

BPH VE PROSTAT KANSERİNDE PSA İLE KAN NİTRİKOKSİT (NO) DEĞERLERİNİN KORELASYONU

THE CORRELATION BETWEEN PSA AND NITRIC OXIDE VALUE IN BPH AND PROSTATIC CANCER PATIENTS

Ferruh K. İŞMAN*, M. B. Can BALCI**, İsmet HAZAR**, İnanç YILMAZ**, Ferhan FETTAHOĞLU*

* Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı, İSTANBUL

** Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği, İSTANBUL

ABSTRACT

Introduction: New methods for early diagnosis and treatment of prostate cancer are continuously being developed. The large majority of prostate cancers and also benign prostate hyperplasi (BPH) are detected, via prostate- specific antigen (PSA) screening. However, management policies for patients with PSA levels in the so called “gray zone”, i.e. between 2.5-10ng/ml are not clear. PSA density, PSA velocity, Free/Total PSA, complex PSA and age adjusted PSA levels have been suggested as adjuvant markers for treatment decisions for these patients. Nitric oxide (NO) was first introduced by Furcatt and Zawadzki in 1980 as a vasodilator which is secreted by endothelium. NO produced by the enzyme nitric oxide synthase during the transformation of L-arginin to L-sitrulin. NO has many functions in the body; smooth muscle relaxation, inhibition of aggregation of thrombocytes, acting as a neurotransmitter in the brain, as well as having a role in inflammation and immunology. The inducible NOS (i-nos) isn't calcium dependent-analysis particularly found in thrombocytes and the liver. Its release is stimulated by bacterial endotoxins and cytokines. In this prospective study our objective was to search for a probable correlation between various PSA levels and NO levels in BPH, prostate cancer and other urinary tract malignancies.

Materials and Methods: Between August 2001 and February 2002, 90 male patients with LUTS and 15 healthy volunteers (age 70±15) were included in this study. These patients didn't have acute infection. Those using nitrates were excluded. Urinary obstruction was diagnosed by uroflowmetry and 90 patients were introduced to the study prospectively. Patients were categorized in 7 groups as follows; control, BPH (2 groups; first PSA 2.5-10 and second 10 ng/ml and higher), P Ca (3 groups; first, PSA 2.5-10, second 10 ng/ml and higher, and thirdly; patients who underwent radical prostatectomy), and other urinary tract malignancies. Each group consisted of 15 cases and each case had histopathologic correlation. All the serum samples were frozen at -70°C before they were used. Serum total PSA levels were identified using electrochemiluminescence (ECL) method with roche 2010 system. Serum NO levels were measured using the reduction of nitrate to nitrite which can be measured after a colorimetric reaction with Griess reagent.

Results: NO value for the control group was 4.55±1.57 uM. PSA values for the first BPH group was 6.44±2.84 uM and for the second BPH group it was 6.47±2.41 uM. PSA values for 3 P Ca groups were 8.88±5.34 uM, 7.74±3.49 uM, 5.56±1.81 uM respectively. NO levels were statistically significantly high in BPH, P Ca and other urinary tract malignancies (p<0.01). NO increased in the BPH group did not correlate with PSA. NO increase was higher in P Ca and other urinary tract malignancies when compared to BPH. NO increase in P Ca cases with PSA levels 2.5-10 ng/ml was statistically significantly higher than those with PSA levels 10 ng/ml and higher. There was a statistically significant decrease in NO levels in patients who underwent radical cystoprostatectomy by the post operative third month (PSA: 0.01±0.01 ng/ml). There was no statistically significant difference with in the control group.

Conclusion: Our results show that NO levels increase both in BPH and other urinary tract malignancies; the increase is higher in malignancies. Significant decrease in NO levels in patients that had undergone radical prostatectomy suggests that there might be a correlation between NO levels and carcinoma.

Key words: NO, PSA, Prostate cancer

ÖZET

Nitrik oksit (NO) organizmada nitrik oksit sentaz katalizörülüğünde L-Arginin.L-Sitrulin dönüşümü esnasında oluşturulur ve genitouriner sistemin sekretuar fonksiyonunda, düz kas tonus regülasyonunda yer alan bir mediatördür. PSA prostat hücre stoplazmasında salgılanan 33kD molekül ağırlığında bir glikoproteindir. Serin proteazdır.

Çalışmamızda, BPH, Prostatik karsinoma ve diğer üriner sistem tümörlü hastaların farklı PSA değerlerine göre serum NO değerlerini karşılaştırdık. Ağustos 2001-Şubat 2002 tarihleri arasında hastanemize AUSS ile başvuran 90

erkek hasta ve 15 sağlıklı erkek gönüllü (yaş 70±15) çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalar, kontrol, BPH (PSA: 2,5-10 ve 10 ng/ml üstü olmak üzere 2 grup), PCa (2,5-10, 10 ng/ml üstü ve radikal prostatektomili grup olmak üzere 3 grup) ve diğer üriner sistem tümörleri olarak 7 ayrı grupta toplanmaktadır. Her grupta olgu sayısı 15'tir. Tüm olguların tanıları patolojik olarak doğrulanmıştır. Serum PSA değeri ECL yöntemi ile ölçülürken serum NO değerleri nitrat-nitrit indirgeme metodu ile Griess ayracı kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

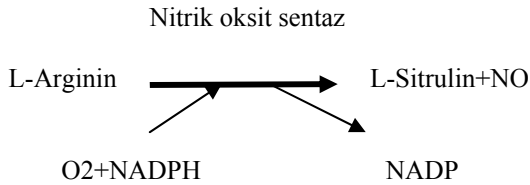
NO değerleri kontrol grubu için 4,55±1,57uM; BPH 1.grup (PSA: 2,5-10) 6,44±2,84uM; BPH 2.grup (PSA 10'dan büyük) 6,47±2,41uM; PCa1.grup (PSA: 2,5-10) 8,88±5,34 uM; PCa 2.grup (PSA 10'dan büyük) 7,74±3,49 uM; PCa 3.grup (Radikal prostatektomili grup) 5,56±1,81 uM; diğer üriner sistem tümörlü grupta 7,84±1,74 uM olarak ölçüldü. NO seviyesi BPH, Pca ve diğer üriner sistem tümörlerinde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0,01). BPH grubundaki NO artışı PSA değerlerindeki artış ile korelasyon göstermemektedir. PCa ve diğer üriner sistem tümörlerindeki NO artışı BPH grubundakinden fazladır (p<0,05). Prostat kanseri olup da PSA seviyesi 2,5-10 ng/ml olan gruptaki NO artışı, PSA seviyesi 10 üzerindeki grubun NO seviyesi artışından daha fazladır (p<0,05). Radikal prostatektomili (Ameliyat sonrası 3.ay PSA: 0,01±0,01ng/ml) hastaların ameliyat sonrası 6.ayda yapılan NO ölçümlerinde anlamlı bir azalma saptanmıştır (p<0.01). Kontrol grubu ile istatistiksel bir fark saptanamamıştır.

Serum NO seviyelerinde BPH ve üriner sistem malinitesi olan hastalarda artış gözlenmekle birlikte malinensilerde bu artış daha yüksek gözlenmiştir. Radikal prostatektomi yapılan gruptaki NO seviyesinin belirgin olarak düşmesi karsinoma ile serum NO düzeyi arasında bir korelasyon olabileceğini düşündürmektedir. Kesin bir sonuca varmak için daha geniş kapsamlı çalışmaların gerekli olduğu kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: NO, PSA, Prostat kanseri

GİRİŞ

Prostat kanseri günümüzde tüm dünyada erkeklerde en sık görülen ve yine erkeklerde akciğer kanserinden sonra en çok ölüme neden olan ikinci sıradaki malinedir¹. Bu denli önemli olan bu konuda günümüzde çok yol alınmış, erken tanı ve tedaviye yönelik bir çok yöntem geliştirilmiş olmakla beraber özellikle PSA düzeyleri 2,5-10 ng/ml arasında olan, *gray zone*² da yer alan hastalarda ürologlar olarak nasıl bir yol izleyeceğimiz konusunda tereddütler yaşamakta ve yardımcı olacak yeni tekniklerin eksikliğini duymaktayız. Halen kullanılan ve üzerinde çalışılan yaşa göre PSA, PSA dansitesi, PSA hızı, serbest/total PSA oranları, kompleks PSA gibi yardımcı tanı yöntemlerine ek olarak nitrik oksit (NO)'ın plazma düzeylerinin BPH ile prostat CA ayırımında kullanılıp kullanılamayacağını araştırmayı hedefledik.



NO'nun varlığı ilk olarak 1980 yılında Furchgatt ve Zawadzki tarafından fark edilmiştir³ ve endotel kaynaklı genişletici faktör olarak adlandırılmıştır. 1987 yılında ise bu maddenin NO olduğu iki ayrı çalışma grubu tarafından gösterilmiştir⁴⁻⁶. NO, L-Arginin'in L-Sitruilin'e

dönüşümü esnasında nitrikoksitsentaz (NOS) katalizörlüğünde oluşur. Arginin, O₂ ve NADPH; nitrik oksit sentaz'ın substratlarıdır. FMN, FAD, Hem ve tetrahidrobiopterin bu enzimin koenzimleridir⁷.

Organizmada çok yaygın olarak bulunan NO'nun birçok farklı görevi vardır:

Düz kas gevşemesini sağlar, trombosit agregasyonunu engeller, beyinde nörotransmitter olarak görev yapar, inflamasyon ve savunma mekanizmalarında aracılık yapar⁷.

NOS'ın ise vücutta 3 formu mevcuttur^{8,9}.

1- **Constitutive NOS (e-NOS):** Özellikle damar endotelinde yoğun olarak bulunur. Kalsiyum bağımlı olarak sürekli salınır.

2- **Neuronal NOS (n-NOS):** Nöronlarda ve iskelet kaslarında bulunur. Kalsiyum bağımlı olarak sürekli salınır.

3- **Inducible NOS (i-NOS):** Kalsiyum bağımlı değildir. Özellikle trombositlerde ve karaciğerde yoğun olarak bulunur. Bakteriyel endotoksinler ve sitokinler tarafından salınımı uyarılır. Ayrıca normal prostat dokusunda rastlanmaz iken kanserli prostat dokusunda varlığı gösterilmiş, tümörün damarlanması ve büyümesinde rolü olduğu düşünülmüştür¹⁰.

Bu bilgiler ışığında kan NO düzeylerinin Prostat Ca düşündüğümüz hastalarda bize yardımcı olup olamayacağını araştırdık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Ağustos 2001-Şubat 2002 tarihleri arasında polikliniğimize alt üriner sistem şikayetleri (AÜSS) ile başvurmuş olan, herhangi bir akut enfeksiyonu olmayan, nitrat içeren ilaçlar kullanmayan, üriner obstrüksiyonu üroflovetri ile tespit edilmiş 90 hasta çalışmaya prospektif olarak dahil edildi. Hastaların yaş ortalaması 70 ± 15 idi. Tüm hastaların TUR, TRUS biyopsi yada açık prostatektomi sonrası patolojik olarak tanıları belirlenmişti. Hastalar özelliklerine göre 15'şer kişilik gruplara ayrıldı. Ayrıca AÜSS olmayan 15 sağlıklı erkek kontrol grubu olarak alındı. Böylece 7 ayrı çalışma grubu oluşturulmuş oldu.

1. grup: Kontrol grubu olarak AÜSS olmayan 15 sağlıklı erkek,
2. grup: AÜSS olan, patolojik olarak BPH tanısı konmuş, PSA değeri 2,5-10 ng/ml arasında olan 15 hasta,
3. grup: AÜSS olan, patolojik olarak BPH tanısı konmuş, PSA değeri 10 ng/ml ve üzerinde olan 15 hasta,
4. grup: AÜSS olan, patolojik olarak prostat Ca tanısı konmuş, PSA değeri 2,5-10 ng/ml arasında olan 15 hasta,
5. grup: AÜSS olan, patolojik olarak prostat CA tanısı konmuş, PSA değeri 10ng/ml ve üzerinde olan 15 hasta,
6. grup: Prostat Ca nedeniyle radikal prostatektomi uygulanmış olup ameliyat sonrası 3. ay kontrol PSA değerleri 0-0,01ng/ml olan 15 hasta,
7. grup: Üriner sisteme ait prostat Ca dışında maliniteleri olan 15 hasta (9 hasta değişici epitel hücreli karsinom, 6 hasta böbrek hücreli karsinom)

Serum PSA düzeyleri elektrokemiluminesans (ECL) yöntemi ile değerlendirildi. Serum NO düzeyleri ise NO'nun yarılanma ömrü saniyelerle ifade edilebildiğinden, NO'nun metabolitleri olan nitrit ve nitrat'ın Gries reaktifi ile reaksiyonunun spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi ile belirlendi¹¹⁻¹³ ve her grupta ortalama NO değerleri hesaplandı. Sonuçlar nonparametrik Whitney U testi ile değerlendirildi.

BULGULAR

Kontrol grubunda ortalama NO düzeyi 4,55 uM bulundu. PSA'sı 2,5-10 ng/ml arasında olan BPH'lı grupta ise ortalama NO düzeyi kontrol

grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$) yükselmiş olarak 6,44 uM bulundu. PSA'sı 10 ng/ml ve üzeri olan grupta ise NO ortalaması kontrol grubuna göre yine anlamlı olarak yüksek 6,47 uM bulunmakla beraber PSA seviyesi ile NO seviyesi arasında korelasyon saptanmadı ($p > 0,05$). Prostat Ca'lı hastalarda ise NO düzeyleri hem kontrol grubunun hem de BPH'lı hastaların NO seviyelerinden anlamlı olarak yüksek bulundu. Fakat yine PSA yüksekliği ile NO seviyelerinde korelasyon gözlenmediği gibi ters bir orantı gözlemlendi (PSA 2,5-10 ng/ml olan grupta ortalama NO düzeyi 8,88 uM, PSA 10 ng/ml ve üstü olan grupta ortalama NO düzeyi 7,74 uM bulundu.).

		PSA	NO
1.Grup	Kontrol	2,5 ng/ml ↓	4,55±1,57uM
2.Grup	BPH	2,5-10 ng/ml	6,44±1,57uM
3.Grup	BPH	10 ng/ml ↑	6,47±2,84uM
4.Grup	Prostat CA	2,5-10 ng/ml	8,88±5,34uM
5.Grup	Prostat CA	10 ng/ml ↑	7,74±3,49uM
6.Grup	Opere Prostat CA	0-00,1 ng/ml	5,56±1,81uM
7.Grup	Diğer Üriner Sistem CA		7,84±1,74uM

Tablo 1. Grupların ölçülen NO değerleri

Diğer üriner sistem maliniteleri olan hastaların da NO düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti: 7,84uM.

Bizim için en cesaret verici sonuç ise prostat Ca nedeniyle radikal prostatektomi uygulanmış olan ve ameliyat sonrası 3.ay kontrol PSA'ları 0-0,01 ng/ml bulunmuş olan hastaların kan NO düzeylerinin neredeyse kontrol grubuna yakın seviyelere gerileyerek (5,56uM), anlamlı olarak düşüş göstermiş olmasıydı ($p < 0,05$).

TARTIŞMA

PSA düzeyleri ile korelasyon görülmemekle beraber obstrüksiyona yol açmış BPH'sı olan hastalarda ve daha belirgin olmak üzere Prostat Ca'lı hastalarda ve üriner sisteme ait diğer malinitelerde kan NO seviyeleri belirgin olarak yükselmektedir. Radikal prostatektomi sonrası görülen kan NO seviyesindeki anlamlı düşüş bu düşüncüyü desteklemektedir. İnflamasyonda rol al-

dığı ve sitokinlerle salınımının stimüle olduğu gösterilmiş olan i-NOS'un malinitelerde yükselmesi oldukça mantıklıdır⁷.

Almanya'da Cologne Üniversitesi'nde Dr. Klotz T. ve arkadaşları da normal prostat dokusunda i-NOS'un bulunmazken, kanserli prostat dokusunda i-NOS'un çok yüksek seviyelerde bulunduğunu göstermişlerdir¹⁰ ve yine aynı grup bir başka çalışmada normal prostat dokusunda e-NOS ve n-NOS'un düşük düzeylerine karşın, obstrüksiyonla beraber bulunan BPH'da prostat dokusunda e-NOS ve n-NOS'un artmış olduğu immüno histokimyasal olarak gösterilmiştir. Bu enzimlerin dokudaki dağılımları belirlenmiş ve bundan yola çıkarak prostat dokusunda düz kas kasılmasının düzenlenmesi, kan akımının düzenlenmesi ve sekretuar fonksiyonların düzenlenmesinde NO'nun rol aldığı düşünülmüştür¹⁴.

Bulgularımız ışığında: Özellikle PSA'sı 2,5-10 ng/ml arasında olan ve biyopsi kararı vermekte zorlandığımız arada olgularda tanıya yönelmede, ayrıca tanı koyduğumuz hastaların takibinde diğer yardımcı tanı yöntemlerine ek olarak kan NO seviyelerinden faydalanabileceğimizi düşünüyoruz.

Kan NO düzeylerinin bir çok faktörden etkileneceği bir engel ise de maliyetinin düşüklüğü ve kolay uygulanabilirliği avantajıdır. Prospektif olarak yapılan bu çalışmada hasta sayılarının bir Cut-off değeri belirlemek için yeterli olmadığını biliyoruz. Bu konuda daha geniş hasta gruplarıyla yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç olduğuna inanıyoruz.

KAYNAKLAR

- 1- **Reite RE, De Kernion JB:** Epidemiology, etiology and prevention of prostate cancer; in Walsh, Retik, Vaughan, Wein (Eds). 8th edition Vol IV. Chapter 35, pp3003. Saunders. An imprint of Elsevier science, Philadelphia, London, New York, St. Louis, Sydney, Toronto. Campbell 2002.
- 2- **Catalona WJ, Smith DS, Ornstein DK:** Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2,6 to 4 ng/ml and benign prostate examination, enhancement of specificity with free PSA measurements, JAMA 277: 1452, 1997.
- 3- **Moilanen E, Vapaatalo H:** Nitric oxide in inflammation and immune response. Ann. of Med. 27: 359-367, 1995.
- 4- **Kilbourn RG, Jurban A, Gross SS, Griffith OW, Lewi R, Adams J and Lanato RF:** Reversal of endotoxin-mediated shock by N-methyl-L-Arginine an inhibitor of nitric oxide synthesis. Biochem. Biophys. Res. Commun. 172: 1132-8, 1990.
- 5- **Kostrá P, Jang E, Watson ED, Steward JL and Daniel EE:** Nitric oxide synthase in the autonomic nervous system of canine ileum. J. Pharmacol. Exp. Ther. 264: 234-239, 1993.
- 6- **Stark ME, Szurszewski JH:** Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease. Gastroenterology. 103: 1928-1949, 1992.
- 7- **Pamela CC, Harvey RA:** Basic Concepts of Metabolism. Lippincott's Illustrated Reviews. Biochemistry Second Edition J.B. Lippincott Company, Philadelphia. pp: 85, 1994.
- 8- **Elphic MR, Green IC and O'Shea M:** Nitric oxide Synthesis and Action in an Invertebrate Brain Res. 619: 344-346, 1993.
- 9- **Werner-Felmayer G, Goldere G, Werner ER, Gröbner P and Wachter H:** Pteridine Biosynthesis and Nitric Oxide Synthase in Phsarum Polyccephalum. Biochem. J. In press, 1994.
- 10- **Klotz T, Bloch W, Volberg C, Engelmann U, Addicks K:** Selective expression of inducible nitric oxide synthase in human prostate carcinoma. Cancer. May 15; 82(10): 1897-1903, 1998.
- 11- **Archer S:** Measurement of nitric oxide in biological models. The FASEB Journal 7: 349-360, 1993.
- 12- **Kobuchi H, Virgili F, Packer L:** Assay of inducible form of nitric oxide synthase activity: Effect of flavonoids and plant extracts. Methods Enzymol. 301: 504, 1999.
- 13- **Grisham M, Johnson G, Gautreaux M, Berg R:** Measurement of nitrate and nitrite in extracellular fluids: A window to systemic nitric oxide metabolism. Methods in Enzymology. 7: 84-90, 1995.
- 14- **Klotz T, Bloch W, Loch C, Engelmann U, Addicks K:** Pattern of distribution of constitutive isoforms of NO synthase in the normal prostate and obstructive prostatic hyperplasia. Urology A Jul; 36(4): 318-322, 1997.