların ve büyümenin oluşumunda birincil dereceden önemlidir.

Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde BOTOX'un etkisinin doz bağımlı olduğu gözlemlenmektedir. Hayvan çalışmaları prostatda meydana gelen relaksasyonun α_1 -adrenerjik reseptörlerin down regülasyonuna, stromal düz kas hücrelerinde gözlemlenen vakuolizasyona ve adrenerjik sinir uçlarından norepinefrin salınımının bozulmasına bağlı olabileceğini göstermektedir. Bazı çalışmalarda uygulanan BOTOX dozlarının insanda uygulanan doz ve vücut ağırlıkları ile karşılaştırıldığında çok yüksek olduğu gözlemlenmektedir. İnsan prostatındaki muskuronik reseptör dansitesi 2,1 fmol/mg olarak bulunmuştur ve bu oran sıçan prostatında da aynı bulunmuştur (99). Bu oran dikkate alındığında uygulanan doz miktarının önemi ortaya çıkmaktadır. Yüksek doz uygulamalarının prostat dokusu üzerine toksik olabileceği ve apoptozisde gözlemlenen artışların bu etkilerden kaynaklanıyor olabileceği unutulmamalıdır. Literatürü değerlendirdiğimizde uyguladığımız BOTOX dozunun en düşük dozlardan biri olduğu görülmektedir.

Sıçanlarda elde ettiğimiz ağırlık artışındaki azalmanın nedenlerini histolojik veriler tam olarak açıklamamakta idi. Bu durumun en büyük nedenlerinden biriside literatürde epitel histolojisinin detaylı olarak değerlendirilmemiş olması idi. Elde ettiğimiz verileri kıyaslayacak bir çalışma bulamadık. Uyguladığımız BOTOX tedavisi histolojik skoru BPH grubuna göre arttırmakta idi. Ancak kesim değerleri dikkate alındığında hala BPH sınırları içerisinde idi. Apoptozis verilerimizin literatürden farklı olduğunu gözlemledik. Bunun nedenleri sayım yöntemlerindeki veya kullanılan tekniklerdeki farklılıktan kaynaklanıyor olabilir. Silva ve ark. prostat

üzerinde testosteron benzeri etkiler gösteren ve BPH model oluşturulmasında da kullanılan fenilefrini BOTOX ile kombine kullanmışlardır (12). Fenilefrin uygulanan grupta apoptozis oranının BOTOX grubuna göre düşük kontrol grubuna göre eş bulmuşlardır. Belki bu mekanizma bizdeki apoptotik hücre düşüklüğünü açıklayabilir. Ancak çalışmalara dikkat edilirse apoptotik hücre indeksini stromadaki düz kas hücrelerinde değerlendirdiklerini görmekteyiz. Biz apoptotik hücre indeksini epitel hücrelerinde değerlendirdik. Her preparat için random seçilen 5 bölgeden 400 X büyütmede fotoğraflandırma yapıldı. Seçilen bölgedeki epitel tabakası ortalama 100 hücre içermekte idi. Biz bu 100 hücre içindeki apoptotik hücreleri değerlendirdik ve her preparat için 5 bölgenin ortalamasını aldık. Ancak literatürdeki çalışmalarda kullandıkları sayım metodu açık değildir. BOTOX tedavisinin epitelden çok düz kas hücrelerini hedef aldığı düşünülürse belkide düz kas hücrelerini daha yoğun boyayan farklı histolojik teknikler kullanmış olsa idik histolojik skorlamada elde ettiğimiz farklılığı daha rahat açıklaya bileceğimizi düşünüyoruz.

Lizozim birçok canlının savunma mekanizmasında yer alan önemli bir antimikrobiyal enzimdir. Memelilerde (dokuları ve bütün vücut salgılarında), böceklerde, bitkilerde, bazı bakterilerde ve virüslerde bulunmaktadır. Lizozim, tripsin, kimotripsin ve pepsinden etkilenmez. Bu özelliğinden dolayı ülser, multiple sklerozis, bazı deri hastalıkları ve ameliyat sonrası enfeksiyonların tedavisinde kullanılabileceği de tavsiye edilmektedir. Aynı zamanda gıda sanayinde birçok ürünün korunmasında ve bebek mamalarında ve sakızda (periodontitis tedavisi ve diş çürümelerini önlemek için) da kullanılmaktadır. Anti-mikrobiyal aktivitesi yanında, bir takım virüslerin inaktivasyonu, memeli hücre zarlarının bütünlüğünün korunumu, polimorfonükleer lökositlerin, makrofajların ve monositlerin fagositik/sitotoksik aktivitelerinin artırılması, monositlerin stimülasyonu, analjezik, anti-tümör, anti-metastatik ve antiinflamator aktivite, immünglobülün üretimini uyarıcı faktör, fosfolipit veziküllerin birleşmesinin indüksiyonu ve tümör hücrelerinin immünojenitesini artırma gibi aktivitelere sahip olduğu yapılan birçok çalışmalarla gösterilmiştir (100,101).

Güzel ve ark. fare interlökin-2 ve Lys genlerinin (aşı formunda) immünotedavi amaçlı kullanmak üzere pHM6 memeli plazmit vektörüne klonlanılmışlar ve B-16V

melanoma hücrelerine aktarmışlardır (75). B-16V hücreleriyle C-57BL/6 fare ırklarının deri altında solit tümör kitleleri oluşturmuşlardır ve bu kitleler içine plazmit DNA-lipozom komplekslerinin enjeksiyonu yapılmışlardır. B-16V hücreleri enjekte edilen farelerde tümör gelişme oranı %100 olarak tespit etmişlerdir. C57BL/6 inbred farelerinin deri altında B-16V melanoma hücreleriyle oluşturulmuş olan tümör kitleleri içine, IL-2 ve Lys genleri klonlanmış olan rekombinant pHM6 plazmitleri (pHM6mIL-2 ve pHM6mLys) lipozomla kompleks oluşturularak enjekte etmişler ancak tümör gelişiminde kontrole göre yavaşlama olmakla birlikte tümör regrasyonu gözlemlememişlerdir. Rekombinant plazmit-lipozom komplekslerinin C57BL/6 farelerinin deri altına enjeksiyonundan iki gün sonra aynı bölgeye B-16V hücreleri enjekte etmişler ve tümör oluşum ve gelişimleri değerlendirmişlerdir. Tümör çıkış zamanında 17. güne kadar gecikmeler olmasına rağmen bütün farelerde tümör oluşumu gözlemlemişlerdir. Ayrıca tümör büyüme sürecinin de kontrole göre daha yavaş seyrettiğini tespit etmişlerdir. Rekombinant plazmit vektörlerin B-16V hücrelerine *in vitro* transfeksiyonu sonucu geliştirdikleri transfekte tümör hücrelerini (B-16VpHM6mIL-2 ve B-16VpHM6mLys) C57BL/6 farelerinin deri altına enjekte etmişlerdir ve tümörijeniteleri değerlendirmişlerdir. B-16V (hücre kontrol) enjekte edilen farelerin hepsinde (%100) 8-10. günlerde tümör oluşumu gözlemlemişlerdir. Ancak tümör çıkış zamanında gecikmeler tespit etmişlerdir. İlk uygulamadan sonraki 40 gün içinde tümör geliştirmeyen farelere tekrar B-16V hücreleri uygulamışlardır ve sağ kalan farelerin hiçbirinde tümör gelişimi gözlemlememişlerdir. Araştırmacılar Lys'in tümör hücrelerinde (plazmit ya da viral tabanlı bir vektör aracılığı ile veya herhangi ajanla ekspresyon düzeyinin artırılması ile) yüksek düzeyde salgılatılması durumunda tümör immünotedavisinde kullanılabileceğini düşündüklerini bildirmişlerdir.

Erken evre diyabetik nefropati oluşturulan sıçanlarda Lys tedavisi kullanılmıştır (102). Diyabetik olgularda artmış glikolizasyon son ürünleri böbrek hasarlanmasına neden olmaktadır. Glikolizasyon son ürünleri Lys'e nonkovelent ve yüksek bir afinite ile bağlanmaktadır. Araştırmacılar diyabetik hayvan modelinde oral mikrokapsüllü Lys tedavisinin böbrek koruyucu etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Yaklaşık 80 yıl önce keşfedilen Lys'nin bir çok tipi vardır. Üzerinde en çok çalışma

yapılan c-tip Lys'dir. İnsan testisinde Lys intra akrozomal sperm proteini olarak bulunmaktadır. Zhang ve ark. insan testis ve epididiminde LYZL2, LYZL4 ve LYZY6 lizozim tiplerini tespit etmişlerdir (103). LYZL4'ü sadece epididim epitelinde, özellikle kaput bölgesinde tespit etmişlerdir ve erkek üreme sisteminin fizyolojisinde çok önemli olabileceğini bildirmişlerdir.

Lys'in oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada transgenik LZ-Tg erkek fareler kullanılmıştır (104). Oksidatif stres paraquat ile oluşturulmuştur. Çalışmanın sonunda Lys'nin intraselüler ve sistemik antioksidan rezerv düzeyini arttırdığını tespit etmişlerdir. Lys'nin yüksek doz paraquat uygulanmasına sekonder gelişen akut oksidatif strese karşı koruyucu etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar Lys'in invitro hücrel apoptozisi azaltarak in vivo mortaliteyi azalttığı sonucuna ulaşmışlardır.

Biz çalışmamızda Lys'in oluşturduğumuz BPH modeline etkisini değerlendirmek için ~ 50µg plazmid DNA/lipozom kompleksini intraprostatik olarak uyguladık. Diğer tedavi gruplarında yaptığımız gibi Lys grubunda da uygulamadan önce sıçanların prostat boyutunu ölçtük ve tahmini prostat ağırlıklarını hesapladık. Bu verileri kontrol grubu ile karşılaştırdık ve tahmini prostat ağırlığının kontrol grubundan yüksek olduğunu tespit ettik. Böylece Lys uygulaması öncesi verdiğimiz testosteronun bu grupta prostat ağırlığında artış oluşturduğundan emin olduk. Deney sonunda Lys tedavisinin hem tahmini prostat ağırlığında hem de gerçek prostat ağırlığında azalma oluşturduğunu tespit ettik. Prostat ağırlığındaki azalmayı % 38,7 olarak tespit ettik.

Histolojik skor değerleri bakımından Lys grubu ile testosteron grubu arasında bir fark tespit etmedik. Lümen şekli bakımından testosteron grubu ile karşılaştırıldığında villöz yapıların azaldığı, papiller ve kribriform paternlerin görülme sıklıklarının arttığı gözlemlendi. İrregüler şekildeki asinüslerin sayısında artış tespit ettik. Epitel tabakasının pilling up formasyonunun testosteron grubuna göre arttığını gözlemledik.

Yaptığımız immünohistokimyasal çalışmalar sonucunda Lys grubunda aktif kaspaz 3 ile pozitif boyanan hücre sayısını 17,4 olarak tespit ettik. Testosteron ve kontrol grubundaki apoptotik olarak tespit ettiğimiz hücre sayısı ile karşılaştırdığımızda Lys grubundaki apoptotik hücre miktarının azaldığını gözlemledik.

Yaptığımız literatür taraması sonucunda Lys'in prostat dokusu üzerindeki etkilerinin daha önce araştırılmadığını gözlemledik. Memeli doku ve salgılarında yaygın olarak bulunduğu bilinmektedir. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz kesin oluşturulan BPH modelinde Lys tedavisinin prostat ağırlığını azaltmış olmasıdır. Lys'nin doku koruyucu etkileri yukarıda değindiğimiz çalışmalarda ortaya konulmuştur. Prostat ağırlığı azalmasını nasıl bir mekanizma ile oluşturduğunun açıklaması yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz veriler ile ortaya konulamamıştır. Belki değerlendirmelerimiz sırasında gözden kaçırdığımız noktalar olabilir. Sonuç olarak Lys'nin BPH tedavisinde ümit vaat ettiğini ve üzerinde daha geniş çalışmalar yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

Elde ettiğimiz veriler hem BOTOX tedavisinin hemde Lys tedavisinin BPH'daki prostat ağırlığını azalttığını ortaya koymuştur. Bağımsız gruplar olan BOTOX uyguladığımız grup 3 ile Lys uyguladığımız Grup 4 arasında tahmini prostat ağırlıkları ve gerçek prostat ağırlıklarına göre yapılan analizlerde fark tespit edilmemiştir. Bu durumda acaba gruplar bağımlı olsa idi yani tedaviler aynı sıçana uygulansa idi yine tedaviler arasında fark çıkmaz mı idi sorusu akıllara gelmektedir. Bu sorunun cevaplanmasında sıçan prostatı biz araştırmacılara çok değerli bir imkan sunmaktadır. Sıçanlarda prostat çok lobludur. Bizim BPH oluşumunu değerlendirdiğimiz ventral prostat lobunda sağ ve sol olmak üzere iki adet lobdan oluşmaktadır. Bu durum bize ilaçların aynı deneğe uygulansa idi yine arada fark çıkmayacak mı idi sorusuna yanıt verme imkânı sağlamıştır. Bu amaçla grup 5'deki altı adet sıçanın ilk üçünün sağ prostat lobuna Lys sol prostat lobuna BOTOX, son üçünün ise sağ prostat lobuna BOTOX sol prostat lobuna Lys uygulanmıştır. Loblara göre ilaç etkisi değişebilir mi sorusunda önüne geçmek için yukarıda belirttiğimiz gibi ilk üç ve son üç sıçanlarda ilaçlar yer değiştirilmiştir. Bu şartlar altında da yaptığımız değerlendirmede her iki ilacın prostat ağırlığını azaltıcı etkileri

bakımından birbirleri arasında fark bulunmamıştır. Histolojik skorda meydana getirdikleri değişiklikler, prostat dokusunda oluşturdukları histopatolojik etkiler bakımındanda arada fark bulunmamıştır. Yaptığımız immünohistokimyasal çalışmalar sonucunda apoptozisi gösteren aktif kaspaz 3 ile pozitif boyanan hücre sayıları bakımından da arada fark bulunmamıştır.

Sonuç olarak 46 adet 200-400 gr ağırlığında Wistar cinsi erkek sıçanda 20 mg/kg Testosteron undekonat ile başarılı bir şekilde deneysel BPH modeli oluşturulmuştur. Testosteron undekonat ile BPH oluşumu hem prostat ağırlığındaki (tahmini ve gerçek) meydana gelen artışların ortaya konulması ile hemde histolojik çalışmalar ile ortaya konulmuştur. Testosteron undekonat uygulaması prostat ağırlığında yaklaşık %39'luk bir artış sağlamaktadır. Tek doz uygulanması, intraperitoneal olarak değilde kas içi uygulanması diğer BPH modellerinde kullanılan testosteron türevlerine üstünlüğüdür. BOTOX tedavisi sıçanlarda oluşturulan BPH modelinde meydana gelen prostat ağırlığındaki artışı % 32,5 oranında azaltmaktadır. Yapılan histolojik ve immünohistokimyasal çalışmalar ile bu etkiye nasıl yol açtığı ortaya konulamamıştır. Lys tedavisi sıçanlarda oluşturulan BPH modelinde meydana gelen prostat ağırlığındaki artışı %38,7 oranında azaltmaktadır. Yapılan histolojik ve immünohistokimyasal çalışmalar ile bu etkiye nasıl yol açtığı ortaya konulamamıştır. Lys elde ettiğimiz veriler ışığında BPH tedavisinde ümit vericidir. Her iki ilaç arasında etkinlik bakımından fark yoktur.

BPH'nin dünya üzerindeki erkek nüfusunu yaşlanmaya bağlı olarak daha çok etkilemesinden ve bu konudaki non invaziv tedavilerin yetersiz kalmasından dolayı bu çalışmayı planlamıştık. BPH'da Lys tedavisi ilk defa bizim tarafımızdan kullanılmıştır. Sıçan BPH modelinde prostat ağırlığı üzerinde oluşturduğu azaltıcı etki tarafımızdan ispatlanmıştır. Her ne kadar elimizdeki imkânlar ile etki mekanizmasını ortaya koyamış olsakda, literatüre üzerinde araştırma yapılmaya değer yeni bir tedavi modalitesi kazandırdığımız için çalışmamızı planlamamızdaki amacımıza ulaştığımızı inanmaktayız.

ÖZET

Sıçanlarda Testosteron ile Oluşturulan Benign Prostat Hiperplazisi (BPH) Modelinde, Botulinum Toksin Enjeksiyonu ve Lizozim'in Antihiperplastik Etkisi

BPH yaşlanma ile sıklığı artan ve kişilerin yaşam kalitelerini etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. Çalışmamızda sıçanlar üzerinde deneysel BPH modeli oluşturularak, BOTOX ve Lys tedavilerinin prostat üzerine etkilerini inceledik.

Çalışmada Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilen, 200-400 g ağırlığında Wistar cinsi erkek sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar grup 1; kontrol, grup 2; testosteron, grup 3; testosteron+BOTOX, grup 4; testosteron+Lys, grup 5; testosteron+BOTOX+Lys olacak şekilde 5 gruba ayrılmışlardır. Deneysel başlangıcında (0.gün) tüm hayvanların vücut ağırlıkları ölçülmüş ve grup 1'deki sıçanlar hariç diğer sıçanlara testosteron enjeksiyonu yapılmıştır. Deneysel başlangıcından 40 gün sonra grup 3'deki sıçanların prostatlarına BOTOX enjeksiyonu, grup 4'deki sıçanlara Lys enjeksiyonu yapılmıştır. Grup 5'deki sıçanlara ise BOTOX+Lys enjeksiyonu yapılmıştır. Bir hafta sonra (47.gün) tüm sıçanlar sakrafiye edilmiştir.

Testosteron tedavisi sıçanlarda prostat ağırlığını %39 arttırmaktadır. BOTOX tedavisi prostat ağırlığını %32,5 azaltmaktadır. Lys tedavisi prostat ağırlığını %38,7 azaltmaktadır. Testosteron uygulaması prostat dokusunda değişen miktarda stroma ile birlikte irregüler asiner büyüme paternine neden olmaktadır. Kübik ve silindirik hücrelerin gözlemlendiği epitel tabakasında izole veya multiple alanlarda üst üste yığılı hücre toplulukları (piling up formasyonu) tespit edilmiştir. ROC eğrisi analizi sonucunda BPH için kesim noktası 21,5 ve prostat kanseri için kesim noktası 59,5 olarak tespit edilmiştir.

BOTOX ve Lys tedavilerinin BPH tedavisinde kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte insanlarda tedavi yöntemi olarak kullanılmadan insan vücudunda oluşturabilecekleri etkiler bakımından geniş randomize deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar sözcükler: Botulinum toksin, Hiperplazi, Lizozim, Prostat, Testosteron.

SUMMARY

Antihyperplastic Effect of Botulinum Toxin and Lysozyme at Testosterone-Induced Rat model of Benign Prostatic Hyperplasia (BPH)

The incidence of BPH is increased with aging and it's an important health problem that affect peoples quality of life. In present study at rats we are creating a experimental model of BPH and investigated the effects of BOTOX and Lys treatments on prostatic tissue.

In study adult Wistar rats weighing 200 to 400 g that obtained from the Suleyman Demirel University Laboratory of Experimental Animal Production and Experimental Research were used. They were completely randomized into 5 groups: grup 1; control, grup 2; testosterone, grup 3; testosterone+BOTOX, grup 4; testosterone+Lys, grup 5; testosterone.+BOTOX+Lys. The beginning of the experiment (Day 0) all animals body weights were measured and except group 1 testosterone were injected. 40 days after the beginning of experiment in group 3 BOTOX were injected to rat prostates tissue, in group 4 Lys were injected to rats prostates tissue. A week later (day 47), all rats were sacrificed.

Testosterone therapy increased 39% rate of the prostate weight in rats. BOTOX therapy decreased 32,5% rate of the prostate weight in rats. Lys therapy decreased 38,7% rate of the prostate weight in rats. Testosterone application caused irregular acinar growth pattern with variable amount of stroma at prostate tissue. Isolated or multiple stacked cell populations (piling up formation) have been identified in the epithelial layer and it lined by cuboidal or cylindrical cells. ROC curve analysis revealed cut-off point for BPH and prostate cancer were determined to be 21,5 and 59,5.

We suggest that BOTOX and Lys may be used in the treatment of BPH. However, before it is used as a method of treatment in human, large randomized experimental studies must be done for the affects that can be form in human body.

Keywords: Botulinum toxin, Hyperplasia, Lysozyme, Prostate, Testosterone.

KAYNAKLAR

1. Bery SJ, Coffey DS, Walsh PC, Ewing L. The development of human benign prostatic hyperplasia with age hyperplasia. *J Urol* 1984; 132:474-9.
2. Gonzales GF, Vasquez V, Rodriguez R. Effect of two different extracts of red maca in male rats with testosterone-induced prostatic hyperplasia. *Asian J Androl* 2007; 9(2):245–251.
3. Auger-pourmarin L, Roubert P, Pierre Etienne Chabrier PE. Endothelin reseptors in testestorene-induced prostatic hypertrophy in rats. *Jpn J Pharmacol* 1998; 77:307-310
4. Katz AE, Benson MC, Wise GJ. Gene Activity during the Early Phase of Androgen-stimulated Rat Prostate Regrowth. *Cancer Research* 1989; 49:5889-5894.
5. Scolnik MD, Servadio C, Abramovici A. Comparative study of experimentally induced benign and atypical hyperplasia in the ventral prostate of different rat strains. *J Androl* 1994 Jul-Aug;15(4):287-97.
6. Weigui S, Yiping G, Zhangqun Y. A Comparative Study on Different Characteristics between Prostate Cancer Model and BPH Model of BALB/c Mice. *Gene Ther Biol* 2009; 13;205-213.
7. Silva J, Pinto R, Carvalho T, Botelho F, Silva P, Oliveira R, Silva C, Cruz F, Dinis P. Intraprostatic Botulinum Toxin Type A injection in patients with benign prostatic enlargement: duration of the effect of a single treatment. *BMC Urol* 2009 15;9:9.
8. Oeconomou A, Madersbacher H, Kiss G. Is Botulinum Neurotoxin Type A (BoNT-A) a Novel Therapy for Lower Urinary Tract Symptoms Due to Benign Prostatic Enlargement? A Review of the Literature. *Eur Urol* 2008; 54:765–777.
9. Lin AT, Yang AH, Chen KK. Effects of Botulinum Toxin A on the Contractile Function of Dog Prostate. *Eur Urol* 2007; 52:582–589.
10. Choo MS. Investigating Botulinum Toxin A on the Functional Properties of the Prostate. *Eur Urol* 2007; 52:324–325.
11. Chuang YC, Tu CH, Huang CC, Lin HJ, Chiang PH, Yoshimura N, Chancellor MB. Intraprostatic injection of botulinum toxin type-A relieves bladder outlet obstruction in human and induces prostate apoptosis in dogs. *BMC Urol* 2006 Apr 18;6:12.
12. Silva J, Pinto R, Carvallho T, Coelho A, Avelino A, Dinis P, Cruz F. Mechanisms of prostate atrophy after glandular botulinum neurotoxin type a injection: an experimental study in the rat. *Eur Urol* 2009; 56(1):134-40.
13. Drewa T, Wolski Z, Tyloch J. Letter to the Editor re: Joaõ Silva, Rui Pinto, Tiago Carvallho, et al. Mechanisms of Prostate Atrophy after Glandular Botulinum Neurotoxin Type A Injection: An Experimental Study in the Rat. *Eur Urol* 2009; 56:e28–e29.

14. Güzel AI, Kasap H, Tuncer I. Suppression of the tumorigenicity of B-16V melanoma cells via lysozyme gene. *Cancer Bioteraphy & Radiopharmaceuticals* 2008; 23(5):603-608.
15. Myers RP. Practical pelvic anatomy pertinent to radical retropubic prostatectomy. *AUA Update Series* 1994;13:26-31.
16. McNeal JE. The zonal anatomy of the prostate. *Prostate* 1981; 2:35-49.
17. Brooks JD. Anatomy of the lower urinary tract and male genitalia. Wein AJ. (editor-in-chief), Kavoussi LR, Novick AN, Partin AW, Peters CA (eds). Wein: Campbell-Walsh Urology, 9th ed. Philadelphia, Saunders Elsevier, 2007:41-70.
18. Lepor H, Gregerman M, Crosby R. Precise localization of the autonomic nerves from the pelvic plexus to the corpora cavernosa: a detailed anatomical study of the adult male pelvis. *J Urol* 1985; 133:207-212.
19. Reiner WG, Walsh PC. An anatomical approach to the surgical management of the dorsal vein and Santorini's plexus during radical retropubic surgery. *J Urol* 1979; 121:198-200.
20. Asçı R. Prostat Anatomisi. In: Kadioğlu A, Asçı R, Semerci B, ve ark.(eds). Prostatın benign hastalıkları.1. baskı. İstanbul. İstanbul Tıp, 2009:7-10.
21. McNeal JE. Anatomy of the prostate and morphogenesis of BPH. *Prog Clin Biol Res* 1984; 145:27-53.
22. Ornstein DK, Cinquenta M, Weiler S, Duray PH, Emmert-Buck MR, Vocke CD, Linehan WM, Ferretti JA. Expression studies and mutational analysis of the androgen regulated homeobox gene NKX3.1 in benign and malignant prostate epithelium. *J Urol* 2001; 165:1329
23. Huang L, Pu Y Hepps D, Danielpour D, Prins GS. Posterior Hox gene expression and differential androgen regulation in the developing and adult rat prostate lobes. *Endocrinology* 2007; 148:1235-45.
24. Friedman JR, Kaestner KH. The Foxa family of transcription factors in development and metabolism. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63:2317-28.
25. Grishina IB, Kim SY, Ferrara C, Makarenkova HP, Walden PD. BMP7 inhibits branching morphogenesis in the prostate gland and interferes with Notch signaling. *Dev Biol* 2005; 288(2):334-47.
26. Zhu G, Zhau HE, He H, Zhang L, Shehata B, Wang X, Cerwinka WH, Elmore J, He D. Sonic and desert hedgehog signaling in human fetal prostate development. *Prostate* 2007; 67(6):674-84.
27. Pu Y, Huang L, Birch L, Prins GS. Androgen regulation of prostate morphoregulatory gene expression: Fgf10-dependent and -independent pathways. *Endocrinology* 2007; 148(4):1697-706.

28. Aumüller G, Adler G. Experimental studies of apocrine secretion in the dorsal prostate epithelium of the rat. *Cell Tissue Res* 1979; 198:145-58.
29. Prins GS, Huang L, Birch L, Pu Y. The role of estrogens in normal and abnormal development of the prostate gland. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1089:1-13.
30. Asçı R. Prostat Anatomisi. In: Kadioğlu A, Asçı R, Semerci B, ve ark.(eds). Prostatın benign hastalıkları.1. baskı. İstanbul. İstanbul Tıp, 2009:3-6.
31. De Marzo AM, Nelson WG, Meeker AK, Coffey DS. Stem cell features of benign and malignant prostate epithelial cells. *J Urol* 1998; 160:2381-92.
32. Peehl DM. Primary cell cultures as models of prostate cancer development. *Endocr Relat Cancer* 2005; 12(1):19-47.
33. Sherwood ER, Theyer G, Steiner G, Berg LA, Kozlowski JM, Lee C. Differential expression of specific cytokeratin polypeptides in the basal and luminal epithelial of the human prostate. *Prostate* 1991; 18(4):303-314.
34. Vashchenko N, Abrahamsson PA. Neuroendocrine differentiation in prostate cancer: implications for new treatment modalities. *Eur Urol* 2005; 47(2):147-55.
35. Isaacs JT. Role of programmed cell death in carcinogenesis. *Environ Health Perspect* 1993; 101 Suppl 5:27-30.
36. Bonkhoff H, Remberger K. Differentiation pathways and histogenetic aspects of normal and abnormal prostatic growth: a stem cell model. *Prostate* 1996; 28(2):98-106.
37. Rosai J: *Ackerman's Surgical Pathology: Male Reproductive System. Prostate and Seminal Vesicles.* 9th, Mosby, St Louis 2004, syf 1361-1411
38. Huss WJ, Gray DR, Werdin ES, Funkhouser WK Jr, Smith GJ. Evidence of pluripotent human prostate stem cells in a human prostate primary xenograft model. *Prostate* 2004;60(2):77-90.
39. Pienta KJ, Murphy BC, Getzenberg RH, Coffey DS. The tissue matrix and the regulation of gene expression in cancer cell. *Adv Mol Cell Biol* 1993; 7:131-156.
40. Tanagho EA: *Anatomy of the genitourinary tract*; in Tanagho TA, McAninch JE (eds): *Smith's General Urology*, ed 14, Nonvalk, Appleton & Lange, 1995.
41. Deanesly R, Parkes AS. Size changes in the seminal vesicles of the mouse during development and after castration. *J Physiol* 1933; 10;78(4):442-50.
42. Fekete E. *Biology of Laboratory Mouse*, edited by G. D. SNELL. Philadelphia(Blakiston Press) 1941 p. 134.
43. Burrows H. *Biological Actions of Sex Hormones*, Cambridge (University Press) 1945p. 215.

44. Cunha GR, Cooke PS, Bigsby R, Brody JR. Ontogeny of sex steroid receptors in mammals. In: Parker MG (ed) *The Structure and Function of Nuclear Hormone Receptors*. Academic Press, New York, 1991 pp 235–268.
45. Cunha GR, Donjacour AA, Cooke PS, Mee S, Bigsby RM, Higgins SJ, Sugimura Y. The endocrinology and developmental biology of the prostate. *Endocr Rev* 1987; 8(3):338-62.
46. Timms BG, Mohs TJ, Didio LJ. Ductal budding and branching patterns in the developing prostate. *J Urol* 1994; 151:1427–1432.
47. Sugimura Y, Cunha GR, Donjacour AA, Bigsby RM, Brody JR. Whole-mount autoradiography study of DNA synthetic activity during postnatal development and androgen-induced regeneration in the mouse prostate. *Biol Reprod* 1986; 34(5):985-95.
48. vom Saal FS, MontanoMM, Wang MH. *Chemically-Induced Alterations in Sexual and Functional Development: The WildliefyHuman Connection*, eds. Colborn, T. & Clement, C. (Princeton Scientific, Princeton) 1992;21;17–83.
49. Hayward SW, Haughney PC, Rosen MA, Greulich KM, Weier HU, Dahiya R, Cunha GR. Interactions between adult human prostatic epithelium and rat urogenital sinus mesenchyme in a tissue recombination model. *Differentiation* 1998; 63(3):131-40.
50. Peehl DM, Sellers RG. Basic FGF, EGF, and PDGF modify TGFbeta-induction of smooth muscle cell phenotype in human prostatic stromal cells. *Prostate* 1998; 35(2):125-34.
51. Stumpf WE, Narbaitz R, Sar M. Estrogen receptors in the fetal mouse. *J Steroid Biochem* 1980; 12:55-64.
52. Economides KD, Capecchi MR. Hoxb13 is required for normal differentiation and secretory function of the ventral prostate. *Development* 2003; 130(10):2061-9.
53. Marker PC, Donjacour AA, Dahiya R, Cunha GR. Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development. *Dev Biol* 2003 15;253(2):165-74.
54. Oesterling JE, Jacobsen SJ, Chute CG. Serum prostate-specific antigen in a community-based populaçon of healthy men: Establishment of age specific reference ranges. *JAMA* 1993; 270:860-864.
55. Chute CG, Panser LA, Girman CJ. The prevalence of prostatism: a population based survey of urinary symptoms. *J Urol* 1993; 150:85-89.
56. Oishi K, Boyle P, Berry JM. Epidemiology and natural history of benign prostatic hyperplasia In: Denis L, Griffiths K, Khoury S, et al. *Fourth International Consultation on BPH*, Paris, 1997 Plymouth: Health Publications:1998;25-29.
57. Isaacs JT, Coffey DS. Etiology and disease process of benign prostatic hyperplasia. *Prostate* 1989; 2:33-50.

58. Isaacs JT. Antagonistic effect of androgen on prostatic cell death. *Prostate* 1984; 5:554-557.
59. Doll HA, Black NA, Flood AB, McPherson K. Patient-perceived health status before and up to 12 months after transurethral resection of the prostate for benign prostatic hypertrophy. *Br J Urol* 1993; 71(3):297-305.
60. Humphrey PA. The prostate gland. In: Silverberg's Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology. Silverberg SG eds. 4thEd. Churchill Livingstone Elsevier, 2006, 1791-1828.
61. Djaven B, Merberger M. Meta-analysis on the efficacy and tolerability of alpha 1-adrenoreceptor antagonist in patients with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic obstruction. *Eur Urol* 1999; 36:1-13.
62. Clifford GM, Farmer RD. Medical therapy for benign prostatic hyperplasia: a review of the literature. *Eur Urol* 2000; 38(1):2-19.
63. Chon JK, Borkowski A, Partin AW, Isaacs JT, Jacobs SC, Kyprianou N. Alpha 1-adrenoceptor antagonists terazosin and doxazosin induce prostate apoptosis without affecting cell proliferation in patients with benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 1999; 161:2002-8.
64. Marks LS, Partin AW, Dorey FJ, Gormley GJ, Epstein JI, Garris JB, Macairan ML, Shery ED, Santos PB, Stoner E, deKernion JB. Long-term effects of finasteride on prostate tissue composition. *Urology* 1999; 53(3):574-80.
65. Palou RJ, Gausa GL, Salvador BJ, Millan RF, Segarra TJ, Villavicencio MH. Efficacy of finasteride in the treatment of hematuria associated with benign prostatic hypertrophy. *Arch Esp Urol* 2002; 55(8):895-9.
66. Finasteride (MK-906) in the treatment of benign prostatic hyperplasia. The Finasteride Study Group. *Prostate* 1993; 22(4):291-9.
67. Guess HA, Heyse JF, Gormley GJ. The effect of finasteride on prostate-specific antigen in men with benign prostatic hyperplasia. *Prostate* 1993; 22(1):31-7.
68. Roehrborn CG, Boyle P, Nickel JC, Hoefner K, Andriole G; ARIA3001 ARIA3002 and ARIA3003 Study Investigators. Efficacy and safety of a dual inhibitor of 5-alpha-reductase types 1 and 2 (dutasteride) in men with benign prostatic hyperplasia. *Urology* 2002; 60(3):434-41.
69. Andriole GL, Guess HA, Epstein JI. Treatment with finasteride preserves usefulness of prostate specific antigen in the detection of prostate cancer: results of a randomized, double-blind, placebo controlled clinical trial. PLESS Study Group. Proscar Long-term Efficacy and Safety Study. *Urology* 1998; 52(2):195-201.
70. Baldwin KC, Ginsberg PC, Harkaway RC. Discontinuation of alpha blockade after initial treatment with finasteride and Doxazosin for bladder outlet obstruction. *Urol Int* 2001; 66(2):84-8.

71. McConnell JD, Roehrborn CG, Bautista OM, Andriole GL Jr, Dixon CM, Kusek JW, Lepor H, McVary KT, Nyberg LM Jr, Clarke HS, Crawford ED, Diokno A, Foley JP, Foster HE, Jacobs SC, Kaplan SA, Kreder KJ, Lieber MM, Lucia MS, Miller GJ, Menon M, Milam DF, Ramsdell JW, Schenkman NS, Slawin KM, Smith JA; Medical Therapy of Prostatic Symptoms (MTOPS) Research Group. The long-term effect of doxazosin, finasteride, and combination therapy on the clinical progression of benign prostatic hyperplasia. *N Engl J Med* 2003; 349(25):2387-98.
72. Madersbacher S, Haidinger G, Struhala G; Prostate Study Group of the Austrian Society of Urology. Management of lower urinary tract symptoms of elderly men in Austria. *Eur Urol* 2001; 39(2):145-50.
73. Madersbacher S, Berger I, Ponholzer A, Marszalek M. Plant extracts: sense or nonsense? *Curr Opin Urol* 2008; 18(1):16-20.
74. Walker C, Selby M, Erickson A, Cataldo D, Valensi JP, Van Nest GV. Cationic lipids direct a viral glycoprotein into the class I major histocompatibility complex antigen-presentation pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89(17):7915-8.
75. Güzel Aİ. Fare lizozim ve interlekin-2 genlerinin klonlanması ve malign melanomada anti-tümöral DNA aşısı olarak kullanılması. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, doktora tezi. 2006:23-51.
76. Turek FW, Desjardins C. Development of Leydig cell tumors and onset of changes in the reproductive and endocrine systems of aging F344 rats. *J Natl Cancer Inst* 1979;63(4):969-75.
77. Boorman GA, Elwell MR, Mitsumori K. In: Boorman et al, eds. *Pathology of the Fischer Rat: Reference and Atlas*. San Rafael: Academic Press; 1990:419-428.
78. Banerjee PP, Banerjee S, Lai JM, Strandberg JD, Zirkin BR, Brown TR. Age-dependent and lobe-specific spontaneous hyperplasia in the brown Norway rat prostate. *Biol Reprod* 1998; 59(5):1163-70.
79. Golomb E, Rosenzweig N, Eilam R, Abramovici A. Spontaneous hyperplasia of the ventral lobe of the prostate in aging genetically hypertensive rats. *J Androl* 2000; 21(1):58-64.
80. Auger-Pourmarin L, Roubert P, Chabrier PE. Endothelin receptors in testosterone-induced prostatic hypertrophy in rats. *Jpn J Pharmacol* 1998; 77(4):307-10.
81. Katz AE, Benson MC, Wise GJ, Olsson CA, Bandyk MG, Sawczuk IS, Tomashefsky P, Buttyan R. Gene activity during the early phase of androgen-stimulated rat prostate regrowth. *Cancer Res* 1989; 49(21):5889-94.
82. Julia-Guilloteau V, Mevel K, Oudot A, Bernabe J, Denys P, Chartier-Kastler E, Alexandre L, Giuliano F. Prostate Hypertrophy Induced By Testosterone: Effect
83. of Oxybutynin In An Experimental Model Of Overactive Bladder In Conscious Rats. *Eur Urol Suppl* 2006; 5(2):119

84. Cho YH, Ha US, Lee CB, Sohn DW, Kim SW. The antihyperplastic effect of oral catechin ingestion in a rat model of benign prostatic hyperplasia. *Eur Urol Suppl* 2007; 6(2):34
85. Banerjee PP, Banerjee S, Dorsey R, Zirkin BR, Brown TR. Age and lobe specific responses of the brown Norway rat prostate to androgen. *Biol Reprod* 1994; 51(4):675-84.
86. Gonzales GF, Vasquez V, Rodriguez D, Maldonado C, Mormontoy J, Portella J, Pajuelo M, Villegas L, Gasco M. Effect of two different extracts of red maca in male rats with testosterone-induced prostatic hyperplasia. *Asian J Androl* 2007; 9(2):245-51.
87. Weigui S, Yiping G, Zhangqun Y, Qiangguo Y, Zhenguo M, Xiaosong S, Zhaoyin F, Quanhong W, Chunzhi H. A comparative study on different characteristics between prostate cancer model and BPH model of BALB/c mice. *Gene Ther Biol* 2009; 13:205-213.
88. Kim J, Yanagihara Y, Kikugawa T, Ji M, Tanji N, Masayoshi Y, Freeman MR. A signaling network in phenylephrine-induced benign prostatic hyperplasia. *Endocrinology* 2009; 150(8):3576-83.
89. vom Saal FS, Timms BG, Montano MM, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, Dhar MD, Ganjam VK, Parmigiani S, Welshons WV. Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects at high doses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(5):2056-61.
90. Murakoshi M, Tagawa M, Inada R, Suzuki M, Mizokami A, Watanabe K. Inhibition of steroid-induced prostatic hyperplasia in rats by treatment with anti-androgen (TZP-4238). *Endocr J* 1993; 40(4):479-88.
91. Zhou Y, Xiao XQ, Chen LF, Yang R, Shi JD, Du XL, Klocker H, Park I, Lee C, Zhang J. Proliferation and phenotypic changes of stromal cells in response to varying estrogen/androgen levels in castrated rats. *Asian J Androl* 2009; 11(4):451-9.
92. Marengo SR, Chung LW. An orthotopic model for the study of growth factors in the ventral prostate of the rat: effects of epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor. *J Androl* 1994; 15(4):277-86.
93. Chung LW, Matsuura J, Runner MN. Tissue interactions and prostatic growth. I. Induction of adult mouse prostatic hyperplasia by fetal urogenital sinus implants. *Biol Reprod* 1984; 31(1):155-63.
94. Avila DM, Fuqua SA, George FW, McPhaul MJ. Identification of genes expressed in the rat prostate that are modulated differently by castration and Finasteride treatment. *J Endocrinol* 1998; 159:403-411
95. Wright AS, Thomas LN, Douglas RC, Lazier CB, Rittmaster RS. Relative potency of testosterone and dihydrotestosterone in preventing atrophy and apoptosis in the prostate of the castrated rat. *J Clin Invest* 1996; 98:2558-2563.

96. Omezzine A, Mauduit C, Tabone E, Nabli N, Bouzlama A, Benahmed M. Caspase-3 and -6 expression and activation are targeted by hormone action in the rat ventral prostate during the apoptotic cell death process. *Biol Reprod* 2003; 69(3):752-60.
97. Smith CP, Chancellor MB. Emerging Role of botulinum toxin in the treatment of voiding dysfunction. *J Urol* 2004; 171:2128-2137.
98. Smith CP, Franks ME, McNeil BK, Ghosh R, de Groat WC, Chancellor MB, Somogyi GT. Effect of botulinum toxin A on the autonomic nervous system of the rat lower urinary tract. *J Urol* 2003; 169:1896-1900
99. Doggweiler R, Zermann DH, Ishigooka M, Schmidt RA. Botox induced prostatic involution. *Prostate* 1998; 37:44-50.
100. Witte LPW, Chapple CR, de la Rosette JJMCH, Michel MC. Cholinergic innervation and muscarinic receptors in the human prostate. *Eur Urol* 2008; 54:326-34.
101. Bailey JE, Ollis DF. *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2nd Ed. Singapore, 1986: 178
102. Ralph P, Nakoinz I. Direct toxic Effects of immunopotentiators on Monocytic, Myelomonocytic, and Histiocytic or macrophage tumor Cells in Culture. *Cancer Research*, 1977; 37(2):546-550.
103. Cocchietto M, Zorzini L, Toffoli B, Candido R, Fabris B, Stebel M, Sava G. Orally administered microencapsulated lysozyme downregulates serum AGE and reduces the severity of early-stage diabetic nephropathy. *Diabetes Metab* 2008; 34(6 Pt 1):587-94.
104. Zhang K, Gao R, Zhang H, Cai X, Shen C, Wu C, Zhao S, Yu L. Molecular cloning and characterization of three novel lysozyme-like genes, predominantly expressed in the male reproductive system of humans, belonging to the c-type lysozyme/alpha-lactalbumin family. *Biol Reprod* 2005; 73(5):1064-71.
105. Liu H, Zheng F, Cao Q, Ren B, Zhu L, Striker G, Vlassara H. Amelioration of oxidant stress by the defensin lysozyme. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290(5):E824-32.

EKLER

EK-1

SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİV. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

| TOPLANTI TARİHİ | TOPLANTI SAYISI | KARAR SAYISI |
|-----------------|-----------------|--------------|
| 29.12.2009 | 30 | 03 |

SDÜ. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 29 ARALIK 2009 tarihinde Saat 15:30'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

03- S.D.Ü. Tıp. Fakültesi Üroloji. A.D. Prof. Dr. Alim KOŞAR' ın yürütücüsü olduğu, Arş. Gör. Dr. Osman ERGÜN, Yrd. Doç. Dr. Pınar Aslan KOŞAR, Öğr. Gör. İbrahim ONARAN ,yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Sıçanlarda Testesteron ile Oluşturulan Bening Prostat Hiperplazisi (BPH) Modelinde, Botox Enjeksiyonu ve Lizozim'in Antihiperplastik Etkisi" konulu çalışma;

| Dency Hayvanının | Türü | Cinsiyeti | Sayısı | Yaşı |
|------------------|---------------------|-----------|--------|---------|
| | Wistar Albino sıçan | Erkek | 46 | 8 aylık |

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından uygun görülmüştür.

| | | |
|---|---|---|
| Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU BAŞKAN | Yrd.Doç.Dr.Efkan UZ BAŞKAN YARDIMCISI | Prof.Dr.Fatih GÜLTEKİN ÜYE |
|  |  |  |
| Doç. Dr.Sema BİRCAN ÜYE | Doç.Dr.Münire ÇAKIR ÜYE | Yrd.Doç. Dr.Bilge ÇADIR ÜYE |
|  |  |  |
| Vet.Hekim İsmail UZ ÜYE | Ecz. Mustafa Serhan DERYAL ÜYE | Vet.Hekim İshak Suat ÖVEY ÜYE |
| izinli |  |  |