

**T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**SİGARA DUMANINA MARUZ BIRAKILAN SIÇANLARDA SİGARANIN
PROSTAT ÜZERİNE ETKİLERİ**

Dr. Mehmet Hanifi TANYERİ

**ÜROLOJİ
UZMANLIK TEZİ**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Y. OğuzACAR

**Üroloji Anabilim Dalı Başkanı
Prof. Dr. Ali GÖKALP**

Sayı: AEK 139/12

Proje No: 91

KOCAELİ

2006

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sırasında klinik ve cerrahi deneyimi yanısıra, üroloji etik ve kültürünü bizlere yansıtan, Anabilim Dalı Başkanımız **Sayın Prof. Dr. Ali Gökalp'e**

Tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan ve mesleki birlikteliğimiz boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım **Sayın Doç. Dr. Y. Oğuz Acar'a**

Eğitimim süresince yetişmemde emeği olan, deneyimleri ile yol gösteren, benden bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen **Sayın Prof. Dr. Özdal Dillioğlugil, Prof. Dr. Melih Çulha, Prof. Dr. A. Sıtkı Özdamar, Prof. Dr. Nazım Mutlu ve Doç. Dr. Cüneyd Özkürkçügil'e**

Tezimin İn vitro çalışmalarında emeğini esirgemeyen ve ayrıca tezin her safhasında manevi destek sağlayan Farmakoloji Araştırma Görevlisi sevgili eşim **Dr. Pelin Tanyeri'ye**

Tezimin histopatolojik incelemeler bölümüne özenli çalışmalarıyla katkıda bulunan Patoloji A.D. öğretim üyesi **Sayın Prof. Dr. D. Kürşat Yıldız'a** ve özverili çalışması nedeni ile patoloji teknisyeni **Emel Özden'e**

Ayrıca beş yıl süren uzmanlık eğitimim sırasında birlikte çalıştığımız anabilim dalımızdaki araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Saygılarımla

Dr. M. Hanifi Tanyeri

İÇİNDEKİLER

1	KISALTMALAR	3
2	DİZİNLER	4
	2.1 ŞEKİLLER DİZİNİ.....	4
	2.2 TABLOLAR DİZİNİ.....	5
3	GİRİŞ	6
4	GENEL BİLGİLER	8
	4.1 SİGARA DUMANIN İNCELENMESİ.....	8
	4.1.1 DUMAN-GAZ FAZİ BİLEŞİKLERİ.....	8
	4.1.2 TANECİKLİ FAZ.....	9
	4.1.3 SİGARANIN MUTAJENİK VE KARSİNOJENİK ETKİSİ.....	12
	4.2 NEOPLAZİ.....	14
	4.2.1 ONKOGENLER.....	15
	4.2.2 TÜMÖR SUPRESÖR GENLER.....	17
5	GEREÇ VE YÖNTEM	19
	5.1 GRUPLAR.....	19
	5.2 SİGARAYA MARUZ BIRAKMA DÜZENEGİ.....	19
	5.3 SİGARA MARUZİYETİ.....	20
	5.4 CERRAHİ İŞLEM.....	23
	5.5 SERUM KOTİNİN SEVİYESİ ÖLÇÜMÜ.....	26
	5.6 PROSTATIN PATOLOJİK İNCELENMESİ.....	27
	5.7 İN VİTRO PROSTAT KASILMA YANITLARININ İNCELENMESİ.....	27
	5.8 İSTATİSTİK.....	28
6	BULGULAR	29
	6.1 PATOLOJİK İNCELEME.....	29
	6.2 İN VİTRO PROSTAT KASILMA CEVAPLARI.....	35
	6.3 DENEY SONU ÖLÇÜLEN HEMOGLOBİN VE KOTİNİN DEĞERLERİ.....	37
7	TARTIŞMA	38
8	SONUÇLAR VE ÖNERİLER	43
9	ÖZET	47
10	ABSTRACT	48
11	KAYNAKLAR	49

1 KISALTMALAR

DHT	: Dihidrotestosteron
BPH	: Benign prostat hiperplazisi
ADP	: Adenozin difosfat
PGI₂	: Prostaglandin I ₂
TA₂	: Tromboksan A ₂
AÜSS	: Alt üriner sistem semptomları
DNA	: Deoksiribonikleik asit
CYP	: Sitokrom p450
NNK	: 4-(methylnitrosamino)-1-(3-ridyl)-1-butanone
NNAL	: 4-(methylnitrosamino)-1-(3-ridyl)-1-butanol
M	: Molar
mM	: Milimolar
Kb	: Karbakol
Fen	: Fenilefrin
KCl	: Potasyum klorür

2 DİZİNLER

2.1 ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 : Modifiye Walton sigara dumanına maruz bırakma düzeneği

Şekil 2 : Modifiye Walton sigara dumanına maruz bırakma düzeneğinin şematik çizimi

Şekil 3 : Sıçanların sigara dumanına maruz bırakıldığı düzenek

Şekil 4 : Sıçanların sigara dumanına maruz bırakıldığı düzenek

Şekil 5 : Sigara dumanı üretim odası

Şekil 6 : Sıçan mesane, prostat ve seminal vezikül şematik gösterimi

Şekil 7 : Sıçan genitoüriner sistem (şematik)

Şekil 8 : Sıçan prostatının çıkartılması

Şekil 9 : Sıçan genital ve alt üriner sistemi

Şekil 10: Prostat dorsolateral şerit hazırlanması

Şekil 11: Prostat dorsolateral şeritler ve venral lob

Şekil 12: Kontrol grubu Hemotoksilen-Eosin boyama

Şekil 13: Sigara grubu Hemotoksilen-Eosin boyama

Şekil 14: Sigara grubu p53 immunohistokimyasal boyama

Şekil 15: Sigara grubu c erb B2 immunohistokimyasal boyama

Şekil 16: Sigara grubu bcl-2 immunohistokimyasal boyama

Şekil 17: Sigara grubu siklin D immunohistokimyasal boyama

Şekil 18: 10^{-8} - 10^{-4} M Karbakolün sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlar ve kontrol grubu sıçanlarda prostat dorsolateral şerit kasılma cevabı

Şekil 19: 10^{-8} - 10^{-4} M Fenilefrinin sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlar ve kontrol grubu sıçanlarda prostat dorsolateral şerit kasılma cevabı

Şekil 20: 80mM KCl a sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlar ve kontrol grubu sıçanlarda prostat dorsolateral şerit kasılma cevabı

Şekil 21: Sigara dumanına maruz bırakılan grup ve kontrol grubu ortalama hemoglobin değerleri

2.2 TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1 : Sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarla kontrol grubu asiner dilatasyon istatistik tablosu

Tablo 2 : Sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarla kontrol grubu asiner atrofi istatistik tablosu

Tablo 3 : Sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarla kontrol grubu fokal atrofi istatistik tablosu

Tablo 4 : Sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarla kontrol grubu Köpüksü hücre istatistik tablosu

Tablo 5 : Sigara dumanına maruz bırakılan grupta Kan Kotinin Değerleri

3 GİRİŞ

Sigara kullanımı her geçen gün dünyada ve özellikle Türkiye’de artan önemli bir sorundur. Sigara başta akciğerler olmak üzere diğer organlara da kötü etkileri nedeni ile genel sağlığı bozar. Bir çok hastalıkla ve kanserle birlikteliği gösterilmesine ve tüm dünyada sigara karşıtı kampanyalar düzenlenmesine rağmen tüketimi devamlı artmaktadır. Türkiye’de 17 milyon kişinin sigara kullandığı tahmin edilmektedir. Sigara ürolojik kanserlerde ve özellikle transizyonel hücreli kanserde önemli bir etyolojik neden olarak karşımıza çıkar¹.

Sigaranın çeşitli kanserlerle birlikteliği araştırılmıştır. Akciğer, larinks, mesane, ösefagus, pankreas, böbrek, renal pelvis, oral, faringeal, mide ve endometrial kanser ile ilişkisi tespit edilmiştir². Lösemi, karaciğer, serviks, adrenal bez, ince barsak, nazal sinüs ve çocukluk çağı kanserlerinin (lösemi, santral ve sempatik sinir sistemi tümörleri, lenfomalar, yumuşak doku sarkomları) ise sigara ile birlikteliği muhtemeldir. Lenfoma, prostat, testis, deri, tiroid, over, ve santral sinir sistemi kanserleri gibi bazı kanserlerin ise sigara ile aralarında ilişki henüz bulunamamıştır². Prostat kanseri için yapılan çalışmalarda ilişkisinin olmadığını kanıtlayacak gösterecek bir delil de yoktur. Bunlardan bazıları ile çok fazla sayıda çalışma yapıldığı için küçük ayrıntılara kadar incelenmiş, prostat kanseri gibi bazılarında ise yeterli sayıda çalışma olmaması ve çelişkili sonuçlar nedeni ile ilişki gösterilememiştir. Sigara ile ilişki tam olarak değerlendirilemeyen kanserler için daha geniş ve fazla sayıda sonuca ihtiyaç vardır. Sigara ile BPH ve prostat kanseri arasında ilişki olabileceği bir çok araştırmacı tarafından belirtilmiştir³⁻⁵. Bazı çalışmalarda prostat kanseri ile sigara kullanımı arasında pozitif bir ilişki olduğunu söylenirken⁶⁻⁸, bazılarında prostat kanseri insidansını etkilemediğini ama mortalitesini artırdığı gösterilmiştir^{9,10}.

Sigaranın vücutta bir takım fonksiyonel etkileri vardır ve bu etkiler özellikle içeriğinde bulunan nikotine bağlıdır. Sigara genellikle sempatik ve parasempatik ganglionlardaki nikotinik reseptörleri ve özellikle düz kasları etkileyerek birçok organda fonksiyonel değişikliklere neden olur. Örneğin düşük dozlarda nikotin bradikardi ve hipotansiyon yaparken; dozu artırıldığında taşikardi ve hipertansiyona yol açar.

Sigara, vücutta ve özellikle prostatta testosteron ile DHT seviyelerini artırırken östrojen seviyelerini azaltır. İntraprostatik testosteron ve testosteronun daha aktif formu olan DHT artışı prostat kanseri gelişimine ve/veya mevcut kanserin daha agresif davranmasına neden olur^{6,11,12}.



4 GENEL BİLGİLER

Sigaranın yanması ile dörtbinden fazla madde ortaya çıkar. Bu maddelerin inhalasyonu ile vücut sağlığı üzerine birçok olumsuz etkiler meydana gelir¹³. Bu maddelerin etkileri ve etki mekanizmaları aşağıda belirtilmiştir.

4.1 SİĞARA DUMANININ İNCELENMESİ

Sigara dumanı aerosoldür. Çapları 0.3-1 µm arasında değişen mililitre başına 4×10^9 dolayında tanecik içerir. Sigara başına dumanda 10-80 mg tanecikli madde bulunur. Sigara dumanı, gaz fazı ve tanecikli faz olarak iki kısımda incelenebilir¹³.

DUMAN-GAZ-FAZI BİLEŞİKLERİ

4.1.1.1 KARBONMONOKSİT

Tütünde yer alan organik bileşiklerin kısmi oksidasyonu sonucu oluşur, renksiz ve kokusuzdur. Sigara dumanında yaklaşık %2.9-5.1 oranında bulunur. Kanda hemoglobin demirine bağlanarak karboksihemoglobin oluşturur. Bu durum hemoglobinin dokulara oksijen bırakma kapasitesini azaltır. Hemoglobinin karbonmonoksit ile ilgisi, oksijene olan ilgisinden 220 defa daha fazladır. Sigara içmeyenlerde karboksihemoglobin seviyesi %0.5-1 bulunmuşken, sigara içenlerde %1-20 bulunmuştur¹³.

4.1.1.2 KARBONDİOKSİT

Karbondioksitin hemoglobine bağlanması oksijene ilgisini azaltır¹³.

4.1.1.3 AZOT OKSİTLERİ

Sigara dumanı 500 ppm kadar nitrik oksit içerir. Nitrik oksit kanda methemoglobin oluşturur¹³.

4.1.1.4 UÇUCU NİTROZ AMİNLER

Karsinojendirler¹³.

4.1.1.5 HİDROJEN SİYANÜR

Hücre solunumunu ve anjiogenezi inhibe eder. Hidrojen siyanid, tiosiyanata dönüşür ve birçok respiratuar enzimin inhibitörüdür, bu da hücre seviyesinde oksijen transportunu ve oksidatif metabolizmayı olumsuz etkiler. Ayrıca çok güçlü siliotoksik ajandır, ve katranın uzaklaştırılmamasına neden olur. Sigara içilirken her inspiyumda akciğerlere giren duman içinde 6-32 µg kadar hidrojen siyanid vardır¹³.

4.1.1.6 KÜKÜRT İÇEREN UÇUCU BİLEŞİKLER

Sigara dumanının gaz fazında yer alan kükürt dioksit nikotin, asetaldehit ve formaldehit gibi alkol ve laktik dehidrojenazın inhibisyonuna neden olmaktadır¹³.

4.1.1.7 ALKOLLER

Uçucu fenoller (fenol ve krezol) bulunur ve karsinojen etkileri vardır.

Aldehitler ve ketonlar (Asetaldehit, formaldehit ve akrolein)¹³.

4.1.1.8 DUMAN-GAZ-FAZINDA YER ALAN RADİKALLER

Duman-gaz-fazı her nefeste 10'dan fazla düşük moleküllü karbon ve oksijen merkezli radikal içerir¹³⁻¹⁶.

TANECİKLİ FAZ

4.1.1.1 KATRAN

1. İçlerinde bazıları potent karsinojen olan polisiklik aromatik hidrokarbonları içermektedir.

2. Katranda, uçucu olmayan çeşitli aromatik nitrozaminler ve aromatik aminlerde yer almaktadır.

3. Metalik iyonlar; örneğin kadmiyum, nikel, arsenik bileşikleri sigara dumanında yer almaktadır.

4. Radyoaktif bileşikler; polonyum-210; toryum-232; potasyum-40, stronsyum-90, radyum, sezyum-137, mangan-54 gibi.

5. Katran radikalleri; sigara katranının sulu ekstraktı düşük-molekül ağırlıklı kinon-hidrokinon-semikinon sistemini içerir¹³.

4.1.1.2 NİKOTİN

1-Metil-2-(3-pridil) pyrolidin yapısında olan nikotin alkaloid yapıda renksiz, uçucu bir sıvıdır¹³.

Renksiz, uçucu bir bazdır. Suda kolay çözünür. Sigara başına tüketilen tütün miktarı genelde 0.7-1.0 g olup 17 mg nikotin içerir. Nefesle alınan miktarı 0.2-3.5 mgdır¹³.

Sigara dumanındaki nikotin katranın ufak tanecikleri üzerinden ayrılır ayrılmaz hızla akciğer tarafından absorbe edilir. Sigara içildikten sonra nikotinin plazmadaki en yüksek değeri 25-50 ng/ml' dir. Yarılanma süresi 30-60 dk.dır¹³.

Sigara şeklinde kullanılması sonrası, absorpsiyon alanı çok geniş olan akciğerlerden süratle absorbe olarak dolaşıma geçer. Absorbe olan nikotinin yaklaşık %80-90 kadarı karaciğerde, az bir kısmı akciğer ve böbreklerde metabolize edilir, %10-20 kadarı da böbreklerden değişmeden atılır. Karaciğerde major metaboliti olan kotinine dönüşür. Uzun süreli sigara içenlerde nikotinin eliminasyon yarı ömrü yaklaşık iki saat kadardır. Ana metabolit olan kotininin yaklaşık ondokuz saatlik yarılanma ömrü vardır¹⁷.

Nikotin, hedef hücrelerde bulunan nikotinik tipteki kolinerjik reseptörleri aktive ederek etki yapar. Nikotinik reseptörler nöronal ve müsküler olmak üzere iki alt gruba ayrılır¹⁷.

Ufak dozlarda verildiğinde kalpdeki parasempatik ganglionların aktive edilmesiyle bradikardi ve hipotansiyon yapar. Doz artırıldığında kalp atım sayısında artma ve hipertansiyona neden olur. Taşikardi ve hipertansiyonun gelişmesi;

1- Sempatik ganglionların uyarılması

2- Adrenal medüllada kromafin hücrelerin uyarılması sonucu katekolamin salınmasının artırılması

a) Aorta ve karotid arterler üzerindeki kemoreseptörlerin stimüle edilerek vazomotor merkezin aktivasyonu

b) Adrenerjik sinir uçlarından norepinefrin salıverilmesinin artırılması gibi etkiler sonucu ortaya çıkar¹⁷.

Cilt damarlarını daraltan nikotin, çizgili kas damar yataklarında gevşetici etki gösterir¹⁷.

Nikotin lipid metabolizması ile ilgili etkilere de sahiptir. Sempatoadrenal sistemin uyarılması lipolizi aktive eder. Bunun sonucu olarak plazmada serbest yağ asiti, çok düşük dansiteli lipoprotein ve düşük dansiteli lipoprotein düzeyleri yükselir, yüksek dansiteli lipoprotein düzeyi ise düşer. Mikhailidis ve ark., kronik sigara içenlerde serum nonesterifiye yağ asitlerinin arttığını göstermişlerdir. Nonesterifiye yağ asitleri prostasiklin yıkımını çabuklaştırır, prostasiklin üretimini azaltır ve trombosit aktivasyonunu artırır¹⁸⁻¹⁹.

Sigara içimi süperoksid anyonları oluşturur ve bu da endotelden salgılanan nitrik oksite bağlı damar gevşemesini bozar. Endotelial korumanın kaybı, doğal antikoagülasyon ve antispazmodik fonksiyonun bozulması ile endotele bağlı damar gevşetici faktörler görev yapamaz¹⁴⁻¹⁶.

Sigara, damar duvarlarında daralmaya ve geçirgenlikte azalmaya, bu durum ise nötrofillerin migrasyonunun bozulmasına yol açmaktadır. Aynı zamanda nötrofil kemotaksisini inhibe etmekte, hücre membranını paralyze etmektedir²⁰.

Ayrıca sigara içmenin vasküler endotele zarar verdiği ve endotelial hasarında aterosklerozun gelişmesinde birinci sebep olduğu gösterilmiştir. Sigara içimi diğer taraftan koroner damar tıkaçıcı faktörlerden, trombosit agregasyonunu, vazomotor reaktiviteyi, protrombotik durumu aktive eder ve fibrinojen seviyesini, plazma vizkositesini artırır²¹.

Sigara kullananlarda nötrofil sayısı sigara dumanına maruz kalma ile orantılı olarak artış gösterir¹⁹. Hemoglobin ve hematokrit yükselir, eritrosit, lökosit, nötrofil, lenfosit ve trombosit sayıları artar²²⁻²⁶.

Sigaranın başlıca trombotik potansiyeli artırma mekanizmaları; ADP ile indüklenen trombosit agregasyonunda artma, plazma fibrinojen düzeyinde artma, plazminojen ve plazminojen aktivatör düzeylerinde azalma olarak sıralanmaktadır. Bu durum hiperkoagülopatiyeye neden olur²².

Sigara başlı başına vazospastik ajan olmasının yanı sıra ateroskleroza da sebep olur^{27,28}.

Sigaranın kronik kullanımında vücudun reaktif olarak hemoglobin üretimindeki artış; kemik iliğinde diğer kan hücrelerinin üretiminde artışa yol açar. Bu durum hiperkoagülobuliteye neden olur²⁰.

Karbonmonoksit damar endotelinin lipidlere geçirgenliğini artırır. Bu durum önemlidir; zira nikotin kandaki serbest yağ asiti seviyelerini yükseltir ve dolayısıyla yağların atipik bölgelere depolanma riski artar. Birnstingl ve ark. (1971), karbonmonoksitin trombosit adhezyonunu artırdığını bildirmişlerdir. Nikotin, en güçlü trombosit agregasyon inhibitörü olan PGI₂ sentezini azaltır. Bu durum reaktif olarak TA₂ üretimini artırır. Böylece vücutta tromboz riski artar. Hawkins (1972), Davis and Davis (1979) sigara içimi ile trombosit agregasyonun arttığını yaptıkları araştırmalarda göstermişlerdir^{18,29}.

Sigaranın vazokonstriksiyona yol açtığı bilinmektedir²¹.

Cryer ve ark. (1976) sigara içimi ile sirkülasyondaki epinefrin ve norepinefrin seviyesinin arttığını göstermiştir³⁰.

Sigara içimi oksitleyici stres ortaya çıkarır ve endotel fonksiyon bozukluğuna yol açar. Endotelial fonksiyon bozukluğu, arteriyel gevşeme ile kontraksiyon faktörleri arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır. Murohara ve ark., sigara içiminin süperoksit anyonların aktivasyonu ile endotelial hücrelerde nitrik oksit rezervlerini tükettiğini göstermişlerdir. Sigara içimi uzun ömürlü serbest radikallerine örn. kinon/hidrokinon komplekslerine özellikle katran fazında kaynak sağlar, moleküler oksijen süperoksit anyonları üretir. Gaz fazında nitrik oksidin yüksek etkili nitrojen dioksit dönüşümü devam eder¹⁴⁻¹⁶.

SİGARANIN MUTAJENİK VE KARSİNOJENİK ETKİSİ

Sigaranın karsinojenik ve mutajenik etkileri günümüzde sayısı 55'e kadar yükselmiş olan içeriğindeki kanserojen maddeler sayesinde ortaya çıkmaktadır. Bunlar poliaromatik hidrokarbonlar, aza-arenler, nitrosaminler, aromatik aminler, aldehitler, organik ve inorganik bileşiklerdir³¹. Bu maddeler özellikle poliaromatik hidrokarbonlar ve Nitrozaminin metabolitleri DNA'ya kovalent bağlar ile bağlanmakta (guanin ve adenin baz bölgeleri) ve DNA'nın bu haline DNA-adducts

denilmektedir. DNA-adducts, sigaranın metabolitlerinin DNA'ya bağlanarak oluşturduğu artık DNA'yı ifade etmektedir. Böylece, DNA'nın başlangıç fazı irreversibl olarak bölünmekte ve DNA'daki bu değişiklik ilerleme fazına geçildiğinde malign fenotipe dönüşümün ilk basamağını oluşturmaktadır³². DNA'ya bağlanan toksik bileşiklerin seviyesi, maruz kalınan biyolojik genotoksik etkenin dozu ile ilişkilidir. Sigara içenlerin oral kavite, akciğer, bronş ve diğer organların hücrelerinin DNA'da sigaranın meydana getirdiği bazı artık maddelere rastlanmış olması, bu sistem kanserlerinin oluş mekanizmalarını anlamamızda önemlidir¹.

Sigara, onkogenleri aktive etmekte ve kanser baskılayıcı genleri süprese etmektedir. Bunun yanı sıra onkogen veya tümör baskılayıcı gen sisteminde 10-20 arasında mutasyon oluşturduğu ve buna bağlı akciğer kanseri geliştirdiği düşünülmektedir. Poliaromatik hidrokarbonların metaboliti olan benzo(a)piren diol epoxid insan kanser hücresinde, tümör baskılayıcı genlerden p53 geninin 157, 248 ve 273 lokulasyonlarında sıcak nokta mutasyonlarına yol açtığı gösterilmiştir ve sigara içen akciğer kanseri hastalarda p53 antikoru saptanmıştır³³. benzo(a)piren diol epoxid, guaninin N2 bölgesinden DNA'ya bağlandığında bu durum düzeltilmediğinde DNA polimeraz tarafından replikasyon sırasında yanlış okunmaya yol açar ve bu %70 sıklıkla Guanin bazının Timin bazına transversiyonu ile sonuçlanır³⁴. Sigaraya bağlı akciğer kanserinde, G:T transversiyon oranı %30 iken, diğer organ kanserlerinde %10 oranındadır³⁵. Benzer şekilde ürotelial, gastrointestinal, oral ve epitelial kanser oluşumunda p53 genindeki poliformizmine işaret eden çalışmalar mevcuttur³⁶⁻³⁷. Matsuzoe ve ark. yaptığı başka bir çalışmada yoğun sigara içen akciğer adenokanserli hastalarda K-ras onkogen mutasyonlarının, glutatyon S-transferaz null enzim eksikliği ile birlikte olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur³⁸.

Sigarada bulunan poliaromatik hidrokarbonlar ve nitrozamin, sitokrom P450 (CYP) enzimi ile aktive olmakta ve genotoksik etkileri bu şekilde açığa çıkmaktadır. Özellikle CYP1A1, CYP3A4, CYP3A5, CYP1B1 ve CYP2E1 enzimleri bu aktif metabolitlerin açığa çıkmasında önemli rol oynamaktadır³⁹. Glutatyon S transferaz M1 enzimi ise, poliaromatik hidrokarbonların aktif metobolitlerinin detoksifikasyonunda önemli rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada, glutatyon S-

transferaz T1 eksikliği olan yoğun sigara içicilerde akciğer kanseri gelişme riski üç kat fazla bulunmuştur⁴⁰.

Sigaranın içinde bulunan nitrozamin 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pridyl)-1-butanone (NNK) deney hayvanında akciğer kanseri oluşturması, akciğer kanserli hastaların akciğer dokusunda tespit edilmesi önemlidir. NNK vücutta metaboliti olan 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pridyl)-1-butanol (NNAL)şekline dönüşür. NNK/ NNAL oranındaki değişiklik organa özel kanserojenik etkisinde önemli rol oynamaktadır⁴¹.

4.2 NEOPLAZİ

Neoplazinin sözcük anlamı yeni büyümedir. Willis neoplaziyi “Normal dokuları aşan, onlarla koordine olmayan ve değişime yol açan uyarı durduktan sonra bile aynı şekilde aşırı büyümeye devam eden anormal bir doku kütlesi” şeklinde tanımlamıştır¹. Tümör hücreleri de dahil olmak üzere tüm hücreler mitoz ile çoğalır. Ancak bu çoğalma normal hücrelerde genetik olarak kodlanmış, çok duyarlı bir kontrol mekanizmasına sahiptir. Tüm neoplazilerin temelinde normal büyüme kontrollerine verilen yanıtın kaybolması bulunur.

Son 20 yılda moleküler düzeyde yapılan çok sayıda çalışma, tümör gelişiminin başlıca iki tür genin, yani proto-onkogenler ve tümör süpresör genlerinin mutasyona uğramasına bağlı olduğunu ortaya koymuştur. Proto-onkogenler normal şartlarda hücre siklusunun devamı için gereklidir, ancak çeşitli mekanizmalar ile ekspresyonlarının artmaları ve hücre içi kontrol mekanizmalarına refrakter hale gelmeleri sonucunda *onkogenlere* dönüşerek aşırı hücre bölünmesine yol açmaktadırlar. Tümör süpresör genleri ise ya dolaylı olarak ya da doğrudan hücre bölünmesini denetlerler. Tümör süpresör genlerdeki mutasyonlar neticesinde bu etkilerini yitirirlerse yine aşırı hücre proliferasyonu ortaya çıkabilir^{42,43}. Ancak bu durumun ortaya çıkabilmesi için bir tümör süpresör geninin her iki allelinin de etkilenmesi gerekir. Bu olay Knudson‘ın 1971 yılında herediter retinoblastoma‘ya ilişkin istatistiksel gözlemleri ve daha sonraki yıllarda moleküler çalışmaların da gösterdiği gibi onkogeneze sırasında bir tümör süpresör geninin önce bir, daha sonra

da ikinci alleli nokta mutasyonu, gen delesyonu ya da imprinting gibi mekanizmalarla inaktive olmaktadır⁴⁴.

4.2.1 ONKOGENLER

Normal hücrelerde, hücrenin büyümesi, farklılaşması yani yaşamı için gerekli olan ve onkogenlerin kökenini oluşturduğu düşünülen genler vardır. Bu genler büyüme faktörlerinin ve bunların reseptörleri olarak hücre zarı üzerinde etki gösteren proteinlerin bilgisini taşırlar. Bunlara **protoonkogen** (hücrel onkogenler) adı verilir. Protoonkogenlerin varlığını ilk kez Michel Bishop ve Harold Varmus omurgalıların genomunda buldular. Retroviral onkogenlerin orijinleri hakkındaki bu buluşları ile fizyoloji ve tıp alanında 1989 NOBEL ödülünü aldılar. Onkogenler ilk virüslerde tespit edildiği için v-onc ismi verilmiştir. İlerleyen araştırmalarda kedi sarkomasında bulunana v-fes, maymun(simian) sarkomasında bulunana ise v-sis adı verilir. Daha sonraki çalışmalarda bu viral genlerin insan genomunda bulunan bazı gen dizelerine benzediğinin bulunması ile yeni bir boyut kazanmıştır¹.

Bu genlerin kodladıkları proteinlerin yer ve işlevine göre incelendiğinde

- ✓ Büyüme faktörleri
- ✓ Büyüme faktörü reseptörleri
- ✓ Transdüserler
- ✓ Nükleer regülasyon proteinleri
- ✓ Hücre siklus regülasyonu yapanlar olarak beş gruba ayrılır. Bunların dışında bir de mitokondriyal onkogenler vardır¹.

Büyüme faktörleri

Normal hücrelerde büyümeyi uyaran birimler vardır. Bunlar reseptöre tutunarak hücre belirli bir büyüklüğe ulaşınca reseptörden ayrılarak görevini tamamlamış olur. İşlevini bitirince hücrel enzimler sayesinde hidroliz olur.

Onkogen ürünü olanlar reseptörden ayrılmayıp hücrenin devamlı büyümesine ve de dolayısıyla bölünmesine neden olurlar. Bu genlerden bazıları c-sis, k-fgf, FGF-3'mutant faktörleridir.

Büyüme faktörü reseptörleri

erbB, neu mutant GF (growth faktor)

ros, erbA mutant hormon reseptörü

C-myc mutant adhezyon molekülü

Reseptörlerden c-erb B-1 epidermal growth faktör reseptörünü, c-fms koloni stimulan faktör-1 reseptörünü kodlarken, c-neu gibi diğerleri bilinmeyen ligandlı reseptör benzeri proteinleri kodlar. Bu onkogen ürünleri, epidermal growth faktör olsun yada olmasın, hücrenin sürekli bölünmesini sağlayacak şekilde sinyaller oluşturabilir.

Sinyal ileten proteinler

mos, raf mutant serin protein kinaz

src, met mutant tirozin protein kinaz

ras mutant guanin bağlanma proteini

v-src onkogeni bir protein kinaz kodlar. Bu protein kinaz hücrenin iç yüzüne bağlanarak hücre proteinleri fosforile eder. Normal protein kinazlar proteinleri, treonin ve serin atıkları halinde fosforilasyon yaparlar. Kanserli hücrede tirozinle yapılıır. Tirozin kinaz ise normal hücrede bulunmayıp, olduğu taktirde hücrenin kontrolsüz bölünmesine neden olurlar. Sinyal ileten proteinlerin çoğu hücre membranında bulunur. Bunlardan c-ras onkogen aktivasyonu insanlarda görülen kanserlerde sık olarak görülür

Nükleer regülasyon proteinleri

<i>fos, jun</i>	mutant transkripsiyon faktörü
<i>myc, myb</i>	mutant inducer yada mutant enhancer
<i>RB</i>	anti-onkogen; denetim yolunun bazı evrelerinde bağlanmayı bloke eder.

DNA'nın çekirdekte belirli bir üç boyutlu yapısı vardır. DNA'nın ifade olması için normal hücrelerde işlevsel proteinler vardır. Kanser hücrelerinde ise bunlar onkogenlerdir ve DNA'ya bağlanarak onun devamlı bölünmesine neden olur. İnsan tümörlerinde bunlardan en sık c-myc ailesi ürünleri bulunur.

Hücre siklus regülasyonu

<i>Siklinler</i>	hücre siklusunda siklin D ve E G ₁ 'e, siklin A G ₁ 'e Siklin B G ₂ ve S fazında etki gösterir
<i>Siklin bağımlı kinaz</i>	siklinler ile eşleşerek onların etki göstermelerini sağlarlar

Mitokondriyal onkogenler

Bu grupta bcl-2 gen ailesi bulunur. Mitokondri membranına yerleşir ve normalde apoptozisi düzenleyici gen olarak bulunur. Diğer onkogenler gibi proliferasyon yapmaz, apoptozisi engelleyerek etki gösterir. Bu genin translokasyonu ile oluşan aşırı ekspresyonu foliküler B hücreli lenfomanın karakteristik bir özelliğidir.

4.2.2 TÜMÖR SUPRESÖR GENLER

Bu gruptaki genler normal hücre siklusunun devamını sağlayan genlerdir. Bu grupta örnek olarak p53, NF1, NF2, WT1, APC, BRCA1, BRCA2, Rb genlerini sayabiliriz.

1979 yılında, simian virüs (SV40) ile transforme edilmiş hücrelerde yapılan araştırmalar sırasında viral bir antijenle birlikte çöken bir protein keřfedilmiřtir⁴⁵. Sonradan p53 olarak adlandırılan bu proteinin, ilk çalışmalarda tıpkı onkogenlerin kodladığı onkoproteinler gibi hücre kültürlerinde hücreleri transforme edebilmesi önceleri onun da bir onkogen ürünü sanılmasına yol açmıştır. Daha sonraki çalışmalarda, proteinin yalnızca mutant şeklinin bu özelliği gösterdiği anlaşılmıştır. Kanseri dokusunda p53 mutasyonları ilk kez 1989 yılında kolon tümörlerinde saptanmıřtır⁴⁶. Bu tümörlerde, hem p53 geninin bulunduğu kromozom 17p13'deki allelik delesyon ve nokta mutasyonlarının Knudson'ın 1971 yılında retinoblastoma geni ile yaptığı çalışması sonucundaki hipotezi olan iki vuruş modeli ile uyumlu olması, hem de proteinin normal şeklinin hücre kültürlerinde transformasyonu baskılaması p53'ün başlangıçta sanıldığının aksine tümör süpresör aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Sonraki bir çok çalışmada p53'ün insan tümörlerinin en az yarısında (kolon, karaciğer, kemik, beyin, özefagus kanserleri) mutasyona uğradığı anlaşılmıştır. Hatta p53 insan tümörlerinde en sık mutasyona uğrayan gen dir⁴⁷⁻⁴⁹.

Diğer yandan, bazı tümörlerde ısrarlı araştırmalara rağmen p53 mutasyonu saptanamamaktadır. Örneğin malign melanomda p53 mutasyonu yoktur ya da nadirdir. Son zamanlarda, bu tümörde p53 ile aynı apoptotik mekanizmada rol alan Apaf-1 geninin mutasyona uğradığı anlařılmıřtır⁵⁰. Bu nedenle, p53 geninin „intakt“ görüldüğu tümörlerde bile, onunla aynı sinyal iletim yolunda yer alan başka moleküllerdeki defektlerin de p53 işlevini ortadan kaldırması söz konusu olabilir. Prostat kanserli hastalarda p53 pozitiflik oranı %0-80 arasında değişiklik göstermektedir⁵¹⁻⁵⁴.

5 GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Birimi (DETAB) bünyesinde yapıldı. Çalışma için 01.12.2004 tarihinde etik kurul ön onayı (AEK 139/12, Proje No: 91) alındıktan sonra 11. 02. 2005 tarihinde çalışmaya başlandı.

Çalışmaya DETAB bünyesinde ısı ve nem kontrollü odada, diüurnal ritm altında tutulan ağırlıkları 200-250 gr. arasında değişen 100 adet erkek Wistar-Albino cinsi sıçan dahil edildi.

5.1 GRUPLAR

Sigara grubu (n=40) : Sakrifiye edilmeden önce 8 hafta süresince sigara dumanına maruz bırakıldı.

Kontrol grubu (n=60) : Sakrifiye edilmeden önce 8 hafta süresince sigara grubu ile aynı ortamda tutuldu.

Sigara grubunda 1 sıçan çalışma sigara maruziyeti esnasında öldüğü için çalışma dışına alındı.

5.2 SİGARAYA MARUZ BIRAKMA DÜZENEGİ

Sıçanların sigara dumanını solumaları için Chen tarafından tanımlanan Walton'un modifiye edilmiş sigaraya maruz bırakma düzeneği esas alınarak özel bir düzenek yaptırıldı⁵⁵.

Chen'in tanımladığı düzenekte; birbiri ile bağlantılı üç adet bölme vardır. Birinci bölme sigara dumanının oluşturulduğu ve toplandığı *üretim bölümü*, ikinci bölme sigara dumanının seyreltildiği *seyreltme bölümü*, üçüncü bölme sıçanların sigara dumanına maruz bırakıldığı *maruziyet bölümü* olarak adlandırılır. Birinci ve üçüncü bölmenin hacmi 1 ise ikinci bölmenin hacmi 10' dur. İlk önce birinci bölümde yanan sigaranın dumanı toplanır ve buradan ikinci bölmeye geçirilirken 1/9

oranında oda havası ile seyreltilerek %10' luk sigara dumanı elde edilir. Sıçanlar maruziyet bölümünde %10' luk sigara dumanını teneffüs ederler. Bu üç bölüm arasında dumanı bir yerden diğerine sabit hızda geçirmek için hava pompaları kullanılır (Şekil 1). Chen, çalışmasında denek başına bir sigara kullanmıştır⁵⁵.

Bu düzenekteki hacimler ve sabit akım esas alınarak bir düzenek yaptırıldı. Maruziyet odasına bir seferde altı sıçanın rahatlıkla konulabileceği, ortalama ağırlığı 250 gr. olan bir hayvanın yaklaşık hacmi esas alınarak hesaplandı ve 28 litrelik dört adet soluma odası, yine 28 litrelik sigara yanma odası ve %10' luk seyreltmeyi sağlayacak 280 litrelik seyreltme odası imal edildi. (Şekil 2)

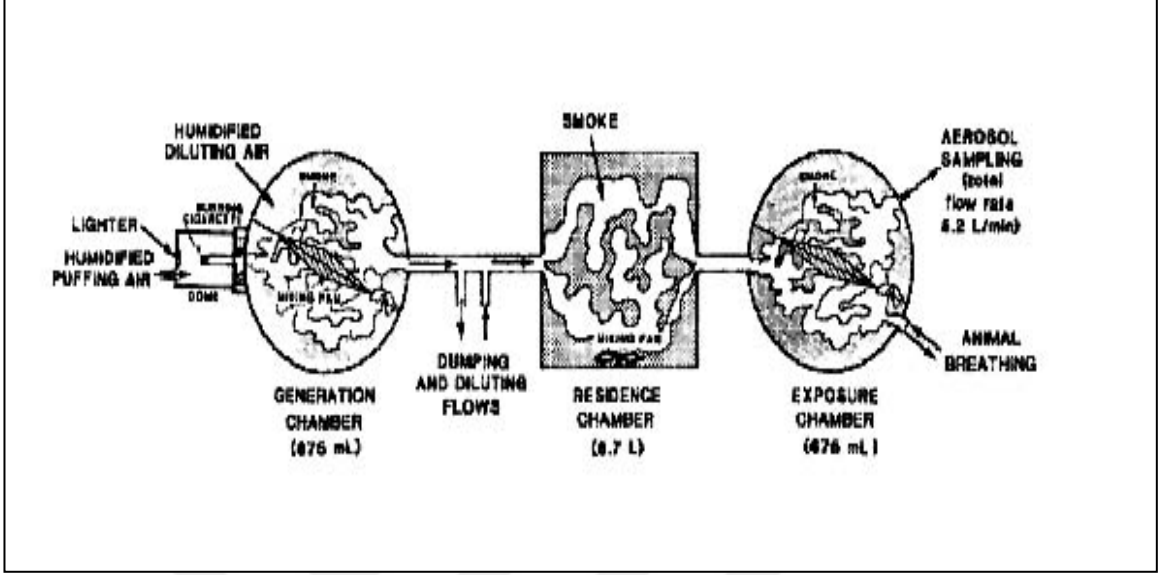
Sigara dumanı üretim ve maruziyet odaları, yüksekliği 20 cm., genişliği 28 cm., uzunluğu 50 cm. olacak şekilde ve seyreltme odası da genişliği ve uzunluğu 65 cm., yüksekliği 66.2 cm. olacak şekilde suntalam kullanılarak hava kaçağı olmayacak biçimde tasarlandı. Her bir bölme hava geçişine engel olacak şekilde, içinin görülmesi ve maruziyet haricinde havalanma ve temizlik sağlanabilmesi için üst kısımları camlı kapaktan oluşturuldu. Bölmeler arasında sabit duman ve hava akımını sağlamak için akvaryum havalandırma motorları kullanıldı. Bu akım yine akvaryum havalandırmasında kullanılan hortumlarla bir bölmeden diğer bölmeye aktarıldı. (Şekil: 3-4-5)

Bu çalışmada 0.9 mg nikotin ve 12 mg katran içeren uzun LM (Philsa A.Ş.) sigarası kullanıldı. İçerde yanan sigaranın küllerinin toplandığı ve yanması bitince dışardan iterek içine düşmesi sağlanacak bir kültablası yerleştirildi. Maruziyet odalarına verilen 1/10 seyreltilmiş dumanın ve sıçanların ürettiği karbondioksidin tahliye olması için bu odaların etrafına delikler açıldı.

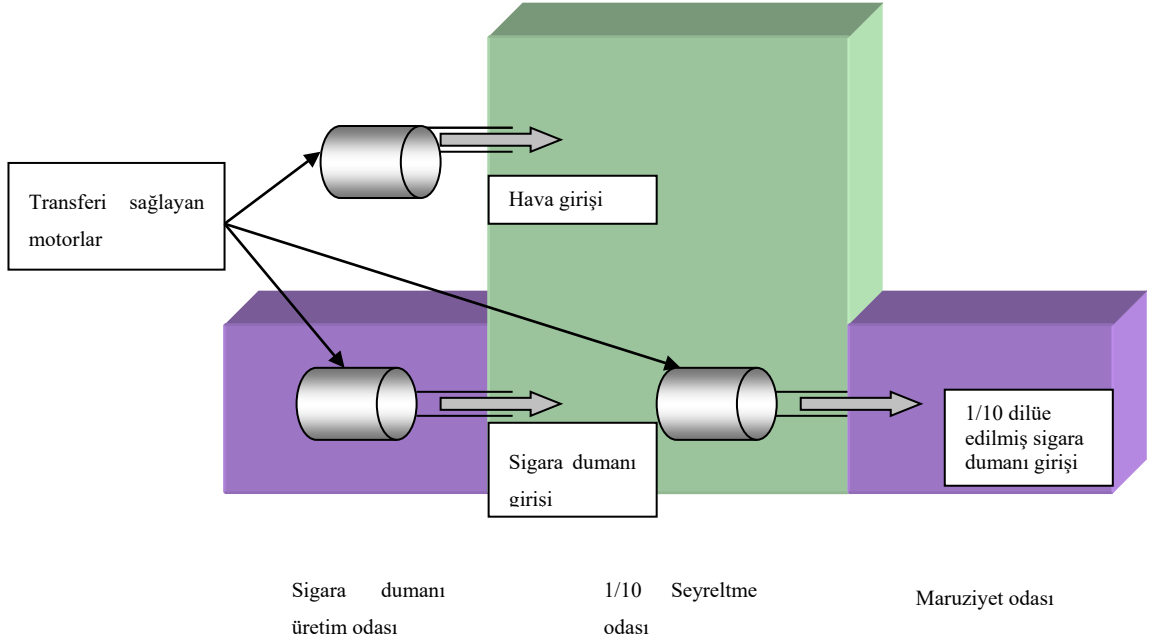
5.3 SİGARA MARUZİYETİ

Bütün sigara dumanına maruz bırakılan gruplar, hergün aynı saatlerde iyice havalandırılmış ve temiz yataklaması yapılmış olan maruziyet bölmelerinde iki saat boyunca sıçan başına bir sigara olacak şekilde sigara dumanına maruz bırakıldı. Herbir maruziyet odasına altı sıçan konuldu. Sigara dumanına maruz bırakılmayan sıçanlarda hergün, günlük çalışmanın başında, havalanmış düzenekte günde iki saat

tutularak diğer gruplarla benzer stresi örneklemek amacıyla iki saat düzenekte tutuldu.



Şekil 1: Modifiye Walton Sigara Dumanına Maruz Bırakma Düzenegi⁵⁵.



ŞEKİL 2: Bu çalışma için üretilen “Modifiye Walton Sigara Dumanına Maruz Bırakma Düzenegi”nin şematik çizimi



Şekil 3: Sıçanların sigara dumanına maruz bırakıldığı düzenek



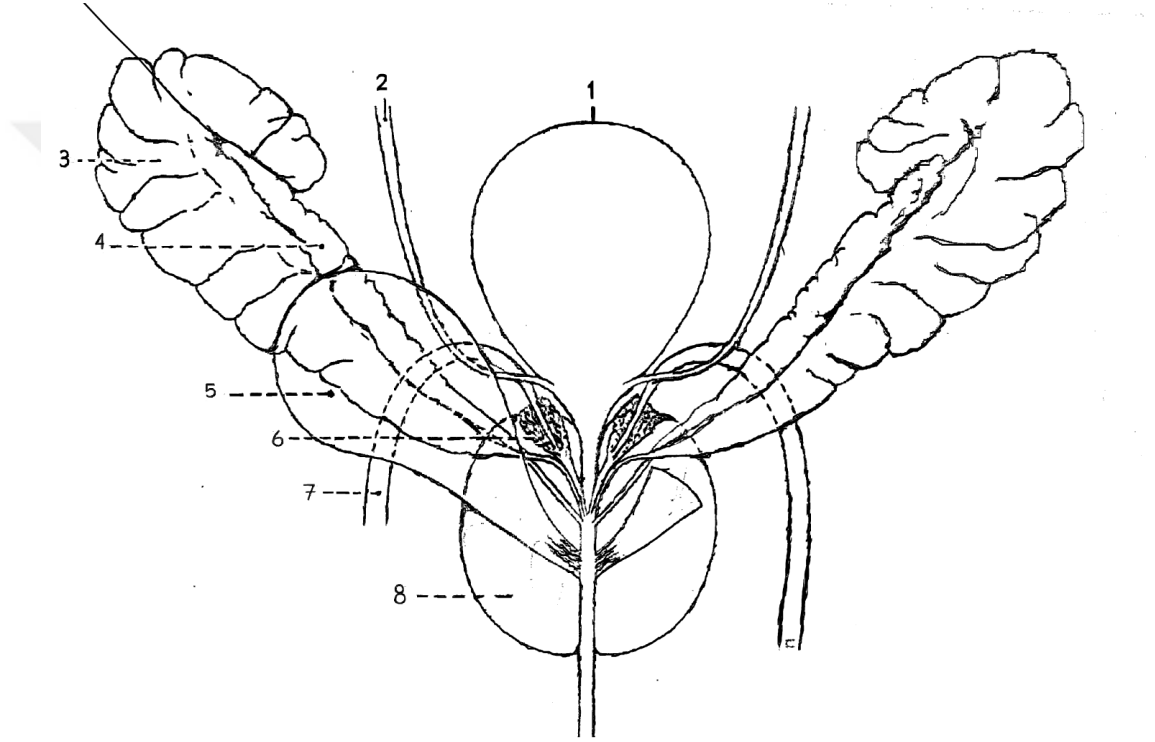
Şekil 4: Sıçanların sigara dumanına maruz bırakıldığı düzenek



Şekil 5: Sigara dumanı üretim odası

5.4 CERRAHİ İŞLEM

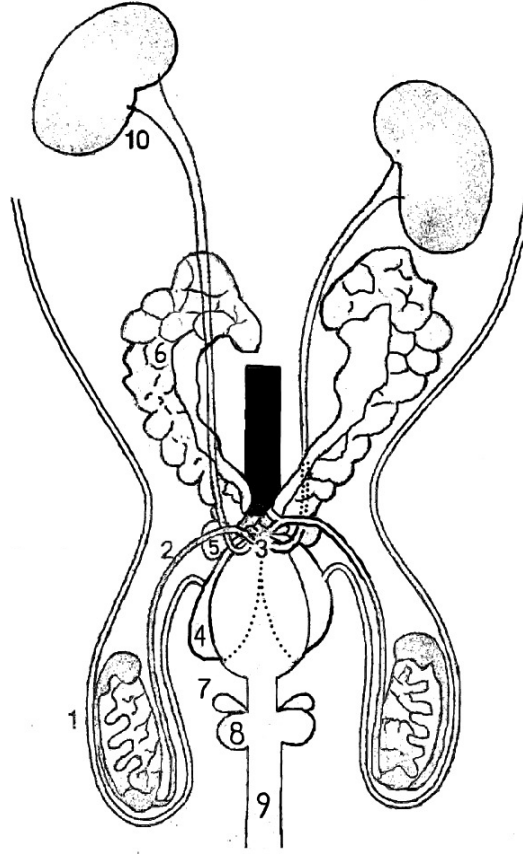
Sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlar 8. haftada eter anestezisi ile batin ve toraks açıldıktan sonra vena kava inferiordan 5cc kan alınarak dekapite edildi. Prostat dokusu çıkartıldı. İn vitro deney için prostat dorsolateral strip hazırlandı. Kalan prostat dokusu ve in vitro çalışma sonrası dorsolateral strip %10'luk formol içinde patoloji kabına alındı.



Şekil 6: Sıçan mesane, prostat ve seminal vezikül şematik gösterimi. 1-Mesane, 2-Üreter, 3-Veziküla seminalis, 4-Koagülasyon bezi, 5-Prostat ventral lobu, 6-Duktus deferens bezleri, 7-Duktus deferens, 8-Prostat dorsolateral lob

Şekil 7: Sıçan genitoüriner sistem (şematik)

1. Testis
2. Ductus deferens
3. Glandula ductus deferens
4. Prostat ventral lob
5. Prostat dorsolateral lob
6. Seminal vezikül
7. Bulboüretral bez
8. Bulbokavernöz kas
9. Korpus penis
10. Böbrek ve üreter



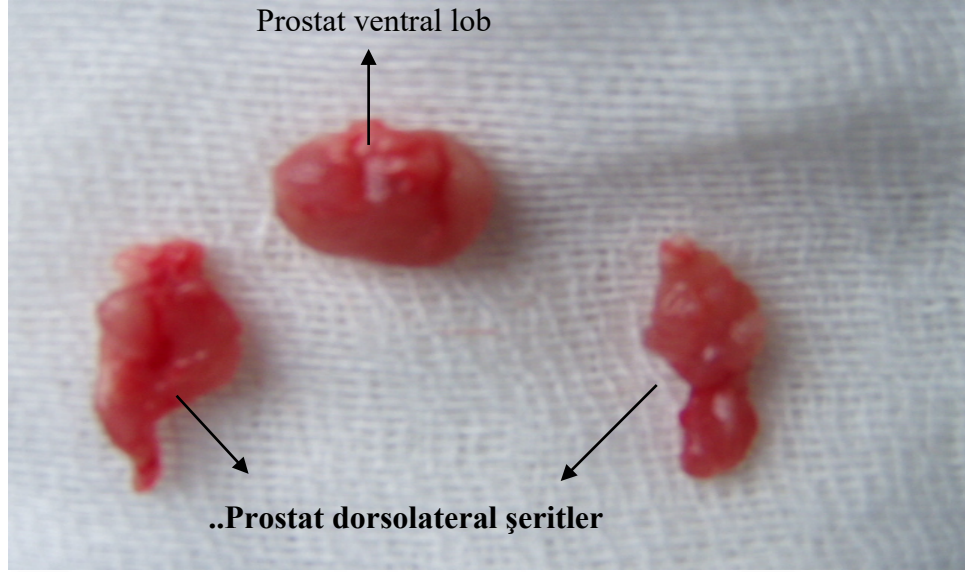
Şekil 8: Sıçan prostatının çıkartılması



Şekil 9: Sıçan genital ve alt üriner sistemi



Şekil 10: Prostat dorsolateral şerit hazırlanması



Şekil 11: Prostat dorsolateral şeritler ve ventral lob

5.5 SERUM KOTİNİN VE HEMOGLOBİN SEVİYESİ ÖLÇÜMÜ

Immulate Nicotine Metabolite kiti serumda kotinin ve diğer temel nikotin metabolitlerinin kantitatif ölçümü için Immulate otomatize analizatöründe tasarlanmış bir solid faz kemiluminesan enzim immüno-metrik assay'dır. 25 ng/ml ve üstü değerler sigara içenleri ayırmak için eşik sınırıdır. Yöntemin varyasyon katsayısı %16'dan azdır. Alt saptama limiti ise 2 ng/ml'dir.

Sıçanlardan alınan kan örneklerinden düşük devirde santrifüj (1000 g 5 dk) ile serum ayrıldı. Immulate Nicotine kiti ile (cihaz Immulate one) serum kotinin seviyeleri ölçüldü. Alt saptama limiti, yöntemin hassasiyetini artırmak için 10 ng/ml olarak tutuldu.

Rasgele seçim yöntemi ile sigaraya maruz bırakılan gruptan 10 ve kontrol grubundan 12 denegin hemoglobin seviyelerine bakıldı.

5.6 PROSTATIN PATOLOJİK İNCELENMESİ

Prostat dokuları ayrılmış ve %10'luk formalinde tespit edildikten sonra standart örnekler alınarak tümüyle formalin, alkol, ksilen ve parafin takiplerinden geçirilerek 5 mikron kalınlığında kesitler alınmıştır. Tüm olgular Hematoksilen – Eozin ile boyandıktan sonra p53, Cyclin D, Bcl-2, C erbB-2 antikolarıyla immünohistokimyasal inceleme için boyama yapıldı. Tüm kesitler prostatik intraepitelyal neoplazi, prostat karsinomu ve olası diğer morfolojik değişiklikler bakımından mikroskopik olarak incelendi.

5.7 İN VİTRO PROSTAT KASILMA YANITLARININ İNCELENMESİ

Prostat dokusu çıkartılıp hemen Krebs-Henseleit solüsyonu (milimol cinsinden: NaCl 118, KCl 4.7, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5, glukoz 11.1; pH 7.4 distile su ile 1 lt'ye tamamlandı) içine konuldu ve dorsolateral şerit çıkartıldı. Daha sonra prostat dorsolateral şeriti iki ucundan tespit edilen iplikler ile diyagonal olarak alt ucu 20ml kapasiteli, içerisinde Krebs-Henseleit solüsyonu bulunan %95 O₂ ve %5 CO₂ karışımı ile sürekli gazlandırılan izole organ banyosunun tabanındaki çengele, üst ucu ise mikrometrik oynatıcı üzerine sabitleştirilmiş diğer ucu poligrafa (MP30) bağlı olan izometrik force transdüser'e (FTO3) bağlandı.

Prostat dorsolateral şerit asıldıktan sonra bir gramlık ön gerim uygulandı ve 60 dakika inkübe edildi. Bu esnada prostat preparatı her 15 dakikada bir taze solüsyon ile toplam üç defa yıkandı. İnkübasyon süresi sonunda 80mM KCl kasılma cevabı alındı. Ardından yıkandı ve 60 dakikalık inkübasyon süresince 3 defa daha yıkandı. Daha sonra dokulara Karbakol (10⁻⁸-10⁻⁴) M konsantrasyonlarında verilerek kümülatif doz-cevap eğrisi elde edildi. Tekrar doku yıkanarak 60 dakikalık inkübasyon süresine alındı. Bu sırada 15 dakikalık aralarla yıkama devam etti. En

son Fenilefrin (10^{-8} - 10^{-4}) M konsantrasyonlarında verilerek kümülatif doz-cevap eğrisi elde edildi

Veri olarak, uygulanan KCl, Karbakol ve Fenilefrin'e verilen kasılma cevapları gram cinsinden hesaplandı.

5.8 İSTATİSTİK

Elde edilen veriler, grupların ikili karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi ve patoloji sonuçlarının değerlendirilmesinde Ki-kare testi kullanıldı, $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi

6 BULGULAR

6.1 PATOLOJİK İNCELEME

Gerek kontrol grubunda, gerekse sigara dumanına maruz bırakılan grupta prostat dokusunda tümör gelişimi veya intraepitelyal neoplazi izlenmedi. Her iki grupta prostat asinüslerinde yaygın veya odaklar halinde kistik genişlemeler ve epitelde atrofi görüldü. Bazı asinüslerde ise köpüksü hücrelerin varlığı dikkati çekti. Ki-kare testi uygulanarak p değerleri bulundu. Daha sonra yapılan p53, siklin D, bcl-2 ve c erb B-2 antikoları ile immunohistokimyasal inceleme yapıldı.

İmmunohistokimyasal incelemede kontrol grubu ile sigara dumanına maruz bırakılan grup arasında immunohistokimyasal boyanma özellikleri açısından anlamlı bir fark görülmedi.

Sigara dumanına maruz bırakılan grupta atrofi ve asiner dilatasyon kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış bulundu ($p<0.05$).

Tablo 1: Sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarla kontrol grubu asiner dilatasyon istatistik tablosu

Asiner Dilatasyon

			Dilatasyon		Toplam
			Yok	Var	
Grup	Sigara	Sayı (n)	1	38	39
		Satır Yüzdesi	2.6	97.4	100.0
	Kontrol	Sayı (n)	17	43	60
		Satır Yüzdesi	28.3	71.7	100.0
Toplam			18	81	99

(Ki-Kare= 10.6, $p= 0.01$)

Sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede asiner dilatasyon bulundu ($p<0.05$).

Tablo 2 Sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarla kontrol grubu asiner atrofi istatistik tablosu

Asiner Atrofi

			Asiner Atrofi		Toplam
			Yok	Var	
Grup	Sigara	Sayı (n)	1	38	39
		Satır Yüzdesi (%)	2.6	97.4	100.0
	Kontrol	Sayı (n)	23	37	60
		Satır Yüzdesi (%)	38.3	61.7	100.0
Toplam			24	75	99

(Ki-Kare= 16.5, p= 0.01)

Sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede asiner atrofi bulundu (p<0.05).

Her iki grupta fokal atrofi açısından anlamlı fark bulunmadı (p>0.05).

Tablo 3 Sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarla kontrol grubu fokal atrofi istatistik tablosu

Fokal atrofi

			Fokal atrofi		Toplam
			Yok	Var	
Grup	Sigara	Sayı (n)	38	1	39
		Satır Yüzdesi (%)	97.4	2.6	100
	Kontrol	Sayı (n)	52	8	60
		Satır Yüzdesi (%)	86.7	13.3	100
Toplam			24	75	90

(Ki-Kare= 3.3, p= 0.069)

Sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarda ve kontrol grubunda fokal atrofi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p>0.05).

Sigara dumanına maruz bırakılan grupta az sayıda ama kontrol grubunda görülmeyen asini içinde yoğun köpüksü hücreler görüldü. İstatiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

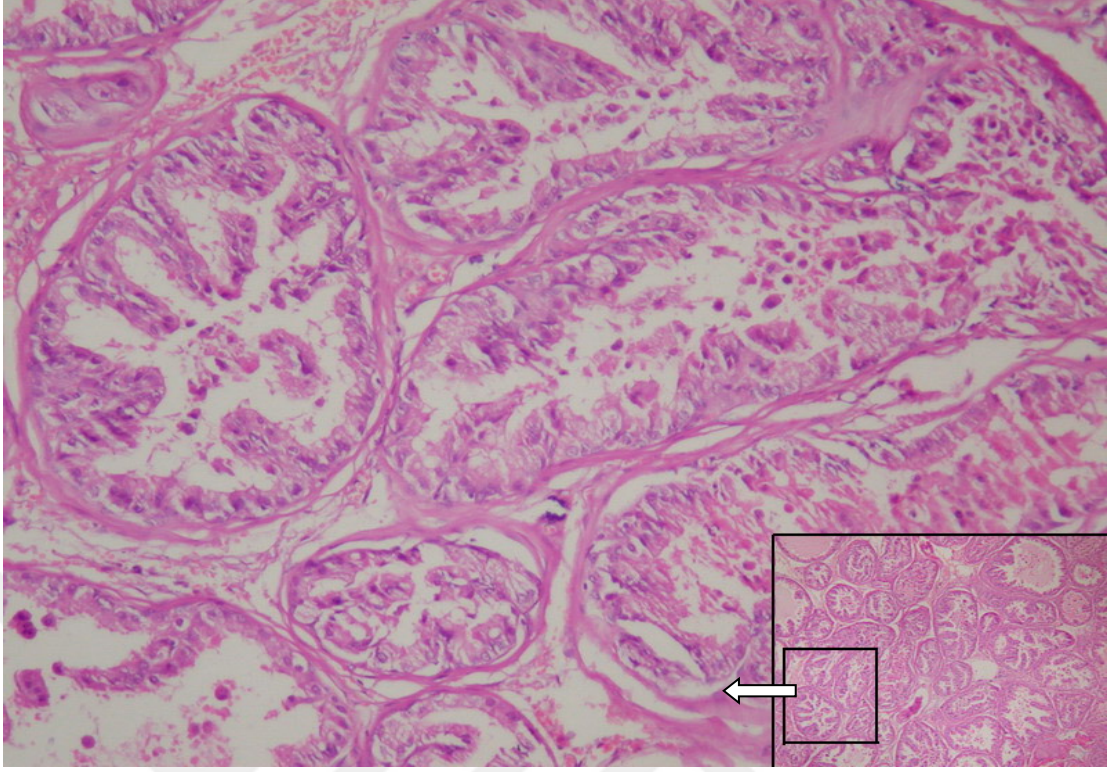
Tablo 4 Sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarla kontrol grubu Köpüksü hücre istatistik tablosu

Köpüksü hücre

			Köpüksü Hücre		Toplam
			Yok	Var	
Grup	Sigara	Sayı (n)	37	2	39
		Satır Yüzdesi (%)	94.9	5.1	100.0
	Kontrol	Sayı (n)	60	0	60
		Satır Yüzdesi (%)	100.0	0	100.0
Toplam			97	2	99

(Ki-Kare= 3.2, $p= 0.076$)

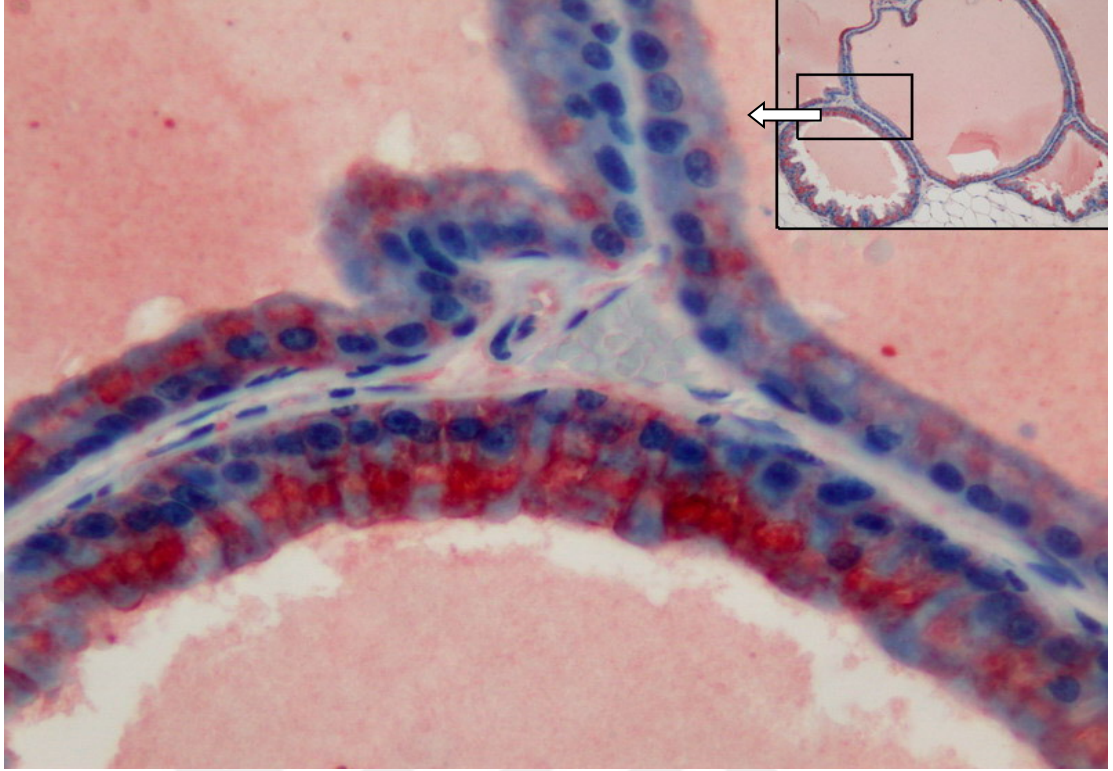
Sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarada kontrol grubunda görülmeyen köpüksü hücreler görüldü ama istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).



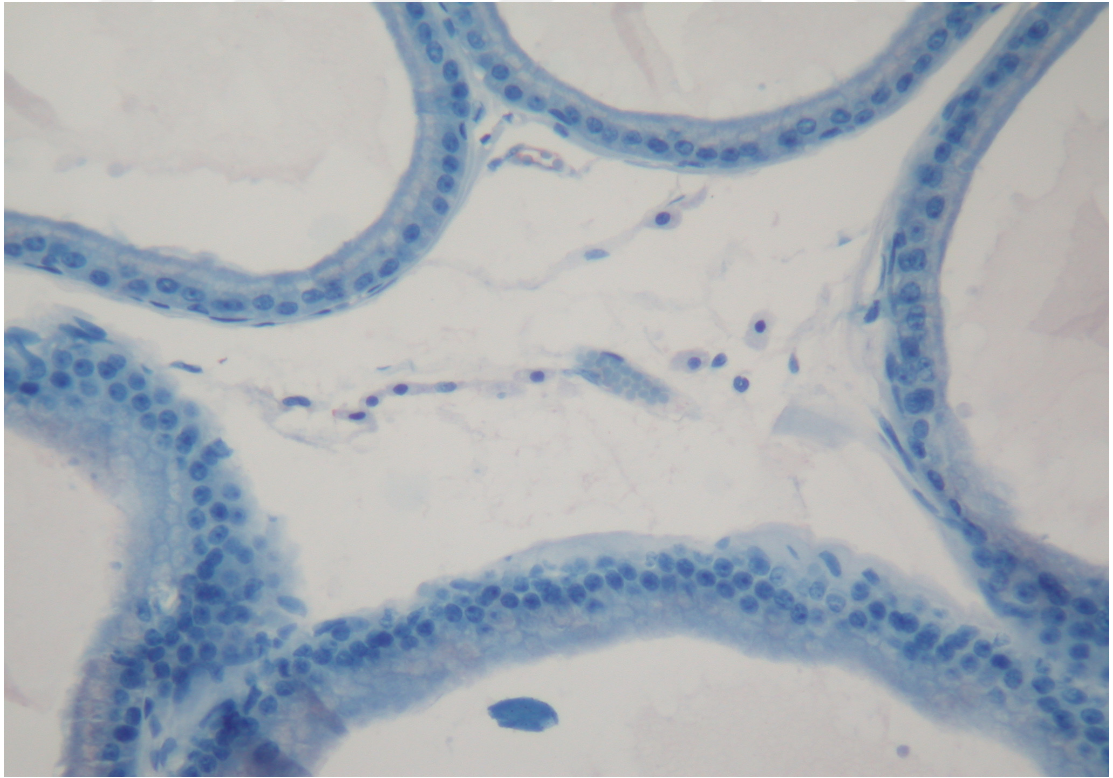
Şekil 12: Kontrol grubu Hemotoksilen-Eosin boyama



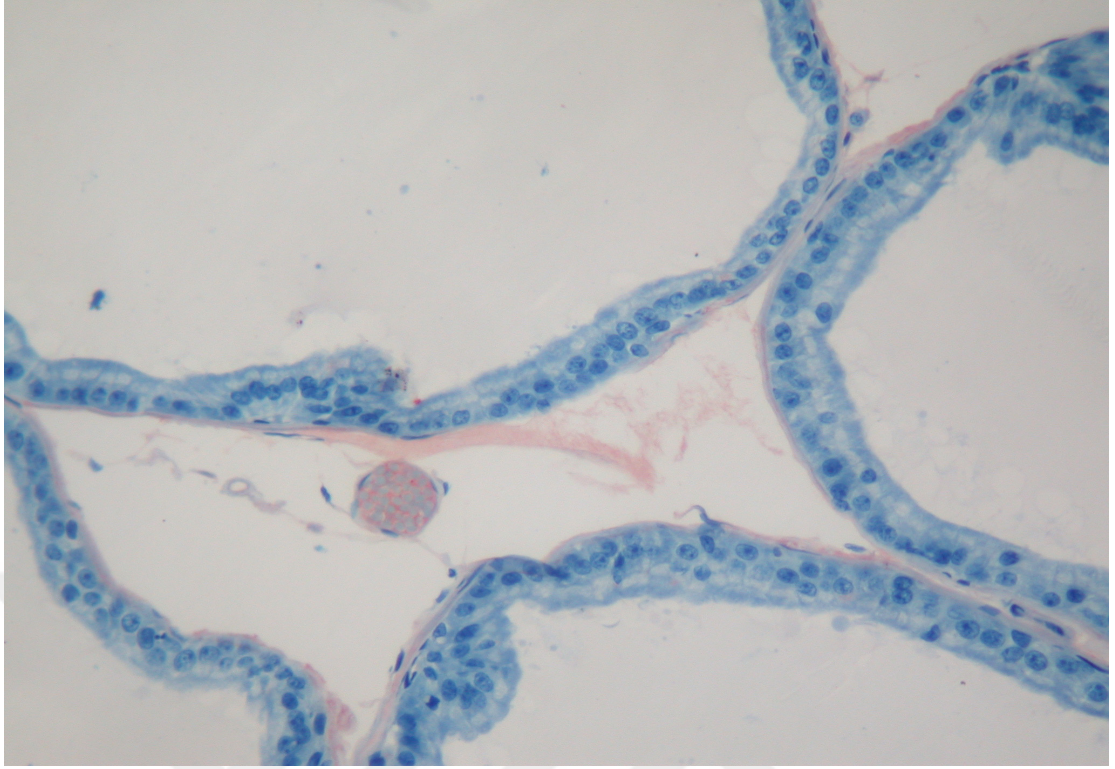
Şekil 13: Sigara grubu Hemotoksilen-Eosin boyama



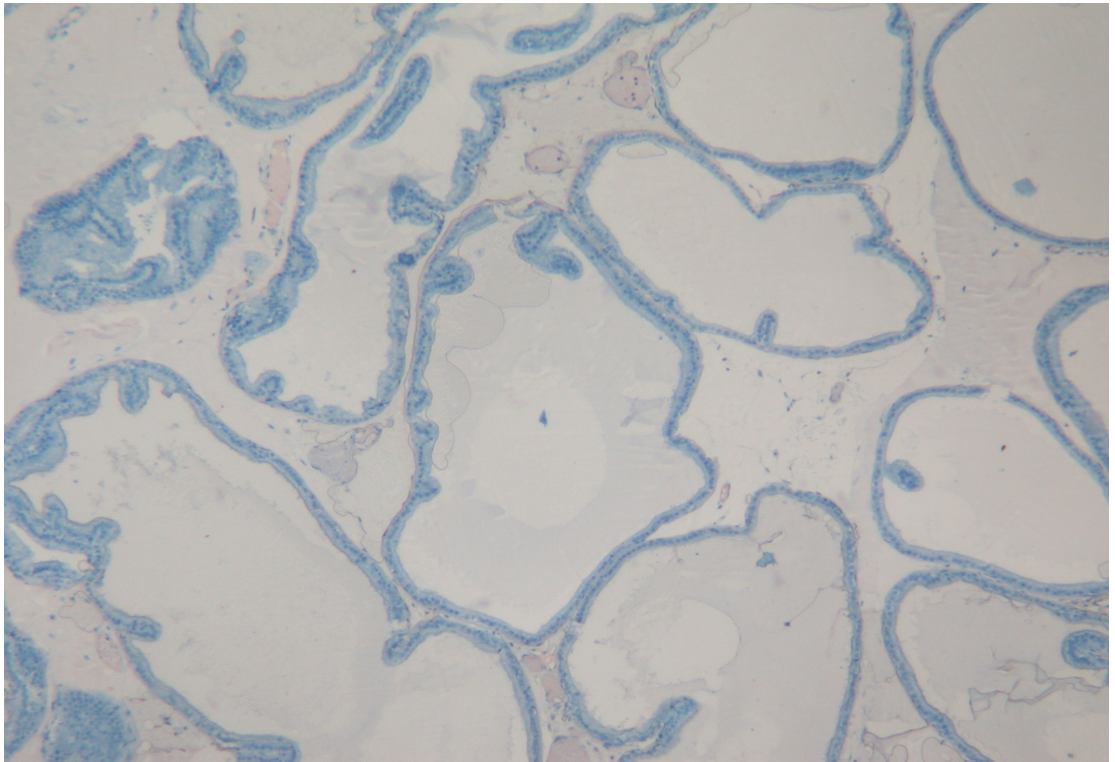
Şekil 14: Sigara grubu p53 immunohistokimyasal boyama



Şekil 15: Sigara grubu c erb B2 immunohistokimyasal boyama



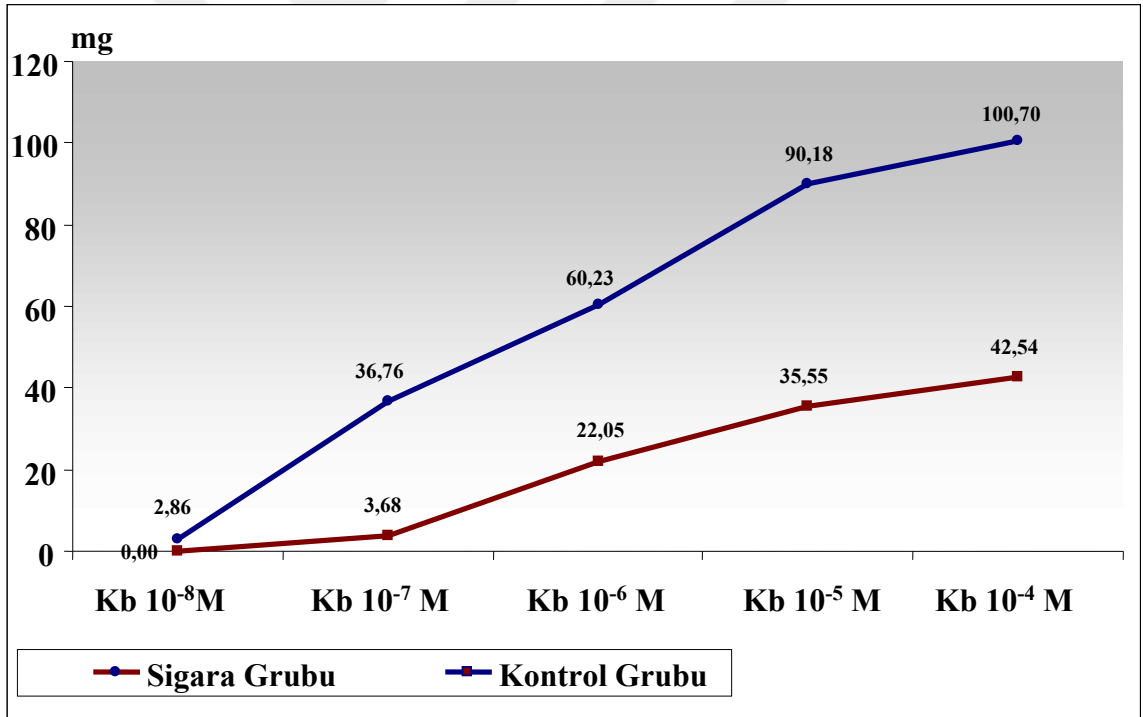
Şekil 16: Sigara grubu bcl-2 immunohistokimyasal boyama



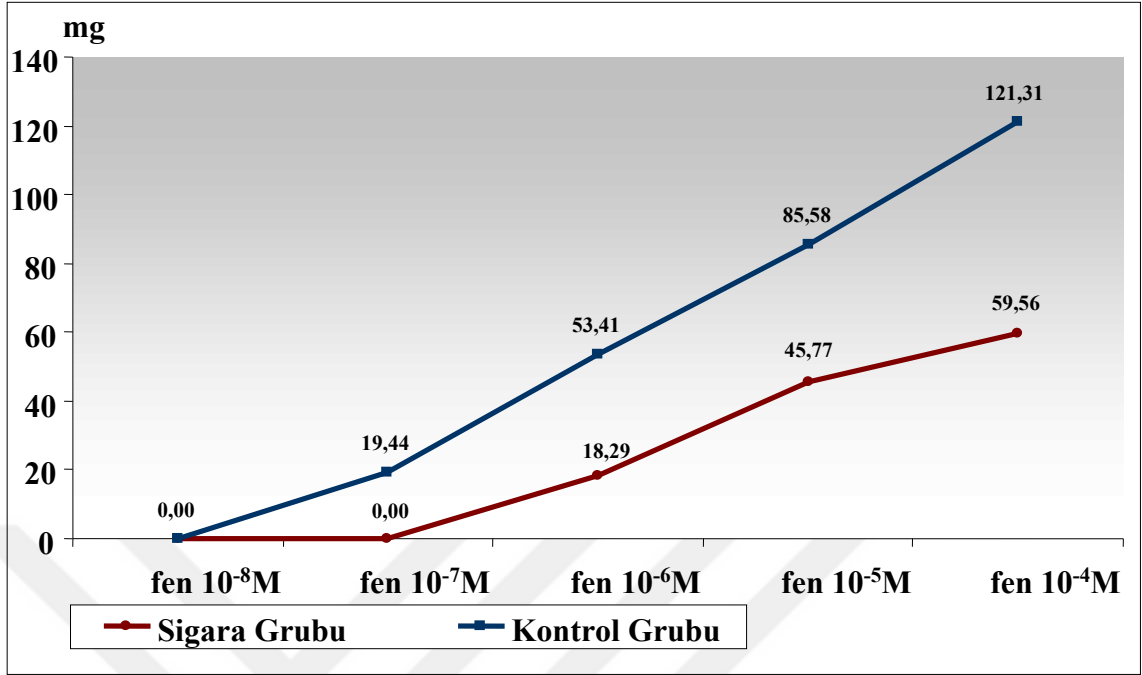
Şekil 17: Sigara grubu siklin D immunohistokimyasal boyama

6.2 İN VİTRO PROSTAT KASILMA CEVAPLARI

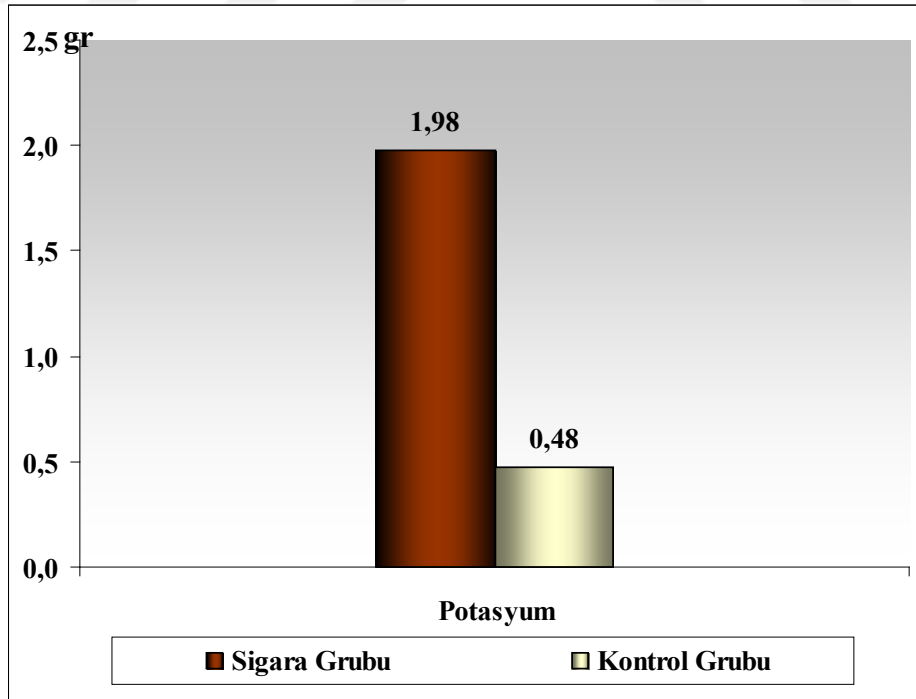
Prostata kümülatif uygulanan Karbakol (10^{-8} - 10^{-4} M), Fenilefrin (10^{-8} - 10^{-4} M) ve 80 mM KCl kasılma yanıtları elde edildi ve gram olarak hesaplandı. Sonuçlar Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Sigara dumanına maruz bırakılan grupta, kontrol grubuna göre prostat kasılmasında anlamlı derecede azalma görüldü ($p<0.05$).



Şekil 18: 10^{-8} - 10^{-4} M Karbakolün sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlar ve kontrol grubu sıçanlarda prostat dorsolateral şerit kasılma cevabı



Şekil 19: 10⁻⁸- 10⁻⁴M Fenilefrinin sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlar ve kontrol grubu sıçanlarda prostat dorsolateral şerit kasılma cevabı



Şekil 20: 80mM KCl a sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlar ve kontrol grubu sıçanlarda prostat dorsolateral şerit kasılma cevabı

6.3 DENEY SONUÖLÇÜLEN HEMOGLOBİN VE KOTİNİN DEĞERLERİ

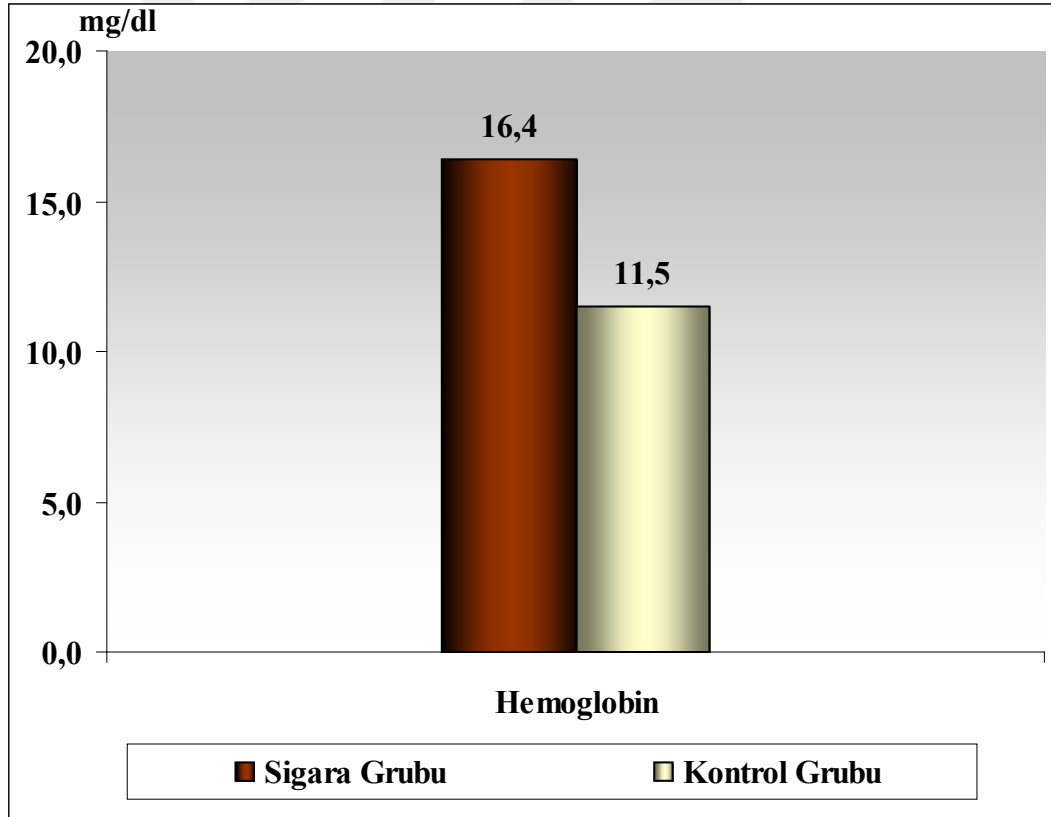
Tüm deneklerde serum kotinin seviyeleri ölçüldü.

İn vitro deney yapılan deneklerin hemoglobin seviyelerine bakıldı.

Sigara içmeyen grupta kotinin seviyeleri alt sınır olarak belirlenen 10 ng/ml'den düşük tespit edildi.

Tablo 5: Sigara dumanına maruz bırakılan grupta Kan Kotinin Değerleri

Sayı	Ortalama	Standart Sapma	Minimum Değer	Maksimum Değer
39	76,43	48,01	36,10	238,00



Şekil 21: Sigara dumanına maruz bırakılan grup ve kontrol grubu ortalama hemoglobin değerleri

7 TARTIŞMA

Prostat kanseri Amerika'da erkeklerde kanser insidansı olarak 1. sırada, kanserden ölüm sebepleri arasında 2. sırada yer alır. Prostat kanseri için muhtemel bazı çevresel faktörler dışında ileri yaş, birinci derece yakınlarında hastalık öyküsü ve Afrika kökenli Amerika'lılar gibi tespit edilmiş kesin risk faktörleri vardır⁵⁶.

Sigaranın insan vücuduna olan etkilerinin çok büyük bir kısmı araştırılmış ve çeşitli sonuçlar çıkartılmıştır. Bunlardan özellikle karsinojenik ve mutajenik etkileri günümüzde sayısı 55'e kadar yükselmiş olan içeriğindeki kanserojen maddeler sayesinde ortaya çıkmaktadır. Bunlar poliaromatik hidrokarbonlar, aza-arenler, nitrosaminler, aromatik aminler, aldehitler, organik ve inorganik bileşiklerdir³¹.

Sigaranın kanserojen etkisi hemen her organ için olduğu gibi prostat için de araştırılmıştır. Sigaranın prostat kanseri etyolojisi üzerine olan pozitif etkisi açısından tam bir görüş birliği bulunmamaktadır. Bu konuda sigara ve prostat kanseri insidansı arasında pozitif ve negatif etkilerini bildiren prospektif çalışmalar vardır⁶⁻¹⁰. Hickey ve ark. mevcut literatürden yararlanarak ilişkiyi araştırmışlar, 15 halk tabanlı vaka-kontrol çalışmasının %33'ünde sigara ve prostat kanseri arasında anlamlı birliktelik olduğunu tespit etmişler⁵⁷.

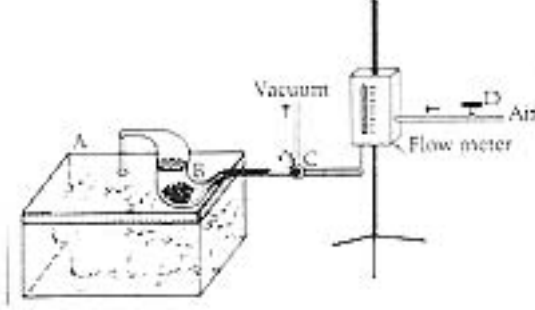
Sigara içimi dolaşımdaki steroid hormonların seviyelerini değiştirebilir. Sigara içimi ile erkeklerde bioaktif testosteron seviyesi artar ve bioaktif östrojen seviyesi azalır⁵⁸. Yapılan bir kaç epidemiyolojik çalışmada da erkeklerde sigara içimi ile serum total androstenodion gibi total ve serbest testosteron arasında anlamlı pozitif bağlantılar bulunmuştur^{12,59}. Bazı çalışmalarda ise sigara içimi ile hormon seviyelerinde anlamlı bir artış olmadığını belirtmektedir. Kúpeli ve ark.'nın yaptığı çalışmada hormon seviyelerinde belirgin bir değişiklik olmadığını, ama prostat büyümesini artırıcı bir faktör olduğunu belirtilmiştir⁴. Seitter ve Barrett-Connor, Glynn ve ark. sigara içimi ile benign prostat hiperplazisi (BPH) arasında bir ilişki olmadığını söylemişler, daha sonra Daniell prostatektomi yapılan hastalarda yaptığı retrospektif çalışmada sigara içenlerde prostat volümünün daha küçük olduğunu belirtmiştir⁵⁹⁻⁶¹. Prostat gelişiminde androjenlerin tek başına etkisi yeterli değildir. Testosteron, androstenedion, östrojenler ve prolaktin etkisi ile prostat gelişmeye

başlar. Östrojenler androjenlerin indüklediği prostat büyümesine sinerjistik bir etki gösterir⁵⁹.

Nikotin birçok organda farklı ve değişken bir etki gösterir. Çizgili kaslarda gevşeme, düşük dozlarda bradikardi ve hipotansiyon, yüksek dozlarda taşikardi ve hipertansiyon yapar. Sinir sistemindeki etkilerini nikotinik reseptörler vasıtasıyla gerçekleştirir. Sempatik sinir sistemini uyarır, adrenal medulladan katekolamin salınımını uyarır¹⁷. Kester ve ark.'nın yaptığı çalışmada insan prostatında alfa-1 adrenerjik, dopaminerjik, muskarinik kolinerjik, serotoninerjik ve H1 histaminerjik nöroreseptörler tespit etmiştir. Sigaranın prostat boyutu ve AÜSS üzerine etkilerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmiştir. Küpeli ve ark. prostat boyutlarında artışa neden olduğunu belirtmiştir⁴. Roberts ve ark.'nın yaptığı Olmsted county çalışmasında az ya da orta derecede sigara içenlerde AÜSS şikayetlerinin düşük olduğunu orta ve ileri derecede sigara içenlerde AÜSS şikayetlerinin sigara içmeyenlerle aynı olduğunu bildirmişlerdir⁶². Az ve ileri decede sigara içimini ayırmak için çeşitli çalışmalarda günlük 30-35 adetin altında sigara içimi az yada orta derece, 35'ten fazla sayıda sigara içimi ileri derecede sigara içimi olarak tanımlanmıştır.

Sigara dumanına maruz bırakma düzeneğinin oluşturulması ve maruziyet süresinin tespiti konusunda literatüre baktığımızda Lawrence (1984), sıçanları sigara dumanına maruz bıraktığı düzeneği şöyle tarif etmiştir. İki adet cam kutu birbirlerine 3 cm'lik bağlantı ile bağlanmıştır. Alttaki oda sigaranın yakılıp dumanın elde edildiği ve aynı zamanda kültablası işlevi gören oda ile üstte sıçanların sigara dumanına maruz bırakıldığı diğer bir oda ve arada duman geçişini sağlayan bağlantıdan ibarettir. On sıçan bir seferde arka arkaya beş sigara yakılarak iki saat boyunca düzenekte tutulmuştur. Günde beş kez toplam yirmibeş sigara dumanına maruz bırakılmıştır. Bu dozda sıçanları sigara dumanına maruz bırakmakla günde yaklaşık bir-iki paket sigara içen insanların maruz kaldığı dumana eşdeğer olduğunu belirtmiştir⁶³. Lawrence çalışmasında ameliyat sonrası sigara içiminin flep canlılığına etkilerini araştırmış olup bu çalışma tam olarak ameliyat öncesi sigara bağımlısı bir hastayı örneklememektedir. Lawrence çalışmasında sıçanlara doğrudan sigara dumanı olarak vermiş, sigara dumanını dilüe etmemiştir. Bizim çalışmamızda sigara dumanı 1/10 oranında hava ile dilüe edilmiş ve sıçanlar dilüe edilmiş dumana maruz

bırakılmıştır. Kaufman (1984) , pipo tütünü kullanarak sıçanlarda çalışma yapmıştır. (Şekil. 21)



ŞEKİL 21 : Kaufman'ın sıçanları tütün dumanına maruz bırakma düzeneği⁶⁴.

Burada 3 lt/dk sabit akımda, herbir maruziyette beş dakika süresince kuru hava akımı pipo tütününün yandığı bölüme verilmiş ve elde edilen duman 20.7 litrelik hacimdeki maruziyet odasına yönlendirilmiştir. Her bir sıçanın maruz kaldığı duman miktarı, ağır sigara içicisi olarak tabir edilen, yetmiş kilogram ağırlığındaki bir insanın günde otuz sigara içmesi yada kilogram başına 0.428 sigara içilmesine eş değer olduğu belirtilmiş ve bir seferde yedi-dokuz sıçan maruziyet odasına konularak günde beş dakika dumana maruz bırakılmıştır⁶⁴. Craig (1984) , hamsterlerde yaptığı çalışmada sigara dumanına maruziyet için Hamburg I ismi verilen sigara maruziyet düzeneği kullanmıştır. Cerrahi öncesi altı hafta, cerrahi sonrası iki haftalık maruziyet yapılmıştır⁶⁵. Nolan (1984) , sıçanlarda yaptığı çalışmada sigara dumanına maruz bırakmak için Maddox-ORNL sigara dumanına maruz bırakma düzeneğini kullanmıştır. Bu düzenekte sıçanlar sadece burunları ile sigara dumanına maruz kalırlar ve sigara içimini taklit eder tarzda yani bir nefes = 35 ml. duman 350 ml. hava ile dilüe (1/10) edilerek sıçanlara verilir. Bir seferde beş sıçan ve günde sekiz saat, bir sigarada 10 nefes (10x 35 ml.) olacak şekilde yedi sigara yakılmıştır. Nolan sıçan başına yaklaşık bir sigara kullanmıştır. Dört grup oluşturulmuş ve maruziyet süresi ameliyat öncesi üç hafta, ameliyat sonrası bir hafta olarak belirlenmiştir⁶⁶. Van Adrichem (1996), sıçanlarda pediküllü epigastrik fleplerde sigara dumanının etkisini

araştırdığı çalışmada, Hamburg II ismi verilen sigara maruziyet düzeneğini kullanarak sıçanları sigara dumanına maruz bırakmıştır ve bu sistemde, günde dört saat aralıklarla yirmi dakikalık üç periyotta, her iki saniyede bir nefese denk gelen bir nefes = 35 ml. duman 700 ml. hava ile dilüe edilerek (1/20) 525 ml.' lik sigara odasına verilmiş ve sıçanlar burunları ile sigara dumanına maruz kalmışlardır. Ameliyat öncesi altı hafta sigara dumanına maruz bırakılan sıçanların bu sistemde ağır sigara içiciliğine karşılık geldiğini ve literatürde altı haftada endotel değişiklikleri meydana geldiği belirtildiğinden bu sürenin kalıcı etki için yeterli olduğu bildirilmiştir⁶⁷.

Yukarıda da belirtildiği gibi, sıçanların sigara dumanına maruz bırakılması için farklı metodlar kullanılmıştır. Hepsinde ortak olan standart miktarda sigara kullanılması ve elde edilen dumana sıçanların sabit akımda maruz bırakılmasıdır. Bizim çalışmamızda da Nolan ve Chen' in kullanmış olduğu sıçan başına bir sigara miktarı uygulanmıştır. Bu miktar ağır sigara içicisi olan bir insanın bir günde içtiği sigara miktarını örneklemektedir. Van Adrichem ve Craig' in çalışması literatürde bu konuda yapılan çalışmalar içinde sigara dumanına maruziyet süresi en uzun olan çalışmalardır. Çalışmamızda bu sürenin üzerinde bir süre olan sekiz hafta sigara maruziyeti kullanılmıştır.

Çalışmamızda sıçanları sigara dumanına maruz bırakılacağı düzenek seçeneklerini araştırırken literatürde kabul görmüş, efektif ve detaylarının belirtildiği "Modifiye Walton Sigara Dumanına Maruz Bırakma Düzeneği" tercih edildi. Bu düzeneği tercih etmemizde belli başlı iki sebep vardır. Bunlar, yöntemin literatürde kabul görmüş bir yöntem olması ve ayrıca bu düzeneğin Ankara Üniversitesi'nde ve Üniversitemizde kullanılmış olması nedeni ile teknik yardım almanın nisbeten kolay olmasıdır^{68,69}.

Çalışmamızda sigara maruziyet düzeyinin yeterli olup olmadığını göstermek için hemoglobin ve kotinin değerlerine baktık. Kotinin nikotinin bir metabolitidir, vücuda giren nikotinin %70-80'i kotinine dönüşür. 25 ng/ml serum kotinin değeri sigara içenleri ayırma için seçilen eşik değeri sınırdır. Kotinin glukronat konjugatı olarak idrarla atılır. Kotininin eliminasyon yarılanma ömrü 16-18 saattir⁷⁰. Kotinin kısa süreli sigara maruziyetini göstermek için iyi bir ajandır. Sigara grubunda ortalama kotinin değeri 76,43 ng/ml(36,10-298,00) bulundu.

Sigara hemoglobin ve hemotokrit değerlerini yükseltir ve bu değerler eritrosit ömrü boyunca yani ortalama 120 gün yüksek kalır^{21,22}. Biz daha uzun süreli maruziyeti de tespit etmek için kotinin ile beraber hemoglobin ve hemotokrit değerlerine baktık. Çalışma şartları nedeni ile rastgele seçim yöntemi ile seçilen sigara grubunda 10, kontrol grubunda 12 sıçanın hemoglobin ve hemotokrit değerlerini ölçtük. Hematokrit değerleri sigara grubunda ölçülemeyecek kadar yüksek olduğu için hemoglobin değerlerini kontrol ettik. Sigara grubunda ortalama hemoglobin değeri 16.4mg/dl(16-17.5), kontrol grubunda ortalama hemoglobin değeri 11.5mg/dl(10.4-12.6) tespit ettik.

Yaptığımız çalışmada 80mM KCl, Karbakol (10^{-8} - 10^{-4} M) ve Fenilefrin (10^{-8} - 10^{-4} M) dozlarında uygulandığında sigaranın prostat kasılmasını azalttığını tespit ettik ($p=0.001$). Daha önceki çalışmalarda tespit edilen farklı bulguların muhtemelen nikotinin değişken olan etkisine bağlı olduğunu düşünmekteyiz, küçük dozlarda parasempatik ganglionları etkilerken yüksek dozlarda sempatik ganglionları uyarır^{17,70}. Ayrıca sigara nitrik oksit salınımını artırarak nitrik oksit üzerinden direkt olarak düz kas gevşetici etkisi ile bulgulardaki çeşitliliğe neden olabilir¹⁷. Sigaranın prostat kasılmasını azaltması nedeni ile sigara içenlerde AÜSS şikayetleri sigara içmeyenlere göre daha ileri yaşlarda ortaya çıkabilir. Ayrıca sigaranın diğer organlar üzerine olan olumsuz etkileri nedeni ile hastalar hekime başvurduğunda operasyon morbiditesi artar. Rohrmann ve ark.'nın Amerikan erkeklerinde yaptığı çalışmada sigaranın AÜSS'na etkisi olmadığını, ancak 50paket/yıl ve üzerinde sigara içenlerde AÜSS'nı artırdığını belirtmiştir⁷¹. Bu konuda insanlarda AÜSS'na etki edecek etkenlerin olmadığı prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır

Yaptığımız araştırmada sigaranın ejakülasyon üzerine etkisi gösteren bir çalışma bulamadık. Fakat biz prostattaki kasılmanın azalması nedeni ile ejakülasyon kalitesinin de bozulacağını düşünüyörüz. Bu konuda araştırmalara ihtiyaç vardır.

Sigaranın prostat kanseri ile ilişkisi olabileceği teorisi yapılan bazı araştırmalarda özellikle sigaraya bağlı olarak değişen hormonal dengedeki değişikliklerin tespit edilmesinden sonra daha da benimsenmiştir. Bunun üzerine yapılan çalışmalarda benign ve malign prostat hastalığının etyolojisinde hormonların etkili olduğunu kanıtlamışlardır^{7,8}. Nomura ve ark. düşük dihidrotestosteron (DHT) seviyeleri ve yüksek testosterondan DHT dönüşüm oranına sahip Asya'lı erkeklerin

14 yıllık takibinde prostat kanseri geliştiğini gösterdi⁷². Gann ve ark. düşük seks hormonu bağlayıcı globulin seviyeleri ile birlikte yüksek testosteron seviyeleri olanlarda prostat kanseri riskinin belirgin olarak arttığını bildirmişlerdir⁷³. Plaskon ve ark. sigara içenlerde total testosteron seviyelerini sigara içmeyenlere göre belirgin olarak fazla bulmuşlardır. Afrika kökenli Amerika'lılarda prostat kanseri insidansının fazlalığı nedeni ile yapılan araştırmada bunlarda testosteron ve DHT seviyelerinin yüksek olduğunu tespit etmişlerdir⁶.

Testesteron ve onun daha aktif bir metaboliti olan DHT prostat dokusunun gelişimi ve büyümesi için gereklidir. Ortamda bulunan yüksek testesteron ve DHT normal prostat dokusunda olduğu gibi prostat kanser hücrelerinin de çoğalmasına neden olur

Prostat kanseri ile sigara arasındaki ilişki, sigaranın içinde bulunan diğer karsinojenlere de bağlı olabilir. Sigarada bulunan kadmiyum androjen reseptörleri üzerinden indirekt olarak prostat hücrelerine etki eder. Androjen reseptörlerinin androjenlere verdiği cevabı artırır. Böylece testosteron ve DHT'un prostat üzerine olan etkilerini artırarak prostat kanseri gelişimine neden olabilir^{74,75}.

Sigarada bulunan heterosiklik aminler de prostat epitel hücrelerinde N-asetiltransferaz enzimi üzerinden karsinojenik etki gösterebilir⁷⁶.

Prostat kanserinde p53 gen mutasyonu oranı %0-80 arasında değerler bildirilmiştir. Yapılan araştırmaların çoğunluğunda %50 civarındadır. Macoska ve ark. primer prostat kanserinde %70'e varan bir oranda kromozom 8p'de delesyon olduğunu bildirmişlerdir⁷⁷. Cher ve ark. yaptığı çalışmada metastatik prostat kanserli hastaların %80'inde kromozom 8p kısa kolunu kaybettiğini göstermişlerdir. Ayrıca değişik çalışmalarda kromozomun değişik bölgelerinde delesyonların bildirilmesi de bu bölgede birden fazla tümör supresör genin olabileceğini düşündürmektedir⁷⁸.

Craft ve ark. her-2/neu (c-erb B2) onkogeni ve androjen reseptörü arasındaki iletişimi göstermişlerdir; bu da prostat kanseri progresyonunda tirozinkinaz reseptörlerinin de rol oynayabileceğini düşündürür⁷⁹.

Bizim yaptığımız çalışmada prostat dokularını p53, bcl-2, c erb-B2 ve siklin D antikorları ile immunohistokimyasal boyama yaptık. Sigara ve kontrol grubunda anlamlı bir fark izlemedi. Bunun nedeni bu tümör supresör genlerde mutasyon ortaya çıkması için çok daha uzun bir sigara maruziyeti gerekiyor olabilir. Materyallerin

Hemotoksilen-Eosin ile boyamasında istatistiksel olarak anlamlı asiner dilatasyon ve atrofi izledik ($p=0.001$). Sigara grubunda kontrol grubunda izlenmeyen köpüksü hücreler tespit ettik. Deneklerin hiçbirinde prostat kanserine rastlamadık.

Humprey ve ark.'nın yaptığı çalışmada psödohiperplastik prostatik adenokarsinom olarak tanımlanan düşük gradeli, hiperplastik prostat dokusuna benzeyen prostat kanserinin tarif etmişler. Buna göre papiller yapıları saran, lümeni kıvrılmalar, dallanmalar ve kistik dilatasyonlar içeren kompleks büyük bezler olan varyant bir prostat kanseri tipi vardır⁸⁰. Arista-Nasr ve ark. TUR-P yapılan hastalarda %1-3 psödohiperplastik adenokarsinom tespit ettiklerini bildirmişlerdir⁸¹. Bizim tespit ettiğimiz asiner dilatasyon ve atrofide artış ve köpüksü hücreler bu psödohiperplastik prostatik adenokarsinomun başlangıç safhası olabilir. Bunun aydınlığa kavuşturulabilmesi için daha uzun süreli çalışmalara ihtiyaç vardır.

8 SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sigara insanlar tarafından birçok zararlı etkilerinin bilinmesine rağmen tüketimi her geçen gün artan bir sağlık sorunudur. Sigara birçok kanserin etyolojisinde rolü olan, başta kardiyovasküler sistem olmak üzere organlarda fonksiyonel değişiklik meydana getiren bir maddedir.

Üriner sistemde özellikle transizyonel hücreli karsinom etyolojisinde oynadığı rol ile bilinen sigaranın prostat üzerindeki etkileri için çeşitli prospektif ve retrospektif araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmaların sonuçlarının çelişkili olması nedeni ile bu konuda görüş birliği yoktur. Fonksiyonel etki olarak sigaranın doza bağımlı olarak alt üriner sistem semptomlarını(AÜSS) artırdığını belirten çalışmalar yanında, düşük dozlarda AÜSS'ni azalttığını, yüksek dozlarda ise sigara içmeyenlerle eşdeğer olduğunu söyleyen çalışma vardır. Yaptığımız çalışmada sigaranın prostat kasılmasını anlamlı bir şekilde azalttığını tespit ettik. Bu konuda insanlarda yapılan çalışmalarda prostat kasılmasını etkileyebilecek besinsel ve çevresel faktörler ekarte edildikten sonra elde edilecek sonuçlara ihtiyaç olduğuna inanmaktayız.

Sigaranın prostat kanseri etyolojisinde oynadığı rol bilinmemektedir. Bu konuda bir çok teori ortaya atılmıştır. Prostat kanseri insidansını pozitif ve negatif yönde etkilediğini belirten değişik çalışmalar vardır. Her iki gruptan da çoğunluğun kabul ettiği görüş sigaranın ileri evre prostat kanseri oranını artırdığı yönündedir. Yaptığımız çalışmada sıçanlarda prostat kanseri tespit etmedik. p53, bcl-2, siklin D ve c erb B2 antikoları ile yapılan immunohistokimyasal incelemede sigara ve kontrol grubunda anlamlı farklılık izlenmedi. Ancak H-E ile yapılan boyamada sigara grubunda istatistiksel olarak anlamlı asiner dilatasyon ve atrofi tespit ettik. Sigara grubunda, kontrol grubunda görülmeyen köpüksü hücreler izlendi. Bu bulgular psödohiperplastik prostatik adenokarsinomda tarif edilen histolojik bulgulara benzemektedir. Belki de bunun bir ön safhası olabilir. 50 yaş üstü erkeklerin %30unda, 80 yaş üstü erkeklerin %60-70'inde latent prostat kanseri bulunur. Bunlarda etyolojik bir neden olarak sigaranın da bulunduğunu kesin olarak

kanıtlamak için daha ileri, karıştırıcı faktörlerden mümkün olduğunca sakınılmış ve uzun süreli çalışmalara ihtiyaç vardır.



ÖZET

Sigara Dumanına Maruz Bırakılan Sıçanlarda Sigaranın Prostat Üzerine Etkileri

Amaç: Sigara dünyada insan sağlığını etkileyen önlenebilir çok önemli sağlık sorunudur. Sigaranın birçok kanser etiyojisinde oynadığı rol ve organ fonksiyonlarına olan etkileri araştırılmıştır. Sigaranın prostat üzerine olan etkileri de araştırılmıştır ama bu konuda bir görüşbirliği yoktur. Bu nedenle sigaranın prostat üzerine olan etkilerini araştırdık.

Metod: Bu çalışmaya 100 adet 200-350 gr ağırlığında erkek Wistar Albino sıçan alındı ve iki gruba ayrıldı. Sigara grubu(n=40) 8 hafta süresince günlük 2 saat modifiye Walton sigaraya maruz bırakma düzeneğinde sigara dumanına maruz bırakıldı. Diğer grup kontrol grubu olarak ayrıldı(n=60). 8 hafta sonrasında sakrifiye edilen sıçanların hemoglobin ve serum kotinin değerleri ölçüldü. Prostat çıkartılarak in vitro çalışma için dorsolateral şeritler ayrıldı. Prostata kümülatif uygulanan Karbakol (10^{-8} - 10^{-4} M), Fenilefrin (10^{-8} - 10^{-4} M) ve 80 mM KCl kasılma yanıtları elde edildi ve gram olarak hesaplandı. Sonuçlar Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi Prostat dokusu p53, bcl-2, siklin D ve c erb B2 immunohistokimyasal boyama ve Hemotoksilen-Eozin boyama yapıldı.

Sonuçlar: Sigara grubunda ortalama hemoglobin değerleri 16,5mg/dl, kontrol grubunda 11,5mg/dl bulduk. Kotinin değerleri sigara grubunda 76,43 ng/ml, kontrol grubunda <10 ng/ml bulundu. Sigara grubunda prostat kasılması kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalmış olduğunu tespit ettik(p=0.001). Prostat dokusunun immunohistokimyasal incelenmesinde anlamlı bir farklılık izlenmedi. Ancak Hemotoksilen-Eozin ile boyamada anlamlı derecede asiner dilatasyon ve atrofi izlendi (p=0.01). Sigara grubunda köpüksü hücreler görüldü.

Tartışma: Sigaranın alt üriner sistem semptomlarına (AÜSS) olan etkisi konusunda görüşü birliği yoktur. Yaptığımız çalışmada sigaranın prostat kasılmasını bariz bir şekilde azalttığını tespit ettik. Bu konuda insanlarda karıştırıcı diğer etkenlerden sakınarak yapılacak çalışmalarla daha net sonuçlar elde edilerek AÜSS'na etkisi tespit edilecektir. Patolojik incelemede prostat kanseri saptamadık, ama tespit ettiğimiz bulgular ileride prostat kanserine dönüşecek olan öncü değişiklikler olabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Sigara, Prostat kasılması, prostat kanseri İmmunohistokimyasal inceleme, Asiner dilatasyon ve Atrofi

ABSTRACT

THE EFFECTS OF SMOKING ON THE PROSTATES OF RATS WHICH ARE EXPOSED TO CIGARETTE SMOKE

Aim: Smoking is an important avoidable health issue concerning human health in the world. The role of smoking in the etiology of cancers and the effects on organ functions have been investigated. The effects of smoking on prostate cancer have also been investigated but there hasn't been any consensus on the issue yet. We investigated the effects of smoking on prostate gland.

Methods: 100 male Wistar Albino rats weighing 200-350 gr were taken and divided into two groups. The smoking group (n=40) were exposed to cigarette smoke for 2 hours per day for 8 weeks with modified Walton cigarette exposing mechanism. The rest were left as control group (n=60). At the end of 8 weeks the rats were sacrificed and the hemoglobin and serum cotinine values were measured. The prostate glands were excised and the dorsolateral strips were prepared for in vitro examinations. After application of carbachol, phenylephrine and 80mM KCl, the contraction values were obtained and calculated as grams. The results were evaluated with Mann-Whitney U test. The prostate tissues were stained with p53, bcl-2, cyclin D and c-erb B2 immunohistochemical and Hematoxylin-Eosin gram staining.

Results: In the smoking group, the mean hemoglobin value was found out as 16.5 mg/dl, and 11.5 mg/dl in the control group respectively. The cotinine values were found out as 76.43 ng/ml in the smoking group and <10 ng/ml in the control group. The prostate contractions in the smoking group were seen significantly lower than the contractions in the control group (p=0.001). In the immunohistochemical investigation of the prostate tissues, no significant difference between the groups were seen; whereas meaningful acinar dilatation and atrophy with Hematoxylin-Eosin staining were found out (p=0.001). Foam cells were observed in the smoking group.

Discussion: There is no consensus on the effects of smoking on LUTS. In our study we determined that smoking significantly decreased the prostate contraction. The results of the human studies on this issue which exclude the other factors will help to clarify the effect of smoking on LUTS. We did not see any prostate cancer in the pathological investigation but we thought the findings we obtained might turn into prostate cancer in the future.

Keywords: Cigarette, Contraction of prostate, Prostatic cancer, Immunohistochemical investigation, Acinar dilatation and atrophy

9 KAYNAKLAR

1. Kumar V, Cotran R.S, Robbins S.L; *Basic Pathology* fifth edition 1992 sayfa:185-192
2. Kuper H, Boffetta P, Adami H.-O; Tobacco use and causation: association by tumour type. *J Int Med* 2002; **252**: 206-224
3. Matzkin H, Soloway MS; Cigarette smoking: a review of possible associations with benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Prostate* 1993; **22(4)**: 277-90
4. Kupeli B, Soygur T, Aydos K, Ozdiler E, Kupeli S: The role of cigarette smoking in prostatic enlargement. *Br J Urol.* 1997; **80(2)**: 201-4
5. Hammarsten J, Hogstedt B: Calculated fast-growing benign prostatic hyperplasia- a risk factor for developing clinikal prostate cancer. *Scand J Urol Nephrol.* 2002; **36(5)**: 330-8
6. Plaskon L.A., Penson D. F., Thomas L. Vaughan, and Janet L. Cigarette Smoking and Risk of Prostate Cancer in Middle-Aged Men. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 2003; **12**:604–9,
7. Hsing AW., McLaughlin JK., Schuman LM, et al: Diet, tobacco use, and fatal prostate cancer: Results from the lutheran brotherhood cohprt study. *Cancer Res* 1990; **50**:6836-40
8. Hiatt RA., Armstrong MA, Klatsky AL., Sidney S.: alcohol consumption, smoking, and other risk factors and prostate cancer in a large health plan cohort in California (USA). *Cancer Causes Control.* 1994; **5**:66-72
9. Adami HO., Bergstrom R., Engholm G, et al; A prospective sutdy of smoking and risk of prostate cancer. *Int J. Cancer* 1996; **67**:764-8

10. Engeland A., Andersen A., Haldorsen T., Tretli S: Smoking habits and risk of cancers other than lung cancer: 28 yaers follow-up of 26000 Norwegian men and women. *Cancer Causes Control* 1996; **7**:497
11. Nomura, A., Heilbrun, L. K., Stemmermann, G. N., and Judd, H. L. Prediagnostic serum hormones and the risk of prostate cancer? *Cancer Res.* 1988; **48**:3515–17
12. Dai, W. S., Gutai, J. P., Kuller, L. H., and Cauley, J. A. Cigarette smoking and serum sex hormones in men. *Am. J. Epidemiol.* 1988; **128**: 796–805
13. Özalp Ülkü : Editör:Özyardımcı Nihat: Sigara dumanının kimyasal bileşimi. *Sigara ve sağlık, Bursa : Uludağ üniversitesi*, 2002; 30-46
14. Kalra J, Chaudhary AK, Prasad K: Increased production of oxygen free radicals in cigarette smokers. *Int J Exp Pathol* 1991; **72**:1-7
15. Mays BW, Freischlag JA, Eginton MT, Cambria RA, Seabrook GR, Towne JB: Ascorbic acid prevents cigarette smoke injury to endothelium-dependent arterial relaxation. *J Surg Res* 1999; **84**:35-9
16. Heitzer T, Just H, Munzel T: Antioxidant vitamin C improves endothelial dysfunction in chronic smokers. *Circulation* 1996; **94**:6-9
17. Büyükuysal R. Levent Editör:Özyardımcı Nihat: Nikotinin Farmakolojisi, *Sigara ve sağlık, Bursa: Uludağ Üniversitesi*, 2002; 93-110
18. Davis JW, Davis RF: Acute effect of tobacco cigarette smoking on the platelet aggregate ratio. *Am J Med Sci* 1979; **278**:139-43
19. Mikhailidis DP, Barradas MA, Jeremy JY, Dandona P: Cigarette smoking inhibits prostacyclin formation. *Lancet* 1983; **2**:627-8
20. Kılıç S. Şebnem : Sigara ve İmmünite, Özyardımcı Nihat : *Sigara ve sağlık, Bursa: Uludağ Üniversitesi*, 2002, 188-193
21. Aydınlar Ali Editör:Özyardımcı Nihat: Sigaranın Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri. *Sigara ve sağlık, Bursa: Uludağ Üniversitesi*, 2002; 206-215
22. Özkalemkaş Fahir Editör:Özyardımcı Nihat: Sigara ve Hematolojik Hastalıklar. *Sigara ve sağlık, Bursa: Uludağ Üniversitesi*, 2002; 322-331
23. Netscher DT, Wigoda P, Thornby J, Yip B, Rappaport NH: The hemodynamic and hematologic effects of cigarette smoking versus a nicotine patch. *Plast Reconstr Surg* 1995; **96**:681-8

24. Haustein KO, Krause J, Haustein H, Rasmussen T, Cort N: Changes in hemorheological and biochemical parameters following short-term and long-term smoking cessation induced by nicotine replacement therapy (NRT). *Int J Clin Pharmacol Ther* 2004; **42**:83-92
25. Nordenberg D, Yip R, Binkin NJ: The effect of cigarette smoking on hemoglobin levels and anemia screening. *JAMA* 1990; **264**:1556-9
26. Galea G, Davidson RJ: Haematological and haemorheological changes associated with cigarette smoking. *J Clin Pathol* 1985; **38**:978-84
27. Cengiz Mete Editör:Özyardımcı Nihat: Sigara ve Periferik Damar Hastalıkları. *Sigara ve sağlık, Bursa: Uludağ Üniversitesi*, 2002; 332-335
28. Astrup P, Kjeldsen K: Carbon monoxide, smoking, and atherosclerosis. *Med Clin North Am* 1974; **58**:323-50
29. Hawkins RI: Smoking, platelets and thrombosis. *Nature* 1972; **236**:450-2
30. Cryer PE, Haymond MW, Santiago JV, Shah SD: Norepinephrine and epinephrine release and adrenergic mediation of smoking-associated hemodynamic and metabolic events. *N Engl J Med* 1976; **295**:573-7
31. Hecht SS, Hoffmann D. Tobacco-specific nitrosamines, an important group of carcinogens in tobacco and tobacco smoke *Carcinogenesis* 1988; **9**:875-84
32. Peluso M, Amasio E, Bonassi S, Munnia A, Altrupa F, Parodi S. Detection of DNA adducts in human nasal mucosa tissue by 32P postlabelling analysis. *Carcinogenesis* 1997; **18**: 399-444
33. Denissenko MF, Pao A, Tang MS, Pfeifer GP. Preferential formation of benzo[a] pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in p53. *Science* 1996; **274**:430-2
34. Friedberg EC, Walker GC, Siede W. In DNA repair and mutagenesis. *Am.Soc.Microbiol.* 1995: 39-41
35. Rodin SN, Rodin AS. Human lung cancer and p53:the interplay between mutagenesis and selection. *Proct Natl Acad Sci* 2000; **97(22)**:12244-9
36. Kuroda Y, Tsukino H, Nakao H, Imai H, Katoh T. P53 codon 72 polymorphism and urthelial cancaer risk. *Cancer letters* 2003;**189**:77-83

37. Golusinski W, Olofsson J, Szymeja Z, Szyfter K, Szyfter W, Biczysko W, Hemminki K. Alteration of p53 gene structure and function in laryngeal squamous cell cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1997;**254 Suppl.1**:133-7
38. Matsuzoe D, Hideshima T, Iwasaki A, Yoneda S, Kawahara K, Shirakusa T, Kimura A. Glutathione S-transferase mu1 null genotype is associated with K-ras gene mutation in lung adenocarcinoma among smokers. *Carcinogenesis* 2001; **22(8)**:1327-1330.
39. Piipari R, Savela K, Nurminen T et all. Expression of CYP1A1, CYP1B1 and CYP3A, and polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adduct formation in bronchoalveolar macrophages of smokers and non-smokers. *Int J cancer* 2000; **86**:610-616.
40. Hou SM, Falt S, Nyberg F. Glutathione S-transferase T1- null genotype interacts synergistically with heavy smoking on lung cancer risk. *Environ.Mol.Mutagen.*2001; **38**:83-86
41. Therriault MJ, Proulx LI, Castonguay A, Bissonnette EY. Immunomodulatory effects of the tobacco-specific carcinogen, NNK, on alveolar macrophages. *Clin Exp Immunol* 2003; **132(2)**:232-8.
42. Park M: Oncogenes, “*The Genetic Basis of Human Cancer*, editörler: Vogelstein B, Kinzler KW, McGraw Hill, New York(1998)”, sayfa: 205
43. Fearon ER: Tumor Suppressor Genes, “*The Genetic Basis of Human Cancer*, editörler: Vogelstein B, Kinzler KW, McGraw Hill, New York(1998)”, sayfa 229.
44. Knudson AGJR: Mutation and cancer: Statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971;**68**:820-3
45. Linzer DI, Maltzman W, Levine AJ: The SV40 A gene is required for the production of a 54,000 MW cellular tumor antigen. *Virology* 1979; **98**:308-18
46. Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM, Hamilton SR, Preisinger AC, Jessup JM, vanTuinen P, Ledbetter DH, Barker DF, Nakamura Y: Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science* 1989; **244**:217-21
47. Hainaut P: Tumor-specific mutations in p53: the-acid test. *Nat Med* 2002; **8**:21

48. On Line Mendelian Inheritance in Man (<http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/Omim>): TUMOR PROTEIN p53; TP53 (191170)
49. Malkin D: The Li-Fraumeni Syndrome, “*The Genetic Basis of Human Cancer*, editörler: Vogelstein B, Kinzler KW, McGraw Hill, New York(1998)”, sayfa: 393
50. Soengas MA, Capodict P, Polsky D, Mora J, Esteller M, Opitz-Araya X, McCombie R, Herman JG, Gerald WL, Lazebnik YA, Cordon-Cardo C, Lowe Sc: Inactivation of the apoptosis effector *Apaf-1* in malignant melanoma. *Nature* 2001; **409**:207-11
51. Heidenberg HB, Bauer JJ, McLeod DG, Moul JW, Srivastava S. The role of the p53 tumor suppressor gene in prostate cancer: a possible biomarker? *Urology* 1996; **48(6)**:971-79
52. Shurbaji MS, Kalbfleisch JH, Thurmond TS. Immunohistochemical detection of p53 protein as a prognostic indicator in prostate cancer. *Hum Pathol* 1995; **26**:106-9
53. Ittmann M, Wiczorek R, Heller P, Dave A, Provet J, Krolewski J. Alterations in the p53 and mdm-2 genes are infrequent in clinically localized, stage B prostate adenocarcinomas. *Am J Pathol* 1994; **145(2)**:287-93
54. VanVeldhuizen PJ, Sadasivan R, Garcia F, Austenfield MD, Stephens RL. Mutant p53 expression in prostate carcinoma. *Prostate* 1993; **22**:23-30
55. Chen BT, Weber RE, Yeh HC, Lundgren DL, Snipes MB, Mauderly JL: Deposition of cigarette smoke particles in the rat. *Fundam Appl Toxicol* 1989; **13**:429-38,
56. Jemal, A., Thomas, A., Murray, T., Thun, M. Cancer statistics, 2002. *CA-Cancer J. Clin.* 2002; **52**: 23-47.
57. Hickey K, Do K-A and Gren A: Smoking and prostate cancer. *Epidemiol Rev.* 2001; **23**:115-25
58. Ferrini, R. L., and Barrett-Connor, E. Sex hormones and age: a cross-sectional study of testosterone and estradiol and their bioavailable fractions in communitydwelling men. *Am. J. Epidemiol.*, 1998; **147**:750–754.
59. Moore RJ., Gazak JM., Quebbeman JF., et al: Concentration of dihydrotestosteron and 3beta-androstenoion in naturally occurring and

- androgen induced prostatic hyperplasia in the dog. *J. Clin. Invest* 1979; **64**:1003-10
60. Glynn RJ., Campion EW., Bouchard GR., Silbert JE,: The development of benign prostatic hyperplasia among volunteers in the normative aging study. *Am. J. Epidemiol* 1985; **121**:78-90
 61. Seitter WR., Barrett-Connor E: Cigarette smoking obesity, and benign prostatic hypertrophy: A prospective population-based study. *Am. J. Epidemiol* 1992; **135**:500-3
 62. Roberts RO, Jacobsen SJ, Rhodes T, Guess HA, Girman CJ, Panser LA, Chute CG, Oesterling JE, Lieber MM.: Cigarette smoking and prostatism: a biphasic association?. *Urology*. 1994; **43(6)**:797-801
 63. Lawrence WT, Murphy RC, Robson MC, Hegggers JP: The detrimental effect of cigarette smoking on flap survival: an experimental study in the rat. *Br J Plast Surg* 1984; **37**:216-9
 64. Kaufman T, Eichenlaub EH, Levin M, Hurwitz DJ, Klain M: Tobacco smoking: impairment of experimental flap survival. *Ann Plast Surg* 1984; **13**:468-72
 65. Craig S, Rees TD: The effects of smoking on experimental skin flaps in hamsters. *Plast Reconstr Surg* 1985; **75**:842-6
 66. Nolan J, Jenkins RA, Kurihara K, Schultz RC: The acute effects of cigarette smoke exposure on experimental skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 1985; **75**:544-51
 67. van Adrichem LN, Hoegen R, Hovius SE, Kort WJ, van Strik R, Vuzevski VD, van der Meulen JC: The effect of cigarette smoking on the survival of free vascularized and pedicled epigastric flaps in the rat. *Plast Reconstr Surg* 1996; **97**:86-96,
 68. Yardimci S, Atan A, Delibasi T, Sunguroglu K, Guven MC: Long-term effects of cigarette-smoke exposure on plasma testosterone, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone levels in male rats. *Br J Urol* 1997; **79**:66-9,
 69. Guven MC, Can B, Ergun A, Saran Y, Aydos K: Ultrastructural effects of cigarette smoke on rat testis. *Eur Urol* 1999; **36**:645-9,

70. Kayaalp S.O, Güven H: Nikotin ve gangliyonları stimüle eden diğer ilaçlar, gangliyon bloke edici ilaçlar. *Tıbbi Farmakoloji* [Onuncu baskı]. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti, 2002: 1141-1150
71. Rohrmann S, Crespo C.J, Weber JR, Smit E, Giovannucci E and Platz E.A: Association of cigarette smoking, alcohol consumption and physical activity with lower urinary tract symptoms in older American men: findings from the third National Health And Nutrition Examination Survey: *BJU International*. 2005; **96**:77-82
72. Nomura, A., Heilbrun, L. K., Stemmermann, G. N., and Judd, H. L. Prediagnostic serum hormones and the risk of prostate cancer? *Cancer Res*. 1988; **48**:3515–17
73. Gann, P. H., Hennekens, C. H., Ma, J., Longcope, C., and Stampfer, M. J: Prospective study of sex hormone levels and risk of prostate cancer. *J. Natl. Cancer Inst. (Bethesda)*, 1996; **88**: 1118–26
74. Ye, J., Wang, S., Barger, M., Castranova, V., and Shi, X. Activation of androgen response element by cadmium: a potential mechanism for a carcinogenic effect of cadmium in the prostate. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 2000; **19**:275–280
75. Waalkes, M. P. Cadmium carcinogenesis in review. *J. Inorg. Biochem*. 2000; **79**:241–244
76. Wang CY, Debiec-Rychter M, Schut HA, Morse P, Jones RJ, Archer C, et al. N-acetyltransferase expression and DNA binding of N-hydroxyheterocyclic amines in human prostate epithelium. *Carcinogenesis* 1999; **20**:1591–1595
77. Macoska JA., Trybus TM., Wojno KJ: 8p22 loss concurrent with 8c gain is associated with poor outcome in prostate cancer. *Urology* 2000; **55**:776
78. Cher ML., Bova GS., Moore DH., et al: Genetic alterations in untreated metastases and androgen-independent prostate cancer detected by comparative genomic hybridization and allelotyping. *Cancer Res*. 1996; **56**:3091
79. Craft N., Shostak Y., Carey M., Sawyers CL: A mechanism for hormone receptor signaling by the her-2/neu tyrosine kinase. *Nat. Med*. 1999; **5**:280
80. Humphrey, P.A, Kaleem, Z., Swanson, P.E., Vollmer, R.T: Pseudohyperplastic Prostatic Adenocarcinoma. *Am. J. of Surgical Pathology*. 1998; **22**:1239-1246

81. Arista-Nasr J, Martinez-Benitez B, Valdes S, Hernandez M, Bornstein-Quevedo L: Pseudohyperplastic prostatic adenocarcinoma in transurethral resections of the prostate. *Pathol Oncol Res.* 2003; **9**:232-5

