

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

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

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

Uzmanlık Tezi

Dr. Yasin CANSEVER

Trabzon – 2022

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

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

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

Uzmanlık Tezi

Dr. Yasin CANSEVER

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ersagun KARAGÜZEL

Trabzon – 2022

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilimin ışığında yolumu aydınlatan, iyi bir hekim olma yolunda engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tezimin hazırlanmasında bana her açıdan destek olan, başta Anabilim Dalı başkanımız ve aynı zamanda tez danışmanım olan sayın Prof. Dr. Ersagun KARAGÜZEL olmak üzere, sayın Prof. Dr. Rasin ÖZYAVUZ, sayın Doç. Dr. İlke Onur KAZAZ ve sayın Dr. Öğr. Üyesi Fatih ÇOLAK hocalarıma;

Biyokimya Anabilim Dalından sayın Prof. Dr. Ahmet MENTEŞE ve sayın Doç. Dr. Selim DEMİR hocalarıma;

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalından sayın Prof. Dr. Esin YULUĞ hocama;

Eğitimim boyunca birlikte uyum içerisinde çalıştığım, tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve Üroloji Anabilim Dalı çalışanlarına;

Son olarak bu zamana kadar her türlü zorluk ve sıkıntıda her zaman yanımda olan, hiçbir zaman yardım ve desteklerini benden esirgemeyen aileme;

Sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım...

ÖZET

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

Giriş:

Penisin kompartman sendromu olarak algılanabilecek olan iskemik priapizmde venöz obstrüksiyon ve korpus kavernozaum içerisinde staz meydana gelmektedir. Zamanında tedavi edilmezse kavernozaal düz kaslarda nekroz, irreversibl korporal fibrozis ve erektil disfonksiyon gelişmektedir. Priapizmin sonlanması ise iskemi reperfüzyon (IR) hasarını gündeme getirmektedir. Bir izokinon kuaterner alkaloid olan berberin gibi bazı bitkisel biyoaktif bileşikler, hücrelerin oksidatif strese karşı serbest radikallerin engellenmesini veya detoksifikasyonunu sağlamak ve çeşitli işlev bozukluklarının önlenmesine yardımcı olmaktadır.

Amaç:

Sıçanlarda oluşturulan penil iskemi-reperfüzyon modelinde uygulanan berberinin, IR 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+berberin). Alınan penektomi materyalinde Doku TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx seviyelerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen ratların alınan penis dokusunun histolojik özellikleri (kavernlerde vazokonjesyon, üretra epitel dejenerasyonu, kavernlerin ortalama sinüzoidal alanı (μm^2), kavernlerde vasküler konjesyon, kavern çevresi bağ dokusu artışı) değerlendirilmiştir.

Bulgular:

Biyokimyasal verilerden istatistiksel olarak anlamlı bulunanlar; Doku TOS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP olup($p<0,05$), anlamlı bulunmayanlar doku MDA, TAS, SOD, GPX olduğu görüldü ($p>0,05$). Çalışmamızda histolojik veriler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gösterilemedi.

Sonuç:

Bu bulgular berberinin antioksidan özelliğini ve I/R'nin neden olduğu metabolik bozuklukları önleyebileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Priapizm, Berberin, Reperfüzyon hasarı

SUMMARY

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

Introduction:

Ischemic priapism, which can be considered as penile compartment syndrome, runs with venous obstruction and stasis in the corpus cavernosum. If not treated, it causes cavernosal smooth muscle necrosis, irreversible corporal fibrosis, and erectile dysfunction. On the other hand, termination of priapism leads to ischemia-reperfusion (IR) injury. Berberine, one of the bioactive alkaloids found in plants is used in prevention or detoxification free radicals that lead to oxidative stress of cells.

Aim:

We aimed to evaluate the possible protective effects of berberine in histological and biochemical parameters in the penile ischemia-reperfusion model in rats.

Materials and Methods:

In this experimental study, 18 adult male Spraque Dawley rats weighing 350-400 gr were used (three groups consisting of 6 rats each control, priapism+reperfusion and priapism+reperfusion+berberine groups). Penectomy materials, obtained at the end of study, was investigated for changes in tissue TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx levels, and histological features of the removed penile tissue (for vasocongestion in caverns, urethral epithelial degeneration, mean sinusoidal area of caverns (μm^2), vascular congestion in caverns, increase in connective tissue around the cavern) were evaluated.

Results:

Among the biochemical data, statistically significant differences were observed for tissue TOS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP ($p < 0.05$). No statistically significant difference was found in terms of histological data.

Conclusion:

Our findings suggested that berberine may have an antioxidant property and can decrease metabolic disorders which were caused by I/R.

Keywords: Priapism, Berberine, Reperfusion injury



İçindekiler

ÖZET	ii
SUMMARY	iv
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	I
ŞEKİLLER	IV
GRAFİKLER	V
RESİMLER.....	VI
TABLolar	VII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Penis Anatomisi	7
2.1.1. Korpus Kavernozum	7
2.1.2. Korpus Spongiozum	8
2.1.3. Penisin Arteryal Dolaşımı	9
2.1.4. Penisin Venöz Dolaşımı	10
2.1.5. Penisin Lenfatik Drenajı.....	11
2.1.6. Penisin İnnervasyonu	11
2.2. Penisin Histolojisi.....	12
2.3. Ereksiyon Fizyolojisi	13
2.4. Priapizmin Fizyopatolojisi	15
2.4.1. Kavernozaal Düz Kas Relaksasyonunda Artışa Yol Açan Mekanizmalar	16
2.4.2. Kavernozaal Düz Kas Kontraksiyonunda Azalmaya Yol Açan Mekanizmalar	20
2.5. İskemi ve Reperfüzyon.....	22
2.5.1. Mekanizmalar	22
2.5.2. Antioksidanların Rolü.....	31
2.6. BERBERİN	36
2.6.1. Berberinin Yapısı ve Kaynakları	36
2.6.2. Berberinin Farmakokinetiği.....	37
2.6.3. Berberinin Emilimi	37
2.6.4. Berberinin Dağılımı	38
2.6.5. Berberinin Metabolizması	38
2.6.6. Berberinin Farmakodinamisi	39
2.6.7. Berberinin Yan Etkileri	40

3. MATERYAL VE METOD	41
3.1. Çalışma Grupları	41
3.2. Biyokimyasal İnceleme Yöntemi	44
3.2.1. Doku MDA Düzeylerinin Belirlenmesi	44
3.2.2. Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Seviyelerinin Belirlenmesi	46
3.2.3. Doku Glutasyon Peroksidaz (GPx) Seviyelerinin Belirlenmesi	47
3.2.4. Doku Glukoz ile Düzenlenen Protein 78 (GRP78) Seviyelerinin Belirlenmesi	49
3.2.5. Doku Aktifleştirici Transkripsiyon Faktör 6 (ATF6) Seviyelerinin Belirlenmesi	50
3.2.6. Doku C/EBP Homolog Protein (CHOP) Seviyelerinin Belirlenmesi	52
3.2.7. Doku Miyeloperoksidaz (MPO) Seviyelerinin Belirlenmesi	53
3.2.8. Doku Glutasyon (GSH) Seviyelerinin Belirlenmesi	55
3.2.9. Toplam Oksidan Durumun (TOS) Belirlenmesi	56
3.2.10. Toplam Antioksidan Durumun (TAS) Belirlenmesi	56
3.2.11. Oksidatif Stres İndeksinin (OSI) Hesaplanması	57
3.3. Histopatolojik İnceleme Yöntemi	57
3.4. İstatistiksel İnceleme Yöntemi	58
4. BULGULAR	59
4.1. Histopatolojik Bulgular:	59
4.1.1. Kontrol Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;	59
4.1.2. Priapizm/Reperfüzyon Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;	60
4.1.3. Priapizm/Reperfüzyon + BBR Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;	62
4.2 Biyokimyasal Analiz Sonuçları	64
4.3.İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları	68
5. TARTIŞMA	70
6. Sonuç ve Öneriler	76
KAYNAKLAR	77

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

4-HNE	4-Hidroksinonenal
8-OHdG	8-hidroksi-2'-deoksiguanozin
AC	Adenilat siklazi
ADA	Adenozin deaminaz
ADK	Adenozin kinaz
ATF6	Aktifleştirici Transkripsiyon Faktör 6
BBR	Berberin
BIP	Binding immunoglobulin protein
C	Kompleman
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CHOP	C/EBP Homolog Protein
CoQH₂	Ubikinol
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPA	Dorsal penil arter
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
eNOS	Endotelial nitrik oksit sentetaz
ENT	Equilibrative Nükleotit Transporter
ERAD	ER-ilişkili degradasyon
ET	Endotelin-1
ETZ	Elektron transport zinciri
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
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HO	Hemoksijenaz
HO1-CO	Hemoksijenaz 1-karbonmonoksit

HSPA5	Heat Shock Protein Family A (Hsp70) Member 5
IFNγ	İnterferon gama
IMA	İskemi modifiye albumin
IMA	İskemik modifiye albumin
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
PEG-ADA	Polyethylene glycol–modified adenozin deaminaz
P-gp	P glikoprotein
PNL	Polimorf nüveli lökositler
PP1	Protein fosfataz 1
ROO	Peroksil radikali
ROS	Reaktif oksijen türleri
S2P	Site2 proteaz
SAHH	S-adenozinhomosistein hidrolaz
sGC	Solubl guanilat siklazi
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikal
TAS	Toplam antioksidan kapasite ölçümü
TBA	Tiyobarbitürik asit
TGF-β	Transforming growth faktör beta
TNF-α	Tümör nekroz faktör alfa

TOS	Toplam oksidan kapasitesi
UPR	Katlanmamış protein cevabı



ŞEKİLLER

Şekil 2. 1 Penisin enine kesiti.....	8
Şekil 2. 2. Penisin arteriyel dolaşımı	Error! Bookmark not defined.
Şekil 2. 3. Penisin yüzeyel arter ve venleri	10
Şekil 2. 4. Penisin venöz drenaj sistemi (Yüzeyel, orta ve derin venler)	11
Şekil 2. 5. Penisin innervasyonu	12
Şekil 2. 6. Flask haldeki korpus kavernozum	14
Şekil 2. 7. Erekte durumdaki korpus kavernozum	15
Şekil 2. 8. NO-cGMP Yolağı	17
Şekil 2. 9. Berberinin kimyasal yapısı	36

GRAFİKLER

Grafik 3. 1. Doku MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği	46
Grafik 3. 2. SOD ölçümünde kullanılan standart grafiği	47
Grafik 3. 3. GPx ölçümünde kullanılan standart grafiği	49
Grafik 3. 4. GRP78 ölçümünde kullanılan standart grafiği	50
Grafik 3. 5. ATF6 ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	52
Grafik 3. 6. CHOP ölçümünde kullanılan standart grafiği	53
Grafik 3. 7. MPO ölçümünde kullanılan standart grafiği	55
Grafik 3. 8. GSH ölçümünde kullanılan standart grafiği	56

RESİMLER

Resim 3. 1. Konstriktör bant kullanılarak oluşturulan ereksiyon modeli	42
Resim 3. 2. Penis diseksiyonu.....	43
Resim 4. 1. Penisin histolojik kesitinin fotomikrografı (Kontrol g.)	59
Resim 4. 2. Korpus kavernozum penise ait kavernler(Kontrol g.).....	59
Resim 4. 3. Korpus spongiyozum penise ait kavernler(Kontrol g.)	60
Resim 4. 4. Penisin histolojik kesitinin fotomikrografı.(P/R g.).....	60
Resim 4. 5. Korpus kavernozum penise ait kavernler(P/R g.).....	61
Resim 4. 6. Korpus spongiyozum penise ait kavernler(P/R g.)	61
Resim 4. 7. Penisin histolojik kesitinin fotomikrografı. (P/R+BBR g.).....	62
Resim 4. 8. Korpus kavernozum penise ait kavernler (P/R+BBR g.)	62
Resim 4. 9. Korpus spongiyozum penise ait kavernler (P/R+BBR g.)	63

TABLÖLAR

Tablo 3. 1. Çalışma grupları	41
Tablo 4. 1. Korpus Spongiozuma ait histolojik değerlendirme sonuçları	63
Tablo 4. 2. Korpus Kavernozuma ait histolojik değerlendirme sonuçları.....	64
Tablo 4. 3. Kontrol grubu biyokimyasal veriler	65
Tablo 4. 4. Priapizm/Reperfüzyon grubuna ait biyokimyasal veriler	66
Tablo 4. 5. Priapizm/Reperfüzyon + Berberin grubuna ait biyokimyasal veriler.....	67
Tablo 4. 6. Anova analizinde fark saptanan parametreler	68
Tablo 4. 7. Anova analizinde fark saptanmayan parametreler	69
Tablo 4. 8. Kavernlerin Ortalama Sinüzoidal Alanı	69

1. GİRİŞ

Priapizm adını antik Yunan kültüründen bilinen ve erkeklik ve fertilitenin sembolü olan Priapus tanrısından alınmıştır. Küçük Asya (günümüz Türkiye)'da olan efsaneye göre, Zeus'un Afrodit'ten olan gayr-i meşru çocuklarına Zeus'un eşi Hera, kem gözlerini göndermiş ve doğan çocuğun penisi hemen hemen kendi boyu kadar ve sürekli ereksiyondaymış(1). Afrodit çocuğundan utanmış ve onu bugün Lapseki olarak bilinen yerde bir tarlada terk etmiştir. Tarlada büyüyen 2 priapus, tıpkı kendisi gibi toprakla büyüyen ve yetişen her şeye güç ve bereket vermiştir. Bu onu "Bereket Tanrısı" yapmış ve çok büyük olan penisi de güç sembolü haline gelmiştir(2).

Priapizm; penil tümörens, rijidite ve gevşeme mekanizmalarının regülasyonundaki bozulma sonucu oluşan kalıcı ereksiyon olarak tanımlanır. Ürolojik acil patolojilerden olup, penil ereksiyon halinin, seksüel uyarı ve orgazm olmadan kısmi ya da tam olarak 4 saatten daha uzun devam etmesidir. Tipik olarak sadece ereksiyondan sorumlu penil yapılar olan korpus kavernozumlar olaya katılır. Priapizm genelde seksüel yönden aktif erişkinlerde gözlenmesine karşın yenidoğan dönemi dahil olmak üzere tüm yaş gruplarında görülebilir. İskemik, non-iskemik ve intermittan priapizm olmak üzere 3 ana tipi vardır. Hematolojik diskretiler, iskemik priapizm için başlıca risk faktörüdür. İyatrojenik olarak intrakavernozal enjeksiyonlar, oral fosfodiesteraz tip 5 (PDE 5) inhibitörleri de priapizme neden olabilir. Penisin mesane ve prostat kanserine sekonder metastatik infiltrasyonu da priapizme neden olur.

Tekrarlayan priapizm sıklıkla idiyopatik olan nadir görülen bir durumdur ve patofizyolojisi henüz aydınlatılamamıştır. Tekrarlayan priapizm çocuklarda sıklıkla hematolojik hastalıklar ile ilişkili iken, erişkinlerde ise genellikle idiyopattır(3).

Non-iskemik (arterial, yüksek akımlı) tip, priapizmin daha az görülen tipidir ve düzensiz kavernozal kan akımı nedeniyle oluşmaktadır. Bu tip sıklıkla (Erişkinlerde %82.5 ve çocuklarda %96.1) kavernozal arter veya dallarından birinin korpus kavernozum içine rüptürü sonucu meydana gelmektedir(4). Ayrıca

intrakavernozal tedavi sırasında kavernozal arterin iğne ile laserasyonunun da yüksek akımlı priapizme neden olduğu rapor edilmiştir(5). Travma sonrası, düzensiz arterial akım, direkt olarak lakunar alanlara girmektedir. Kavernozal sinüslerde kan göllenmektedir ancak subtunikal venüllerin kompresyonu tımesansı tamamen önlemek için yeterli düzeyde değildir(6). Bu nedenden dolayı penis erekte ama ağrı ve sertlik yoktur. Kavernozal alanda iskemi olmaz, kavernozal kan gazında hipoksi, hiperkarbi ya da asidoz gözlenmez. Priapizmin bu türünde teşhis sonrası acil tedavi gerekmemektedir.

İskemik priapizm ise tüm priapizm olgularının %95'ini oluşturmaktadır. Yıllık insidansı 100000 erkekte 0,3-1,5 arasında rapor edilmektedir(7). İskemik priapizm, penisin kompartman sendromu şeklinde düşünülebilir. İskemik priapizmde venöz obstrüksiyon ve korpus kavernozum içerisinde staz meydana gelmekte ve sonuç olarak asidik, anoksik, hiperkarbik ve glukopenik bir ortam meydana gelmektedir(8,9).

İskemik priapizm ürolojik acil bir durumdur. İskemik priapizmde oluşan hipoksi ve asidoz 4 saat sonra kavernozal fibrozise neden olmaktadır. İskemik priapizmde, kavernozal düz kasta ultrastrüktürel değişiklikler 12 saat sonra interstisiyel ödem olarak kendini gösterirken, 24 saate kadar sinüzoidal endotel hücre hasarı, bazal membran parçalanması ve trombosit adezyonu görülmektedir. 48 saat sonunda sinüzoidlerde trombüs gösterilirken, fibroblast benzeri hücrelerinde görülmesi düz kas nekrozunun başladığını göstermektedir. Tedavide geç kalınırsa (>24 saat) kavernozal düz kaslarda nekroz, irreversibl korporal fibrozis ve erektil disfonksiyon meydana gelir(10). Uzamış anoksi korporal düz kas kasılmasında anlamlı azalma, düz kas ölümüne ve korpus kavernozumda fibrozise neden olmaktadır. İskemik priapizmin deneysel hayvan modellerinde lipid peroksidasyonunun reaktif oksijen radikalleri tarafından verilen zararın belirleyicisi olduğu, iskemik priapizm süresince ve daha sonrasında hem-oksijenaz üretimini artırdığını göstermişlerdir(11,12).

Yapılan farklı çalışmalarda akut iskemik olaylar sırasında, albuminin metal bağlanma kapasitesinin azalarak, iskemik modifiye albumin (IMA) adıyla bilinen

metabolik bir varyanta dönüştüğü ve serum düzeyinin arttığı ortaya konmuştur(13). Priapizmin sonlanması ile birlikte iskemi reperfüzyon (IR) hasarı meydana gelmektedir(11). 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-b (Transforming growth factor beta) doku onarımında hayati önem taşıyan bir sitokindir. TGF-b'nın up-regülasyonu hipoksi sırasında oksidatif strese yanıt olarak ortaya çıkmaktadır(14). 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(15).

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(16,17).

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(18). Plazma antioksidan bileşenlerinin antioksidatif etkisi olduğu için toplam antioksidan kapasite ölçümü (TAS) plazma antioksidan durumu yansıtır. Bu nedenle oksidatif metabolizma ve önerilen hastalıklar arasında belirli bir ilişki ararken toplam oksidan kapasitesi (TOS) ve toplam antioksidan kapasitesi (TAS) değerlendirilmesi esastır(19).

Bu çalışmada toplam antioksidan kapasite düzeyleri için toplam oksidan seviye düzeyi yüzde oranı oksidatif stres indeksi (OSI) olarak değerlendirilecektir(20). OSI değeri ise aşağıdaki gibi hesaplanacaktır.

$$OSI = [(TOS, \mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{equivalent/L}) / (TAS, \mu\text{mol Trolox equivalent/L}) \times 100]$$

Enzimatik olmayan antioksidanlardan olan Glutasyon, hücrenin redoks durumunu korumada, detoksifikasyon sisteminin çalışmasında, eikosanoidlerin sentezlenmesinde, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptoziste de antioksidan olarak faaliyet gösterir. Glutasyon, glutasyon peroksidaz (GSHPx)'in katalitik etkisiyle lipid peroksitleri ve hidrojen peroksit (H_2O_2)'i detoksifiye eder ya da süperoksit (O_2^-) ve hidroksil (OH^-)'i temizler. Ayrıca Glutasyon S-Transferaz (GSH) plazma membranından aminoasit transportunu sağlar, bazı önemli antioksidanları yeniden oluşturur. Vitamin E ve vitamin C, GSH tarafından düzenlenir. Guanin, Deoksiribonükleik asit (DNA) bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olan ve oksidasyona en yatkın olan bazdır. Modifiye bir baz olan 8- hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), reaktif oksijen türlerinin DNA'da yaptığı 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününden biri olup, guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları sonucu oluşan, oksidatif DNA hasarının duyarlı bir göstergesidir. Bu nedenle 8-OHdG ölçümü, DNA'daki oksidatif hasarın doğrudan göstergesi olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarını belirlemede en sık kullanılan yöntem olarak uygulanmaktadır(21).

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^- radikale dönüşür ve ortama salınır(22,23).

Endoplazmik retikulum (ER) şaperonları, ER'nin normal işlevi için gereklidir(24). En iyi karakterize edilmiş ER şaperonlarından biri, Binding immunoglobulin protein (BIP) veya Heat Shock Protein Family A (Hsp70) Member 5 (HSPA5) olarak da adlandırılan 78-kDa ağırlığındaki glikoz regüle proteindir

(GRP78). GRP78, yeni sentezlenen polipeptitlerin ER zarı boyunca yer değiştirmesini, proteinlerin katlanmasını ve birleştirilmesini kolaylaştıran, ER-ilişkili degradasyon (ERAD) ile yanlış katlanmış proteinleri hedefleyen, kalsiyum homeostazını düzenleyen ve bir ER stres sensörü olarak hizmet eden birçok hücrel süreçte yer alan bir proteindir(25–27). GRP78, antiapoptotik özelliklere sahip büyük bir ER şaperon rolü ve katlanmamış protein cevabı (UPR) sinyal aktivasyonunu kontrol etme yeteneği gibi nedenlerden dolayı ER stresi için ana düzenleyicidir(26). Aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (ATF6), normal koşullarda ER membranında GRP78 ile beraber inaktif ve yoğun bir şekilde bulunmaktadır. ER stresi oluşumu durumunda yani lümende birçok katlanmamış protein bulunduğu; GRP78 lümene katlanmaya yardımcı olmak için gönderilirken, ATF6 ise uyarılarak post transkripsiyonel modifikasyona uğramak için golgi kompleksine göç eder. Kısaca Golgi kompleksinde kırılarak aktifleşen ATF6 sitozolde serbestleşir ve nukleusa geçerek UPR’de görevli genlerin ekspresyonunu uyarır(28). Golgiye post transkripsiyonel modifikasyon için gönderilen ATF6, site1 proteazla (S1P) etkileşerek kırılmaya uğrar. Daha sonra site2 proteaz (S2P) tarafından kırılan ATF6 nukleusa gönderilir. GRP78, GRP94 gibi ER şaperonlarının ekspresyonunu artırır. Sonuç olarak bu yolak sayesinde, bu şaperon proteinlerin sentezi artırılır ve ER katlama kapasitesi yükselerek strese karşı korunma sağlanmaya çalışılır(29–31).

GRP78 ekspresyonunu bloke ederek tümör hücrelerinin sağkalımını azaltmak oldukça istenilen bir durum olmasına rağmen klinikte henüz başarılamamıştır. Esasında, ER stres yanıtı "yin ve yang" prensibi olarak görülebilir. Sağkalım (yang) GRP78 ve ölüm (yin) CHOP (C/EBP homolog protein), ER stres yanıtın anahtar zıt temsilcileridir(32). Pek çok tümör hücre hattı ve tümör dokusunda GRP78 seviyesi artarken, CHOP 'un eksprese olmadığı görülmüştür. Günümüzde GRP78 ve CHOP ekspresyon seviyeleri, ER stresinin akut ve kronik fazını ayırt etmede gerekli markerlar olarak sıklıkla kullanılmaktadır(33).

Hastalıkların tedavisi için çeşitli farmakolojik ajanlar geliştirilmiş olmasına rağmen şifalı bitkilerin kullanımı artarak devam etmektedir(34). Genel olarak bitkilerde bulunan bazı biyoaktif bileşikler, hücrelerin oksidatif strese karşı serbest

radikallerin engellenmesini veya detoksifikasyonunu sağlamak ve çeşitli işlev bozukluklarının önlenmesine yardımcı olmaktadır(35). Berberin (C₂₀H₁₉NO₅, BBR) bir izokinon kuaterner alkaloid olup, *Hydrastis canadensis*, *Berberis aristata*, *Coptis chinensis*, *Coptis rhizome*, *Coptis japonica*, *Phellodendron amurense* gibi birçok şifalı bitkiden izole edilebilir(36). Gastrointestinal rahatsızlıklar, inflamasyon, hiperlipidemi ve geleneksel tıpta insülin direnci gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılır(37). Birbirinden farklı raporlar antihipertansif, antiaritmik, antihiperglisemik, antikanserojen, antidepresan, anksiyolitik, nöroprotektif, antioksidan, antiinflamatuvar, analjezik ve hipolipidemik gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir(36–38). Günümüzde, berberin mükemmel biyolojik aktivitesi nedeniyle araştırmacılardan daha fazla ilgi görmektedir. Bu nedenle berberinin biyolojik aktiviteleri ile ilgili bilimsel çalışmalar her yıl artmaktadır(39).

Günümüzde yapılan çalışmalar, BBR'nin dokular üzerinde I/R hasarına karşı koruyucu etkilerini ortaya koymaktadır. Sheng ve ark., sıçanlarda yaptıkları I/R modelinde oksidatif stres ve apoptoz seviyesini karşılaştırarak, BBR'nin karaciğer fonksiyonunu önemli ölçüde düzelttiğini, histopatolojik hasarı azalttığını raporlamışlardır. MDA artışı ile SOD aktivitesinin belirgin şekilde engellenmesi gibi, BBR tedavisinin etkinliğini gösteren benzer çalışmalara da rastlanmıştır (37). Son zamanlarda, Zheng ve ark., BBR'nin sıçanlarda renal I/R hasar modelinde apoptozis ve oksidatif stres inhibisyonu ile böbrek fonksiyonlarını iyileştirdiğini raporlamışlardır(40). Bununla birlikte BBR'nin akut iskemik priapizm modelinde etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

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 berberinin iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olası koruyucu etkilerinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesini amaçlıyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

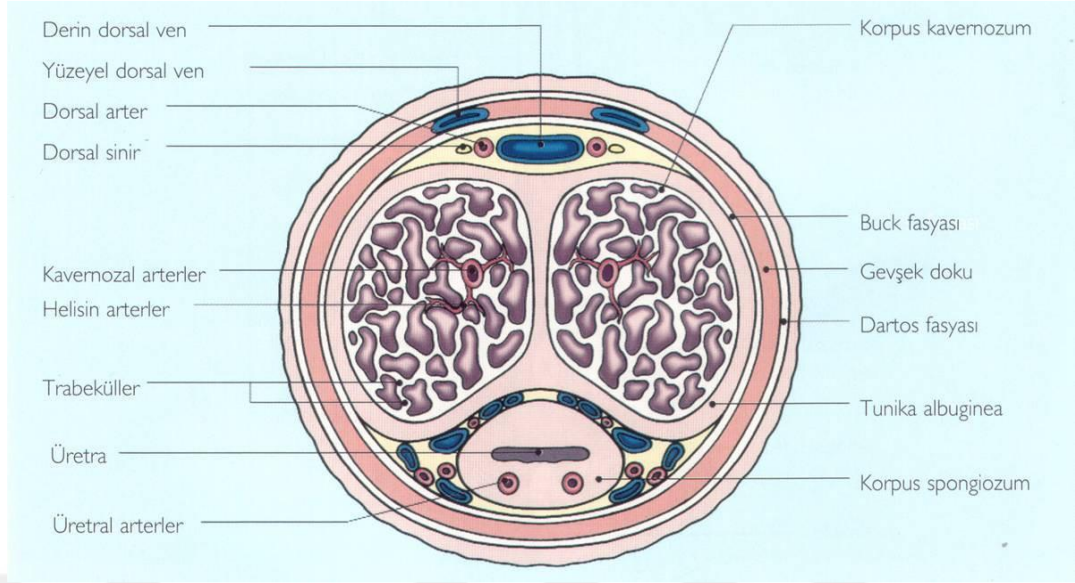
2.1. Penis Anatomisi

Penis; erkeklerde anatomik ve fizyolojik olarak genitoüriner sistemin son parçasıdır. Flask haldeki uzunluğu erektil düz kasın kontraksiyonuyla kontrol edilir, sıcaklık ve emosyonel duruma bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik gösterir. Penis boyu flask halde ortalama 8-10 cm, erekte halde 12-14 cm civarlarındadır.

Serbest olarak skrotum üzerinde bulunan korpus penis ve perinede yer alan dıştan izlenmeyen radiks penis olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. Penis; glans penis, distal üretranın 2/3'ü, bir çift korpus kavernozum, korpus spongiozum, iskiokavernoz ve bulbospongioz kasları içermektedir(41). Penis tabakaları dıştan içe doğru; deri, süperfisiyal tabaka (dartos tabakası), buck fasyası, tunika albuginea, korpus kavernozum ve korpus spongiozumdan oluşmaktadır.

2.1.1. Korpus Kavernozum

Penil ereksiyondan sorumlu ana yapılar kavernöz cisimlerdir. Korpus kavernosumlar iki adet olup, pubik kemiğin altında iki ayrı krus şeklindeyken distalde birbirine yapışık olarak ilerler. Her bir krus, iskion pubisteki tuberositas iskii üzerine yapışıktır. Korpus kavernosumları fikse eden ikinci yapı ligamentum suspensoryumdur. Simfisis pubis ile kavernöz cisimler arasında bulunur. Flask haldeki penis ereksiyon haline gelirken korpus kavernosumda çok fazla sayıda bulunan sinüzoidler kanla dolar. Endotel ile döşeli olan sinüzoidler, gevşek bağ dokusu ve düz kas trabekülleri ile çevrilidir, nörojenik uyarılara duyarlı kontraktıl yapılardır (Şekil 2.1). İki korpus kavernoza ayıran septumdaki fenestrasyonlar, karşılıklı sinüzoidler arasında kan geçişini sağlar(41).



Şekil 2. 1 Penisin enine kesiti(42)

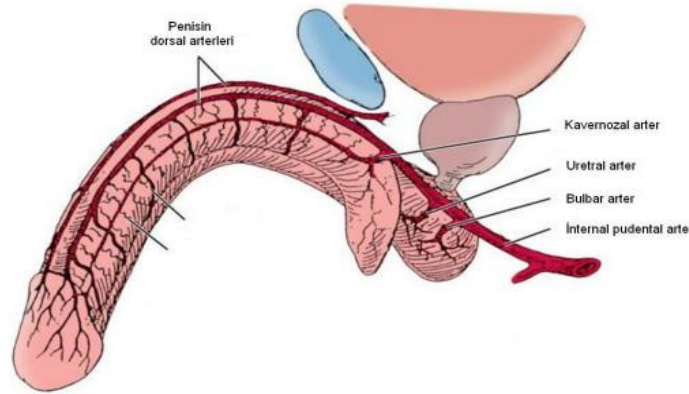
2.1.2. Korpus Spongiozum

Penisin 1/3 ventralinde bulunan iki kavernoza cisim arasında oluşan oluk içinde yer alan tek bir yapıdır. Distal üretranın 2/3'ünü kapsar. Korpus spongiozumun uç bölümü konik şekilli bir genişleme gösterir. Genişleyen bu bölüm glans penis adını alır. Korpus spongiozum da dıştan tunika albuginea ile sarılmıştır. Bu kılıf elastik liflerden oldukça zengindir. Bu nedenle penisin ereksiyonuna önemli katkısı mevcut değildir(41).

Penis derisi koyu renkli ve incedir. Deri altında yağ dokusu bulunmaz. Penisin fascia penis superficialis ve profundus olmak üzere iki fasciası vardır. Superficial fascia, skrotumdaki yüzeysel fascia ile devamlıdır. Fascia penis profunda (Buck fasciası) tunika albuginea ile superficial fascia arasında bulunur ve korpus penisi bir kılıf şeklinde sarar ve önde glans penise kadar devam eder. Buck fasyası, dorsalde her iki kavernoza yapıyı çevreler ve önde spongiosumu çevrelemek için ayrılır. Rectus shaftından gelen elastik ve kollajen lifler Buck fasyası ile karışarak, penisin fundiform ligamenti olarak devam ederler. Pubisten gelen derin lifler penisin suspensuar ligamentini oluşturur. Perinede buck fasyası tunika albuginea ile distalde ise koronada glansın tabanı ile birleşir(43). Temel fonksiyonu tunika albugineayı pubise tutturmak ve penisin hareketli kısmını desteklemektir.

2.1.3. Penisin Arteriyel Dolaşımı

Eretil dokunun ana arteri, internal iliak arterin terminal dalı olan internal pudental arterdir. Her iki tarafta internal pudental arterler penis köküne girmeden önce birer perineal, bulber ve küçük üretral dal verirler ve penil arter olarak devam ederler. Penil arterler, penis kökünde dorsal penil arter (DPA) ve kavernoöz arter olmak üzere ikiye ayrılır. DPA'lar primer olarak glans ve penis derisini kanlandırırlar. DPA'lar ile kavernoöz arterler arasında sık anastomozlar bulunur. DPA, penisin dorsal yüzünde glansa doğru uzanır ve glansta kısa helisin arterler halinde son bulur. Normal durumlarda her kavernoöz cisim kendi kavernozaal arteri ile beslenir. Kavernozaal arterler her bir kavernoöz cismin ortasında ya da mediale doğru hafifçe ekzantrik yerleşim gösterirler ve sinüzoidal boşluklara küçük dallar verirler. Eretil doku kan akımının asıl kaynağı kavernozaal arterlerdir(41). Bununla birlikte penil arteriyel anatomide anlamlı varyasyonlar bulunabilir.



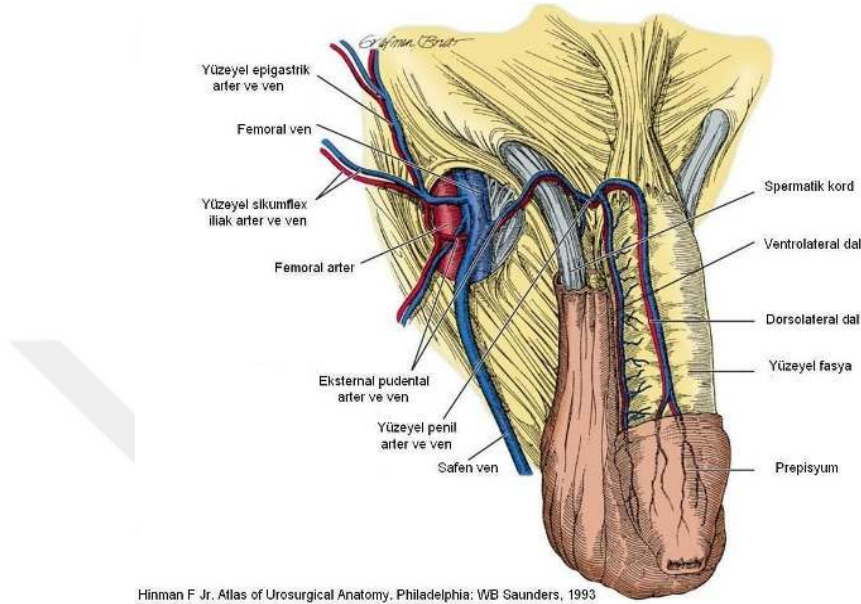
Redman JF. Anatomy of the genitourinary system. In: Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS, Duckett JW (eds). Adult and Pediatric Urology, 2nd ed. St. Louis: Mosby Year Book, 1991, pp. 3-62

Şekil 2. 2. Penisin arteriyel dolaşımı

Bookstein ve Leng, eretil disfonksiyonlu 25 hastada yaptıkları bir araştırmada, olguların %80'inden fazlasında klasik anatomiden farklı önemli varyasyonlar saptamışlardı(44). (Şekil 2.2 ve Şekil 2.3)

2.1.4. Penisin Venöz Dolaşımı

Penisin arteriyel beslenmesi gibi venöz dönüşü de zengin damar ağına sahiptir. Peniste venöz drenaj derin, orta seviye ve yüzeyel olmak üzere 3 seviyeden gerçekleşir.



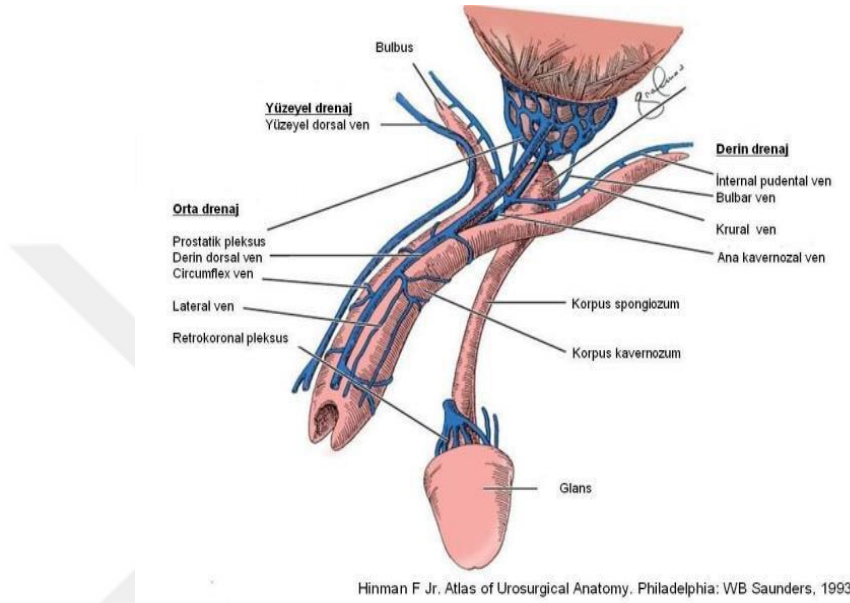
Hinman F Jr. Atlas of Urological Anatomy. Philadelphia: WB Saunders, 1993

Şekil 2. 3. Penisin yüzeyel arter ve venleri

Prepisyumun ve glansın periferal kısmının venöz drenajı yüzeyel dorsal vene olur. Bu ven de vena pudenda eksternalise drene olur. Korpus kavernosumlardan ve korpus spongiosumdan köken alan sirkumfleks venler penis shaftının 1/3 proksimal kesiminin sonunda derin dorsal vene drene olmaktadır. Penis shaftının sadece distal 2/3'lük kesiminde bulunan bu venlerin sayısı 3 ile 10 arasında değişmektedir. Glansın taban kısmında multipl venöz dallar toplanarak derin dorsal veni oluşturur ve penisin asıl venöz drenajını sağlayan bu damar korpus kavernosumların superiorunda bulunan olukta seyrederek(45). Proximale doğru ilerleyip preprostatik venöz pleksusa drene olur. Penisin proksimal 1/3'lük kısmında sayıları 2 ile 5 arasında değişmekte olan kavernoöz venleri oluşturmak üzere emisser venler dorsomedial yüzeyde birleşirler. Kavernoöz venler internal pudendal vene drene olmaktadır. Penisin yüzeyel kısmının venöz kanı eksternal pudendal venler aracılığıyla eksternal iliak vene drene olur. Kavernoöz yapıların venöz kanı preprostatik pleksus ve internal venler aracılığıyla internal iliak vene olur.

2.1.5. Penisin Lenfatik Drenajı

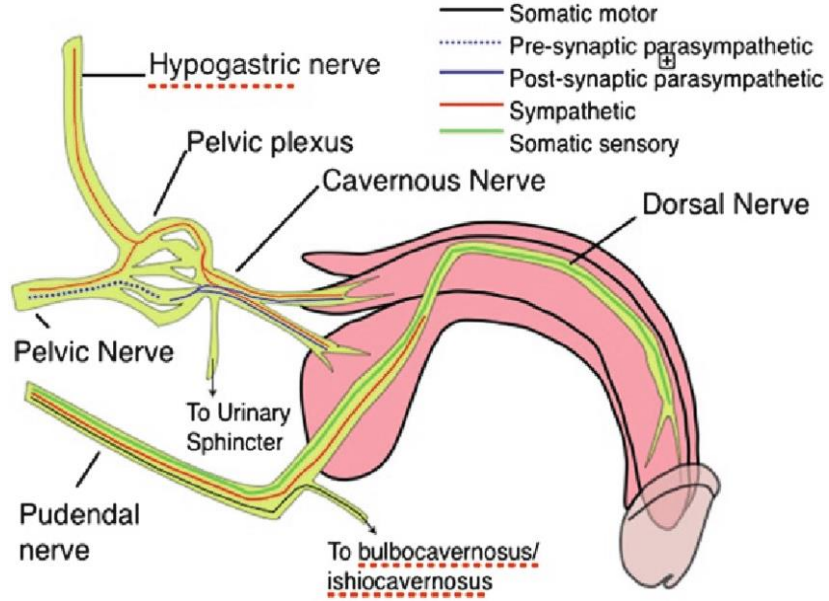
Penil cildin lenfatik drenajı superfisiyal inguinal ve subinguinal lenf nodlarına, glans ve distal üretranın lenfatik drenajı subinguinal ve eksternal iliak lenf nodlarına, derin lenfatikler ise hipogastrik ve ana iliak lenf nodlarına drene olur (46).



Şekil 2. 4. Penisin venöz drenaj sistemi (Yüzeyel, orta ve derin venler)

2.1.6. Penisin İnnervasyonu

Penisin innervasyonu iki önemli sinir grubu aracılığı ile olmaktadır. Bunlardan ilki pleksus pudendalis'in dalı olan N.pudendus'tur. S1, S2, S3, S4 medulla spinalis segmentlerinden çıkar. N.pudendus pelvis tabanı kaslarına motor dallar verdikten sonra penisin “sulcus dorsalis” inde A.dorsalis penis ile birlikte N.dorsalis penis olarak uzanır. N.dorsalis penis, glans penis ve penis derisinden duyu alır. (Şekil 2.5.)



Şekil 2.5. Penisin innervasyonu(47)

İnervasyondan sorumlu diğer sinir “N.corporis cavernosi penis majör” ve “N.corporis cavernosi penis minör” dür. Abdominal sempatik zincirden çıkan lifler sırayla plexus mesentericus inferior (plexus submesentericus), plexus hypogastricus superior (Laterjet siniri veya N.presacralis), N.hypogastricus yoluyla plexus hypogastricus inferior'a (pleksus pelvici veya pleksus pelvinus) ulaşırlar. Bu lifler T10, T11, T12, L1, L2 kaynaklı sempatik liflerdir. Bu pleksusa gelen parasempatik lifler ise S2, S3, S4'ten çıkan Nn.splanchnici pelvici (Nn.erigentes veya Eckhardt siniri) aracılığı ile gelir (48).

2.2. Penisin Histolojisi

Penis başlıca üç silindirik erektile doku kitlesi ve üretrayı içermekte olup dıştan deri ile sarılmıştır. Bu silindirlerden ikisi penisin korpus kavernozumları olarak adlandırılır ve dorsal olarak yerleşmiştir. Üretranın korpus kavernozumunu ya da korpus spongiosum olarak adlandırılan üçüncü silindirik kitle ventral olarak yerleşmiştir ve üretrayı çevreler. Bu yapı en sonunda genişleyerek glans penisini oluşturur. Penil üretranın büyük bölümü yalancı çok katlı silindirik epitelle döşelidir. Glans peniste bu epitel çok katlı yassı epitele dönüşür. Mukus salgılayan Littre bezleri penil üretra boyunca uzanır.

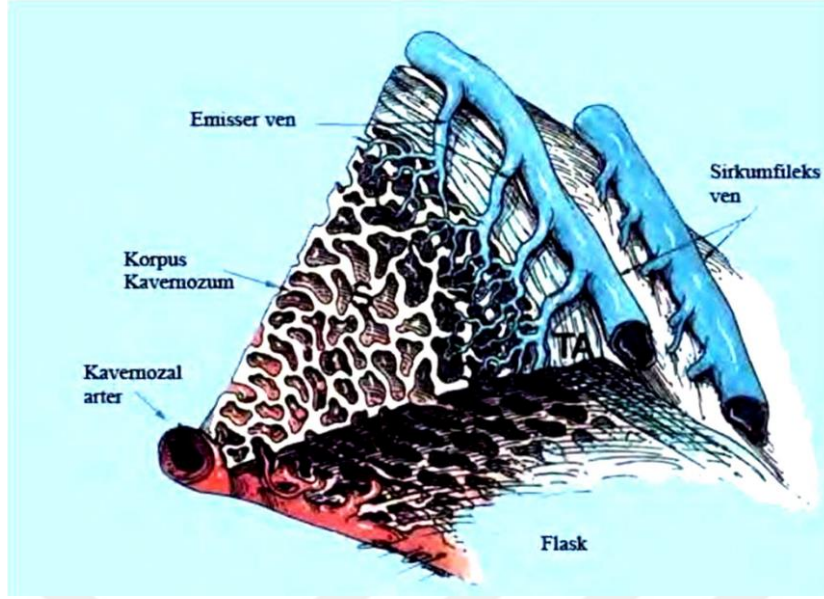
Prepisyum içinde düz kas lifleri ve bağ dokusu içeren geriye çekilebilir (retraktıl) bir deri katlantısıdır. Glansı çevreleyen deride ve katlantı içinde yağ bezleri bulunur.

Korpus kavernozumlar, tunika albuginea denilen ve sıkı bağ dokusundan oluşan dayanıklı bir katman ile örtülüdür. Korpus kavernozumlar erektıl dokudan oluşur. Erektıl doku, endotel hücreleri ile döşeli ve bağ dokusu lifleri ile düz kas hücrelerinden oluşan trabekülalarla ayrılan çok sayıda venöz boşluklar içerir(49). (Şekil 2.1)

2.3. Ereksiyon Fizyolojisi

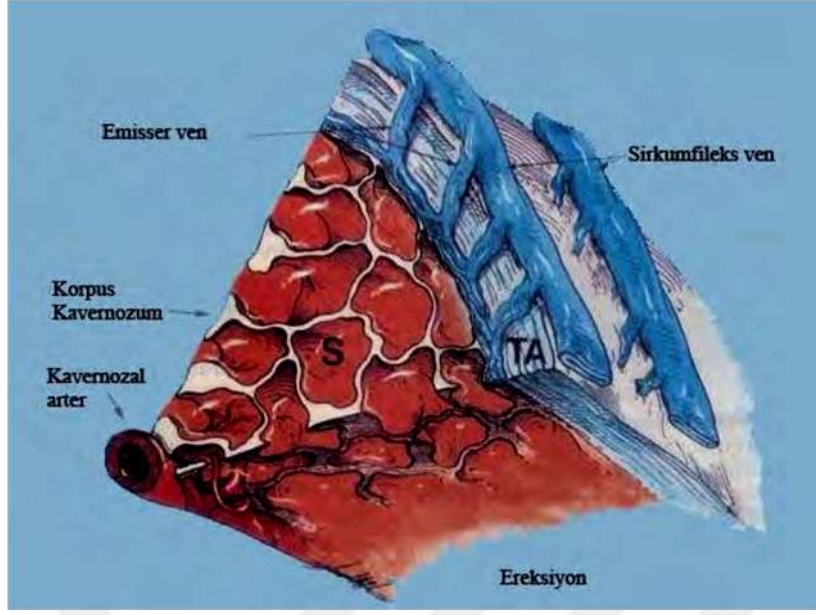
Erkeklerde seksüel aktiviteyi başlatan duyuşal uyarıların en önemli kaynağı glans penistir. Penil ereksiyon, seksüel ya da taktıl uyarıların neticesinde sinir sistemi (merkezi, spinal ve periferik) ve vasküler endotel, kavernoöz arterioller, venüller, sinüzoidal düz kasların birbiriyle olan karmaşık etkileşimleri sonucu gerçekleşir (50). Seksüel duyumlar pudental sinir yoluyla sakral pleksusa gider, oradan medulla spinalisin sakral bölümüne ulaşır ve omurilikten üst bölgelere iletilir. Kişide seksüel aktivite yeteneğı, uygun psişik uyarıların artabilir. Noktürnal emisyon birçok erkekte seksüel yaşamın belli dönemlerinde, özellikle pubertede uyku sırasında görölmektedir(51).

Omuriliğın sakral bölgesinden kaynaklanan pelvik sinirlerle penise ulaşan parasempatik uyarılarla ereksiyon oluşur. Ereksiyon seksüel uyarı sonucu ortaya çıkan ilk etkidir. Bu parasempatik sinir liflerinden, diğeri parasempatik sinir liflerinin aksine, asetilkolin yerine nitrik oksit salgılanmaktadır. Ereksiyonun derecesi, psişik ya da fiziksel uyarılmanın şiddetine bağılıdır. Penis flask halde iken, düz kaslar orta derecede kontraksiyonda bulunur, böylelikle kavernosumlara metabolik etkinlik için gerekli düşük orandaki arteriyel akım sağlanmış olur. Sattar ve ark. yaptığı bir çalışmaya göre bu düzeyde parsiyel oksijen basıncı yaklaşık 35 mmHg'dır (52). (Şekil 2.6)



Şekil 2. 6. Flask haldeki korpus kavernozum(42)

Seksüel uyarı ile kavernozaal düz kasların gevşemesini sağlayacak olan nörotransmitter salınımı kavernozaal sinir uçlarında gerçekleşir. Arter ve arteriol dilatasyon ile kavernozaal kan akımı artar (Penisin boyu uzaması sebebiyle intrakavernozaal basınç artmamıştır)(53). Sinüzoidal düz kaslar gevşediği için sinüzoidlerin içerisine rahatlıkla kan hapsolür. Subtunikal venöz pleksus, tunika albuginea ve periferal sinüzoidler arasında kompresyona uğrar ve böylelikle venöz dönüş yavaşlar. Tunika albuginea maksimum gerilme kapasitesine ulaştığında iç sirküler ve dış longitudinal tabaka arasındaki emisser venlerin oklüzyonu ile venöz dönüş en düşük seviyeye geriler. Yaklaşık 90 mm Hg düzeyine kadar çıkan oksijen basıncı ve yaklaşık 100 mm Hg düzeyine kadar çıkan intrakavernozaal basıncın etkisi ile penis ereksiyon halini alır (Tam ereksiyon fazı). Basıncın daha da artmasını (100 mm Hg'nın birkaç katı) sağlayan iskiokavernöz kas kasılması gerçekleşir. Bu fazda penise kan akımı ve venöz drenaj olmaz, priapizmin kısa fizyolojik bir örneği gerçekleşmiş olur(53) (Rijid ereksiyon fazı). (Şekil 2.7)



Şekil 2. 7. Erekte durumdaki korpus kavernozum(42)

Parasempatik uyarılar ereksiyon oluşturma yanında, üretral ve bulboüretral bezlerin mukus sekresyonuna neden olurlar. Bu mukus sıvısı cinsel birleşme sırasında lubrikasyon ile koitusa yardımcı olur.

Ereksiyon böylece sinüzoidal gevşeme, arteryel genişleme ve venöz sıkışmayı içerir. Fakat korpus spongiosum ve glans penisteki hemodinamik olaylar korpus kavernozumlarda meydana gelenlerden biraz daha farklıdır. Ereksiyonda, arteryel kan akımı aynı şekilde artar; bununla birlikte korpus spongiosum ve glanstaki basınç tunikanın özelliğinden dolayı (korpus spongiosumun üzerindeki ince ve glansta ise yok) venöz tıkanmanın minimal olması nedeniyle korpus kavernozumlardakinin sadece üçte biri ile yarısı arasındadır(43).

2.4. Priapizmin Fiziopatolojisi

Priapizm, seksüel uyarı olmadan 4 saatten uzun süren istemsiz ereksiyon olarak tanımlanan ürolojik acil bir patolojidir. Priapizm etyoloji ve klinik gidişine göre iskemik (veno-okluzif, düşük akımlı), non-iskemik (yüksek akımlı) ve tekrarlayan (intermittan) priapizm şeklinde sınıflandırılır(54). Vücuttaki tüm düz kaslar istirahatte relaksasyon, fonksiyonel durumda kontraksiyon halinde bulunurlar. Bu durumun tek istisnası penistir. Penil düz kaslar istirahat halinde yani günün

yaklaşık 23 saatinde kontrakte şekilde bulunurlar. Ancak penisin fonksiyonel olarak aktif hali olan ereksiyonda, düz kaslar relaksasyona uğramaktadırlar. Dolayısıyla peniste gerek tūmesans, gerekse detūmesans oluşmasında penis düz kas fonksiyonu etkin rol oynamaktadır. Pek çok mekanizmalarla regüle edilen penil düz kas tonusunda, kontraksiyona eğilimin artması erektil disfonksiyonla, relaksasyona eğilimin artması priapizmle sonuçlanabilmektedir(55).

Kavernozal düz kaslarda relaksasyon sağlayan başlıca yollar; nitrik oksit-siklik guanozinmonofosfat (NO-cGMP) yolağı, adenosin 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. Bundan dolayı priapizm etyopatogenezinde penis düz kas dokusunda kontraksiyonda etkin olan mekanizmalar azalmış, relaksasyonda etkin olan mekanizmalarda ise artmış bir fonksiyon beklenmektedir(4,15,56).

2.4.1. Kavernozal Düz Kas Relaksasyonunda Artışa Yol Açan Mekanizmalar

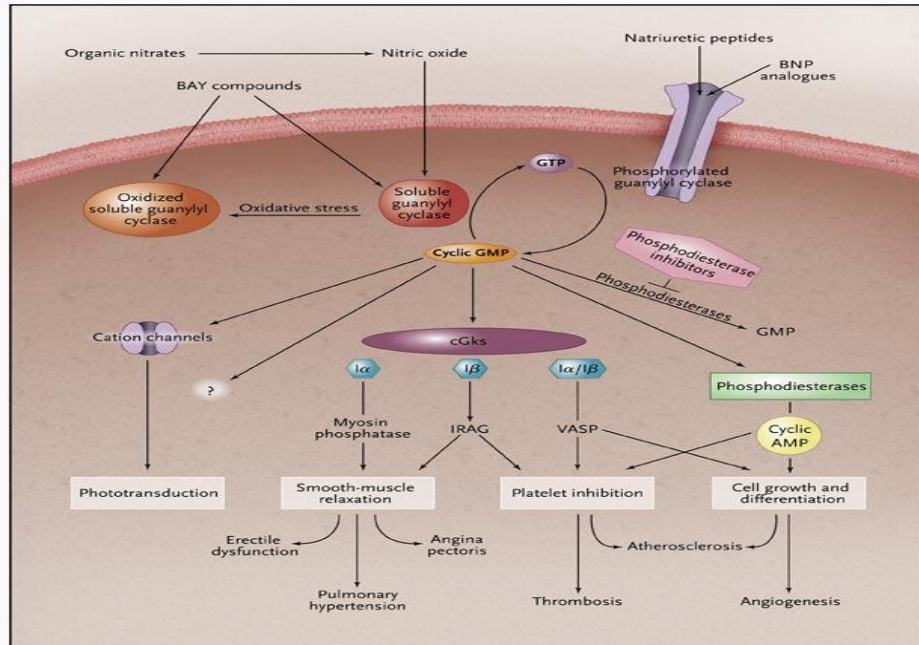
NO-cGMP yolağı:

Ereksiyonda etkin olan en önemli mekanizma non-adrenerjik, non-kolinerjik NO-cGMP yolağıdır. Kavernozal düz kasın gevşemesi (tūmesans) 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 indüklenabilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) olmak üzere üç formda bulunmaktadır. Korpus kavernozumda her üç tipte 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 proteinkinaz G ile bir kompleks oluşturarak bir taraftan endoplazmik retikulumu 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 tümşans ortaya çıkar.(Şekil 2.8) Uzamış istemsiz ereksiyon olarak tanımlanan priapizm patofizyolojisinde, ereksiyondaki normal düz kas fonksiyonunu sağlayan NO-cGMP yolağının değişen etkinliğinin rol oynayabileceği bildirilmiştir(57). 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(58).

Adenozin yolağı:

Adenozin, ATP'den sentezlenen ve pek çok metabolik olayda rol alan bir moleküldür. Özellikle hipoksi durumunda, artan oksijen ihtiyacına karşılık bir savunma mekanizması olarak vasküler dokularda kontraksiyon ya da relaksasyon yaparak önemli bir rol oynamaktadır.



Şekil 2. 8. NO-cGMP Yolağı (Asetilkolin, endotel ve sinir hücrelerinden nitrik oksit sentetaz (NOS) salınımını uyarır. Sentezlenen NO, düz kas hücresi içine diffüze olarak soluble guanilat siklaza (sGC) bağlanır ve GTP'den cGMP oluşumunu sağlar. cGMP ise PKG (protein kinaz G) üzerinden intrasellüler Ca^{++} düzeyini düşürür. Sonuçta korpus kavernozumdaki düz kas gevşeyerek tümşans ortaya çıkar.)(59)

Dolayısıyla iskemik bir kompartman sendromu olan priapizmde, adenozinin de etkin olabileceği bildirilmiştir(60). Hipoksik ortamda, artan oksijen ihtiyacına bağlı olarak ekstrasellüler 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(60). Adenozin fizyolojik etkilerini A1, A2, A3 reseptörleri üzerinden yapmaktadır. A2 reseptörü G5 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 G1 ve G0, A3 reseptörü ise G1 ve Gq proteinlerine bağlanarak, ATP'den cAMP oluşumunu aktive eden adenilat siklazı inhibe etmekte ve azalan cAMP düz kasta kontraksiyona eğilimi arttırmaktadır(61,62).

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-adenozinhomosistein hidrolaz (SAHH) aracılığıyla da adenzinhomosisteine metabolize olmaktadır(60). Priapizm patofizyolojisinde iskemiye bağlı olarak adenozin sentezinde artış ve/veya yıkımında azalmanın olası etkenlerden biri olabileceği bildirilmektedir. Wen ve arkadaşları deneysel priapizm modellerinde adenozin deaminaz (ADA) enzim defektine bağlı olarak, adenozin seviyesinde artış olduğunu ve artan adenozin seviyesine bağlı olarakta, A2B reseptörlerinin uyarılmasıyla priapizm ortaya çıktığını belirlemişlerdir. ADA enzim defekti olan orak hücre anemili ratlara, polyethylene glycol–modified adenozin deaminaz (PEG-ADA) uygulanması sonucuda, adenozin seviyesinin azalmasına bağlı olarak priapizm ataklarının engellenebileceği saptanmıştır(60).

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(63). Heme proteini, endotel ve düz kasta bulunan hemoksijenaz (HO) enzimi aracılığı ile yıkılmaktadır. Hemoksijenaz enziminin HO-1, HO-2 ve HO-3 olmak üzere 3 izoformu bulunmakla birlikte insanlardaki en önemli izoform HO-1'dir. Hipoksi, stres ve reaktif oksijen ürünlerinin varlığında HO-1 düzeyi artmakta ve HO-1 heme proteinini yıkarak CO, Fe(II) ve biliverdinin açığa çıkmasına neden olmaktadır(63). Oluşan CO, NO benzeri bir gazotransmitter olup bazı hücrel fonksiyonları regüle etmektedir. Ancak CO yarı ömrü NO'e oranla oldukça kısadır. İskemi sonucu artan HO-1 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(12). Ayrıca CO ile NO arasında da çeşitli feedback mekanizmalarıyla karşılıklı etkileşim söz konusudur(63). Deneysel priapizm modellerinde artmış HO-1-CO etkinliğinin geç dönem priapizmde rol oynayabileceği bildirilmiştir(63). 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(64). Artmış olan bu HO-1 aktivitesinin de, kavernoza dokuda yüksek oranlarda ortaya çıkarttığı CO'nun, priapizmin geç dönemlerinde etkin olabileceğini bildirmişlerdir(64). 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(64). Ünüş ve arkadaşları deneysel priapizm modellerinde, Zn-protoporfirin'in kavernoza

düz kas kontraksiyonunu arttırdığını belirlemişlerdir(65). 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 (PDE1-PDE11) bulunmaktadır(66). Bunlardan PDE5, PDE6 ve PDE9 cGMP için spesifiktir.

Peniste PDE6 dışında tüm PDE'ler tespit edilmiştir ancak daha etkin olan izoenzim PDE5'tir. Dolayısıyla penil düz kas relaksasyon ve kontraksiyon regülasyonunda cGMP kadar PDE5 enzimi de etkin rol oynamaktadır. PDE5 sentez veya fonksiyonel disregülasyonlarının erektil disfonksiyon veya priapizmde etkin olabileceği bildirilmiştir(67).

PDE5 enziminin fonksiyonel aktivasyonunda, PDE5 enziminin fosforilasyonu önemli rol oynamaktadır. Ayrıca cGMP'nin allosterik bölgeye bağlanmasının, PDE5 katalitik etkinliğini on kat arttırdığı bildirilmiştir. Bunun yanında PDE5 enziminin deaktivasyonu, protein fosfataz 1 (PP1) enzimi tarafından defosforile edilerek ya da caspase 3 enzimi tarafından hidrolize edilerek gerçekleştirilmektedir(67).

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 noktörmal penil tümörsans gibi fizyolojik süreçlerde, kavernoza dokularda disregüle halde bulunan PDE5 tam etkinlik gösterememekte ve artmış bir vazodilatasyon sonucu uzamış ereksiyon ortaya çıkmaktadır(68). Burnett ve

arkadaşları 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(69).

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(70). 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 uyarak 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(71). Priapizm patogeneğinde 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(72). 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(72).

Endotelin Etkinliği:

Endotelin, endotel hücrelerinden salgılanan vücudun en güçlü vazokonstriktör maddelerinden biri olup, endotelin dönüştürücü enzim tarafından pre-pro ET-1'den sentezlenen 21 amino asitli bir peptiddir(73). 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 endotelyal hücrelerde bulunur ve NO, PGI₂ üretimini artırmak yoluyla vazodilatasyona ve antiproliferatif etkilere yol açar(74–76). 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 kavernoza düz kaslarda oluşan iskemi neticesinde ET1'in ETB reseptörleri üzerinden düz kas relaksasyonu yapması, ereksiyonun uzamasında etkin olmaktadır(77).

Ünüş ve arkadaşları oluşturdukları deneysel priapizm modelinde, non-selektif endotelin reseptör blokleri olan Bosentan'ın artan dozlarda, artan oranlarda kavernoza düz kas kontraksiyonunu arttırdığını saptamışlardır(65). Artmış kavernoza düz kas kontraksiyonunun, ET1'in hipoksi nedeniyle ön planda uyardığı ETB reseptörlerinin bloke edilmesi sonucu ortaya çıktığını bildirmişlerdir(65).

2.5. İskemi ve Reperfüzyon

2.5.1. Mekanizmalar

Organ veya dokulara giden kanın herhangi bir nedene bağlı olarak belirgin şekilde azalması veya tamamen kesilmesi sonucunda perfüzyonunun bozulmasına iskemi denir. İskemiye uğrayan dokunun belirli bir süre oksijenden yoksun kalması, doku hasarı veya doku nekrozu ile sonuçlanır. Kan akımının iskemi sonrasında yeniden sağlanması ise reperfüzyon olarak adlandırılır ve iskeminin neden olduğu hasarın genişlemesine yol açar. Bu durum genel olarak İskemi-Reperfüzyon (IR) hasarı olarak adlandırılır.

“Oksijen paradoksu” olarak da bilinen IR hasarının biyokimyasal mekanizmalarının anlaşılması klinikte doku hasarını azaltacak yeni tedavi seçeneklerinin ve prosedürlerinin geliştirilebilmesi açısından oldukça önemli bir role sahiptir(78). Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücresel yapılar, zar lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir(79,80).

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(81,82).

İskemik dönemde dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve adenozin 5'-trifosfat ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır(83). 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(84). Hasarlanan endoplazmik retikulum da hücre içine kalsiyum salınımına yol açarak kalsiyum artışına katkıda bulunur(85). Sonuçta hücre içinde Na^+ ve Ca^{+2} iyon konsantrasyonları artar. Hücre içinde Ca^{+2} iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir(86).

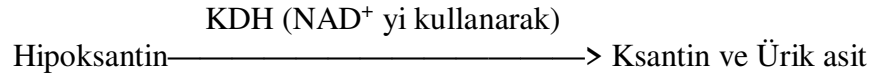
İntraselüler kalsiyum artışı, kalsiyum bağımlı sitozolik proteazları aktive eder. Proteazların aktivasyonunun artmasıyla hücre içi hipoksantin dehidrogenaz enzimini ksantin oksidaza dönüştürür(87). Ksantin oksidaz ise reperfüzyonla gelen oksijeni oksidan olarak kullanır ve hipoksantini önce ksantine ve sonra ürik asite dönüştürür. Son iki basamakta ürün olarak reaktif oksijen türlerinden O_2^- oluşur.

Normal fizyolojik koşullarda oluşan O_2^- , SOD ile önce hidrojen peroksite, sonra katalaz etkisi ile suya dönüşür.

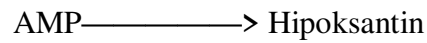
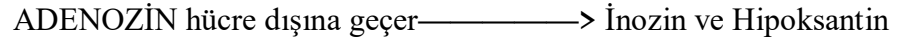
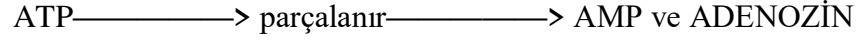
Ancak IR'de ksantin oksidaz etkisine bağlı olarak artan süperoksit radikali O_2^- ve H_2O_2 , antioksidan kapasiteyi aşar ve ortamdan etkin bir şekilde temizlenemez. Hidrojen peroksit daha sonra Fe^{+2} gibi geçiş metalleri veya süperoksit radikalleri ile (Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları) reaksiyona girer ve en güçlü radikal olarak bilinen OH^- oluşturur(88). Reaktif oksijen türleri miktarındaki bu artış sonuçta hücre membranlarındaki lipit yapılarda hasar, hücre içi proteinlerin yapı ve fonksiyonlarında bozulma ve DNA'da yapısal hasar meydana getirerek hücre zedelenmesine yol açar(89).

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) dır. Ancak hipoksi ya da iskemi nedeniyle KDH, KO'a dönüştüğünden hipoksantin ürik asite dönüşümü KO tarafından gerçekleşir ve bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır(79,90).

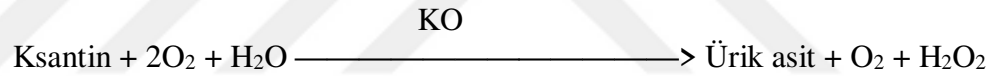
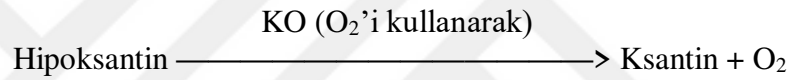
Normal şartlarda:



İskemide:



Reperfüzyon ile:



İskemi-reperfüzyon (IR) hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık olan hücresel ve humoral olaylar serisidir. Özellikle; serbest oksijen radikalleri, polimorf nüveli lökositler (PNL), kompleman sistemi, endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasındadır(78,79,91).

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 serbest radikaller oldukça dayanıksız ve aynı zamanda reaktif moleküller olup, elektronları hücredeki diğer moleküllerle etkileşime girerek oksidatif stres (hasar) meydana getirirler. Serbest radikaller

normal hücresel katabolizma sırasında oluşabildiği gibi, çeşitli dış etkenler aracılığı ile de meydana gelebilir.

Oksidatif stres, organizmadaki pro-oksidan ve anti-oksidan dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır(92). Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikallerin endojen kaynakları 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(81,82).

Normal fizyolojik koşullarda mitokondri hücre içi oluşan süperoksit anyonu (O_2^-)'nın 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'ninde 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(93).

Ayrıca serbest radikallerin mitokondriyal membran yapılarında oluşturduğu hasar sonucunda mitokondrilerden ortama daha fazla serbest radikal salınır. 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 olan serbest radikallere dönüşmektedir(94). Serbest radikaller; pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar(95,96). 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(96,97). 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(98). 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 SOD aracılığı ile H_2O_2 'ye indirgenir. Hidrojen peroksit eşlenmemiş elektron içermediği için tek başına radikal değildir(99). 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(100).

Serbest radikal zincir reaksiyonları genellikle, moleküllerden hidrojenin uzaklaştırılmasıyla başlar. Lipid peroksidasyonunda, doymamış yağ asitlerinin hücre membranlarında ve lipoproteinlerdeki oksidasyonu serbest radikal zincir reaksiyonu için iyi bir örnektir(96,101). 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 MDA, 4-HNE ve hegzanal isimli aldehytlerin doku düzeylerinde artmasına neden olur(16,17,102). Ayrıca yapılan farklı çalışmalarda akut iskemik olaylar sırasında albuminin metal bağlama kapasitesinin azalarak, iskemi modifiye albumin (IMA) adıyla bilinen metabolik bir varyanta dönüştüğü ve serum düzeyinin arttığı ortaya konmuştur(13).

Polimorf Nüveli Lökositler (PNL)

İskemi-reperfüzyon hasarında ROS oluşumdan sorumlu bir diğer neden ise endotel hücreler ve reperfüzyonla bölgeye gelen başta nötrofiller olmak üzere inflamatuvar hücreler arasındaki etkileşimlerdir. İskemi sonrası oluşan reperfüzyonda mikrovasküler permeabilitedeki artıştan başlıca nötrofillerin sorumlu olduğu gösterilmiştir(103). IR hasarı ile lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu meydana gelir(104).

Diğer taraftan, PNL yüksek miktarda SOR üretme kapasitesine de sahiptir. İskemi reperfüzyon hasarında PNL'nin rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür(105).

Bunlar:

- 1) Mikrovasküler oklüzyon,
- 2) SOR salınması,
- 3) Sitotoksik enzim salınması,
- 4) Vasküler permeabilite artışı
- 5) Sitokin

Aktif nötrofiller salıverdikleri maddelerle yol açtıkları hasarın yanı sıra, damar içinde oluşturdıkları hücre toplulukları (agregatlar) ve aktif trombositlerle birlikte damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya da neden olurlar.

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 platelet aktive eden faktör (PAF), tümör nekroz faktör alfa (TNF-a) gibi inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına ve lökosit-endotel hücre adhezyonuna aracılık eden

adhezyon moleküllerinin biyosentezinin artmasına neden olur(79,106,107). Normal fizyolojik şartlarda fagositik lökositler (makrofaj, nötrofil vb) ROS'un tetiklediği inflamatuvar mediyatörlere yanıt olarak aktive olurlar ve solunumsal patlama adı verilen mekanizmayla oksidan mediyatörler üretirler. Fagositik hücrelerde solunumsal patlamada ROS üretiminden sorumlu başlıca enzim Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz olup aktivasyon sırasında oksidan üretimi yaklaşık 50-100 kata kadar artabilir(108). İskemi sonrası reperfüzyonun başlaması ile birlikte, dokuya sunulan oksijenin yaklaşık %70'i NADPH- bağımlı oksidaz ile süperoksit iyonlarına oksitlenmektedir. Süperoksit iyonu SOD aracılığı ile önce hidrojen peroksit ve sonrasında miyeloperoksidaz etkisi ile de hipoklorik asite veya Fenton reaksiyonu ile OH^- 'e dönüşür ve ortama salınır(109). Polimorf çekirdekli lökosit kaynaklı bu artmış ROS üretimi reperfüzyon hasarında başlıca rolü oynar. PNL'den bunun dışında interlökin IL-1, IL-6, IL-12, interferon gama ($\text{IFN}\gamma$) ve $\text{TNF}\alpha$ gibi sitokin ve kemokinler ile elastaz ve kollejenaz gibi proteazlar salınarak bölgeye daha fazla inflamatuvar hücre toplanmasına, daha fazla ROS üretime ve damar endotelinde hasara yol açar. Proteinazların etkisi ile damar duvarında yapının değişimi ve duvar yapısının gevşemesi ile nötrofillerin dokuya göçü kolaylaşır(110,111).

Komplemanın Rolü

Kompleman (C) sisteminin aktivasyonu sonunda proinflamatuvar komponentler oluşur. Bunlar C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anafolatoksinlerdir 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 uyararak inflamatuvar yanıtı amplifiye eder(112). C5b-9 endotelde IL-1, IL-8 ve MCP-1 salgısını uyararak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi artırır. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek vasküler tonusu bozar(113,114).

Endotel Hücresinin Rolü

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 ET'i ve NO'yu üretir. NO arteriyel dolaşımında ET'in vazokonstriktör etkisini tersine çevirme eğilimindedir. Venlerde ise bunun tersi söz konusudur. IR hasarında endotelin/NO oranı endotelin lehine bozulur. Sonuçta arteriyel vazokonstriksiyon ve venlerde vazodilatasyon olur(115). 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 derişimde 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 derişiminin artması ile oksidasyonu da hızlanır ve çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bu reaktif türler NO'nun dolaylı etkilerinden sorumludur ve hücrel moleküllerin nitrozilasyonuna, nitrasyonuna, nitrozasyonuna yol açarak, proteinlerin ve enzimlerin aktivitelerinin sonlanmasına neden olabilirler(116).

Endotel hücrelerinin oksidatif stresi sonucu kompleman aktive edilir ve lökosit adhezyon moleküllerinin üretimi artar. SOR etkisi ile endotel hücreleri hasara yanıt olarak IL-1, PAF, prostaglandinler (PGI_2 , PGE_2), granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), büyüme faktörleri, endotelin, NO ve TxA_2 salgırlar. Aktive olan endotel hücreleri ek olarak kendi bazal membranlarını sindiren kollajenazlar salgılama yeteneğindedir(106).

2.5.2. Antioksidanların Rolü

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemek, bu maddelerin meydana getirdiği hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” adı verilir(77).

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(94,117).
2. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya “inaktif şekle dönüştürücü etki”. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler(118).
3. Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller “zincir kırıcı etki” gösterirler(119).
4. Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklinde “onarıcı etki” gösterirler(120).

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, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidazdır. Bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir(96,121).

Endojen Antioksidanlar

Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olarak iki alt grupta sınıflandırılır(122,123).

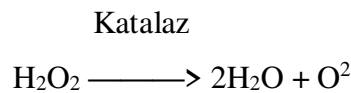
Enzim Olan Endojen Antioksidanlar: SOD, GSHPx, Glutasyon S-transferaz (GST), Katalaz, Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, Hidroperoksidaz(124).

i) Süperoksit dismutaz (SOD): Reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunma hattını oluşturur(125,126). Süperoksit serbest radikalının H_2O_2 ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir.



Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit anyonu üretilmesine rağmen hücre içi düzeyi SOD tarafından 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(124,127).

ii) Katalaz: Katalaz esas olarak peroksizomlarda, daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. H_2O_2 'yi oksijen ve suya parçalar. Böylece H_2O_2 'den hidroksil (OH^-) oluşumunu önlemek için ortadan kalkmasını sağlar [102].



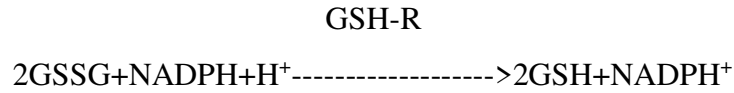
iii) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutasyon redüktaz (GSH-R): Glutasyon peroksidaz, hücrelerin sitoplazmasında bulunup H_2O_2 'den kaynaklanan oksidatif hasara karşı hücreleri korur. Böylece H_2O_2 'den OH^- 'in oluşmasını engeller. Glutasyon peroksidaz, dört protein alt biriminden oluşur. Her bir alt birim bir

selenyum atomu içerir(126). Selenyuma bağımlı glutatyon 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 glutatyon, glutatyon disülfittir (GSSG). Glutatyon redüktaz enzimi varlığında okside glutatyon redükte glutatyon haline geri indirgenir. Bu indirgenme reaksiyonu esnasında GSH-R elektron vericisi olarak NADPH'yi kullanır(94,126).



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



Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar: Enzim olmayan antioksidanlar arasında glutatyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q10, selenyum, α -lipoik asit, seruloplazmin ve transferrin sayılabilir(122,125,126,128,129). Glutatyon bir antioksidan olarak hareket eder ve ayrıca hücrenin redoks durumunu korumada, detoksifikasyon sisteminin çalışmasında, eikosanoidlerin sentezlenmesinde, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptoziste de antioksidan olarak faaliyet gösterir(130).

Glutatyon, GPx'in katalitik etkisiyle lipid peroksitleri ve H_2O_2 'yi detoksifiye eder ya da O_2^- 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. Melatonin (N-asetil-5-metoksi-triptamin), temel olarak pineal bezden endojen olarak üretilir ve dolaşıma salgılanır. Ayrıca diğer birçok yerde de sentezlenir. Karanlık sırasında triptofandan sentezlenir(131). Melatonin, serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltır. Bütün hücre içi bölümlerde makromolekülleri oksidatif hasardan korur.

Melatonin, doğrudan bir serbest radikal süpürücüsü ve dolaylı bir antioksidan olarak her yerde faaliyet göstermesi sayesinde çok geniş çaplı bir koruma sağlar. Ek olarak, SOD, CAT, GSHPx ve GR içeren antioksidan enzimlerin bazılarını uyarır. Melatonin hücrel membranları sağlamlaştırır ve böylece oksidatif hasara karşı direnmede hücre membranına yardımcı olabilir. En son olarak melatonin elektron taşıma sisteminin etkinliğini artırarak serbest radikal üretilmesini ve elektron kaçaklarını azaltır(100).

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(79).

Eksojen Antioksidanlar

i) Vitamin Olan Eksojen Antioksidanlar: Alfa-tokoferol (vitamin E), β -karoten, askorbik asit (vitamin C), folik asit (folat). Vitamin E, yüksek antioksidan potansiyeli olan yağda çözünen bir vitamindir. İnsanlarda en biyoaktif formu α -tokoferoldür. α -tokoferol, serbest radikallerin hasarlarından hücre membranlarını korur. α -tokoferolün antioksidan olarak temel fonksiyonu lipit peroksidasyonuna karşı korumada bulunmaktır. Vitamin E serbest radikalleri sabit hale getirerek peroksidasyon zincirini kırar ve bu olgu O_2 'nin çoğunlukla hidroksile ya da süperoksit indirgenmesi ile gerçekleştirilir. Vitamin E, radikallerin yok edilmesi, zincirin kırılması, baskılama, bozulan yapıların onarılması ve endojen savunma

sistemlerinin güçlendirilmesi gibi mekanizmaların tamamını kullanarak antioksidan görevini yerine getirdiğinden antioksidan kapasitesi çok geniş ve yüksektir. Vitamin E'nin hücre zarında gösterdiği antioksidan etkiyi, hücre içerisinde genelde GSHPx üzerine alır(132).

Glutasyon peroksidaz ve α -tokoferol birbirlerini tamamlayıcı bir antioksidan etki gösterirler. Alfa-tokoferol peroksitlerin oluşumunu engellerken, GSHPx oluşmuş olan peroksitleri ortadan kaldırır. Askorbik asit olarak da bilinen vitamin C, suda çözünebilen bir vitamindir. Kollajen, karnitin ve nörotransmitter biyosentezi için gereklidir(133). Vitamin C süperoksit, hidroperoksil, ozon, peroksinitrit, nitrojen dioksit ve hipokloröz asit gibi reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türlerini kolaylıkla temizler ve dolayısıyla oksidatif hasara karşı etkin bir şekilde koruma sağlar. Vitamin C lipitlerde çözünen radikallerin temizlenmesi yoluyla üretilen α -tokoferoksil radikallerinden α -tokoferolu yeniden oluşturarak bir koantioksidan olarak hareket edebilir(134).

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 analogu)

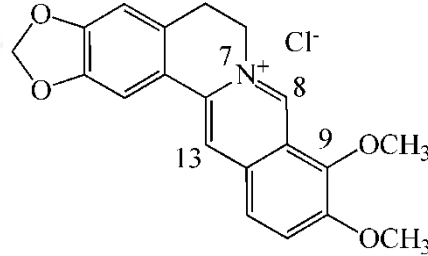
Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar: (GSHPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)

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

2.6.Berberin

2.6.1.Berberinin Yapısı ve Kaynakları

Berberin (C₂₀H₁₉NO₅, BBR), bir izokinolin kuaterner alkaloid olup, *Hydrastis canadensis*, *Berberis aristata*, *Coptis chinensis*, *Coptis rhizome*, *Coptis japonica*, *Phellodendron amurense* gibi birçok şifalı bitkiden izole edilebilir(36). (Şekil-2.9) Berberin içeren bitkilerin kullanımı orta doğu, Ayurvedik (Hint), Çin ve Amerika yerlilerine kadar uzanan, köklü bir geçmişe sahiptir(135). Çin ve Hint geleneksel tıp uygulamalarında 3000 yıldan uzun süredir kullanılmakta olduğu bilinmektedir(38,136). Hint tıbbında kulak, göz ve ağız enfeksiyonlarında, yara iyileştirmede, hemoroid tedavisinde, hazımsızlıkta, dizanteride ve kadın genital rahatsızlıklarında kullanılmaktaydı(137). Geleneksel Çin tıbbında ise diyare ve bağırsak parazitlerinde kullanımı yaygın idi(138,139).



Şekil 2. 3. Berberinin kimyasal yapısı

BBR, karakteristik bir alkaloidal acı tada sahip kokusuz, yoğun sarı bir tozudur. Suda ve etanolde çok az çözünür, metanolde ise az miktarda çözünür; ancak tuz formları diğer formlarına nispeten daha fazla çözünürdür(140).

BBR'nin son zamanlarda birçok etkinliği olduğu gösterilmiştir. BBR'nin geniş farmakolojik ve biyokimyasal etkileri vardır. BBR'nin anti-diyareik, antiaritmik ve anti-inflamatuar ajan olarak kullanılabileceği bildirilmiştir(141,142). Ayrıca, BBR'nin lökositler, karaciğer, akciğer, mide, kolon, deri, ağız, özofagus,

beyin, kemik, göğüs ve genital kanser hücreleri gibi birçok kanser hücre dizisinde antitümör etkileri olduğu gösterilmiştir(143–148).

2.6.2.Berberinin Farmakokinetiği

Berberin ve metabolitlerinin farmakokinetik profili, insanlar ve sıçanlar üzerinde oldukça kapsamlı şekilde çalışılmıştır(149–151). Tek doz oral 300 mg berberin ile sağlıklı erkek insan gönüllülerde bazı farmakokinetik parametreler çalışılmış ve yarılanma ömürleri $t_{1/2}$ (ka) $0,87 \pm 0,03$ saat; $t_{1/2}$ (ke) $2,94 \pm 0,14$ saat; maksimum konsantrasyonu (C_{maks}) $394,7 \pm 155,4$ $\mu\text{g/L}$ ve eğri altında kalan alan (EAA) $2799,0 \pm 1128,5$ $\mu\text{gL/saat}$ olarak bildirilmiştir(149).

2.6.3.Berberinin Emilimi

Berberinin dezavantajlarından biri, suda çözünürlüğü ve dissolüsyonunun zayıf olmasına bağlı olarak oral biyoyararlanımının düşük olmasıdır(152). Berberin klorürün suda ve pH'a bağlı çözünürlüğü sıcaklıkla doğru orantılıdır ve sıcaklık artınca artmaktadır(140). Berberin katyonik yapıda bir alkaloiddir(153). Fizyolojik koşullarda berberin iyonize formda bulunduğundan midede asitle karşılaştığından agregasyona eğilimli olmaktadır. Agrege haldeki berberinin çözünürlüğü daha da düşmekte ve emilimi zorlaşmaktadır(154).

Bağırsak duvarındaki epitelyal katmanda bulunan apikal membranda Pglkoprotein (P-gp) yapıları mevcuttur. P-gp, ilaç moleküllerinin kandan lümene geçişini aktif taşımayla sağlayan ve absorpsiyonu engelleyen efluks pompalarıdır. Yapılan çalışmalar, berberinin kana geçişinde P-gp'nin olumsuz etkiye sahip olduğunu göstermektedir(38,150,153,154). Bu sayede berberinin emiliminin artırılması amacıyla verapamil, daunomisin, siklosporin A gibi P-gp inhibitörlerinin kullanılması yönünde çalışmalar yapılmıştır(154,155). Caco-2 tek katman modeli yapılan bir çalışmada siklosporin A uygulamasıyla berberin efluksunun önemli derecede azaldığı gözlemlenmiştir(154).

Emilimin azalmasında etkili faktörlerden biri de ilk geçiş etkisidir. Berberin büyük oranda bağırsaklarda ve düşük oranda karaciğerde ilk geçiş etkisine uğramaktadır(153,154). Berberin CYP2D6 ve CYP3A4 enzimleriyle metabolize olmaktadır. Bağırsaklarda bu enzimlerin mevcudiyeti, berberinin emilmeden metabolize olmasına sebep olmaktadır(154).

2.6.4.Berberinin Dağılımı

Berberin, intestinal kanaldan emildikten sonra, kana geçişinin ardından yüksek oranda plazma proteinlerine bağlanmaktadır(156). Biyoyararlanımın düşüklüğü, kan konsantrasyonunun düşüklüğü ile sonuçlanmasına rağmen, berberinin aktivitesinin en önemli sebebi dokulara dağılımının yüksek olmasıdır(38). Kanlanmanın daha fazla olduğu majör organlara afinite göstermekle birlikte dağılımın en fazla olduğu organ karaciğerdir(153). Karaciğerin ardından böbrekler, kas dokusu, akciğerler, beyin, kalp, pankreas ve daha az miktarda da yağ dokusu takip etmektedir(38,154).

Berberin, kan beyin bariyerini rahatlıkla aşarak serebrospinal sıvıya geçebilmektedir. Özellikle intravenöz uygulamanın ardından hipokampus bölgesinde birikmekte ve ardından yavaşça elimine olmaktadır(38).

2.6.5.Berberinin Metabolizması

2011 yılında yürütülen araştırmada sitokrom P450 (CYP) enzimlerinin berberin metabolizması üzerindeki etkisini Guo ve ark. göstermişlerdir. Araştırmadan elde edilen verilere göre berberinin metabolizasyonunda hem insanlarda hem de farelerde en yüksek etkiye sahip enzim CYP2D6'dır. Bunun dışında CYP3A4 ve CYP1A2 enzimlerinin de metabolizasyona katkısı olduğunu bildirmişlerdir(157).

Literatürde mevcut diğer çalışmalarda sayılan enzimlerin yanı sıra CYP2E1 ve CYP2C19 enzimlerinin de metabolizasyona katkısı olduğu belirtilmiştir(158). CYP enzimleri aktivitesi ile faz I oksidatif demetilasyon reaksiyonlarını, faz II konjugasyon reaksiyonları takip etmektedir. Faz I reaksiyonları sonucu berberrubin, talifenidin, demetilenberberin ve jatrorrizin metabolitleri ve devamında faz II reaksiyonları ile bu metaboliterin glukuronik asit veya sülfürik asitle konjugatları oluşmaktadır(38). Bu konjugatlar polar yapıda olmakla beraber kolayca elimine edilebilmektedirler(154).

Plazmada bulunan ana metabolit ise berberrubindir. Oluşan metabolitler arasında berberrubin ve demetilenberberinin karaciğerde aktivitesinin devam ettiği ve ana moleküle kıyasla daha düşük potense sahip olduğu görülmüştür(154).

2.6.6.Berberinin Farmakodinamisi

Berberin içeren bitkilerin kullanımından beri, farmakolojik etkilerindeki çeşitlilik hâlen birçok bilimsel araştırmaya konu olmaktadır. Temelde antioksidan ve antiinflamatuvar aktivitelere bağlı olarak ek mekanizmalar beraberinde birçok organ ve sistem üzerinde çeşitli farmakolojik etkilere sahiptir(153). Berberinin Çin tıbbında antibakteriyal, antiinflamatuvar, antidiyabetik ve antihiperlipidemik etkileriyle kullanımı günümüzde devam etmektedir(158). Yapılan çeşitli hayvan deneyleri ile klinik deneyler, geleneksel kullanımına ek olarak birçok endikasyonda kullanımının mümkün olabileceğine işaret etmektedir(159). Bunlar;

- Antimikrobiyal etki,
- Antidiyareik etki,
- Antidiyabetik etki,
- Nörolojik etkiler,
- Kardiyovasküler etkiler,
- Antikanser etki

2.6.7.Berberinin Yan Etkileri

Berberin, klinik dozlarda kullanıldığında toksisitesi olmayan bir alkaloid olarak tanımlanmaktadır. LD50 (popülasyonun %50'sinde letal etki yaratan doz) değeri Swiss albino fareler için akut uygulamada 500 mg/kg iken kronik uygulamada (10 gün) 150 mg/kg olarak literatürde yer almaktadır(150). Sıçanlar için LD50 değeri intraperitoneal uygulamada 205 mg/kg olmakla birlikte, 50 mg/kg dozunda uygulandığında deneklerin %40'ında diyare geliştiği bildirilmiştir(160). Oral yoldan kullanımda ise sıçanlar için berberinin LD50 değeri literatürde 1000 mg/kg'dan fazla olarak yer almaktadır(161). İntraperitoneal ve oral LD50 dozlarının arasındaki farkın yüksekliği, berberinin bağırsaktan emilimi ve kana geçişinin çok düşük olmasıyla açıklanabilmektedir(162).

3. MATERYAL VE METOD

Priapizm modelinde berberinin 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, deney Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

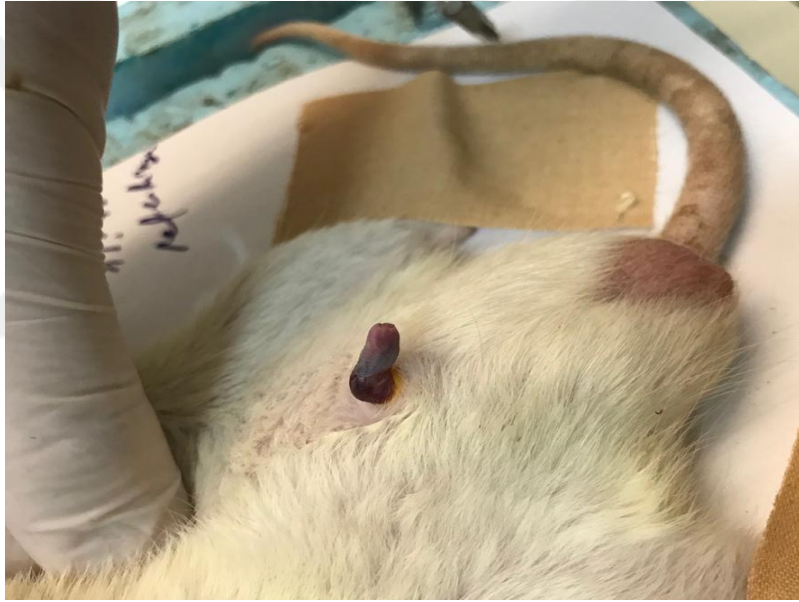
3.1. Çalışma Grupları

Bu deneysel çalışmada Sprague 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). Tüm gruplar deney süresince standart oda sıcaklığı ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$), ışıklandırma (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık) ve nem ($\%50 \pm 10$) koşullarında tutuldu. Ratlar normal standart yem ve musluk suyu ile beslendi.

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+Berberin)	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

18 Sprague Dawley rat; her bir grupta 6 olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

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 + Berberin) (n:6): 1 saatlik priapizm oluşturulan ratlarda, reperfüzyondan yarım saat önce berberin, 200 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 berberin 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. Homojenizatlar 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(163) 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 (Mediano, 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.

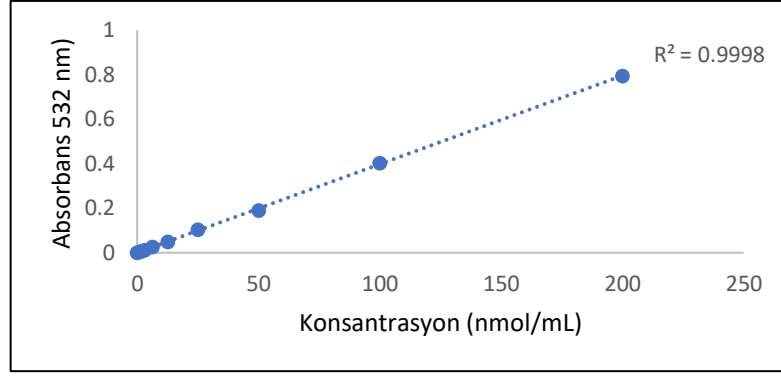
2) %1'lik H_3PO_4 çözeltisi: Bir miktar saf su üzerine 2.94 mL %85'lik H_3PO_4 (Sigma, St. Louis, MO, USA) alındı ve son hacim saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

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 μ L 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.



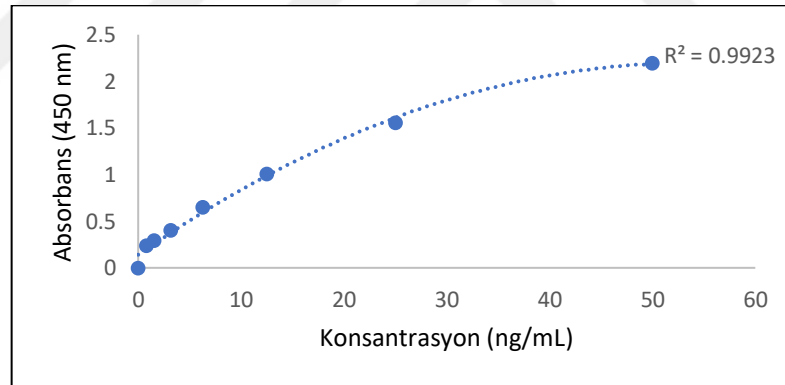
Grafik 3. 1. Doku MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği

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 (ShelLab/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.
- 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 (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.



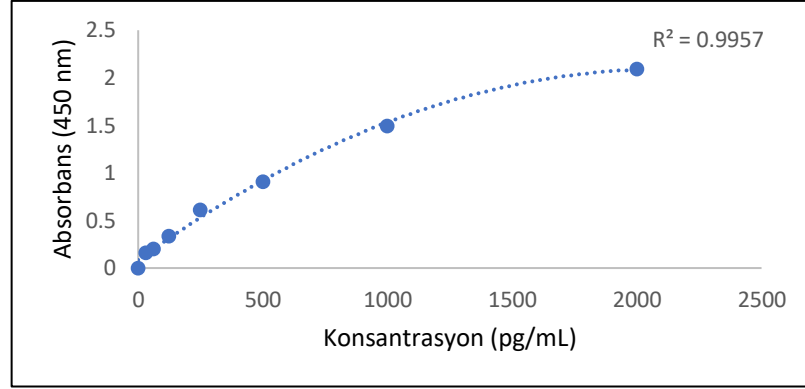
Grafik 3. 2. SOD ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.3. Doku Glutatyon 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 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 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.



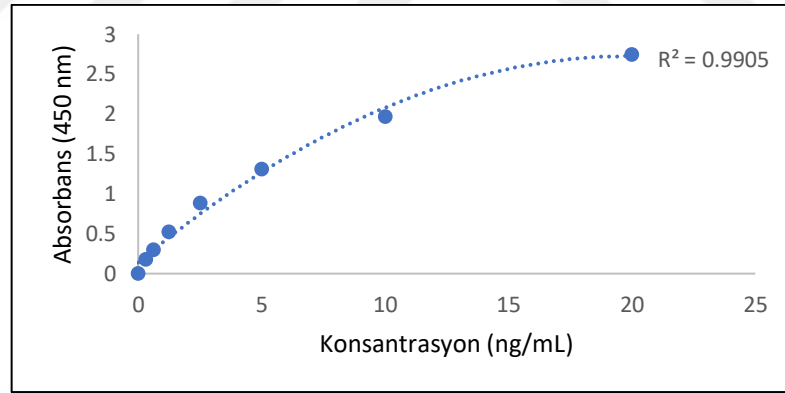
Grafik 3. 3. GPx ölçümünde kullanılan standart grafiği

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 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 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.



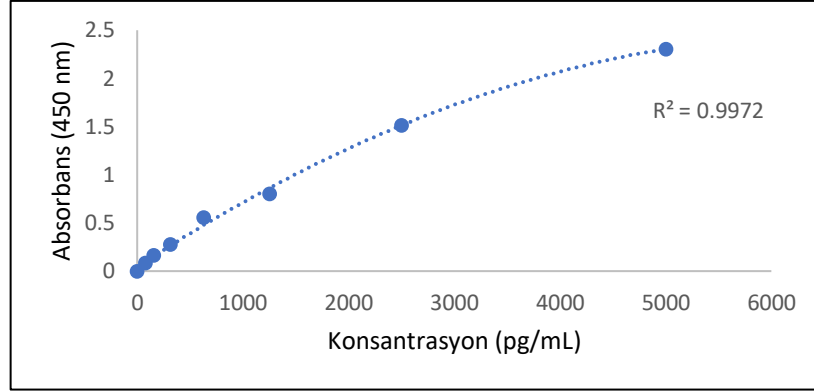
Grafik 3. 4. GRP78 ölçümünde kullanılan standart grafiği

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 absorpsanları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorpsan 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.



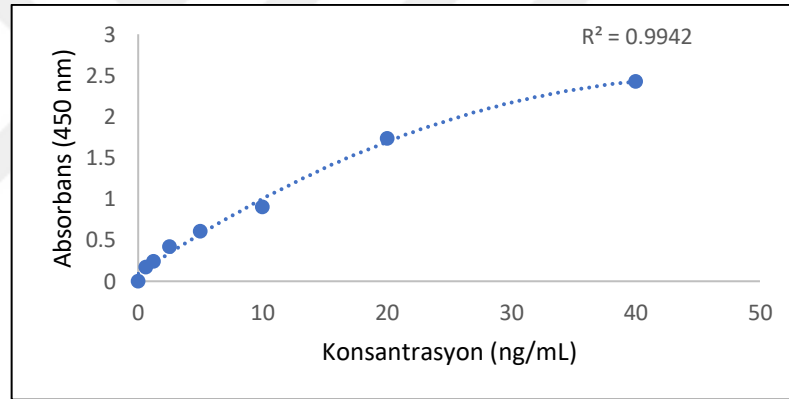
Grafik 3. 5. ATF6 ölçümünde kullanılan standart grafiği

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.
- 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 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.



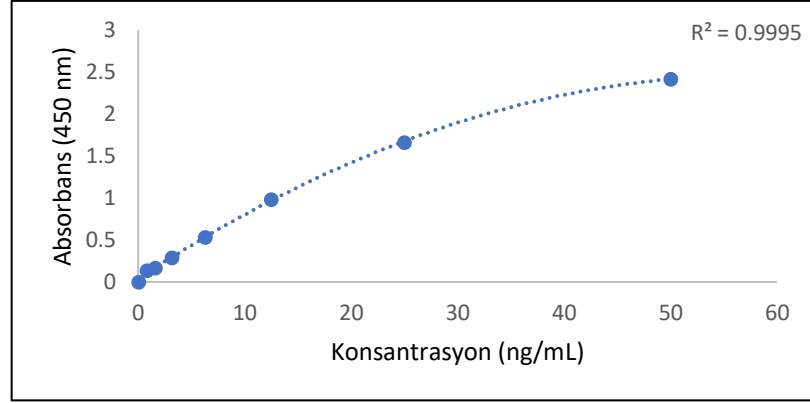
Grafik 3. 6. CHOP ölçümünde kullanılan standart grafiği

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 mikropleyt 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.



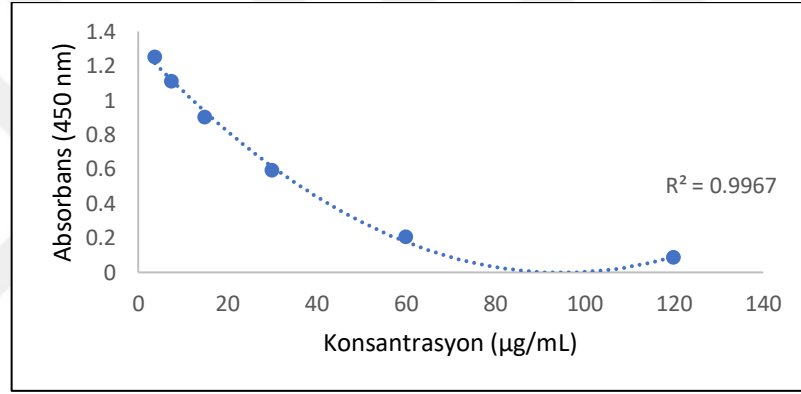
Grafik 3. 7. MPO ölçümünde kullanılan standart grafiği

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 mikroplyt 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 µg/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar µg/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 µmol H₂O₂ 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;

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

formülü kullanılarak hesaplandı(164).

3.3. Histopatolojik İnceleme Yöntemi

Çalışmaya ait histopatolojik incelemeler Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Çalışma sonunda tüm gruplara ait ratların penis dokusu çıkarıldı ve orta parçalarına denk gelen kısımlarından alınan doku örnekleri histopatolojik değerlendirme yapılması için %10'luk formaldehit solüsyonu içinde 72 saat tespit edildi. Tespit edilen doku parçaları gittikçe artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Ksilen solüsyonunda şeffaflaştırdı. Her bir gruba ait dokuların parafin blokları hazırlandı. Parafin bloklardan tam otomatik mikrotom (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Elde edilen preraratlar hematoksilin-eozin (H&E) ve genel histolojik yapının detaylı olarak değerlendirilmesi ve kavernöz yapının daha iyi incelenebilmesi için Trikrom–Masson boyası (GBL Masson Trikrom boyama seti, Türkiye) ile boyandı(165). Bu boyama ile kollajen lifler mavi, kas dokusu kırmızı renkte boyanarak ayrımı kollajen lifler ve kas dokusu ayrımı yapılmaya çalışılmıştır. Preparatların histopatolojik değerlendirmesi bu konuda deneyimli ve gruplardan habersiz bir histolog (E.Y.) tarafından ışık mikroskopik (Olympus BX-51; Olympus Optical Co., Tokyo, Japan) olarak yapıldı. Elde edilen histopatolojik bulgular korpus spongiozumda (üretra epitel dejenerasyonu, kavernlerde vasküler konjesyon) yarı kantitatif olarak 0-3 arasında skorlandı. Buna göre 0: Hiç yok, 1: Hafif, 2: Orta, 3: Şiddetli olarak değerlendirildi(166).

Korpus kavernozumda kavernler vasküler konjesyon ve kavernler etrafında bağ dokusu artışı açısından) yarı kantitatif olarak 0-3 arasında skorlandı. Buna göre 0: Hiç yok, 1: Hafif, 2: Orta, 3: Şiddetli olarak değerlendirildi(166). Korpus kavernozumda sinüzoidal alan ölçümü ışık mikroskop altında 200X büyütmede,

Analysis 5 Research program (Olympus Soft Imaging Solutions, Germany) kullanılarak yapıldı. Her bir gruba ait penis preparatlarında korpus kavernozumda rastgele 5 sinüzoidal alan ölçüldü ve ölçüm ortalamaları alınarak ortalama sinüzoidal alan olarak kaydedildi.

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.

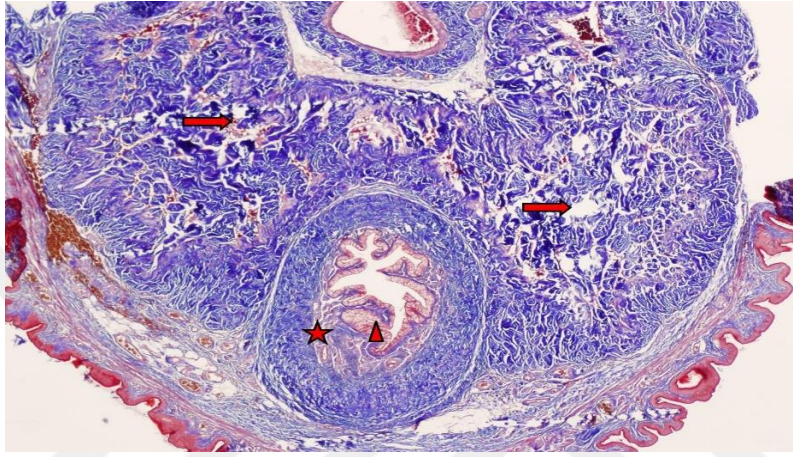
4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular:

Gruplara ait penis dokusunun ışık mikroskopik değerlendirmesinde;

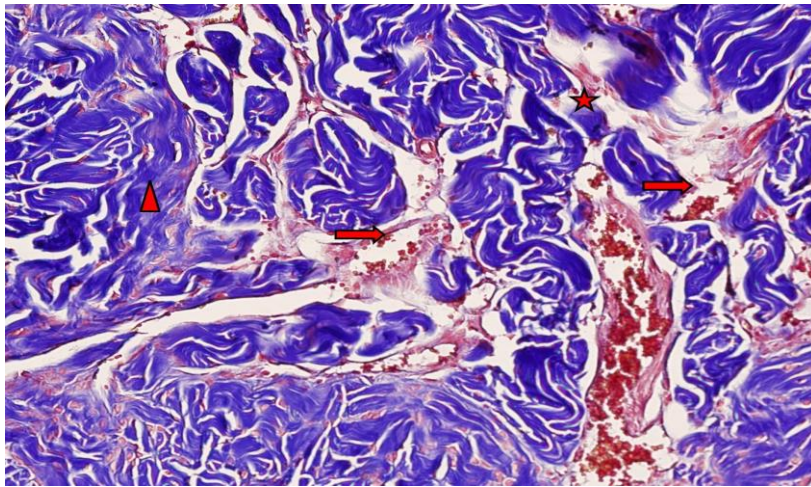
4.1.1. Kontrol Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;

Normal penis korpus kavernozum ve korpus spongiozum yapısı izlendi (Resim 4.1).



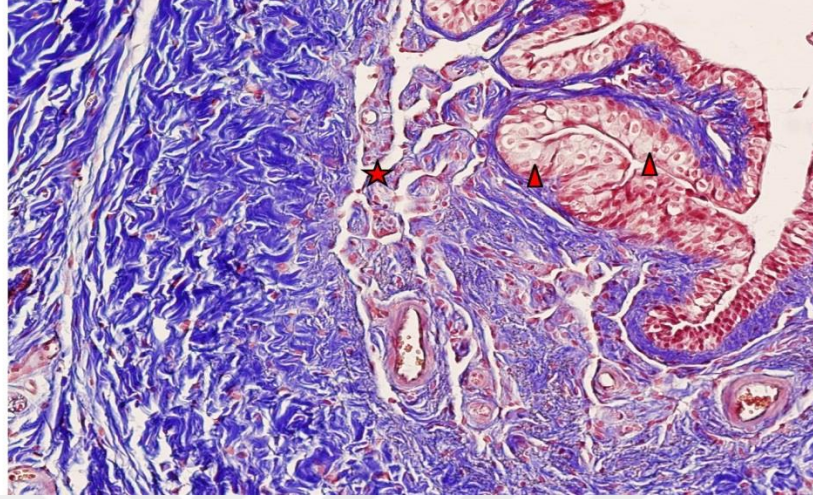
Resim 4. 1. Penisin histolojik kesitinin fotomikrografı. Korpus kavernozum penise ait kavernler (ok), korpus spongiyozum penise ait kavernler (yıldız), üretra epiteli (ok başı) (Trikrom Masson; X40).

Korpus kavernozumuna ait kavernlerde hafif derecede vasküler konjesyon vardı (Resim 4.2).



Resim 4. 2. Korpus kavernozum penise ait kavernler (ok), kavern etrafındaki bağ dokusu (ok başı) ve kas yapısı (yıldız) (Trikrom Masson; X200).

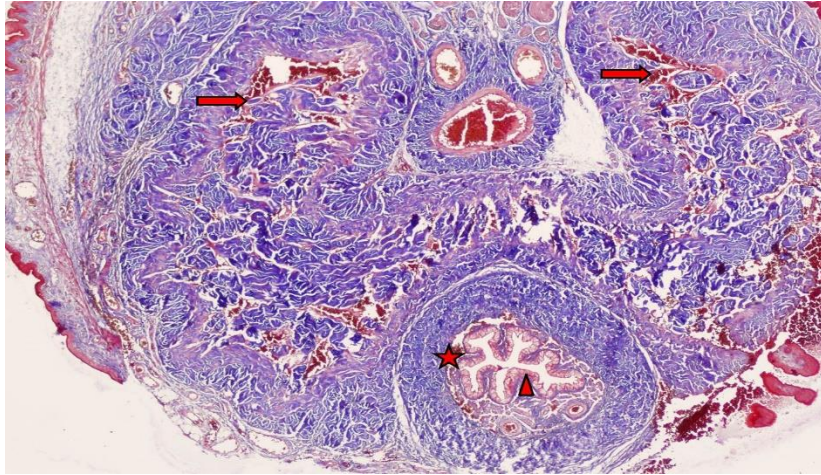
Korpus spongiozuma ait kavernlerde hafif düzeyde vasküler konjesyon mevcut idi. Üretra epiteli yalancı çok katlı değişici epitel olarak normal yapıda izlendi (Resim 4.3).



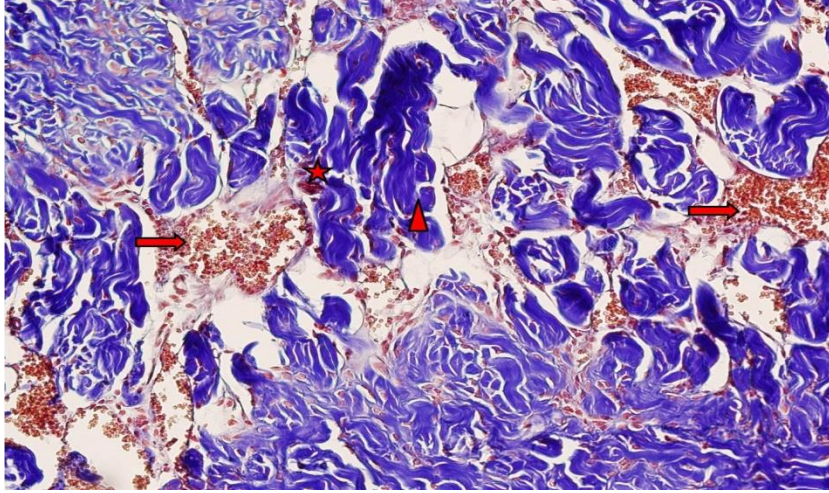
Resim 4. 3. Korpus spongiozum penise ait kavernler (yıldız), üretra epiteli (ok başı) (Trikrom Masson; X200)

4.1.2. Priapizm/Reperfüzyon Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;

Korpus kavernoza ait santral ve periferik kavernlerde yaygın ve şiddetli derecede vasküler konjesyon izlendi (Resim 4.4,4.5).

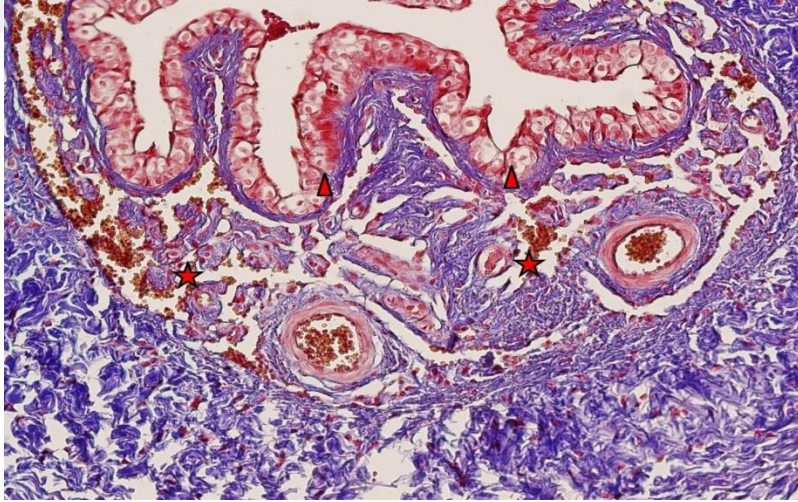


Resim 4. 4. Penisin histolojik kesitinin fotomikrografı. Korpus kavernoza ait kavernler (ok), korpus spongiozum penise ait kavernler (yıldız), üretra epiteli (ok başı) (Trikrom Masson; X40).



Resim 4. 5. Korpus kavernozum penise ait kavernler (ok), kavern etrafındaki bağ dokusu (ok başı) ve kas yapısı (yıldız) (Trikrom Masson; X200).

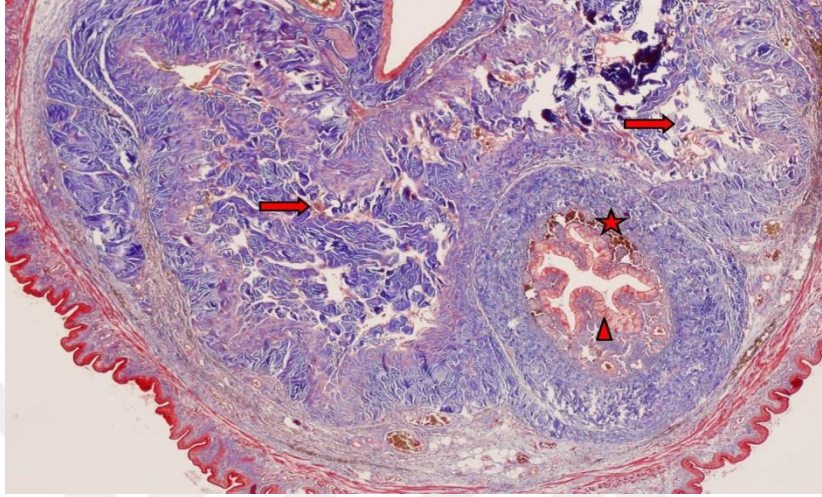
Üretranın korpus spongiyozum bölümündeki kavernlerde orta düzeyde vasküler konjesyon ve üretra epitel hücrelerinde yer yer dejenerasyon izlendi (Resim 4.6).



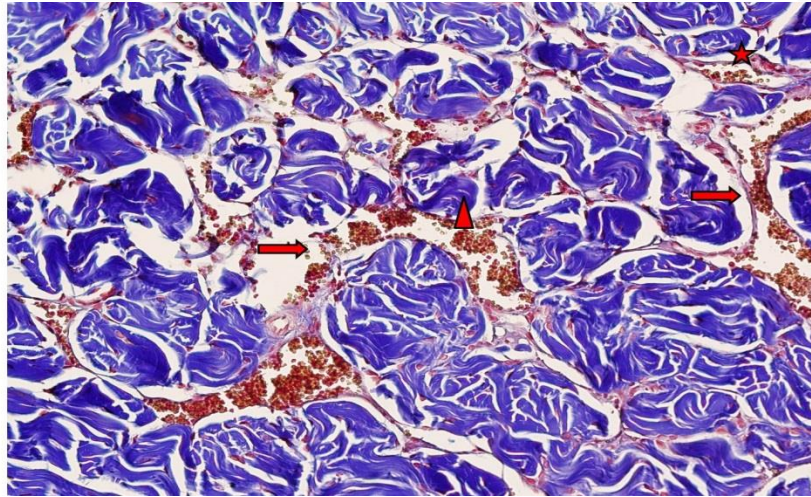
Resim 4. 6. Korpus spongiyozum penise ait kavernler (yıldız), üretra epiteli (ok başı) (Trikrom Masson; X200).

4.1.3. Priapizm/Reperfüzyon + Berberin Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;

Korpus kavernoza ait santral ve periferik kavernlerde Grup 2'ye göre daha az vasküler konjesyon izlendi (Resim 4.7,4.8).

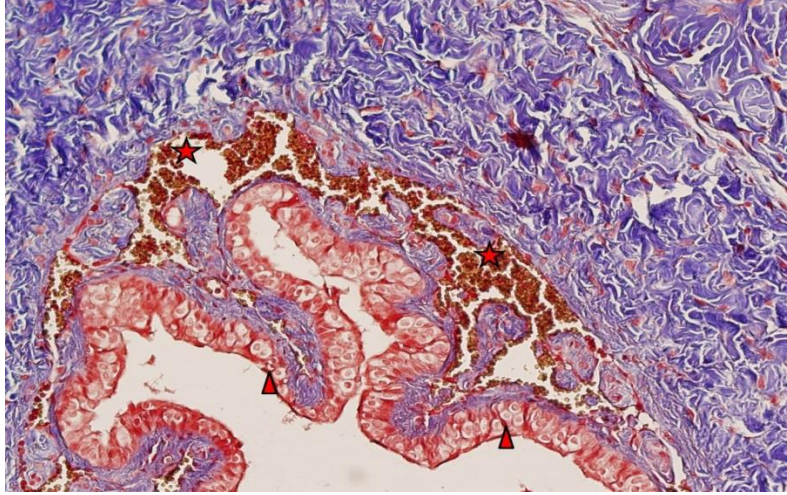


Resim 4. 7. Penisin histolojik kesitinin fotomikrografı. Korpus kavernoza ait kavernler (ok), korpus spongiyozum penisine ait kavernler (yıldız), üretra epiteli (ok başı) (Trikrom Masson; X40).



Resim 4. 8. Korpus kavernoza ait kavernler (ok), kavern etrafındaki bağ dokusu (ok başı) ve kas yapısı (yıldız) (Trikrom Masson; X200).

Üretranın korpus spongiyozum bölümündeki kavernlerde yaygın ve şiddetli derecede vasküler konjesyon izlendi. Üretra epitel hücrelerinde hafif derecede yer yer dejenerasyon olmakla birlikte normale yakın morfolojide izlendi (Resim 4.9).



Resim 4. 9. Korpus spongiyozum penise ait kavernler (yıldız), üretra epitel (ok başı) (Trikrom Masson; X200).

Tüm gruplarda korpus kavernozumda santral ve periferik kavernleri çevreleyen kas dokusu normal idi. Gruplar arasında kas dokusu miktarı açısından farklılık izlenmedi (Resim 4.2,4.5,4.8).

Tablo 4. 1. Korpus Spongiozum a ait histolojik değerlendirme sonuçları

GRUPLAR	Korpus Spongiozum	
	Kavernlerde vazokonjesyon	Üretra epitel dejenerasyonu
Kontrol 1	0	1
Kontrol 2	1	0
Kontrol 3	1	0
Kontrol 4	1	1
Kontrol 5	2	1
Kontrol 6	1	0
Priapizm/Reperfüzyon-1	2	1
Priapizm/Reperfüzyon-2	2	1
Priapizm/Reperfüzyon-3	2	2
Priapizm/Reperfüzyon-4	3	2
Priapizm/Reperfüzyon-5	2	1
Priapizm/Reperfüzyon-6	2	1
Pri/Rep+Berberin-1	2	1
Pri/Rep+Berberin-2	2	1
Pri/Rep+Berberin-3	3	1
Pri/Rep+Berberin-4	3	1
Pri/Rep+Berberin-5	3	1
Pri/Rep+Berberin-6	2	1

Tüm dokularda ortak parametreler, kavernlerde vazokonjesyon, üretra epitel dejenerasyonu, kavernlerin ortalama sinüzoidal alanı (μm^2), kavernlerde vasküler konjesyon, kavern çevresi bağ dokusu artışı araştırıldı. Değerlendirme yarı nicel olarak yapıldı ve bulgular 0 ile 3 arasında puanlandı (0: Yok, 1: Hafif, 2: Orta, 3: Şiddetli). Gruplara ait incelemelerde korpus spongiozumdaki histolojik değerlendirme sonuçları tablo 4.1.de, korpus kavernozumdaki histolojik değerlendirme sonuçları ise tablo 4.2. de gösterilmiştir.

Tablo 4. 2. Korpus Kavernozumuna ait histolojik değerlendirme sonuçları

GRUPLAR	Korpus Kavernozum		
	Kavernlerin ortalama Sinüzoidal alanı (μm^2)	Kavernlerde Vasküler Konjesyon	Kavern Çevresi bağ dokusu artışı
Kontrol 1	3000	1	0
Kontrol 2	2700	1	1
Kontrol 3	2900	1	1
Kontrol 4	3700	1	0
Kontrol 5	3500	1	0
Kontrol 6	3450	0	0
Priapizm/Reperfüzyon-1	4150	2	1
Priapizm/Reperfüzyon-2	3750	3	1
Priapizm/Reperfüzyon-3	4270	2	1
Priapizm/Reperfüzyon-4	4250	2	0
Priapizm/Reperfüzyon-5	3900	3	0
Priapizm/Reperfüzyon-6	4250	3	0
Pri/Rep+Berberin-1	4000	3	0
Pri/Rep+Berberin-2	3900	2	0
Pri/Rep+Berberin-3	3950	2	0
Pri/Rep+Berberin-4	4050	2	1
Pri/Rep+Berberin-5	3950	2	1
Pri/Rep+Berberin-6	4100	2	0

4.2 Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Kontrol grubuna ait biyokimyasal veriler Tablo 4.3'te gösterilmektedir.

GRUPLAR						
	Kontrol 1	Kontrol 2	Kontrol 3	Kontrol 4	Kontrol 5	Kontrol 6
Doku MDA (nmol/mg protein)	17,6	19,0	21,2	19,2	21,4	21,0
Doku TOS (µmol hidrojen peroksit eşdeğeri/L)	21,2	25,4	22,2	20,2	18,9	15,5
Doku TAS (mmol troloks eşdeğeri/L)	0,088	0,267	0,105	0,171	0,089	0,289
Doku OSI	24,2	9,5	21,3	11,8	21,4	5,4
Doku SOD (ng/mg protein)	1,97	0,95	1,34	0,85	1,36	1,39
Doku GPx (pg/mg protein)	538,8	329,3	438,6	393,3	505,1	369,9
Doku GSH (µg/mg protein)	113,4	82,5	155,4	91,2	167,9	105,0
Doku MPO (ng/mg protein)	3,39	2,67	3,40	3,39	4,19	3,32
Doku GRP78 (ng/mg protein)	0,84	0,64	0,85	0,72	0,92	0,85
Doku ATF6 (pg/mg protein)	328,8	330,7	369,3	330,0	430,6	371,2
Doku CHOP (ng/mg protein)	3,67	2,00	2,35	2,23	3,09	2,70

Tablo 4. 3. Kontrol grubu biyokimyasal veriler

Priapizm/Reperfüzyon grubuna ait biyokimyasal veriler Tablo 4.4.'te gösterilmektedir.

Tablo 4. 4. Priapizm/Reperfüzyon grubuna ait biyokimyasal veriler (Pri:priapizm, Rep:reperfüzyon)

GRUPLAR						
	Pri/Rep 1	Pri/Rep 2	Pri/Rep 3	Pri/Rep 4	Pri/Rep 5	Pri/Rep 6
Doku MDA (nmol/mg protein)	32,3	22,3	38,1	31,9	18,0	17,8
Doku TOS (µmol hidrojen peroksit eşdeğeri/L)	62,4	62,3	50,7	40,8	41,6	24,4
Doku TAS (mmol troloks eşdeğeri/L)	0,061	0,034	0,201	0,083	0,080	0,103
Doku OSI	102,7	184,1	25,2	49,3	52,1	23,8
Doku SOD (ng/mg protein)	1,10	1,29	0,05	0,96	0,83	0,76
Doku GPx (pg/mg protein)	325,5	368,9	294,9	303,9	300,5	379,8
Doku GSH (µg/mg protein)	51,9	44,8	43,4	31,5	90,9	80,9
Doku MPO (ng/mg protein)	6,09	11,01	3,17	4,82	5,76	3,21
Doku GRP78 (ng/mg protein)	1,19	1,88	1,97	1,52	1,01	1,14
Doku ATF6 (pg/mg protein)	835,0	1011,3	975,2	816,7	401,8	412,6
Doku CHOP (ng/mg protein)	4,70	6,79	6,11	4,39	3,51	4,37

Priapizm/Reperfüzyon +Berberin grubuna ait biyokimyasal veriler Tablo 4.5.'te gösterilmektedir.

Tablo4.5.Priapizm/Reperfüzyon+BBR grubuna ait biyokimyasal veriler(P:priapizm,R:reperfüzyon)

GRUPLAR						
	P/R+ Berberin 1	P/R+ Berberin 2	P/R+ Berberin 3	P/R+ Berberin 4	P/R+ Berberin 5	P/R+ Berberin 6
Doku MDA (nmol/mg protein)	14,3	16,1	15,1	21,1	35,7	11,9
Doku TOS (μmol hidrojen peroksit eşdeğeri/L)	26,6	23,4	27,5	23,0	23,1	23,1
Doku TAS (mmol troloks eşdeğeri/L)	0,133	0,075	0,136	0,185	0,215	0,283
Doku OSI	19,9	31,3	20,2	12,4	10,7	8,2
Doku SOD (ng/mg protein)	0,86	0,88	1,08	1,37	2,54	0,92
Doku GPx (pg/mg protein)	291,3	384,2	287,2	496,4	492,4	450,3
Doku GSH (μg/mg protein)	65,2	105,2	64,6	115,2	168,5	101,3
Doku MPO (ng/mg protein)	2,75	2,82	2,88	3,05	3,40	3,13
Doku GRP78 (ng/mg protein)	0,56	1,16	0,60	0,68	0,85	0,74
Doku ATF6 (pg/mg protein)	298,8	520,0	307,2	309,3	295,5	375,7
Doku CHOP (ng/mg protein)	3,07	2,23	2,07	3,28	2,57	2,23

4.3.İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları

Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak belirlendi. İstatistiksel analiz için SPSS version 23 programı kullanıldı. Gruplar arası değerlendirme Oneway ANOVA ve posthoc testi ile yapıldı. $P<0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Biyokimyasal ve histopatolojik parametrik verilerin normal dağılıma uyup uymadığı incelendi. Normal dağılıma uyan parametrik veriler tek yönlü ANOVA ile incelendi. İnceleme sonrası gruplar arasında anlamlı fark bulunanlar: Doku TOS, doku OSI, doku GSH, doku MPO, doku GRP78, doku ATF6, doku CHOP olup (Tablo 4.6.), anlamlı bulunmayanlar doku MDA, doku TAS, doku SOD, doku GPX olduğu görüldü (Tablo 4.7.).

Tablo 4. 6. Anova analizinde fark saptanan parametreler

Parametreler	Kontrol	P/R	P/R+Berberin	P değeri
TOS (μ mol hidrojen peroksit eşdeğeri/L) α,β	20,6 $\pm$ 3,3	47,0 $\pm$ 14,5	24,4 $\pm$ 2,0	p<0,001
OSI α,β	15,6 $\pm$ 7,7	72,8 $\pm$ 61,5	17,1 $\pm$ 8,5	p=0,023
GSH (μ g/mg protein) α	119,2 $\pm$ 34,8	57,2 $\pm$ 23,4	103,3 $\pm$ 38,4	p=0,014
MPO (ng/mg protein) β	3,39 $\pm$ 0,48	5,,68 $\pm$ 2,89	3,00 $\pm$ 0,24	p=0,032
GRP78 (ng/mg protein) α,β	0,80 $\pm$ 0,10	1,45 $\pm$ 0,40	0,77 $\pm$ 0,22	p=0,001
ATF6 (pg/mg protein) α,β	360,1 $\pm$ 39,8	742,1 $\pm$ 270,3	351,1 $\pm$ 87,9	p=0,001
CHOP (ng/mg protein) α,β	2,67 $\pm$ 0,62	4,98 $\pm$ 1,23	2,58 $\pm$ 0,50	p<0,001

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

Tablo 4. 7.Anova analizinde fark saptanmayan parametreler

Parametreler	Kontrol	P/R	P/R+Berberin	P değeri
MDA (nmol/mg protein)	19,9±1,5	26,7±8,5	19,0±8,7	p=0,154
TAS (mmol troluks eşdeğeri/L)	0,168±0,091	0,094±0,058	0,171±0,073	p=0,162
SOD (ng/mg protein)	1,31±0,40	0,83±0,43	1,28±0,65	p=0,219
GPx (pg/mg protein)	429,2±80,8	328,9±36,9	400,3±95,0	p=0,090

Nonparametrik veriler (Kavernlerde vazokonjesyon, Üretra epitel dejenerasyonu, Kavernlerin ortalama Sinüzoidal alanı (μm^2), Kavernlerde Vasküler Konjesyon, Kavern Çevresi bağ dokusu artışı) Ki Kare testi ile incelendiğinde yalnızca Kavernlerin ortalama Sinüzoidal alanı için gruplar arasında fark yönünden veri varken, ileri incelemesinde anlamlı sonuç ortaya konulamadı. Gruplara ait incelemelerde kavernlerin ortalama sinüzoidal alanı tablo 4.8.'de gösterilmiştir.

Tablo 4. 8. Kavernlerin Ortalama Sinüzoidal Alanı

Gruplar	Kavernlerin Ortalama Sinüzoidal Alanı	P değeri
Kontrol α	3208±395	p=0,001
Pri/Rep β	4095±218	
Pri/Rep+Berberin μ	3991±477	

α - β ile α - μ arasında anlamlı fark vardır (posthoc MannWhitney U, $p<0,016667$)

5. TARTIŞMA

Ürolojik acil müdahale gerektiren penise olan düşük kan akımıyla karakterize iskemik priapizm, ağrılı ereksiyonun eşlik ettiği en sık görülen priapizm türüdür. İskemik priapizm sonlandıktan sonra, dokuda I/R hasarı meydana gelmektedir(11). Oluşabilecek hasarın önlenmesinde en önemli faktör iskemi süresi olup, reperfüzyon hasarı ile aralarında doğru orantı vardır(167).

İskemik priapizmi tanımlamada ereksiyon süresi tartışmalıdır. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalar göstermiştir ki, hipoksi ve asidoz 4 saat sonra kavernoza fibrozise neden olmaktadır. Bu süreden önce priapizmin tedavi edilmesi kavernoza fibrozisi önleyebilmektedir(15,56,168). 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(169). Tedavi edilmezse veya tedavide geç kalınırsa (>24 saat) kavernoza düz kaslarda nekroz, irreversibl korporal fibrozis ve erektil disfonksiyon meydana gelir(54).

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 lipidler ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna yol açmakta, bu da iyon kanallarına ve DNA'ya zarar vererek hücresel ve metabolik süreçleri sekteye uğratmaktadır(170,171)

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(172).

Genel olarak bitkilerde bulunan bazı biyoaktif bileşikler, hücrelerdeki oksidatif strese karşı serbest radikallerin engellenmesini veya detoksifikasyonunu sağlamakta ve çeşitli işlev bozukluklarının önlenmesine yardımcı olmaktadır(35). Berberin (C₂₀H₁₉NO₅, BBR) bir izokinon kuaterner alkaloid olup, *Hydrastis canadensis*, *Berberis aristata*, *Coptis chinensis*, *Coptis rhizome*, *Coptis japonica*, *Phellodendron amurense* gibi birçok şifalı bitkiden izole edilebilir(36). Gastrointestinal rahatsızlıklar, inflamasyon, hiperlipidemi ve geleneksel tıpta insülin direnci gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılır(37). Birbirinden farklı raporlar antihipertansif, antiaritmik, antihiperglisemik, antikanserojen, antidepresan, anksiyolitik, nöroprotektif, antioksidan, antiinflamatuvar, analjezik ve hipolipidemik etki gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir(36–38). Günümüzde, berberin farklı birçok biyolojik aktivitesi nedeniyle araştırmacılar tarafından daha fazla ilgi görmektedir. Bu nedenle berberinin biyolojik aktiviteleri ile ilgili bilimsel çalışmalar her yıl artmaktadır(39).

Son yıllarda beyin, kalp, bağırsak ve karaciğer dahil çeşitli organlarda BBR'nin I/R hasarına karşı koruyucu etkisinin araştırıldığı çok sayıda deneysel çalışma yapılmıştır. Chen ve ark. sıçanlarda BBR'nin bağırsak I/R hasar modelinde malondialdehit (MDA), miyeloperoksidaz (MPO) ve diamin oksidaz düzeylerini azaltarak koruyucu bir etki gösterdiğini saptamışlardır(173). Yine Liu ve ark. çalışmalarında, BBR'nin antioksidan aktivitesi sayesinde beyin dokusunu I/R hasarına karşı koruduğunu bildirmişler(174). Güncel bir çalışmada Zheng ve ark., BBR'nin sıçanlarda renal I/R hasar modelinde apoptozis ve oksidatif stres inhibisyonu ile böbrek fonksiyonlarını iyileştirdiğini raporlamışlar(40).

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 (Kavernlerde Vazokonjesyon, Üretra Epitel Dejenerasyonu, Kavernlerin Ortalama Sinüzoidal Alanı (µm²), Kavernlerde Vasküler Konjesyon, Kavern Çevresi Bağ Dokusu Artışı) ve biyokimyasal verileri (Doku TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx)

inceledik. Doku seviyelerindeki değişiklikler ve uygulanacak olan berberinin IR hasarı üzerine olası koruyucu etkisinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesini amaçladık.

Çalışmamızda histopatolojik olarak değerlendirdiğimiz korpus spongiozumdaki kavernlerdeki vazokonjesyon ve üretra epitel dejenerasyonu için hem kontrol grubu ile Pri/Rep grubu arasında; hem de Pri/Rep grubu ile Pri/Rep+BBR grubu arasındaki fark anlamlı bulunmadı($p>0,05$). Korpus kavernozumdaki kavernlerin ortalama sinüzoidal alanı için hem kontrol grubu ile Pri/Rep grubu arasında; hem de kontrol grubu ile Pri/Rep+BBR grubu arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0,001$). Ancak bu çalışmada Pri/Rep grubu ile Pri/Rep+BBR grubu arasındaki fark anlamlı bulunmadı($p>0,05$). Yine korpus kavernozumda kavernlerde vasküler konjesyon için gruplar arası anlamlı sonuç ortaya konulamadı ($p>0,05$). Kavern evresi bağ dokusu artışında ise gruplar arasında anlamlı fark olmadığı görüldü($p>0,05$).

Çalışmamızda histolojik veriler açısından Pri/Rep+BBR grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamış olması; iskemik priapizmde ancak 12 saatten sonra kavernozaal düz kasta ultrastrüktürel değişikliklerin, nekroz ve fibrozisin meydana gelmesiyle açıklanabilir.

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

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(175,176). Çalışmamızda doku MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre, P/R grubunda daha yüksek olduğu izlenmiş olup hipotezimizle uyumlu olduğu

görülmüştür. BBR infüzyonu ile birlikte Pri/Rep+BBR grubunda I/R grubuna göre doku MDA'da istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır ($p>0,05$).

Sheng ve ark., sıçanlarda yaptıkları I/R modelinde oksidatif stres ve apoptoz seviyesini karşılaştırarak, BBR'nin karaciğer fonksiyonunu önemli ölçüde düzelttiğini, histopatolojik hasarı azalttığını raporlamışlardır(37). Bu ve buna benzer diğer çalışmalarda MDA artışının ve SOD aktivitesinin yükselmesinin engellenerek, BBR tedavisinin etkinliği gösterilmektedir. Visnagri ve ark., BBR'nin I/R hasarına karşı SOD ve GSH seviyelerinde artış, MDA ve MPO seviyelerindeki azalma ile böbrek dokusu üzerindeki koruyucu etkisi olduğunu göstermişlerdir(177). Yu ve ark., BBR'nin, MDA ve MPO seviyelerinde düşme, SOD aktivitesinde yükselme ile, I/R hasarına karşı kalp dokusu üzerindeki koruyucu etkisini göstermişlerdir(178). Diğer bir çalışmada ise Abdulredha ve ark., sıçanlarda yapılan I/R modelinde BBR'nin, cTn-T ve MDA artışını engelleyerek kardiyak hasara karşı koruyucu olduğunu göstermişlerdir(179).

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(180). 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(181). Kısaoğlu ve ark. yayınladıkları derlemelerinde, oksidan/antioksidan dengenin oksidanlar tarafına kaymasının, antioksidan sistemlerin fazla tüketilmesine bağlı olarak geliştiğini bildirmişlerdir(182).

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; Pri/Rep+BBR grubunda ise Pri/Rep grubuna göre doku TOS düzeylerindeki düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Bu bulgular BBR'nin antioksidan özelliğini desteklemektedir.

Myeloperoksidaz (MPO), memeli nötrofillerinin granüllerinde yer alan bir enzim olup, fagosit 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(22,23). Çalışmamızda doku MPO düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Pri/Rep+BBR grubunda ise Pri/Rep grubuna göre doku MPO düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Doku SOD düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çalışmamızda toplam antioksidan kapasite düzeyleri için toplam oksidan seviye düzeyi yüzde oranı oksidatif stres indeksi (OSI) olarak değerlendirildi(20). 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, eikosonoidlerin sentezlenmesinde, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptozisde de antioksidan olarak faaliyet gösterir. Glutasyon, GPx'in katalitik etkisiyle lipid peroksitleri ve H_2O_2 'yi detoksifiye eder ya da O_2^- 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(21).

Çalışmamızda doku GSH düzeylerinde Pri/Rep grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi($p<0,05$), ancak Pri/Rep+BBR grubunda ise Pri/Rep grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi($p>0,05$). Doku GPx düzeylerinde gruplar arası farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı($p>0,05$). Bu durum yapılan çalışmanın akut bir çalışma olmasına bağlandı.

Endoplazmik retikulum (ER) şaperonları, ER'nin normal işlevi için gerekliliği açısından ortaya konulmuştur(24). GRP78'in ER stresi için esas düzenleyicilerden olduğu kanıtlanmıştır(26). ATF6'nın proapoptotik CHOP'un erken dinamiklerini şekillendirdiğini öne süren çalışmalarda mevcuttur(183). La ve ark. yaptığı çalışmada BBR'nin, ATF6 bölünmesinin aktivasyonu ve GRP78 ekspresyonunu indükleyerek otofaji ve kanser hücrelerinin ölümü ile sonuçlandığını göstermişlerdir(184). Gong ve ark. yaptıkları başka bir çalışmada BBR'nin, GRP78'in down regülasyonu ile kolorektal kanser hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü engellediğini belirtmişlerdir(185). Çalışmamızda doku GRP78, doku ATF6 ve doku CHOP düzeylerinde Pri/Rep grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi($p<0,05$), Pri/Rep+BBR grubunda ise Pri/Rep grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu izlendi($p<0,05$). Bu durum BBR'nin ER stresini hafifleterek, I/R'nin neden olduğu metabolik bozuklukları iyileştirebileceğini göstermiştir.

6. Sonuç ve Öneriler

Sonuç olarak bu deneysel çalışmada akut iskemik priapizmde uygulanan BBR'nin I/R hasarı üzerine oksidan-antioksidan denge açısından koruyucu etkilerini araştırdık. Priapizm modelinde reperfüzyon öncesi berberin uygulanması, literatürde yapılmış olan farklı deneysel çalışma modellerinin sonuçlarıyla uyumlu bulundu. Araştırılmış olan biyokimyasal parametrelerin önemli bir bölümü berberinin antioksidan etkisini gösterdi. Anlamlı bulunmayan parametrelerin çalışmanın akut dönemi kapsamı ve reperfüzyon süresinin kısa olmasıyla ilişkili olduğu kanısına varıldı. Reperfüzyon süresinin uzatılması ile daha fazla biyokimyasal ve histolojik parametrede anlamlı fark bulunabileceği sonucuna varıldı.

Çalışmamızda histolojik değişiklik saptanamaması, literatürde 4 saatten kısa süreli priapizm modellerinde histolojik değişikliklerin ortaya çıkmadığı bulgusuyla uyumludur.

Berberin ile ilgili yapılacak ileri ve uzun dönem çalışmalar sonucunda; berberinin iskemik priapizm modelinde meydana gelen biyokimyasal ve histolojik hasarı engellemede daha etkili olabileceğini ortaya çıkarabilir.

KAYNAKLAR

1. A. C. M. Kendirci M. AK. The History Of Male-Female Sexuality And Fertility In Asia Minor:(Today's Turkey). İstanbul: Turkish Society Of Andrology., 2003.
2. Ş. C. Klasik Yunan Mitolojisi. 1. Baskı. İstanbul: Remzi Kitabevi, 1970.
3. Pautler SE, Brock GB. PRIAPISM: From Priapus to the Present Time. Urol Clin North Am. 2001 May 1;28(2):391–404.
4. Hatzichristou D, Salpiggidis G, Hatzimouratidis K, Apostolidis A, Tzortzis V, Bekos A, et al. Management strategy for arterial priapism: Therapeutic dilemmas. J Urol. 2002 Nov 1;168(5):2074–7.
5. McMahon CG. High flow priapism due to an arterial-lacunar fistula complicating initial veno-occlusive priapism. Int J Impot Res. 2002;14(3):195–6.
6. Witt MA, Goldstein I, Saenz de Tejada Y, Greenfield A, Krane R. Traumatic laceration of intracavernosal arteries: The pathophysiology of nonischemic, high flow, arterial priapism. J Urol; 143: 129-32, 1990.
7. Tay YK, Spornat D, Rzetelski-West K, Appu S, Love C. Acute management of priapism in men. BJU Int. 2012 Apr;109(SUPPL. 3):15–21.
8. Burnett AL, Bivalacqua TJ. Priapism: New Concepts in Medical and Surgical Management. Vol. 38, Urologic Clinics of North America. 2011. p. 185–94.
9. 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 I):1318–24.
10. Broderick GA, Kadioglu A, Bivalacqua TJ, Ghanem H, Nehra A, Shamloul R. Priapism: Pathogenesis, epidemiology, and management. J Sex Med. 2010;7(1 PART 2):476–500.
11. 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.
12. 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.
13. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Garcia-Gonzalez MJ, Samimi-Fard S, Reiter RJ, Kaski JC. Association of ischemia-modified albumin and melatonin in patients with ST-elevation myocardial infarction. Atherosclerosis. 2008 Jul;199(1):73–8.
14. Moreland RB, Traish A, McMillin MA, Smith B, Goldstein I, Saenz de Tejada I. Investigative Urology: PGE sub 1 Suppresses the Induction of Collagen

Synthesis by Transforming Growth Factor-beta sub 1 in Human Corpus Cavernosum Smooth Muscle. *J Urol*. 1995;153(3):826–34.

15. Sanli O, Armagan A, Kandirali E, Ozerman B, Ahmedov I, Solakoglu S, et al. TGF- β 1 neutralizing antibodies decrease the fibrotic effects of ischemic priapism. *Int J Impot Res*. 2004 Dec;16(6):492–7.
16. Uluocak N, Atılgan 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.
17. 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.
18. Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI, Aldini G. Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Arch Biochem Biophys*. 2004 Oct 1;430(1):97–103.
19. Aydın M, Selcoki Y, Nazlı Y, Yalçın KS, Canbal M, Demirçelik B, et al. Relationship between total antioxidant capacity and the severity of coronary artery disease. *J Clin Exp Investig*. 2012 Mar 13;3(1):22–8.
20. Harma M, Harma M, Kocyigit A, Erel O. Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole. *Mutat Res - Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2005 May 2;583(1):49–54.
21. Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN. 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods Enzymol*. 1999;300:156–66.
22. J A. Properties, functions, and secretion of human myeloperoxidase. *Biochemistry (Mosc)*. 2004 Jan;69(1):4–9.
23. Aratani Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Arch Biochem Biophys*. 2018 Feb 15;640:47–52.
24. Ni M, Lee AS. ER chaperones in mammalian development and human diseases. *FEBS Lett*. 2007 Jul 31;581(19):3641–51.
25. Ma Y, Hendershot LM. ER chaperone functions during normal and stress conditions. *J Chem Neuroanat*. 2004 Sep;28(1–2):51–65.
26. Lee AS. The ER chaperone and signaling regulator GRP78/BiP as a monitor of endoplasmic reticulum stress. *Methods*. 2005;35(4):373–81.
27. Li J, Lee A. Stress induction of GRP78/BiP and its role in cancer. *Curr Mol Med*. 2006 Feb 6;6(1):45–54.
28. Yoshida H, Okada T, Haze K, Yanagi H, Yura T, Negishi M, et al. Endoplasmic Reticulum Stress-Induced Formation of Transcription Factor Complex ERSF Including NF- κ B (CBF) and Activating Transcription Factors 6 α and 6 β That Activates the Mammalian Unfolded Protein Response. *Mol*

Cell Biol. 2001 Feb 15;21(4):1239.

29. Zhang K, Kaufman RJ. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. *Nature*. 2008 Jul 24;454(7203):455–62.
30. Naidoo N. ER and aging-Protein folding and the ER stress response. *Ageing Res Rev*. 2009 Jul;8(3):150–9.
31. Schröder M, Kaufman RJ. The mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Biochem*. 2005;74:739–89.
32. Malhi H, Kaufman RJ. Endoplasmic Reticulum Stress in Liver Disease. *J Hepatol*. 2011 Apr;54(4):795.
33. Schönthal AH. Pharmacological targeting of endoplasmic reticulum stress signaling in cancer. *Biochem Pharmacol*. 2013 Mar 1;85(5):653–66.
34. Turan I, Demir S, Kilinc K, Burnaz NA, Yaman SO, Akbulut K, et al. Antiproliferative and apoptotic effect of *Morus nigra* extract on human prostate cancer cells. *Saudi Pharm J*. 2017 Feb 1;25(2):241–8.
35. Gholampour F, Moghadam SMF, Owji SM. Berberine improves kidney injury following renal ischemia reperfusion in rats. *Int J Zool Res*. 2015;11(1):9–18.
36. Tillhon M, Guamán Ortiz LM, Lombardi P, Scovassi AI. Berberine: New perspectives for old remedies. *Biochem Pharmacol*. 2012 Nov 15;84(10):1260–7.
37. Sheng M, Zhou Y, Yu W, Weng Y, Xu R, Du H. Protective Effect of Berberine Pretreatment in Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury of Rat. *Transplant Proc*. 2015 Mar 1;47(2):275–82.
38. Kumar A, Ekavali, Chopra K, Mukherjee M, Pottabathini R, Dhull DK. Current knowledge and pharmacological profile of berberine: An update. *Eur J Pharmacol*. 2015 Aug 15;761:288–97.
39. Wang K, Feng X, Chai L, Cao S, Qiu F. The metabolism of berberine and its contribution to the pharmacological effects. <https://doi.org/10.1080/0360253220171306544>. 2017 Apr 3;49(2):139–57.
40. Zheng H, Lan J, Li J, Lv L. Therapeutic effect of berberine on renal ischemia-reperfusion injury in rats and its effect on bax and Bcl-2. *Exp Ther Med*. 2018 Sep 1;16(3):2008–12.
41. HJC. MA. Muscles and fasciae of the perineum: true pelvis, pelvic floor and perineum. *Gray's Anatomy (Standring, S. ed.)* 39th ed. Philadelphia 2005; 1365-1371.
42. Lue T, Giuliano F, Khoury S RR. *Clinical Manual of Sexual Medicine Sexual Dysfunctions in Men*. 2003.
43. P. A. . Wein A.J. KL. *Campbell's Urology*. 10th Ed. Physiology Of Penile Erection And Pathophysiology Of Erectile Dysfunction, 10th ed. Philadelphia, 2012.

44. Bookstein JJ, Lang E V. Penile magnification pharacoarteriography: Details of intrapenile arterial anatomy. *Am J Roentgenol.* 1987;148(5):883–8.
45. Chung BI, Sommer G BJ. Alt Üriner Sistem ve Erkek Genital Sistemin Anatomisi. In: Wein AJ, editor. *Campbell-Walsh Üroloji.* 10th ed. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; 2014. p. 65.
46. Sam D. Graham, Jr. M, Thomas E. Keane M. Anatomy of the Penis and Scrotum. In: Glenn’s *Urological Surgery.* Lippin Cott Williams & Wilkin’s; 2010. p. 465–6.
47. Auffenberg GB, Helfand BT, McVary KT. Normal Erectile Physiology. *Contemp Treat Erectile Dysfunct.* 2011;11–22.
48. Arıncı K K ST. Penis’in Damar Sistemi ve İnnervasyonu. *Türkiye Klinikleri Temel Tıp Bilimleri* 1991; 11: 81-86.
49. Luis Carlos Junqueira JC. *Temek Histoloji Text & Atlas.* 2006: Nobel Tıp Kitabevi.446.
50. Lue TF. Penil Ereksiyonun Fizyolojisi ve Eretil Disfonksiyonun Patofizyolojisi. In: Wein AJ, editor. *Campbell-Walsh Üroloji.* Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; 2014. p. 688-706.
51. Guyton AC. HJ. *Textbook of Medical Physiology* 10th ed. 2000.
52. Sattar AA, Salpingidis G, Schulman CC WE. [Relationship between intrapenile O2 lever and quantity of intracavernous smooth muscle fibers: current physiopathological concept]. *Acta urologica Belgica.* 1995;63(1):53-9.
53. Anafarta K GÖ. Erkek Cinsel İşlev Bozuklukları. In: *Temel Üroloji.* 4th ed. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; 2011. p. 1099-1100.
54. Pryor J, Akkus E, Alter G, Jordan G, Le Bret T, Levine L, et al. Priapism. *J Sex Med.* 2004;1(1):116–20.
55. Ozan T, Fırdolaş F Oİ. “Deneyisel Çalışmalarda Priapizm: Kliniğe Yansımalar”. *Turk Urol Sem* 2011; 2: 281-7.
56. Ul-Hasan M, El-Sakka AI, Lee C, Yen TS, Dahiya R LT. Expression of TGF-beta 1 m-RNA and ultrastructural alterations in pharmacologically induced prolonged penile erection in a canine model. *J Urol* 1998;160:2263-6 - Google’da Ara.
57. Burnet A, Tillman SL, Chang TS, 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;150:73-6.
58. Claudino MA ontribute. to EDC by LNOI in RR by RPT, 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 1;75(4):961–7.

59. Murad F. Nitric Oxide and Cyclic GMP in Cell Signaling and Drug Development [Internet]. Vol. 500, N Engl J Med. 2006. Available from: www.nejm.org
60. Phatarpekar P V., Wen J, Xia Y. Role of Adenosine Signaling in Penile Erection and Erectile Disorders. J Sex Med. 2010 Nov 1;7(11):3553–64.
61. Patole S, Lee J, Buettner P, Whitehall J. Improved Oxygenation following Adenosine Infusion in Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn. Neonatology. 1998 Nov;74(5):345–50.
62. 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.
63. Shamloul R. The Potential Role of the Heme Oxygenase/Carbon Monoxide System in Male Sexual Dysfunctions. J Sex Med. 2009 Feb 1;6(2):324–33.
64. 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 Aug 1;5(8):1876–82.
65. Ünüş İ, Firdolaş F, Özcan M, Karakeçi A, Onur R Oİ. Bosentan, Teofilin ve Vardenafil'in priapizm tedavisinde kullanımı. 9.Ulusal Androloji Kongresi. 1-4 Haziran 2011;92.
66. Montorsi F, Briganti A, Salonia A, Montorsi P, Rigatti P. The use of phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction. Curr Opin Urol. 2004 Nov;14(6):357–9.
67. Lin CS. Phosphodiesterase Type 5 Regulation in the Penile Corpora Cavernosa. J Sex Med. 2009 Mar 1;6(SUPPL. 3):203–9.
68. Bialecki ES, Bridges KR. Sildenafil relieves priapism in patients with sickle cell disease. Am J Med. 2002 Aug 15;113(3):252.
69. Burnett AL, Bivalacqua TJ, Champion HC, Musicki B. Long-term oral phosphodiesterase 5 inhibitor therapy alleviates recurrent priapism. Urology. 2006 May 1;67(5):1043–8.
70. Lin CS, Lin G, Lue TF. Cyclic Nucleotide Signaling in Cavernous Smooth Muscle. J Sex Med. 2005 Jul 1;2(4):478–91.
71. 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.
72. 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 Sep 1;5(9):2152–9.
73. 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. <https://doi.org/10.1152/ajpheart19912614H1078>.

1991;261(4 30-4).

74. Raja SG, Dreyfus GD. Current status of bosentan for treatment of pulmonary hypertension. Vol. 11, *Annals of cardiac anaesthesia*. 2008. p. 6–14.
75. Gabbay E, Fraser J, McNeil K. Review of bosentan in the management of pulmonary arterial hypertension. Vol. 3, *Vascular Health and Risk Management*. 2007. p. 887–900.
76. Benigni A, Remuzzi G. Endothelin antagonists. Vol. 353, *Lancet*. Elsevier B.V.; 1999. p. 133–8.
77. 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.
78. Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 1997;14(3):195–203.
79. Şener G, Yeğen BÇ. “İskemi Reperfüzyon Hasarı,” *Klin. Gelişim*, vol. 22, no. 3, pp. 5–13, 2009.
80. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr*. 1990 Jan 1;137:1–53.
81. 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.
82. 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.
83. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med*. 1991;42:225–46.
84. Baines CP. The mitochondrial permeability transition pore and ischemia–reperfusion injury. *Basic Res Cardiol*. 2009;104(2):181–8.
85. 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).
86. 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.
87. Schaffer SW, Roy RS, McCormord JM. Possible role for calmodulin in calcium paradox-induced heart failure. *Eur Heart J*. 1990 Jan 1;4(suppl_H):81–7.
88. Valko M, Morris H, Cronin M. Metals, Toxicity and Oxidative Stress. *Curr Med Chem*. 2005 Apr 30;12(10):1161–208.
89. 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.

90. Parks DA, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: A reevaluation. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol*. 1988;254(5).
91. 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.
92. Kopáni M, Celec P, Danišovič L, Michalka P, Biró C. Oxidative stress and electron spin resonance. *Clin Chim Acta*. 2006 Feb;364(1–2):61–6.
93. Solaini G, Harris DA. Biochemical dysfunction in heart mitochondria exposed to ischaemia and reperfusion. *Biochem J*. 2005 Sep 1;390(Pt 2):377.
94. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain 1 . *FASEB J*. 1995 Apr;9(7):526–33.
95. Akkuş İ. Serbest Radikaller Ve Fizyopatolojik Etkileri. KONYA: MİMOZA YAYINLARI, 1996.
96. Altan N, Sepici Dinçel A, Koca C, Üniversitesi Tıp Fakültesi G, Biyokimya Anabilim Dalı T, Üniversitesi Tıp Fakültesi F, et al. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres Diabetes Mellitus and Oxidative Stress.
97. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*. 1994 Sep 10;344(8924):721–4.
98. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med*. 2000 Jul 28;109(1):33–44.
99. Davies SJ, Reichardt-Pascal SY, Vaughan D, Russell GI. Differential effect of ischaemia-reperfusion injury on anti oxidant enzyme activity in the rat kidney. *Exp Nephrol*. 1995;3(6):348–54.
100. 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. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;939:200–15.
101. Kuyvenhoven JP, Meinders AE. Oxidative stress and diabetes mellitus Pathogenesis of long-term complications. *Eur J Intern Med*. 1999 May;10(1):9–19.
102. Güneş Ö., ERBAYCU A.E. ÇA. The diagnostic value of malondialdehyde level in pleural effusions. *Eurasian J Pulmonol*. 2003;5(4):213–9.
103. 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.
104. Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost*. 2007 May;97(5):738–47.
105. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull*. 2004;70:71–86.

106. Weight SC, Bell PRF, Nicholson ML. Renal ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg*. 2005 Dec 7;83(2):162–70.
107. 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.
108. Serracino-Inglott F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Surg*. 2001 Feb 1;181(2):160–6.
109. Parks DA, Granger DN. Xanthine oxidase: Biochemistry, distribution and physiology. *Acta Physiol Scand*. 1986;126(SUPPL. 548):87–99.
110. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2012;298:229–317.
111. Korthuis RJ, Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clin Cardiol*. 1993;16(4 Suppl 1):19–26.
112. 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.
113. 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.
114. Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, Stanimirovic D. Increased expression of bioactive chemokines in human cerebromicrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro. *J Neuroimmunol*. 1999 Nov 15;101(2):148–60.
115. García-Villalón AL, Amezcua 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.
116. Phillips L, Toledo AH, Lopez-Neblina F, Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH. Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. *J Investig Surg*. 2009;22(1):46–55.
117. 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.
118. 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.
119. Mickle DAG, Weisel RD. Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury. *Can J Cardiol*. 1993 Jan 1;9(1):89–93.
120. Virág L, Szabó C. The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase

- inhibitors. *Pharmacol Rev.* 2002 Sep;54(3):375–429.
121. Halliwell B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol.* 1995 May 17;49(10):1341–8.
 122. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci.* 2008 Jun;4(2):89.
 123. AYDEMİR B, SARI EK. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Vet Derg.* 2009 Jun 1;2(2):56–60.
 124. 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.
 125. 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.* 3(1).
 126. Sen S, Chakraborty R. The role of antioxidants in human health, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy,. *ACS Symp Ser.* 2011 Nov 17;1083:1–37.
 127. Young IS, Woodside J V. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.* 2001;54(3):176–86.
 128. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002;82(1):47–95.
 129. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2004;44(4):275–95.
 130. Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother.* 2003 May 1;57(3–4):145–55.
 131. Hevia D, Mayo JC, Tan DX, Rodriguez-Garcia A, Sainz RM. Melatonin enhances photo-oxidation of 2',7'-dichlorodihydrofluorescein by an antioxidant reaction that renders N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK). *PLoS One.* 2014 Oct 2;9(10).
 132. Aslan R, DüNDAR Y. Oksidan-Antioksidan Denge ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü. *Hayvancılık Araştırma Dergisi.* 1999; 9(1-2): 32-39.
 133. Li Y, Schellhorn HE. New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *J Nutr.* 2007;137(10):2171–84.
 134. Carr AC, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr.* 1999;69(6):1086–107.
 135. Allijn IE, Czarny BMS, Wang X, Chong SY, Weiler M, da Silva AE, et al. Liposome encapsulated berberine treatment attenuates cardiac dysfunction after myocardial infarction. *J Control Release.* 2017 Feb 10;247:127–33.
 136. Neag MA, Mocan A, Echeverría J, Pop RM, Bocsan CI, Crisan G, et al.

Berberine: Botanical Occurrence, traditional uses, extraction methods, and relevance in cardiovascular, metabolic, hepatic, and renal disorders. *Front Pharmacol.* 2018 Aug 21;9(AUG):557.

137. Dev S. A selection of prime ayurvedic plant drugs : ancient-modern concordance. New Delhi: Anamaya Publishers; 2006. 501 p.
138. Chen C, Yu Z, Li Y, Fichna J, Storr M. Effects of berberine in the gastrointestinal tract-A review of actions and therapeutic implications. *Am J Chin Med.* 2014 Apr 25;42(5):1053–70.
139. Singh IP, Mahajan S. Berberine and its derivatives: A patent review (2009-2012). Vol. 23, Expert Opinion on Therapeutic Patents. 2013. p. 215–31.
140. Battu SK, Repka MA, Maddineni S, Chittiboyina AG, Avery MA, Majumdar S. Physicochemical Characterization of Berberine Chloride: A Perspective in the Development of a Solution Dosage Form for Oral Delivery. *AAPS PharmSciTech.* 2010 Sep;11(3):1466.
141. Takase H, Yamamoto K, Ito K, Yumioka E. Pharmacological studies on antidiarrheal effects of berberine and geranii herba. *Nihon Yakurigaku Zasshi.* 1993;102(2):101–12.
142. Huang W, Wu Z, Gan Y. Effects of berberine on ischemic ventricular arrhythmia. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi.* 1989 Oct 1;17(5):300–1, 319.
143. Sanders MM, Liu AA, Li TK, Wu HY, Desai SD, Mao Y, et al. Selective cytotoxicity of topoisomerase-directed protoberberines against glioblastoma cells. *Biochem Pharmacol.* 1998 Nov 1;56(9):1157–66.
144. Lin CC, Yang JS, Chen JT, Fan S, Yu FS, Yang JL, et al. Berberine induces apoptosis in human HSC-3 oral cancer cells via simultaneous activation of the death receptor-mediated and mitochondrial pathway. *Anticancer Res.* 2007 Sep;27(5 A):3371–8.
145. Hwang JM, Kuo HC, Tseng TH, Liu JY, Chu CY. Berberine induces apoptosis through a mitochondria/caspases pathway in human hepatoma cells. *Arch Toxicol.* 2006 Feb;80(2):62–73.
146. Lin JP, Yang JS, Lee JH, Hsieh WT, Chung JG. Berberine induces cell cycle arrest and apoptosis in human gastric carcinoma SNU-5 cell line. *World J Gastroenterol.* 2006 Jan 7;12(1):21.
147. Mantena SK, Sharma SD, Katiyar SK. Berberine, a natural product, induces G1-phase cell cycle arrest and caspase-3-dependent apoptosis in human prostate carcinoma cells. *Mol Cancer Ther.* 2006 Feb;5(2):296–308.
148. Liu Z, Liu Q, Xu B, Wu J, Guo C, Zhu F, et al. Berberine induces p53-dependent cell cycle arrest and apoptosis of human osteosarcoma cells by inflicting DNA damage. *Mutat Res.* 2009 Mar 9;662(1–2):75–83.
149. Baoxin L, Baofeng Y, Xiaomin H. Study on the pharmacokinetics of berberine in single dosage and coadministration with oryzanol in rabbits and healthy

- volunteers. *Chinese Pharm J.* 2000 Jan;35(1):33–5.
150. Kulkarni SK, Dhir A. Berberine: a plant alkaloid with therapeutic potential for central nervous system disorders. *Phytother Res.* 2010 Mar;24(3):317–24.
 151. Zuo F, Nakamura N, Akao T, Hattori M. Pharmacokinetics of berberine and its main metabolites in conventional and pseudo germ-free rats determined by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry. *Drug Metab Dispos.* 2006 Dec;34(12):2064–72.
 152. Zhang SL, Chang JJ, Damu GLV, Geng RX, Zhou CH. Berberine azoles as antimicrobial agents: synthesis, biological evaluation and their interactions with human serum albumin. *Medchemcomm.* 2013 Apr 30;4(5):839–46.
 153. Habtemariam S. Berberine pharmacology and the gut microbiota: A hidden therapeutic link. *Pharmacol Res.* 2020 May 1;155.
 154. Liu CS, Zheng YR, Zhang YF, Long XY. Research progress on berberine with a special focus on its oral bioavailability. *Fitoterapia.* 2016 Mar 1;109:274–82.
 155. Singh DP, Chopra K. Verapamil augments the neuroprotectant action of berberine in rat model of transient global cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol.* 2013 Nov 15;720(1–3):98–106.
 156. Mirhadi E, Rezaee M, Malaekheh-Nikouei B. Nano strategies for berberine delivery, a natural alkaloid of *Berberis*. *Biomed Pharmacother.* 2018 Aug 1;104:465–73.
 157. Guo Y, Li F, Ma X, Cheng X, Zhou H, Klaassen CD. CYP2D plays a major role in berberine metabolism in liver of mice and humans. *Xenobiotica.* 2011 Nov;41(11):996–1005.
 158. Yu Y, Cai W, Zhou J, Lu H, Wang Y, Song Y, et al. Anti-arthritis effect of berberine associated with regulating energy metabolism of macrophages through AMPK/ HIF-1 α pathway. *Int Immunopharmacol.* 2020 Oct 1;87:106830.
 159. Vuddanda PR, Chakraborty S, Singh S. Berberine: a potential phytochemical with multispectrum therapeutic activities. *Expert Opin Investig Drugs.* 2010 Oct;19(10):1297–307.
 160. Singh N, Sharma B. Toxicological effects of berberine and sanguinarine. *Front Mol Biosci.* 2018 Mar 19;5(MAR):21.
 161. Kamrani Rad SZ, Rameshrad M, Hosseinzadeh H. Toxicology effects of *Berberis vulgaris* (barberry) and its active constituent, berberine: a review. *Iran J Basic Med Sci.* 2017 May 1;20(5):516–29.
 162. Zou K, Li Z, Zhang Y, Zhang HY, Li B, Zhu WL, et al. Advances in the study of berberine and its derivatives: a focus on anti-inflammatory and anti-tumor effects in the digestive system. *Acta Pharmacol Sin.* 2017 Feb 1;38(2):157–67.
 163. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.* 1978;86(1):271–8.

164. 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. <https://doi.org/101080/0894193920212015489>. 2021;35(5):1106–11.
165. Bradbury, P., Rae, K., Bancroft, J.D. SA eds. 1996. Theory and Practice of Histological Techniques (6.Baskı). Connective tissues and stains.129 Churchill Livingstone Company.
166. Karagüzel E, Bayraktar C, Kutlu O, Yulug E, Mentese A, Okatan AE, et al. The possible protective effects of dipyridamole on ischemic reperfusion injury of priapism. *Int Braz J Urol*. 2016 Jan 1;42(1):146–53.
167. Concannon MJ, Kester CG, Welsh CF, Puckett CL. Patterns of free-radical production after tourniquet ischemia: implications for the hand surgeon. *Plast Reconstr Surg*. 1992;89(5):846–52.
168. 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.
169. Spycher MA, Hauri D. The ultrastructure of the erectile tissue in priapism. *J Urol*. 1986;135(1):142–7.
170. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: A new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. Vol. 53, *Pharmacological Reviews*. 2001. p. 135–59.
171. 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.
172. G. Poli, E. Albano MUD. Free Radicals: from Basic Science to Medicine. *Free Radicals from Basic Sci to Med*. 1993;
173. Chen T, Lv B. Protective effects of berberine on intestinal ischemia and reperfusion injury in rats. *Arch Biol Sci*. 2017;69(1):45–51.
174. Liu H, Ren X, Ma C. Effect of Berberine on Angiogenesis and HIF-1 α / VEGF Signal Transduction Pathway in Rats with Cerebral Ischemia - Reperfusion Injury. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2018 Oct 1;28(10):753–7.
175. 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.
176. Taçyıldız İ, Aldemir M, Girgin S, Büyükbayram H, Baç B. Karaciğer İskemi/Reperfüzyon Hasarının Önlenmesinde Topikal Hipotermi, Metilprednizolon ve BN 52021 Uygulamasının Etkinliği | 2002, Volume 18, Issue 2 | Turkish Journal of Surgery.

177. Visnagri A, Kandhare AD, Bodhankar SL. Renoprotective effect of berberine via intonation on apoptosis and mitochondrial-dependent pathway in renal ischemia reperfusion-induced mutilation. *Ren Fail.* 2015 Apr 1;37(3):482–93.
178. Yu L, Li Q, Yu B, Yang Y, Jin Z, Duan W, et al. Berberine Attenuates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury by Reducing Oxidative Stress and Inflammation Response: Role of Silent Information Regulator 1. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016.
179. Abdulredha A, Abosaooda M, Al-Amran F, Hadi NR. Berberine Protects the Heart from Ischemic Reperfusion Injury via Interference with Oxidative and Inflammatory Pathways. *Med Arch (Sarajevo, Bosnia Herzegovina).* 2021 Jun 1;75(3):174–9.
180. 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 Apr 1;47(6):393–7.
181. Yağcı R, Özyurt H, Akbaş A, Aydın B, Özlük E, Ekşioğlu M, et al. Behçet hastalığında toplam antioksidan kapasite, toplam oksidan durum ve dehidroepiandrosteron sülfat düzeyleri.
182. Kisaoglu A, Borekci B, Yapca OE, Bilen H, Suleyman H. Tissue damage and oxidant/antioxidant balance. *Eurasian J Med.* 2013;45(1):47–9.
183. 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):100860.
184. La X, Zhang L, Li Z, Yang P, Wang Y. Berberine-induced autophagic cell death by elevating GRP78 levels in cancer cells. *Oncotarget.* 2017 Mar 3;8(13):20909.
185. Gong C, Hu X, Xu Y, Yang J, Zong L, Wang C, et al. Berberine inhibits proliferation and migration of colorectal cancer cells by downregulation of GRP78. *Anticancer Drugs.* 2020;31(2):141–9.