

# İnsan Mesanesinde Benign Prostat Hipertrofisi Sonucunda Ortaya Çıkan Sinir Değişiklikleri

## NEURONAL CHANGES IN HUMAN BLADDER WITH BENIGN PROSTATIC HYPERTROPHY

S. Tuna KARAHAN\*, Bizden Tavil SABUNCUOĞLU\*\*, Belgin CAN\*\*

\* Doç.Dr.,Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi AD,

\*\* Uz.Dr.,Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, ANKARA

### Özet

Mesane dolma fazı sırasında normalde yavaş olarak gevşeme özelliğine sahiptir. Bu sırada içerisindeki basınçta da fazla bir artış olmaz. Ancak bu kademeli gevşemenin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Benign prostat hipertrofisi (BPH) 60 yaş erkeklerinin %50'sinde, 80 yaş üzerinde %100'ünde görülmektedir. BPH'lı olguların büyük bölümünde ise uninhibe detrussor kontraksiyonları adı verilen kasılmalar olmaktadır. Bu durumdan mesanenin kademeli gevşeme mekanizması bozukluğu sorumlu tutulmaktadır. Bu çalışmada düz kas gevşetici özelliği olan nitrik oksit'i sentezleyen enzim olan nitrik oksit sentaz ile hemen aynı enzim olan NADPH-Diaphorase ile boyanan BPH'lı 8 ve normal 2 olguya ait mesanelerden alınan detrussor örnekleri histokimyasal olarak incelendi. Hem kontrol hem de BPH'lı olgulara ait preparatlarda detrussor'da NADPH-Diaphorase ile boyanma gösteren sinirlerin kas demetleri arasında genişlemeler gösterdikleri izlendi. NADPH-Diaphorase ile boyanan sinir demetlerinin BPH'lı olgularda kontrol ile karşılaştırıldığında çevre bağ dokusunda ve kas demetleri arasında azalma gösterdiği belirlendi. Bu bulgulara dayanarak BPH'lı olgularda mesane gevşemesindeki bozukluğun nitrik oksit miktarındaki azalmaya bağlı olabileceğini düşünyörüz.

**Anhtar Kelimeler:** Nitrik oksit, Detrussor kası, NADPH-Diaphorase, Histokimya, Bening prostat hipertrofisi

T Klin Tıp Bilimleri 1998, 18:304-308

### Summary

Normally, the bladder relaxes slowly during the filling phase. During this phase, its internal pressure does not rise too much. By the way, the gradually relaxation mechanism of bladder is not known throughly. Benign prostatic hypertrophy is seen in 50% of men over age 60, and 100% of men over age 80. Contractions, called as "uninhibited detrussor contractions" are seen in many of the benign prostatic hypertrophy patients. The reason of these contractions is thought to be the deficiency in the gradually relaxation mechanism of the bladders. In this study, bladder's detrussor samples of 8 BPH patients and 2 normal controls were stained with NADPH-Diaphorase which is almost the same enzyme with nitric oxide synthase, the enzyme which synthesis nitric oxide. These preparations were examined hystochemically. In both control and BPH patients' preparations, varicosities of nerves, which were stained with NADPH-Diaphorase were seen between the muscle bundles. When the NADPH-Diaphorase stained nerve fibres of BPH patients compared with the normal controls, a decrease in the neighbouring connective tissue and between the muscle bundles were seen. In the light of these findings, we think that the relaxation dysfunction of bladder, which is seen in BPH patients, may be due to the decrease in nitric oxide.

**Key Words:** Nitric oxide, Detrussor, NADPH-Diaphorase, Histochemistry, Benign prostatic hypertrophy

T Klin J Med Sci 1998, 18:304-308

Mesanenin dolma fazı sırasında içerisindeki basıncı fazlaca arttırmadan hacmini arttırabilmesi

**Geliş Tarihi:** 30.07.1998

**Yazışma Adresi:** Dr.S. Tuna KARAHAN  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Anatomi AD  
Morfoloji Binası  
Sihhiye, TR-06100 ANKARA

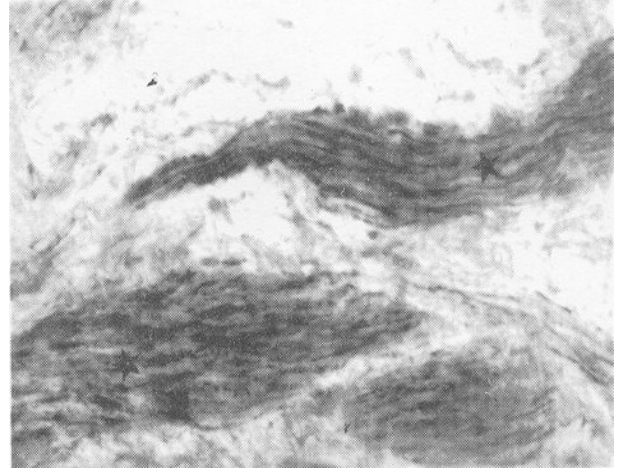
kademeli olarak gevşemesine bağlanmaktadır (1, 2). Benign prostat hipertrofisi 60 yaş civarı erkeklerin %50'sinde, 80 yaş üzerinde ise %100'ünde görülen en sık neoplasmdır (3). Bu hastaların 3/4'ünde ise uninhibe mesane kontraksiyonları adı verilen ve mesane tam olarak dolmadan mixion ihtiyacı yaratan kasılmalar ortaya çıkar (4). Ayrıca urodinamik incelemeler sırasında mesane kapasitesinde de bir azalma olduğu görülür. Uninhibe

detrussor kontraksiyonlarının ve mesane hacmi azalmasının altında yatan nedenler henüz tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir (2). Bunun için mesane duvarında yer alan elemanlar incelenmiş ve incelenmeye devam etmektedir (5-7). Mesanenin normalde doluşu sırasındaki gevşemesinden hareket eden araştırmacılar Benign prostat hipertrofisi sırasında ortaya çıkan şikayet ve bulguların kademeli gevşeme mekanizmasındaki bozukluktan kaynaklanabileceği üzerinde durmaktadırlar (8,9). Bu gevşemeden sorumlu maddelerden olan nitrik oksit'in (NO) etkilerinin farklı yöntemlerle incelenmesi sonucunda trigonum vesicae ve urethra'daki gevşetici etkileri üzerinde fikir birliği oluşmasına rağmen detrussor kasındaki etkileri konusunda henüz bir birliktelik oluşmamıştır (10,11).

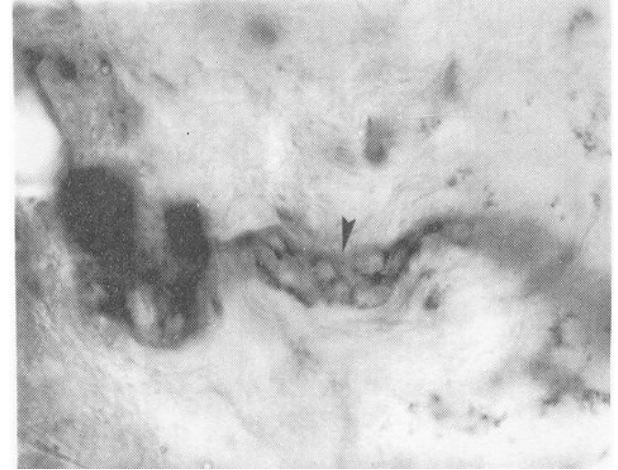
Bu çalışmada NO'nun farklı dokulardaki gevşetici etkisinden hareket ederek, BPH'lı hastalardan alınan m. detrussor vesicae örneklerinde nitrik oksit sentaz (NOS) içeren sinirlerin dağılımında değişiklik olup olmadığı incelendi. Bu amaçla periferik sinirlerde daha önceki çalışmalarda (12) NOS'a oldukça benzer dağılım gösterdiği belirlenen NADPH-Diaphorase yöntemi kullanıldı.

### Materyel ve Metod

Çalışmada kompanse dönemdeki benign prostat hipertrofili 8 hastadan açık prostatektomi sırasında alınan m. detrussor vesicae ve kontrol amacıyla 2 hastadan (infravesikal obstrüksiyonu olmayan, subtotal veya total sistektomi yapılan) alınan m. detrussor vesicae örnekleri kullanıldı. Bu mesane örnekleri organın corpus bölümüne aitti. Benign prostat hipertrofili olguların yaşları 66 ila 80 arasında değişmekteydi. Kontrol olgularının yaşları ise 44 ve 68 idi. Alınan parçalar Krebs solusyonu içinde yıkandıktan sonra Cryostat ile 8-12µ kalınlığında seri olarak kesilerek chromalaungelatin kaplı lamlara alındı. Bunu takiben NADPH-Diaphorase histokimyasal yöntemi ile boyandı. Bu amaçla 0,25 mg/ml nitrobluetetrazolium (Sigma, N-6876) ve 1 mg/ml β-NADPH'nın (Sigma, N-6505) Triton-X-100-Tris Buffer içindeki solusyonu kullanıldı. Preparatlar nemli ortamda, oda sıcaklığında ve karanlıkta reaksiyona tabi tutuldu. Mikroskop kontrolü altında koyu mavi renk oluştuğunda reaksiyon durdurularak dehidrate edilen preparatlar entellan ile kapatıldı.



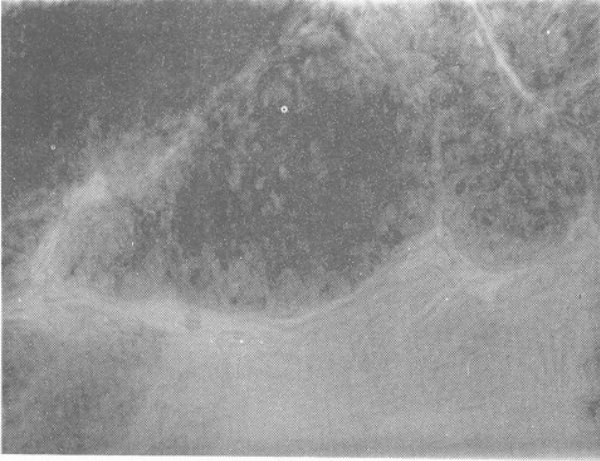
Şekil 1. Kontrol preparatlarında kas demetleri arasında kalın demetler yapan sinirler (\*) izleniyor (NADPH-Diaphorase, X600).



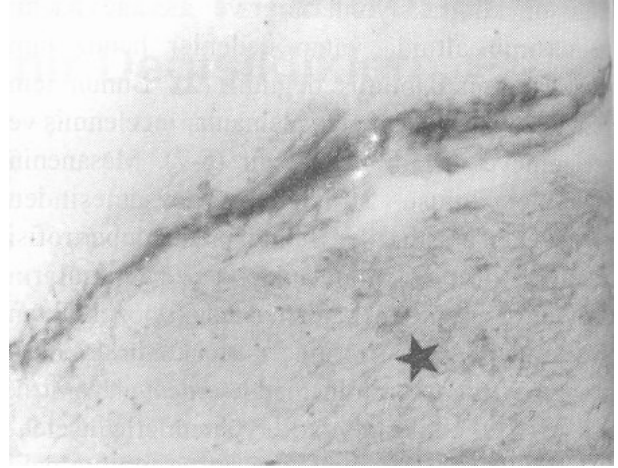
Şekil 2. Kontrol preparatında içerisinde boyanmamış hücrelerin bulunduğu ganglion (ok başı) izleniyor (NADPH-Diaphorase, X600).

### Bulgular

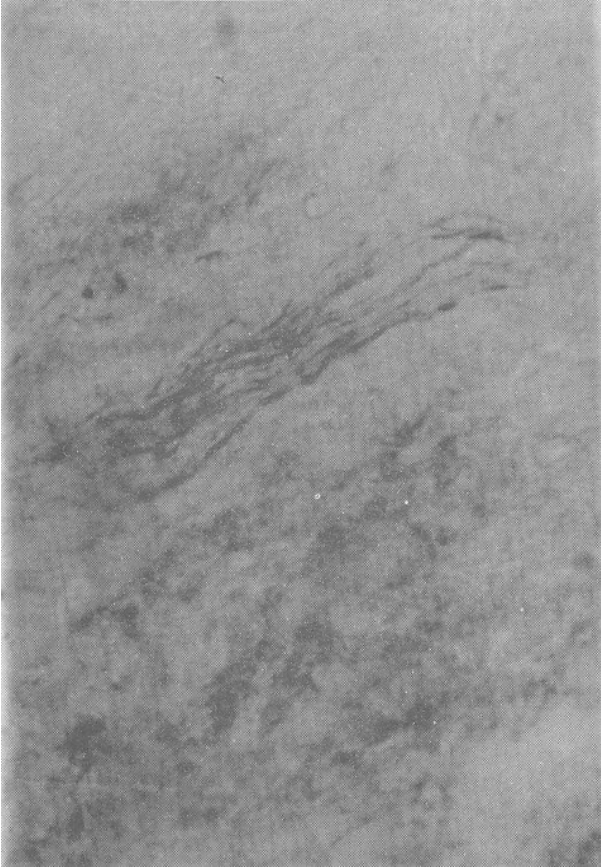
Kontrol preparatlarında mesane duvarındaki kas demetlerinin çevresindeki bağ dokusunda kalın demetler halinde ilerleyen sinirler izlendi (Şekil 1). Bu sinir demetlerinde NADPH-Diaphorase ile boyanan sinir hücreleri gözlemlendi. Bunların yanı sıra boya almayan hücrelere ait boşluklar mevcuttu. Bağ dokusu içerisinde yerleşmiş ganglionlar tesbit edildi (Şekil 2). Farklı alanlarda düz kas demetleri içinde benzer yoğunlukta ve belirgin boyanma izlendi (Şekil 3). Benign prostat hipertrofili gruptan elde edilen mesane örneklerinde kas demetleri



**Şekil 3.** Kontrol preparatında hemen tüm kas demetleri (\*) aynı boyanmaktadır (NADPH-Diaphorase, X380).



**Şekil 5.** BPH'lı grupta düz kas demetlerinde (\*) belirgin boyanma izlenmiyor (NADPH-Diaphorase, X380).



**Şekil 4.** BPH'lı grupta kas demetleri arasındaki bağ dokusunda uzanan sinir demetlerinde (\*) boyanmada azalma izleniyor (NADPH-Diaphorase, X600).

çevresindeki bağ dokusunda uzanan sinir demetlerinde NADPH-Diaphorase ile boyanmada azalma gözlemlendi (Şekil 4). Benign prostat hipertrofili

olgularda düz kas demetlerinde kontrol grubundaki gibi belirgin bir boyanma gözlenemedi (Şekil 5).

### Tartışma

Farklı canlılarda mesane duvarında sinir ve ganglionların varlığı konusunda değişik yayınlar vardır (13). Gabella kobaylarda yaptığı çalışmada mesanenin hemen her yerinde farklı yoğunluklarda olmakla birlikte dağılmış neuronları gösterebilmiştir (14). Farklı deney hayvanlarında yapılan incelemelerde sinirlerin damarların etrafında organa geldikleri ve organ duvarında yerleşmiş olan fasiküllerin içlerinde ve etrafında dağıldıkları ve bunların çoğunluğunun kolinerjik oldukları, ancak sekonder transmitterlere ait küçük vesiküllerin de bulunduğunu belirtilmiştir (15).

Çeşitli neurotransmitterler mesane detrussor kası üzerinde etkiye sahiptirler (16). Bunların çoğu detrussorda kastırıcı etkiye sahiptir (ATP, SP, Bombesin, Bradykinin). Ancak infravesikal obstrüksiyona sahip hayvanlara ait mesaneler üzerinde yapılan incelemelerde yalnızca SP ve VIP kontraksiyon değişikliklerine bakarak mesane instabilitesinin açıklanması mümkün değildir (8). Mesane düz kasının mikroskopik incelemeleri sırasında VIP'in varlığı gösterilmiştir. Ancak farmakolojik olarak yapılan deneylerde infravesikal obstrüksiyonlu sıçanlarda VIP konsantrasyonunun normale göre artmış bulunmasına rağmen izole detrussor stripleri üzerinde herhangi bir gevşetici ya da kastırıcı etki ortaya çıkartmadığı izlenmiştir (8, 17).

NADPH-Diaforaz ile boyanan sinir yapılarının m. detrussor da bulunmadığı yönünde görüş belirten araştırmacılar gevşeme yanıtını izlenen yoğun NADPH-Diaforaz boyanması ve farmakolojik deney sonuçlarına dayanarak mesane çıkışı bölgesinde yerleşmiş olan pace-maker görevi yapan sinir hücrelerine bağlanmaktadır (18). Ancak mesane gövdesinde boyanma olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (11). Grozdanovic ve ark sıçan ve farede m. detrussor vesicae örneklerinde NOS + boyanmayı göstermişlerdir (19). Persson ve ark. sıçan detrussor kasında yaptıkları çalışmada L.Arginine'den NO yapımı bloke edildiğinde kastaki aktivitenin arttığını gözlemlemişlerdir (20). Ancak yine de sonuçlarının mesane çıkışı için anlamlı olduğunu, fakat detrussor için soru işaretleri içerdiğini belirtmektedirler. Yine Andersson review çalışmasında detrussor üzerinde NO'nun doğrudan gevşetici etkiye sahip bir neurotransmitter olmadığını buna karşın ACh üzerinden kas tonusunu düzenlemek suretiyle etkili olabileceğini belirtmektedir (2, 18). NOS+ sinirler insan ve kobayda mesane gövdesi ve boynunda izlenmiştir. Detrussor ve urethra'daki düz kaslar etrafında NOS+ sinirler gözlenmiştir. Ayrıca yine duvar içerisinde NOS + boyanma gösteren sinir hücrelerine ait gövdeler de saptanmıştır. Bunun sıçan, koyun ve domuz ile çelişki oluşturduğunu ancak bu çelişkinin türler arası farktan kaynaklanabileceğini söylemektedirler (21).

Nitrerjik sinirlerin özellikle urothel içinde veya yakınında görülmesi bu sinirlerin afferent fonksiyonu olduğunu düşündürmektedir. Yine aynı çalışmada detrussorun NO sensitivitesinin ve cGMP üzerinden etkinin düşük olması detrussor'un direk gevşemesine olan etkiyi düşündürmese de NO'nun diğer neurotransmitterlerin etkisini module edebileceği olasılığını ortadan kaldırmadığını ifade etmektedirler (9). Çalışmamızda bu sinirlerin kas demetleri arasında da kalın demetler yapmaları ve variköz yapılar içermeleri nedeniyle efferent görevlerinin de önemli olduğunu düşünüyoruz.

Herhangi bir sinir ayırımı yapmaksızın mesane çıkışı yolu tıkanıklığı olan vakalar üzerinde yapılan çalışmalar her mm<sup>2</sup> alanda otonom sinir miktarının azaldığını göstermektedir (22). Domuzlardaki bir çalışma ise obstruction süresi uzadıkça sinir yoğunluğunun azaldığını ortaya koymuştur (23). Gosling

ve ark outflow obstruction olan vakalardan aldıkları biopsiler üzerinde yaptıkları ışık ve EM incelemeleri sonucunda detrussorda mm<sup>2</sup> alana düşen otonom sinir miktarında azalma gözlemlemişlerdir (22). Ancak burada otonom sinirlerden kastedilen ACh içeren sinirlerdir.

Mesane instabilitesi ve hacim azalmasını inceleyen araştırmacılar sıçanlardan alınan detrussor örneklerinde NO/L.Arg yolağını L.NNMA ile bloke ettiklerinde kastaki aktivitenin arttığını gözlemlemişlerdir (20). Ancak sonuçlarının yine de soru işaretleri taşıdığını belirtmektedirler. Domuzlarda yapılan bir çalışmada sinir yoğunluğu ile obstruction süresi arasında ters orantı olduğunu ortaya konulmuştur (23).

Daha önceki morfolojik ve farmakolojik çalışmalarda da NO'nun detrussor kası üzerindeki etkileri açık olarak ortaya konulamamıştır. Hem normal hem de benign prostat hipertrofi olgularda kas demetleri arasında ilerleyen sinir liflerinin genişlemeler göstermesi nitrik oksit detrussor kası üzerinde etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca benign prostat hipertrofi olgulara ait detrussor örnekleri kontrol ile karşılaştırıldığında organa gelen ve duvar içindeki kas demetleri arasındaki NADPH ile boyanan sinirlerde ve sinir hücrelerinde azalma saptandı. Tüm bunlara dayanarak nitrik oksit detrussor kası üzerindeki etkilerinin daha ileri incelemelere gereksinimi olduğunu düşünüyoruz.

## KAYNAKLAR

1. James MJ, Birmingham AT, Bates CP. Relaxation of human isolated detrussor strips in response to electrical field stimulation: a possible role for nitric oxide in the human bladder. *J Urol* 1991; 145: 307A, abstract 380.
2. Andersson KE, Persson K. The L-arginine / nitric oxide pathway and non-adrenergic, non-cholinergic relaxation of the lower urinary tract. *Gen Pharmac* 1993; 24: 833-9.
3. Isaacs JT. Importance of the natural history of benign prostatic hyperplasia in the evaluation of pharmacologic intervention. *Prostate* 1990; 3: 1-7.
4. Abrams PH. Detrussor instability and bladder outlet obstruction. *Neurourology and Urodynamics* 1985; 4: 317-28.
5. Gilpin SA, Gosling JA, Barnard RJ. Morphological and morphometric studies of the human obstructed, trabeculated urinary bladder. *Br J Urol* 1985; 57: 525-9.

6. Klarskow P, Gerstenberg TC, Ramirez D, Hald T. Non cholinergic, non adrenergic nerve mediated relaxation of trigone, bladder neck and urethral smooth muscle in vitro. *J Urol* 1983; 129: 848-50.
7. Uvelius B, Mattiasson A. Collagen content in the rat urinary bladder subjected to infravesical outflow obstruction. *J Urol* 1984; 132: 587-90.
8. Andersson PO, Andersson K-E, Fahrenkrug J, Mattiasson A, Sjögren C, Uvelius B. Contents and effects of substance P and vasoactive intestinal polypeptide in the bladder of rats with and without infravesical outflow obstruction. *J Urol* 1988; 140: 168-72.
9. Andersson KE, Persson K, Nitric oxide synthase and nitric oxide-mediated effects in lower urinary tract smooth muscles. *World J Urol* 1994; 12: 274-80.
10. Keast JR. A possible neural source of nitric oxide in the rat penis. *Neurosci Lett* 1992; 143: 69-73.
11. Mc Neill DL, Traugh NE Jr, Vaidya AM, Hua HT, Papka RE. Origin and distribution of NADPH-diaphorase positive neurons and fibers innervating the urinary bladder of the rat. *Neurosci Lett* 1992; 147:33-6.
12. Zhou Y, Tan CK, Ling EA. Distribution of NADPH-Diaphorase and nitric oxide synthase-containing neurons in the intramural ganglia of guinea pig urinary bladder. *J Anat* 1997; 190: 135-45.
13. Duarte-Escalante O, Labay P, Boyarsky S. The neurohistochemistry of mammalian ureter: a new combination of histochemical procedures to demonstrate adrenergic, cholinergic and chromaffin structures in ureter. *J Urol* 1969; 101: 803-11.
14. Gabella G. Intramural neurons in the urinary bladder of guinea-pig. *Cell Tissue Res* 1990; 261: 231-7.
15. Hoyes AD, Barber P, Martin BGH. Comparative ultrastructure of the nerves innervating the muscle of the body of the bladder. *Cell Tissue Res* 1975;164: 133-44.
16. Hoyle CHV. Non-adrenergic, non-cholinergic control of the urinary bladder. *World J Urol* 1994; 12: 233-44.
17. Crowe R, Burnstock G. A histochemical and immunohistochemical study of the autonomic innervation of the lower urinary tract of the female pig. Is the pig a good model for the human bladder and urethra? *J Urol* 1989; 141: 414-22.
18. Andersson KE. Pharmacology of lower urinary tract smooth muscles and penile erectile tissues. *Pharmacological Reviews* 1993; 45: 253-308.
19. Grozdanovic Z, Baumgarten HG, Brüning G. Histochemistry of NADPH-Diaphorase, a marker for neuronal nitric oxide synthase, in the peripheral autonomic nervous system of the mouse. *Neuroscience* 1992; 48: 225-35.
20. Persson K, Igawa Y, Mattiasson A, Andersson KE. Effects of inhibition of the L-arginine / nitric oxide pathway in the rat lower urinary tract in vivo and in vitro. *Br J Pharmacol* 1992; 107: 178-84.
21. Smet PJ, Jonavicius J, Marshall VR, De Vente J. Distribution of nitric oxide synthase-immunoreactive nerves and identification of the cellular targets of nitric oxide in guinea-pig and human urinary bladder by cGMP immunohistochemistry. *Neuroscience* 1996; 71:337-48.
22. Gosling JA, Gilpin SA, Dixon JS, Gilpin CJ. Decrease in the autonomic innervation of human detrusor muscle in outflow obstruction. *J Urol* 1986; 136: 501-4.
23. Speakman MJ, Brading AF, Gilpin CJ, Dixon JS, Gilpin SA, Gosling JA. Bladder outflow obstruction - a cause of denervation supersensitivity. *J Urol* 1987; 138: 1461-66.