

**T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**AKUT İSKEMİK PRIAPİZM MODELİNDE FERULİK ASİTİN İSKEMİ
REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**ASSESSMENT OF POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF FERULIC ACID
ON ISCHEMIC REPERFUSION INJURY IN AN ACUTE ISCHEMIC PRIAPISM
MODEL**

Uzmanlık Tezi

Dr. Ozan Can ÇEKÜÇ

Trabzon – 2023

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

AKUT İSKEMİK PRIAPİZM MODELİNDE FERULİK ASİTİN İSKEMİ
REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

ASSESSMENT OF POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF FERULIC ACID
ON ISCHEMIC REPERFUSION INJURY IN AN ACUTE ISCHEMIC PRIAPISM
MODEL

Uzmanlık Tezi

Dr. Ozan Can ÇEKÜÇ

Tez Danışmanı:
Doç. Dr. İlke Onur KAZAZ

Trabzon – 2023

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması,

KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince desteklenmiştir (TTU-2021-9734).

ÖZET

AKUT İSKEMİK PRIAPİZM MODELİNDE FERULİK ASİTİN İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Giriş:

Peniste oluşan iskemik priapizm durumda venöz obstrüksiyon ve korpus kavernozum içerisinde staz meydana gelmektedir. Müdahalede geç kalınması durumunda ise bu, kavernozaal düz kaslarda nekroz, irreversibl korporal fibrozis ve erektil disfonksiyona yol açabilmektedir. Birbiriyle ilişkili birçok mekanizma sonucu devam eden süreçte priapizm sonlanır ve iskemi reperfüzyon hasarı oluşur. Ferulik asit, iyi bilinen bir fenolik türevi olup, hücrelerin oksidatif strese karşı serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmasına veya detoksifikasyonunun sağlanmasına ve çeşitli işlev bozukluklarının önlenmesine yardımcı olmaktadır.

Amaç:

Sıçanlarda oluşturulan penil iskemi-reperfüzyon modelinde uygulanan ferulik asitin, priapizm+reperfüzyon hasarı üzerine olası olumlu etkilerinin histolojik ve biyokimyasal açıdan değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem:

Bu deneysel çalışmada Spraque Dawley tipi, 350-400 gr ağırlığında toplam 18 adet erişkin erkek rat kullanılmıştır (3 grup; her bir grupta 6 rat; kontrol, priapizm+reperfüzyon, priapizm+ reperfüzyon+ferulik asit). Alınan penektomi materyalinde doku TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx seviyelerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen ratlardan alınan penis dokusunun histolojik özellikleri (kavernöz sinüs konjesyonu, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, tunika albugineada ayrılma) değerlendirilmiştir.

Bulgular:

Biyokimyasal verilerden istatistiksel olarak anlamlı bulunan değer; TOS ve SOD' idi. Çalışmamızda histolojik veriler açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunan parametreler ise tunika albugineada oluşan ayrılma, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, vazokonjesyon değerleri olarak göze çarptı.

Sonuç:

Ferulik asitin, priapizm/ reperüzyon durumunda dokularda oluşabilecek biyokimyasal ve histolojik hasarı engellemede etkili olabileceği kanısı uyanmıştır.

Anahtar Kelimeler:

Priapizm,Sinamik asit, Reperfüzyon hasarı



SUMMARY

ASSESSMENT OF POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF FERULIC ACID ON ISCHEMIC REPERFUSION INJURY IN AN ACUTE ISCHEMIC PRIAPISM MODEL

Introduction

In the case of ischemic priapism in the penis, venous obstruction and stasis in the corpus cavernosum occur. Event of delay in the treatment, lead to necrosis of cavernous smooth muscles, irreversible corporal fibrosis and erectile dysfunction. As a result of many interrelated mechanisms, priapism ends in the ongoing process and ischemia reperfusion damage occurs. Ferulic acid is one of the well-known phenol compounds, which helps to protect cells from the harmful effects of free radicals against oxidative stress or to provide detoxification and prevent various dysfunctions.

Objective

It is aimed to evaluate the possible positive effects of ferulic acid on priapism+reperfusion injury in a penile ischemia-reperfusion model created in rats from a histological and biochemical point of view.

Materials and Methods:

In this experimental study, a total of 18 adult male rats (Sprague Dawley type, weighing 350-400 g), were used (3 groups; 6 rats in each group; control, priapism+reperfusion, priapism+ reperfusion+ ferulic acid).

Changes in tissue levels of TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx in the penectomy material taken and histological characteristics of the penis tissue taken from the sacrificed rats (cavernous sinus congestion, inflammatory cell infiltration, separation in the tunica albuginea) were evaluated.

Findings

The values found to be statistically significant from biochemical data are TOS and SOD. In our study, the data that were statistically significant in terms of histological data were monitored for cavernous sinus congestion, inflammatory cell infiltration, separation in the tunica albuginea values in the tunica albuginea.

Result

It has been concluded that ferulic acid may be effective in preventing biochemical and histological damage that may occur in tissues in case of priapism/reperfusion.

Keywords: Priapism,Cinnamates,Reperfusion injury



İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Penis Anatomisi.....	3
2.1.1 Penisin Arteryal Dolaşımı	4
2.1.2 Penisin Venöz Dolaşımı	5
2.1.3 Penisin Lenfatik Drenajı.....	6
2.1.4 Penisin İnervasyonu	6
2.2 Penisin Histolojisi.....	6
2.3. Ereksiyon Fizyolojisi.....	7
2.4. Priapizmin Patofizyolojisi	8
2.4.1 Kavernoza Düz Kas Relaksasyonunda Artışa Yol Açan Mekanizmalar	9
2.4.2 Kavernoza Düz Kas Kontraksiyonunda Azalmaya Yol Açan Mekanizmalar.....	12
2.5. İskemi ve Reperfüzyon.....	14
2.5.1. Mekanizmalar	14
2.5.2. Antioksidanların Rolü	20
2.6.Ferulik Asit.....	24
2.6.1.Ferulik Asidin Yapısı ve Kaynakları.....	24
2.6.2. Ferulik Asidin Farmakokinetik Özellikleri	25
2.6.3. Ferulik Asidin Farmakodinamisi.....	26
2.6.4. Ferulik Asidin Etki Mekanizması.....	26
3. MATERYAL VE METOD.....	28
3.1. Çalışma Grupları	28
3.2. Biyokimyasal İnceleme Yöntemi	30
3.2.1. Doku MDA Düzeylerinin Belirlenmesi.....	31
3.2.2. Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Seviyelerinin Belirlenmesi.....	32
3.2.3. Doku Glutasyon Peroksidaz (GPx) Seviyelerinin Belirlenmesi	34
3.2.4. Doku Glukoz ile Düzenlenen Protein 78 (GRP78) Seviyelerinin Belirlenmesi.....	35
3.2.5. Doku Aktifleştirici Transkripsiyon Faktör 6 (ATF6) Seviyelerinin Belirlenmesi	36
3.2.6. Doku C/EBP Homolog Protein (CHOP) Seviyelerinin Belirlenmesi.....	38
3.2.7. Doku Miyeloperoksidaz (MPO) Seviyelerinin Belirlenmesi	39
3.2.8. Doku Glutasyon (GSH) Seviyelerinin Belirlenmesi.....	41
3.2.9. Toplam Oksidan Durumun (TOS) Belirlenmesi	42
3.2.10. Toplam Antioksidan Durumun (TAS) Belirlenmesi	42
3.2.11. Oksidatif Stres İndeksinin (OSI) Hesaplanması.....	42
3.3. Histopatolojik İnceleme Yöntemi.....	42
3.4. İstatistiksel İnceleme Yöntemi	43

4. BULGULAR	44
4.1.1. Kontrol Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;	44
4.1.2. Priapizm/Reperfüzyon Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;.....	45
4.1.3. Priapizm/Reperfüzyon + Ferulik Asit Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;	47
4.2 Biyokimyasal Analiz Sonuçları.....	51
5. TARTIŞMA	52
6. Sonuç ve Öneriler	58
7.KAYNAKLAR.....	59



KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

AC	Adenilat siklazi
ADA	Adenozin deaminaz
ADK	Adenozin kinaz
ATF6	Aktifleştirici Transkripsiyon Faktör 6
BIP	Binding immunoglobulin protein
C	Kompleman
CAMP	Siklik adenozin monofosfat
CHOP	C/EBP Homolog Protein
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPA	Dorsal penil arter
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentetaz
ENT	Equilibrative Nükleotit Transporter
ERAD	ER-ilişkili degradasyon
ET	Endotelin-1
ETZ	Elektron transport zinciri
FA	Ferulik Asit
FAD	Flavin adenin dinükleotid
GM-CSF	Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör
GRP78	Glikoz regüle protein-78
GSH	Glutasyon S-Transferaz
GSHPx	Glutasyon peroksidaz
GSSG	Glutasyon disülfid
GST	Glutasyon S-transferaz
GTP	Guanozin trifosfat
H&E	Hematoksilen-eozin
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HO	Hemoksijenaz
HO1-CO	Hemoksijenaz 1-karbonmonoksit
IFN γ	İnterferon gama
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
IR	İskemi reperfüzyon
KDH	Ksantin dehidrojenaz
KO	Ksantin oksidaz
MCP	Monosit kemoatraktan protein
MDA	Malondialdehit
MPO	Myeloperoksidaz
NAD ⁺	Nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NE	Norepinefrin
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentetaz
NO	Nitrik oksit

NO3	Nitrat
NO-cGMP	Nitrik oksit-siklik guanozinmonofosfat
NOS	Nitrik oksit sentetaz
O2-	Süperoksit
OH-	Hidroksil
OH-	Hidroksil radikali
OSI	Oksidatif stres indeksi
PAF	Platelet aktive eden faktör
PDE	Fosfodiesteraz enzimi
PDE5	Fosfodiesteraz tip 5
PNL	Polimorf nüveli lökositler
ROO	Peroksil radikali
ROS	Reaktif oksijen türleri
SAHH	S-adenozinhomosistein hidrolaz
sGC	Solubl guanilat siklazi
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikal
TAS	Toplam antioksidan kapasite ölçümü
TBA	Tiyobarbitürik asit
TGF-b	Transforming growth faktör beta
TNF-a	Tümör nekroz faktör alfa
TOS	Toplam oksidan kapasitesi
UPR	Katlanmamış protein cevabı

ŞEKİLLER

Şekil 2.1 Penisin enine kesiti (20)	4
Şekil 2.2 Penisin arteryal dolaşımı (20)	4
Şekil 2.3 Penisin venöz sistemi (21).....	5
Şekil 2.4 Dorsal penil arterler, venler ve sinirler (20).....	6
Şekil 2.5 Penil düz kas gevşemesinin moleküler mekanizması(39).....	10
Şekil 2.6 Ferulik Asidin Kimyasal Yapısı	25



GRAFİKLER

Grafik 3.1. Doku MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği	32
Grafik 3.2. SOD ölçümünde kullanılan standart grafiği	33
Grafik 3.3. GPx ölçümünde kullanılan standart grafiği	35
Grafik 3.4. GRP78 ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	36
Grafik 3.5. ATF6 ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	38
Grafik 3.6. CHOP ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	39
Grafik 3.7. MPO ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	40
Grafik 3.8. GSH ölçümünde kullanılan standart grafiği	42



RESİMLER

Resim 3.1. Konstriktör bant kullanılarak oluşturulan ereksiyon modeli.....	29
Resim 3.2. Penis diseksiyonu	30
Resim A. Kontrol grubuna ait penis kesiti. Üretra epiteli (U), korpus kavernozum (Cc), korpus spongiozum (Cs); (H&E x100).	44
Resim D. Kontrol grubuna ait penis kesiti. Kollajen lifler (bükülü ok) ve düz kas (ok) (Masson trikrom x400).....	45
Resim B. Priapizm grubuna ait penis kesiti. Üretra epiteli (U), vazokonjesyon (yıldız) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok başı); (H&E x100).	46
Resim E. Priapizm grubuna ait penis kesiti. Kollajen lifler (bükülü ok) ve düz kas (ok) (Masson trikrom x400).....	47
Resim C. Tedavi grubuna ait penis kesiti. Üretra epiteli (U), vazokonjesyon (yıldız) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok başı); (H&E x100).	48
Resim F. Tedavi grubuna ait penis kesiti. Kollajen lifler (bükülü ok) ve düz kas (ok) (Masson trikrom x400).....	49

TABLÖLAR

Tablo 3.1. Çalışma grupları.....	28
Tablo 4.1 Korpus Kavernozum ve Koprus Spongiozuma ait histolojik değerlendirme sonuçları	50
Tablo 4.2. Nonparametrik verilerde anlamlı farklılıklar izlenen gruplar	50
Tablo 4.3. Anova analizinde fark saptanan parametreler	51
Tablo 4.4. Anova analizinde fark saptanmayan parametreler	51



1.GİRİŞ

Priapizm en yaygın ürolojik acillerden biri olup cinsel ilişki ya da stimülasyondan bağımsız olarak 4 saatten fazla süren uzamış ya da inatçı penil ereksiyon olarak tanımlanır(1). Her yaşta olabilmektedir, genel popülasyonda 100.000’de 0,5-0,9 vaka gibi düşük insidansı vardır(2). Kronik hemolitik anemiyle giden bir hastalık olan orak hücreli anemide ise prevalansı 18 yaş altında %3,6 iken 18 yaş üzerinde %42’lere çıkmaktadır(3). İskemik (düşük akım), non-iskemik (yüksek akım) ve reküren olmak üzere priapizmin 3 ana tipi tariflenmiştir.

İskemik priapizm (IP) kavernoza arteriyel akımın çok az olduğu ya da hiç olmadığı ve sadece kavernoza cisimlerin rijiditesiyle giden kalıcı ereksiyondur(4). Tedavi edilmediği takdirde priapizmin çözülmesi günler sürebilmektedir ve erektil disfonksiyon kaçınılmaz olur.

IP priapizmin > %95 oranıyla en sık karşılaşılan tipidir. Ana patoloji zamanla beraber progresif olarak artan hipoksi, hiperkapni ve asidoza bağlı olarak değişen korporal metabolik değişimlerdir(4). 4 saatin üzerine çıkan sürelerde IP kavernöz dokulardaki dolaşımı ciddi şekilde tehlikeye atan korpus kavernozumun kapalı alanı içindeki basınç artışı ile karakterize edilir. Kompartman sendromunun korporal fibrozis ve kalıcı erektil disfonksiyon gibi potansiyel geri dönüşsüz sonuçlarını önlemek için acil tıbbi müdahale gerekir(5). Priapizm öncesi erektil fonksiyonun idamesini öngörüdeki en önemli prediktör priapizm süresidir bu bağlamda başlangıçtan 48-72 saat sonraki müdahaleler ile ağrıyı ve ereksiyonu gidermekte faydalı olurken erektil fonksiyonu korumada sınırlı fayda gösterir. Patogeneizde 12 saatte korporal örneklerde interstisyel ödem, sinüzoidal endotelin destrüksiyonu, bazal membran kaybı ve 24 saatte trombosit adezyonu, 48 saatte sinüzoidlerde trombüs ve düz kas nekrozu ve fibrozis başlar(6). Hematolojik diskreziler, iskemik priapizm için başlıca risk faktörüdür. İyatrojenik olarak intrakavernoza enjeksiyonlar, oral fosfodiesteraz tip 5 (PDE 5) inhibitörleri de priapizme neden olabilmektedir. Penisin mesane ve prostat kanserine sekonder metastatik infiltrasyonu da priapizme neden olur.

Priapizmin sonlanması ile birlikte iskemi reperfüzyon (IR) hasarı meydana gelmektedir(7). Reperfüzyon iskemik dokunun korunması için gerekli olmasına rağmen, reperfüzyonun kendisi IR hasarını meydana getiren patofizyolojik süreci başlatmaktadır. Oksidatif stres hücre membranında tahribat oluşturup kalıcı hücre hasarına yol açarak dokularda yıkıcı etkilere neden olur. TGF- β (Transforming Growth Factor Beta) doku onarımında hayati önem taşıyan bir sitokindir. TGF- β ’nın up-regülasyonu hipoksi sırasında

oksidatif strese yanıt olarak ortaya çıkmaktadır(8). Aşırı miktarda TGF-b1 iskemik priapizmde fibrozise neden olan araçlardan birisidir. TGF-b1 nötralize edici antikorlar kısa süreli priapizm durumlarında TGF-b1'in fibrotik etkilerini azaltmıştır(9).

Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin hücre membranında bulunan poliansatüre yağ asitlerini etkilemesi sonucu meydana gelen zincirleme bir reaksiyondur. Bu nedenle oksidatif hasar lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan malondialdehitin (MDA), 4-Hidroksinonenal (4-HNE) ve hegzenal isimli aldehitlerin doku düzeylerinde artmasına neden olur(10,11).

Fenolik bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin araştırılması özellikle son 20 yılda popüler bir alan haline gelmiştir. Bunun ana nedeni fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri ve bunların kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar, kanser, I/R hasarı ve oksidatif stresle ilişkili diyabet gibi çeşitli hastalıkları önlemedeki olası rolüdür. Ferulik asit (4-hidroksi-3-metoksisinnamik asit, FA) Ferula foetida'dan izole edilmiştir(12–14). FA, hem serbest formda hem de bitkilerin hücre duvarında polisakkaritler, glikoproteinler, poliaminler, lignin ve hidroksi yağ asitleri ile kovalent olarak konjuge halde bulunur(15). FA'nın doğal kaynakları arasında pirinç, buğday, yulaf, meyveler, fasulye, kahve tohumları, enginar, fıstık ve fındık yer alırken; Angelica sinensis, Cimicifuga racemosa ve Ligusticum chuangxiong gibi Çin bitkilerinin de bir bileşenidir(16).

Ferulik asidin antioksidan özelliklerinin keşfedilmesi ile birlikte birçok biyolojik kullanımı dikkat çekmiştir. FA, antioksidan, antiinflamatuvar, antialerjik, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antikanserojenik (akciğer, meme, kolon ve cilt kanseri), antimikrobiyal, antiviral, vazodilatör, antitrombotik, antidiyabetik, spermilerin canlılığını arttırıcı biyomedikal etki dahil olmak üzere geniş spektrumlu etkilere sahiptir. Ayrıca cilt bakım formülasyonlarında fotokoruyucu bir bileşen ve gıda endüstrisinde lipid peroksidasyonunu önlemek için bir gıda katkı maddesi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır(17–19).

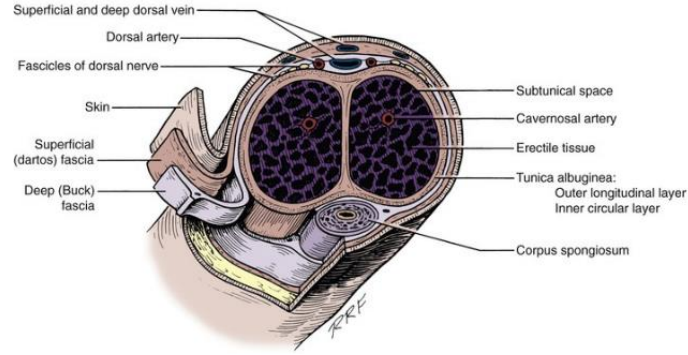
Biz bu çalışmada ratlarda deneysel olarak oluşturulan akut iskemik priapizm modelinde doku TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx seviyelerindeki değişiklikler ve uygulanacak olan ferulik asidin iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olası koruyucu etkilerinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesini amaçlıyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Penis Anatomisi

Penis belirgin anatomik kompartmanlara bölünebilir. Penis bir çift kavernöz cisim ve bir adet spongioz cisimden oluşur. Kavernöz cisimler erektile özelliği gösterir, proksimale uzanım göstererek krus ismini alır ve pubik arka tutunur. Üretra spongiöz cismin içinden geçer ve spongiöz cismin proksimal segmentine bulbus denir. Ereksiyon halindeki penisin superior yüzüne dorsum, üretrayı da barındıran inferior yüzüne de ventrum denir. Penisin büyük bir kısmı korpus kavernozumların pubisin altında penil hilumda birleşmesiyle oluşur. Korpus kavernozumlar bir septum vasıtasıyla birbirinden ayrılmışlardır fakat bu septum distalde sıvı geçişine izin vererek vasküler alanlar arasında bağlantı kurulmasına izin verir. Bu inkomplet septum bu iki korporal cismin fizyolojik ve farmakolojik olarak tek bir yapı gibi fonksiyon göstermesine olanak sağlar. Tunica albuginea iki tabakadan oluşmaktadır. İç tabaka sirküler uzanım gösterir ve kavernöz doku barındırır. İç tabakadan korporal cisme uzanan interkavernözal bantlar erektile dokuyu güçlendirir. Dış tabaka ise longitudinal uzanım gösterir ve glans penisten proksimal kruraya uzanır ve inferior pubik ramusta sonlanır. Ereksiyonda tunikanın dış longitudinal ve iç sirküler lifleri gergin bir vaziyet alırken penis flak haldeyken gevşek bir hal alır.(20)

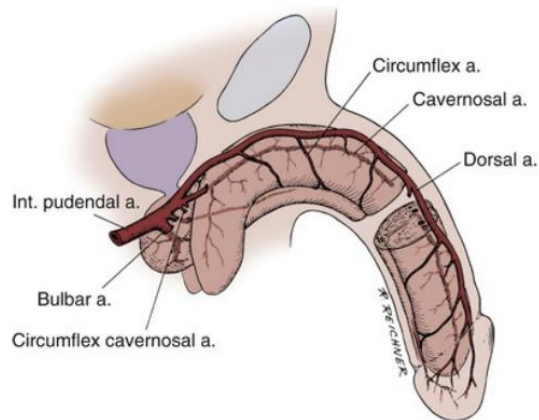
Kavernözal yapı penise esneklik, güç ve rijidite sağlar. Bulbusun distalinde korpus spongiozum incilir ve korpus kavernozumun alt kısmında(ventrum) seyreder. Glans penis corpus spongiozumun en distal segmentidir. Korona glansın tabanını penis şaftından ayırır. Dorsalde buck fasyası her iki kavernoza yapıyı sarar. Ventralde buck fasyası corpus spongiozumu sarmak için bölünür. Rektus kılıfından gelen kollajen ve elastik lifler, Buck fasyası ile karışarak penisin fundiform ligamanı olarak devam ederler. Pubisten gelen derin lifler penisin suspansuar ligamanını ulaştırırlar. Korpus kavernozum kaslarının derinliklerinde tunica albuginea ile Buck fasyası birleşir. Buck fasyası distalde koronada glansın tabanı ile birleşir. Penil şaftın derisi oldukça elastik yapıdadır ve glandüler element olarak sadece koronanın tabanında yerleşim gösteren smegma üreten glandları içerir. Penil deri dartosa gevşek bir şekilde tutunduğundan oldukça mobildir. Sünnetsiz erkeklerde prepsiyum glansın üzerinden katlanır ve koronanın altına yapışır. Glans penis cildi immobildir ve altta tunica albugineaya bağlanır.(20)



Şekil 2.1 Penisin enine kesiti (20)

2.1.1 Penisin Arteriyal Dolaşımı

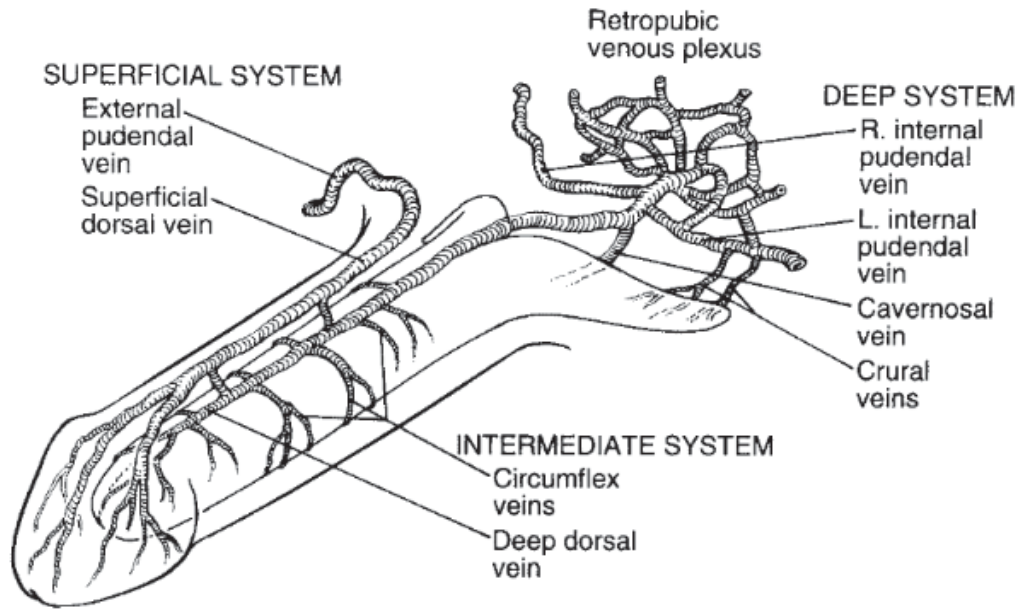
Penisi besleyen iki arteriyal sistem bulunmaktadır. Bunlardan ilki eksternal pudendal arterden köken alan süperfisyel arteriyel sistem, diğer ise her iki tarafın internal pudendal arterinden köken alan derin arteriyel sistemdir. Ana penil arter perineal membranın üstünde Alcock kanalında devam eder ve erektile yapıları beslemek için üç dal halinde sonlanır. Bulboüretal arter korpus spongiosuma posterolateral sınırının üstünden girmek için perineal membranı penetre eder. Bu arter üretra, spongiozum ve glansı besler. Kavernözal arter penil hilumda erektile dokunun merkezine yakın bir noktadan korporal yapıyı deler. Bu arter düz ve helisin arter dallarını vererek kavernözal sinüsleri besler. Dorsal arter krus ve pubis arasında seyrettikten sonra korporal cismin dorsal yüzünü besler. Dorsal arter dorsal ven ve dorsal penil sinir arasında seyreder ve her üç yapı da Buck fasyasının altına yapışır. Glansa doğru ilerlerken spongioz yapıya ve üretraya kavernöz dalları ve sirküferensiyel dalları verir. (20)



Şekil 2.2 Penisin arteriyal dolaşımı (20)

2.1.2 Penisin Venöz Dolaşımı

Yüzeyel dorsal ven Buck fasyasının dışında uzanırken, derin dorsal ven Buck fasyasının içinde ve her iki dorsal arterin arasında uzanım gösterir. Glansın tabanında birçok venöz dallar bir araya gelerek penisin dorsal venini oluşturur ve bu ven korporal yapıların arasındaki olukta seyrettikten sonra preprostatik pleksusa drene olur. Penil shaftın distal 2/3'lük kısmında korpus spongiosumdan köken alan sirkumfleks venler derin dorsal vene dik bir açıyla girmek için korpus kavernozumun etrafında yol alırlar. Sirkumfleks venler sayıca 3 ile 10 arasındadır. Kavernöz sinüslerden oluşan intermedier venüller subtunikal kapiller pleksusa drene olurlar. Bu pleksuslardan oluşan emisser venler tunika katları arasında oblik bir yol izleyerek dorsolateralden sirkumfleks venlere drene olurlar. Penisin proksimal 1/3'ünde emisser venler, sayıları 2 ile 5 arasında değişen kavernöz venleri oluşturmak için kavernöz yapıların dorsomedial yüzeyinde birleşirler. Penisin hilumunda bu damarlar krura ve bulbusdan dallar almak suretiyle her iki yapının arasında seyreder ve internal pudendal vene dökülür. (20)



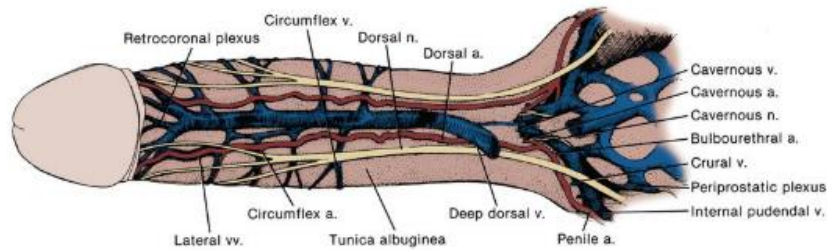
Şekil 2.3 Penisin venöz sistemi (21)

2.1.3 Penisin Lenfatik Drenajı

Penis derisinden köken alan lenfatikler yüzeyel inguinal ve subinguinal lenf nodlarına drene olur. Penis shaftından köken alan lenfatikler ise dorsuma doğru yaklaşır ve her iki taraf kasık bölgesine dallar vererek inguinal lenf nodlarına drene olurlar. Glanstan köken alan lenfatikler ise Buck fasyasının derinliklerinde seyrederek bilateral yüzeyel ve derin inguinal lenf nodlarına drene olur.(20)

2.1.4 Penisin İnervasyonu

Penisin sensöriyel inervasyonu dorsal sinirler tarafından sağlanmaktadır. Bu sinirler dorsal arterlerin yönünde seyrederek ve glansı zengin bir şekilde besler. Perineal sinirlerden kaynaklanan küçük dallar glansın distaline kadar penisin ventralini inerve eder. Penisin somatik inervasyonu S2,S3,S4 spinal sinirlerden köken alan pudendal sinir tarafından sağlanmaktadır. Pudendal sinir Alcock kanalından geçer ve distalde penisin dorsal siniri olarak devam eder. Kavernoöz sinirler korporal yapılara girdikten sonra pelvik pleksustan gelen sempatik ve parasempatik innervasyonu sağlamak için erektile dokuda dallara ayrılırlar. (20)



Şekil 2.4 Dorsal penil arterler, venler ve sinirler (20)

2.2 Penisin Histolojisi

Her bir korpus kavernozum kolajen, elastik lifler ve düz kas içeren dens bir kılıfla örtülüdür. Korpus kavernozumun tunikal kılıfı iki tabakalı bir yapıdır. İç tabakanın demetleri kavernoöz dokuyu sarar, destekler ve sirküler düzen gösterir. Bu tabakadan yayılan intrakavernoöz bantlar septumu destekleyip erektile dokuya esas güç verir. Dış tabaka demetleri glans penisten proksimal kruraya kadar longitudinal olarak uzanır(20). Her iki kavernoöz cismin kılıfları orta hatta birleşerek median septumu oluştururlar. Korpus spongiosum da bir kılıf ile örtülüdür fakat bu kılıf kavernoöz cisminkine göre daha incedir.

Korpus spongiozumda dış tabaka veya intrakorporeal kolonların bulunmamasından dolayı erekte haldeki basınç spongiöz cisimde düşük kalır.

Eretil cisimlerin etrafını saran bağ doku kılıfından köken alan çok sayıdaki septalar koprus kavernozum ve korpus spongiozuma doğru uzanarak bir ağ oluşturur. Arter ve venlerle ilişkili bu ağsı boşluklar endotel ile döşelidir. Normal halde boşturlar fakat ereksiyon esnasında basınç altında kanla dolarlar. Ereksiyon esnasında korpus kavernozum dens bir kılıfa sahip olması sebebiyle rigid forma bürünürken korpus spongiozum elastik bir kılıfa sahip olması nedeniyle aynı rigiditeyi gösteremez. Böylelikle ereksiyon esnasında penil üretra patent kalarak semenin akışına izin verir (22).

2.3. Ereksiyon Fizyolojisi

Ereksiyon; sinüzoidal gevşemeyi, arteriyel dilatasyonu ve venöz kompresyonu kapsar(23). Düz kas gevşemesinin önemi hayvanda ve insanda çalışmalarla gösterilmiştir(24–28). Ereksiyonda penil eretil doku, özellikle kavernözal düz kas ve arteriyol-arteriyel duvar düz kasları anahtar rol oynar. Flask halde bu düz kaslar sadece küçük bir miktar arteriyel akıma izin verecek şekilde tonik bir biçimde sürekli kasılırlar. Parsiyel oksijen basıncı(pO_2) 35 mmHg'dir(29).

Seksiül uyarı, kavernoza sinir terminallerinden nörotransmitter salınımı yaptırır. Nörotransmitter salınımı bu düz kaslarda gevşemeye sebep olarak arteriyol ve arterlerin dilatasyonuna ve korporal kan akımında artışa neden olur. Vasküler sinüzoidlerde hapsolan kan, periferik sinüzoidler ile tunica albuginea arasındaki subtunikal venöz pleksusa kompresyon yaparak latent fazda venöz akımı azaltır. Tümesans fazında tunica gerilme kapasitesine ulaşınca penis büyür ve iç sürküler ve dış longitudinal tabaka arasındaki emisser venlere kompresyon uygulanır. Emisser venlerin maksimum oklüzyonu ile beraber intrakavernözal basınç 100 mm Hg'ye ulaşır ve penis erekte olur(full-ereksiyon fazı). İskiokavernoza kasların kasılması ile de basınç daha da artar(rijid ereksiyon fazı)(20).

Korpus spongiozum ve glans penisin hemodinamiği korpus kavernozumdan biraz farklıdır. Ereksiyon esnasında, arteriyel akım aynı şekilde artsa da korpus spongiozum tunicası ince, glansta ise hiç olmaması nedeniyle venöz oklüzyon minimaldir. Buralardaki basınç kavernoza basıncın ancak üçte biri ile yarısı kadar olacaktır (20).Erkek cinsel eylemini başlatmak için duyuşal sinir sinyallerinin en önemli kaynağı glans penistir. Seksüel sinyaller pudenda sinire iletilir ve sonrasında spinal kordun sakral bölgesindeki sakral pleksusa ardından beyinde son bulur(30).

Ereksiyon spinal kordun sakral bölgesinden gelen penise pelvik sinirlerle geçen parasempatik uyarılarla gerçekleşir. Bu parasempatik sinir lifleri, diğer çoğu parasempatik liflerin aksine, asetilkoline ek olarak, nitrik oksit ve/veya vazoaaktif intestinal peptid salgılar(31).Özellikle nitrik oksit, korpora kavernoza ve korpus spongiosumun erektile dokunun kas yapısını ve penis arterlerini gevşetir.(30) Seksüel stimülasyon sırasında parasempatik impulslar ereksiyonu desteklemenin yanında, üretral glandları ve bulboüretral glandları mukus salgılamaları konusunda uyarırlar. Bu mukus, birleşme sırasında, üretra boyunca akarak lubrikasyona katkıda bulunur. Emisyon ve ejakülasyon, erkek seksüel eyleminin zirve noktasıdır. Seksüel uyarı ileri derecede yoğun olduğu zaman, spinal kordun refleks merkezleri, kordu T12-L2'den terk eden ve genital organlara ejakülasyonun öncüsü olan emisyonu başlatmak için hipogastrik ve pelvik sempatik sinir pleksusları aracılığıyla giren sempatik impulsları yaymaya başlarlar.(30)

2.4. Priapizmin Patofizyolojisi

Seksüel uyarı olmaksızın 4 saatten uzun süren istemsiz ereksiyon olarak tanımlanan priapizm, ürolojik acil bir patolojidir. Genel olarak priapizm etyoloji ve klinik gidişine göre iskemik (veno-okluzif, düşük akımlı), non-iskemik (yüksek akımlı) ve tekrarlayan (intermittan) priapizm şeklinde sınıflandırılır(32).

Özellikle düşük akımlı priapizm olarak tanımlanan iskemik priapizm, kavernozaal arterlerdeki kan akımının hemen hemen tamamen durması sonucu ağırlı bir ereksiyonla karakterizedir. Penil kan akımının özellikle kavernozaal dokunun bazal ihtiyacını karşılayacak seviyenin altında olması nedeniyle iskemik priapizm, kavernozaal dokularda nekroz ile sonuçlanabilmektedir. Tedavinin 12 saat içinde yapılmaması sonucu peniste histolojik değişiklikler ortaya çıkabilmektedir(32,33). Ayrıca iskemi süresi uzadıkça ereksiyon kaybı da artan oranlarda saptanmakta ve 36 saat iskemi sonrası hastaların hemen hemen tamamında erektile disfonksiyon belirlenebilmektedir(33). Bundan dolayı iskemik priapizmde penil kan akımının optimal şekilde sağlanması, acil tedavinin ana prensibi olmalıdır. Bu amaçla uygulanacak güncel medikal ve cerrahi tedaviler yanında, priapizm patofizyolojisinde etkin olan ikincil yollar üzerinden yeni tedavi modelleri güncel araştırma konularıdır(33,34)

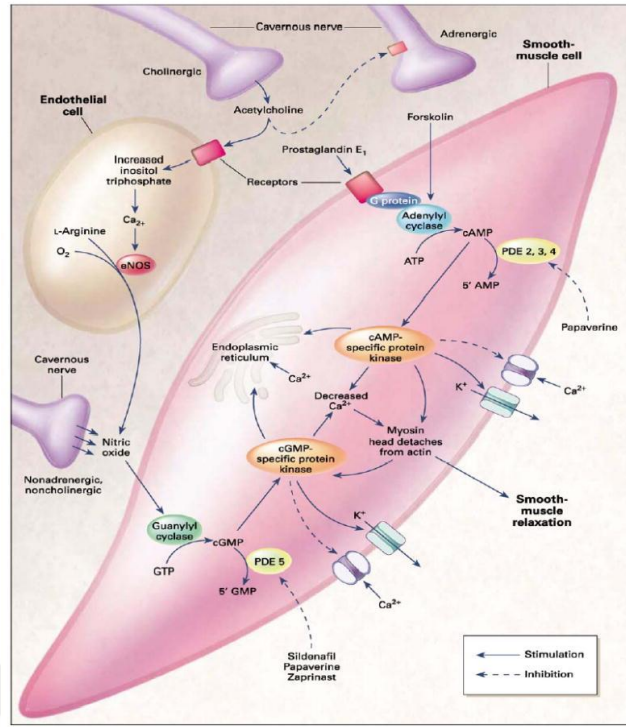
Kavernozaal düz kaslarda relaksasyon sağlayan başlıca yollar; nitrik oksit-siklik guanozinmonofosfat (NO-cGMP) yolağı, adenozin yolağı ve hemoksijenaz 1-karbonmonoksit (HO1-CO) yolağıdır. Kontraksiyonu etkileyen olası mekanizmalar ise; fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) enzim aktivitesi, norepinefrin (NE), endotelin-1 (ET) ve Rho-kinaz cevabıdır. Penisin

anatomik yapısı ve fonksiyonel özelliklerinin optimum olarak korunması için, düz kas tonusunun regülasyonunda etkili olan bu mekanizmaların dengeli bir şekilde fonksiyon göstermesi gerekmektedir. Dolayısıyla priapizm etyopatogenezinde penis düz kas dokusunda kontraksiyonda etkin olan mekanizmalar azalmış, relaksasyonda etkin olan mekanizmalarda ise artmış bir fonksiyon beklenmektedir(9,35,36).

2.4.1 Kavernozal Düz Kas Relaksiyonunda Artışa Yol Açan Mekanizmalar

NO-cGMP Yolağı

Ereksiyonda etkin olan en önemli mekanizma non-adrenerjik, non-kolinerjik NO-cGMP yolağıdır. Kavernozal düz kasın gevşemesi (tümesans) için asetilkolin, endotel ve sinir hücrelerinden nitrik oksit sentetaz (NOS) salınımını uyarır. NOS, nöronal nitrik oksit sentetaz (nNOS), endotelyal nitrik oksit sentetaz (eNOS) ve immün hücreler ve makrofajlardan salınan indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) olmak üzere üç formda bulunmaktadır. Korpus kavernozumda her üç tip de mevcut olmakla birlikte, nNOS ereksiyonun başlamasından, eNOS ise sürdürülmesinden sorumludur. Sentezlenen NO, düz kas hücresi içine diffüze olarak solubl guanilat siklazı (sGC) aktive etmektedir. sGC ereksiyon sırasında NO ile cGMP arasında bağlantı görevi yaparak, guanozin trifosfattan (GTP) cGMP oluşumunu sağlamaktadır. Oluşan cGMP, spesifik protein-kinaz G ile bir kompleks oluşturarak bir taraftan endoplazmik retikuluma kalsiyum sekestre ederken, diğer taraftan voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını inhibe eder. Aynı zamanda potasyum kanallarını açarak membran hiperpolarizasyonunu sağlar. Sonuç olarak hücre içi kalsiyumun düşmesiyle miyozin hafif zincir kinaz enziminin inhibisyonu, aktin üzerindeki miyozin köprülerini ayrıştırır, düz kas gevşeyerek tümesans ortaya çıkar. Uzamış istemsiz ereksiyon olarak tanımlanan priapizm patofizyolojisinde, ereksiyondaki normal düz kas fonksiyonunu sağlayan NO-cGMP yolağının değişen etkinliğinin rol oynayabileceği bildirilmiştir(37). Claudino ve arkadaşları orak hücre anemili fare korpus kavernozumlarının NO-cGMP'ye duyarlılığının artmış olduğunu belirlemişlerdir. Dolayısıyla tekrarlayan priapizm ataklarında fizyolojik sınırların üzerinde artmış olası bir NO-cGMP duyarlılığı rol oynayabilecektir(38).



Şekil 2.5 Penil düz kas gevşemesinin moleküler mekanizması(39)

Adenozin Yolağı

Adenozin, ATP'den sentezlenen ve pek çok metabolik olayda etkin olan bir moleküldür. Özellikle hipoksi durumunda, artan oksijen ihtiyacına karşılık bir savunma mekanizması olarak vasküler dokularda kontraksiyon ya da relaksasyon yaparak etkin rol oynamaktadır. Dolayısıyla iskemik bir kompartman sendromu olan priapizmde, adenozinin de etkin olabileceği bildirilmiştir(40). Hipoksik ortamda, artan oksijen ihtiyacına bağlı olarak eks-trasellüler ortamda ATP'den CD39 ve CD74 enzimleri ile adenozin ortaya çıkmaktadır. Yine hücre içinde de sitokrom 5'-nükleotidaz enzim katalizörlüğünde AMP'den adenozin sentezlenmektedir. İntrasellüler ve ekstrasellüler adenozin seviyesi equilibrative nükleotit transporter (ENT) ile dengelenmektedir(40).

Adenozin fizyolojik etkilerini A1, A2, A3 reseptörleri üzerinden yapmaktadır. A2 reseptörü G_s proteinine bağlanarak adenilat siklazı (AC) aktive etmektedir. Sonuç olarak aktive adenilat siklaz ATP'nin cAMP'ye dönüşümünü sağlayarak, A2 reseptörü aracılığı ile düz kasta relaksasyon yapmaktadır. A1 reseptörü G_i ve G_o , A3 reseptörü ise G_i ve G_q proteinlerine bağlanarak, ATP'den cAMP oluşumunu aktive eden adenilat siklazı inhibe etmekte ve azalan cAMP düz kasta kontraksiyona eğilimi arttırmaktadır(41,42). Adenozin fonksiyonunu tamamladıktan sonra hem ekstrasellüler hem de intrasellüler ortamda adenozin deaminaz (ADA) enzimi aracılığıyla inosine, ayrıca intrasellüler adenozin kinaz (ADK) enzim

aracılığıyla AMP'ye ve s-adenozin- homosistein hidrolaz (SAHH) aracılığıyla da adenozin-homosisteine metabolize olmaktadır(40).

Priapizm patofizyolojisinde iskemiye bağılı olarak adenozin sentezinde artış ve/veya yıkımında azalmanın olası etkenlerden biri olabileceğı bildirilmektedir. Wen ve arkadaşları deneysel priapizm modellerinde adenozin deaminaz (ADA) enzim defektine bağılı olarak, adenozin seviyesinde artış olduğunu ve artan adenozin seviyesine bağılı olarak da, A_{2B} reseptörlerinin uyarılmasıyla priapizm ortaya çıktığını belirlemişlerdir. ADA enzim defekti olan orak hücre anemili ratlara, polyethylene glycol–modified adenozin deaminaz (PEG-ADA) uygulanması sonucunda, adenozin seviyesinin azalmasına bağılı olarak priapizm ataklarının engellenebileceğı saptanmıştır(40,43). Bu deneysel veriler, kavernoza dokudaki artmış adenozin seviyesinin priapizmde etkili olabileceğini ortaya koymaktadır. Bundan dolayı adenozin deaminaz enzim aktivitesini arttıran veya adenozin seviyesini azaltacak manipölasyonlar, priapizm tedavisinde yeni araştırma konularıdır.

HO-1-CO Yolağı

Heme proteini, demir ve protoporfirin-IX kompleksinden oluşan ve canlı hücrelerde çok önemli fonksiyonları olan hemoproteinlerin yapısında yer almaktadır. Başlıca hemoproteinler; oksijen taşınmasında rol alan hemoglobin, oksijen metabolizmasında rol oynayan oksidaz, peroksidaz, katalaz, elektron transportunda rol oynayan sitokromdur(44). Heme proteini, endotel ve düz kasta bulunan hemoksijenaz (HO) enzimi aracılığı ile yıkılmaktadır. Hemoksijenaz enzimi HO1, HO2 ve HO3 olmak üzere 3 izoformda bulunmakla birlikte insanlardaki en önemli izoform HO1'dir. Hipoksi, stres ve reaktif oksijen ürünlerinin varlığında HO1 düzeyi artmakta ve HO1 heme proteinini yıkarak CO, Fe(II) ve biliverdinin açığa çıkmasına neden olmaktadır(45). Oluşan CO, NO benzeri bir gazotransmitter olup bazı hücre fonksiyonları regüle etmektedir. Ancak CO yarı ömrü NO'e oranla oldukça kısadır. İskemi sonucu artan HO1 aktivitesi ile ortaya çıkan CO, guanilat siklazı aktive ederek c-GMP artışına yol açıp, K kanal aktivitesini arttırarak ya da sitokrom p450 monooksijenaz yolunu inhibe ederek düz kas relaksasyonuna neden olmaktadır(44). Ayrıca CO ile NO arasında da çeşitli feedback mekanizmalarıyla karşılıklı etkileşim söz konusudur(45). Deneysel priapizm modellerinde artmış HO-1-CO etkinliğinin geç dönem priapizmde rol oynayabileceğı bildirilmiştir(45). Jin YC ve arkadaşları özellikle ratlarda oluşturulan deneysel priapizm modellerinin 24 saatlik geç dönemlerinde kavernoza dokuda HO-1 aktivitesini kontrol grubuna göre altı kat yüksek oranlarda belirlemişlerdir(44). Artmış

olan bu HO-1 aktivitesinin de, kavernoza dokuda yüksek oranlarda ortaya çıkarttığı CO'nun, priapizmin geç dönemlerinde etkin olabileceğini bildirmişlerdir(44). Bu deneysel çalışmalar temeli oluşturmakla beraber geç dönem priapizmde, bir savunma mekanizması olarak ortaya çıkmış olan HO-1-CO yolağının bloke edilmesinin tedavide kullanılabileceği gündeme gelmiştir. Özellikle HO-1'in, tin-protoporfirin ve Zn-protoporfirin gibi klasik metalloporfirinlerle non-selektif olarak, imidazol-dioksolonaz gibi yeni grup kimyasal bileşiklerle selektif olarak inhibe edildiği ve bunların priapizmde koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir(44). Ünüş ve arkadaşları deneysel priapizm modellerinde, Zn-protoporfirin'in kavernoza 20 düz kas kontraksiyonunu arttırdığını belirlemişlerdir(46). Bu nedenlerle geç dönem priapizm tedavisinde HO-1 inhibitörlerinin kullanılması açısından umut vericidir.

2.4.2 Kavernoza Düz Kas Kontraksiyonunda Azalmaya Yol Açan Mekanizmalar Konvansiyonel PDE5 Yolunda Disregülasyon:

Penil düz kas relaksasyonu ve dolayısıyla ereksiyonda en etkin rol oynayan cGMP, fosfodiesteraz enzimi (PDE) tarafından hidrolize edilerek inaktif form olan GMP'ye yıkılmaktadır. Vücuttaki pek çok organ doku sisteminde toplam 11 PDE izoenzimi bulunmaktadır. Peniste daha ziyade etkin olan izoenzim PDE5'tir. Dolayısıyla penil düz kas relaksasyon ve kontraksiyon regülasyonunda cGMP kadar PDE5 enzimi de etkin rol oynamaktadır(47). PDE5 sentez veya fonksiyonel disregülasyonlarının erektile disfonksiyon veya priapizmde etkin olabileceği bildirilmiştir(48).

PDE5 enziminin fonksiyonel aktivasyonunda, PDE5 enziminin fosforilasyonu önemli rol oynamaktadır. Ayrıca cGMP'nin allosterik bölgeye bağlanmasının, PDE5 katalitik etkinliğini on kat arttırdığı bildirilmiştir(48). Bunun yanında PDE5 enziminin deaktivasyonu, protein fosfataz 1 (PP1) enzimi tarafından defosforile edilerek ya da caspase 3 enzimi tarafından hidrolize edilerek gerçekleştirilmektedir(48).

Priapizm etyopatogenezinde bu enzimin fonksiyonel regülasyon mekanizmalarındaki patolojilerin etkin olabileceği bildirilmiştir(48). Özellikle orak hücre anemili hastalarda penil NO-cGMP yolağında disregülasyon olduğu belirlenmiştir. Bazal cGMP oluşumu normal sınırlarda olmayan orak hücre anemili hastalarda, orantısız cGMP sentezine bağımlı olarak PDE5'te bir disregülasyon ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla bazal seviyenin üzerinde cGMP salınımına sebep olabilecek, noktürnal penil tümösans gibi fizyolojik süreçlerde kavernoza dokularda disregüle halde bulunan PDE5 tam etkinlik gösterememekte ve artmış bir vazodilatasyon sonucu uzamış ereksiyon ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla çeşitli yollarla

cGMP-PDE5 regülasyonunun optimum şartlarda sağlanması, özellikle orak hücre anemili hastalarda tekrarlayan priapizm ataklarını engellemede etkin olabilecektir. Bialecki ve Bridges, 50 mg sildenafilin orak hücre anemili hastalarda tekrarlayan priapizm ataklarını önlediğini bildirmişlerdir(49). Burnett ve arkadaşları da günlük 25 veya 50 mg sildenafil veya haftada 3 defa 5 mg tadalafil tedavisi ile 3-11 ay takip sonucunda, orak hücre anemili hastalarda priapizm nüksünde belirgin azalma görüldüğünü rapor etmişlerdir(50).

Azalmış Norepinefrin(NE) Cevabı:

Penil arteriyel ve sinüzoidal düz kaslarda kontraksiyon yaparak tūmesansı sonlandıran en önemli mediatör norepinefrindir. Penil arteriyel düz kaslarda hem alfa hem de beta adrenerjik lifler ve reseptörler bulunmakla birlikte alfa reseptörlerinin beta reseptörlerinden on kat daha yüksek oranda bulunduğu belirlenmiştir(51). Norepinefrin, düz kas hücre zarındaki alfa 1 ve alfa 2 reseptörlerine bağlanarak etkinlik göstermektedir. Alfa 1 reseptörlerin uyarılması ile G-proteine bağlı fosfolipaz C aktivasyonu sağlanmakta ve bu da 1, 4, 5-inositol trifosfat oluşumunu uyararak hücre içi depolardan kalsiyum iyonu salınması sonucu vazokonstriksiyona sebep olmaktadır. Ayrıca alfa 2 reseptör uyarımı adenilat siklaz enzimini inhibe ederek siklik adenosin monofosfat (cAMP) oluşumunu azaltarak penil detūmesans oluşumuna katkıda bulunmaktadır(52). Priapizm patogenezinde uzamış ereksiyona sebep olacak artmış düz kas relaksasyonu yanında detūmesansı sağlayacak kontraksiyon mekanizmalarındaki azalmanın da etkin olabileceği bildirilmektedir. Muneer ve arkadaşları özellikle penil kavernoza düz kas hücrelerinin uzamış priapizm süresi ile orantılı olarak, NE'ye azalan oranlarda cevap verdiğini belirlemişlerdir(53). Kontrol grubunda arttırılan fenilefrin dozlarına kontraksiyon yanıtının da artan oranlarda saptandığı, ancak priapizm süresine bağlı olarak fenilefrin doz artırımına, artan düz kas kontraksiyon cevabının saptanmadığını bildirmişlerdir(53).

Endotelin Etkinliği:

Endotelin, endotel hücrelerinden salgılanan vücudun en güçlü vazokonstrüktör maddelerinden biri olup, endotelin dönüştürücü enzim tarafından pre-pro ET-1'den sentezlenen 21 amino asitli bir peptiddir. Artmış endotelin seviyesi, düz kas vazokonstriksiyon ve hipertrofisine ayrıca fibrozis ve inflamasyona neden olmaktadır. Endotelin guanin nükleotid bağlayıcı (G) proteine bağlanan ETA ve ETB olmak üzere iki farklı reseptör üzerinden etkinlik göstermektedir. Bu iki reseptörün yerleşim yerleri ve endotelin peptidleri bağlama afiniteleri farklıdır. ETA reseptörleri esasen damar düz kas hücrelerinde bulunup

vazokonstriksiyonu uyarmaktadırlar. Bu vazokonstriktör cevap G-proteine bağlı fosfolipaz C aktivasyonu aracılığıyla 1, 4, 5- inositol trifosfat oluşumu ve ardından hücre içi depolardan kalsiyum iyonu serbestleşmesi ile meydana gelmektedir. ETB reseptörleri ise endotelial hücrelerde bulunur ve NO, PGI₂ üretimini artırmak yoluyla vazodilatasyona ve antiproliferatif etkilere yol açar(54,55). Normal organ sistemlerde ET₁, ETA reseptörleri üzerinden vazokonstriktör etki meydana getirmektedir. Ancak hipoksi gibi patolojik durumlarda ET-1 bir savunma mekanizması rolü üstlenerek, ETB reseptörü üzerinden vazodilatasyon ortaya çıkartmaktadır. Priapik kavernozaal düz kaslarda oluşan iskemi neticesinde ET₁'in ETB reseptörleri üzerinden düz kas relaksasyonu yapması, ereksiyonun uzamasında etkin olmaktadır(56).

Ünüş ve arkadaşları oluşturdukları deneysel priapizm modelinde, non-selektif endotelin reseptör blokleri olan Bosentan'ın artan dozlarda, artan oranlarda kavernozaal düz kas kontraksiyonunu arttırdığını saptamışlardır. Artmış kavernozaal düz kas kontraksiyonunun, ET₁'in hipoksi nedeniyle ön planda uyardığı ETB reseptörlerinin bloke edilmesi sonucu ortaya çıktığını bildirmişlerdir(46).

2.5. İskemi ve Reperfüzyon

2.5.1. Mekanizmalar

Arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu bu doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi, hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar(57). Bu durum genel olarak İskemi-Reperfüzyon (IR) hasarı olarak adlandırılır. Reperfüzyon döneminde gözlenen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücrel yapılar, zar lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir.

İskemi-reperfüzyonda ortaya çıkan hasardan başlıca sorumlu olan Serbest Oksijen Radikal (SOR) oluşumu genel olarak I) Ksantin oksidaz aracılı, II) Mitokondriyal elektron transport zinciri (ETZ), III) Nitrik oksit sentaz ve IV) Fagositik hücre aracılı olmak üzere birbiri ile ilişkili 4 ana biyokimyasal mekanizma ile açıklanmaktadır(58,59).

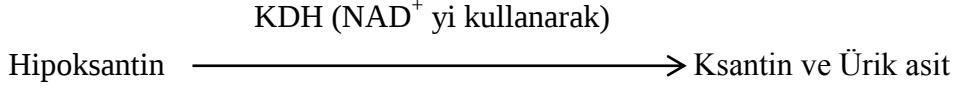
İskemik dönemde dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve adenozin 5'-trifosfat ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır(60). Hem mitokondriyal üretimin durması hem de hücre içerisindeki ATP yıkımına bağlı oluşan enerji kaybı, membrandaki enerji bağımlı iyon pompalarında fonksiyon bozukluğuna ve hücre içi metabolizmanın anaerobik faza yönelmesine yol açar. Laktat ve hidrojen birikimi ile hücre içi pH düşer ve asidoz oluşur. Hücre içi artan hidrojen yükünü dengelemek için $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ pompası ile artan hidrojen hücre dışına atılır ve $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ pompası ile de kalsiyum hücre içine yer değiştirir(61). Hasarlanan endoplazmik retikulum da hücre içine kalsiyum salınımına yol açarak kalsiyum artışına katkıda bulunur Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na^+ , K^+ -ATP az pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içinde Na^+ ve Ca^{2+} iyon konsantrasyonları artar(62). Hücre içinde Ca^{2+} iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir(63).

Hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar. İskemi döneminde ATP üretimi durduğu halde kullanımı devam ettiği için ATP'den AMP ve adenozin oluşur. Adenozin, hızla hücre dışına difüze olur ve inozin ve hipoksantine parçalanır. Dolayısıyla, iskemi sonucu yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin (ATP) yıkımı, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne yol açar. Normal şartlarda hipoksantin ürik asite metabolize olur ve bu reaksiyonda elektron alıcı NAD^+ (nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu) dir. Ancak hipoksi ya da iskemi nedeniyle $\text{KDH} \rightarrow \text{KO}$ 'a dönüştüğünden hipoksantin ürik asite dönüşümü KO tarafından gerçekleşir ve bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır(64). Son iki basamakta ürün olarak reaktif oksijen türlerinden O_2^- (süperoksit) oluşur. Normal fizyolojik koşullarda oluşan O_2^- , süperoksit dismutaz (SOD) ile önce hidrojen peroksit (H_2O_2), sonra katalaz etkisi ile suya dönüşür.

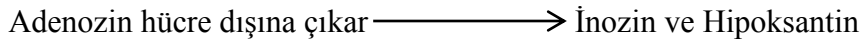
Ancak IR'de ksantin oksidaz etkisine bağlı olarak artan O_2^- ve H_2O_2 , antioksidan kapasiteyi aşar ve ortamdan etkin bir şekilde temizlenemez. H_2O_2 daha sonra Fe^{+2} gibi geçiş metalleri veya süperoksit radikalleri ile (Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları) reaksiyona girer ve en güçlü radikal olarak bilinen $\text{OH}^\bullet$ oluşturur(65). Reaktif oksijen türleri miktarındaki bu artış sonuçta hücre membranlarındaki lipid yapılarında hasar, hücre içi proteinlerin yapı ve

fonksiyonlarında bozulma ve DNA'da yapısal hasar meydana getirerek hücre zedelenmesine yol açar(66).

Normal şartlarda:



İskemide:



Reperfüzyon ile:



İskemi-reperfüzyon (IR) hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür(67,68). Özellikle; serbest oksijen radikalleri, polimorf nüveli lökositler (PNL), kompleman sistemi, endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasındadır.

Serbest Oksijen Radikalleri

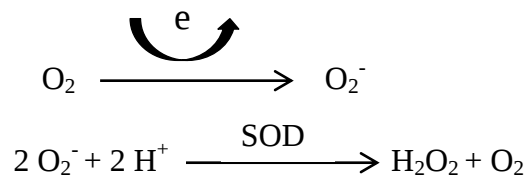
Serbest radikal, eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküldür. Genelde elektronlar atom veya molekülde eşlenik olarak bulunmaları nedeniyle molekül stabildir ve reaktif değildir. Ancak, moleküle bir elektron ilavesi ya da bir elektron kaybı onu reaktif hale getirir. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar. Her ne kadar serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır(69).

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve yapılarının bozulmalarına neden olurlar. Biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen türleri (ROS), süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH^-), nitrik oksit (NO), peroksil radikali (ROO) ve radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi serbest radikaller oksidatif stresin en önemli nedenleri arasında yer almaktadır(70). Serbest radikaller normal hücresel katabolizma sırasında oluşabildiği gibi, çeşitli dış etkenler aracılığı ile de meydana gelebilir.

Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikallerin endojen kaynakları oksijen, nitrik oksit (NO), uyarılmış nötrofil, mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, peroksizom ve plazma membranı olarak sayılabilir. Solunan oksijenin % 95'inden fazlası mitokondrilerde ATP şeklinde enerji oluşumunda kullanılırken, yaklaşık %5 'i de son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron içeren ve bu özellikleri nedeniyle de toksik serbest radikallere dönüşmektedir(71).

Normal fizyolojik koşullarda mitokondri hücre içi oluşan süperoksit anyonu (O_2^-)'nun başlıca kaynağıdır. Hücrelere giren oksijenin %90'ı elektron transport zincirinde suya indirgenirken %1-2'lik bir kısım ETZ'den (başlıca kompleks I ve III) elektron kaçağına bağlı olarak süperoksite dönüşür. Normalde oluşan bu süperoksitler, SOD enzimi tarafından hızlıca dismutasyona uğratılır. İskemi durumunda ETZ'nin de moleküler oksijen yokluğuna bağlı olarak elektron akışı durduğundan bu kompleksler (özellikle kompleks I) indirgenmiş düzeyde kalır. ETZ'den sızan elektronlar rezidüel oksijenle reaksiyona girerek süperoksit anyonu (O_2^-) üretimine yol açarlar. Reperfüzyonda ise moleküler oksijenin gelişi ile ETZ'den elektron sızıntısı artar ve patolojik süreç süperoksit anyonu (O_2^-) üretiminin artışı ile devam eder(72).

Süperoksit radikali, oksijen molekülüne bir elektron ilavesi ile oluşur ve serbest radikal hasarına karşı koruyucu antioksidan bir enzim olan ve oksidan hasar oluşumu ile birlikte artan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile hidrojen peroksit (H_2O_2)'e indirgenir. Hidrojen peroksit eşlenmemiş elektron içermediği için tek başına radikal değildir(73).



Hidrojen peroksitin hücre içinde metabolizması birkaç şekilde olabilir. H_2O_2 , KAT veya GPx tarafından toksik olmayan ürünlere dönüşür veya Fe^{+2} gibi geçiş metallerinin varlığında toksik OH dönüşür (Fenton reaksiyonu). Hidroksil radikali oldukça reaktif ve toksik bir radikaldir; herhangi bir OH süpürücüsünün etkili olabilmesi için mevcut hedef moleküllerin önemli bir bölümünü kapsayacak kadar yüksek konsantrasyonda bulunması gerekir. Bu nedenle OH radikalının oluşumunun önlenmesi, bu radikalın süpürülmesinden daha etkilidir(74).

Polimorf Nüveli Lökositler (PNL)

Reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik antinötrofil serumlarla ya da lökosit adhezyon moleküllerine karşı monoklonal antikorlarla yapılan çalışmalar, reperfüzyonda mikrovasküler permeabiledaki artıştan başlıca nötrofillerin sorumlu olduğunu göstermiştir(75). İ/R ile lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu meydana gelir(76). Diğer taraftan, PMNL yüksek miktarda SOR üretme kapasitesine de sahiptir. İskemi reperfüzyon hasarında PMNL'in rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür(77). Bunlar: 1) Mikrovasküler oklüzyon; 2) SOR salınması; 3) Sitotoksik enzim salınması; 4) Vasküler permeabilite artışı; ve 5) Sitokin salınmasında artıştır.

İskemik dokunun reperfüzyonu, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşmasına ve sıvı filtrasyonunun artmasına, post-kapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur. Reperfüzyonun başlangıç döneminde, mikrosirkülasyonun tüm segmentlerinde aktive edilmiş endotel hücrelerinden fazla miktarda O_2 oluşurken NO oluşumu ise azalır. Süperoksit radikali ile NO arasındaki dengenin bozulması, endotel hücrelerinden PAF, TNF-a gibi inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına ve lökosit-endotel hücre adhezyonuna aracılık eden adhezyon moleküllerinin biyosentezinin artmasına neden olur(78,79).

Serbest radikallerin oluşumunda ve İ/R hasarında önemli bir kaynak olan nötrofiller azurofilik granüllerinde oksidan etkili NADPH oksidaz, elastaz ve miyeloperoksidaz enzimlerini içerirler. Bu enzimler oksidan doku hasarında önemli roller üstlenir; aktive nötrofillerde ksantin-oksidad'ın artması ile SOR'un salınması "solunum patlaması" olayını meydana getirir. İskemi sonrası reperfüzyonun başlaması ile birlikte, dokuya sunulan oksijenin yaklaşık %70'i NADPH-bağımlı oksidaz ile süperoksit iyonlarına oksitlenmektedir. Süperoksit iyonu, çoğu kez spontan dismutasyonla hidrojen perokside dönüşür. Hidrojen

peroksit ise klorür iyonlarının varlığında miyeloperoksidaz enzimi aracılığı ile hipoklorik aside indirgenir. Hipoklorik asit güçlü bir oksidandır ve birçok biyolojik moleküle kolayca reaksiyona girebilir. Nötrofillerin aktivasyonu ile nötrofil sekonder granüllerden salıverilen apolaktoferrin, plazminojen aktivatörü, komplemanı aktive eden enzim ve elastaz, kolajenaz, ve jelatinaz gibi proteolitik enzimler damar endotelinde hasara neden olmaktadır. Proteinazların etkisi ile damar duvarında yapının değişimi ve duvar yapısının gevşemesi ile nötrofillerin dokuya göçü kolaylaşır(80).

Komplemanın Rolü

Kompleman sisteminin aktivasyonu sonunda proinflamatuvar komponentler oluşur. Bunlar C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anaflatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. Lökosit aktivasyonu ve kemotaksisin uyarılmasına ek olarak C5a, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2, MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein (MCP)- 1, TNF-a, IL-1 ve IL-6 üretimini uyarak inflamatuvar yanıtı amplifiye eder. Kompleman tarafından sentezi uyarılan lökosit adhezyon molekülleri şunlardır(81): Vasküler hücre adhezyon molekülü 1 (VCAM-1) İnterselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1) E-selektin, P-selektin,

C5b9 endotelde IL-1a, IL-8 ve MCP-1 salgısını uyarak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi artırır. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek ve endotelde siklik guanozin monofosfatı azaltarak vasküler tonusu bozar(82,83).

Endotel Hücresinin Rolü

İ/R hasarının oluşmasında endotel hücreleri önemli role sahiptir. Oksidatif stres endotel hücrelerinin aktivasyonuna ve işlevlerinin bozulmasına neden olur. Endotel hücreleri SOR için potansiyel hedef konumundayken diğer taraftan da SOR üretim kaynağıdır. Endotel, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan endotelin (ET)'i ve NO'yu üretir. NO arteriyel dolaşımında ET'in vazokonstriktör etkisini tersine çevirme eğilimindedir. Venlerde ise bunun tersi söz konusudur. İ/R hasarında endotelin/NO oranı endotelin lehine bozulur. Sonuçta arteriyel vazokonstriksiyon, venlerde vazodilatasyon olur(84). Endotel hücrelerinin oksidatif stresi sonucu kompleman aktive edilir; lökosit adhezyon moleküllerinin üretimi artar. SOR etkisi ile endotel hücreleri hasara yanıt olarak İL-1, PAF, prostaglandinler (PG I₂ , PG E₂), GM-CSF, büyüme faktörleri, endotelin, NO ve tromboksan A₂ (TxA₂) salgırlar. Aktive olan endotel hücreleri ek olarak kendi bazal membranlarını sindiren kollajenazlar salgılaya

yeteneğindedir(78). Nitrik oksitlerin radikal olarak reaktivitesi düşüktür, ancak metal içeren bileşikler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girerler. Özellikle lipid radikallerle tepkimeye girmesi NO'ya antioksidan bir etki kazandırır. Fizyolojik değişimde üretilen NO, esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO_3^-) oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksidi ortamdan temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz enziminin indüksiyonu sırasında NO değişiminin artması ile oksidasyonu da hızlanır ve çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bu reaktif türler NO'nın dolaylı etkilerinden sorumludur ve hücresel moleküllerin nitrozilasyonuna, nitrasyonuna, nitrozasyonuna yol açarak, proteinlerin ve enzimlerin aktivitelerinin sonlanmasına neden olabilirler(85).

2.5.2. Antioksidanların Rolü

Organizmanın pro-oksidan/antioksidan dengesi sağlıklı bir yaşam sürdürebilmek için çok önemlidir. SOR'ların oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere organizmayı koruyan “antioksidan savunma sistemi” dört yolla etki göstermektedir:

1. Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma, yok etme, “süpürücü etki”. Antioksidan enzimler, küçük moleküller bu yolla etki gösterirler(71,86).

2. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya “inaktif şekle dönüştürücü etki”. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler(87).

3. Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobinin, seruloplazmin ve mineraller “zincir kırıcı etki” gösterirler(88).

4. Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklinde “onarıcı etki” gösterirler(89).

Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirirler. Hücre dışı savunma; albümin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içermektedir. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler SOD, glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz,

glutasyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidazdır. Bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir(90).

Endojen Antioksidanlar

Enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

Enzim Olan Endojen Antioksidanlar(91): Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSHPx), Glutasyon S-Transferaz (GST), Katalaz, Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, Hidroperoksidaz.

i) Süperoksit dismutaz (SOD)

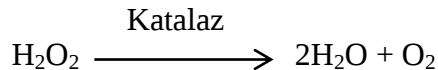
Süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit serbest radikalının (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir.



Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda O_2 üretilmesine rağmen hücre içi düzeyi SOD tarafında düşük tutulur. Ancak, H_2O_2 geçiş metalleri varlığında Fenton ve Haber Weiss reaksiyonu ile son derece aktif OH radikaline dönüşmektedir. Bu durumda CAT ve GSH-Px enzimlerinin aktivitesi artarak H_2O_2 düzeylerini kontrol altına almaktadır(92).

ii) Katalaz

Katalaz esas olarak peroksisomlarda, daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur H_2O_2 'yi oksijen ve suya parçalar. Böylece H_2O_2 'nin OH oluşumunu önlemek için ortadan kalkmasını sağlar(92).



iii) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz, hücrelerin sitoplazmasında bulunup H_2O_2 'den kaynaklanan oksidatif hasara karşı hücreleri korur. Böylece H_2O_2 'den OH'in oluşmasını engeller.

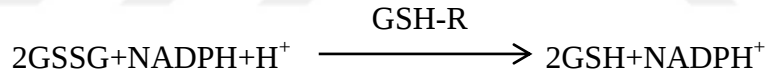
Glutasyon peroksidaz, dört protein alt biriminden oluşur. Her bir alt birim bir selenyum atomu içerir(93).

Selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz, H_2O_2 ve organik hiperoksitlere karşı etkilidir. Bu metabolize etme reaksiyonları sırasında GSH, hidrojen verici olarak hareket ettiğinden dolayı H_2O_2 ve hidroperoksitler indirgenirken GSH okside olur. Okside glutasyon, glutasyon disülfittir (GSSG). Glutasyon redüktaz enzimi varlığında okside glutasyon redükte glutasyon haline geri indirgenir. Bu indirgenme reaksiyonu esnasında GSH-R elektron vericisi olarak NADPH'yi kullanır(93,94).



iv) Glutasyon redüktaz(GSH-R)

Glutasyon redüktaz, flavin adenin dinükleotid (FAD) içeren flavoprotein bir enzimdir. Glutasyon redüktaz, NADPH'nin bir elektronunu okside glutasyonun disülfid bağlarına aktararak yeniden GSH'ye dönüştürülür.



Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar

Enzim olmayan antioksidanlar arasında glutasyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q10, selenyum, α -lipoik asit, seruloplazmin ve transferrin sayılabilir(93,95–98).

Glutasyon(GSH) hücreleri oksidan hasara karşı koruyan hücre içindeki en önemli antioksidan bileşiktir. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar. GSH eritrositleri, lökositleri ve göz merceğini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir(94).

Melatonin, memelilerde pineal bezden sentezlenip salgılanan bir hormondur. Sentezinin düzenlenmesi primer olarak geceye, karanlığa bağlıdır. Melatonin lipit çözünürlüğünün yüksek olması nedeniyle hücrelere rahatça girebilmektedir. Melatonin güçlü bir radikal süpürücüsüdür. Melatonin, hidroperoksitleri metabolize eden GSH-Px enzimini aktive ederek, O_2 radikalini H_2O_2 'ye kataliz eden SOD aktivitesini artırarak, oksidatif stres esnasında katalaz aktivitesindeki azalmayı önleyerek ve NO oluşumundan sorumlu nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini inhibe ederek, antioksidan etki göstermektedir. Oksidatif hasarın rol oynadığı iskemi/ reperfüzyon dâhil pek çok deneysel modelde (yanık hasarı, ülser ve ilaç toksisiteleri, tümör oluşumu gibi) melatoninin olumlu etkileri gösterilmiştir(99–101).

Koenzim Q10 bir antioksidan olarak serbest radikalleri süpürür, lipit ve protein peroksidasyonunu baskılar. İndirgenmiş formu ubikinol ($CoQH_2$), bir lipofilik antioksidan olarak hareket eder ve elektron taşıma sisteminde elektron ve proton taşınmasına katılır. Ubikinol, oksidanları nötralize etmek için elektron verir ve çok güçlü bir antioksidan aktivitesi gösterir. Böylece koenzim Q10, H_2O_2 ve O_2^- gibi toksik ROS'lara karşı etkin bir koruma sağlar(102).

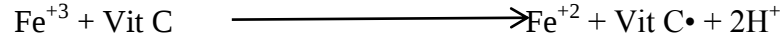
Eksojen Antioksidanlar

Vitamin Olan Eksojen Antioksidanlar:

Alfa-tokoferol (vitamin E), β -karoten, askorbik asit (vitamin C), Folik asit (folat). Vitamin E yağda eriyen çok güçlü bir antioksidandır, hücre zarı fosfolipitlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Vitamin E, süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipit peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger. Lipit peroksidasyonunun zincir reaksiyonu, vitamin E'nin zincir kırıcı etkisiyle sonlandırılabilir. Oluşturduğu bu koruyucu reaksiyonlar sırasında kendisi radikal formuna dönüşse de, askorbik asit, glutatyon ve koenzim Q10 (ubikinon) tarafından tekrar aktif haline döndürülür. Vitamin E, selenyum metabolizmasında da önemli rol oynar; selenyumun organizmadan kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak selenyum ihtiyacını azaltır. Serbest radikallerin kanserin başlamasında rol aldığı ve vitamin E ile diğer antioksidanların antikanerojen etki göstererek kanserin yayılmasını ve tümörün büyümesini önlediği gösterilmiştir(103).

Vitamin C (askorbik asit) suda çözünen en güçlü antioksidan moleküldür. $O_2^{\bullet-}$, $HO^{\bullet}$, singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. C vitamini antioksidan

etkisi yanında oksidan etki de gösterir. Askorbik asit proteine bağı ferrik demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye ve sonunda hidroksil radikali (OH•) oluşturmaya uygun ferröz demire dönüştürür. Bu özelliğinden dolayı vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalizörü veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olarak etki ettiğı kaydedilmiştir(104).



ii) İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar

Ksantin oksidaz inhibitörleri: Allopürinol, Oksipürinol, Pterin aldehit, Tungsten

NADPH oksidaz inhibitörleri: Adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, Rekombinant süperoksit dismutaz, Trolox-C (Vitamin E analoğı)

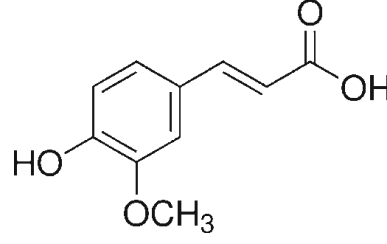
Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar: (GSHPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)

Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar: Mannitol, albümin, Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin), Nötrofil adezyon inhibitörleri, Sitokinler (TNF ve IL-1), Barbitüratlar, Demir şelatörleri

2.6.Ferulik Asit

2.6.1.Ferulik Asidin Yapısı ve Kaynakları

Ferulik asit (4-hidroksi-3-metoksisinamik asit, FA) ilk kez 1866 yılında kimyager Hlasiwetz Barth tarafından Ferula foetida'dan izole edilmiş ve 1925 yılında ise kimyasal olarak sentezlenmiştir. FA, sinamik asidin fenolik türevi olup cis ve trans yapılarına sahiptir. FA, oda sıcaklığında suda çözünmez ancak sıcak su, etil asetat, etanol ve etil eterde çözünür(12–14).



Şekil 2.6 Ferulik Asidin Kimyasal Yapısı

FA, hem serbest formda hem de bitkilerin hücre duvarında polisakkaritler, glikoproteinler, poliaminler, lignin ve hidroksi yağ asitleri ile kovalent olarak konjuge halde bulunur (15). FA'nın doğal kaynakları arasında pirinç, buğday, yulaf, meyveler, fasulye, kahve tohumları, enginar, fıstık ve fındık yer alırken; *Angelica sinensis*, *Cimicifuga racemosa* ve *Ligusticum chuangxiong* gibi Çin bitkilerinin de bir bileşenidir(16).

2.6.2. Ferulik Asidin Farmakokinetik Özellikleri

FA, oral yol ile verildiğinde mide mukozasından hızlıca emilir ve mide asidi tarafından değişikliğe uğramadan ince bağırsağa geçer. Kolonda yaklaşık %90 oranında pasif difüzyon ve çok az miktarda monokarboksilik asit taşıyıcı yoluyla aktif taşıma ile emilir. Serum albümin, FA'nın başlıca taşıyıcı proteinidir. Sıçan midesinde FA inkübasyonundan 30 dakika sonra FA'nın %70'nin emilmesi ve gastrik mukoza, kan, safra ve idrarda bulunması FA'nın gastrik absorpsiyonunun hızlı olduğunu göstermektedir. Ayrıca uygulanan FA'nın sadece % 0.5-0.8'i feçesle atılması FA için çok verimli bir absorpsiyon oranı olduğunu göstermiştir. Sodyum ferulatın oral yoldan verilmesinden 10 dakika sonra insan plazmasında serbest FA'nın saptandığı rapor edilmiştir, bu da serbest FA'nın insanlarda hızlıca emildiğini gösterir. Serbest FA'nın plazma konsantrasyonları oral uygulamadan 24 dakika sonra maksimum seviyelere ulaşmaktadır(15,16). Oral yoldan verilen FA'nın mide mukozasında %4, kanda %10 ve karaciğer ve böbrek dahil olmak üzere diğer dokularda ise %53'ünün bulunduğu bildirilmiştir(105).

Bitkilerde FA oluşumu, aromatik aminoasitlerden L-fenilalanin ve L-tirozin ile başlayan şikimat yolunun metabolik yoluyla gerçekleşir. Fenilalanin ve tirozin, sırasıyla fenilalanin amonyak liyaz ve tirozin amonyak liyaz yardımıyla sinnamik ve p-kumarik aside dönüştürülür. Hidroksilasyon ve metilasyon reaksiyonu ile p-kumarik asit FA'ya dönüştürülür. FA metabolizmasının ana yolu glukuronik asit ve/veya sülfat ile konjugasyon reaksiyonudur. FA konjugasyonu esas olarak karaciğerde sülfotransferazlar ve üridin difosfat glukuronosil transferazların aktiviteleri yoluyla gerçekleşirken, küçük miktarda da bağırsak mukozasında

ve böbrekte gerçekleşir. Plazmada modifiye edilmemiş FA'nın yalnızca düşük bir yüzdesi (~%9-20) bulunurken, en çok miktarda bulunan FA metabolitleri glukuronid (~%3–20) ve sulfoglukuronid (~%60–90)'dir. Hem FA hem de metabolitleri serbest FA ve glukuronik konjugatları olarak idrar yoluyla böbreklerden atılır. FA'nın yarı ömrü, doz ve uygulama yoluna bağlı olarak sıçanlarda 10 ila 30 dakika arasında değişir. FA'nın düşük toksisiteye sahip olması yarı ömrünün kısa olmasından kaynaklanır(12,15).

2.6.3. Ferulik Asidin Farmakodinamisi

Ferulik asidin antioksidan özelliklerinin keşfedilmesi ile birlikte birçok biyolojik kullanımı dikkat çekmiştir. FA, antioksidan, antiinflamatuvar, antialerjik, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antikanserojenik (akciğer, meme, kolon ve cilt kanseri), antimikrobiyal, antiviral, vazodilatör, antitrombotik, antidiyabetik, spermilerin canlılığını artırıcı biyomedikal etki dahil olmak üzere geniş spektrumlu etkilere sahiptir. Ayrıca cilt bakım formülasyonlarında fotokoruyucu bir bileşen ve gıda endüstrisinde lipid peroksidasyonunu önlemek için bir gıda katkı maddesi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır(17–19).

2.6.4. Ferulik Asidin Etki Mekanizması

FA'nın antioksidan özellikleri ilk olarak Japon araştırmacılar tarafından pirinç yağından ekstrakte edilen FA ile keşfedilmiştir(106). Fenolik çekirdek ve karboksilik yan zincire sahip, rezonans stabilize bir fenoksi radikali olan FA'nın antioksidan etki mekanizması, doğrudan kimyasal yapısı ile ilgilidir(107). FA'nın benzen halkası üzerindeki 4-hidroksil grubu ve 3-metoksi grupları serbest radikallerin doğrudan temizlenmesi ve serbest radikalleri temizlemekten sorumlu olan antioksidan enzim aktivitesini ve fonksiyonunun artırılmasında rol oynayan yapısal kısımlardır(13,16). Doymamış C-C çift bağına bitişik terminal karboksil grubu FA'nın lipid tabakasına bağlanmasında rol oynayarak lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlar(108). Bir serbest radikale karşı reaksiyona girerken, FA'nın hidrojen atomu kolayca radikale transfer edilir ve oldukça kararlı bir fenoksi radikali oluşur (109). FA serbest radikallerin oluşumunun inhibisyonu, serbest radikallerin temizlenmesi, demir ve bakır gibi metal iyonlarının şelatlanması ve lipid peroksidasyonunun önlenmesinde rol oynar. Sadece bir serbest radikal süpürücü değil, aynı zamanda serbest radikal oluşumunu katalize eden enzimleri inhibe etme yeteneğine sahip bir antioksidandır(107). Son yıllarda yapılan çalışmalar, ferulik asidin oksidatif serbest radikalleri temizleyerek, ROS oluşumunu engelleyerek ve çeşitli sinyal yollarına katılarak antioksidan rolünü göstermiştir(14).

FA, inflamasyonda merkezi bir rol oynayan immün hücreleri ve makrofajları uyararak ROS, proinflamatuvar sitokinler ve inflamatuvar mediatörlerin düzenlenmesinde rol alır(18). FA, IL-6, IL-1 , TNF-  gibi proinflamatuvar sitokinleri azaltarak, antiinflamatuvar sitokinlerin, belirli genlerin ekspresyonunu ve hücre sinyal yollarını modüle eden bazı antioksidan molekülleri artırarak çeşitli patofizyolojik durumlarda bir antiinflamatuvar ajan olarak rol oynar(109). Birçok  alı mada, FA'nın endometrit, akut respiratuvar distres sendromu, Alzheimer hastalığı, karaciğer ve böbrek işlev bozukluğu gibi çeşitli hastalıklarda güçlü bir antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. FA'nın antiinflamatuvar etkisi çeşitli moleküler yolaklar yoluyla ilgili inflamatuvar faktörlerin salgılanmasını ve ekspresyonunu inhibe etmesi ile gerçekleşir(14).

Kanserin etyolojisinde serbest radikaller önemli bir rol oynamaktadır. FA'nın antikanserojenik etkisi onun serbest radikalleri temizleme ve sitoprotektif enzimleri stimüle etme kapasitesiyle ilişkilidir(110). Böylelikle FA lipid peroksidasyonunu, DNA tek zincir yırtıklarını, biyolojik membran hasarını azaltır(111). Lökositlerde ve diğer hücrelerde serbest radikal üretimi sonucu nikotinin akciğer kanserinde kilit bir role sahip olduğu düşünülmektedir. 2007'de Sudheer ve arkadaşlarının ratların periferal kandaki lenfosit hücrelerinde yaptıkları çalışmada FA'nın nikotin bağımlı lipid peroksidasyonunu engellediği ve glutatyon seviyesini azalttığı gösterilmiştir(112).

3. MATERYAL VE METOD

Priapizm modelinde ferulik asidin iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olası koruyucu etkilerinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesi amaçlanan bu deneysel çalışma öncesinde Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınmış olup (03.06.2021 tarihli ve 53488718-491 sayılı etik kurul kararı ile) deney Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Çalışma Grupları

Bu deneysel çalışmada Spraque Dawley tipi, 300-350 gr ağırlığında, toplam 18 adet erişkin erkek rat kullanıldı. Ratlar kendi aralarında numaralandırıldıktan sonra kura çekilerek randomizasyon yapıldı. Randomizasyon yapıldıktan sonra çalışma, 6 rattan (n=6) oluşacak şekilde 3 rat grubu şeklinde oluşturuldu (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Çalışma grupları

Deney ve Kontrol Grupları	Grup Başına hayvan adedi
Grup 1(Kontrol Grubu)	6
Grup 2(Priapizm/Reperfüzyon)	6
Grup 3(Priapizm/Reperfüzyon+Ferulik asit)	6
Kullanılan toplam hayvan sayısı	18

Tüm cerrahi işlemlerde anestezi, 80 mg/kg Ketamin ile birlikte 10 mg/kg Xylazin intraperitoneal verilerek yapıldı. İskemik priapizm Şanlı modeli (Şanlı ve ark.) esas alınarak standart 50 cc lik çam uçlu irrigasyon enjektörü ile oluşturulan vakum ereksiyon cihazı ile elde edildi. Enjektör ucu flask penis taban çapına uygun hale getirildikten sonra, konstriktör band enjektör ucuna yerleştirildi. Anestezi altındaki ratların flask penis tabanına enjektör yerleştirildikten sonra piston yavaşça geri çekildi ve ereksiyon oluşana kadar 20 cc'lik negatif basınç oluşturularak ereksiyon sağlandı. Yeterli ereksiyon elde edildiğinde lastik konstriktör bant penis köküne enjektörden itilerek yerleştirilip priapizmle uyumlu klinik oluşturuldu(Resim 3.1).



Resim 3.1. Konstriktör bant kullanılarak oluşturulan ereksiyon modeli

Grup 1 (Kontrol) (n:6): Kontrol grubu yalnızca penektomi uygulanan ratlarda doku TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx değerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen penis dokusunun histolojik özellikleri değerlendirildi (Resim 3.2).

Grup 2 (Priapizm / Reperfüzyon) (n:6): 1 saatlik priapizm sonrası yarım saatlik reperfüzyon sağlanan gruba penektomi uygulandı, doku TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx değerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen penis dokusunun histolojik özellikleri değerlendirildi. ,

Grup 3 (Priapizm / Reperfüzyon + Ferulik asit) (n:6): 1 saatlik priapizm oluşturulan ratlarda, reperfüzyondan yarım saat önce ferulik asit, 100 mg/kg 0.5 cc hacimde olacak şekilde transperitoneal olarak verildi ve yarım saatlik reperfüzyon sağlanan gruba penektomi uygulandı, doku TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx değerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen penis dokusunun histolojik özellikleri değerlendirildi. Bu gruptaki ratlara verilecek olan ferulik asidin dozu, daha önce yapılmış iskemi-reperfüzyon çalışması baz alınarak belirlenmiştir.

Tüm gruplardaki ratlara penektomi ve kan alımı sonrası eksanguinasyon yöntemi ile ötenazi uygulandı.



Resim 3.2. Penis diseksiyonu

3.2. Biyokimyasal İnceleme Yöntemi

Biyokimyasal incelemeler KTÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapıldı. Çıkarılan penis dokusu iki parçaya bölündü ve bir parça histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehid içine kondu. Diğer parça malondialdehit ölçümü için serum fizyolojik (%0,9 NaCl) ile yıkandıktan sonra -80 °C de saklandı.

Doku Örneklerinin Hazırlanışı

Alınan dokuların her birinden yaklaşık 30'ar mg'lık kesimler yapıldı. Sonrasında bu dokular homejenizatör (IKA Ultra-Turrax T-25, Staufen im Breisgau, Almanya) yardımıyla 2 mL fosfat tamponu (PBS, pH:7.4) içerisinde 9500 rpm'de homojenize edildi. Homojenatlar 4000 1800xg'de 10 dakika santrifüjlendi. Santrifüj sonucu elde edilen süpernatantlarda ilgili biyokimyasal parametrelerin ölçümü gerçekleştirildi.

Doku Örneklerindeki Protein Miktarlarının Belirlenmesi

Doku örneklerindeki protein miktarları üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ticari kit (Thermo Scientific Pierce BCA Protein Assay Kit, Cat No: 23227, Rockford, IL, ABD) kullanılarak belirlendi ve sonuçlar mg/mL cinsinden hesaplandı. Doku malondialdehit (MDA) ve ELISA kitleri kullanılarak ölçülen tüm biyokimyasal parametrelerin seviyeleri standardize olması açısından hesaplanan örnek protein miktarlarına oranlanarak mg protein başına olacak şekilde verildi.

3.2.1. Doku MDA Düzeylerinin Belirlenmesi

MDA ölçümü, Mihara ve Uchiyama yöntemi(113) modifiye edilerek gerçekleştirildi. Bu metodun esası, MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu molekülün renginin 532 nm'deki absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Doku MDA Ölçümünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1) Doku homojenizasyon tamponu (0.01 M Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS), pH 7.4): 10 adet PBS tableti (Medicago, Uppsala, Sweden) içerisinde yaklaşık 900 mL saf su bulunan beherde çözüldü ve çözeltinin pH'sı, pH metrede (Hanna Instrument, HI 9321, USA) 7.4'e ayarlandı. pH'sı ayarlanan çözeltinin son hacmi 1 L'ye tamamlandı.

2) %1'lik H_3PO_4 çözeltisi: Bir miktar saf su üzerine 2.94 mL %85'lik H_3PO_4 (Sigma, St. Louis, MO, USA) alındı ve son hacim saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

3) TBA çözeltisi: 0.67 g TBA (Sigma, St. Louis, MO, USA) tartıldı, 50 mL saf su ve 50 mL asetik asit (Sigma, St. Louis, MO, USA) ilave edilerek magnetik bar yardımıyla karıştırılıp çözüldü.

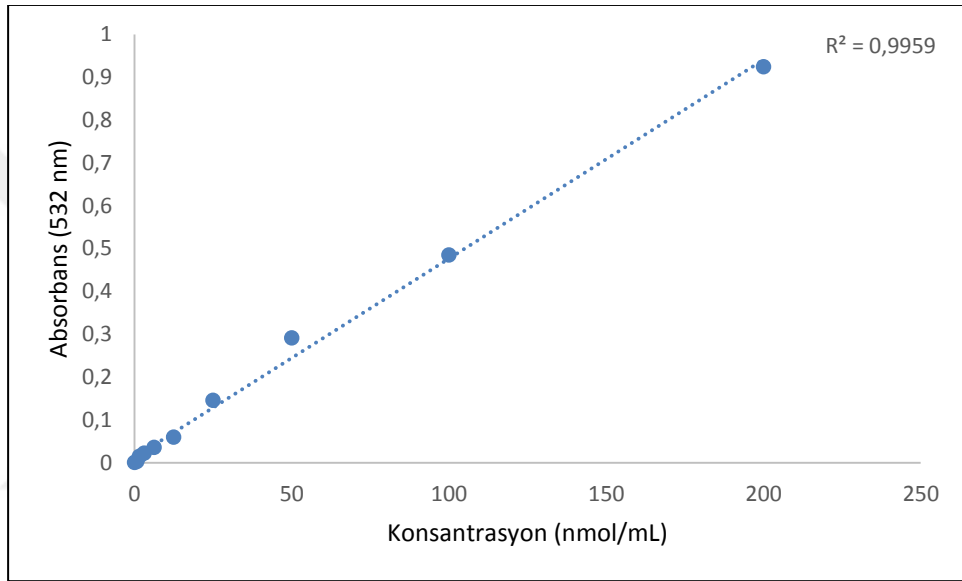
4) Standart çözeltiler: 82.5 μ L 1,1,3,3 tetrametoksipropan (Sigma, St. Louis, MO, USA) 0.01 M 50 mL HCl (Sigma, St. Louis, MO, USA) çözeltisine ilave edildi. Çözelti 50°C'de 1 saat inkübe edildi. Bu şekilde hazırlanan ana stok çözeltisinden çeşitli oranlarda dilüsyonlar yapılarak 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625 ve 0.078 nmol/mL'lik standart çözeltiler ve kör hazırlandı.

Doku MDA Ölçümü:

1. 500 μ L homojenata 3 mL %1'lik H_3PO_4 eklenerek karıştırıldı.
2. Karışıma 1 mL %0.672'lik TBA eklenip karıştırıldıktan sonra 60 dakika kaynar su banyosunda inkübe edildi.

3. Süre sonunda tüpler oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı ve sonrasında 1800xg'de 10 dakika santrifüj edildi.

4. Santrifüj sonucu süpernatant kısımlardan 200'er µL alınıp 96 kuyucuklu pleyte yüklenerek mikropleyt okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, USA) 532 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı. Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek MDA standart grafiği çizildi (**Grafik 3.1**). Bu grafikten yararlanılarak doku MDA seviyeleri nmol MDA/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar nmol/mg protein olarak verildi.



Grafik 3.1. Doku MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği

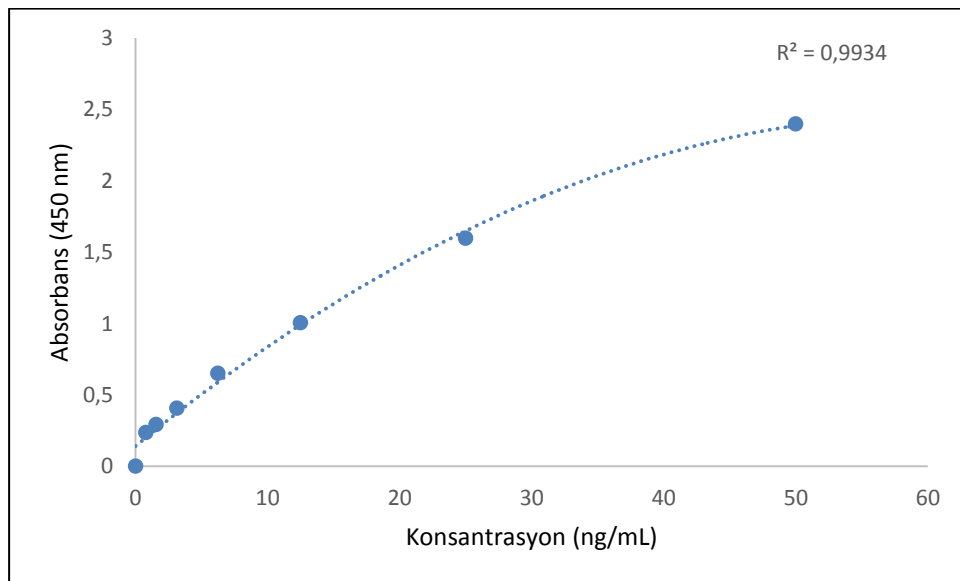
3.2.2. Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki SOD seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Fine Biotech, Katalog No: ER0332, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- SOD standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- Antikorla kaplı pleyt işlem yapılmadan önce yıkama çözeltisi ile pleyt yıkayıcısı (BioTek, Winooski, USA) kullanılarak 2 kez yıkandı.
- Hem örneklerden hem de standartlardan her bir kuyucuğa 100'er µL olacak şekilde ilaveler yapıldı. Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda (ShellLab/Sheldon S14-2, Cornelius, USA) 90 dakika inkübasyona bırakıldı.

- Süre sonunda pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 2 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er μL biotinle işaretli antikor çözeltisi eklendi. Pleyt folyo ile kapatılarak 37°C 'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda pleyt yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 3 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er μL streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, tekrar folyo ile kapatılarak 37°C 'de çalkalayıcıda 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar μL eklendi ve pleyt 37°C 'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm 'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun $0.9-0.95$ 'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, USA) 450 nm dalga boyunda okundu.

Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek SOD standart grafiği çizildi (**Grafik 3.2**). Bu grafikten yararlanılarak doku SOD seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.



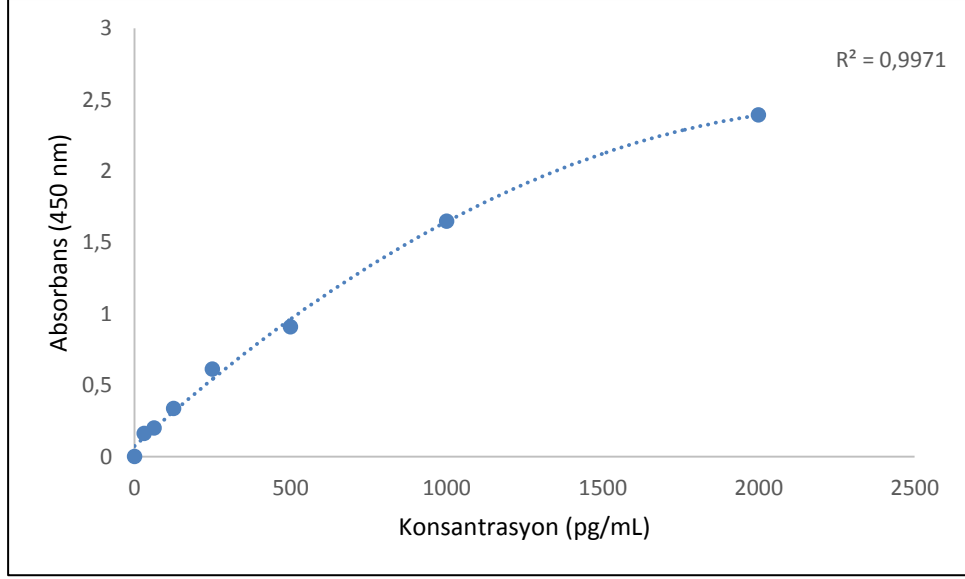
Grafik 3.2. SOD ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.3. Doku Glutasyon Peroksidaz (GPx) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki GPx seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Fine Biotech, Katalog No: ER274, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- GPx standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- Antikorla kaplı pleyt işlem yapılmadan önce yıkama çözeltisi ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 2 kez yıkandı.
- Hem örneklerden hem de standartlardan her bir kuyucuğa 100'er μ L olacak şekilde ilaveler yapıldı. Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 90 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 2 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er μ L biotinle işaretli antikor çözeltisi eklendi. Pleyt folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda pleyt yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 3 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er μ L streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, tekrar folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar μ L eklendi ve pleyt 37°C'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μ L renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.

Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek GPx standart grafiği çizildi (**Grafik 3.3**). Bu grafikten yararlanılarak doku GPx seviyeleri pg/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar pg/mg protein olarak verildi.



Grafik 3.3. GPx ölçümünde kullanılan standart grafiği

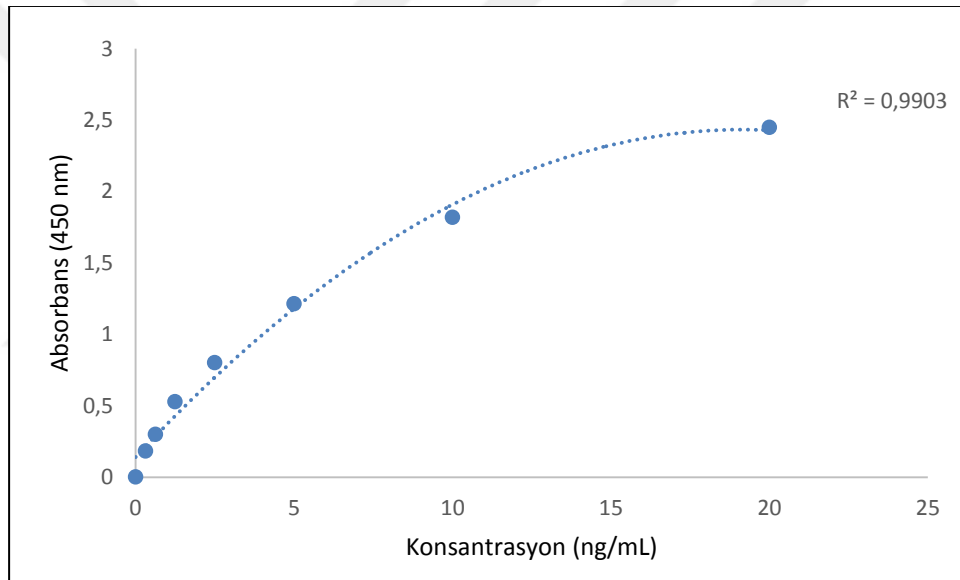
3.2.4. Doku Glukoz ile Düzenlenen Protein 78 (GRP78) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki GRP78 seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Fine Biotech, Katalog No: ER0562, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- GRP78 standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- Antikorla kaplı pleyt işlem yapılmadan önce yıkama çözeltisi ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 2 kez yıkandı.
- Hem örneklerden hem de standartlardan her bir kuyucuğa 100'er μ L olacak şekilde ilaveler yapıldı. Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 90 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 2 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er μ L biotinle işaretli antikor çözeltisi eklendi. Pleyt folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda pleyt yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 3 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er μ L streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, tekrar folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Inkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.

- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar μL eklendi ve pleyt 37°C 'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikroplyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.

Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek GRP78 standart grafiği çizildi (**Grafik 3.4**). Bu grafikten yararlanılarak doku GRP78 seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.



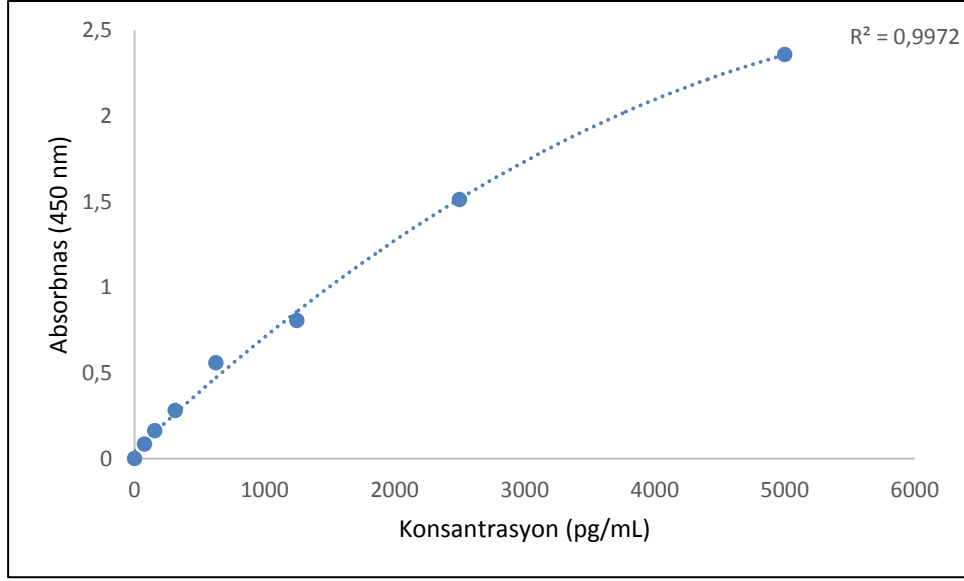
Grafik 3.4. GRP78 ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.5. Doku Aktifleştirici Transkripsiyon Faktör 6 (ATF6) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki ATF6 seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Fine Biotech, Katalog No: ER1645, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- ATF6 standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- Antikorla kaplı pleyt işlem yapılmadan önce yıkama çözeltisi ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 2 kez yıkandı.

- Hem örneklerden hem de standartlardan her bir kuyucuğa 100'er μL olacak şekilde ilaveler yapıldı. Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C 'de çalkalayıcıda 90 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 2 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er μL biotinle işaretli antikor çözeltisi eklendi. Pleyt folyo ile kapatılarak 37°C 'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda pleyt yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 3 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er μL streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, tekrar folyo ile kapatılarak 37°C 'de çalkalayıcıda 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar μL eklendi ve pleyt 37°C 'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek ATF6 standart grafiği çizildi (**Grafik 3.5**). Bu grafikten yararlanılarak doku ATF6 seviyeleri pg/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar pg/mg protein olarak verildi.



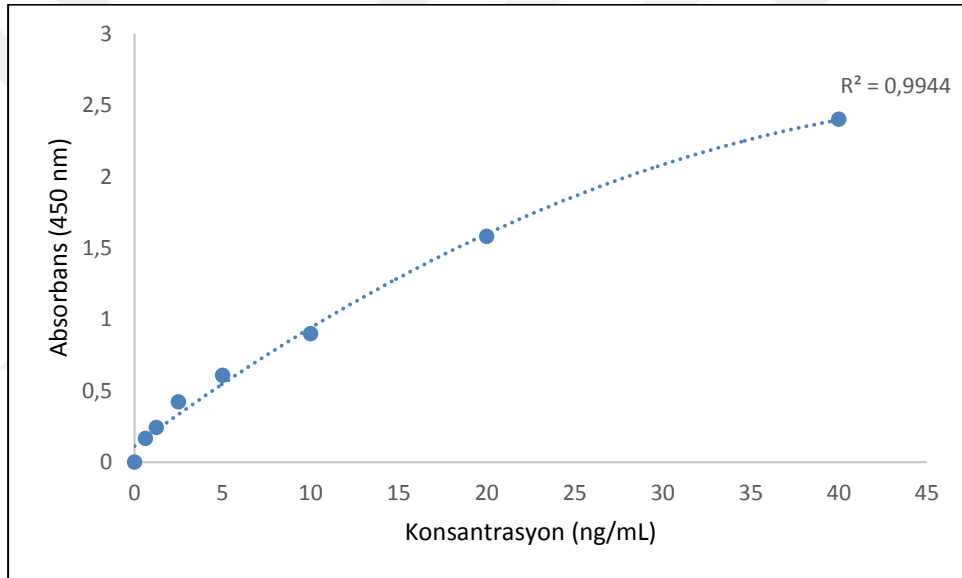
Grafik 3.5. ATF6 ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.6. Doku C/EBP Homolog Protein (CHOP) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki CHOP seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Fine Biotech, Katalog No: ER0694, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- CHOP standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- Antikorla kaplı pleyt işlem yapılmadan önce yıkama çözeltisi ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 2 kez yıkandı.
- Hem örneklerden hem de standartlardan her bir kuyucuğa 100'er µL olacak şekilde ilaveler yapıldı. Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 90 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 2 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er µL biotinle işaretli antikor çözeltisi eklendi. Pleyt folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda pleyt yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 3 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er µL streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, tekrar folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Inkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.

- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar μL eklendi ve pleyt 37°C 'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikroplyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek CHOP standart grafiği çizildi (**Grafik 3.6**). Bu grafikten yararlanılarak doku CHOP seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.



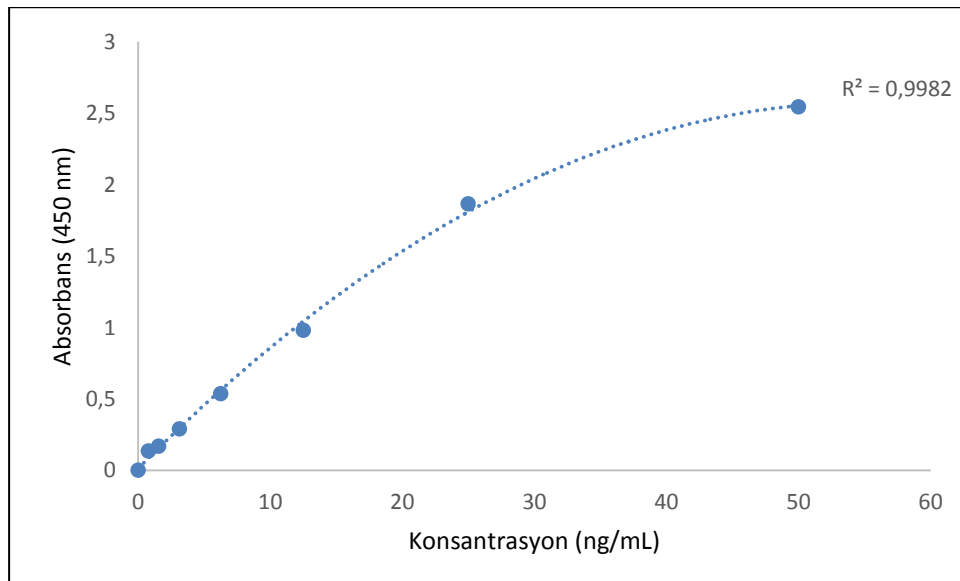
Grafik 3.6. CHOP ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.7. Doku Miyeloperoksidaz (MPO) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki MPO seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Fine Biotech, Katalog No: ER0142, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- MPO standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- Antikorla kaplı pleyt işlem yapılmadan önce yıkama çözeltisi ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 2 kez yıkandı.
- Hem örneklerden hem de standartlardan her bir kuyucuğa 100'er μL olacak şekilde ilaveler yapıldı. Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C 'de çalkalayıcıda 90 dakika inkübasyona bırakıldı.

- Süre sonunda pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 2 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er μL biotinle işaretli antikor çözeltisi eklendi. Pleyt folyo ile kapatılarak 37°C 'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda pleyt yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 3 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er μL streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, tekrar folyo ile kapatılarak 37°C 'de çalkalayıcıda 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar μL eklendi ve pleyt 37°C 'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm 'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun $0.9-0.95$ 'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikrolept okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek MPO standart grafiği çizildi (**Grafik 3.7**). Bu grafikten yararlanılarak doku MPO seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.



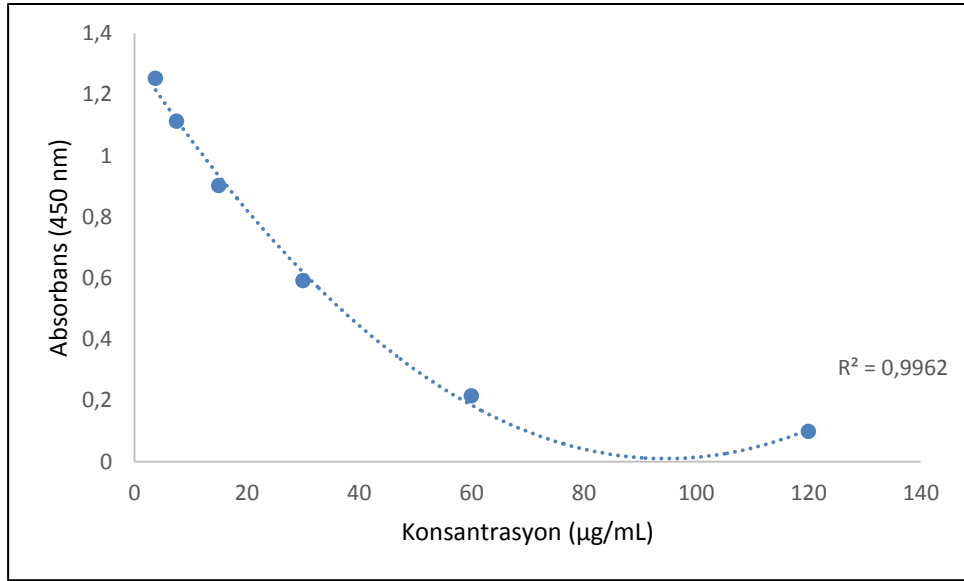
Grafik 3.7. MPO ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.8. Doku Glutasyon (GSH) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki GSH seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Fine Biotech, Katalog No: EU2547, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- GSH standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- Antikorla kaplı pleyt işlem yapılmadan önce yıkama çözeltisi ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 2 kez yıkandı.
- Hem örneklerden hem de standartlardan her bir kuyucuğa 50'şer μL olacak şekilde ilaveler yapıldı. Zaman kaybetmeden her bir kuyucuğa 50'şer μL olacak şekilde biotinle işaretli antikor çözeltisi eklendi.
- Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C 'de çalkalayıcıda 45 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda pleyt içeriği aspirasyon ile uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er μL streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, tekrar folyo ile kapatılarak 37°C 'de çalkalayıcıda 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Inkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar μL eklendi ve pleyt 37°C 'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.

Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek GSH standart grafiği çizildi (**Grafik 3.8**). Bu grafikten yararlanılarak doku GSH seviyeleri $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar $\mu\text{g/mg}$ protein olarak verildi.



Grafik 3.8. GSH ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.9. Toplam Oksidan Durumun (TOS) Belirlenmesi

Doku örneklerindeki TOS seviyeleri ticari kolorimetrik kit (Rel Assay Diagnostics, Cat No: RL0024, Gaziantep, Turkey) kullanılarak üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda belirlendi ve sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L birimiyle verildi.

3.2.10. Toplam Antioksidan Durumun (TAS) Belirlenmesi

Doku örneklerindeki TAS seviyeleri ticari kolorimetrik kit (Rel Assay Diagnostics, Cat No: RL0017, Gaziantep, Turkey) kullanılarak üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda belirlendi ve sonuçlar mmol troloks eşdeğeri/L birimiyle verildi.

3.2.11. Oksidatif Stres İndeksinin (OSI) Hesaplanması

Doku örneklerindeki OSI seviyeleri;

$$\text{OSI} = \left[\frac{(\text{TOS}, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eşdeğeri/L})}{(\text{TAS}, \mu\text{mol troloks eşdeğeri/L})} \times 100 \right]$$

formülü kullanılarak hesaplandı.(114)

3.3. Histopatolojik İnceleme Yöntemi

Çalışmaya ait histopatolojik incelemeler Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Çalışma sonunda; histopatolojik değerlendirme için alınan penisler; numaralanmış cam kavanozlardaki %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Tespit edilen doku parçaları; %70, %90, %96 ve %100'lük artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildikten sonra ksilen ile şeffaflaştırıldı. Daha sonra dokular parafine gömülerek bloklandı ve elde edilen bloklardan; mikrotom (Leica

RM 2255, Tokyo, Japan) ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Kesitler; deparafinizasyondan sonra Masson trikrom ve hematoxilen-eozin (H&E) boyası ile boyanarak değerlendirmeye hazır hale getirildi. Her boyalı kesitte rastgele seçilen beş farklı alan; histopatolojik açıdan ışık mikroskobunda (Olympus BX51; Olympus Co., Tokyo, Japonya) incelendi. Tespit edilen histopatolojik değişiklikler; (corpus kavernozum ve spongiozumda vazokonjesyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, tunika albugineada ayrılma); semikantitatif olarak (0: Hiç yok, 1: Hafif, 2: Orta, 3: Şiddetli) skorlandı(115). İlave olarak Masson trikrom boyası ile boyanan preparatlarda kavernoöz yapılarıdaki kırmızı boyanan düz kas ve mavi boyanan kollajenöz bağ doku liflerinin yoğunluğu değerlendirildi ve mikroskoba entegre kamera (Olympus DP 71, Olympus Co., Japonya) ile fotoğrafları çekildi.

3.4. İstatistiksel İnceleme Yöntemi

Grupların karşılaştırılmaları normal dağılıma uyan parametrik veriler için tek yönlü ANOVA (post hoc olarak Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi) ile; normal dağılıma uymayan parametrik veriler için Kruskal Wallis varyans analizi (Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi) ile yapıldı. Parametrik olmayan veriler için Ki Kare testi yapıldı. Yanılma olasılığı (P değeri) $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

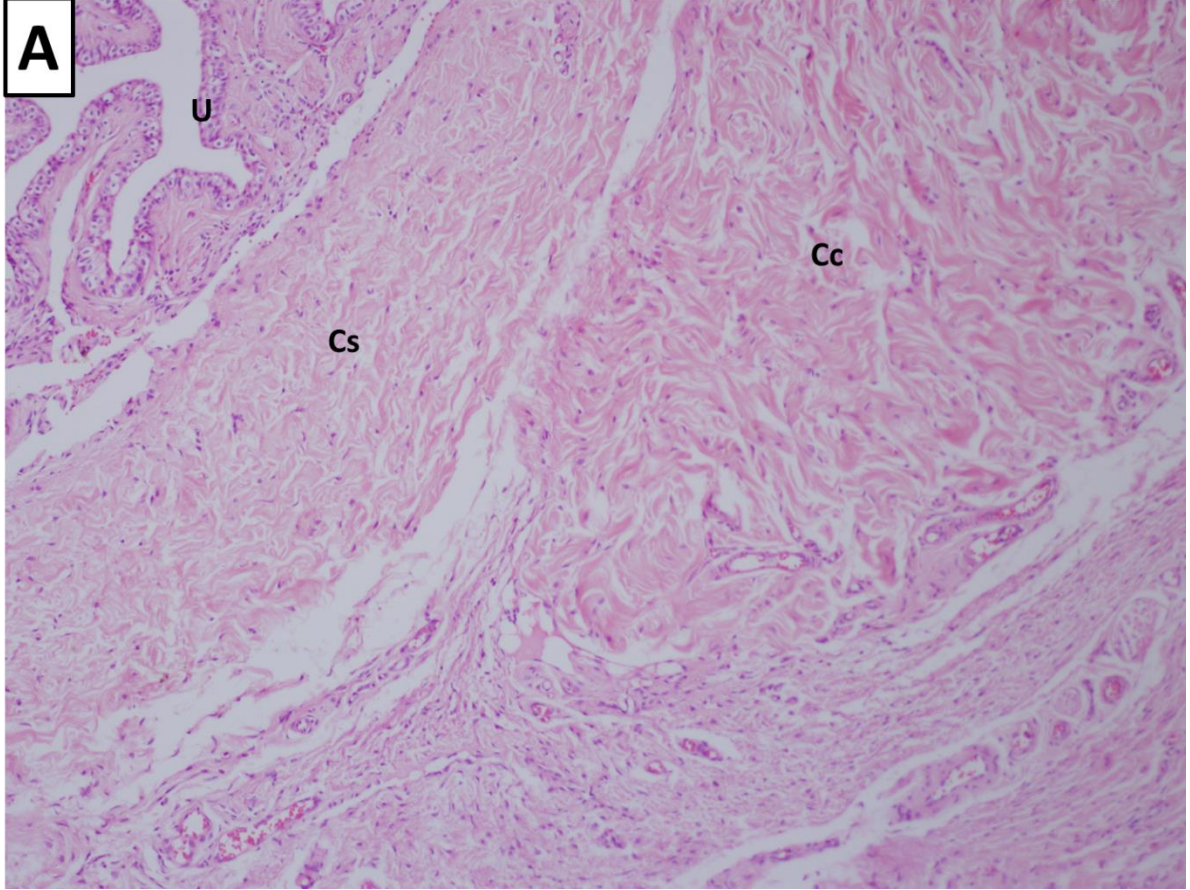
4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular:

Gruplara ait penis dokusunun ışık mikroskopik değerlendirmesinde

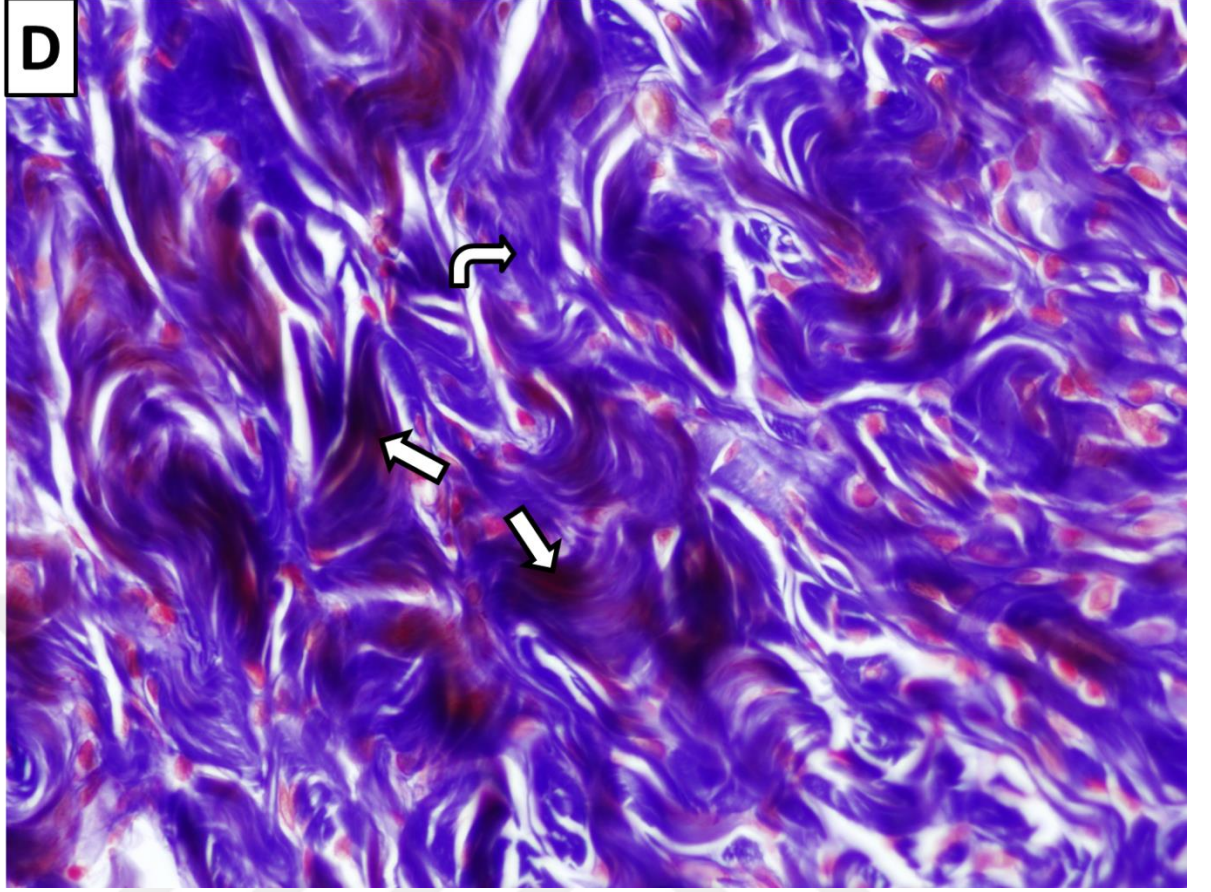
4.1.1. Kontrol Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;

Üretra epiteli ve üretrayı çevreleyen korpus spongiosumun normal yapıda olduğu izlendi(Resim A).



Resim A. Kontrol grubuna ait penis kesiti. Üretra epiteli (U), korpus kavernozum (Cc), korpus spongiosum (Cs); (H&E x100).

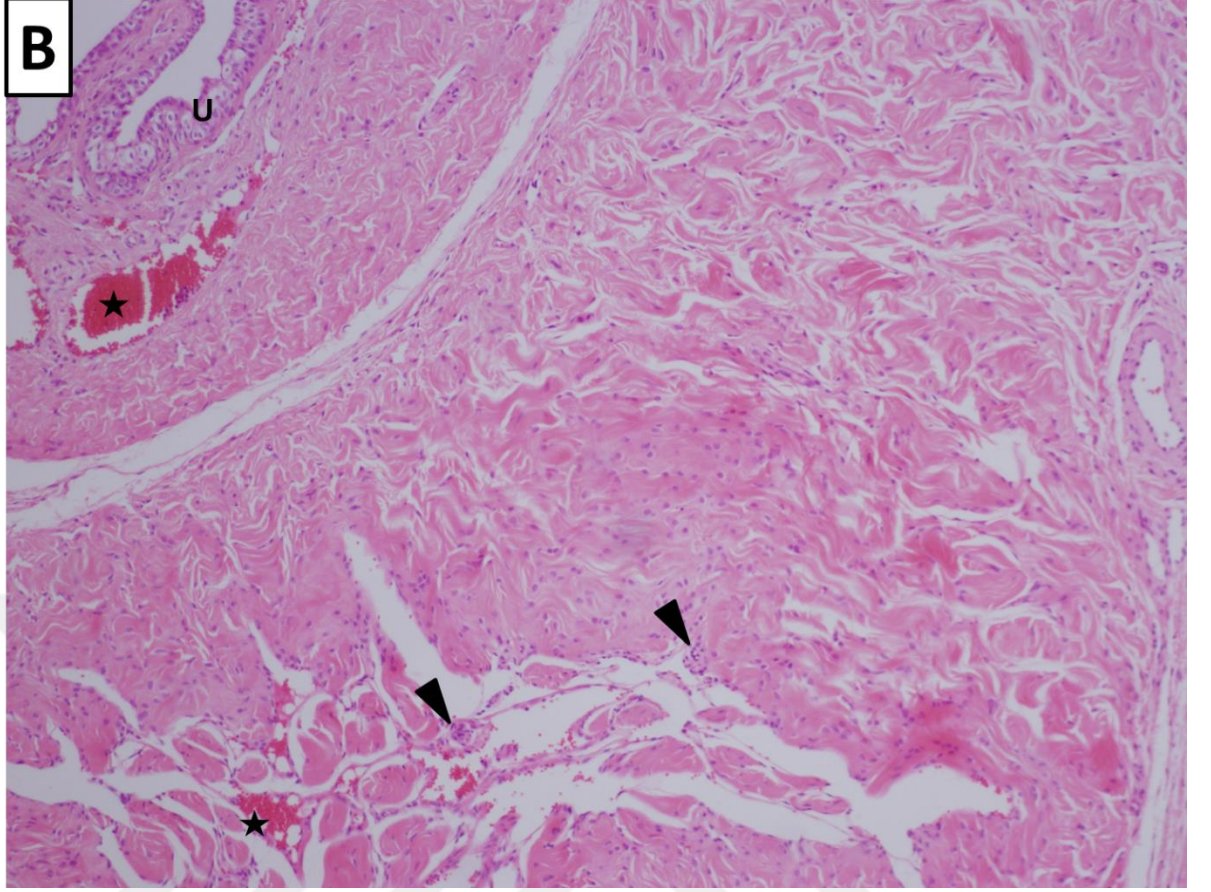
Korpus kavernozumun; kavernöz sinüsler ve onları çevreleyen düz kas ve kollajen liflerden oluşan yapısı da genel olarak doğal görünümdeydi(Resim D).



Resim D. Kontrol grubuna ait penis kesiti. Kollajen lifler (bükülü ok) ve düz kas (ok)
(Masson trikrom x400).

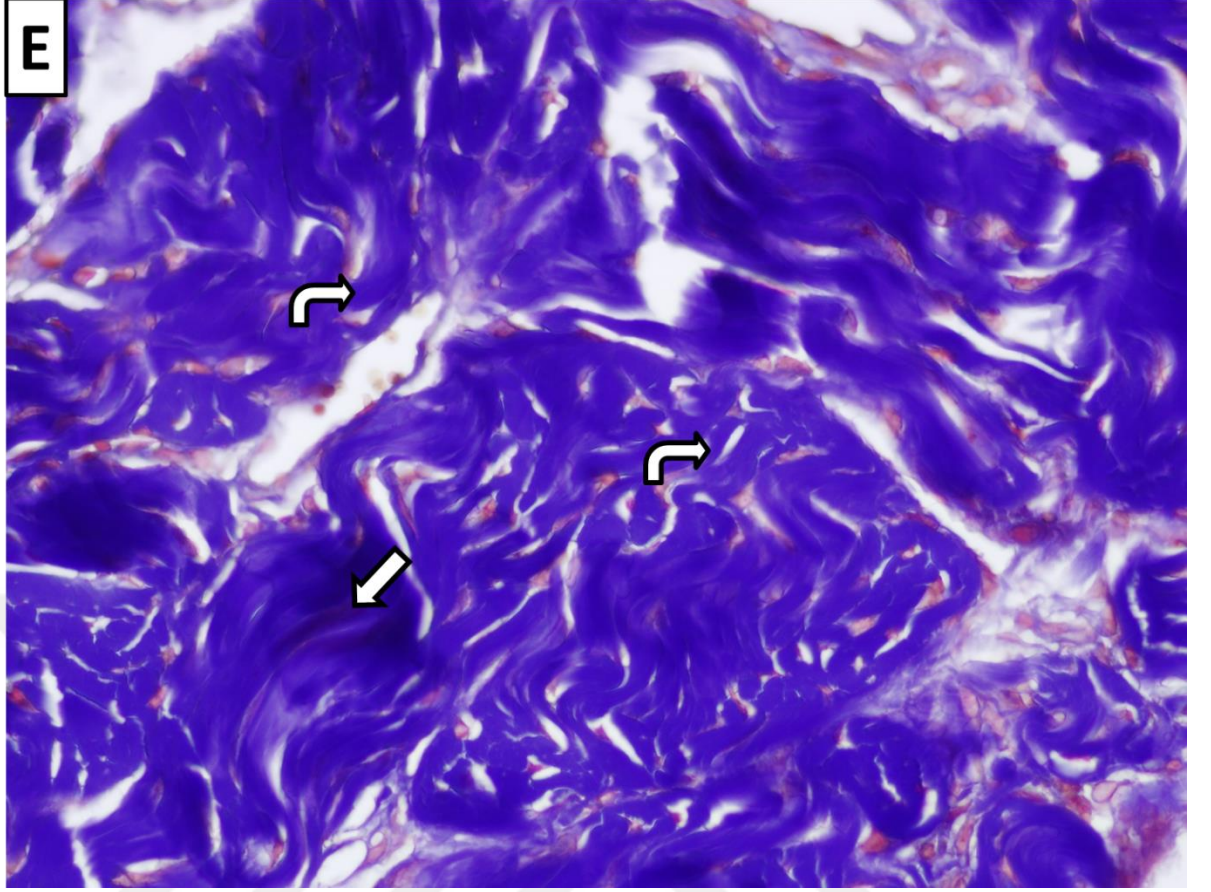
4.1.2. Priapizm/Reperfüzyon Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;

Korpus kavernozumlar ve korpus spongiozumda belirgin vazokojesyon mevcuttu. Korpus kavernozumda; inflamatuvar hücre infiltrasyonu, düz kas ve kollajen liflerde düzensizlik ve ayrılmalar izlenmekteydi(Resim B).



Resim B. Priapizm grubuna ait penis kesiti. Üretra epiteli (U), vazokonjesyon (yıldız) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok başı); (H&E x100).

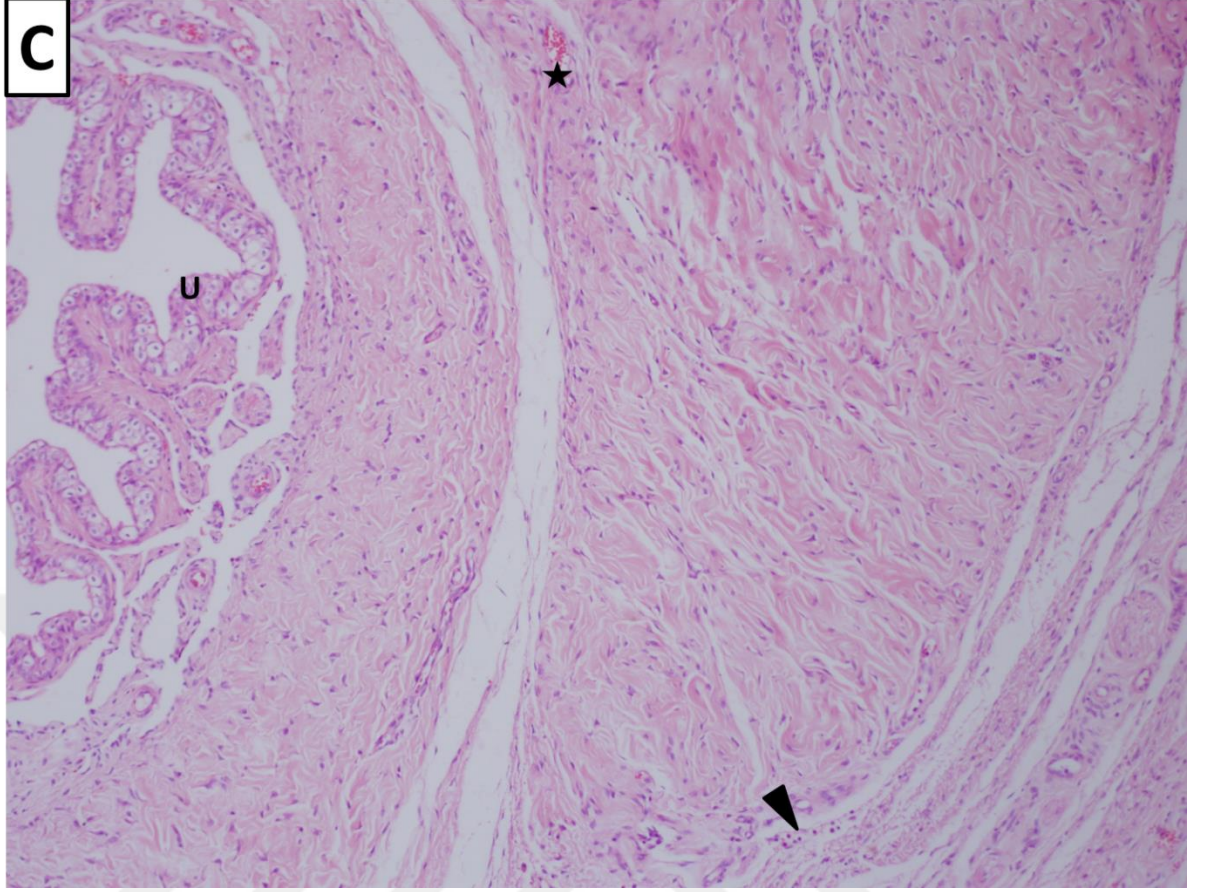
Korpus kavernozumun fibröz doku ve kollajen lif yoğunluğunun kontrol grubuna göre belirgin şekilde artmış olduğu görüldü(Resim E).



Resim E. Priapizm grubuna ait penis kesiti. Kollajen lifler (bükülü ok) ve düz kas (ok)
(Masson trikrom x400).

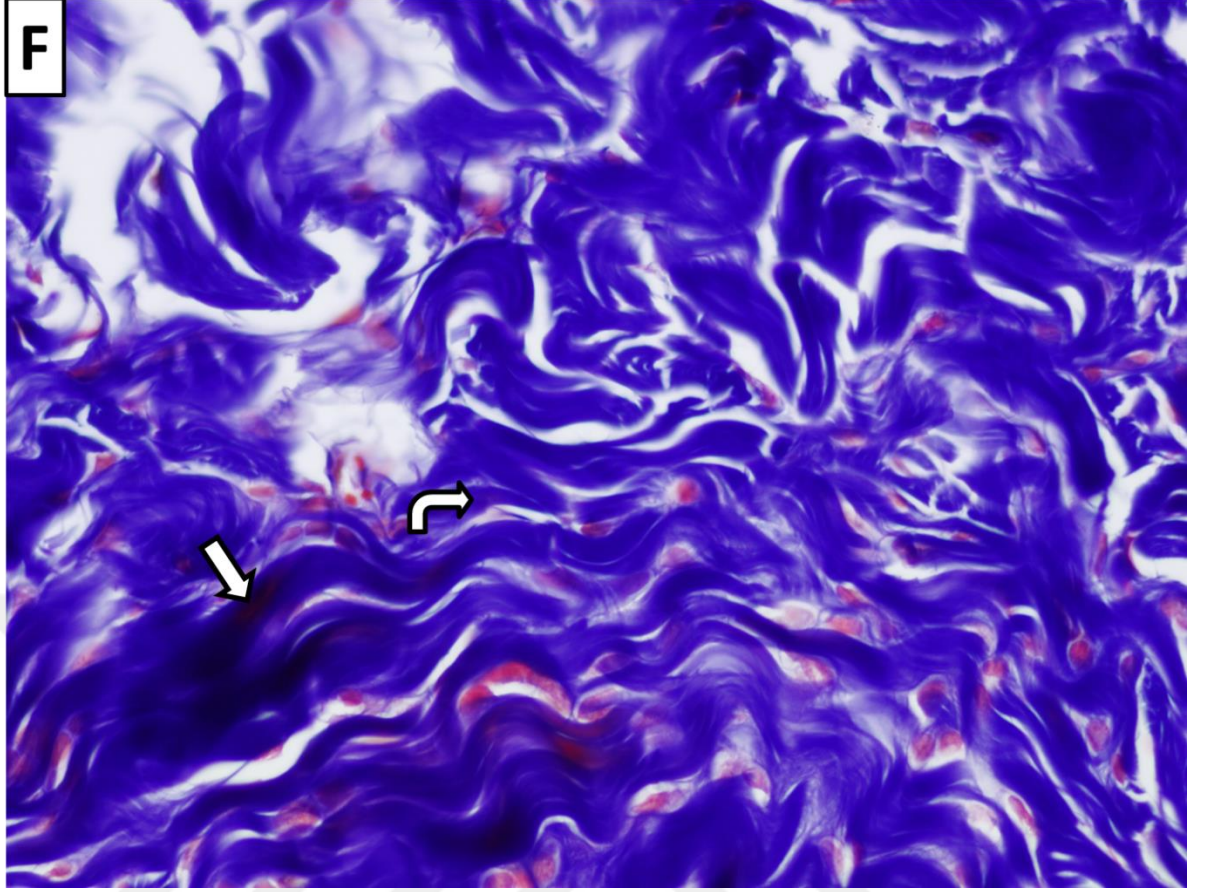
4.1.3. Priapizm/Reperfüzyon + Ferulik Asit Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;

Korpus kavernozum ve korpus spongiozumda vazokonjesyon izlenmekle birlikte; hasar grubuna göre belirgin olarak azaldığı görüldü. Genel histolojik yapının düzeldiği ve korpus kavernozumda inflamatuvar hücre infiltrasyonunun azalmış olduğu izlendi(Resim C).



Resim C. Tedavi grubuna ait penis kesiti. Üretra epiteli (U), vazokonjesyon (yıldız) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok başı); (H&E x100).

Korpus kavernozumda, fibröz doku ve kollajen lif yoğunluğunun kontrol grubuna göre artmış olduğu ancak hasar grubuna göre daha az olduğu görüldü(Resim F).



Resim F. Tedavi grubua ait penis kesiti. Kollajen lifler (bükülü ok) ve düz kas (ok) (Masson trikrom x400).

Tablo 4.1 Korpus Kavernozum ve Spongiozumda ait histolojik değerlendirme sonuçları

GRUPLAR	KORPUS KAVERNOZUM VE SPONGIOZUMDA VAZOKONJESYON	İNFLAMATUAR HÜCRE İNİLTRASYONU	TUNİKA ALBUGİNEADA AYRILMA
Kontrol 1	2	1	2
Kontrol 2	0	0	1
Kontrol 3	1	1	1
Kontrol 4	1	1	1
Kontrol 5	0	0	1
Kontrol 6	1	1	2
Priapizm/Reperfüzyon 1	2	1	3
Priapizm/Reperfüzyon 2	2	2	2
Priapizm/Reperfüzyon 3	3	2	2
Priapizm/Reperfüzyon 4	3	2	2
Priapizm/Reperfüzyon 5	2	1	1
Priapizm/Reperfüzyon 6	3	2	2
Pri/Rep+Ferulik Asit 1	2	1	1
Pri/Rep+Ferulik Asit 2	2	1	1
Pri/Rep+Ferulik Asit 3	1	1	2
Pri/Rep+Ferulik Asit 4	1	1	2
Pri/Rep+Ferulik Asit 5	1	1	2
Pri/Rep+Ferulik Asit 6	1	1	1

Nonparametrik veriler (Kavernlerde vazokonjesyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, tunika albugineada ayrılma) Ki Kare testi ile incelendiğinde konjesyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu için gruplar arasında anlamlı farklılıklar izlenirken tunika albugineada ayrılma yönünden anlamlı bir farklılık oluşmamıştır. (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. Nonparametrik verilerde anlamlı farklılıklar izlenen gruplar

Gruplar	p<0,05 ise p değeri*
Kavernöz Sinüs Konjesyonu	0,023
İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu	0,007
Tunika Albugineada Ayrılma	

* Mann-Whitney U testi

4.2 Biyokimyasal Analiz Sonuçları

İnceleme sonrası gruplar arasında anlamlı fark bulunanlar: Doku TOS, doku OSI, doku SOD, doku GPX, doku MPO, doku GRP78 (Tablo 4.3.) , anlamlı bulunmayanlar doku MDA, doku TAS, 4doku GSH, doku ATF6 ve doku CHOP olduğu görüldü (Tablo 4.4.).

Tablo 4.3. Anova analizinde fark saptanan parametreler

Parametreler	Kontrol	P/R	P/R+FA	P değeri
TOS (μ mol hidrojen peroksit eşdeğeri/L) α, β	19,7 $\pm$ 1,3	50,6 $\pm$ 11,3	21,0 $\pm$ 1,3	P<0,001
OSI	9,9 $\pm$ 1,1	73 ,1 $\pm$ 38,5	11,9 $\pm$ 5,7	p<0,001
SOD (ng/mg protein) β	2,99 $\pm$ 0,90	1,58 $\pm$ 0,63	2,59 $\pm$ 0,56	p=0,011
MPO (ng/mg protein)	5,58 $\pm$ 1,45	8,47 $\pm$ 3,08	5,24 $\pm$ 1,53	p=0,039
GRP78 (ng/mg protein) α	1,50 $\pm$ 0,36	3,23 $\pm$ 1,81	1,57 $\pm$ 0,47	p=0,025
GPx (pg/mg protein) α	683,7 $\pm$ 155,9	385,9 $\pm$ 131,4	632,0 $\pm$ 250,4	p=0,032

α : Kontrol-P/R grupları arasında anlamlı fark bulunanlar, β : P/R-P/R+Ferulik Asit grupları arasında anlamlı fark bulunanlar(posthoc MannWhitney U, p<0,016667)

Tablo 4.4. Anova analizinde fark saptanmayan parametreler

Parametreler	Kontrol	P/R	P/R+FA	P değeri
MDA (nmol/mg protein)	27,7 $\pm$ 7,1	48,4 $\pm$ 15,2	32,5 $\pm$ 17,6	p>0,05
TAS (mmol troloks eşdeğeri/L)	0,202 $\pm$ 0,020	0,124 $\pm$ 0,140	0,205 $\pm$ 0,071	p=0,250
GSH (μ g/mg protein)	258,9 $\pm$ 81,4	138,8 $\pm$ 66,4	204,3 $\pm$ 108,4	p=0,089
ATF6 (pg/mg protein)	453,0 $\pm$ 121,0	631,2 $\pm$ 293,5	466,2 $\pm$ 104,5	p=0,237
CHOP (ng/mg protein)	4,13 $\pm$ 0,95	6,58 $\pm$ 3,30	4,34 $\pm$ 1,26	p=0,118

5. TARTIŞMA

İskemik priapizm korpus kavernozumun rijiditesi ve kavernoza kan akımının az ya da hiç olmaması ile karakterize kalıcı bir ereksiyondur(4). İskemik priapizm olguların %95'inden fazlasını oluşturan, en sık görülen alt tiptir(4,34). İskemik priapizmde korpus kavernozumda hipoksi,hiperkapni,glukopeni,asidozis gibi zamana bağımlı metabolik değişiklikler gözlenir(116,117).

4 saatten uzun süren bir iskemik priapizm kompartman sendromuna benzetilebilir. Korpus kavernozumdaki kapalı alanda oluşan iskemi, kavernoza sirkülasyonu ciddi bir şekilde bozar. İskemik priapizmde, kavernoza düz kasta ultrastrüktürel değişiklikler 12 saat sonra, fokal nekroz 24 saat sonra, son olarak geniş nekroz ve fibroblast benzeri hücrelerin transformasyonu ise 48 saat sonra görülmektedir(6). İskemik priapizmde düz kas nekrozu, korporal fibrozis ve perminant erektile disfonksiyon(ED) gibi irreversibl sonuçları azaltmak için acil medikal müdahale gereklidir(5,6). ED gelişiminin en önemli prediktörü priapizmin süresidir. Priapizmin başlangıcından 48-72 saat sonrasında yapılan müdahaleler ereksiyon ve ağrının giderilmesinde yardımcı olabilirken uzun dönemde ED gelişimini önlemede etkinliği azdır.

Reperfüzyon iskemik dokunun korunması için gerekli olmasına rağmen, reperfüzyonun kendisi IR hasarını meydana getiren patofizyolojik süreci başlatmaktadır. IR hasarında, reperfüzyon sonucunda serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır. Oluşan serbest oksijen radikalleri biyolojik membranlarda ve serumda bulunan lipitler ile reaksiyona girerek lipit peroksidasyonuna yol açmakta, bu da iyon kanallarına ve DNA'ya zarar vererek hücrel ve metabolik süreçleri sekteye uğratmaktadır(118,119).

Lipid peroksidasyonuna karşı canlı organizmalarda enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır. Bu savunmada yer alan enzimlerden en önemlileri de SOD, katalaz ve GSHPx'dır. Ayrıca diğer savunma sistemleri olarak vitamin A, vitamin C, vitamin B9, vitamin E ve oksidasyon zincirini kıran çeşitli fitokimyasallar bulunmaktadır(120).

. Serbest oksijen radikallerinin çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir ve antioksidan kullanımının bu hastalıkların tedavisinde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bronkopulmoner displazi, periventriküler lökomalazi, intraventriküler hemoraji, prematür retinopati ve nekrotizan enterokolit gibi prematür infantlarda görülen hastalıklar oksidatif stres ile ilişkilidir, bu hastalıkların tedavisinde antioksidan ajanların

kullanılması planlanmaktadır. Bazı antioksidanlar antimikrobiyal aktivite göstermektedir, gıda endüstrisinde gıda kaynaklı patojenlerden korunmak amacıyla antioksidanların düzenli bir şekilde kullanıldığı bilinmektedir. Antioksidanların ayrıca yara iyileşmesini hızlandırdığı bilinmektedir(93).

Fenolik bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin araştırılması özellikle son 20 yılda popüler bir alan haline gelmiştir. Bunun ana nedeni fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri ve bunların kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar, kanser, I/R hasarı ve oksidatif stresle ilişkili diyabet gibi çeşitli hastalıkları önlemedeki olası rolüdür. Ferulik asit (4-hidroksi-3-metoksisinnamik asit, FA) *Ferula foetida*'dan izole edilmiştir(12–14). FA, hem serbest formda hem de bitkilerin hücre duvarında polisakkaritler, glikoproteinler, poliaminler, lignin ve hidroksi yağ asitleri ile kovalent olarak konjuge halde bulunur(15). FA'nın doğal kaynakları arasında pirinç, buğday, yulaf, meyveler, fasulye, kahve tohumları, enginar, fıstık ve fındık yer alırken; *Angelica sinensis*, *Cimicifuga racemosa* ve *Ligusticum chuangxiong* gibi Çin bitkilerinin de bir bileşenidir(16).

Ferulik asidin antioksidan özelliklerinin keşfedilmesi ile birlikte birçok biyolojik kullanımı dikkat çekmiştir. FA, antioksidan, antiinflamatuvar, antialerjik, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antikanserojenik (akciğer, meme, kolon ve cilt kanseri), antimikrobiyal, antiviral, vazodilatör, antitrombotik, antidiyabetik, spermilerin canlılığını arttırıcı biyomedikal etki dahil olmak üzere geniş spektrumlu etkilere sahiptir. Ayrıca cilt bakım formülasyonlarında fotokoruyucu bir bileşen ve gıda endüstrisinde lipid peroksidasyonunu önlemek için bir gıda katkı maddesi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır(17–19).

Son yıllarda beyin, kalp, böbrek, karaciğer, retina dahil çeşitli organlarda FA'nın I/R hasarına karşı koruyucu etkisinin araştırıldığı çok sayıda deneysel çalışma yapılmıştır. Ren ve ark. sıçanlarda FA'nın serebral I/R hasar modelinde malondialdehit (MDA) düzeyini azaltarak ve süperoksit dismutaz(SOD) ve glutatyon peroksidaz(GSH-Px) düzeylerini artırarak koruyucu bir etki gösterdiğini saptamışlardır(121). Yine Awadalla ve ark. çalışmalarında, FA uygulamasının ratlarda renal I/R hasarını önemli derecede azalttığını göstermiştir(122). Gao ve ark. , FA'nın ratlarda myokardiyal I/R hasar modelinde MDA düzeyini azaltarak ve SOD aktivitesini artırarak koruyucu etkinliğini ortaya koymuştur(123).

Koh ve ark.'nın ratlarda yaptığı bir çalışmada ferulik asidin, orta serebral arter oklüzyonu sonrası oluşan apoptotik hücre ölümünü ve infart hacmini azalttığı gösterilmiştir. Orta serebral arter oklüzyonu, fosfo-AKT seviyesinde düşmeye sebep olurken ferulik asit tedavisi iskemi hasarının tetiklediği fosfo-AKT down regülasyonunu engellemektedir(124).

Hiperglisemi, serbest radikallerin aşırı üretilmesi ve oksidatif stres ile karakterize olan diyabet dünya çapında yaygın biçimde görülen bir endokrin hastalığıdır(125). Pro-oksidan ve antioksidan maddeler arasındaki dengesizlik biyolojik sistemlerde hücre hasarına neden olur(126). FA pankreasta bulunan, streptozotosin kullanımı sebebiyle meydana gelen serbest radikallerin nötralize edilmesine yardım eder ve böylelikle streptozotosin toksisitesini azaltır. Oksidatif stres ve/veya toksisitenin azaltılması beta hücrelerinin proliferasyonuna ve pankreastan daha fazla insulin salgılanmasına yardımcı olur. İnsulin salgılanmasının artışı ekstrahepatik dokularda insulin kullanımını artırarak kan glukoz seviyesinin düşmesine neden olur(127).

Detoksifikasyon enzimlerinin stümüle edilmesi FA'nın antikanserojenik etkisinin başka bir mekanizmasıdır. FA özellikle karaciğerde UGT (Üridin difosfat glukuronil transferaz) enzim aktivitesini artırmaktadır. Böylelikle kanserojenik maddelerin detoksifikasyonu daha iyi bir şekilde yapılır böylelikle de gastrointestinal kanserlerin oluşumu engellenebilir(128). UGT enzimleri ekzojenik ve endojenik bileşenleri glukuronik asit ile konjugasyonunu katalize ederek bu bileşenlerin suda çözünürlüğünü artırır ve böylelikle de safra ve idrardan bu bileşenlerin atılımını kolaylaştırır(129). FA kolon kanser hücrelerinin büyümesini de inhibe eder(130). FA'nın kolon kanserindeki karsinogenezi inhibe ettiği in vivo çalışmalarda gösterilmiştir(131). FA dahil polifenoller meme kanserinde tümör supresör etki potensiyeli barındırmaktadır(132).

Biz yaptığımız bu çalışma ile ratlarda deneysel olarak oluşturulan akut iskemik priapizm modelinde, 1 saatlik akut iskemik priapizm ve yarım saatlik reperfüzyon sonrası geri dönüşümsüz hasar oluşmadan önce dokulardaki erken histopatolojik değişiklikleri (Kavernöz Sinüs Konjesyonu, İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu, Tunika Albugineada Ayrılma) ve biyokimyasal verileri (Doku TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx) inceledik. Doku seviyelerindeki değişiklikler ve uygulanacak olan ferulik asitin IR hasarı üzerine olası koruyucu etkisinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesini amaçladık.

Çalışmamızdaki histopatolojik veriler değerlendirildiğinde FA'nın priapizmde oluşan

kavernöz sinüs konjesyonunu azalttığı gösterilmiş, inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azalttığı izlenmiş ve tunika albugineada ayrılma ve/veya hemorajide olumlu yönde etkisinin olmadığı gösterilmiştir.

Çalışmamızda IR hasarında biyokimyasal değişikliklerin saptanması ve FA koruyucu etkilerinin saptanması amacıyla doku biyokimyasal verileri TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx çalışıldı.

I/R hasarı sırasında oluşan serbest radikaller, hücre membranlarındaki lipidlere saldırarak lipid peroksidasyonunu başlatırlar. MDA, lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve deneysel I/R modellerinde lipid peroksidasyon miktarının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Lipid peroksidasyonuna bağlı MDA birikimi daha çok reperfüzyon fazında gelişen hasarın önemli bir komponentidir(133). Çalışmamızda doku MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre, P/R grubunda daha yüksek olduğu izlenmiş olup hipotezimizle uyumlu olduğu görülmüştür. FA infüzyonu ile birlikte Pri/Rep+FA grubunda I/R grubuna göre doku MDA'da istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır ($p>0,05$).

Antioksidanların plazma konsantrasyonları ayrı ayrı ölçülebilmektedir, ancak bu durum zaman alıcı, yoğun emek gerektiren ve yüksek maliyetli bir iştir. Bu sebeple biyolojik örneklerin antioksidan kapasitesini belirlemek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Plazma antioksidan bileşenlerinin antioksidatif etkisi olduğu için, toplam antioksidan kapasite ölçümü (TAS) plazma antioksidan durumunu yansıtır. TAS vücut sıvılarındaki ve plazmadaki bütün antioksidanların etkisini yansıtırken, TOS bütün oksidanların toplam etkisini yansıtır(134). Oksidatif stres DNA mutasyonları, hücre ölümleri ve hastalıkları gibi hasarlara neden olur. Moleküler, hücresel ve doku düzeyindeki oksidatif hasarın en aza indirilebilmesi için oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir denge sağlanmalıdır(135). Kısaoglu ve ark. yayınladıkları derlemelerinde, oksidan/antioksidan dengenin oksidanlar tarafına kaymasının, antioksidan sistemlerin fazla tüketilmesine bağlı olarak geliştiğini bildirmişlerdir(136).

Yaptığımız çalışmada parametrik veriler içerisinde değerlendirilen doku TAS seviyelerindeki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır($p>0,05$). Doku TOS seviyelerinde Pri/Rep grubunda kontrol grubuna göre yükselmenin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüş($p<0,05$); Pri/Rep+FA grubunda ise Pri/Rep grubuna göre doku TOS düzeylerindeki düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Bu bulgular FA'nın antioksidan özelliğini desteklemektedir.

Myeloperoksidaz (MPO), memeli nötrofillerinin granüllerinde yer alan bir enzim olup, fagosite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde hidrojen peroksit ile birlikte önemli rol oynamaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarında başta nötrofiller olmak üzere inflamatuvar hücreler kemotaksisi oluşmakta, inflamatuvar mediyatörlere yanıt olarak süperoksit iyonu gibi oksidan mediyatörler üretirler. Süperoksit iyonu, süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile önce hidrojen peroksit ve sonrasında mieloperoksidaz (MPO) etkisi ile de hipoklorik asite veya fenton reaksiyonu ile OH radikaline dönüşür ve ortama salınır(137,138). Çalışmamızda Pri/Rep+FA grubunda ise Pri/Rep grubuna göre doku MPO düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Doku SOD düzeylerinde ise Pri/Rep+FA grubunda ise Pri/Rep grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.015$). FA'nın SOD aktivitesini artırarak antioksidan rol oynadığı bu çalışmada gösterilmiştir.

Çalışmamızda toplam antioksidan kapasite düzeyleri için toplam oksidan seviye düzeyi yüzde oranı oksidatif stres indeksi (OSI) olarak değerlendirildi(139). Doku OSI seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi ($p<0,05$).

Nonenzimatik antioksidan olan Glutasyon bir antioksidan olarak hareket eder ve ayrıca hücrenin redoks durumunu korumada, detoksifikasyon sisteminin çalışmasında, eikosanoidlerin sentezlenmesinde, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptozisde de antioksidan olarak faaliyet gösterir. Glutasyon, GPx'in katalitik etkisiyle lipid peroksitleri ve H₂O₂'yi detoksifiye eder ya da O₂⁻ ve OH⁻ 'i temizler. Ayrıca GSH plazma membranından aminoasit transportunu sağlar ve bazı önemli antioksidanları yeniden oluşturur. Vitamin E ve vitamin C, GSH tarafından düzenlenir(140).

Çalışmamızda doku GSH düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı($p>0,05$). Doku GPx düzeylerinde ise Pri/Rep grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu($p=0,032$). Bu durum yapılan çalışmanın akut bir çalışma olmasına bağlandı.

Endoplazmik retikulum (ER) şaperonları, ER'nin normal işlevi için gerekliliği açısından ortaya konulmuştur(141). GRP78'in ER stresi için esas düzenleyicilerden olduğu kanıtlanmıştır(142). ATF6'nın proapoptotik CHOP'un erken dinamiklerini şekillendirdiğini öne süren çalışmalar da mevcuttur(143). Çalışmamızda doku GRP78 düzeyinde Pri/Rep grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken($p<0,05$) , doku ATF6 ve doku CHOP düzeylerinde Pri/Rep grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak

anlamli farklilik bulunamadi($p>0,05$). Bu durum FA'nin ER stresini hafifleterek, I/R'nin neden olduğu metabolik bozukluklari iyilestirebileceđini göstermistir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Deneysel model, biyokimyasal olarak priapizm/ reperfüzyon grubundaki azalan doku SOD seviyelerinin ferulik asit verilen ratlarda arttığını göstermiştir.
- Deneysel model, biyokimyasal olarak priapizm/ reperfüzyon grubundaki artan doku TOS seviyelerinin ferulik asit verilen ratlarda azaldığını göstermiştir.
- Deneysel model, histolojik olarak priapizm/ reperfüzyon grubundaki ratlarda izlenen konjesyonun ferulik asit uygulamasının ardından normalleşme ile sonuçlandığını göstermiştir.
- Deneysel model, histolojik olarak priapizm/ reperfüzyon grubundaki ratlarda izlenen inflamatuvar hücre infiltrasyonunun ferulik asit uygulamasının ardından normalleşme ile sonuçlandığını göstermiştir.
- Ferulik asitin, priapizm/ reperfüzyon durumunda dokularda oluşabilecek biyokimyasal ve histolojik hasarı engellemede etkili olabileceği kanısı uyanmıştır.
- Bu ve benzeri verilerin ışığında, ferulik asitin insanlarda kullanımı konusunda çalışmalara gerek duyulmaktadır.

7.KAYNAKLAR

1. Hudnall M, Reed-Maldonado AB, Lue TF. Advances in the understanding of priapism. *Transl Androl Urol.* 2017 Apr 1;6(2):199–206.
2. Salonia A, Eardley I, Giuliano F, Hatzichristou D, Moncada I, Vardi Y, et al. European association of urology guidelines on priapism. *Eur Urol.* 2014;65(2):480–9.
3. Furtado PS, Costa MP, Do Prado Valladares FR, Da Silva LO, Lordêlo M, Lyra I, et al. The prevalence of priapism in children and adolescents with sickle cell disease in Brazil. *Int J Hematol.* 2012 Jun;95(6):648–51.
4. Broderick GA, Kadioglu A, Bivalacqua TJ, Ghanem H, Nehra A, Shamloul R. Priapism: pathogenesis, epidemiology, and management. *J Sex Med.* 2010;7(1 Pt 2):476–500.
5. El-Bahnasawy MS, Dawood A, Farouk A. Low-flow priapism: risk factors for erectile dysfunction. *BJU Int.* 2002;89(3):285–90.
6. Spycher MA, Hauri D. The ultrastructure of the erectile tissue in priapism. *J Urol.* 1986;135(1):142–7.
7. Munarriz R, Park K, Huang YH, Saenz De Tejada I, Moreland RB, Goldstein I, et al. Reperfusion of ischemic corporal tissue: Physiologic and biochemical changes in an animal model of ischemic priapism. *Urology.* 2003 Oct 1;62(4):760–4.
8. Moreland RB, Traish A, McMillin MA, Smith B, Goldstein I, Saenz de Tejada I. PGE1 suppresses the induction of collagen synthesis by transforming growth factor-beta 1 in human corpus cavernosum smooth muscle - PubMed. *J Urol.* 1995;826–34.
9. Sanli O, Armagan A, Kandirali E, Ozerman B, Ahmedov I, Solakoglu S, et al. TGF-beta1 neutralizing antibodies decrease the fibrotic effects of

- ischemic priapism. *Int J Impot Res*. 2004 Dec;16(6):492–7.
10. Uluocak N, Atılğan D, Erdemir F, Parlaktas BS, Yasar A, Erkorkmaz U, et al. An animal model of ischemic priapism and the effects of melatonin on antioxidant enzymes and oxidative injury parameters in rat penis. *Int Urol Nephrol*. 2010;42(4):889–95.
 11. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*. 1991;11(1):81–128.
 12. Kumar N, Pruthi V. Potential applications of ferulic acid from natural sources. *Biotechnol reports (Amsterdam, Netherlands)*. 2014 Dec 1;4(1):86–93.
 13. Alam MA. Anti-hypertensive Effect of Cereal Antioxidant Ferulic Acid and Its Mechanism of Action. *Front Nutr*. 2019 Aug 7;6.
 14. Li D, Rui Y xin, Guo S duo, Luan F, Liu R, Zeng N. Ferulic acid: A review of its pharmacology, pharmacokinetics and derivatives. *Life Sci*. 2021 Nov 1;284.
 15. Gupta A, Singh AK, Loka M, Pandey AK, Bishayee A. Ferulic acid-mediated modulation of apoptotic signaling pathways in cancer. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2021 Jan 1;125:215–57.
 16. Mancuso C, Santangelo R. Ferulic acid: pharmacological and toxicological aspects. *Food Chem Toxicol*. 2014 Mar;65:185–95.
 17. Chowdhury S, Ghosh S, Das AK, Sil PC. Ferulic Acid Protects Hyperglycemia-Induced Kidney Damage by Regulating Oxidative Insult, Inflammation and Autophagy. *Front Pharmacol*. 2019;10(FEB).
 18. Chaudhary A, Jaswal VS, Choudhary S, Sonika, Sharma A, Beniwal V, et

- al. Ferulic Acid: A Promising Therapeutic Phytochemical and Recent Patents Advances. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*. 2019 Jun 21;13(2):115–23.
19. Wang EJ, Wu MY, Lu JH. Ferulic Acid in Animal Models of Alzheimer's Disease: A Systematic Review of Preclinical Studies. *Cells*. 2021 Oct 1;10(10).
 20. Partin AW, Dmochowski RR, R. LK, A. CP. *Campbell-Walsh-Wein Urology Elsevier Twelfth Edition*. Twelfth Ed.
 21. Goldstein AMB, Morrow JW, Meehan JP. Special microanatomical features surrounding the intracorpora cavernosa nerves and their probable function during erection. *J Urol*. 1984;132(1):44–6.
 22. Singh I. *Textbook of Human Histology (With Colour Atlas & Practical Guide)*. SIXTH EDIT. *Textbook of Human Histology*. 2011.
 23. Lue TF. The mechanism of penile erection in the monkey. *Semin Urol*. 1986;4(4):217–24.
 24. Ignarro LJ, Bush PA, Buga GM, Wood KS, Fukuto JM, Rajfer J. Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun*. 1990 Jul 31;170(2):843–50.
 25. Saenz de Tejada I, Moroukian P, Tessier J, Kim JJ, Goldstein I, Frohrib D. Trabecular smooth muscle modulates the capacitor function of the penis. Studies on a rabbit model. *Am J Physiol*. 1991;260(5 Pt 2).
 26. Saenz de Tejada I, Kim NN, Goldstein I, Traish AM. Regulation of pre-synaptic alpha adrenergic activity in the corpus cavernosum. *Int J Impot Res*. 2000;12 Suppl 1:S20–5.

27. de Tejada IS, Goldstein I, Azadzoi K, Krane RJ, Cohen RA. Impaired neurogenic and endothelium-mediated relaxation of penile smooth muscle from diabetic men with impotence. *N Engl J Med.* 1989 Apr 20;320(16):1025–30.
28. Saenz de Tejada I, Carson MP, De Las Morenas A, Goldstein I, Traish AM. Endothelin: localization, synthesis, activity, and receptor types in human penile corpus cavernosum. *Am J Physiol.* 1991;261(4 Pt 2).
29. Sattar AA, Salpigidis G, Schulman CC, Wespes E. [Relationship between intrapenile O2 lever and quantity of intracavernous smooth muscle fibers: current physiopathological concept]. *Acta Urol Belg.* 1995;63(1):53–9.
30. Prof. Dr. M. Önder YAMAN, Prof.Dr. Ateş KADIOĞLU PDAİT. Güncel Üroloji 2. BASKI. 2. BASKI. Prof. Dr. M. Önder YAMAN, Prof.Dr. Ateş KADIOĞLU PDAİT, editor. Türk Üroloji Derneği/ Turkish Association of Urology; 2018.
31. Kandeel FR, Koussa VKT, Swerdloff RS. Male sexual function and its disorders: physiology, pathophysiology, clinical investigation, and treatment. *Endocr Rev.* 2001;22(3):342–88.
32. Pryor J, Akkus E, Alter G, Jordan G, Lebreton T, Levine L, et al. Priapism. *J Sex Med.* 2004;1(1):116–20.
33. Cherian J, Rao AR, Thwaini A, Kapasi F, Shergill IS, Samman R. Medical and surgical management of priapism. *Postgrad Med J.* 2006 Feb;82(964):89–94.
34. Berger R, Billups K, Brock G, Broderick G, Dhabuwala C, Goldstein I, et al. Report of the American Foundation for Urologic Disease (AFUD) Thought Leader Panel for evaluation and treatment of priapism. *Int J Impot Res.* 2001;13 Suppl 5:S39–43.

35. UL-HASAN M, EL-SAKKA A, LEE C, YEN T-S, DAHIYA R, LUE T. Expression of TGF-beta-1 mRNA and ultrastructural alterations in pharmacologically induced prolonged penile erection in a canine model. *J Urol*. 1998 Dec;160(6 Pt 1):2263–6.
36. Montague DK, Jarow J, Broderick GA, Dmochowski RR, Heaton JPW, Lue TF, et al. American Urological Association guideline on the management of priapism. *J Urol*. 2003 Oct 1;170(4 Pt 1):1318–24.
37. Burnett AL, Tillman SL, Chang TSK, Epstein JI, Lowenstein CJ, Bredt DS, et al. Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the autonomic innervation of the human penis. *J Urol*. 1993;150(1):73–6.
38. Claudino MA, Franco-Penteado CF, Priviero FBM, Camargo EA, Teixeira SA, Muscará MN, et al. Upregulation of gp91phox subunit of NAD(P)H oxidase contributes to erectile dysfunction caused by long-term nitric oxide inhibition in rats: reversion by regular physical training. *Urology*. 2010 Apr;75(4):961–7.
39. Dean RC, Lue TF. Physiology of Penile Erection and Pathophysiology of Erectile Dysfunction. *Urol Clin North Am*. 2005 Nov;32(4):379.
40. Phatarpekar P V., Wen J, Xia Y. Role of Adenosine Signaling in Penile Erection and Erectile Disorders. *J Sex Med*. 2010;7(11):3553.
41. Patole S, Lee J, Buettner P, Whitehall J. Improved oxygenation following adenosine infusion in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Biol Neonate*. 1998 Nov;74(5):345–50.
42. Mi T, Abbasi S, Zhang H, Uray K, Chunn JL, Ling WX, et al. Excess adenosine in murine penile erectile tissues contributes to priapism via A2B adenosine receptor signaling. *J Clin Invest*. 2008 Apr 1;118(4):1491–501.
43. Ozan T, Firdolas F, Orhan I. Priapism in Experimental Studies:

Reflections on the Practice. Türk Üroloji Semin Urol Semin. 2011;2(10):281–7.

44. Jin YC, Gam SC, Jung JH, Hyun JS, Chang KC, Hyun JS. Expression and activity of heme oxygenase-1 in artificially induced low-flow priapism in rat penile tissues. J Sex Med. 2008;5(8):1876–82.
45. Shamloul R. The potential role of the heme oxygenase/carbon monoxide system in male sexual dysfunctions. J Sex Med. 2009;6(2):324–33.
46. Ünüş İ, Fırdolaş F, Özcan M, Karakeçi A, Onur R Oİ. Bosentan, Teofilin ve Vardenafil'in priapizm tedavisinde kullanımı. 9Ulusal Androloji Kongresi. :92.
47. Hellstrom WJG, Gittelman M, Karlin G, Segerson T, Thibonnier M, Taylor T, et al. Sustained efficacy and tolerability of vardenafil, a highly potent selective phosphodiesterase type 5 inhibitor, in men with erectile dysfunction: Results of a randomized, double-blind, 26-week placebo-controlled pivotal trial. Urology. 2003 Apr 1;61(4 SUPPL. 1):8–14.
48. Lin CS. Phosphodiesterase type 5 regulation in the penile corpora cavernosa. J Sex Med. 2009;6 Suppl 3(SUPPL. 3):203–9.
49. Bialecki ES, Bridges KR. Sildenafil relieves priapism in patients with sickle cell disease [1]. Am J Med. 2002 Aug 15;113(3):252.
50. Burnett AL, Bivalacqua TJ, Champion HC, Musicki B. Long-term oral phosphodiesterase 5 inhibitor therapy alleviates recurrent priapism. Urology. 2006 May;67(5):1043–8.
51. Lin CS, Lin G, Lue TF. Cyclic nucleotide signaling in cavernous smooth muscle. J Sex Med. 2005;2(4):478–91.
52. Broderick GA, Gordon D, Hypolite J, Levin RM. Anoxia and corporal

- smooth muscle dysfunction: A model for ischemic priapism. *J Urol*. 1994;151(1):259–62.
53. Muneer A, Minhas S, Freeman A, Kumar P, Ralph DJ. Investigating the effects of high-dose phenylephrine in the management of prolonged ischaemic priapism. *J Sex Med*. 2008;5(9):2152–9.
54. Raja SG, Dreyfus GD. Current status of bosentan for treatment of pulmonary hypertension. *Ann Card Anaesth*. 2008 Jan;11(1):6–14.
55. Dhillon S, Keating GM. Bosentan: A review of its use in the management of mildly symptomatic pulmonary arterial hypertension. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2009;9(5):331–50.
56. Yuan J, Desouza R, Westney OL, Wang R. Insights of priapism mechanism and rationale treatment for recurrent priapism. *Asian J Androl*. 2008 Jan 1;10(1):88–101.
57. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am*. 1992;72(1):65–83.
58. Gupta RK, Patel AK, Shah N, Chaudhary AK, Jha UK, Yadav UC, et al. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(11):4405–9.
59. Dokuyucu R, Karateke A, Gokce H, Kurt RK, Ozcan O, Ozturk S, et al. Antioxidant effect of erdosteine and lipoic acid in ovarian ischemia-reperfusion injury. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2014 Dec 1;183:23–7.
60. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med*. 1991;42:225–46.
61. Sanada S, Komuro I, Kitakaze M. Pathophysiology of myocardial

- reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011 Nov;301(5).
62. Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. *Free Radic Res Commun*. 1989;7(3–6):255–64.
 63. Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GEN, Dypbukt JM, Nicotera P. Calcium ions and oxidative cell injury. *Ann Neurol*. 1992;32 Suppl(1 S):S33–42.
 64. Parks DA, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol*. 1988;254(5 Pt 1).
 65. Valko M, Morris H, Cronin M. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem*. 2005 Apr 30;12(10):1161–208.
 66. Catalá A. An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *Int J Biochem Cell Biol*. 2006;38(9):1482–95.
 67. Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 1997;14(3):195–203.
 68. Monsinjon T, Richard V, Fontaine M. Complement and its implications in cardiac ischemia/reperfusion: strategies to inhibit complement. *Fundam Clin Pharmacol*. 2001;15(5):293–306.
 69. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* (London, England). 1994 Sep 10;344(8924):721–4.

70. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med.* 2000 Jul 28;109(1):33–44.
71. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J.* 1995 Apr;9(7):526–33.
72. Solaini G, Harris DA. Biochemical dysfunction in heart mitochondria exposed to ischaemia and reperfusion. *Biochem J.* 2005 Sep 1;390(Pt 2):377–94.
73. S J Davies SYR-PVIR. Differential effect of ischaemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney - PubMed. *Exp Nephrol.* 1995;348–54.
74. Reiter RJ, Acuña-Castroviejo D, Tan DX, Burkhardt S. Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system - PubMed. *Ann N Y Acad Sci.* 2001;200–15.
75. López-Neblina F, Páez-Rollys AJ, Toledo-Pereyra LH. Mechanism of protection of verapamil by preventing neutrophil infiltration in the ischemic rat kidney. *J Surg Res.* 1996;61(2):469–72.
76. Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost.* 2007 May;97(5):738–47.
77. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull.* 2004;70:71–86.
78. Weight SC, Bell PRF, Nicholson ML. Renal ischaemia--reperfusion injury. *Br J Surg.* 1996;83(2):162–70.
79. Chatterjee PK. Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review. *Naunyn*

- Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2007 Oct;376(1–2):1–43.
80. Korthuis RJ, Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. Clin Cardiol. 1993;16(4 Suppl 1):19–26.
 81. Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. Med Hypotheses. 2007;68(6):1363–70.
 82. Suzuki M, Asako H, Kubes P, Jennings S, Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-derived oxidants promote leukocyte adherence in postcapillary venules. Microvasc Res. 1991;42(2):125–38.
 83. Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, Stanimirovic D. Increased expression of bioactive chemokines in human cerebrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro. J Neuroimmunol. 1999 Nov 15;101(2):148–60.
 84. García-Villalón AL, Amezquita YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Diéguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. Vascul Pharmacol. 2008 Feb;48(2–3):109–14.
 85. Phillips L, Toledo AH, Lopez-Neblina F, Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH. Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. J Invest Surg. 2009;22(1):46–55.
 86. Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. APMIS. 2007 Feb;115(2):81–103.
 87. Cherubini A, Ruggiero C, Morand C, Lattanzio F, Dell'Aquila G, Zuliani

- G, et al. Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. *Curr Med Chem*. 2008 May 6;15(12):1236–48.
88. Mickle DA WRF. Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury - PubMed. *Can J Cardiol* . 1993;89–93.
 89. Virág L, Szabó C. The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev*. 2002 Sep;54(3):375–429.
 90. Altan N, Sepici Dinçel A KC. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres Diabetes Mellitus and Oxidative Stress. *Turkish J Biochem*. 2006;31(April):51–6.
 91. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44–84.
 92. Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolín I, Herrera F, Martín V, et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res*. 2004 Jan;36(1):1–9.
 93. Sen S, Chakraborty R. The role of antioxidants in human health. *ACS Symp Ser*. 2011 Nov 17;1083:1–37.
 94. Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggeler B, Barlow- Walden L, Chuang J, et al. A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *J Pineal Res*. 1995;18(1):1–11.
 95. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health . *Int J Biomed Sci*. 2008;(89–96):89–96.
 96. Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future

- prospect. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2010;3(1):91–100.
97. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002;82(1):47–95.
 98. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2004;44(4):275–95.
 99. Reiter RJ, Calvo JR, Karbownik M, Qi W, Tan DX. Melatonin and its relation to the immune system and inflammation. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;917:376–86.
 100. Reiter RJ, Carneiro RC, Oh CS. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm Metab Res*. 1997;29(8):363–72.
 101. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. *J Biomed Sci*. 2000;7(6):444–58.
 102. Şener G YB. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klin Gelişim*. 2009;22:5–13.
 103. González-Pérez O, Moy-López NA, Guzmán-Muñiz J. [Alpha-tocopherol and alpha-lipoic acid. An antioxidant synergy with potential for preventive medicine] . *Rev Invest Clin*. 2008;58–67.
 104. Silalahi J. Anticancer and health protective properties of citrus fruit components. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2002;11(1):79–84.
 105. Zhao Z, Moghadasian MH. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chem*. 2008 Aug 15;109(4):691–702.
 106. Yagi K, Ohishi N. Action of ferulic acid and its derivatives as antioxidants. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 1979;25(2):127–30.
 107. Zduńska K, Dana A, Kolodziejczak A, Rotsztein H. Antioxidant Properties

- of Ferulic Acid and Its Possible Application. *Skin Pharmacol Physiol*. 2018 Oct 1;31(6):332–6.
108. Srinivasan M, Sudheer AR, Menon VP. Ferulic Acid: therapeutic potential through its antioxidant property. *J Clin Biochem Nutr*. 2007 Mar;40(2):92–100.
 109. Ghosh S, Basak P, Dutta S, Chowdhury S, Sil PC. New insights into the ameliorative effects of ferulic acid in pathophysiological conditions. *Food Chem Toxicol*. 2017 May 1;103:41–55.
 110. Barone E, Calabrese V, Mancuso C. Ferulic acid and its therapeutic potential as a hormetin for age-related diseases. *Biogerontology*. 2009;10(2):97–108.
 111. Hirose M, Takahashi S, Ogawa K, Futakuchi M, Shirai T. Phenolics: blocking agents for heterocyclic amine-induced carcinogenesis. *Food Chem Toxicol*. 1999;37(9–10):985–92.
 112. Sudheer AR, Muthukumaran S, Kalpana C, Srinivasan M, Menon VP. Protective effect of ferulic acid on nicotine-induced DNA damage and cellular changes in cultured rat peripheral blood lymphocytes: a comparison with N-acetylcysteine. *Toxicol In Vitro*. 2007 Jun;21(4):576–85.
 113. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*. 1978;86(1):271–8.
 114. Kazaz IO, Demir S, Kerimoglu G, Colak F, Alemdar NT, Akman AU, et al. Effect of Chrysin on Endoplasmic Reticulum Stress in a Rat Model of Testicular Torsion. *J Invest Surg*. 2022;35(5):1106–11.
 115. Karagüzel E, Bayraktar C, Kutlu O, Yulug E, Mentese A, Okatan AE, et al. The possible protective effects of dipyrindamole on ischemic reperfusion

- injury of priapism. *Int Braz J Urol*. 2016;42(1):146–53.
116. Muneer A, Cellek S, Dogan A, Kell PD, Ralph DJ, Minhas S. Investigation of cavernosal smooth muscle dysfunction in low flow priapism using an in vitro model. *Int J Impot Res*. 2005 Jan;17(1):10–8.
117. Vreugdenhil S, Freire Jorge PJ, van Driel MF, Nijsten MW. Ischemic priapism as a model of exhausted metabolism. *Physiol Rep*. 2019 Mar 1;7(6).
118. S Cuzzocrea, D P Riley, A P Caputi, D Salvemini. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury - PubMed. *Pharmacol Rev* . 2001;135–59.
119. Lysiak JJ, Nguyen QAT, Kirby JL, Turner TT. Ischemia-reperfusion of the murine testis stimulates the expression of proinflammatory cytokines and activation of c-jun N-terminal kinase in a pathway to E-selectin expression. *Biol Reprod*. 2003 Jul 1;69(1):202–10.
120. Poli G, MUD EA. Free Radicals: from Basic Science to Medicine. Vol. 21. 1993. 1993 p.
121. Ren Z, Li Y, Zhang R, Li Y, Yang Z, Yang H. Ferulic acid exerts neuroprotective effects against cerebral ischemia/reperfusion-induced injury via antioxidant and anti-apoptotic mechanisms in vitro and in vivo. *Int J Mol Med*. 2017 Nov 1;40(5):1444–56.
122. Awadalla A, Hussein AM, El-Far YM, Barakat N, Hamam ET, El-Sherbiny M, et al. Effect of zinc oxide nanoparticles and ferulic acid on renal ischemia/reperfusion injury: possible underlying mechanisms. *Biomed Pharmacother*. 2021 Aug 1;140.
123. Gao Y, Hao J, Zhang H, Qian G, Jiang R, Zhao G, et al. Protective effect of the combinations of glycyrrhizic, ferulic and cinnamic acid pretreatment

- on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. *Exp Ther Med*. 2015;9(2):435–45.
124. Koh PO. Ferulic acid attenuates focal cerebral ischemia-induced decreases in p70S6 kinase and S6 phosphorylation. *Neurosci Lett*. 2013 Oct 25;555:7–11.
125. Aragno M, Parola S, Tamagno E, Brignardello E, Manti R, Danni O, et al. Oxidative derangement in rat synaptosomes induced by hyperglycaemia: restorative effect of dehydroepiandrosterone treatment. *Biochem Pharmacol*. 2000 Aug 1;60(3):389–95.
126. L. Villa-Caballero, A.A. Nava-Ocampo, A.C. Frati-Munari, H. Ponce-Monter. [Oxidative stress. Should it be measured in the diabetic patient?] - PubMed. *Gac Med Max* 136. 2000;249–56.
127. Balasubashini MS, Rukkumani R, Viswanathan P, Menon VP. Ferulic acid alleviates lipid peroxidation in diabetic rats. *Phytother Res*. 2004 Apr;18(4):310–4.
128. van der Logt EMJ, Roelofs HMJ, Nagengast FM, Peters WHM. Induction of rat hepatic and intestinal UDP-glucuronosyltransferases by naturally occurring dietary anticarcinogens. *Carcinogenesis*. 2003 Oct;24(10):1651–6.
129. King C, Tang W, Ngui J, Tephly T, Braun M. Characterization of rat and human UDP-glucuronosyltransferases responsible for the in vitro glucuronidation of diclofenac. *Toxicol Sci*. 2001;61(1):49–53.
130. H. Mori, K Kawabata, N Yoshimi, T Tanaka, T Murakami, T Okada, et al. Chemopreventive effects of ferulic acid on oral and rice germ on large bowel carcinogenesis - PubMed. *Anticancer Res*. 1999;3775–8.
131. E A Hudson, P A Dinh, T Kokubun, M S Simmonds, A Gescher.

- Characterization of potentially chemopreventive phenols in extracts of brown rice that inhibit the growth of human breast and colon cancer cells - PubMed. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000;1163–70.
132. Javier A Menendez, Alejandro Vazquez-Martin, Cristina Oliveras-Ferraros, Rocio Garcia-Villalba, Alegria Carrasco-Pancorbo, Alberto Fernandez-Gutierrez, et al. Analyzing effects of extra-virgin olive oil polyphenols on breast cancer-associated fatty acid synthase protein expression using reverse-phase protein microarrays - PubMed. *Int J Mol Med.* 2008;433–9.
 133. Baltalarli A, Ozcan V, Ferda B, Aybek H, Sacar M, Onem G, et al. Ascorbic acid (vitamin C) and iloprost attenuate the lung injury caused by ischemia/reperfusion of the lower extremities of rats. *Ann Vasc Surg.* 2006;20(1):49–55.
 134. Aslan R, Kutlu R, Civi S, Tasyurek E. The correlation of the total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and paraoxonase activity (PON1) with smoking. *Clin Biochem.* 2014;47(6):393–7.
 135. AKBAŞ A, TOTAN Y, ÖZYURT H, AYDIN B, YAĞCI R, EKŞİOĞLU M, et al. Behçet hastalığında toplam antioksidan kapasite, toplam oksidan durum ve dehidroepiandrosteron sülfat düzeyleri. *Retina-Vitreus.* 2007;15(4):263–6.
 136. Kisaoglu A, Borekci B, Yapca OE, Bilen H, Suleyman H. Tissue damage and oxidant/antioxidant balance. *Eurasian J Med.* 2013;45(1):47–9.
 137. Arnhold J. Properties, functions, and secretion of human myeloperoxidase. *Biochemistry (Mosc).* 2004;69(1):4–9.
 138. Aratani Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Arch Biochem Biophys.* 2018 Feb 15;640:47–52.

139. Harma M, Harma M, Kocyigit A, Erel O. Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole. *Mutat Res.* 2005 May 2;583(1):49–54.
140. Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN. 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods Enzymol.* 1999;300:156–66.
141. Ni M, Lee AS. ER chaperones in mammalian development and human diseases. *FEBS Lett.* 2007 Jul 31;581(19):3641–51.
142. Lee AS. The ER chaperone and signaling regulator GRP78/BiP as a monitor of endoplasmic reticulum stress. *Methods.* 2005;35(4):373–81.
143. Yang H, Niemeijer M, van de Water B, Beltman JB. ATF6 Is a Critical Determinant of CHOP Dynamics during the Unfolded Protein Response. *iScience.* 2020 Feb 21;23(2).