

RATLARDA AKUT ALKOL ALIMININ PROSTAT DOKUSU VE SERUM PSA SEVİYELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**EFFECT OF ACUTE ALCOHOL INTAKE ON PROSTATE TISSUE AND SERUM PSA-LIKE PROTEIN LEVELS IN RATS**

Eyüp GÜMÜŞ*, Seyhun SOLAKOĞLU**, Rıfat MUTUS***, Bülent ALTAY*,
Ali Rıza KIZILER****, Cengiz MİROĞLU*

* Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Üroloji Kliniği, İSTANBUL

** İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

*** İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, İSTANBUL

**** İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, İSTANBUL

ABSTRACT

Introduction: In this study, we aimed to investigate both the possible changes induced by acute alcohol intake on prostate tissue at the ultrastructural level and its effect on serum prostate specific antigen (PSA)-like protein levels in rats.

Materials and Method: The study included a total of 44 Wistar male rats, an average weight of 180 grams (range $\pm$ SD, 150-210 $\pm$ 35) and at least 3.5 months of age. Rats were divided into four groups. For each group, 7 alcohol and 4 control animals were selected. The treatment group received 40% ethanol (6gr/kg) while the control group received same dose of intra-peritoneal isotonic saline injection. One ml blood sample was taken from the tail vein of each rat prior to the injection. The first group was sacrificed in 3 hours, the second group in 24 hours, the third group in 72 hours and the fourth group in day 7. Following the sacrifice, at least 1 ml intra-cardiac blood samples were immediately taken from each rat and placed into dry tubes, and after separating their serums, they were kept under -80°C . Samples were examined by light and Jeol-100 electron microscope. Total serum PSA-like protein levels were determined by Tosoh immunoassay analyzer AIA 600. Pre- and post-alcohol total PSA-like protein values were statistically analyzed by Mann-Whitney and Wilcoxon signed Ranks Test for all groups.

Results: In groups 1-3, electron microscopy showed dilatations in the endoplasmic reticulum cisternae of prostatic aciner cells, disarrangements in apparent Golgi complex and apertures belonging to basal labyrinth. It was also observed that there was a mass of debris cells inside the aciner lumen, and secretory epithelium was detached from basal membrane in some places. No pathology was found in group 4 in light and electron microscopy. In group 1, significant levels of increased serum total PSA-like protein was found compared to controls and other treatment groups ($p=0.006$). When pre- and post-treatment values of alcohol rats in the first group were considered, the increase in serum PSA-like protein levels was found 36.8%, and this increase was statistically significant compared to other groups ($p=0.018$). In other groups, no statistically significant difference was found in serum PSA-like protein levels between alcohol and control rats.

Conclusion: The fundamental effect of acute alcohol intake on prostate tissue was observed in intermediate stages participating to the exocrine secretion process in the cellular organelles. This experimental study indicates that early PSA assessments following alcohol intake might mistakenly result in high values, and notifies the clinical practice.

Key words: PSA, Prostate, Rats, Alcohol

ÖZET

Bu çalışmamızda ,akut alkol alımının hem prostat dokusu üzerinde meydana getirdiği olası değişikliklerin ultrastrüktürel düzeyde incelenmesi hem de serum prostat spesifik antijen seviyeleri üzerindeki etkisi incelemeyi amaçladık.

Kırkdört Wistar erkek rat dört gruba ayrıldı; her grupta 7 tedavi ve 4 kontrol hayvanı vardı. Tedavi grubuna %40'lık etanol, kontrol grubuna ise izotonik salin enjeksiyonu uygulandı. Birinci grup 3., 2.grup 24., 3. grup 72. saat ve 4. grup 7. gün sakrifiye edilerek ventral prostat lobları çıkartıldı. Alınan doku örnekleri ışık ve elektron mikroskobunda incelemeye alındı. Tüm ratlardan tedavi öncesi ve sonrası sakrifikasyondan hemen önce PSA analizi için kan örneği alındı.

Dergiye Geliş Tarihi: 19.03.2004

Yayına Kabul Tarihi: 28.04.2004

1-3 gruplarda alkol tedavi sonrasında ışık mikroskopisinde kesitlerde artmış konjesyon ve ödem gözlenirken, elektron mikroskopisinde prostatik asiner hücrelerin endoplazmik retikulum sisternalarında dilatasyon, golgi komplekslerinde düzensizleşmeler ve bazal labirente ait açılmalar izlendi. Ayrıca asinus lümeni içerisinde yoğun döküntü hücreleri ve epitelin bazal membrandan ayrıştığı gözlemlendi. Birinci gruptaki alkol ratlarında tedavi öncesi ve sonrası değerlere bakıldığında serum PSA düzeyinde izlenen artış %36.8 olarak belirlendi ve bu artış diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.006$).

Akut alkol'ün prostat dokusu üzerinde gösterdiği esas etki hücrenin organel düzeyinde egzokrin salgılama işlevinde rol alan ara basamaklarında da gözlenmiştir. Bu durum aynı zamanda erken dönemde serum PSA seviyelerini de etkilemektedir.

Anahtar Kelimeler: PSA, Prostat, Rat, Alkol

GİRİŞ

Prostat spesifik antijen (PSA) 1980'li yılların ikinci yarısından günümüze dek prostat kanserinin tanı ve tedavisinde kullanılan başlıca tümör belirleyici olma özelliğini halen korumaktadır. Bir tümör spesifik antijenden ziyade organ spesifik bir antijen olan PSA'nın prostat kanser tanısında %10-40 yanlış pozitiflik oranlarına ve %2-5 yanlış negatiflik oranlarına sahip olduğu gösterilmiştir^{1,2}. Prostat kanserlerinin yaklaşık %30'unda PSA normal sınırlarda iken³, benin prostat hiperplazili olguların %30'unda eşik değerlerin üzerinde olması⁴ bu testin güvenilirliğini sorgulanma ihtiyacını doğurmuştur. Bu tümör belirleyicinin duyarlılık ve özgünlüğünün artırılması ve böylelikle gereksiz prostat iğne biyopsilerinin önlenmesi amacıyla yönelik son yıllarda yapılan çalışmalarda serum PSA düzeyinde yalancı yükselmelere neden olabilecek kanser dışı bir çok neden ortaya konmuştur. Tedavi metodunun ve manüplasyon/girişimlerin etkilerinin⁵⁻⁶ yanı sıra aktif veya sedanter yaşam biçiminin⁷, uzun süre oturarak çalışmanın⁸, ejakülasyonun⁹ ve kanser dışı prostat hastalıklarının yanında bisiklete binmenin yalancı yüksek serum PSA seviyeleri oluşturabilecek etkileri araştırılmıştır⁹⁻¹⁰.

Akut alkol alımının ratlarda başta beyin dokusu olmak üzere diğer organlarda da konjesyon ve ödeme neden olduğu ortaya konmuştur^{11,12}. Haidinger ve ark. çok merkezli çalışmalarında düzenli alkol kullanımının IPSS skorda yükselmeye neden olduğunu vurgulamışlar, ancak patogeneizde alkolün hangi etki ile IPSS skorunu artırdığı konusunda yorum yapmamışlardır¹³. Martinez ve ark. kronik alkol alımının prostat dokusunda ciddi morfolojik değişikliklere neden olduğunu vurgulamışlardır¹⁴. Ancak literatürde akut alkol alımının prostat dokusu üzerinde ultrastrüktürel etkisini araştıran bir çalışma yoktur. Akut alkol alımı sonrası üreme organları içinde en cid-

di metabolik etkinin prostat dokusunda gözlemlendiği vurgulanmış ancak morfolojik veya ultrastrüktürel düzeydeki etkiler incelenmemiştir¹⁵.

Bugün prostat kanser taramasında 50 yaş üzerinde olan ara sıra alkol alan bir çok hastada serum PSA ölçümü yaygın olarak yapılmaktadır. Akut alkol alımının prostat dokusu üzerinde ve serum PSA seviyeleri üzerindeki etkisi bilinmezken, alkol sonrası serum PSA ölçümü yapılan hastalarda saptanan PSA değerinin güvenilirliği ve biyopsi endikasyonları konusunda kesin yargıya varmak oldukça zordur. Bu çalışmada ratlarda akut alkolün hem prostat dokusu üzerinde yaptığı ultrastrüktürel etkiyi hem de serum PSA seviyeleri üzerindeki etkisini incelemeyi amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Ortalama ağırlığı 180 gram ($150-210 \pm 35$ gr) olan en az 3.5 aylık toplam 44 Wistar erkek rat çalışmaya alındı. Ratlar dört gruba ayrıldı. Her grup için 7 alkol ve 4 kontrol hayvanı seçildi. Akut alkol alımının etkilerini araştırmak için tüm alkol ratlarına 6 gr/kg %40'lık etanol solüsyonu intra-peritoneal olarak enjekte edildi. Kontrol grubundaki ratlara ise aynı doz hesabı ile intra-peritoneal izotonik salin enjeksiyonu uygulandı. Her denekten enjeksiyon öncesi kuyruk veninden 1ml kan örneği alındı. Bu işlemler sırasında tüm ratlar etil eter anestezisi altında idi. Tüm ratlar işlem öncesi ve sonrasında standart ısı, ışık-karanlık altında tutuldu ve standart yiyecek su libitum aldı.

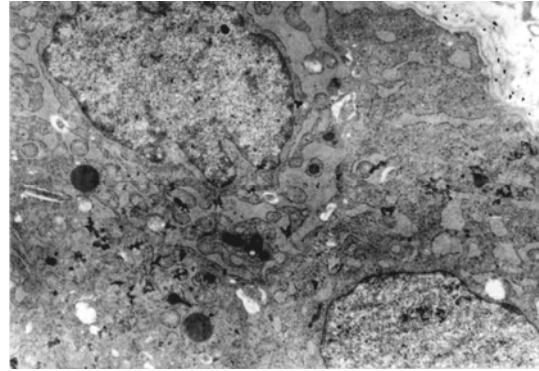
Birinci gruptaki ratlar 3 saat, ikinci gruptakiler 24 saat, üçüncü gruptakiler 72 saat ve dördüncü gruptaki ratlar ise 7 gün sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Sakrifikasyonu takiben öncelikle, ivedi olarak her rattan intra kadriyak en az 1 ml kan örneği alınarak kuru tüpe konuldu ve serumları ayrıştırıldıktan sonra -80

°C derecede muhafaza edildi. Sonrasında tüm ratların ventral lobları eksize edildi ve elektron mikroskopik inceleme için 0.1 M sodyum kaskolat ile tamponlanmış olan %2.5'lik glutaraldehit çözeltisi ile fikse edildi. Aynı tampon çözeltisi %1'lik osmium tetra oksit ile post fiksasyon yapıldıktan sonra kademeli alkol serileri ve propilenoksit ile rutin dehidratasyon işlemleri ardından plastik gömme ortamında bloklanan örneklerden 0.5 mikron kalınlığında kesitler 200 mesh'lik nikel gridler üzerine alındı ve kurşun sitrat-uranil çözeltisinde kontrastlandı. Kesitler Jeol-100 elektron mikroskopunda incelemeye alındı. Işık mikroskopik inceleme için yine ventral loblardan alınan kesitler Bouin solüsyonunda fikse edildi, dehidrate edildi ve paraplast içerisine gömüldü. 5 mikron kalınlığında kesitler alındı ve HE, Arteta ve PAS ile boyandıktan sonra incelemeye tabi tutuldu. Alınan kan örneklerinde serum total PSA düzeyleri *Tosoh immunoenzymometric analyzer AIA 600* kullanılarak ng/ml cinsinden elde edildi¹⁶. Alkol öncesi ve sonrası total PSA değerleri tüm gruplar için Mann-Whitney ve Wilcoxon signed Ranks Test ile istatistiksel analize tabi tutuldu.

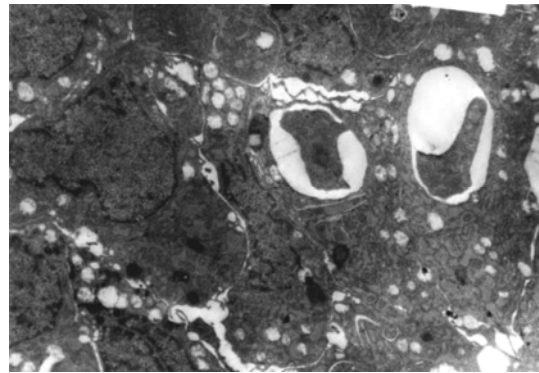
BULGULAR

Işık mikroskopisinde, alkol alımı sonrasında 1-3 gruplarda kontrol gruplarına göre artmış konjesyon ve ödem gözlenirken, 4. grupta ödem ve konjesyonun kaybolduğu saptandı. Elektron mikroskopik incelemede; Birinci grup (üçüncü saat) alkol ratlarında kontrol ratlarına kıyasla salgı epiteline ait hücrelerin çekirdek kılıflarında invazyonlar ve endoplasmik retikulum (ER) sisternalarında dilatasyon saptandı (Resim 1). Bununla birlikte hücreler arası bağlantı komplekslerinde zayıflama sonucu epitel bütünlüğünün yer yer sekteye uğradığı gözlemlendi (Resim 1, 2). İkinci grup (yirmidördüncü) saat alkol ratlarında ise üçüncü saatte izlenen ER dilatasyonunda bir artış olduğu ve golgi komplekslerindeki düzensizleşme ve genişleme dikkat çekici idi. Yirmidördüncü saatte izlenen diğer bulgular; hücre sitoplazmalarında artmış olarak izlenen lipid damlacıkları, asini lümeni içerisinde izlenen yoğun döküntü hücreleri, bazal labirente ait açılmalar ve mitokondri kristallerinde gözlemlenen silinmeler idi (Resim 3). Ayrıca yer yer seyrek apoptoz götseren hücrelerde izlendi (Resim 4). Üçüncü grup

(yetmişikinci saat) alkol ratlarında 3 ve 24'üncü saatte izlenen değişikliklere ek olarak salgı epitelinin apikal yüzeyindeki mikrovilluslarda silinme, prizmatik hücrelerin izoprizmatik şekil alması ve yer yer bazal laminadan ayrılmış olan hücreler saptandı (Resim 5). Ayrıca 24'üncü saatte kristallerinde silinme izlenen mitokondrilerin hücre sitoplazması içerisinde elektron yoğun inklüzyonlar halinde izlendiği saptadı. Elektron mikroskopik incelemeye tabi tutulan kesitlerde ise 3'üncü saatte beliren ve 24 ve 72'inci saatlerde de artarak devam eden patolojik değişikliklerin 4. grup (7.gün) alkol ratlarında izlenmediği ve tamamen kontrol grubuyla aynı normal görünüme ulaştığı gözlemlendi.



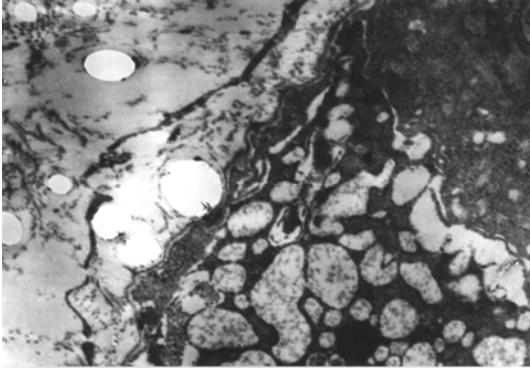
Resim 1.



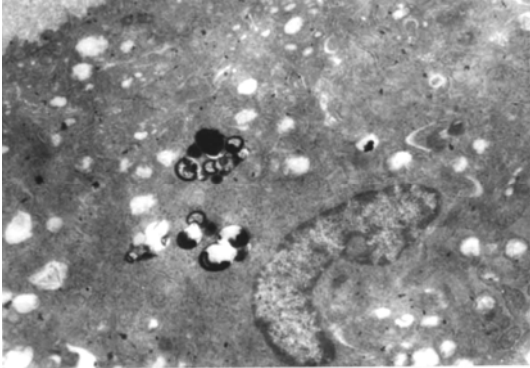
Resim 2.

Tüm ratlardan alınan serum PSA değerleri incelendiğinde birinci grup alkol ratlarında kontrol ratlarına kıyasla anlamlı derecede artmış serum total PSA seviyeleri saptandı. ($p=0.006$) (Tablo 1). Birinci gruptaki alkol ratlarında tedavi öncesi ve sonrası değerlere bakıldığında serum PSA düzeyinde izlenen artış %36.8 olarak belir-

lendi ve bu artış diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo-2) ($p=0.018$). Diğer gruplarda ise alkol ve kontrol ratları arasında serum PSA seviyelerindeki yüzde değişim açısından istatistiksel anlamlı farklar saptanmadı (Tablo-2). Üçüncü grup ratlarında alkol sonrası istatistiksel anlamlı bir PSA düşüş oranı dikkat çekmesine rağmen ($p=0.017$), bu oran aynı gruptaki kontrol ratlarında meydana gelen değişim oranı ile kıyaslandığında aradaki farkın anlamlı olmadığı saptandı ($p=0.78$) (Tablo 1).



Resim 3.

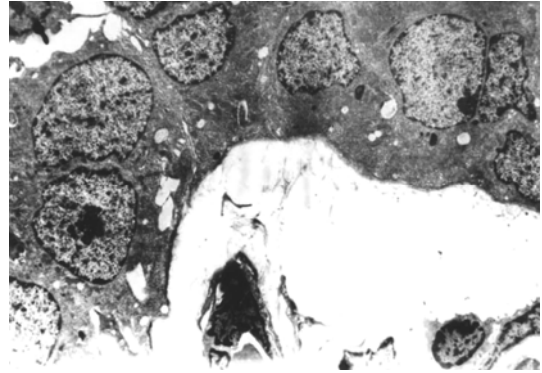


Resim 4.

TARTIŞMA

Kronik alkol alımının rat prostat dokusu üzerindeki morfolojik ve ultrastrüktürel düzeydeki etkileri bir çok araştırma ile ortaya konulmuştur¹⁷⁻²⁰. Kronik alkol alımı sonrası rat prostat dokusunda artmış lipoperoksit konsantrasyonları ile azalmış superoksit-dismutaz seviyeleri saptanmış ve süperoksit radikallerinin kronik alkol sonrası oluşan prostat harabiyetinde rol oynadıkları öne sürülmüştür²⁰. Benzeri bir çalışmada ise asetat ve

asetaldehit gibi etanol metabolizma ürünlerinin prostat üzerinde toksik etki oluşturabileceği vurgulanmıştır²¹. Erkek ratlarda akut ve kronik etanol alımının seksüel organlardaki monoamin seviyeleri üzerindeki etkileri incelenmiş ve sonuçta kronik tedavide en çok etkilenen bölüm epididim gövdesi iken akut tedavide prostat en çok etkilenen bölüm olarak gösterilmiştir¹⁵. Bu metabolik çalışmanın ışığında akut alkol alımının prostat dokusunda yaptığı ultrastrüktürel değişimin araştırılması gereğini duyduk. Literatürde akut alkol alımının prostat dokusu üzerindeki ultrastrüktürel etkisini araştıran bir çalışmaya rastlayamadık.



Resim 5.

Gruplar	Kontrol ratları (% değişim)	Alkol ratları (%değişim)	p değeri
Grup 1	0.2	36.8	0,006
Grup 2	3.3	-1.5	0,52
Grup 3	1.6	-7.5	0,78
Grup 4	8.5	5.2	0,78

Tablo 1. Tüm gruplar için kontrol ve alkol ratlarında % PSA değişim oranları arasındaki ilişki

Kronik alkol alımının prostat hacminde azalmaya neden olduğunu vurgulayan çalışmalar olmakla beraber²²⁻²⁴, daha kısa dönem (5 hafta) alkol alan ratlarda prostat volümünde kontrol grubuna göre bir fark gösterilemeyen çalışmalarda mevcuttur²⁵. Martinez ve ark. uzun dönem alkol alımının toksik etki ile prostat dokusunda hücresel düzeyde uzun dönem dejenerasyona neden olarak prostat volüm azalmasında etkili olabileceğini vurguladılar²⁵.

Martinez ve ark. ilk kez ratlarda kronik alkolizmin prostat ventral lobu üzerindeki ultrastrüktürel etkisini araştırmışlardır¹⁴. Otörler elektromikroskopi sonuçlarında başta ER sisternala-

rında dilatasyon, büyük golgi kompleksleri, lipit damlacıkları ve hücre yüzeyini çeviren mikrovillus yükseklik ve sayısında azalma, sekretuar aktivite azalması gibi hücresel düzeyde dejeneratif değişiklikler gözlemlenmiştir. Kronik alkole maruz kalma nedeniyle epitel hücrelerinde meydana gelen dejenerasyonun uzun sürmesinin hücresel salgı aktivitesinin azalmasına neden olduğu vurgulanmıştır¹⁴. Ancak araştırmacılar serum PSA seviyeleri üzerinde olası değişimi incelememişlerdir¹⁴. Çalışmamızda akut alkol sonrası prostat dokusunda hücresel düzeyde Martinez ve ark. çalışma sonuçlarına benzer ultrastrüktürel değişiklikler gözledik. Ancak çalışmamızda akut alkolün, prostatın egzokrin bir salgı ürünü olan PSA'nın serum düzeyini erken dönemde (3.saat) etkileyerek artırdığını belirledik. Çalışmamızda erken dönemde (3.saat) serum PSA artışının akut ultrastrüktürel değişime sekonder olarak özellikle hücreler arası *tight junction* ve sekretuar basamaklarda ani bozukluğa bağlı olarak gelişmiş olabileceği düşünülebilir. Martinez ve ark. alkole uzun süre maruz kalmanın hücrelerin sekretuar kabiliyetlerini bozarak hücre egzokrin fonksiyonlarında ileri derecede azalmaya neden olabileceğini vurguladılar. Martinez ve ark. çalışmasının sonuçlarına göre akut alkol etkinin tam aksine kronik alkol alımının prostat egzokrin fonksiyonlarda ve PSA seviyelerinde azalmaya neden olabileceği kanısına varılabilir.

Hayvanlarda PSA benzeri proteinin identifikasyonu için yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Karr ve ark. primatlarda PSA varlığını immunohistokimyasal yöntemle gösterirlerken, rat prostatlarında immun boyama ile PSA gösterememişlerdir²⁶. Son yıllarda Onozawa ve ark. ratlarda anti-human PSA polyclonal antikor ile

prostat ventral loblarında PSA-like proteinin immunohistokimyasal boyandığını gösterdiler²⁷. Ayrıca araştırmacılar immunoblot analizi ile ratlarda yine sadece ventral prostat loblarında 32 kDa ağırlığında human PSA ile güçlü immunreaktivite oluşturan PSA-like protein saptadılar. Ratlarda bu PSA benzeri proteinin insanlardaki PSA'nın karşılığı olduğunu ve anti-human PSA antikorları ile reaksiyon vereceğini iddia ettiler²⁷. Çalışmamızda anti-human PSA antikor kullanarak rat serum PSA değerlerini ölçebildik ve alkol tedavisi sonrası sadece birinci grupta (3. saat) rat serum PSA seviyelerinde anlamlı yükselme saptarken, diğer gruplarda serum PSA seviyelerinde anlamlı değişiklik gözlemedik. Alkol alımı sonrası hücre düzeyinde patolojik bulgular 3. saatten başlayarak 72. saate kadar artarak devam ederken, serum PSA'nın sadece 3. saat ölçümlerinde anlamlı yükselmesi dikkat çekicidir. Rat PSA benzeri proteinin serumda yarılanma süresi hakkında literatür bilgisi henüz yoktur. Alkol tedavisi sonrası 3. saatte saptadığımız PSA yüksekliğinin nasıl oluyor da 24 ve 72. saatlerde normal sınırlarda bulunuyor sorusuna da, bilmediğimiz rat serum PSA yarılanma ömrü kuşkusunda bir cevap bulamadık.

SONUÇ

Akut alkol alımı rat prostat dokusunda toksik etki göstermekte ve hücre düzeyinde, hem egzokrin salgı basamaklarında görevli organelleri etkilemekte hem de hücreler arası bağlantıları hasara uğratmaktadır. Tesbit ettiğimiz ultrastrüktürel değişiklikler Heidinger ve ark.'nın¹³ alkol kullanan BPH'lı hastalarda yüksek IPSS skor patogenezi açıklayabilir.

	Tedavi	Tedavi öncesi Ortalama PSA (ng/ml)±SD	Tedavi sonrası Ortalama PSA (ng/ml)±SD	Yüzde değişim (%)	p değeri
Grup 1	Alkol	0,042± 0,004	0,058± 0,004	36,8	0,018
	Kontrol	0,019± 0,001	0,019± 0,005	0,2	1,0
Grup 2	Alkol	0,053± 0,004	0,052± 0,005	-1,5	0,79
	Kontrol	0,014± 0,005	0,015± 0,001	3,3	0,15
Grup 3	Alkol	0,051± 0,009	0,04± 0,007	-7,5	0,01
	Kontrol	0,011± 0,001	0,011± 0,001	1,6	1,0
Grup 4	Alkol	0,049± 0,001	0,049± 0,001	5,2	0,67
	Kontrol	0,061± 0,008	0,065± 0,001	8,5	0,45

Tablo 2. Tüm gruplarda alkol ve kontrol ratlarında tedavi öncesi ve sonrası ortalama serum PSA ve % değişim oranları

Çalışmamızda alkol alımı sonrası ultrastrüktürel değişikliklere sekonder olarak 3. saatte serum PSA artışı saptadık. Bu deneysel çalışma akut alkol alımı sonrası erken dönemde PSA ölçümünde yanlış yükseklik saptanabileceğine işaret etmekte ve klinik pratiği uyarmaktadır. İnsanlarda akut alkol alımının serum PSA seviyeleri üzerindeki etkisi irdelenerek bu ön bulgular açıklığa kavuşturulmalıdır.

KAYNAKLAR

- 1- **Guinan P, Bhatti R, Ray P:** An evaluation of prostate-specific antigen in prostatic cancer. *J Urol* 137: 686-689, 1987.
- 2- **Lange PH, Brawer MK:** Serum prostate specific antigen: Its use in diagnosis and management of prostate cancer. *Urology* 33: 11-16, 1989.
- 3- **Takayama TK, Vessella RL, Lange PH:** Newer applications of serum prostate specific antigen in the management of prostate cancer. *Semin Oncol* 21: 542-553, 1994.
- 4- **Tchetgen MB, Oesterling JE:** The role of prostate specific antigen in the evaluation of benign prostatic hyperplasia. *Urol Clin North Am* 22: 333-344, 1995.
- 5- **Yuan JJ, Coplen DE, Petros JA:** Effects of rectal examination, prostatic massage, ultrasonography and needle biopsy on serum prostate specific antigen levels. *J Urol* 147: 810-814, 1992.
- 6- **Cevik I, Turkeri LN, Ozveri H:** Short term effect of digital rectal examination on serum prostate specific antigen levels. *Eur Urol* 29: 403-406, 1996.
- 7- **Stamey TA, Yang N, Hay AR:** Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Eng J Med* 317: 909-916, 1987.
- 8- **Gumus E, Miroglu C, Horasanli K:** Effect of long-term sitting on serum prostate-specific antigen levels. *Eur Urol* 36(5): 406-408, 1999.
- 9- **Heidenreich A, Vorreuther R, Neubauer S:** The influence of ejaculation on serum levels of prostate specific antigen. *J Urol* 157: 209-211, 1997.
- 10- **Crawford ED III, Safford HR, Mackenzie SC:** The effect of bicycle riding on serum prostate specific antigen levels. *J Urol* 156: 103-105, 1996.
- 11- **Hirakawa K, Uekusa K, Sato S, Nihira M:** MRI and MRS studies on acute effects of ethanol in the rat brain. *Jpn J Legal Med* 46(2): 63-74, 1994.
- 12- **He ZJ, Ericksson P, Alho H:** Effects on endogenous acetaldehyde production by disulfiram and ethanol feeding on rat pancreas. *J Gastrointest Surg* 5(5): 531-539, 2001.
- 13- **Haidinger G, Temml C, Schatzl G et al:** Risk factors for lower urinary tract symptoms in elderly men. *Eur Urol* 37: 413-420, 2000.
- 14- **Martinez FE, Garcia PJ, Padovani CR et al:** Ultrastructural study of the ventral lobe of prostate of rats submitted to experimental chronic alcoholism. *The Prostate* 22: 317-324, 1993.
- 15- **de Rondina DC, Mastronardi IO, Carbone SE et al:** Effects of acute administration or chronic ethanol ingestion on sexual organs monoamine levels in male rats. *Gen Pharmacol* 20: 161-163, 1989.
- 16- **Chu Lf, Chen Z, Stamey TA:** Different molecular forms of uncomplexed prostate specific antigen (PSA) show similar immunoreactivities. *J Urol* 161(6): 2009-2012, 1999.
- 17- **Cagnon VH, Garcia PJ, Guazzelli Filho J et al:** Ultrastructural study of the lateral lobe of the prostate of Wistar rats submitted to experimental chronic alcohol ingestion. *J Submicrosc Cytol Pathol* 30(1): 77-84, 1998.
- 18- **Rodriguez Toves LA, Amon Sesmero JH, Vaquero Puerta C:** Effects of chronic alcohol drinking on rat's prostate. Experimental study. *Actas Urol Esp* 25(3): 170-81, 2001.
- 19- **Cagnon VH, Tomazini FM, Garcia PJ et al:** Structure and ultrastructure of the ventral prostate of isogenic mice (C57B1/6J) submitted to chronic alcohol ingestion. *Tissue Cell* 33(4): 354-60, 2001.
- 20- **Novelli EL, Rodrigues NL, Santos CX et al:** Toxic effects of alcohol intake in prostate of rats. *Prostate* 31(1): 37-41, 1997.
- 21- **Castro GD, Delgado de Layno AM, Costantini MH et al:** Rat ventral prostate xanthine oxidase bioactivation of ethanol to acetaldehyde and 1-hydroxyethyl free radicals: Analysis of its potential role in heavy alcohol drinking tumor-promoting effects. *Teratog carcinog Mutagen* 21(2): 109-119, 2001.
- 22- **Van Thiel DH, Gavalier JS, Lester R:** Alcohol-induced testicular atrophy: An experimental model for hypogonadism occurring in chronic alcoholic men. *Gastroenterology* 69: 326-332, 1975.
- 23- **Semczuk M, Rzeszowska G:** Chronic Alcohol intoxication and the morphological state of seminal vesicles and prostate gland in a white rat. *Materia Medica Polona* 2: 130-135, 1981.
- 24- **Martinez FE, Laura LA, Martinez M, et al:** Morphology of the ventral lobe of the prostate and seminal vesicles in an ethanol-drinking strain of rats (UChA and UChB). *J Submicrosc Cytol Pathol* 33(1-2): 99-106, 2001.

- 25- **Salonen I, Hunhataniemi I:** Effects of chronic ethanol diet on pituitary-testicular function of the rat. Biol Reprod 42: 55-62, 1990.
- 26- **Karr Jf, Kantor JA, Hand PH, et al:** The presence of prostate specific antigen related genes in primates and the expression of recombinant human prostate specific antigen in a transfected murine cell line. Cancer Res 55(11): 2455-2462, 1995.
- 27- **Onozawa M, Fukuda K, Watanabe M, et al:** Detection and cloning of a protein recognized by anti-human prostate-specific antigen (PSA) antibody in the rat ventral prostate. Jpn J Cancer Res 92: 836-868, 2001.