

MESANE ÇIKIM OBSTRÜKSİYONUNDA NGF (NERVE GROWTH FACTOR) RESEPTÖRÜNÜN ROLÜ

ROLE OF NERVE GROWTH FACTOR RECEPTOR ON BLADDER OUTLET OBSTRUCTION

Gökhan FAYDACI*, Fatih TARHAN*, Aylin Ege GÜL**, Erkan ERBAY*, Uğur KUYUMCUOĞLU*

* Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi I. Üroloji Kliniği, İSTANBUL

** Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarı, İSTANBUL

ABSTRACT

Introduction: Interest in the regulation of NGF (nerve growth factor) production in the urinary tract derives from its probable involvement in obstructive, inflammatory and developmental disorders. This study examines the NGF receptor immunoreactivity in obstructive bladders. NGF plays an important role in the autonomic innervation of various organs in the body and bladder also. There are some hypotheses about the effects of NGF on bladder autonomic innervation and NGF accused about the changes seen in bladder during bladder outlet obstruction. We aimed to detect NGF levels in bladders of men with proven bladder outlet obstruction and compare the NGF levels after relief of obstruction.

Materials and Methods: We performed physical examination, urine analysis, urine culture (if necessary), total PSA levels in blood serum, urinary ultrasonography and urodynamic study to all patients. In 20 patients with urodynamically confirmed outflow obstruction, detrusor biopsies were taken prior to and following 4 months after relief of obstruction. Cold cup biopsies of posterior wall of the urinary bladder were taken with Storz rigid cystoscope 22 Fr. All the participants had given written informed consent before taking bladder biopsy. 10 control patients with urodynamically normal bladder without outflow obstruction undergoing a therapeutic procedure such as electrohydraulic lithotripsy of urinary stones included to study. The localization and amount of low-affinity nerve growth factor receptor (LNGFR) in the human urinary bladder were examined immunohistochemically using the mouse monoclonal antibody against human LNGFR in each specimen by one pathologist. The pathologist has not been aware of which group of specimen she was examining.

Results: We detected NGF receptor immunoreactivity in all specimens except one control patient. In all patients who showed NGF immune staining in epithelium it was observed in surface epithelium. In study group there were patients who did not show epithelial staining but showed staining in nerve bundles. All patients in the study group did have NGF immunoreactivity. Only one patient in the control group we could not detect NGF immunoreactivity. In patients with bladder outlet obstruction (BOO) preoperative and postoperative (after relief of obstruction) NGF immunoreactivity were higher than control group ($p>0.05$). After relief of BOO NGF immunoreactivity decreased with respect to preoperative values but it was not statistically significant. There were no correlation between IPSS, Qmax values and NGF immunoreactivity ($p>0.05$).

Conclusion: These findings provide that parenchymal cells in hypertrophied bladder and normal bladder can synthesize NGF and possibly other molecular messengers that act to alter the size and function of neurons in men. The temporal correlation of NGF receptor immunoreactivity between obstructive group (preoperative), postoperative group and control group does not establish NGF as the causative factor for neurotrophic effects.

Key Words: NGF, Bladder Outflow Obstruction, Bladder, Immunohistochemistry

ÖZET

Üriner sistemde NGF (nerve growth factor) üretimine olan ilgi NGF'nin obstrüktif, enflamatuvar ve büyüme ile ilgili hastalıklardaki rolünden kaynaklanır. Bu çalışmada obstrüktif mesanelerde LNGFR (düşük afiniteli nerve growth factor reseptör) immunreaktivitesini, immunohistokimyasal yöntemle değerlendirdik. NGF'nin mesane otonomik inervasyonu üzerinde olan etkileri ile ilgili çeşitli hipotezler vardır. NGF çıkım obstrüksiyonu esnasında mesanede görülen değişikliklerden sorumlu tutulmuştur. Mesane çıkım obstrüksiyonu olan hastalarda ameliyat öncesi ve sonrası (obstrüksiyon giderildikten sonra) alınan mesane biyopsilerinde NGF reseptör immunoreaktivitesini kontrol hastaları ile karşılaştırarak NGF'nin obstrüksiyona bağlı sekonder mesane değişikliklerindeki rolünü saptamayı amaçladık.

BPH'ye bağlı mesane çıkım obstrüksiyonu tanısı konulup tedavi edilen 35 erkek hasta ve kontrol olarak çıkım obstrüksiyonu olmadığı kanıtlanmış üreter taşı nedeniyle üreterorenoskopik girişim uygulanan 10 erkek hasta çalışmaya dahil edildi. Obstrüksiyon grubundaki 15 hasta çeşitli sebeplerle çalışmadan çıkarıldığı için 20 hasta değerlendirmeye alındı.

Tüm hastalara fizik muayene, tam idrar tetkiki, idrar kültürü, serum total PSA düzey tayini, üriner sistem ultrasonografisi ve basınç-akım çalışması yapıldı ve IPSS formu doldurularak skor belirlendi, mesane biyopsisi alındı. Obstrüksiyon grubunda tedaviden 4 ay sonra tekrar IPSS formu dolduruldu, üroflowmetri yapıldı ve mesane posteriyor duvarından biyopsiler alındı. Hastaların hepsinden çalışma öncesi yazılı izinleri alındı. Hastane etik kurul onayı alındı. Biyopsilere düşük afiniteli NGF reseptör olan p75 antikoru için immünohistokimyasal boyama uygulandı. NGF için mesaneden alınan biyopsi parçalarında hücrelerin boyanma yaygınlığı ve yoğunluğu semikantitatif olarak skorlandı. İncelemeler tek bir patoloj tarafından kör olarak yapıldı.

Obstrüksiyon grubundaki hastaların yaş ortalaması 68.9 ± 1.2 , kontrol grubundaki hastalarının ise 52.0 ± 3.7 idi. Bütün hastalar değerlendirildiğinde daha çok mesane lüminal epitelinde ve sinir liflerinde NGF reseptör immunreaktivitesi olduğu görüldü. Obstrüksiyon grubunda obstrüksiyon giderildikten sonra tekrarlanan mesane biyopsilerinde tedavi öncesine nazaran NGF reseptör immunreaktivitesinde bir azalma tespit edilmesine rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bunun yanı sıra ameliyat öncesi ve sonrası NGF immunreaktivite yaygınlığı ve yoğunluğu kontrol grubuna göre yüksekti ($p > 0.05$).

Kontrol grubunda obstrüksiyonu olmayan hastaların mesane biyopsilerindeki NGF immunreaktivitesinde pozitif bulundu. Kontrol grubundaki hastalarda NGF immunreaktivite yaygınlığı ve yoğunluğu çalışma grubundaki hastalardan daha az olmasına rağmen bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildi.

NGF'nin mesane çıkım obstrüksiyonundaki rolünü açıklığa kavuşturabilmek için çalışmamızda kullandığımız immünohistokimyasal yöntemle mesanede NGF immunreaktivitesi saptamak yerine daha sensitif ve spesifik bir yöntem ihtiyacı vardır. Bununla beraber, nöral hipertrofinin NGF dışında başka bir nörotrofik faktör tarafından stimule edilebileceği olasılığı mevcut olduğundan daha fazla sayıda hasta içeren ve diğer nörotrofik faktörleride araştıran kontrollü çalışmalar yapılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: NGF, Mesane Çıkım Obstrüksiyonu, Mesane, İmmünohistokimya

GİRİŞ

Obstrüksiyondan sonra alt üriner sistemde birçok yapısal, farmakolojik ve fizyolojik değişiklikler meydana gelir. Mesane çıkım obstrüksiyonuna bağlı olarak detrüsr hipertrofisi ve mesane hiperaktivitesi oluşur. Üretral obstrüksiyon sonrası mesane içerisindeki afferent ve efferent sinirlerin yoğunluğu azalmasına rağmen gövdelerinin genişlemesi değişikliklerin bu sinirlerde olduğunu gösterir^{1,2}. Ayrıca, alt üriner sistem obstrüksiyonunu takiben, santral sinir sistemi nöral yollarında da değişiklikler olur³. Fakat, bu yapısal değişiklikleri başlatan yada etkileyen olaylar hakkında çok az şey bilinmektedir.

Nerve growth factor (NGF) periferel efektör doku ile bunu innerve eden sinirler arasında retrograd mesenger olarak rol oynayan trofik bir proteindir. Periferel dokularda, NGF kaynağının, sinirlerin innerve ettikleri hedef dokular olduğu tahmin edilmektedir. Düz kas hücreleri, fibroblastlar, astrositler ve diğer hücreler kültür ortamında NGF sentezlerler^{4,6}. NGF, embriyonik ve postnatal hayatta dorsal kök ganglion (sensory nöronlar) ve sempatik hücrelerin survivali, gelişimi ve nörotransmitter sentez regülasyonu için gereklidir⁷. NGF reseptörü iki alt ünite içerir; düşük

afiniteli alt ünite p75 olarak ve yüksek afiniteli tyrosine kinase alt ünite trkA olarak adlandırılır ki bu NGF'ün büyüme ve survival etkilerinden sorumludur⁸. Alt üriner sistemde NGF'yi arttıran birçok potansiyel uyarıcı tespit edilmiştir. Bunlar denervasyon, enflamasyon ve mekanik gerginlikler⁹. Bu bilgi mesanedeki otonomik inervasyon değişikliklerinin değişen NGF seviyelerine bağlı olabileceği fikrini ortaya çıkarmıştır. Hipertrofik mesanede artmış adrenerjik inervasyona ek olarak detrüsr kası α -adrenerjik uyarana daha duyarlıdır¹⁰. Obstrükte mesanede değişen afferent ve adrenerjik innervasyon, NGF'ün bu nöral büyümede önemli bir rol oynadığı olasılığını arttırır çünkü bu tip sinirler bu nörotrofine oldukça duyarlıdır.

Bu çalışmada, mesane çıkım obstrüksiyonu olan hastalarda ameliyat öncesi ve obstrüksiyon giderildikten sonra alınan mesane biyopsilerinde NGF immunoreaktivitesini obstrüksiyonu olmayan kontrol hastaları ile karşılaştırarak NGF'nin mesane çıkım obstrüksiyonundaki ve obstrüksiyona bağlı sekonder mesane değişikliklerindeki rolünü saptamayı amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Ekim 2001 ile Haziran 2002 tarihleri arasında BPH'ye bağlı mesane çıkım obstrüksiyonu tanısı konulup tedavi edilen 35 erkek hasta ve kontrol olarak çıkım obstrüksiyonu olmadığı kanıtlanmış 10 erkek hasta çalışmaya dahil edildi. Nörolojik bir patolojisi olan, şeker hastalığı olan, mesane fonksiyonunu etkileyen ilaç kullanan ve herhangi bir mesane patolojisi bulunan (tümör, taş gibi) olgular çalışmaya alınmadı. Çalışmada ICS tarafından tavsiye edilen yöntemler, tanımlamalar ve birimler kullanıldı¹¹.

Obstrüksiyon grubundaki 15 hasta; 2'si TUR-P sonrası gelişen total inkontinans nedeniyle sürekli sondalı oldukları için, 3 tanesi de üretra darlığı geliştiği için ve 10 hasta kontrollere gelmediği için çalışmadan çıkarıldılar. Obstrüksiyon grubu olarak toplam 20 hasta değerlendirmeye alındı. Bunlardan 11 tanesine açık prostatektomi ve 9 tanesine transüretral prostat rezeksiyonu (TUR-P) operasyonları yapıldı. Kontrol grubunda ise üreter taşı nedeniyle üreteroskopik cerrahi girişim yapılan hastalar mevcuttu.

Bütün hastalara çalışmayla ilgili bilgi verildi ve yazılı izinleri alındı. Çalışma için hastane etik kurulundan onay alındı. Tüm hastalara fizik muayene, tam idrar tetkiki, idrar kültürü, serum total PSA düzey tayini, üriner sistem ultrasonografisi ve 6 kanallı ürodinami cihazı (MMS 2000 UD) ile basınç-akım çalışması yapıldı, IPSS (Uluslararası Prostat Semptom Skoru) formu doldurularak skor belirlendi ve mesane biyopsisi alındı. ICS nomogramına göre slope >2 cm H₂O (ml/sn) veya pmuo >40 cm H₂O veya AG sayısı >40 olanlar obstrükte olarak kabul edildi. Obstrüksiyon grubunda tedaviden 4 ay sonra IPSS formu yeniden dolduruldu, üroflovetri yapıldı ve mesane biyopsileri alındı.

Kontrol grubu hastalardan işlem öncesi 22 Fr (Storz) rigid sistoskop ile mesane posteriyör duvarından "cold cup" biyopsiler alındı. Obstrüksiyon grubundaki 11 hastadan ameliyat esnasında açık prostatektomi yapılmadan önce mesane posteriyör duvarından "cold cup" biyopsiler alındı. Bunun yanı sıra 9 hastadan TUR-P yapılmadan önce 22 Fr (Storz) rijid sistoskop ile biyopsi pensi kullanarak "cold-cup" biyopsiler alındı. Bütün olgulardan muskularis propriya tabakasını da içeren birer kesit çalışmaya alındı.

Bu kesitlere p75 antikoruna için HRP-AEC (Labvision Corporation, USA) yöntemiyle immünohistokimyasal boyama uygulandı ve kesitler ışık mikroskopunda değerlendirildi. Poly-L-lysin ile kaplanmış lamlara 5 mikronluk kesitler alındı. Bütün gece oda sıcaklığında bırakılan kesitler etüvde 60 °C'de 60 dakika bekletildi. Kesilende 10 dakika ve absölu alkolde 5 dakika bekletildi ve distile su ile yıkandı. Antijen Retrieval metodu uygulandı. %10'luk Citrat Buffer solüsyonu hazırlandı. Mikrodalga fırına içinde antijen retrieval solüsyon bulunan şale yerleştirildi, kaynama ve sonrasında soğutma işlemi uygulandı. Distile su ile yıkandı ve PBS (Phosphate Buffered Saline) içinde 5 dakika bekletilip yıkandı. %3'lük H₂O₂ ile 20 dakika peroksidaz blokajı yapıldı ve PBS'te 3x5 dakika bekletildi. Nonspesifik arka alan boyanmasını önlemek için Protein blokajı yapıldı (Ultra V Blok) ve 5 dakika bekledi. Lam üzerindeki protein blokaj ağıtıldı ve primer antikor NGF (Labvision Lot: 394R108) damlatılıp oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. PBS'te 3x5 dakika yıkandı. Biotinylated Goat Anti-Mouse (Link sol.) 15 dakika bekletildi. (Lab vision TM-015-BN). PBS'te 3x5 dakika yıkandı. Streptavidin Peroksidaz'da 10 dakika tutuldu (Lab vision TS-015-HR). PBS'te 3x5 dakika yıkandı. AEC Chromogen&Substrate'da (3,3'Diaminobenzidin kromojen çözeltisinde) 15 dakika tutuldu (Lab vision TA-060-HD). Musluk suyu ile yıkayıp Hematoksilen ile 1 dakika zıt boyama yapıldı. Yüksek dereceli alkolden geçirilip kurutuldu ve ksilene alınıp bir kapama maddesi ile kapatıldı. Pozitif kontrol olarak malin melanom preparatı kullanıldı ve ayrıca negatif kontrol yapıldı. Bütün değerlendirmeler tek bir patolog tarafından yapıldı ve patolog baktığı preparatların hangi gruba yada hangi hastaya ait olduğundan habersizdi. NGF reseptörü için mesaneden alınan biyopsi parçalarında hücrelerin boyanma yaygınlığı ve yoğunluğu incelendi¹².(Tablo 1).

NGFR Yaygınlık	(+)	NGFR Yoğunluk	(+)
%0	0	Yok	0
%0-%10	1	Silik	1
%10-%50	2	Az yoğun	2
> %50	3	Yoğun	3

Tablo 1. NGF reseptör immünreaktivitesinin derecelendirilmesi (55).

Çalışmada elde edilen bulgular “ortalama± standart sapma” olarak verildi. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi Prism 2.01 bilgisayar programı (GraphPad Software Inc) kullanılarak yapıldı. Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi, Mann-Whitney testi, Wilcoxon matched paired test, korelasyon ve lineer regresyon analizi kullanıldı $p \leq 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan hastaların yaşları 54 ile 78 arasında değişiyordu ($68,9 \pm 1,2$). Kontrol grubunda ise yaşlar 40 ile 65 arasındaydı ($52 \pm 3,7$).

Hastaların yaş ortalaması, PSA değeri, prostat volümü, IPSS ve ürodinamik verileri Tablo 2’de verilmiştir. Çalışma ve kontrol grubundaki hastaların serum total PSA değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Ancak her iki grupta da değerler normal sınırlardaydı. Ameliyat öncesi IPSS, işeme sonrası rezidüel (artık) idrar miktarı ve Qmaks değerleri kontrol ve ameliyat sonrası değerlerden istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$).

Kontrol grubunun p75 NGF reseptörü için immunohistokimyasal boyanma bulguları tablo 3’de, çalışma grubu hastaların bulguları ise tablo 4’de verilmiştir. Kontrol grubu ve çalışma grubunda epitel boyanması olan hastaların hepsinde boyanma epitelin lüminal yüzeyindeydi. Çalışma grubunda epitelyal boyanma göstermeyen fakat sadece sinir liflerinde boyanma olan hastalar mevcuttu. Çalışma grubundaki bütün hastalarda NGF reseptör immunreaktivitesi mevcuttu. Kontrol grubundaki tek bir hastada boyanma tespit

edilemedi. Hastalardan ameliyat öncesi alınan biyopsilerde transizyonel epitelin lüminal yüzeyinde %75 oranında boyanma saptandı. Bu oran ameliyat sonrası biyopsilerde %71 ve kontrollerde %90 olarak bulundu. Transizyonel epitelin bazal tabakasında ameliyat öncesi boyanma oranı %10, ameliyat sonrası %7 ve kontrollerde %0 idi. Ameliyat öncesi biyopsilerde %50 oranında sinir liflerinde boyanma görüldü. Ameliyat sonrası biyopsilerde sinir liflerindeki boyanma oranı %55 ve kontrollerde %10 idi. Ayrıca perivasküler sahada boyanma ameliyat öncesi biyopsilerde %35, ameliyat sonrası biyopsilerde ve kontrollerde %0 olarak bulundu.

IPSS, ve Qmax değerleri ile NGF immunreaktivitesi arasında korrelasyon saptanmadı ($p > 0.05$).

Biyopsilerin p75 NGF immünreaktivitesinin yoğunluk dereceleri şekil 1’de yaygınlık dereceleri ise şekil 2’de verilmiştir. Obstrüksiyon grubunda ameliyat öncesi ve sonrası NGF immunreaktivite yaygınlığı ve yoğunluğu kontrol grubuna göre yüksekti ($p > 0.05$). Ameliyat öncesi NGF immunreaktivite yaygınlığı ve yoğunluğu ameliyat sonrası dönemde azalmış olarak bulundu fakat bu istatistiksel olarak anlamlı değildi.

TARTIŞMA

Çıkım obstrüksiyonuna cevap olarak mesane anatomik, biyokimyasal, farmakolojik ve fizyolojik değişikliklere uğrar^{13,14}. Bu değişikliklere mesaneyi uyarıcı afferent ve efferent sinirlerin hipertrofisi eşlik eder. Bu durum mesane disfonksiyonuna ve semptomları geriletmek için yapılan tedavide başarısızlığa neden olabilir. Nöral

	Kontrol grubu	Çalışma grubu (ameliyat öncesi)	Çalışma grubu (ameliyat sonrası)
Yaş ortalaması	52,1±3,7	68,9±1,2	-
PSA (ng/ml)	1,1±0,2	2,9±0,3	-
Prostat Ağırlığı (gr)	27,5±3,5	64,1±5,5	-
IPSS	5,8±1,3	18,2±1,0	4,3±1,1
Rezidüel idrar (ml)	26,8±10,8	137,5±26,0	14,4±3,9
Qmaks (ml/dk)	25,6±9,7	6,8±1,2	17,4±3,7
Komplians (cmH ₂ O/ml)	21,7±1,5	19,5±6,5	-
Maksimal sistometrik kapasite (ml)	337,5±35,5	315,2±54,1	-
A/G sayısı	18,5±1,5	64,5±6,6	-

Tablo 2. Hastaların yaş ortalaması, PSA değeri, prostat volümü, IPSS ve ürodinamik verileri.

Hasta	Yaygınlık	Yoğunluk	Lokalizasyon
HÇ	1	2	Lüminal epitel
İK	3	1	Lüminal epitel, sinirlerde
YP	1	1	Lüminal epitel
GK	1	2	Lüminal epitel
FA	3	1	Lüminal epitel. Sistit (+)
AG	3	1	Lüminal epitel
İA	0	0	-
NM	1	1	Lüminal epitel
HK	2	1	Lüminal epitel
DŞ	1	1	Lüminal epitel

Tablo 3. Kontrol grubu hastaların biyopsilerinin p75 NGF reseptör için immunohistokimyasal çalışma bulguları.

yollarda bu değişikliklere yol açan yada başlatan faktör olarak NGF suçlanmaktadır¹⁵. Fakat bu hipotezi kanıtlayacak kontrollü insan çalışmaları henüz mevcut değildir.

Günümüzde, maalesef obstrüksiyonun kendisinden ziyade mesanede sebep olduğu sekonder değişikliklerin tanısını koyabilmekteyiz. Problem, çıkım obstrüksiyonu tanısını koyabilmek için elimizdeki tek seçeneğin ürodinami olmasıdır. Ürodinami tek başına tedavinin gerekli-

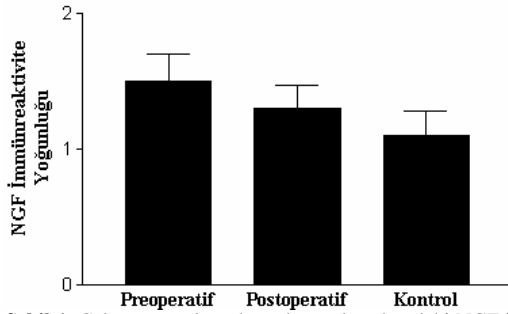
liğine ve başarısına karar verememektedir¹⁶. Sekonder mesane değişikliklerinin önlenmesi, obstrüksiyonun ve sekonder mesane değişikliklerinin uygun tedavisinin ne olduğu, tedavinin zamanlaması çözülmemiş diğer konulardır. Amaç, sekonder mesane değişiklikleri olmadan ve mesane dekompanse hale gelmeden çıkım obstrüksiyonunun giderilmesidir¹⁶. Bu değişikliklerden sorumlu tutulan nörotrofik faktörlerden en önemlisi olan ve üzerinde en çok çalışılan protein NGF'dir.

Düz kasın denervasyonu yada enflamasyonu NGF düzeyini etkileyebilir¹⁷. Fakat mesanenin cerrahi denervasyonu yada kimyasal iritanların intravezikal instillasyonu NGF düzeyini obstrüksiyonda olduğu kadar arttırmaz¹⁸. Buna rağmen çalışmamızda çıkan sonuçları etkilememesi için bütün hastalara basınç-akım çalışması yapılarak mesane denervasyonu ekarte edildi. Ayrıca idrar kültürleri yapılarak enfeksiyöz etken araştırıldı.

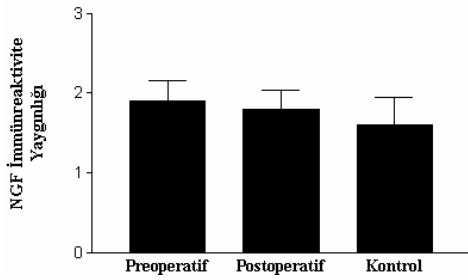
Wakabayashi yaptığı çalışmada normal insan mesanesinde düşük afiniteli NGF reseptör (LNGFR) immunreaktivitesi tespit etmiştir¹⁹. Bu çalışmada LNGFR pozitif liflerin yoğunluğu kas

Hasta	Ameliyat Öncesi		Lokalizasyon	Ameliyat Sonrası		Lokalizasyon
	Yaygınlık	Yoğunluk		Yaygınlık	Yoğunluk	
İA	2	2	Lüminal epitel, sinirler	2	2	Lüminal epitel, stroma. Brunn nest (+)
AE	3	2	Bazal ve lüminal epitel. Sistit (+)	3	2	Bazal ve lüminal epitelde
MŞ	3	3	Lüminal epitel, sinirler	3	2	Lüminal epitel ve sinirlerde
SK	2	2	Lüminal epitel, damarlar çevresinde, sinirler	3	2	Lüminal epitel ve sinirlerde
AÖ	0	0	Damar çevresinde, sinirlerde. Sistit (+)	3	2	Lüminal epitel ve sinirlerde
NB	0	0	Damar çevresinde	0	0	Sinirlerde
ŞM	3	2	Lüminal epitel, stroma ve sinirler. Sistit (+)	3	2	Lüminal epitel ve stroma
HK	1	1	Lüminal epitel	1	1	Lüminal epitel ve sinirlerde
MY	0	0	Sinirlerde ve damar çevresinde	0	0	Sinirlerde. Sistit (+)
AB	1	1	Lüminal epitel, sinirlerde	0	0	Sinirlerde. Sistit (+)
NK	3	2	Lüminal epitel, sinirlerde	1	1	Lüminal epitel, sinirlerde
HY	1	1	Lüminal epitel, damarlar çevresinde	2	2	Lüminal epitel, sinirlerde
HS	2	1	Lüminal epitel, sinirlerde. Sistit (+)	2	1	Lüminal epitel, sinirlerde
EY	3	2	Lüminal epitel, sinirlerde, stromal ve damar çevresinde	2	1	Lüminal epitel, sinirlerde
ND	2	1	Lüminal epitel	1	1	Lüminal epitel
ÖÖ	3	2	Lüminal epitel, sinirler ve damar etrafında.	3	1	Lüminal epitel, sinir
HÇ	3	2	Lüminal epitel. Sistit (+)	2	2	Lüminal epitel
FB	2	2	Lüminal epitel, sinirlerde Sistit (+)	2	1	Lüminal epitel, sinir
HD	1	1	Lüminal epitel, bazal tabakada fokal. Sistit (+)	1	1	Lüminal epitel
MÇ	3	3	Lüminal epitel	2	2	Lüminal epitel

Tablo 4. Çalışma grubu hastaların biyopsilerinin p75 NGF reseptör için immunohistokimyasal çalışma bulguları



Şekil 1. Çalışma gruplarında ve kontrol grubundaki NGF immunreaktivite yoğunluğu



Şekil 2. Çalışma grupları ve kontrol grubundaki NGF immunreaktivite yaygınlığı

tabakasından daha çok mukozal tabakadaydı bu da insan mesanesinde epitel hücrelerinin normal durumlarda NGF üretebileceğini düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda bu bilgiyi doğrular nitelikteydi ve kontrol grubundaki normal insan mesanelerinde NGF reseptör immunreaktivitesi pozitif idi. Epitel yüzeyinde ve bağ doku içerisinde sinir liflerinde immunohistokimyasal olarak NGF reseptör boyanması mevcuttu.

Daha önce yapılan hayvan çalışmalarında parsiyel üretral obstrüksiyon yaratılan sıçanların mesanelerinde ELISA yöntemi ile NGF düzeyi ölçülmüştür. Sıçanlarda NGF'nin obstrüksiyondan 1 hafta sonra arttığı ve takip eden haftalarda bu seviyeden aşağıya düştüğü fakat halen kontrol değerlerden 4-6 kat yüksek olduğu tespit edilmiştir¹⁵. Benzer şekilde çalışmamızda obstrüksiyon giderildikten sonra NGF reseptör immunreaktivite yaygınlık ve yoğunluğunda istatistiksel olarak önemli olmayan bir azalma tespit edildi. Ayrıca obstrükte hastalarda ameliyat öncesi ve sonrası alınan mesane biyopsilerinin immunohistokimyasal incelenmesinde NGF reseptör yoğunluğunun ve yaygınlığının kontrol grubu hastalara göre daha yüksek olduğu saptandı. Ancak bu fark da

istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çalışmamızda kullanmış olduğumuz immunohistokimyasal boyama yönteminin ELISA yöntemine göre daha az sensitif ve spesifik olması bunun nedenlerinden bir tanesi olabilir.

Mesane çıkım obstrüksiyonlu çeşitli hayvan modelleri arasında benzerlikler olabilir. Fakat kullanılan hayvan türü ve çıkım obstrüksiyonu yaratmak için kullanılan yöntemle ilgili olarak belirgin değişiklikler de mevcuttur. Bu değişikliğe bir örnek olarak insan ve sıçan mesane düz kas hücrelerinde in vitro NGF üretimindeki farklılık gösterilebilir. Sıçanlarda artmış cAMP NGF sentezini baskımlarken, insanlarda artmış cAMP NGF sentezinin güçlü bir aktiflendiricidir²⁰. Bu fark insanlarda yapılan çalışmamızda çıkan NGF reseptör immunreaktivitesi sonuçları ile daha önce yapılmış olan sıçan çalışmaları sonuçları arasındaki farklı sonuçların bir açıklaması olabilir.

Daha önce yapılan sıçan çalışmalarındaki verilere göre çıkım obstrüksiyonu, mesane parenkimal hücrelerini bu organı innerve eden sinirlerin boyutunu düzenleyen bir faktör üretmeleri için stimule eder. Bu kanıyı obstrüksiyon sonrası afferent (60) ve efferent (14) sinirlerde tespit edilen hipertrofi destekler. Obstrükte mesaneyi innerve eden sinirlerin sayısı sabittir (14) fakat bu genişlemiş organ her bir ganglion hücresi için artmış oranda NGF içerebilir. Bundan dolayı, obstrükte mesane her ganglion hücresi için normal mesaneden 50 kat daha fazla NGF içerebilir²¹. Steers tarafından yapılan çalışmada artmış NGF seviyesinin mesane hipertrofisi ile ilişkili olduğu bulunmuştur¹⁵. Ayrıca NGF'ye karşı endojen antikor verilen obstrükte sıçanlarda mesaneyi innerve eden sinirlerde hipertrofi görülmemiştir¹⁵. Bütün bu göstergeler NGF'nin BPH'li hastalarda görülen detrusör hiperaktivitesi ve sensoriyal bozukluklarda rol oynayabileceğini ileri sürmektedir.

Bütün bu bilgilerin klinik uygulamada kullanılabilir olması için obstrükte insan mesanesinde artmış NGF düzeyi ve obstrüksiyon giderildikten sonra azalmış NGF düzeyi tespit etmek ve ayrıca bunu klinik uygulama kolaylığı olan bir metodla gerçekleştirmek gerekiyordu. Bizim çalışmamızda bu yüzden punch biyopsi ve immunohistokimyasal metod kullanıldı.

Bilgilerimize göre obstrükte insan mesanesinde yapılan tek çalışma olan Steers'in 3 hasta ve 3 kontrol hastası içeren çalışmasında obstrükte mesanede artmış NGF düzeyi saptanmıştır¹⁵. Sözü edilen çalışma ile bizim çalışmamız arasında hasta sayısında ve NGF düzeyini tespit etmek için kullanılan yöntemde farklılık vardı. Steers ELISA yöntemiyle obstrükte grubta kontrol grubuna oranla artmış NGF düzeyi (7,8 pg/mg-2,6 pg/mg) tespit etmiştir¹⁵. Ancak bu hastaların obstrüksiyon giderildikten sonra NGF düzeyleri değerlendirilmemiştir.

Çalışmamızda NGF immunreaktivite düzeyi ile IPSS, ve Qmaks değerleri arasında bir ilişki bulunamadı. Zaten Steers'in çalışmasında da NGF'ye karşı otoimmunize edilmiş sıçanlarda NGF düzeyi artmamasına rağmen işeme sıklığı artmış olarak bulunmuştur. Bu da mesane çıkım obstrüksiyonunda artmış mesane aktivitesinden, başka trofik faktörlerin sorumlu olabileceğini düşündürmektedir¹⁵. Bütün nöronlar NGF tarafından desteklenmezler. Beyin kaynaklı büyüme faktörü (BDNF), siliar nörotrofik faktör (CNTF), nörotrofin-3 (NT-3), ve nörotrofin-4/5 gibi diğer nörotrofik faktörler rol oynayabilir^{22,23}.

Bu çalışmanın başka bir amacı da, insan mesanesinde obstrüksiyon sonucu gelişen fonksiyonel ve nörotrofik değişikliklerin ameliyat sonrası gerileyip gerilemediğini araştırmaktır. Obstrüksiyona yönelik tedaviden 4 ay sonra IPSS ve Qmaks değerleri normale döndü. NGF reseptör immunreaktivitesinde ameliyat öncesi biyopsiler ile ameliyat sonrası biyopsiler karşılaştırıldığında azalma saptanmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Steers'in sıçan çalışmasında obstrüksiyon giderildikten sonra NGF seviyesi düşmesine rağmen kontrol seviyelerinin üstünde kalmıştır¹⁵. Bunun nedenlerinden bir tanesi nöral değişiklikler ve NGF seviyesinde azalmanın daha uzun bir süreye ihtiyaç duyması olabilir.

NGF'nin obstrüksiyon sonrası mesanede olan değişiklikler ile ilişkisine dair güçlü kanıtlar vardır fakat bunlar hayvan deneylerinden elde edilmiş verilerdir. Sıçanlardaki parsiyel üretral ligasyon modeli ile insanlardaki alt üriner sistem obstrüksiyonu patolojisi arasında farklılıklar mevcut olabilir. Ayrıca sıçan ve insan mesanesinin obstrüksiyona karşı verdiği cevap mekaniz-

maları arasında da farklılıklar vardır. Çalışmamızda, insan mesane çıkım obstrüksiyonu sonrası oluşan mesane değişikliklerinde NGF'nin rolünü tespit etmeye çalıştık fakat buna dair herhangi bir kanıt bulamadık. İnsanda obstrüksiyon sonrası nöral yollarda ve detrusörde olan değişikliklerde NGF dışında başka bir ajan aramak yada sensitivitesi daha yüksek başka bir yöntem uygulayarak daha fazla hasta içeren bir çalışma yapmak daha faydalı olabilir.

KAYNAKLAR

- 1- **Steers WD, De Groat WC:** Effect of bladder outlet obstruction on micturition reflex pathways in the rat. *J Urol.* 140: 864-71, 1988.
- 2- **Steers WD, Ciambotti J, Etzel B, et al:** Alterations in afferent pathways from the urinary bladder in response to partial urethral obstruction. *J Comp Neurol.* 310: 401-10, 1991.
- 3- **Levin R, Longhurst P, Manson F, et al:** Effect of bladder outlet obstruction on the morphology, physiology, and pharmacology of the bladder. *Prostate (Suppl).* 3: 9-26, 1990.
- 4- **Creedon DJ, Tuttle JB:** Nerve growth factor synthesis in vascular smooth muscle. *Hypertension.* 18: 730-35, 1991.
- 5- **Furukawa S, Furukawa Y, Satoyoshi E, et al:** Nerve growth factor secreted by mouse heart cells in culture. *J Biol Chem.* 259:61, 1984.
- 6- **Furukawa S, Furukawa Y, Satoyoshi E, et al:** Synthesis and secretion of nerve growth factor by mouse astroglial cells in culture. *Biochem Biophys Res Commun.* 136: 57-61, 1986.
- 7- **Johnson EM, Gorin PD, Brandeis LD, et al:** Dorsal root ganglion neurons are destroyed by exposure in utero to maternal antibody to nerve growth factor. *Science.* 210: 916-18, 1980.
- 8- **Barker PA, Lomen-Hoerth C, Gensch EM, et al:** Tissue specific alternative splicing generates two isoforms of the trkA receptor. *J Biol Chem.* 268: 15150-157, 1993.
- 9- **Persson K, Herrel D, Tuttle JB, et al:** Regulation of NGF secretion by urinary tract smooth muscle cells. *J Urol.* 157: 2000-6, 1997.
- 10- **Rohner TJ, Jr, Hannigan JD, Sanford EJ:** Altered in vitro adrenergic responses of dog detrusor muscle after chronic bladder outlet obstruction. *Urology.* 11: 357-61, 1978.
- 11- **Abrams P, Cardozo L, Fall M, et al:** The standardization of terminology of lower urinary tract function. *Neurourol Urodyn;* 21: 167-78, 2002.
- 12- **Saggiorato E, Cappia S, De Giuli P, et al:** Galactin-3 as a presurgical immunocytochemical marker of minimally invasive follicular thyroid

- carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 86: 5152-58, 2001.
- 13- **Elbadawi A, Meyer S, Malkowicz SB, et al:** Effects of short term partial bladder outlet obstruction on the rabbit detrusor: An ultrastructural study. *Neurourol Urodyn.* 8: 89-116, 1989.
 - 14- **Steers WD, Ciambotti J, Erdman S, et al:** Morphological plasticity in efferent pathways to the urinary bladder following urethral obstruction in the rat. *J Neurosci.* 10: 1943-51, 1990.
 - 15- **Steers WD, Kolbeck S, Creedon D, et al:** Nerve growth factor in the urinary bladder of the adult regulates neuronal form and function. *J Clin Invest.* 88: 1709-15, 1991.
 - 16- **Wein AJ:** Bladder outlet obstruction. An overview. *Adv Exp Med Biol.* 385: 3-5, 1995.
 - 17- **Tuttle JB, Steers WD, Albo M, et al:** Neural input regulates tissue NGF and growth of the adult urinary bladder. *J Autonom Nerv Sys.* 49: 147-58, 1994.
 - 18- **Albo M, Nataluk L, Steers W, et al:** Morphological functional and neurotrophic alterations in partially decentralized and denervated bladders. *J Urol.* 145: 308A, 1991.
 - 19- **Wakabayashi Y, Tomoyoshi T, Tooyama I, et al:** Low affinity nerve growth factor receptor immunoreactivity in the human urinary bladder. *Neurosci Lett.* 186: 9-12, 1995.
 - 20- **Tanner R, Chambers P, Khadra MH, et al:** The production of nerve growth factor by human bladder smooth muscle cells in vivo and in vitro. *BJU Int.* 85: 1115-19, 2000.
 - 21- **Steers WD:** Neuroplasticity secondary to infravesical obstruction. *Neurourol Urodyn.* 9: 559-61, 1990.
 - 22- **Davies AM, Horton A, Burton LE, et al:** Neurotrophin-4/5 is a mammalian specific survival factor for distinct populations of sensory neurons. *J Neurosci.* 13: 4961-67, 1993.
 - 23- **Tuttle JB, Steers WD:** Nerve growth factor responsiveness of cultured major pelvic ganglion neurons from the adult rat. *Brain Res.* 588: 29-40, 1992.