

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

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

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

Uzmanlık Tezi

Dr. Nijazi PEROLLİ

Trabzon – 2025

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

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

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

Uzmanlık Tezi

Dr. Nijazi PEROLLİ

Tez Danışmanı: Doç.Dr. İlke Onur Kazaz

Trzon – 2025

TEŞEKKÜR

Karadeniz Teknik Üniversitesi Üroloji Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan Tez Danışmanım Doç. Dr. İlke Onur KAZAZ'a

Üroloji Anabilim Dalındaki eğitimim süresince her türlü destek ve yardımlarından dolayı, Prof.Dr. Ersagun KARAGÜZEL'e, Prof. Dr. Rasin ÖZYAVUZ'a, Dr.Öğr.Üyesi Fatih ÇOLAK'a, eğitimim boyunca birlikte uyum içerisinde çalıştığım tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve Üroloji Anabilim Dalı çalışanlarına,

Biyokimya Anabilim Dalından Prof. Dr. Ahmet MENTEŞE ve Doç. Dr. Selim DEMİR'e Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. Gökçen KERİMOĞLU; ve Araştırma Görevlisi Dr. Esmâ Betül KARA' ya,

Bugünlere ulaşabilmemin en büyük mimarları olan, beni sonsuz sevgileriyle büyüten, hayata hazırlayan ve evlatları olmaktan her zaman gurur duyduğum canım aileme,

Hayatımın zorlu süreçlerinde yanımda bulunarak ve bu yolu benimle birlikte yürüyerek güzelleştiren, sınırsız sabrı ve sevgisiyle her an varlığını hissettiren sevgili eşim Melek ŞERİT PEROLLİ' ye sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

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

Giriş:

Priapizm tanım olarak cinsel istek, orgazm ve uyarıdan bağımsız yaklaşık 4-6 saat süren uzamış ereksiyon halidir. Bu durum acil bir tıbbi durumdur ve hemen tedavi edilmelidir, çünkü uzun süreli ereksiyon, penis dokularında hasara neden olabilir ve kalıcı cinsel fonksiyon kaybına yol açabilir. Priapizmin patofizyolojisi, genellikle üç ana tipe ayrılan düşük akımlı, iskemik, anoksik veya veno-oklüziv priapizm, yüksek akımlı, non-iskemik, iyi oksijenizasyonlu veya arterial priapizm, tekrarlayan, açılıp kapanan veya “stuttering” priapizm olarak sınıflandırılmaktadır. Priapizm sonlandıktan sonra iskemi reperfüzyon hasarı oluşur. Propolis güçlü bir antimikrobiyal, antioksidan, antitümör, antiinflamatuvar, antiülser gibi biyolojik aktivitelere sahip olduğu birçok bilimsel çalışma ile gösterilmiştir. Propolisin hücrelerin serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmasına veya detoksifikasyonunun sağlanmasına yardımcı olmaktadır.

Amaç:

Sıçanlarda yapılan penil iskemi-reperfüzyon modelinde, Propolisin priapizm ve reperfüzyon hasarı üzerindeki potansiyel olumlu etkilerinin histolojik ve biyokimyasal açıdan incelenmesi hedeflenmiştir.

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+ Propolis). Alınan penektomi materyalinde doku MDA ,SAD , GPx, SIRT1, GSH , NFkB, İL6 , STAT 3, HIF1a, GRP78, ATF6, CHOP,CASP 3, seviyelerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen ratların alınan penis dokusunun histolojik özellikleri (kavernöz sinüs dilatasyonu / konjesyonu, kavernöz dokuda ödem / dejenerasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, tunika albugineada ayrılma) değerlendirilmiştir.

Bulgular:

Çalışmamızda, Propolisin biyokimyasal olarak doku SOD, NFkB, HIF1a ve ATF6 seviyelerindeki bozulmayı engellediği tespit edilmiştir. Histolojik incelemeler ise, kavernöz sinüs dilatasyonu/konjesyonu ve tunika albugineada ayrılma açısından koruyucu etki gösterdiğini düşündüren sonuçlar sunmuştur.

Sonuç:

Propolisin, priapizm/ reperfüzyon durumunda dokularda oluşabilecek biyokimyasal ve histolojik hasarı engellemede etkili olabileceği kanısı uyanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Priapizm, Propolis, Reperfüzyon hasarı

SUMMARY

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

Introduction

Priapism is defined as a prolonged erection lasting approximately 4-6 hours, independent of sexual desire, orgasm, and stimulation. This condition is a medical emergency and should be treated immediately, as prolonged erection can damage penile tissues and lead to permanent loss of sexual function. The pathophysiology of priapism is generally classified into three main types: low-flow, ischemic, anoxic, or veno-occlusive priapism; high-flow, non-ischemic, well-oxygenated, or arterial priapism; and recurrent, on-off, or “stuttering” priapism. After the priapism ends, ischemia reperfusion injury occurs. Propolis has been shown to have strong antimicrobial, antioxidant, antitumor, anti-inflammatory, and antiulcer biological activities in many scientific studies. Propolis helps protect cells from the harmful effects of free radicals or provides detoxification.

Objective

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

Materials and Methods:

In this experimental study, a total of 18 adult male rats of the Sprague Dawley type, weighing 350-400 g, were used (3 groups; 6 rats in each group; control, priapism+reperfusion, priapism+ reperfusion+ Propolis). Changes in tissue levels of MDA ,SAD , GPx, SIRT1, GSH , NFkB, IL6 , STAT 3, HIF1a,

GRP78, ATF6, CHOP, CASP 3 in the penectomy material taken and histological characteristics of the penis tissue taken from the sacrificed rats (cavernous sinus congestion, cavernous tissue oedema/degeneration, inflammatory cell infiltration, separation in the tunica albuginea) were evaluated.

Findings

In our study, it was observed that Propolis could prevent the deterioration in tissue SOD, NFkB, HIF1a and ATF6 values biochemically. In our study, it was suggested that Propolis caused by histological examinations provided results suggesting a protective effect in terms of cavernous sinus dilatation/congestion and separation of the tunica albuginea.

Result

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

Keywords: Priapism, Propolis, Reperfusion injury

İÇİNDEKİLER

ŞEKİLLER.....	13
GRAFİKLER	14
RESİMLER.....	15
TABLolar	16
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 Penis Anatomisi	3
2.1.1 Penisin Arteryal Dolaşımı	4
2.1.2 Penisin Venöz Dolaşımı	5
2.1.3 Penisin Lenfatik Drenajı	6
2.1.4 Penisin İnnervasyonu	6
2.2 Penisin Histolojisi	8
2.3 Ereksiyon Fizyolojisi	8
2.4 Priapizmin Patofizyolojisi	10
2.4.1 Kavernoza Düz Kas Relaksasyonunda Artışa Yol Açan MekanizmalarNO-CGMP Yolağı	11
cAMP Yolağı	12
HO-1-CO Yolağı.....	13
2.4.2 Kavernoza Düz Kas Kontraksiyonunda Azalmaya Yol Açan Mekanizmalar.....	14
Azalmış Norepinefrin(NE) Cevabı:	15
Endotelin Etkinliği:	15
2.5 İskemi ve Reperfüzyon.....	16
2.5.1 Mekanizmalar	18
Serbest Oksijen Radikalleri.....	19
Polimorf Nüveli Lökositler (PNL)	20
Komplemanın Rolü	21
Endotel Hücresinin Rolü	21
2.5.2 Antioksidanların Rolü	22
2.6 Enzimler	22
Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	23
Glutasyon S-Transferaz (GST).....	23

Katalaz	24
Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz.....	24
Vitaminler ve Mineraller.....	24
Vitamin E (α -tokoferol)	25
Kalsiyum	25
Magnezyum.....	27
Tiyol Bileşikleri	27
Flavonlar	28
Selenyum.....	29
Propolis	29
3. MATERYAL VE METOD.....	33
3.1 Çalışma Grupları	33
3.2 Biyokimyasal İnceleme Yöntemi	36
3.3 Doku Örneklerinin Hazırlanışı.....	36
3.4 Doku Örneklerindeki Protein Miktarlarının Belirlenmesi	36
3.5 Doku MDA Düzeylerinin Belirlenmesi	37
3.6 Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Seviyelerinin Belirlenmesi	39
3.8 Doku Glutasyon (GSH) Seviyelerinin Belirlenmesi	42
3.9 Doku Sirtuin 1 (SIRT1) Seviyelerinin Belirlenmesi	44
3.10 Doku Nükleer Faktör-Kappa B (NF- κ B) Seviyelerinin Belirlenmesi	45
3.11 Doku İnterlökin-6 (IL-6) Seviyelerinin Belirlenmesi	47
3.13 Doku Hipoksi-İndüklenebilir Faktör-1 Alfa (HIF-1 α) Seviyelerinin Belirlenmesi	49
3.14 Doku Glukoz ile Düzenlenen Protein 78 (GRP78) Seviyelerinin Belirlenmesi	51
3.15 Doku Aktifleştirici Transkripsiyon Faktör 6 (ATF6) Seviyelerinin Belirlenmesi	52
3.16 Doku C/EBP Homolog Protein (CHOP) Seviyelerinin Belirlenmesi	54
3.17 Doku Kaspaz-3 (CASP3) Seviyelerinin Belirlenmesi	55
3.20 Histopatolojik İnceleme Yöntemi	57
3.21 İstatistiksel İnceleme Yöntemi	58
4.BULGULAR.....	59
4.1 Histopatolojik Bulgular:.....	59
Kontrol Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;	59
Priapizm/Reperfüzyon Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;	59
Priapizm/Reperfüzyon + Propolis Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;.....	59

Tablo 3. Graplardan elde edilen histolojik verilerin istatistiksel analizi	60
Tablo 4. Kontrol ve priapizm/reperfüzyon gruplarına ilişkin histolojik verilerin istatistiksel analizi....	62
Tablo 5. Priapizm/reperfüzyon ve priapizm/reperfüzyon+Propolis gruplarına ilişkin histolojik verilerin istatistiksel analizi.	63
4.2 Biyokimyasal Analiz Sonuçları.....	63
Tablo 6. Kontrol, priapizm ve priapizm+Propolis gruplarına ilişkin biyokimyasal veriler*	64
Tablo 7. Kontrol ve priapizm gruplarının karşılaştırılması*	65
Tablo 8. Priapizm ve priapizm+Propolis gruplarının karşılaştırılması*	65
Tablo 9. Kontrol ve priapizm+Propolis gruplarının karşılaştırılması*	66
5.TARTIŞMA	67
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	72
7.KAYNAKLAR	73

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

AC	Adenilat siklazı
ADA	Adenozin deaminaz
ATF6	Aktifleştirici Transkripsiyon Faktör 6
C	Kompleman
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CASP3	Kaspaz-3
CHOP	C/EBP Homolog Protein
DNA	Deoksiribonükleikasit
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentetaz
ET	Endotelin-1
ETZ	Elektron transport zinciri
GPx	Glutasyon peroksidaz
GRP78	Glikoz regüle protein-78
GSH	Glutasyon S-Transferaz
GSSG	Glutasyon disülfid
GST	Glutasyon S-transferaz
GTP	Guanozin trifosfat
H&E	Hematoksilen-eozin
H2O2	Hidrojen peroksit
HIF-1 α	Hipoksi-İndüklenebilir Faktör-1 Alfa
HO	Hemoksijenaz
HO1-CO	Hemoksijenaz 1-karbonmonoksit
IR	İskemi reperfüzyon
İL-6	İnterlökin-6
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
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
NF-kB	Nükleer Faktör-Kappa B
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentetaz
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentetaz
O2-	Süperoksit
OH-	Hidroksil
OH-	Hidroksil radikali
OSI	Oksidatif stres indeksi
PDE	Fosfodiesteraz enzimi
PDE5	Fosfodiesteraz tip 5
PNL	Polimorf nüveli lökositler
ROO	Peroksil radikali
ROS	Reaktif oksijen türleri
SIRT 1	Sirtuin 1
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikal
STAT 3	Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon 3 Aktivatörü
TBA	Tiyobarbitürik asit
TGF-b	Transforming growth faktör beta
TNF-a	Tümör nekroz faktör alfa
UPR	Katlanmamış protein cevabı

ŞEKİLLER

Şekil 1 Penil fasyalar, korporal yapılar,arterler,venler ve sinirlerin ortak görüldüğü penisin enine kesiti.....	- 6 -
Şekil 2 Penisin arteryel dolaşımı.....	- 7 -
Şekil 3 Dorsal penil arterler, venler ve sinirler	- 8 -
Şekil 4 Penisin innervasyonu	- 9 -
Şekil 5 Penil ereksiyonun mekanizması	- 11 -
Şekil 6 cAMP Yolağı	- 13 -
Şekil 7 İskemi reperfüzyon hasarında ksantin oksidaz aracılığıyla meydana gelen reaktifoksijen türlerinin oluşumu	- 19 -
Şekil 8 Propolis Kimyasal Yapısı	- 29 -

GRAFİKLER

Grafik 1. Doku MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	- 36 -
Grafik 2. SOD ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	- 37 -
Grafik 3. GPx ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	- 40 -
Grafik 4. GSH ölçümünde kullanılan standart grafiği	- 41 -
Grafik 5. SIRT1 ölçümünde kullanılan standart grafiği	- 43 -
Grafik 6. NF-κB ölçümünde kullanılan standart grafiği	- 44 -
Grafik 7. IL-6 ölçümünde kullanılan standart grafiği	- 46 -
Grafik 8. STAT3 ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	- 46 -
Grafik 9. HIF-1α ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	- 49 -
Grafik 10. GRP78 ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	- 50 -
Grafik 11. ATF6 ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	- 51 -
Grafik 12. CHOP ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	- 53 -

RESİMLER

Resim 3.1 Konstriktör bant kullanılarak oluşturulan ereksiyon modeli	- 34 -
Resim 3.2. Penis diseksiyonu	- 35 -
A: Grup kontrole ait penis kesiti. Üretral epitel (UE), Korpus spongiozum (CS), Korpus kavernozum (CC), (H&Ex200).	
B: Grup priapizme ait penis kesiti. Tunika albugineada ayrılma (yıldız), korpus kavernozumda ödem (ok), kavernöz sinüslerde dilatasyon (ok başı) (H&E x200).	
C: Grup tedaviye ait penis kesiti. Tunika albugineada ayrılma (yıldız), kavernöz sinüslerde dilatasyon (ok başı), (H&E x200).	
D: Grup kontrole ait penis kesiti. Bağ doku-kollajen lifler (çentikli ok) ve düz kas (köşeli ok) (Masson trikrom x400).	
E: Grup priapizme ait penis kesiti. Bağ doku-kollajen lifler (çentikli ok) ve düz kas (köşeli ok) (Masson trikrom x400).	
F: Grup tedaviye ait penis kesiti. Bağ doku-kollajen lifler (çentikli ok) ve düz kas (köşeli ok) (Masson trikrom x400).....	- 60 -

TABLÖLAR

Tablo 1. Çalışma grupları	- 52 -
Tablo 2. Korpus Kavernozum ve Spongiozuma ait Histolojik değerlendirme sonuçlar	-61-
Tablo 3. Gruplardan elde edilen histolojik verilerin istatistiksel analizi	- 62 –
Tablo 4. Kontrol ve priapizm/reperfüzyon gruplarına ilişkin histolojik verilerin istatistiksel analizi.....	- 62 -
Tablo 5. Priapizm/reperfüzyon ve priapizm/reperfüzyon+Propolis gruplarına ilişkin histolojik verilerin istatistiksel analizi.....	-63 –
Tablo 6. Kontrol, priapizm ve priapizm+Propolis gruplarına ilişkin biyokimyasal veriler	-64-
Tablo 7. Priapizm ve priapizm+Propolis gruplarının karşılaştırılması	-65-
Tablo 8. Kontrol ve Priapizm +Propolis gruplarının karşılaştırılması	-65-
Tablo 9. Kontrol ve Priapizm +Propolis gruplarının karşılaştırılması.....	-66-

1.GİRİŞ

Priapizm tanım olarak cinsel istek, orgazm ve uyarıdan bağımsız yaklaşık 4-6 saat süren uzamış ereksiyon halidir. Bu durum acil bir tıbbi durumdur ve hemen tedavi edilmelidir, çünkü uzun süreli ereksiyon, penis dokularında hasara neden olabilir ve kalıcı cinsel fonksiyon kaybına yol açabilir. Priapizmin patofizyolojisi, genellikle üç ana tipe ayrılan düşük akımlı, iskemik, anoksik veya veno-okluziv priapizm, yüksek akımlı, non-iskemik, iyi oksijenizasyonlu veya arterial priapizm, tekrarlayan, açılıp kapanan veya “stuttering” priapizm olarak sınıflandırılmaktadır. (2).

Düşük akımlı, iskemik, anoksik veya veno-okluziv priapizm ,priapizmin en sık karşılaşılan tipidir. İskemik priapizmdeki asıl patoloji progresif olarak artan hipoksi, hiperkapni ve asidoza bağlı olarak değişen korporal metabolik değişimlerdir (3). Yapılan deneysel ve klinik çalışmalar göstermiştir ki, hipoksi ve asidoz 4 saat sonra kavernoza fibrozise neden olmaktadır ve bu süreden önce priapizmin tedavi edilmesi kavernoza fibrozisi önleyebilmektedir (4). İskemik priapizm, penisin kompartman sendromu şeklinde düşünülebilir ve kompartman sendromunun kavernoza fibrozis ve kalıcı erektil disfonksiyon gibi geri dönüşsüz sonuçlarını önlemek için acil tıbbi müdahale gerekir (5). Hematolojik diskreziler, iskemik priapizm için başlıca risk faktörüdür. İyatrojenik olarak intrakavernoza enjeksiyonlar, oral fosfodiesteraz tip 5 (PDE 5) inhibitörleri de priapizme neden olabilir.

Non-iskemik (arteryel, yüksek akımlı) tip, priapizmin daha az görülen tipidir ve düzensiz kavernoza kan akımı nedeniyle oluşmaktadır. Bu tip kavernoza arter veya dallarından birinin korpus kavernoza içine rüptürü sonucu meydana gelmektedir (6). Ardından sinüzoidal dokunun arteryel ve lakünolar boşlukları arasında yüksek akışlı bir fistül oluşturur (7). Bu türbülanslı kan akışı endotelial nitrik oksit sentezinin uyarılmasına neden olan bir mekanizma yoluyla kalıcı bir ereksiyona neden olur (8).

Tekrarlayan priapizm sıklıkla idiopatik olan nadir görülen bir durumdur. Çocuklarda sıklıkla hematolojik hastalıklar ile ilişkili iken, erişkinlerde ise genellikle idiopattir (9)

Priapizmin sonlanması ile iskemi reperfüzyon (IR) hasarı meydana gelmektedir (10). 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.

Propolisin tıpta çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı ve antimikrobiyal, antioksidan, antitümör, antiinflamatuvar, antiülser gibi biyolojik aktivitelere sahip olduğu birçok bilimsel çalışma ile gösterilmiştir. Propolisin antibakteriyal etkisi, özellikle gram (+) koklar ile gram (-) basiller üzerinde gözlenmiştir. Propolis uygulanan deney hayvanlarında erken dönemde büyüme faktörlerinde sadece fibroblast büyüme faktörü (FGF-2) ve vasküler endotelial büyüme faktöründe (VEGF) artış gözlenirken, geç dönemde ise kollajen tip-1 artışı ve MCP-1 düzeyindeki azalma da diğer gruplardakine benzer şekilde gözlenmiştir (11).

İskemi/reperfüzyon hasarı, doku hasarına neden olan toksik metabolitleri azaltan antioksidanlar tarafından önlenabilir veya azaltılabilir (13). Antioksidan bileşikler, elektronları radikallere bağlanabilir ve onları daha kararlı bileşiklere indirgeyebilir. Bu nedenle bir bileşiğin indirgeme kapasitesi, onun potansiyel antioksidan aktivitesinin bir göstergesi olarak hizmet edebilir. Propolisin antioksidan potansiyelini gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur (14-16). Ayrıca antioksidan aktiviteye sahip olması nedeniyle lipid peroksidasyonu hasarlarının azaltılmasında da etkin rol oynamaktadır (17).

Reperfüzyondan kaynaklanan hasar, iskemiden çok daha baskındır ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin, reperfüzyon hasarının ana nedeni olduğu düşünülmektedir (18). Bu nedenle antioksidan tedavisi İ/R hasarını etkili bir şekilde azaltmalıdır.

Biz bu çalışmada ratlarda deneysel olarak oluşturulan akut iskemik priapizm modelinde doku MDA ,SAD , GPx, SIRT1, GSH , NFkB, İL6 , STAT 3, HIF1a, GRP78, ATF6, CHOP,CASP3, seviyelerindeki değişiklikler ve uygulanacak olan Propolisin iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olası koruyucu etkilerinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesini amaçlıyor

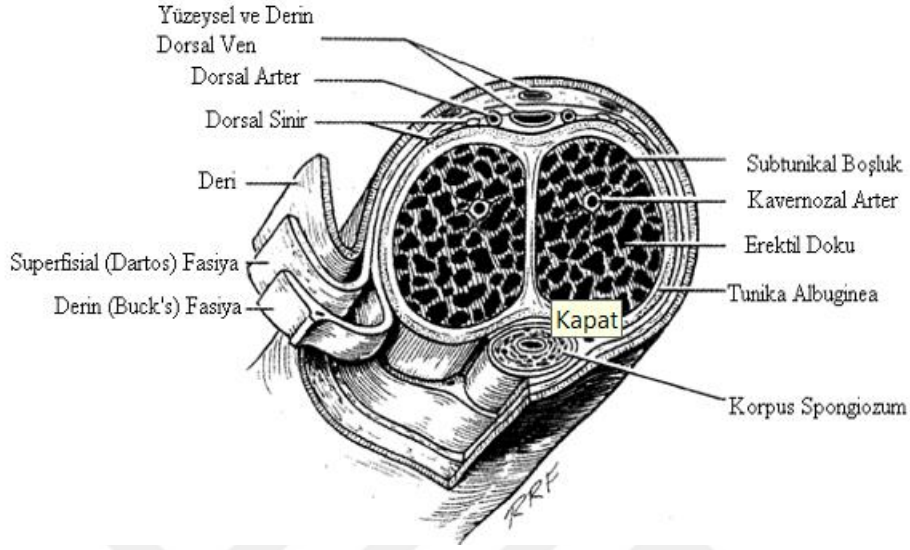
2.GENEL BİLGİLER

2.1 Penis Anatomisi

Penis; erkeklerde anatomik ve fizyolojik olarak genitoüriner sistemin son parçasıdır. Penis bir çift kavernöz cisim ve bir adet spongioz cisimden oluşur. Kavernöz cisimler erektile özelliği gösterir,proksimale uzanım göstererek krus ismini alır ve pubik arka tutunur. Buck fasiyası dorsalde her iki korpus kavernoza çevrelerken, ventralde lifleri bölünerek korpus spongiozumu da çevreler. Proksimalde Buck fasiyasının lifleri yukarıda rektus kası kılıfının elastik ve kollajen liflerinden oluşan uzantılar ile birleşerek penisin fundiform ligamanını; distalde pubisten gelen lifler ile birleşerek penisin suspansuar ligamanını oluşturur. Daha derinde ise, Buck fasiyası perinede tunika albuginea ile birleşir ve erektile dokunun kas yapısına kadar uzanır. Distalde ise koronada glans penisin tabanı ile birleşir (19). Genel olarak penis boyu flask halde ortalama 8-10 cm, erekte halde ise 12-14 cm civarlarındadır.

Penis shaftının derisi, bez ve kıl yapısı içermez ve çok elastik yapıdadır. Sadece koronanın tabanında smegma oluşturan bez yapıları bulunur. Bu deri yapısı yağdan yoksundur ve deri altı Dartos tabakasının, Buck tabakası ile zayıf bağlantısı nedeniyle oldukça mobil yapıdadır. Glansın üzerindeki deri ise, altındaki tunikaya sıkıca bağlı olması nedeniyle immobildir. Deri, distalde glans penisin üzerine katlanarak sünnet derisini (prepisyum) oluşturur ve koronaya yapışır. Penis derisinin damarları erektile yapılardan ayrı olarak, femoral arterin eksternal pudental dalından köken alırlar. Bu damarlar penis kökünde penise girer; Dartos tabakasında longitudinal olarak uzanır ve kendi arasında sık anastomozlar yaparlar.

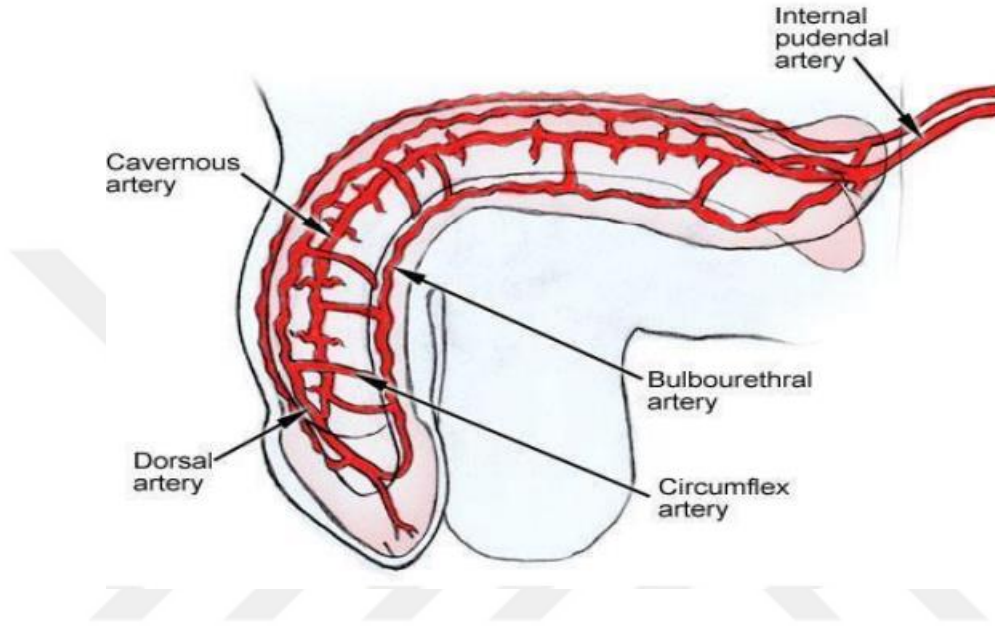
Üretra spongiöz cismin içinden geçer ve spongiöz cismin proksimal segmentine bulbus denir. Korpus spongiozum distalde genişleyerek glans penis meydana getirir. Penis tabakaları içten dışa doğru sıralanırsa; korpus spongiozundan, korpus kavernoza, tunika albuginea, buck fasiyası, dartos tabakası ve deriden meydana gelmektedir (31-38) (Şekil 1)



Şekil 1. Penil fasyalar, korporal yapılar, arterler, venler ve sinirlerin ortak görüldüğü penisin enine kesiti(20).

2.1.1 Penisin Arteryal Dolaşımı

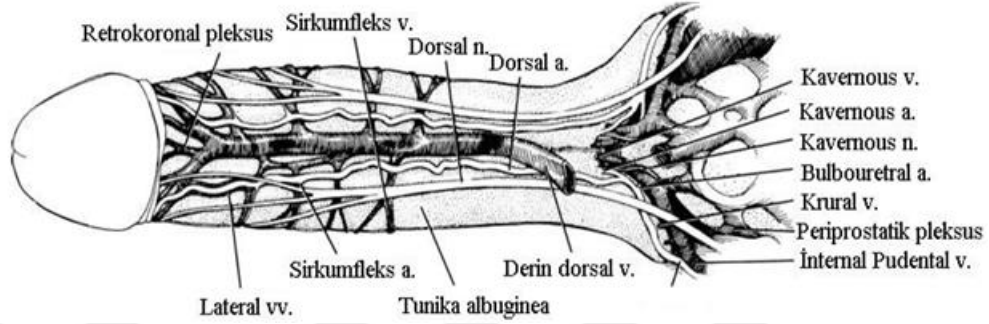
Penisin ereksiyonunu ve beslenmesini internal iliak arterin dalı olan pudental arterden sağlanır. İnternal pudental arter; sakrospinal ligaman altından ve sakrotuberoz ligamanın üstünden geçtikten sonra perineal ve penil arter dallarına ayrılır. Penil arter, Alcock kanalında seyrettikten sonra, perineal membranın üzerinde erektıl yapıları besleyen 3 dala ayrılır .Bunlar; bulbo-üretıl arterler, kavernoza arterler, dorsal arterdir. (Şekil 2). Bulboüretıl arter korpus spongiozuma posterolateral sınırının üstünden girer ve bu arter üretra, spongiozum ve glansı besler. Sonrasında kavernoza arter dalı penil arterden ayrılır ve kavernöz cisimlerin beslenmesini sağlar. Ardından penil arter derin dorsal arter olarak glans penise kadar uzanır. Dorsal arter dorsal ven ve dorsal penil sinir arasında seyrederek ve her üç yapı da Buck fasyasının altına yapışır ve böylece nörovasküler bantı oluşturur. Dorsal arter seyri sırasında kavernoza ve sirkumferensiyel dallar verir (19,21,22).



Şekil 2. Penisin arteriyal dolaşımı(23)

2.1.2 Penisin Venöz Dolaşımı

Korpus kavernozumların venöz drenajı sirkumfleks venler ile derin dorsal vene olur. Derin dorsal ven ise preprostatik pleksusa drene olur. Yüzeyel dorsal ven ise eksternal pudendal vene dökülür. Yüzeyel dorsal ven Buck fasyasının dışında uzanırken, derin dorsal ven Buck fasyasının içinde uzanır (Şekil 3). Derin dorsal ve kavernoza ven ile üretral venler arasında olmak üzere tüm ven sistemi arasında anastomozlar vardır (20).



Şekil 3. Dorsal penil arterler, venler, sinirler (20)

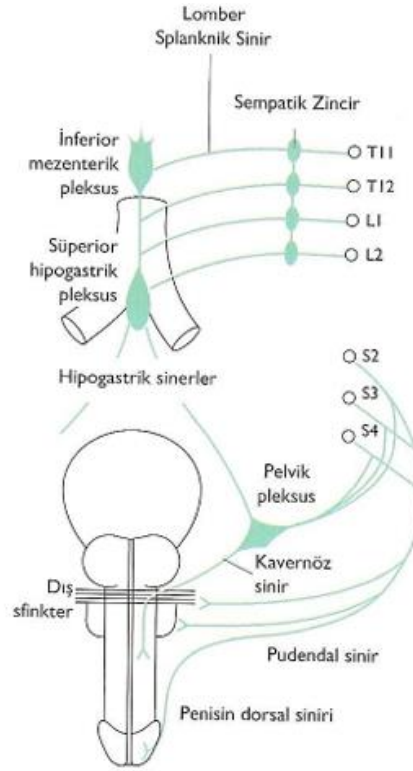
2.1.3 Penisin Lenfatik Drenajı

Penis cildinin köken alan lenfatikler süperfisiyal inguinal ve subinguinal lenf nodlarına drene olur. Glanstan köken alan lenfatikler ise Buck fasyasının derinliklerinde seyrederek bilateral yüzeyel ve derin inguinal lenf nodlarına drene olur. Derin inguinal lenf nodları ise hipogastrik ve ana iliak lenf nodlarına drene olur(19,24).

2.1.4 Penisin İnnervasyonu

Penisin innervasyonu hem otonomik hem de somatik olarak sağlanır. Penisin sensöriyel innervasyonu dorsal sinirler tarafından sağlanmaktadır. Spinal kord ve periferik ganglionlardan köken alan sempatik ve parasempatik lifler, kavernoza sinir aracılığı ile korpus kavernoza ve korpus spongiozuma ulaşırlar. Somatik sinirler ise bulbokavernoza ve iskiokavernoza kasların kasılmasını sağlar ve penil duyuyu iletirler. Sempatik sinir lifleri medulla spinalisin aşağı torasik ve üst lomber bölgesinden çıktıktan sonra retroperitoneal olarak seyrederler. Bu lifler aortik bifürkasyonun altında yoğunlaşarak, superior hipogastrik pleksusu (Presakral sinir)

oluşturur. Superior hipogastrik pleksusu sol ve sağ hipogastrik sinir şeklinde terk eden sempatik lifler, distale doğru ilerleyerek birleşir ve rektumun yan kenarlarında inferior hipogastrik pleksusu (pelvik pleksus) oluştururlar (Şekil 4). Kökeni S2-S4 olan ve glans penisin parasempatik innervasyonunu oluşturan lifler nervus erigentes ile pelvik pleksusa varırlar. Bu lifler aracılığıyla da ereksiyon sağlanır. Ejekülasyon ise L1-2 spinal segmentlerden köken alan sempatik lifler aracılığıyla sağlanır(19,23,25).



Şekil 4. Penisin innervasyonu

2.2 Penisin Histolojisi

Penis dorsalde 2 adet bulunan korpus kavernozum ve ventralde 1 adet bulunan, içerisinden üretrayı barındıran korpus spongiozum olmak üzere 3 adet silindirik erektile dokudan oluşmaktadır. Korpus spongiozum distalde glans penisini meydana getirmektedir. Her bir korpus kavernozum kolajen, elastik lifler ve düz kas içeren dens bir kılıfla örtülüdür. Kavernöz cisimler, süngerimsi cisim ve glans penis; düz kas, intrakavernozal destek ve endotelle kaplı sinüzoidlerden oluşur. Penil üretra yalancı çok katlı silindirik epitelle döşelidir. Glans penis çok katlı yassı epitel ile döşelidir. Littre bezleri mukus salgılamakta olup penil üretra boyunca yerleşim gösterir(26).

2.3 Ereksiyon Fizyolojisi

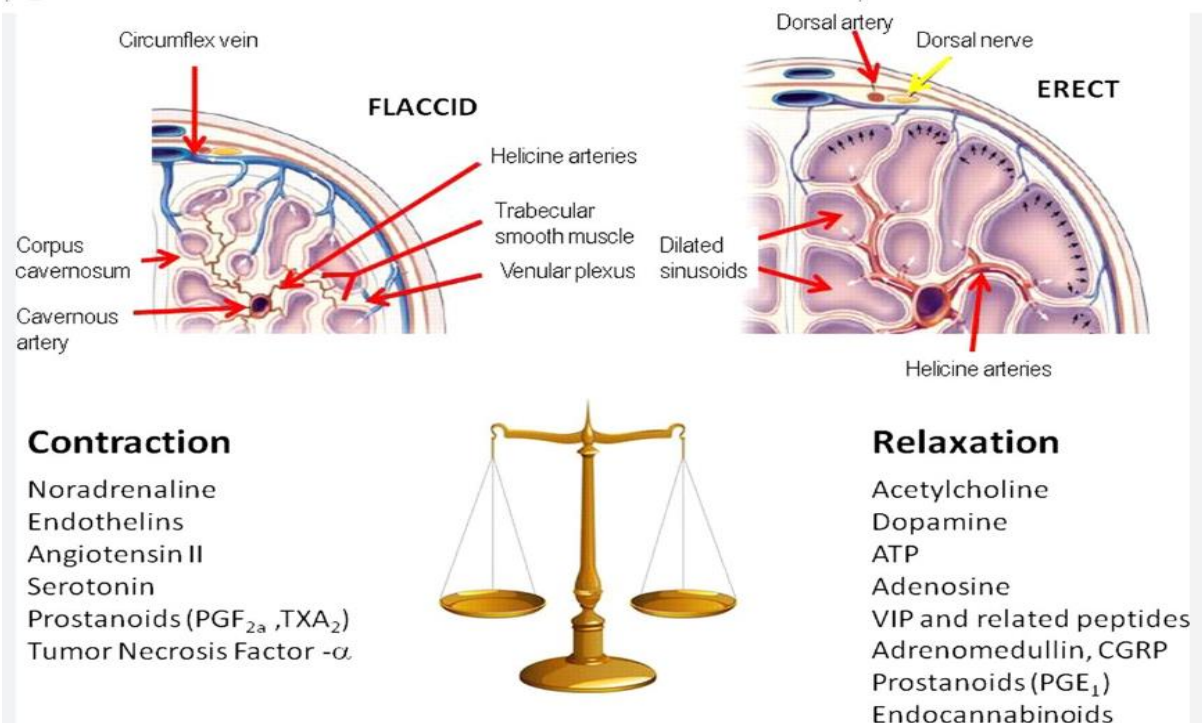
Ereksiyon için, duyuşal uyarıları aktaran santral sinir sistemine ve işleyen bir hipotalamo-hipofizer aksa ihtiyaç vardır. Ayrıca aktif korpus kavernozum ve venöz drenaj sistemine sahip normal bir penis gereklidir (27). Ereksiyon fizyolojik olarak; flask, tñmesans, tam ereksiyon, rijid ereksiyon, detñmesans olmak üzere 5 fazda gerçekleşir.

Flask fazda, alfa-adrenerjik sistemin aktif olması nedeniyle sinüzoidler kontrakte(28). Cinsel uyarı sonrası kavernöz sinirlerden düz kas gevşemesini sağlayacak nörotransmitter salınmasıyla arterlerde dilatasyon, sinüzoidlerde kanın depolanması, venöz geri dönüşte azalma meydana gelir ve böylece tñmesans fazı oluşur. Tunikanın gerilmesiyle, kavernöz içi basıncın artması ile penis tam ereksiyon fazına geçer (Şekil 4). İskiyokavernöz kasların kasılması ile kavernöz basınç daha da artar ve rijid ereksiyon fazı gerçekleşir(29). Detñmesansta, kavernöz düz kasın kasılması, arteriyel akımda azalma, venöz geri dönüşün başlamasıyla penil ereksiyon sonlanır ve sonrasında flask dönem başlar(30).

S2, S3, S4 spinal sinirlerden köken alan parasempatik sinirler sempatik sinirlerle pelvik pleksusta birleşirler. Parasempatik sinirler kavernoöz arterin vazodilatasyonundan sorumlu olup gelen uyarılarla ereksiyonu başlatırlar(31). Korpus kavernozum sempatik inputu T11-L2 spinal segmentlerin pregangliyonik nöronlarından alır. Detümesansta rolü vardır(31,32).

Penisin somatomotor merkezi Onuf çekirdeğidir. Bu sinirler sakral sinirler içinden pudental sinire ulaşır, bulbokavernöz ve iskiokavernöz kasları innerve eder. İskiokavernoz kaslarının kasılması rijid ereksiyon oluşumunu sağlar(32).

Ereksiyonu sağlayan ana mediatör NO 'dur(21). NO; hücre içindeki reseptörü olan soluble guanilat siklaz enzimini aktive eder ve siklik guanozin monofosfat (c GMP) üretimini artırır. Böylece kavernoza ve arteriyel düz kaslarda dilatasyon oluşur ve ereksiyon meydana gelir(33,34).



Şekil 4. Penil ereksiyonun mekanizması(35)

2.4 Priapizmin Patofizyolojisi

Priapizm tam veya parsiyel penil tmesansın 4 saatten uzun süredir devam etmesi şeklinde tanımlanabilen nadir bir patolojidir(36–38). Priapizm insidansı 1.5/ 100.000 dir(39). Büyük çoğunluğu idyopatiktir(40). Genel olarak priapizm etyoloji ve klinik seyrine göre iskemik (veno-okluzif, düşük akımlı), non-iskemik (yüksek akımlı) ve tekrarlayan (intermittan) priapizm şeklinde sınıflandırılır(39).

Tüm priapizm olgularının %95’ini iskemik priapizm oluşturmaktadır. Yıllık insidansı 100000 erkekte 0,3-1,5 arasında rapor edilmektedir(41). 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(36,37). İskemi 4-6 saatten uzun sürerse geri dönüşümsüz korporal doku nekrozu ve fibrotik doku oluşumu izlenebilmektedir (42–44). Bundan dolayı iskemik priapizmde penil kan akımının bir an önce optimal şartlarda sağlanması, acil tedavinin ana prensibi olmalıdır. Bu amaçla uygulanacak güncel medikal ve cerrahi tedaviler yanında, priapizm patofizyolojisinde etkin olan ikincil yolaklar üzerinden yeni tedavi modelleri güncel araştırma konularıdır(45,46).

Priapizm nedeniyle değerlendirilen bir hastada korporal aspirasyon ve kan gazı analizi yol göstericidir (38). Renkli doppler ultrasonografi rutin olarak önerilmemekle birlikte hem iskemik hem de non-iskemik priapizmin ayırt edilmesinde faydalı olabilir. İskemik priapizmde korpus kavernozumda hiç veya çok az arteriyel akım izlenmektedir(47).

Vücuttaki tüm düz kaslar istirahatte relaksasyon, fonksiyonel durumda kontraksiyon halinde bulunurken peniste bu durum farklıdır. Penil düz kaslar istirahat halinde kontrakte şekilde bulunurlar. Ereksiyonda, düz kaslar relaksasyona uğramaktadırlar. Pek çok

mekanizmalarla regüle edilen penil düz kas tonusunda, kontraksiyona eğilimin artması erektil disfonksiyonla, relaksasyona eğilimin artması priapizmle sonuçlanabilmektedir(48).

Kavernozal düz kaslarda relaksasyon sağlayan başlıca yollar; nitrik oksit-siklik guanozinmonofosfat (NO-cGMP) yolağı, adenozin yolağı ve hemoksijenaz 1-karbonmonoksit (HO1-CO) yolağıdır. Kontraksiyonu etkileyen olası mekanizmalar ise; fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) enzim aktivitesi, norepinefrin (NE), endotelin-1 (ET) ve Rho-kinaz cevabıdır. Priapizm etyopatogenezinde penis düz kas dokusunda kontraksiyonda etkin olan mekanizmalar azalmış, relaksasyonda etkin olan mekanizmalarda ise artmış bir fonksiyon beklenmektedir. (49–51).

2.4.1 Kavernozal Düz Kas Relaksasyonunda Artışa Yol Açan Mekanizmalar NO-CGMP Yolağı

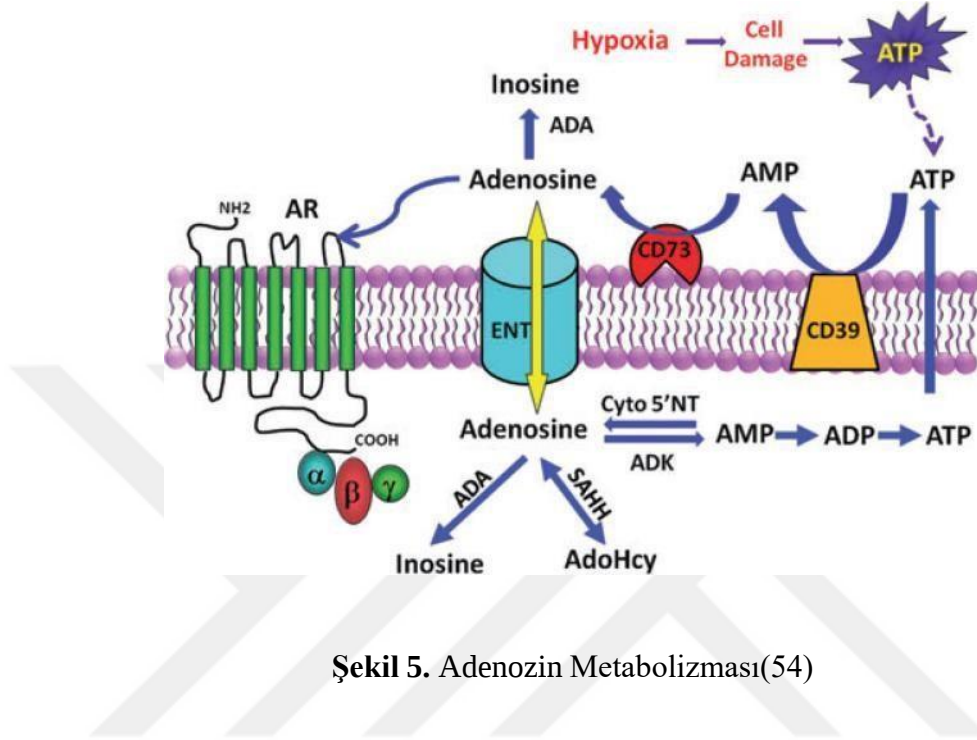
Ereksiyonda etkin olan en önemli mekanizma non-adrenerjik, non-kolinerjik NO- cGMP yolağıdır. Tümesans için asetilkolin, endotel ve sinir hücrelerinden nitrik oksit sentetaz (NOS) salınımını uyarır. NOS, nöronal nitrik oksit sentetaz (nNOS), endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) ve immün hücreler ve makrofajlardan salınan indüklenbilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) olmak üzere üç formda bulunmaktadır. Korpus kavernozumda her üç tip de mevcut olmakla birlikte, nNOS ereksiyonun başlamasından, eNOS ise sürdürülmesinden sorumludur. Sentezlenen NO, düz kas hücresi içine diffüze olarak solubl guanilat siklazı (sGC) aktive etmektedir. sGC ereksiyon sırasında NO ile cGMP arasında bağlantı görevi yaparak, guanozin trifosfattan (GTP) cGMP oluşumunu sağlamaktadır. Oluşan cGMP, spesifikprotein-kinaz G ile bir kompleks oluşturarak bir taraftan endoplazmik retikuluma kalsiyum sekestre ederken, diğer taraftan voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını inhibe eder. Aynı zamanda potasyum kanallarını açarak membran hiperpolarizasyonunu sağlar. Sonuç olarak hücre içi kalsiyumun düşmesiyle miyozin hafif zincir kinaz enziminin inhibisyonu, aktin üzerindeki miyozin köprülerini ayrıştırır, düz kas gevşeyerek tümesans ortaya çıkar. Uzamış istemsiz ereksiyon olarak tanımlanan priapizm patofizyolojisinde, ereksiyondaki normal düz kas

fonksiyonunu sağlayan NO-cGMP yolağının değişen etkinliğinin rol oynayabileceği bildirilmiştir(52). Claudino ve arkadaşları orak hücresel 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(53).

cAMP Yolağı

Adenozin, ATP'den sentezlenir ve özellikle hipoksi durumunda, artan oksijen ihtiyacına karşılık vasküler dokularda kontraksiyon ya da relaksasyon yaparak etkin rol oynamaktadır. Dolayısıyla iskemik priapizmde, adenozinin de etkin olabileceği bildirilmiştir(54). 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(54)(şekil 5).

Adenozin fizyolojik etkilerini A₁, A₂, A₃ reseptörleri üzerinden yapmaktadır. A₂ reseptörü G_s proteinine bağlanarak adenilat siklazı (AC) aktive etmektedir. Sonuç olarak aktive adenilat siklaz ATP'nin cAMP'ye dönüşümünü sağlayarak, A₂ reseptörü aracılığı ile düz kasta relaksasyon yapmaktadır. A₁ reseptörü G_i ve G_o, A₃ reseptörü ise G_i ve G_q proteinlerine bağlanarak, ATP'den cAMP oluşumunu aktive eden adenilat siklazı inhibe etmekte ve azalan cAMP düz kasta kontraksiyona eğilimi arttırmaktadır(55,56).



Şekil 5. Adenozin Metabolizması(54)

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 olarak, A_{2B} reseptörlerinin uyarılmasıyla priapizm ortaya çıktığını belirlemişlerdir(48,49,51–54,57).

HO-1-CO Yolağı

Heme proteini, demir ve protoporfirin-IX kompleksinden oluşan ve canlı hücrelerde çok önemli fonksiyonları olan hemoproteinlerin yapısında yer almaktadır(58). Heme proteini, endotel ve düz kasta bulunan hemoksijenaz (HO) enzimi aracılığı ile yıkılmaktadır. Hemoksijenaz enzimi HO1, HO2 ve HO3 olmak üzere 3 izoformda bulunmakla birlikte insanlardaki en önemli izoform HO1'dir. Hipoksi, stres ve reaktif oksijen ürünlerinin varlığında HO1 düzeyi artmakta ve HO1 heme proteinini yıkarak CO, Fe(II) ve biliverdinin açığa çıkmasına neden olmaktadır(59). Oluşan CO, NO benzeri bir gazotransmitter olup bazı

hücresel fonksiyonları regüle etmektedir. İskemi sonucu artan HO1 aktivitesi ile ortaya çıkan CO, guanilat siklazı aktive ederek c-GMP artışına yol açıp, K kanal aktivitesini arttırarak ya da sitokrom p450 monooksijenaz yolunu inhibe ederek düz kas relaksasyonuna neden olmaktadır(58). Deneysel priapizm modellerinde artmış HO-1-CO etkinliğinin geç dönem priapizmde rol oynayabileceği bildirilmiştir(59). 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(58). Artmış olan bu HO-1 aktivitesinde, kavernoza dokuda yüksek oranlarda ortaya çıkarttığı CO'nun, priapizmin geç dönemlerinde etkin olabileceğini bildirmişlerdir(58). 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(58). Ünüş ve arkadaşları deneysel priapizm modellerinde, Zn-protoporfirin'in kavernoza düz kas kontraksiyonunu 20 kat arttırdığını belirlemişlerdir(60).

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. Peniste etkin olan izoenzim PDE5'tir(61).

Priapizm etyopatogenezinde bu enzimin fonksiyonel regülasyon mekanizmalarındaki patolojilerin etkin olabileceği bildirilmiştir(62). Özellikle orak hücre anemili hastalarda penil NO-cGMP yolağında disregülasyon olduğu belirlenmiştir. Bazal cGMP oluşumu normal sınırlarda olmayan orak hücre anemili hastalarda, orantısız cGMP sentezine bağımlı olarak PDE5'te bir disregülasyon ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla bazal seviyenin üzerinde cGMP salınımına sebep olabilecek, noktürnal penil tümesans gibi fizyolojik süreçlerde kavernoza

dokularda disregüle halde bulunan PDE5 tam etkinlik gösterememekte ve artmış bir vazodilatasyon sonucu uzamış ereksiyon ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla çeşitli yollarla cGMP-PDE5 regülasyonunun optimum şartlarda sağlanması, özellikle orak hücre anemili hastalarda tekrarlayan priapizm ataklarını engellemede etkin olabilecektir. Bialecki ve Bridges, 50 mg sildenafilin orak hücre anemili hastalarda tekrarlayan priapizm ataklarını önlediğini bildirmişlerdir(63). Burnett ve arkadaşları da günlük 25 veya 50 mg sildenafil veya haftada 3 defa 5 mg tadalafil tedavisi ile 3-11 ay takip sonucunda, orak hücre anemili hastalarda priapizm nüksünde belirgin azalma görüldüğünü rapor etmişlerdir(64).

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 onkat daha yüksek oranda bulunduğu belirlenmiştir(65). 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(66). Muneer ve arkadaşları özellikle penil kavernozaal düz kas hücrelerinin uzamış priapizm süresi ile orantılı olarak, NE'ye azalan oranlarda cevap verdiğini belirlemişlerdir(67).

Endotelin Etkinliği:

Endotelin, endotel hücrelerinden salgılanan vücudun en güçlü vazokonstrüktör maddedir. Artmış endotelin seviyesi, düz kas vazokonstriksiyon ve hipertrofisine ayrıca fibrozis ve inflamasyona neden olmaktadır. Endotelin ETA ve ETB olmak üzere iki farklı

reseptör üzerinden etkinlik göstermektedir. ETA reseptörleri esasen damar düz kas hücrelerinde bulunup vazokonstriksiyonu uyarmaktadırlar. ETB reseptörleri ise endotelial hücrelerde bulunur vazodilatasyona ve antiproliferatif etkilere yol açar(68,69). 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. Priapizmde kavernozaal düz kaslarda oluşan iskemi neticesinde ET1'in ETB reseptörleri üzerinden düz kas relaksasyonu yapması, ereksiyonun uzamasında etkin olmaktadır(70).

2.5 İskemi ve Reperfüzyon

Hipoksi aerobik oksidatif solunumu etkileyen, son derece önemli ve genel bir hücre zedelenme ve ölüm nedenidir. Hipoksinin en önemli nedeni, arteriyel ya da venöz kan akımı bozukluğuna bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonuna yol açan iskemidir(71). Reperfüzyon, iskemiye maruz kalan doku ya da organların yeniden kanlanması ve oksijenlenmesi olayıdır. Reperfüzyon hasarı ise, iskemi periyodunu izleyen yeniden kanlanma döneminde doku ya da organlarda meydana gelen hasar olarak tanımlanır. Hücre içine moleküler oksijenin sunumuyla hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri en çok suçlanan faktör olmakla birlikte, reperfüzyon hasarından birçok mekanizma sorumlu tutulmuştur(71).

TGF- β (Transforming growth factor beta) doku onarımında hayati önem taşıyan bir sitokindir. TGF- β 'nın up-regülasyonu hipoksi sırasında oksidatif strese yanıt olarak ortaya çıkmaktadır(72). Aşırı miktarda TGF- β 1 iskemik priapizmde fibrozise neden olan araçlardan birisidir. TGF- β 1 nötralize edici antikorlar kısa süreli priapizm durumlarında TGF- β 1'in fibrotik etkilerini azaltmıştır(73).

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 aldehyitlerin doku düzeylerinde artmasına neden olur(74,75).

Miyeloperoksidaz memeli n trofillerindeki önemli antimikrobik sistem enzimlerinin başında yer almaktadır. Miyeloperoksidazın antimikrobik etkisi, hidrojen peroksit bağımlı olup, klorun ve tiyosiyanatın etkili antibakteriyel ajanlar olan hipokloröz asit ve hipotiyosiyan z asite dönüşmesinin katalizlemesinden kaynaklanır. Miyeloperoksidazın katalitik etkisi esnasında meydana gelen reaktif maddeler normal biyomoleküller ile de tepkimeye girdiklerinden, miyeloperoksidaz enzimi çeşitli enflamatuvar hastalıklardaki h creve doku hasarına da neden olur(76,77).

Endoplazmik retikulum (ER), hücre dışına gönderilecek proteinlerin ve membran yapısındaki proteinlerin sentezinin ve katlanmasının gerçekleştiğı mebran z ağı yapısında bir organeldir(78). Proteinlerin her katlanma aşamasının başarılı bir şekilde tamamlanması için protein katlanmasında rol oynayan moleküller görev almaktadır. Bunlar; Grp 78, Grp 94 gibi moleküler şaperonlar, kalneksin ve kalretikulin gibi lektin benzeri proteinler ve foldazlardır(79). ER’de katlanmamış veya hatalı katlanmış proteinlerin birikmesi ve bu aşamalarda ortaya çıkan düzensizlikler hücresel cevap, ER stresi olarak tarif edilmektedir. ER fonksiyonu enfeksiyon, hipoksi, kimyasal toksinlere maruz kalma, aşırı lipid birikimi ve genetik bozukluklar sonucunda da bozularak strese neden olabilir. Vücut bu durumda stresi azaltmak için UPR (unfolded protein response) denilen katlanmamış protein yanıtı oluşturur. Bu yanıtın oluşmasının ardından protein metabolizmasında sentezin yavaşlatılması ve yıkımın artırılması suretiyle ER’nin yükünü azaltıcı yönde bir sinyal ağı oluşturulur. UPR aktive edilmiş olur. UPR’nin aktifleşmesi ile, ER membran proteinleri PERK, IRE-1 ve ATF-6 yolu ile stres cevabı oluşturulur. ER stresinin ilk yanıtı, PERK aktivasyonu yolu ile 4E-BP1 proteinini fosforile ederek global protein translasyon inhibisyonudur. Nükleusa transloke olan ATF-6 transkripsiyon faktörü, XBP-1s transkripsiyon faktörünün ekspresyonunu sağılar. XBP- 1s, ERSE (endoplasmic reticulum stress element) ve UPR 2 (unfolded protein response

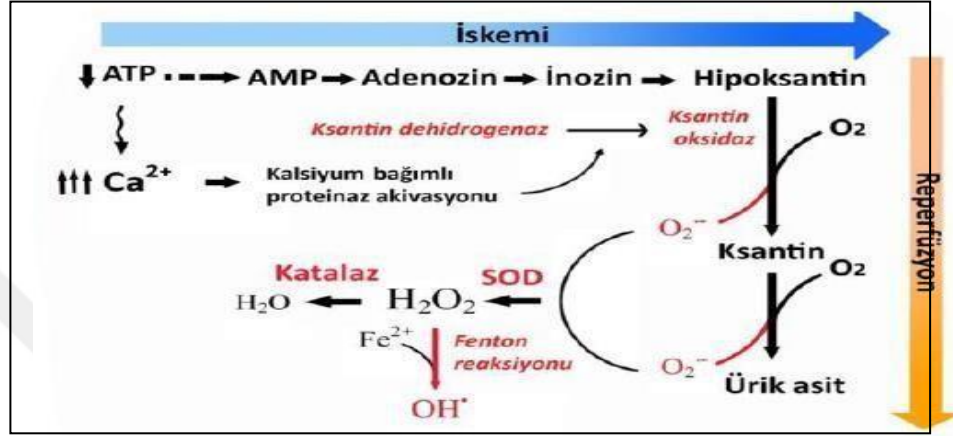
element) DNA bölgelerini içeren genlere bağlanarak ER genişlemesinde, katlama kapasitesinin artmasında ve ER ilişkili yıkım yolunun aktivasyonunda rol alan genlerin transkripsiyonunu uyarır ve ER'un üzerine binen talep yükünün karşılanmasını sağlar. Böylece ER üzerine binen yük azalır ve ER homeostazisi korunmuş olur(80,81).

2.5.1 Mekanizmalar

İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve ATP (adenozin 5'-trifosfat) ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır. Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na^+ , K^+ -ATP az pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içinde Na^+ ve Ca^{+2} iyon konsantrasyonları artar. Hücre içinde Ca^{+2} iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir. Yine bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflatuar sitokinlerin, lökosit adezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin aktivitesi ve ekspresyonunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar(82). İskemi sırasında kalan ATP 'ler (adenozin tri fosfat) kullanımlaya devam edeceği için yıkım ürünleri olan adenozin ve AMP birikir.

İntraselüler kalsiyum artışı, kalsiyum bağımlı sitozolik proteazları aktive eder. Proteazların aktivasyonunun artmasıyla hücre içi hipoksantin dehidrogenaz enzimini ksantin oksidaza dönüştürür(83). Reperfüzyonla birlikte gelen oksijeni ksantin oksidaz; oksidan olarak kullanarak hipoksantinden ksantin, ksantinden de ürik asit metabolitlerinin oluşumunu sağlar ve bu mekanizmalar sonunda süperoksit anyonu oluşur. Normal fizyolojik koşullarda oluşan O_2^- , süperoksit dismutaz (SOD) ile önce hidrojen peroksit (H_2O_2), sonra katalaz etkisi ile suya dönüşür. Ancak IR'de ksantin oksidaz etkisine bağlı olarak artan O_2^- ve H_2O_2 , antioksidan kapasiteyi aşar ve ortamdan etkin bir şekilde temizlenemez. H_2O_2 daha sonra Fe^{+2}

gibi geçiş metalleri veya süperoksit radikalleri ile (Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları) reaksiyona girer ve en güçlü radikal olarak bilinen OH oluşturur(84)



Şekil 6 İskemi reperfüzyon hasarında ksantin oksidaz aracılığıyla meydana gelen reaktifoksijen türlerinin oluşumu(85).

İskemi reperfüzyon hasarı; serbest oksijen radikallerinin, komplemanların, endotel hücrelerinde salgılanan mediatörlerin ve polimorf nüveli lokostilerin (PMNL) etkisi ile oluşan kompleks hücresel olaylar zinciridir(86).

Serbest Oksijen Radikalleri

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(87). Reaktif oksijenler elektron almak üzere lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve DNA ile reaksiyona girmektedirler. Bu oksidanlar fazla miktarda olduğunda membrandaki lipidlerin peroksidasyonuna yol açarak permeabilitenin bozulmasına, dolayısıyla hücre içi iyon dengesizliğine neden olmaktadır. Ayrıca, proteinlerin, DNA ve RNA gibi moleküllerin yapısını bozarak birçok hastalığın oluşumunda önemli rol oynamaktadırlar (88).

Reaktif oksijen türleri, hücre zarında bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olarak asıl toksik etkilerini gösterirler(89,90). 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(91).

Normal fizyolojik koşullarda mitokondri hücre içi oluşan süperoksit anyonu (O_2^-)'nın başlıca kaynağıdır. Normalde oluşan bu süperoksitler, SOD enzimi tarafından hızlıca dismutasyona uğratılır. İskemi durumunda ETZ'nin de moleküler oksijen yokluğuna bağlı olarak elektron akışı durduğundan bu kompleksler (özellikle kompleks I) indirgenmiş düzeyde kalır. ETZ'den sızan elektronlar rezidüel oksijenle reaksiyona girerek süperoksit anyonu (O_2^-) üretimine yol açarlar(92).

Süperoksit radikali, serbest radikal hasarına karşı koruyucu antioksidan bir enzim olan ve oksidan hasar oluşumu ile artan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile hidrojen peroksit (H_2O_2)'e indirgenir. Hidrojen peroksit eşlenmemiş elektron içermediği için tek başına radikal değildir(93).

Polimorf Nüveli Lökositler (PNL)

Nötrofillerin, O_2^- ve H_2O_2 ürettiği ve H_2O_2 ve klorür iyonlarından hipoklorik asit oluşumunu katalizleyen myeloperoksidaz salgıladığı bilinmektedir(94). Aktive olmuş nötrofiller, endotelial bazal membran bileşenlerini ve endotelial bariyer fonksiyonunu sürdüren bileşke proteinlerini parçalayabilen güçlü proteazlar da üretir(95).

Serbest radikallerin oluşumunda ve İ/R hasarında önemli bir kaynak olan nötrofiller azurofilik granüllerinde oksidan etkili NADPH oksidaz, elastaz ve mieloperoksidaz enzimlerini içerirler. İskemi sonrası reperfüzyonun başlaması ile birlikte, dokuya sunulan

oksijenin yaklaşık %70'i NADPH-bağımlı oksidaz ile süperoksit iyonlarına oksitlenmektedir. Süperoksit iyonu, çoğu kez spontan dismutasyonla hidrojen perokside dönüşür. Hidrojen peroksit ise klorür iyonlarının varlığında miyeloperoksidaz enzimi aracılığı ile hipoklorik aside indirgenir. Hipoklorik asit güçlü bir oksidandır ve birçok biyolojik molekülle kolayca reaksiyona girebilir(96).

Komplemanın Rolü

İskemi/reperfüzyon sonucunda birçok proinflamatuvar mediatör oluşur ve kompleman aktivasyonu yapar. C5a lökosit aktivasyonunu ve kemotaksisi uyarır. Monosit kemoatraktan protein 1, interlökin 1 (IL-1), interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör (TNF) oluşumunu sağlayarak inflamatuvar yanıtı artırır(97,98).

C5b9 endotelde IL-1a, IL-8 ve MCP-1 salgısını uyarak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi artırır. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek ve endotelde siklik guanozin monofosfatı azaltarak vasküler tonusu bozar(99,100).

Endotel Hücresinin Rolü

Oksidatif stres endotel hücrelerinin işlevlerinin bozulmasına neden olur. Endotel hücreleri SOR için hem hedef konumdadır hem de üretim merkezidir. Endotel hücreleri NO ve endotelini üretir. NO arterde vazodilatasyon, endotelin vazokonstriksiyon yapar. İ/R hasarında endotelin/NO oranı endotelin lehine bozulur. Sonuçta arteriyel vazokonstriksiyon, venlerde vazodilatasyon olur(101).

İskemi reperfüzyon hasarında serbest oksijen radikalleri artar ve artmış olan süperoksit Nitrik oksit ile reaksiyona girerek peroksinitriti oluşturur. Peroksinitrit (ONOO-) çok toksik bir serbest oksijen radikalidir ve iskemi reperfüzyon hasarını daha da artırır(102).

2.5.2 Antioksidanların Rolü

Vücudumuzda oksidatif stresi önleyen, enzimler ve endojen maddeler bulunur. Fakat bazen oksidanlar belirli bir düzeyin üzerine çıkar veya antioksidanlar yetersiz olup, denge bozulursa söz konusu oksidan moleküller organizmaya zarar verir. Bu nedenle vücuda dışardan koruyucu, engelleyici, iyileştirici özelliklere sahip antioksidanların alınması gerekir(103).

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidan, bu olaya da antioksidan savunma denir(104).

Antioksidanlar, oluşan serbest radikalleri toplayıp, kararlı hale getirerek, zincir kırıcı etki ile serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları durdurarak, baskılayıcı etki ile reaksiyon hızını azaltarak, onarıcı etki ile biyolojik moleküllerdeki hasarı onararak, organizmadaki antioksidan enzimler ile enzimatik olmayan antioksidanların sentezini arttırarak etki gösterirler(105).

Antioksidan savunma katalaz, SOD vb. enzimler aracılığıyla olursa enzimatik antioksidan savunma; tokoferol, askorbik asit vb. maddelerle olursa nonenzimatik antioksidan savunma olarak tanımlanır(106).

2.6 Enzimler

Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz enzimi süperoksidin, hidrojen peroksid ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Enzimin fizyolojik fonksiyonu; oksijeni metabolize eden hücrelerde

süperoksit düzeyini düşük tutmak ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmektir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır(107).

Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon, hemen hemen bütün ökaryotik hücrelerde sentezlenir. Bundan dolayı yüksek yoğunluklarda bulunur. Glutasyon bir antioksidan olarak hareket eder ve ayrıca hücrenin redoks durumunu korumada, detoksifikasyon sisteminin çalışmasında, eikosanoidlerin sentezlenmesinde, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptozisde de antioksidan olarak faaliyet gösterir. Glutasyon, glutasyon peroksidazın (GPx) katalitik etkisiyle lipid peroksitleri ve H₂O₂ 'yi detoksifiye eder ya da singlet oksijen (1 O₂) ve OH. 'yi temizler(108).

Diğer antioksidanlarla birlikte solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidan GSH-Px'dır(109).

Glutasyon S-Transferaz (GST)

Glutasyon S-Transferaz (GSH) plazma membranından aminoasit transportunu sağlar, bazı önemli antioksidanları yeniden oluşturur. (108).

Başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek antioksidan savunma mekanizması oluştururlar. Katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptir. Hücre içi taşıyıcı ve bağlayıcı özellik ile detoksifikasyon yapar. Karaciğerde sitokrom P450 enzim sistemi tarafından reaktif ara ürünlere dönüştürülen yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara dönüşümünü katalizler(109).

Katalaz

Peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Hidroksil radikali oluşumunu hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalayarak engeller(106).

Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksidi detoksifiye eder. Bu reaksiyon fizyolojik şartlarda sürekli devam eden normal bir reaksiyondur, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi sağlanır. Ancak çoğu zaman süperoksit üretimi mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin zararlı etkilerine engel olurlar(109).

Vitaminler ve Mineraller

Vitamin C (Askorbik Asit)

Kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olan bir ketolaktondur. Suda çözünebilen zayıf asidik karakterlidir. Özellikle turuncgiller olmak üzere yeşil sebze ve meyvelerde bol miktarda bulunur. İnce bağırsaklardan kolaylıkla emilir(110).

Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı iyi bir antioksidandır. Süperoksit, hidroksil, singlet oksijen, hidroperoksil, lipid peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek onları ortamdan temizler. Lipid moleküllerinin oksidasyonu ile oluşan lipid peroksitler; vitamin C'nin antioksidan etkisiyle sulu ortamda çözülerek oksidan etkilerini kaybederler(111).

Vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalizörü veya bir prooksidan olarak kabul edilebilir. Ancak bu tip etkinin düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek

konsantrasyonlarda ise güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği belirlenmiştir. Ayrıca, askorbat ve geçiş metallerinin yoğunluğu, Vitamin C'nin antioksidan ve prooksidan olmasını belirleyen faktörlerdir(112).

Vitamin E (α -tokoferol)

E vitamini lipid peroksidasyon ürünlerini tutarak lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını durdurarak reaktif oksijen radikallerini inaktive eder(113).

Vitamin E, okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit ve glutatyon tarafından yeniden indirgenebilmektedir. Vitamin E ve C'nin birlikte verilmesinin, ortalama kan lipid peroksit konsantrasyonunda azalma sağladığı, Ayrıca DNA'nın oksidatif hasarından kaynaklanan karsinogenezi ve kromozomal kırıkları önlediği saptanmıştır(114).

Kalsiyum

Kalsiyum, bir divalent katyon olup atom ağırlığı 40'dır. İnsan vücut ağırlığının yaklaşık % 2'sini oluşturur. Bu miktar doğumdan 20 yaşa kadar hergün 180 mg kalsiyum birikmesi sonucu oluşur(105).

Kalsiyum en çok bulunduğu yer kemiklerdir (% 99), kalanı ise dişler, yumuşak doku, plazma ve ekstra kas sıvıları arasında dağılmıştır. Vücutta kalsiyum miktarının kontrolü paratroid/vitamin D kalsitonin sistemi tarafından sağlanır. Birçok hücre fonksiyonları, belli nöromusküler aktivite kalsiyum iyon konsantrasyonuna bağlıdır. Vücut bu konsantrasyonlara programlanmıştır. Bu miktarlar hücre geçirgenliğinde ve bazı enzim aktivitesinde de önemlidir.

Kalsiyum düzeni, böbreğin filtrasyon sistemi içinde işlemektedir. Atım, plazma kalsiyum miktarlarında değişikliklere aşırı duyarlıdır.

Diyetle sodyum ve protein aliminin artması idrarla kalsiyum atımını arttırmaktadır. Ayrıca kafeinin kalsiyumun idrarla atımını arttırdığı bulunmuştur. Yaklaşık 75 mg kafein (ortalama 1 fincan kahve) alımı 6 mg kalsiyum atımı ile sonuçlanmaktadır (105).

İskelet canlı bir doku ve vücudun kalsiyum deposudur. Kalsiyum sürekli olarak kemiklerden uzaklaştırılır (resorpsiyon) ve tekrar kemiklere döner ve depolanır. Bu işlem kalsiyum yeterli kullanılabilirse çocukluktan yaklaşık 35 yaşına kadar devam eder ve kemik yoğunluğunda kademeli bir artış olur (105).



Magnezyum

Magnezyum, insan vücudunda en çok bulunan dördüncü mineraldir. Vücut için adeta bir kronik regülatör olan magnezyum yüzlerce reaksiyonda kofaktör olarak rol alır. Magnezyum eksikliğini önlemek için düzenli olarak magnezyumdan zengin gıda ve su tüketilmesi gerekir. Ancak önerilen günlük magnezyum miktarı gebelik, laktasyon, yaş, kronik hastalık ve ilaç kullanımı gibi durumlardan etkilenebileceğinden eksikliği de sık görülebilmektedir. Magnezyumun insan vücudundaki fonksiyonlarına bakarak, birçok hastalığın önlenmesinde ve tedavisinde magnezyum takviyesinin önemli bir yeri olduğu anlaşılabılır. Magnezyum seviyelerinin düşüklüğü çeşitli kronik ve inflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Bunların başında Tip 2 diyabet, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, Alzheimer, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu, astım, migren ve osteoporoz gelmektedir (114).

Tiyol Bileşikleri

Glutasyon karaciğerde sentezlenebilen bir tripeptittir. Okside olmuş hali glutasyon disülfittir (GSSG). Hücrede; sitozol, çekirdek ve mitokondride bulunur. Organizmada hücre

içinde depolanır ve GSH/GSSG oranı hücredeki oksidatif stress miktarını yansıtır(106). Dokularda açığa çıkan lipid peroksitler, hidrojen peroksit, askorbik asit, serbest radikalleri indirger(118). Eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir. Transplantasyon amacıyla organların korunmasında ve siklofosfamid gibi sitotoksik ilaçların organ hasarı oluşturmalarını engeller. Ayrıca kistik fibrosis gibi hastalıklarda aktive fagositlerden kaynaklanan ROS' ların yaptıkları akciğer hasarını da azaltır(109).

Sistein GSH sentezinde önemli rol oynar. GSH sentezi için hız belirleyici bir enzimi onarır. Sistein, protein sentezi için kritik bir substrat, GSH ve taurin sentezi için hız belirleyici bir belirteçtir; aynı zamanda, hücre dışı indirgeyici ajan olarak önemli rol oynar(119).

N-asetilsistein, sisteninin GSH'ye çevrilmesinde bir ara üründür. Endojen olarak yapılabilen ve besinlerde bulunan NAC, serbest radikalleri temizleyebilen sülfidril gruplarına sahiptir. Ayrıca, hücresel redükte GSH konsantrasyonunu artırarak doğal antioksidan savunmayı güçlendirir(120).

Metionin, önemli bir metil vericisi olup, proteinlerin sentezi için gereklidir. Vücuttaki sülfürün temel kaynaklarından biri olup, hayvanlar tarafından sentezlenemeyip besinlerle yeterli miktarlarda alınabilir. Metionin, toksik olan asetaldehidin düzeyini düşürerek alkolün zararlı etkilerini azaltabilir(121).

Flavonlar

Flavonlar antioksidatif etkilerini; ksantin oksidaz, lipooksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimleri inhibe ederek, metal iyonları ile şelat oluşturarak, diğer antioksidanlarla etkileşime girerek, süperoksit anyonları, lipid peroksil radikalleri ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikalleri yakalayarak gösterirler(110).

Selenyum

Selenyum glutatyon peroksidaz aktivitesi için gereklidir. Glutatyon peroksidaz, hidrojen peroksiti metabolize eder ve antioksidan savunma sisteminin temelidir(106). Normal hücrelerin malign hücrelere dönüşmesini engelleyerek antimutajenik etki gösterir. Glutatyon peroksidaz ve tiyoredoksin redüktaz enzimlerinin yapısında bulunması sebebiyle, DNA ve diğer hücresel yapıları oksidatif hasara karşı koruma görevi görür. Selenyumun, karsinogenezisin, başlama ve ilerleme safhalarını inhibe ettiğini ve hedef hücrelerde proliferasyon hızını düşürdüğünü gösteren bulgular vardır(122).

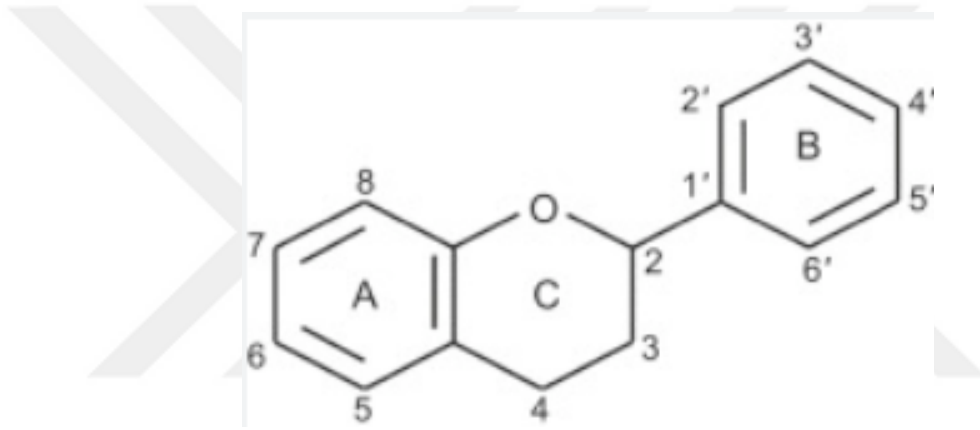
Propolis

Propolis, toplandı 1 bitki türüne göre değişmekle birlikte sarıdan koyu kahverengine kadar değişebilen bir renge sahiptir. Kıvamı ise bulunduğu ortam sıcaklığına göre değişkenlik gösterip, 60-70 0C’de sıvı, 25-45 0C’de yumuşak ve yapı kan, 15 0C’ nin altında ise katı kıvrılgandır. Propolis etanol, glikol ve suda belirli oranlarda çözünür. (124)

Propolisin ortalama %60,2 lik kısmını lipidler oluşturur. Bu miktarın %49.09 unu ya asitleri, geri kalan bölümünü ise steroller, hidrokarbonlar ve uzun zincirli alkoller gibi sabunlamayan maddelerden oluşur. Palmitik asit ve stearik asit propoliste bulunan doymuş yağ asitlerine örnektir. Doymamış yağ asitlerinden ise nervolik, eicosapentaenoik, araşidonik, oleik, linoleik ve linolenik asitler propolisten değişen oranlarda izole edilmişlerdir (125)

Kimyasal yapısıyla ilgili olarak gerçekleştirilen analizlerde propoliste 160-300 değişik bileşen olduğu saptanmıştır. Propolisin yapısında ayrıca glukoz, fruktoz, sukroz gibi şekerler, aminoasitler, B1, B2, C ve E vitaminleri, ile bakır, kurşun, demir, molibden, alüminyum, nikel, stronsiyum, vanadyum, magnezyum, çinko, manganez, ve kalsiyum elementlerinin de bulunduğu gösterilmiştir.(127)

Propoliste bulunan flavonoidler esas itibari ile antioksidan aktiviteden sorumludurlar. Bir flavon bileşiği olan pinosembrin, bakteriler, küf ve mayalar üzerine etki etmektedir. Bu flavonla birlikte galangin, 3-asetil pinobanksin, kaffeik ve ferrulik asitler propolisin biyolojik aktivitelerinin çoğundan sorumludur. Propolisteki diğer bir flavon olan Qercetin, antiviral aktivite gösterir ve damarların kuvvetlendirilmesini sağlamaktadır. Propolisteki diğer flavonlar ve flavononlar, antiinflamatuvar, topikal anestezi ve spazmolitik aktivitelere sahiptir. (127)



Şekil 7 Propolis'in Kimyasal Yapısı

Propolis ve bileşenlerinin metabolizmada çeşitli enzim sistemlerini etkilediği (aktivasyon ya da inhibisyon yolu ile), hücre metabolizması, dolaşım, kollajen formasyonu ve buna bağlı yara ve yanıkların iyileşmesi gibi metabolik etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Bu etkiler propolis bileşiminde bulunan arjinin etkisi ile gerçekleşmektedir. Propoliste en fazla bulunan ve kollajen ile elastin sentezinde yer alan ikinci aminoasit ise prolindir (127). Farelerde yapılan araştırmalarda propolisin sitokin üreten immun hücreleri aktive ettiği ve bu etkilerle propolisin aynı zamanda anti-tümör etkiye de sahip olduğunu ortaya koymuştur

Propolisin son yıllarda üzerinde durulan ve tartışılan özelliklerinden biri de antioksidan

etkisidir. Organizmada metabolik olaylar aşamasında kaçınılmaz bir şekilde ortaya çıkan serbest radikaller, hücresel yaşlanma ve buna bağlı olarak, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet, artrit, parkinson, alzheimer gibi hastalıklara zemin hazırlarlar. Organizma ise başlıca antioksidan enzimler olan SOD (süperoksit dismutaz), CAT (katalaz), GPx (glutasyon peroksidaz), GR (glutasyon redüktaz) ile bunları temizler, eğer oksidan madde düzeyi antioksidan enzim kapasitesini aşarsa antioksidan vitaminler (özellikle C ve E) ikincil savunma hattı olarak devreye girerler (217). Propolisteki temel bileşikler olan flavonoidler ve bunlarla ilgili bileşiklerin serbest radikalleri temizleme etkisi bilinen antioksidan etkinliği göstermektedir. Bazı flavonoidler doymamış yağ asitlerinin peroksi radikalleri ile reaksiyona girip temizleyici etki yaparak özellikle lipid peroksidasyonunun başlangıç aşamasında etkili olurlar.

Propolisin antiinflamatuvar etkisini, trombosit agregasyonunu önleyerek, prostoglandinler ve lökotrienler gibi ekazonoidlerin sentezini inhibe ederek ve histamin gibi inflamasyonda rol oynayan mediatörlerin salınımı engelleyerek oluşturduğu öne sürülmüştür. Propolisin artrit oluşturulmuş ratlarda AST ve ALT enzimlerinin seviyelerini kısmen düşürdüğü gösterilmiş olup bu etkinin mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir.

Propolis bile iminde bulunan organik maddelerden flavonoidler, serbest radikal temizleyicisi, metabolik enzim düzenleyici, detoksifiye edici ve immumodulasyonu sağlayıcı etkileri ile ileri aşamalarda antikanserojenik etki göstermektedirler. Propolisin bazı kanser türlerinde kullanımı yapısındaki sinnamik asit ve terpenoidlerin sitotoksik aktivitesi ile ilgilidir. Bu yönüyle propolis bağırsak, böbrek, meme, burun ve farenks kanserinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Yapılan araştırma sonuçlarında düşük dozdaki propolisin meme karsinomlarını önleyici olarak uygulanabileceği bildirilmiştir.

Propolisin normal hücre aktivitelerini arttırdığını, doku yenilenmesini hızlandırdığı, zarar görmüş pankreas hücrelerini yenilediğini, ayrıca diyabet tedavisine terapötik katkısı olduğu çalışmalarla kanıtlanmıştır. Propolisin fitoöstrojenik etkili olabileceği ve östrojen reseptörleri ile etkileşime girebilme yeteneklerine bağlı olarak, östrojen yetersizliğine bağlı

olarak gelişen kalp damar hastalıkları, osteoporozis gibi bozukların kısmen düzelmesinde etkili olabileceği, aynı zamanda menapoz ve antropoz sonrası uygulanabilen hormon replasman tedavileri (HRT) nin korkulan yan etkileri olan meme ve prostat kanserlerinden korunmaya karşı alternatif bir uygulama olabileceği de belirtilmektedir. (130).

Propolisin sodyum benzoattan daha fazla antifungal aktivite gösterdiği belirtilerek gıdalara raf ömrünü uzatmak amacı ile antimikrobik ve antifungal ajan olarak katılabileceği gösterilmiştir.

Propolisin I/R sonucu oluşan hasar üzerindeki etkilerine yönelik çalışmalar azdır. Bu nedenle etki mekanizması araştırılmaya açık doğal bir antioksidandır (18).

3. MATERYAL VE METOD

Priapizm modelinde Propolisin iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olası koruyucu etkilerinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesi amaçlanan bu deneysel çalışma öncesinde Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınmış olup (19.07.2024 tarihli ve 53488718-424 sayılı etik kurul kararı ile) deney Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1 Çalışma Grupları

Bu deneysel çalışmada Spraque Dawley tipi, 300-350 gr ağırlığında, toplam 18 adet erişkin erkek rat kullanıldı. Ratlar kendi aralarında numaralandırıldıktan sonra kura çekilerek randomizasyon yapıldı. Randomizasyon yapıldıktan sonra çalışma, 6 rattan (n=6) oluşacak şekilde 3 rat grubu şeklinde oluşturuldu (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışma grupları

Deney ve Kontrol Grupları	Grup Başına hayvan adedi
Grup 1(Kontrol Grubu)	6
Grup 2(Priapizm/Reperfüzyon)	6
Grup3(Priapizm/Reperfüzyon+Propolis)	6
Kullanılan toplam hayvan sayısı	18

Tüm cerrahi işlemlerde anestezi, 80 mg/kg Ketamin ile 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 1).



Resim 1. Konstriktör bant kullanılarak oluşturulan ereksiyon modeli

Grup 1 (Kontrol) (n:6): Kontrol grubu yalnızca penektomi (Resim 2) uygulanan ratlarda doku MDA ,SAD , GPx, SIRT1, GSH , NFkB, İL6 , STAT 3, HIF1a, GRP78, ATF6, CHOP,CASP 3 değerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen penis dokusunun histolojik özellikleri değerlendirildi.

Grup 2 (Priapizm / Reperfüzyon) (n:6): 1 saatlik priapizm sonrası yarım saatlik reperfüzyon sağlanan gruba penektomi uygulandı, doku MDA ,SAD , GPx, SIRT1, GSH , NFkB, İL6 , STAT 3, HIF1a, GRP78, ATF6, CHOP,CASP 3 , değerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen penis dokusunun histolojik özellikleri değerlendirildi.

Grup 3 (Priapizm / Reperfüzyon + Propolis) (n:6): 1 saatlik priapizm oluşturulan ratlarda, reperfüzyondan yarım saat önce Propolis, 100 mg/kg 0.5 cc hacimde olacak şekilde transperitoneal olarak verildi ve yarım saatlik reperfüzyon sağlanan gruba penektomi uygulandı, doku MDA ,SAD , GPx, SIRT1, GSH , NFkB, İL6 , STAT 3, HIF1a, GRP78, ATF6, CHOP,CASP 3 değerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen penis dokusunun histolojik özellikleri değerlendirildi. Bu gruptaki ratlara verilecek olan Propolis dozu, daha önce yapılmış iskemi- reperfüzyon çalışması baz alınarak belirlenmiştir.

Tüm gruplardaki ratlara penektomi sonrası eksanguinasyon yöntemi ile ötenazi uygulandı.



Resim 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 biyokimyasal incelemeler için serum fizyolojik (%0,9 NaCl) ile yıkandıktan sonra -80 °C de saklandı.

3.3 Doku Örneklerinin Hazırlanışı

Alınan dokuların her birinden yaklaşık 15'er mg'lık kesimler yapıldı. Sonrasında bu dokular bir homejenizatör (IKA Ultra-Turrax T-25, Staufen im Breisgau, Almanya) yardımıyla 2 mL fosfat tamponu (PBS, pH:7.4) içerisinde 9500 rpm'de homojenize edildi. Homojenatlar 1800xg'de 10 dakika santrifüjlendi. Santrifüj sonucu elde edilen süpernatantlarda ilgili biyokimyasal parametrelerin ölçümü gerçekleştirildi.

3.4 Doku Örneklerindeki Protein Miktarlarının Belirlenmesi

Doku örneklerindeki protein miktarları üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ticari bir 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.

3.5 Doku MDA Düzeylerinin Belirlenmesi

MDA ölçümü, Mihara ve Uchiyama (131) yöntemi modifiye edilerek gerçekleştirildi. Bu metodun esası, MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu molekülün renginin 532 nm'deki absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır.



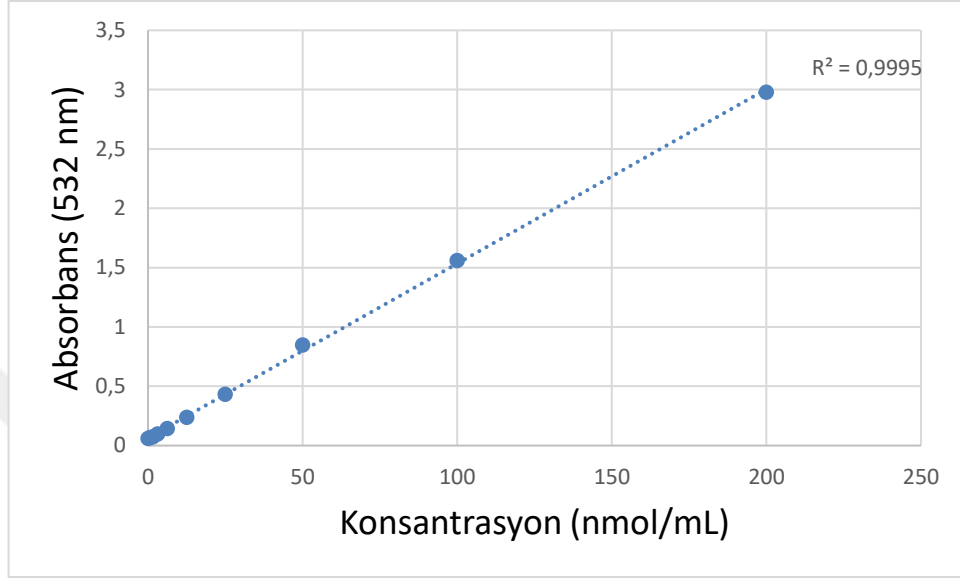
Doku MDA Ölçümünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

- 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 1L'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 süpernatanta 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 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.



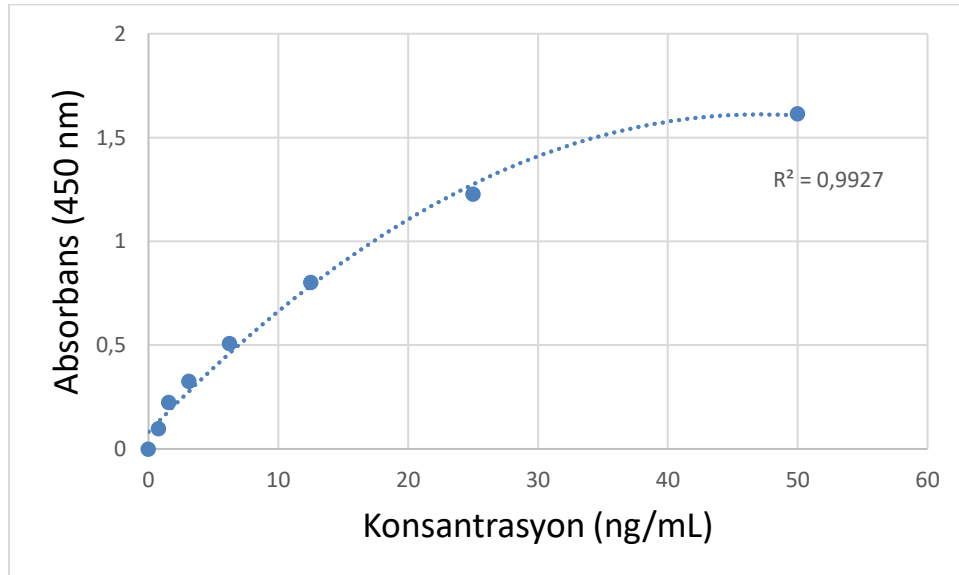
Grafik 1. Doku MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.6 Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Seviyelerinin Belirlenmesi

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

- SOD standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- 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 (BioTek, Winooski, USA) kullanılarak 3 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 20 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 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.

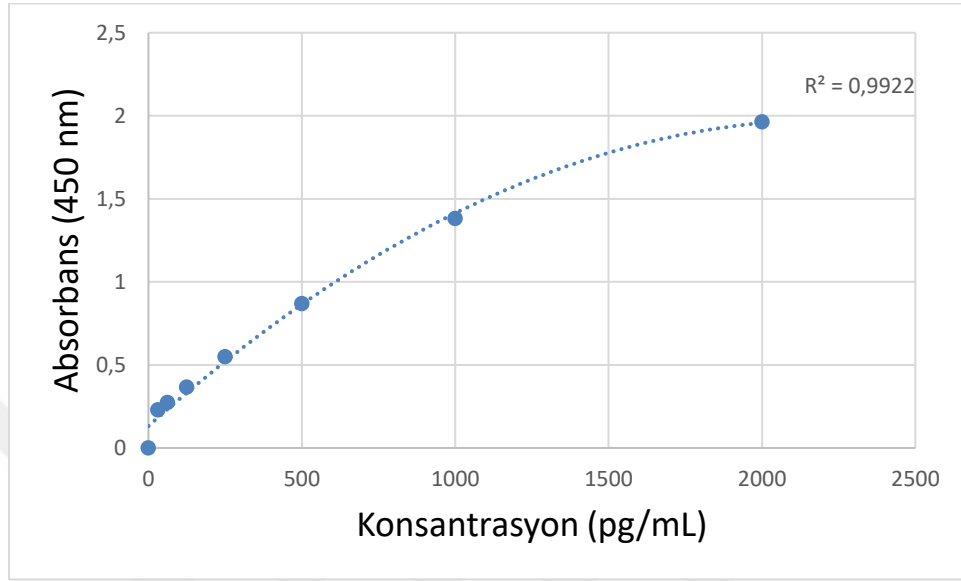


Grafik 2. SOD ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.7 Doku Glutasyon Peroksidaz (GPx) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki GPx seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Finetest, Katalog No: ER0274, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- GPx standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- 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 3 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 20 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**). 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.



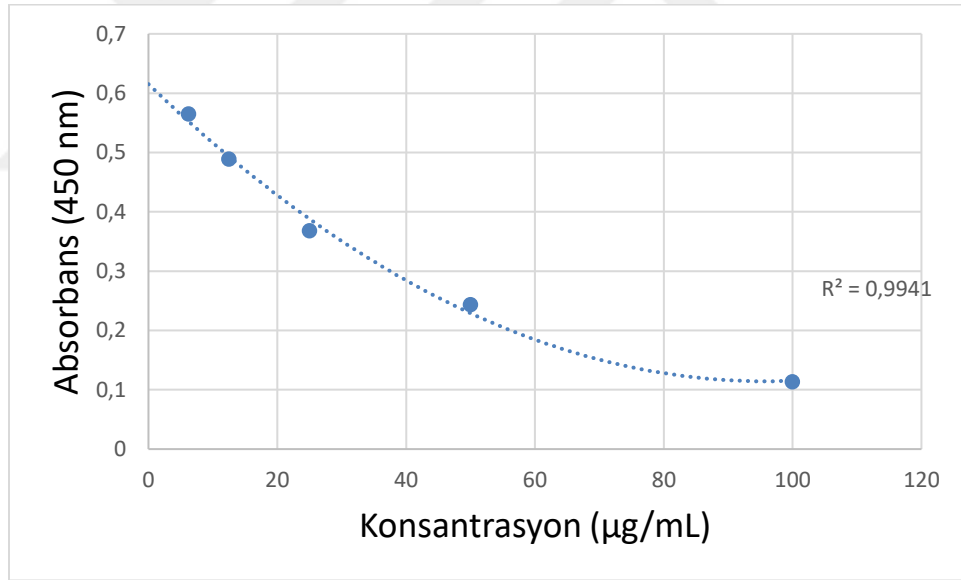
Grafik 3. GPx ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.8 Doku Glutasyon (GSH) Seviyelerinin Belirlenmesi

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

- GSH standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- Hem örneklerden hem de standartlardan her bir kuyucuğa 50'şer μL olacak şekilde ilaveler yapıldıktan sonra her bir kuyucuğa 50'şer μL biotinle işaretli antikor çözeltisi eklendi. Pleyt folyo ile kapatılarak 37°C 'de çalkalayıcıda 50 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 20 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en düşük 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 absorbensları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbens sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek GSH standart grafiği çizildi (**Grafik 4**). Bu grafikten yararlanılarak doku GSH seviyeleri $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar $\mu\text{g/mg}$ protein olarak verildi.

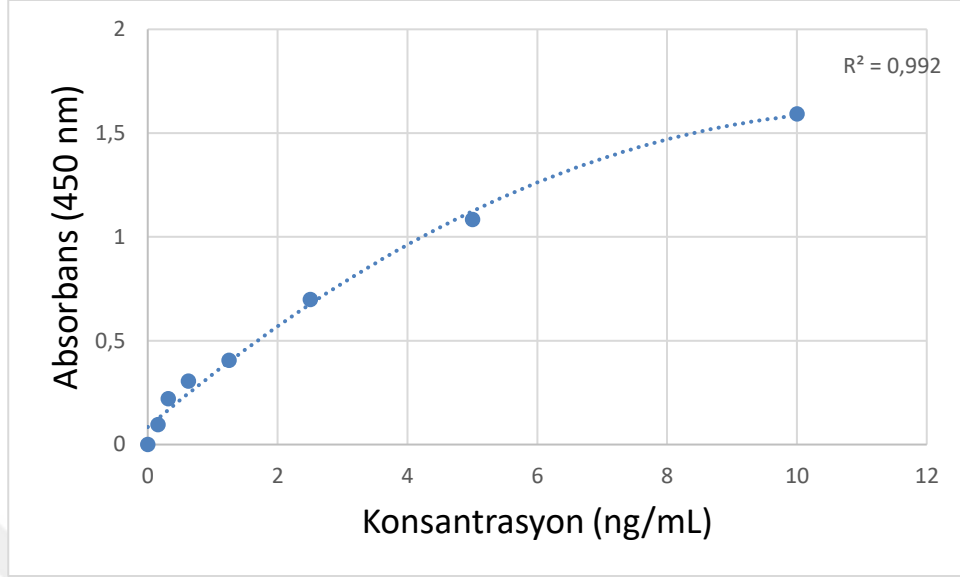


Grafik 4. GSH ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.9 Doku Sirtuin 1 (SIRT1) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki SIRT1 seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Finetest, Katalog No: ER1338, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- SIRT1 standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- 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 3 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'er μL eklendi ve pleyt 37°C 'de çalkalayıcıda 20 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'er μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbensları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbens sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek SIRT1 standart grafiği çizildi (**Grafik 5**). Bu grafikten yararlanılarak doku SIRT1 seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.



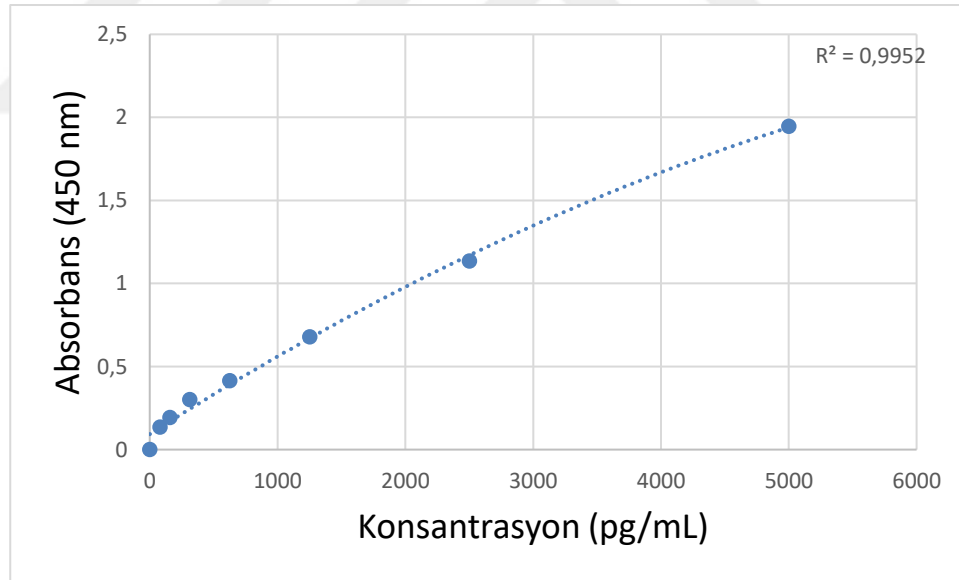
Grafik 5. SIRT1 ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.10 Doku Nükleer Faktör-Kappa B (NF-κB) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki NF-κB seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Finetest, Katalog No: ER1187, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- NF-κB standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- 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 3 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 20 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 absorbensları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbens sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek NF- κB standart grafiği çizildi (**Grafik 6**). Bu grafikten yararlanılarak doku NF- κB seviyeleri pg/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar pg/mg protein olarak verildi.

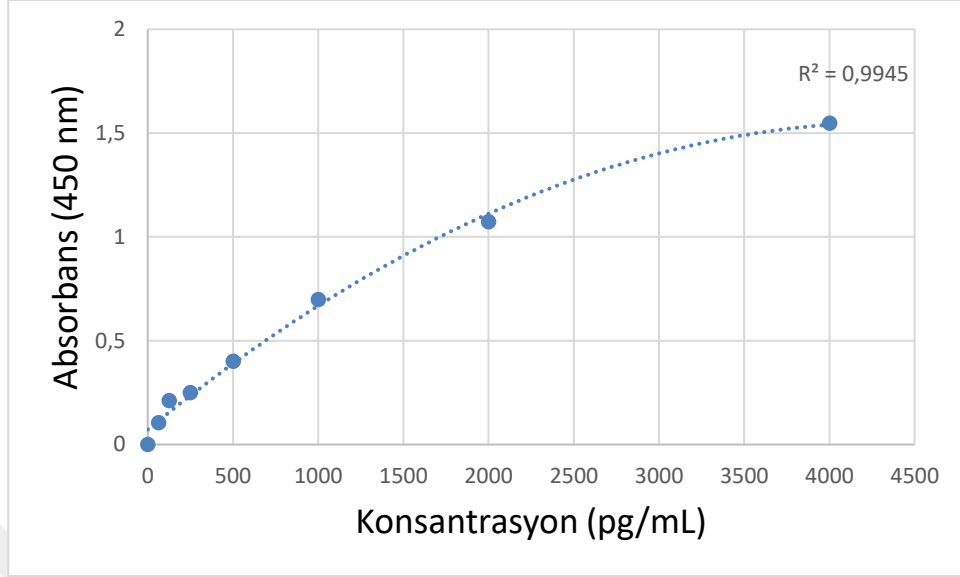


Grafik 6. NF- κB ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.11 Doku İnterlökin-6 (IL-6) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki IL-6 seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Finetest, Katalog No: ER0042, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- IL-6 standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- 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 3 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 20 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 IL-6 standart grafiği çizildi (**Grafik 7**). Bu grafikten yararlanılarak doku IL-6 seviyeleri pg/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar pg/mg protein olarak verildi.



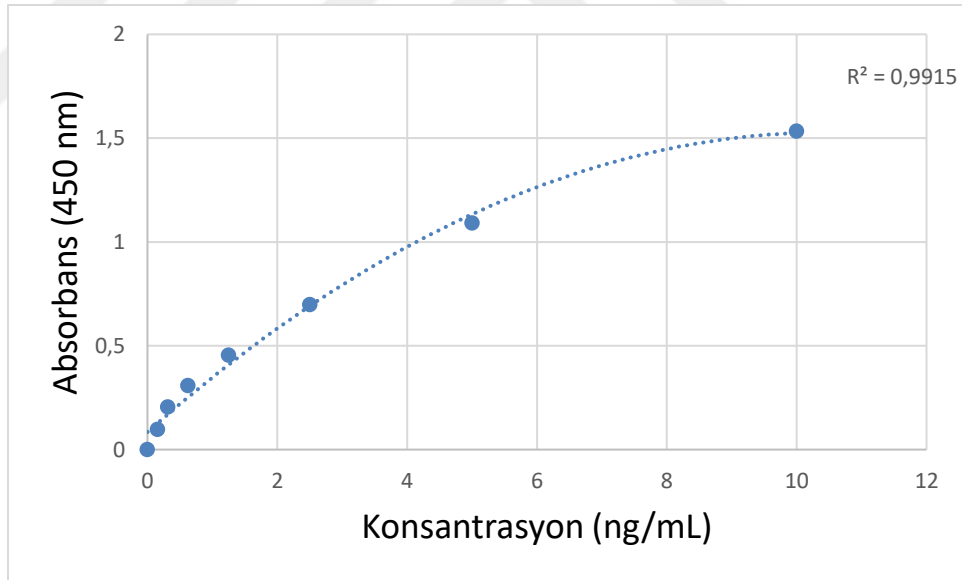
Grafik 7. IL-6 ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.12 Doku Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon 3 Aktivatörü (STAT3) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki STAT3 seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Finetest, Katalog No: ER0163, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- STAT3 standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- 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 3 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 20 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 STAT3 standart grafiği çizildi (**Grafik 8**). Bu grafikten yararlanılarak doku STAT3 seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.



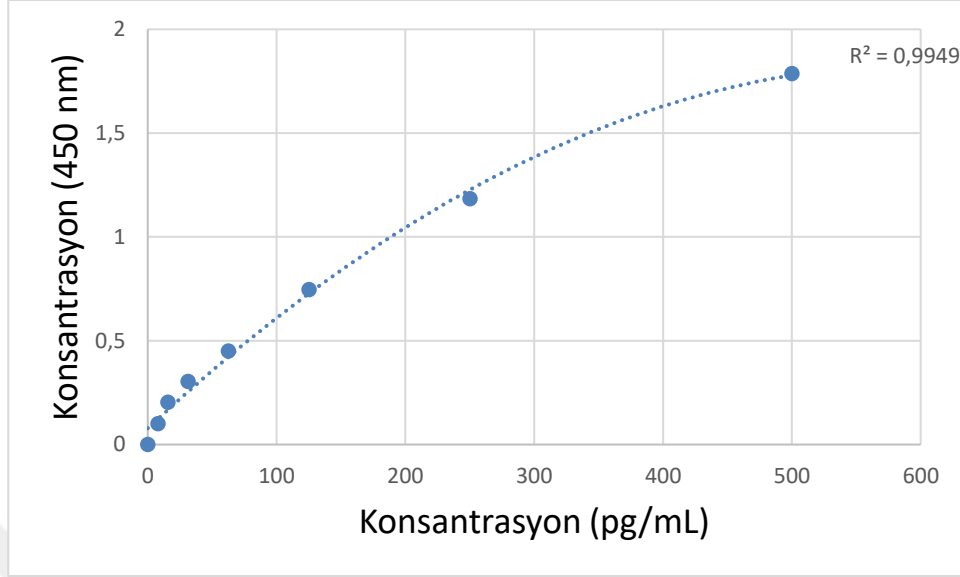
Grafik 8. STAT3 ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.13 Doku Hipoksi-İndüklenebilir Faktör-1 Alfa (HIF-1 α) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki HIF-1 α seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Finetest, Katalog No: ER0191, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler

gerçekleştirildi:

- HIF-1 α standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- Hem örneklerden hem de standartlardan her bir kuyucuğa 100'er μ L olacak şekilde ilaveler yapıldı. Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 90 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 3 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er μ L biotinle işaretli antikor çözeltisi eklendi. Pleyt folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda pleyt yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 3 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100'er μ L streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, tekrar folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar μ L eklendi ve pleyt 37°C'de çalkalayıcıda 20 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μ L renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek HIF-1 α standart grafiği çizildi (**Grafik 9**). Bu grafikten yararlanılarak doku HIF-1 α seviyeleri pg/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar pg/mg protein olarak verildi.



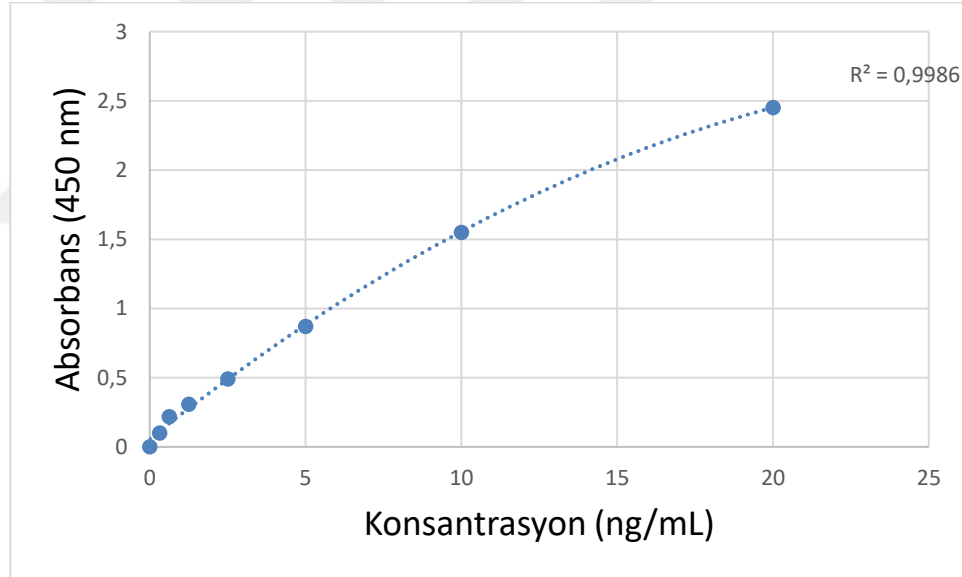
Grafik 9. HIF-1 α ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.14 Doku Glukoz ile Düzenlenen Protein 78 (GRP78) Seviyelerinin Belirlenmesi

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

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

- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar µL eklendi ve pleyt 37°C'de çalkalayıcıda 20 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 10**). 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.



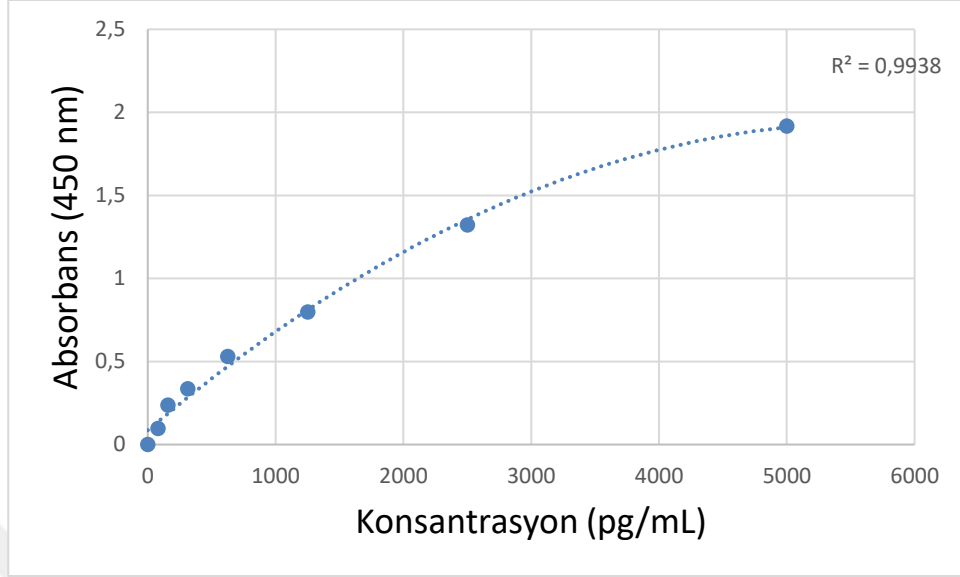
Grafik 10. GRP78 ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.15 Doku Aktifleştirici Transkripsiyon Faktör 6 (ATF6) Seviyelerinin Belirlenmesi

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

- ATF6 standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.

- 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 3 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 20 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek ATF6 standart grafiği çizildi (**Grafik 11**). 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.



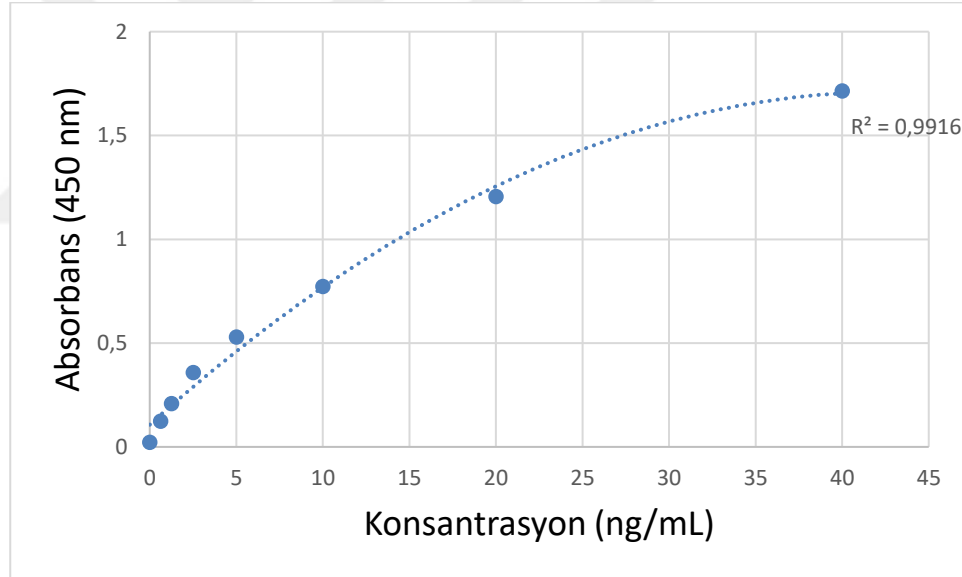
Grafik 11. ATF6 ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.16 Doku C/EBP Homolog Protein (CHOP) Seviyelerinin Belirlenmesi

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

- CHOP standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- 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 3 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 20 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 12**). 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.



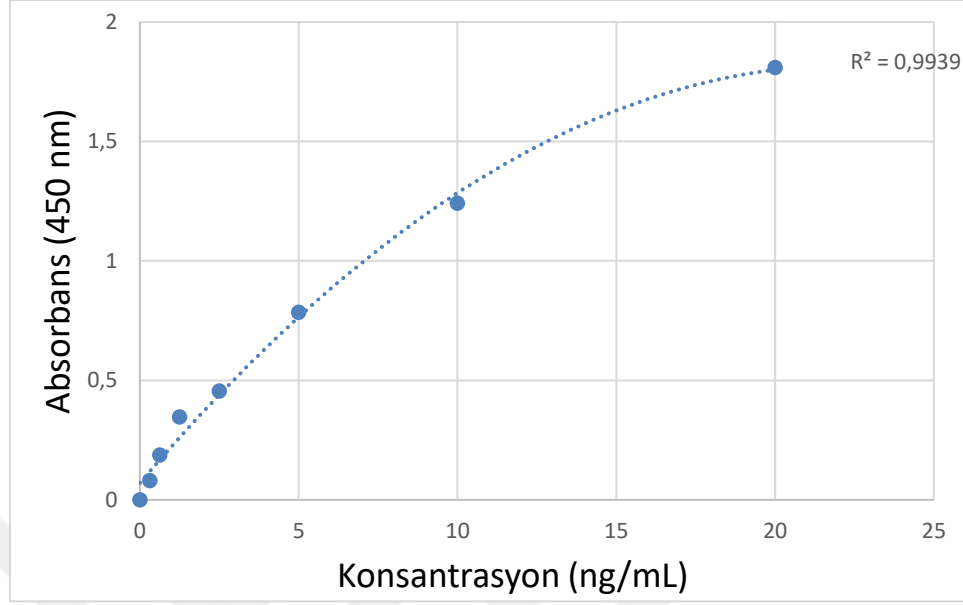
Grafik 12. CHOP ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.17 Doku Kaspaz-3 (CASP3) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki CASP3 seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Finetest, Katalog No: ER0143, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- CASP3 standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı.
- 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 3 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 20 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikrolept okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek CASP3 standart grafiği çizildi (**Grafik 13**). Bu grafikten yararlanılarak doku CASP3 seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.



Grafik 13. CASP3 ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.20 Histopatolojik İnceleme Yöntemi

Çalışmaya ait histopatolojik incelemeler Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Çalışma sonunda; alınan penis dokuları histopatolojik değerlendirme için öncelikle tespit için cam kavanozlarda %10'luk formolin solüsyonuna konuldu. Tespit edilen dokular, daha sonra sırasıyla %70, %80, %96 ve absolu alkolden geçirildi ve ksilenle şeffaflaştırıldı. Son olarak parafine gömülerek bloklandı. Elde edilen parafin bloklardan yarı otomatik mikrotom (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) kullanılarak 4-5 μ m kalınlığında seri kesitler elde edildi. Lam üzerine alınan kesitlerin bir kısmı deparafinizasyonun ardından hematoksilen-eozin (H&E) boyası bir kısmı ise Masson trikrom boyası ile boyandı. Masson trikrom boyası ile boyanan kesitlerdeki korpus kavernozumlarına ait kırmızı boyanmış düz kas ve mavi boyanmış bağ doku-kollajen liflerin yoğunluğu kalitatif olarak değerlendirildi. H&E boyalı her bir kesitte ise rastgele seçilen beş farklı alan; ışık mikroskopunda (Olympus BX51; Olympus Co., Tokyo, Japonya) histopatolojik olarak incelendi. Kavernöz sinüslerdeki dilatasyon-konjesyon, kavernöz dokuda dejenerasyonu, dokudaki inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve tunika albugineadaki ayrılma-düzensizlik gibi patolojik değişiklikler yarı kantitatif olarak (0: Hiç yok, 1: Hafif, 2: Orta, 3: Şiddetli olacak şekilde) skorlandı (135).

3.21 İstatistiksel İnceleme Yöntemi

Grupların karşılaştırılmaları normal dağılıma uyan parametrik veriler için tek yönlü Kruskal Wallis varyans analizi (post hoc olarak Mann Whitney U testi) ile; normal dağılıma uymayan parametrik veriler için Kruskal Wallis varyans analizi (post hoc olarak Mann Whitney U testi) ile yapıldı. Yanılma olasılığı 0.05 olarak kabul edildi.



4.BULGULAR

4.1 Histopatolojik Bulgular:

Gruplara ait penis dokusunun ışık mikroskopik değerlendirmesinde

Kontrol Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;

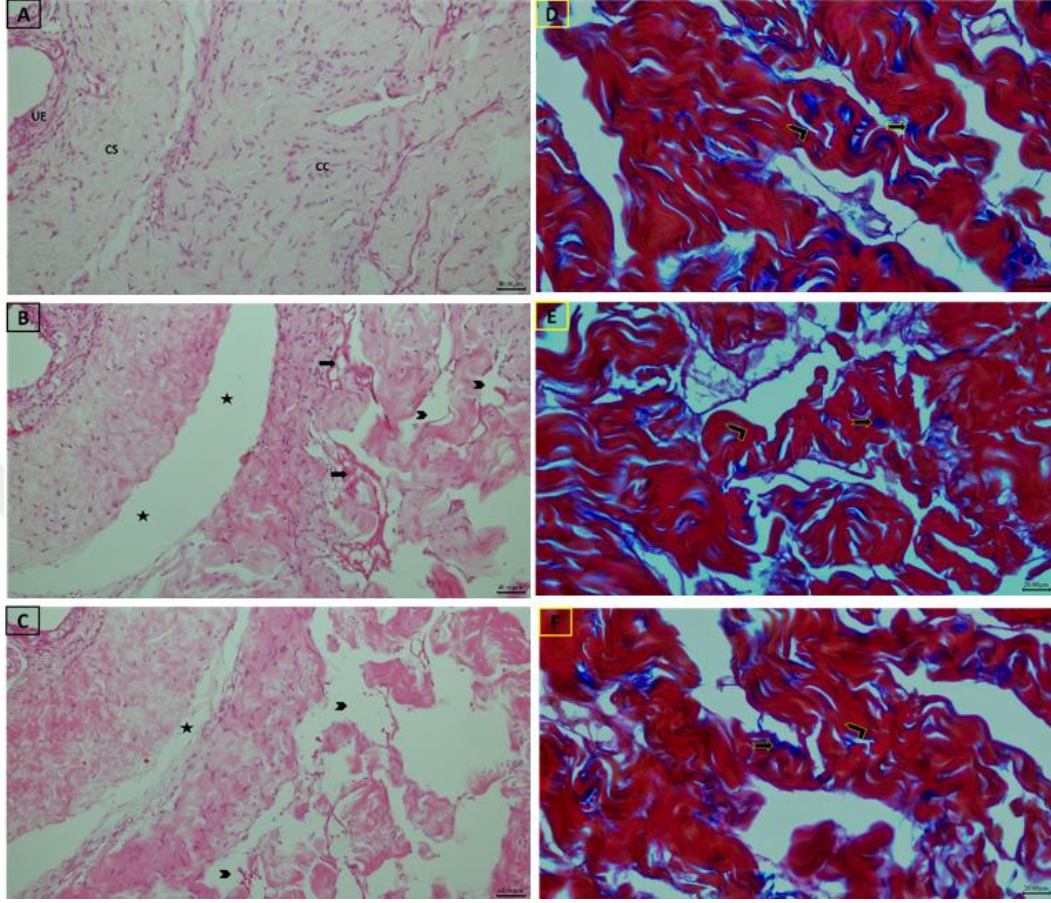
Korpus spongiozum ve korpus kavernozumlar normal yapıda izlendi. Düz kas ve kollajen lifler genel olarak normal görünümündü (Resim A, D).

Priapizm/Reperfüzyon Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;

Korpus kavernozumda yoğun ödem, kavernöz sinüslerde belirgin dilatasyon ve tunika albugineada ciddi ayrılmalar mevcuttu. Korpus kavernozumda ödem, düz kas ve kollajen liflerde düzensizlik ve yer yer dejenerasyonlar görüldü. Kollajen lif ve bağ doku yoğunluğunda bölgesel hafif artışlar olmakla beraber genel olarak kontrol grubuna benzer izlendi (Resim B, E).

Priapizm/Reperfüzyon + Propolis Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;

Korpus kavernozumdaki ödemin azaldığı, tunika albugineadaki ayrılmaların ise priapizm grubuna göre azalmakla birlikte devam ettiği görüldü. Kavernöz sinüslerdeki dilatasyon devam etmekle birlikte konjesyon azalmıştı. Korpus kavernozumun düz kas ve kollajen liflerindeki düzensizlik-azalmakla birlikte devam etmekteydi. Kollajen lif ve bağ doku yoğunluğu hasar grubuna benzerdi (Resim C, F).



Resim 3

A: Grup kontrole ait penis kesiti. Üretral epitel (UE), Korpus spongiosum (CS), Korpus kavernozum (CC), (H&Ex200).

B: Grup priapizme ait penis kesiti. Tunika albugineada ayrılma (yıldız), korpus kavernozumda ödem (ok), kavernöz sinüslerde dilatasyon (ok başı) (H&E x200).

C: Grup tedaviye ait penis kesiti. Tunika albugineada ayrılma (yıldız), kavernöz sinüslerde dilatasyon (ok başı), (H&E x200).

D: Grup kontrole ait penis kesiti. Bağ doku-kollajen lifler (çentikli ok) ve düz kas (köşeli ok) (Masson trikrom x400).

E: Grup priapizme ait penis kesiti. Bağ doku-kollajen lifler (çentikli ok) ve düz kas (köşeli ok) (Masson trikrom x400).

F: Grup tedaviye ait penis kesiti. Bağ doku-kollajen lifler (çentikli ok) ve düz kas (köşeli ok) (Masson trikrom x400).

Tüm dokularda ortak parametreler olarak kavernöz sinüs konjesyonu, kavernöz dokuda dejenerasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, tunika albugineada ayrılma araştırıldı. Gruplara ait incelemelerde elde edilen histolojik değerlendirme sonuçları Tablo 2’de sunulmuştur.

Tablo 2. Korpus Kavernozum ve Spongiozuma ait histolojik değerlendirme sonuçlar

GRUPLAR	Kavernöz Sinüs Dilatasyonu/ Konjesyonu	Kavernöz Dokuda Ödem/Dejenerasyon	İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu	Tunika Albugineada Ayrılma
Kontrol 1	1	0	1	1
Kontrol 2	0	0	1	1
Kontrol 3	1	1	1	1
Kontrol 4	1	1	1	2
Kontrol 5	1	1	2	1
Kontrol 6	1	1	1	1
Priapizm/Reperfüzyon 1	2	2	1	3
Priapizm/Reperfüzyon 2	2	2	2	2
Priapizm/Reperfüzyon 3	3	3	2	3
Priapizm/Reperfüzyon 4	3	2	1	3
Priapizm/Reperfüzyon 5	3	2	2	2
Priapizm/Reperfüzyon 6	3	3	1	3
Pri/Rep+ Propolis 1	2	2	1	2
Pri/Rep+ Propolis 2	2	1	2	2
Pri/Rep+ Propolis 3	1	2	1	2
Pri/Rep+ Propolis 4	2	2	1	2
Pri/Rep+ Propolis 5	2	2	2	1
Pri/Rep+ Propolis 6	2	2	1	2

Skorlama sonuçları için istatistiksel analizler yapıldığında, kavernöz sinüs dilatasyonu / konjesyonu, kavernöz dokuda ödem / dejenerasyon, tunika albugineada ayrılma) için gruplar arasında anlamlı farklılıklar olabileceğini ortaya koyan sonuçlar elde edildi (Tablo 3.)

Tablo 3. Gruplardan elde edilen histolojik verilerin istatistiksel analizi

Gruplar	p değeri*
Kavernöz Sinüs Konjesyonu	p= 0,001
Kavernöz Dokuda Dejenerasyon	p= 0,002
İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu	p > 0,05
Tunika Albugineada Ayrılma	p =0,003

*Kruskal Wallis testi

Gruplar arasında fark olabileceği yönündeki veriler elde edilen 3 parametre için ileri incelemeler yapıldığında, Kontrol grubu ve Priapizm/reperfüzyon grupları arasında, kavernöz sinüs dilatasyonu / konjesyonu, kavernöz dokuda ödem / dejenerasyon, tunika albugineada ayrılma açısından anlamlı farklılıklar olduğu ortaya konmuştur (Tablo 4).

Tablo 4. Kontrol ve priapizm/reperfüzyon gruplarına ilişkin histolojik verilerin istatistiksel analizi

Gruplar	p değeri*
Kavernöz Sinüs Konjesyonu	p= 0,002
Kavernöz Dokuda Dejenerasyon	p= 0,003
Tunika Albugineada Ayrılma	p =0,004

*Mann-Whitney U test

Priapizm/reperfüzyon grubu' ile 'priapizm/reperfüzyon+Propolis' karşılaştırıldığında istatistiksel incelemeler sonucunda sadece tunika albugineada ayrılma değerlerinde anlamlı farklılık olduğu görüldü.(Tablo 5)

Tablo 5. Priapizm/reperfüzyon ve priapizm/reperfüzyon+Propolis gruplarına ilişkin histolojik verilerin istatistiksel analizi.

Gruplar	p<0,05 ise p değeri *
Kavernöz Sinüs Konjesyonu	
Kavernöz Dokuda Dejenerasyon	
Tunika Albugineada Ayrılma	p =0,027**

*Mann-Whitney U test

4.2 Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Bu çalışmada, kontrol, priapizm ve priapizm + Propolis uygulanan gruplarda priapizmin penil doku üzerinde gerçekleştirilen biyokimyasal analizler sonucunda elde edilen veriler aşağıda sunulmuştur

Kruskal Wallis varyans analizi sonrası kontrol, priapizm, priapizm+Propolis arasında oluşturulan parametreler; MDA, SOD, GPx, SIRT1, GSH, NFkB, İL6, STAT3, HIF1a, GRP78, ATF6, CHOP , CASP3 olduğu izlendi (Tablo 6) .

Tablo 6. Kontrol, priapizm ve priapizm+Propolis gruplarına ilişkin biyokimyasal veriler*

Parametreler	Kontrol	Priapizm	Priapizm+Propolis	p<0,05 ise p değeri **
MDA (nmol/mg protein)	8,951 ± 3,561	29,150± 10,360	13,039±11,367	p=0,013
SOD (ng/mg protein)	0,180± 0,080	0,077± 0,019	0,152± 0,064	p=0,004
GPx (pg/mg protein)	85,218± 25,045	37,900± 22,385	63,870±16,832	p=0,019
SIRT1 (ng/mg protein)	2,236 ± 0,859	1,304 ± 0,418	1,646 ± 0,510	
GSH (µg/mg protein))	74,461± 47,491	22,669± 8,487	55,205±35,036	p=0,042
NFkB (pg/mg protein)	476,183± 150,963	1700,013± 794,030	369,719±68,631	p=0,002
İL6 (pg/mg)	86,875± 18,447	179,379± 50,201	130,662±58,049	p=0,008
STAT3 (ng/mg protein)	0,273 ± 0,159	0,568 ± 0,364	0,180 ± 0,567	
HIF1a (pg/mg protein)	8,433± 1,752	12,920± 1,679	8,517±1,546	p=0,008
GRP78 (ng/mg protein)	3,783 ± 1,183	6,650 ± 4,445	2,800 ± 0,728	
ATF6 (pg/mg protein)	300,694± 118,590	888,327± 393,202	409,325± 160,411	p=0,007
CHOP(ng/mg protein)	1,326± 0,480	2,333± 1,131	1,038± 0,332	p=0,039
CASP3 (ng/mg protein)	2,115± 1,152	3,944± 1,859	1,793± 0,466	p=0,015

*Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur

** Kruskal Wallis varyans analizi

Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U test incelemesinde Kontrol grubu ve priapizm grupları arasındaki anlamlı sonuçlanan parametreler ; MDA, SOD, GPx, GSH, NFkB, İL6, HIF1a, ATF6, CHOP , CASP3 olduğu izlendi (Tablo 7) .

Tablo 7. Kontrol ve priapizm gruplarının karşılaştırılması*

Parametre	p<0.017 ise p değeri
MDA (nmol/mg protein)	p=0,006
SOD (ng/mg protein)	p=0,004
GPx (pg/mg protein)	p=0,010
NFkB (pg/mg protein)	p=0,004
İL6 (pg/mg)	p=0,006
HIF1a (pg/mg protein)	p=0,010
ATF6 (pg/mg protein)	p=0,004

* Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi

Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U test incelemesinde Priapizm ve priapizm+Propolis grupları arasındaki anlamlı sonuçlanan parametreler ; SOD, NFkB, HIF1a, ATF6 olduğu izlendi (Tablo 8).

Tablo 8. Priapizm ve priapizm+Propolis gruplarının karşılaştırılması*

Parametre	p<0.017 ise p değeri
MDA (nmol/mg protein)	
SOD (ng/mg protein)	p=0,008
GPx (pg/mg protein)	
NFkB (pg/mg protein)	p=0,004
İL6 (pg/mg)	
HIF1a (pg/mg protein)	p=0,006
ATF6 (pg/mg protein)	p=0,016

* Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi

Propolis uygulamasının priapizm ile bozulan parametrelerin normal seviyelere yaklaştığını teyit etmek amacıyla Kontrol ve priapizm +Propolis grupları karşılaştırılmış olup ; SOD, NFkB, HIF1a, ATF6 iskemi ve reperfüzyon üzerine anlamlı etkileri olduğu izlendi (Tablo 9).

Tablo 9. Kontrol ve priapizm+Propolis gruplarının karşılaştırılması*

Parametre	p değeri
SOD (ng/mg protein)	p>0,017
NFkB (pg/mg protein)	p>0,017
HIF1a (pg/mg protein)	p>0,017
ATF6 (pg/mg protein)	p>0,017

* Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U Test

5.TARTIŞMA

İskemik priapizm, priapizmin en sık görülen alt tipi olup 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 (36,37). İskemi 4-6 saatten uzun sürerse geri dönüşümsüz korporal doku nekrozu ve fibrotik doku oluşumu izlenebilmektedir (42–44). İskemik priapizmde düz kas nekrozu, korporal fibrozis ve perminant erektil disfonksiyon (ED) gibi irreversibl sonuçları azaltmak için acil medikal müdahale gereklidir (136,137).

Reperfüzyon, iskemiye maruz kalan doku ya da organların yeniden kanlanması ve oksijenlenmesi olayıdır. Reperfüzyon hasarı ise, iskemi periyodunu izleyen yeniden kanlanma döneminde doku ya da organlarda meydana gelen hasar olarak tanımlanır. Hücre içine moleküler oksijenin sunumuyla hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri en çok suçlanan faktör olmakla birlikte, reperfüzyon hasarından birçok mekanizma sorumlu tutulmuştur(71). 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 hücrel ve metabolik süreçleri sekteye uğratmaktadır(138,139).

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidan, bu olaya da antioksidan savunma denir(104). 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(140).

Propolis, bal arıları tarafından bitkilerden özellikle de çiçek ve tomurcuklardan toplanan çeşitli miktarlarda balmumu ve reçine karışımı içeren ve kovan bulunan doğal üründür.

Propolisin çok eski yıllardan beri geleneksel tıpta çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı ve antimikrobiyal, antioksidan, antitümör, antienflamatuar, antiülser gibi biyolojik aktivitelere sahip olduğu birçok bilimsel çalışma ile gösterilmiştir.

Propoliste Mg, Ca, I, K, Na, Cu, Zn, Mn ve Fe gibi elementlerle B1, B2, B6, C ve E vitaminleri ile çok sayıda yağ asidi tanımlanmıştır. Propolisin süksinik dehidrogenaz, glukoz-6-fosfataz, adenzin trifosfataz ve asit fosfataz gibi enzimler içermektedir. (128).

Son yıllarda propolisin önemli biyolojik etkilerinden birinin de karsinostatik etki olduğu fark edilmiştir. Propolis bileşiminde bulunan organik maddelerden flavonoidler, serbest radikal temizleyicisi, metabolik enzim düzenleyici, detoksifiye edici ve immomodulasyonu sağlayıcı etkileri ile ileri aşamalarda antikanserojenik etki göstermektedirler. Bu yönüyle propolis bağırsak, böbrek, meme, burun ve farinks kanserinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır.

Propolisin antiinflamatuar etkisini, trombosit agregasyonunu önleyerek, prostoglandinler ve lökotrienler gibi ekazonoidlerin sentezini inhibe ederek ve histamin gibi inflamasyonda rol oynayan mediatörlerin salınımı engelleyerek oluşturduğu öne sürülmüştür. Propolis ekstraktlarının dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek antiinflamatuar etkin oluşturduğu ve bu enzim üzerindeki inhibisyonun kafeik asit esterlerine (CAFE) bağlı olduğu belirtilmektedir

Propolisin antibakteriyal etkisi, özellikle gram (+) koklar ile gram (-) basiller üzerinde gözlenmiştir.

Propolis uygulanan deney hayvanlarında erken dönemde büyüme faktörlerinde sadece fibroblast büyüme faktörü (FGF-2) ve vasküler endotelial büyüme faktöründe (VEGF) artış gözlenirken, geç dönemde ise kollajen tip-1 artışı ve MCP-1 düzeyindeki azalma da diğer gruplardakine benzer şekilde gözlenmiştir.

Propolisin normal hücre aktivitelerini arttırdığını, doku yenilenmesini hızlandırdığı, zarar görmüş pankreas hücrelerini yenilediğini, ayrıca diyabet tedavisine terapötik katkısı olduğu çalışmalarla kanıtlanmıştır. Propolisin fitoöstrojenik etkili olabileceği ve östrojen reseptörleri ile etkileşime girebilme yeteneklerine bağlı olarak, östrojen yetersizliğine bağlı olarak gelişen kalp damar hastalıkları, osteoporoz gibi bozukların kısmen düzelmesinde etkili olabileceği, aynı zamanda menapoz ve antropoz sonrası uygulanabilen hormon replasman tedavileri (HRT) nin korkulan yan etkileri olan meme ve prostat kanserlerinden korunmaya karşı alternatif bir uygulama olabileceği de belirtilmektedir. (130).

Farelerde Salmonella enfeksiyonundan sonra patolojik değişikliklerde azalma sağladığı da propolisin bildirilen etkileri arasındadır . Propolis ekstraktının in vitro koşullarda kireç hastalığı etkeni olan *Ascosphaera apis* patojenine karşı yüksek bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Ahinler ve ark 2003).

Propolisin belirtilen anestezi etkisinin içinde bulunan esansiyel yağlardan kaynaklandığını bildirilmektedir. Yapılan çalışmalar bu anestezi etkilerin kokain ve prokainden daha güçlü olduğunu göstermiştir.

Biz yaptığımız bu çalışma ile ratlarda deneysel olarak oluşturulan akut iskemik priapizm modelinde, 1 saatlik akut iskemik priapizm ve yarım saatlik reperfüzyon sonrası geri dönüşümsüz hasar oluşmadan önce dokulardaki erken histopatolojik değişiklikleri (Kavernöz Sinüs Konjesyonu, Kavernöz Dokuda Dejenerasyon, İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu, Tunika Albuginea Ayrılma) ve biyokimyasal verileri (Doku MDA, SAD, GPx, SIRT1, GSH, NFkB, İL6, STAT 3, HIF1a, GRP78, ATF6, CHOP, CASP 3) inceledik. Doku seviyelerindeki değişiklikler ve uygulanacak olan Propolisin I/R hasarı üzerine olası koruyucu etkisinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesini amaçladık.

Çalışmamızdaki histopatolojik veriler değerlendirildiğinde Propolis'in priapizmde oluşan tunika albugineadaki ayrılma ve konjesyonunu azalttığı izlenmiş olup inflamatuvar hücre infiltrasyonu üzerinde etkisi gözlenmemiştir.

Süperoksit dismutaz (SOD), ROS ve süperoksit anyon radikallerine karşı en önemli antioksidan savunma sistemidir. SOD bir süperoksit radikalini O₂ molekülüne yükseltgeyip, diğer bir süperoksit radikalini ise daha az reaktif bir molekül olan hidrojen perokside (H₂O₂) indirgenmesini katalize eder. SOD'un üç farklı izoformu vardır. SOD 1 gen mutasyonları Down sendromu, Amniyotrofik Lateral Skleroz (ALS) hastalıklarının patofizyolojisinde rol oynamaktadır. SOD 2, hücre farklılaşmasında, tümorogenezisde ve pulmoner toksisite ile uyarılan hipoksizde majör rol oynar. Ayrıca, SOD 2 gen mutasyonları nadir görülen ailesel motor nöron hastalıkları, idiyopatik kardiyomiyopati ve erken yaşlanma ile ilişkilendirilebilir. SOD seviyesinin düşmesi serbest radikal oluşumunu artırır. Yaşlanma ile birlikte SOD seviyeleri azalır (145). Yaptığımız çalışmada parametrik veriler içerisinde değerlendirilen doku SOD seviyelerinde Pri/Rep grubunda kontrol grubuna göre yükselmenin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüş; Pri/Rep+Propolis grubunda ise Pri/Rep grubuna göre doku SOD düzeylerindeki düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Son araştırmalar, nükleer faktör kappa B'nin (NF-κB) otoimmün bozukluk, inflamatuvar, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi hastalıklarda yoğun rolünü ortaya koymuştur. Bu nedenle, nükleer faktör kappa B (NF-κB) proteinini hedeflemek, terapötik bir yaklaşım olarak yeni bir fırsat sunmaktadır. NF-κB tümör patolojisine ve tedaviye dirençte katkıda bulunan proinflamatuvar ve hipoksik yanıtları düzenleyen önemli bir sinyal molekülüdür (146). Doku NF-κB seviyelerinde Pri/Rep grubunda kontrol grubuna göre yükselmenin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüş; Pri/Rep+Propolis grubunda ise Pri/Rep grubuna göre doku NF-κB düzeylerindeki düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Bu bulgular propolisi'nin antioksidan özelliğini desteklemektedir.

Hipoksiye neden olan faktör 1 (HIF-1), eritropoietin, vasküler endotelial büyüme faktörü, hem oksijenaz-1, neden olan nitrik oksit sentaz ve glikolitik enzimler aldolaz A, enolaz 1, laktat dehidrogenaz A, fosfofruktokinaz I ve fosfoglisarat kinaz 1'i kodlayanlar da dahil olmak üzere hipoksiye neden olan genlerin transkripsiyonunu aktive eden temel bir heliks-ilmek-heliks

proteinidir. HIF-1 analiz edilen tüm insan, fare ve sıçan organlarında tespit edildi ve mRNA ekspresyonu hipoksiye maruz bırakılan kemirgenlerde orta düzeyde indüklendiği gözlenmiştir. (109). Yaptığımız çalışmada parametrik veriler içerisinde değerlendirilen doku HIF-1 seviyelerinde Pri/Rep grubunda kontrol grubuna göre yükselmenin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüş; Pri/Rep+Propolis grubunda ise Pri/Rep grubuna göre doku HIF-1 düzeylerindeki düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür.

ATF6 (Activating Transcription Factor 6), hücre içi stresle başa çıkmak için devreye giren bir transkripsiyon faktörüdür ve özellikle endoplazmik retikulum (ER) stresi durumunda aktive olur. Kalp hücrelerinde ER stresine bağlantılı hasarı azaltmak için ATF6 yolunun aktive edilmesi, kalp yetmezliği gibi durumlarda koruyucu etki gösterebilir.(110) Yaptığımız çalışmada parametrik veriler içerisinde değerlendirilen doku ATF6 seviyelerinde Pri/Rep grubunda kontrol grubuna göre yükselmenin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüş; Pri/Rep+Propolis grubunda ise Pri/Rep grubuna göre doku ATF6 düzeylerindeki düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür.

Ozan ve ark.(150) İR modeli üzerinde yapmış oldukları çalışmada, kan ve doku MDA düzeylerini iskemi/reperfüzyon grubunda yüksek bulmuşlar. Bizim de yapmış olduğumuz çalışmamızda doku MDA düzeyleri ölçüldü. Pri/Rep grubunda ölçülen MDA düzeyi, kontrol grubuna göre artmıştı. Pri/Rep+Propolis grubunda ise doku MDA seviyesinde düşüş görülmekle beraber gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Çalışmamız 18 rat ile yapıldığından dolayı biyokimyasal ve histolojik verilerden elde ettiğimiz bulguları artırmak adına daha fazla sayıda rat ile çok merkezli deneylere ihtiyaç duyulmaktadır.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

- Deneysel model, biyokimyasal olarak priapizm/reperfüzyon grubundaki artan doku SOD seviyelerinin Propolis verilen ratlarda azaldığını göstermiştir.
- Deneysel model, biyokimyasal olarak priapizm/reperfüzyon grubundaki artan doku NF- κ B seviyelerinin Propolis verilen ratlarda azaldığını göstermiştir.
- Deneysel model, histolojik olarak priapizm/reperfüzyon grubundaki ratlarda izlenen tunika albugineadaki ayrılma ve konjesyonun Propolis verilen ratlarda azaldığını göstermiştir.
- Propolis, priapizm/reperfüzyon durumunda dokularda oluşabilecek biyokimyasal ve histolojik hasarı engellemede etkili olabileceği görülmüştür.
- Çalışmamızda ve diğer benzeri çalışmalarda elde edilen veriler değerlendirildiğinde Propolisin insanlarda kullanımı konusunda daha fazla çalışmalara gerek duyulmaktadır.

7.KAYNAKLAR

1. Hudnall M, Reed-Maldonado AB, Lue TF. Advances in the understanding of priapism. *Transl Androl Urol*. 2017 Apr 1;6(2):199–206.
2. Montague DK, Jarow J, Broderick GA, Dmochowski RR, Heaton JPW, Lue TF, et al. American Urological Association guideline on the management of priapism. *J Urol*. 2003 Oct 1;170(4 Pt 1):1318–24.
3. Broderick GA, Kadioglu A, Bivalacqua TJ, Ghanem H, Nehra A, Shamloul R. Priapism: pathogenesis, epidemiology, and management. *J Sex Med*. 2010;7(1 Pt 2):476–500.
4. 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.
5. El-Bahnasawy MS, Dawood A, Farouk A. Low-flow priapism: risk factors for erectile dysfunction. *BJU Int* [Internet]. 2002 [cited 2023 Jan 5];89(3):285–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11856112/>
6. Hatzichristou D, Salpiggidis G, Hatzimouratidis K, Apostolidis A, Tzortzis V, Bekos A, et al. Management strategy for arterial priapism: therapeutic dilemmas. *J Urol* [Internet]. 2002 Nov 1 [cited 2023 Jan 5];168(5):2074–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12394712/>
7. Witt MA, Goldstein I, Saenz de Tejada I, Greenfield A, Krane RJ. Traumatic laceration of intracavernosal arteries: the pathophysiology of nonischemic, high flow, arterial priapism. *J Urol*. 1990;143(1):129–32.
8. Steers WD, Selby JB. Use of methylene blue and selective embolization of the pudendal artery for high flow priapism refractory to medical and surgical treatments. *J Urol*. 1991;146(5):1361–3.
9. Pautler SE, Brock GB. Priapism. From Priapus to the present time. *Urol Clin North Am*. 2001;28(2):391–404.

10. 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.
11. Braakhuis A. (2019). Evidence on the Health Benefits of Supplemental Propolis. *Nutrients*, 11(11), 2705.
12. Cheung K.W., Sze D.M.Y., Chan W.K., Deng R.X., Tu W., Chan G.C.F. Brazilian green propolis and its constituent, Artepillin C inhibits allogeneic activated human CD4 T cells expansion and activation. *J. Ethnopharmacol.*
13. Swamy M., Norlina W., Azman W., Suhaili D., Sirajudeen K.N., Mustapha Z., Govindasamy C. Restoration of glutamine synthetase activity, nitric oxide levels and amelioration of oxidative stress by propolis in kainic acid mediated excitotoxicity. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 2014;11:458–463..
14. Nakajima Y., Shimazawa M., Mishima S., Hara H. Neuroprotective effects of Brazilian green propolis and its main constituents against oxygen-glucose deprivation stress, with a gene-expression analysis. *Phytother. Res.* 2009;23:1431–1438.
15. Kwon Y.S., Park D.H., Shin E.J., Kwon M.S., Ko K.H., Kim W.K., Jhoo J.H., Jhoo W.K., Wie M.B., Jung B.D., et al. Antioxidant propolis attenuates kainate-induced neurotoxicity via adenosine A1 receptor modulation in the rat. *Neurosci. Lett.* 2004;355:231–23
16. Ahn, Y.H.; Seok, P.R.; Oh, S.J.; Choi, J.W.; Shin, J.-H. A Study on the Protective Effect of Antioxidants on Damage Induced by Liver Ischemia/Reperfusion in a Rat Model. *Korean J. Clin. Lab. Sci.* 2019, 51, 370–378.
17. Azemin, A., Md-Zin, N., Mohd-Rodi, M., Kim-Chee, A., Zakaria, A., Mohd, K. (2017). Application of metabolite profiling and antioxidant activity in assessing the quality of processed and unprocessed stingless bee's propolis. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 9(2S), 637-660.
18. Jacob, S.E., Chimento, S., Castanedo-Tardan, M.P. (2008). Allergic contact dermatitis to propolis and carnauba wax from lip balm and chewable vitamins in a child. *Contact Dermatitis*, 58(4), 242-243.
19. Brooks JD: Anatomy of the lower urinary tract and male genitalia. In Walsh PC, Retik BA, Vaughan Jr ED, Wein AJ (eds): *Campbell's Urology*, WB Saunders 1998 pp. 89-130

20. Alp T, Vatandaşlar F: Anatomi In Tellaloğlu S, Kadioğlu A (eds): Erkek seksüel disfonksiyonu. Nobel Kitabevi, İstanbul, 2000, pp 31-38. Tanagho EA, McAninch JW. Smith's general urology: McGrawHill Professional.; 2008.
21. Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. Campbell-Walsh urology: expert consult premium edition: enhanced online features and print, 4-volume set: Elsevier Health Sciences; 2011.
22. 15. Mundy A, Healy J. Muscles and fasciae of the perineum: true pelvis, pelvic floor and perineum. Gray's Anatomy 39th ed London: Elsevier Churchill Livingstone. 2005:p1365-71.
23. P. A. . Wein A.J.,Kavoussi L.R., Campbell's Urology. 10th Ed. Physiology Of Penile Erection And Pathophysiology Of Erectile Dysfunction, 10th ed. Philadelphia, 2012.Halata Z, Munger BL. The neuroanatomical basis for the protopathic sensibility of the human glans penis. Brain Res. 1986 Apr 23;371(2):205–30.
24. Junqueira LC. Luis Carlos Junqueira JC. Temek Histoloji Text & Atlas. 2006: Nobel Tıp Kitabevi.446. .
25. Breza J, Aboseif SR, Orvis BR, Lue TF, Tanagho EA. Detailed anatomy of penile neurovascular structures: surgical significance. J Urol. 1989;141(2):437–43.
26. Ralph DJ. Normal erectile function. Clin Cornerstone. 2005;7(1):13–7.
27. Lue TF: Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction and priapism. Campbell's Urology (Patrick C.Walsh, ed.). 8th ed. Vol.2, 2002, 1589-1618.
28. Wagner G, Gerstenberg T, Levin RJ. Electrical activity of corpus cavernosum during flaccidity and erection of the human penis: a new diagnostic method? J Urol. 1989;142(3):723–5.
29. Steers WD: Neuroanatomy and Neurophysiology of erection. Sexuality and disability; vol.12: No:1 1994, 17-27.
30. Akyuz M, Dincer K, Inanır M, Cakıcı A: Medulla spinalis yaralanmalı erkeklerin cinsel aktiviteleri, problemleri ve ilgileri: Fiziksel Tıp;2: 1998, 21-26.
31. Burnett AL, Tillman SL, Chang TSK, Epstein JI, Lowenstein CJ, Bredt DS, et al. Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the autonomic innervation of the human penis. J Urol. 1993;150(1):73–6.

32. Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N. Temel Üroloji Kitabı. Üçüncü Baskı Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara. 2008:210-4.
33. Partin AW, Dmochowski RR, R. LK, A. CP. Campbell-Walsh-Wein Urology Elsevier Twelfth Edition. Twelfth Ed.
34. Montague DK, Jarow J, Broderick GA, Dmochowski RR, Heaton JPW, Lue TF, et al. American Urological Association guideline on the management of priapism. J Urol. 2003 Oct 1;170(4 Pt 1):1318–24.
35. Burnett AL, Bivalacqua TJ. Priapism: new concepts in medical and surgical management. Urol Clin North Am. 2011 May;38(2):185–94.
36. Broderick GA, Kadioglu A, Bivalacqua TJ, Ghanem H, Nehra A, Shamloul R. Priapism: pathogenesis, epidemiology, and management. J Sex Med. 2010;7(1 Pt 2):476–500.
37. Pryor J, Akkus E, Alter G, Jordan G, Lebret T, Levine L, et al. Priapism. J Sex Med. 2004;1(1):116–20.
38. Roghmann F, Becker A, Sammon JD, Ouerghi M, Sun M, Sukumar S, et al. Incidence of priapism in emergency departments in the United States. J Urol. 2013 Oct;190(4):1275–80.
39. Tay YK, Spornat D, Rzetelski-West K, Appu S, Love C. Acute management of priapism in men. BJU Int. 2012 Apr;109 Suppl 3(SUPPL. 3):15–21.
40. Ralph DJ, Garaffa G, Muneer A, Freeman A, Rees R, Christopher AN, et al. The immediate insertion of a penile prosthesis for acute ischaemic priapism. Eur Urol. 2009 Dec;56(6):1033–8.
41. Muneer A, Minhas S, Freeman A, Kumar P, Ralph DJ. Investigating the effects of high-dose phenylephrine in the management of prolonged ischaemic priapism. J Sex Med. 2008;5(9):2152–9.
42. Costa WS, Felix B, Cavalcanti AG, Medeiros J, Sampaio FJ. Structural analysis of the corpora cavernosa in patients with ischaemic priapism. BJU Int. 2010 Mar;105(6):838–41.
43. 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* [Internet]. 2001 [cited 2022 Oct 2];13 Suppl 5:S39–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11781746/>.
44. Cherian J, Rao AR, Thwaini A, Kapasi F, Shergill IS, Samman R. Medical and surgical management of priapism. *Postgrad Med J*. 2006 Feb;82(964):89–94.
 45. LeRoy TJ, Broderick GA. Doppler blood flow analysis of erectile function: who, when, and how. *Urol Clin North Am*. 2011 May;38(2):147–54.
 46. Ozan T, Firdolas F, Orhan I. Priapism in Experimental Studies: Reflections on the Practice. *Türk Üroloji Semin Urol Semin*. 2011;2(10):281–7.
 47. Montague DK, Jarow J, Broderick GA, Dmochowski RR, Heaton JPW, Lue TF, et al. American Urological Association guideline on the management of priapism. *J Urol*. 2003 Oct 1;170(4 Pt 1):1318–24.
 48. Sanli O, Armagan A, Kandirali E, Ozerman B, Ahmedov I, Solakoglu S, et al. TGF- beta1 neutralizing antibodies decrease the fibrotic effects of ischemic priapism. *Int J Impot Res*. 2004 Dec;16(6):492–7.
 49. UL-HASAN M, EL-SAKKA A, LEE C, YEN TS, DAHIYA R, LUE T. Expression of TGF-beta-1 mRNA and ultrastructural alterations in pharmacologically induced prolonged penile erection in a canine model. *J Urol*. 1998 Dec;160(6 Pt 1):2263–6.
 50. Burnett AL, Tillman SL, Chang TSK, Epstein JI, Lowenstein CJ, Bredt DS, et al. Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the autonomic innervation of the human penis. *J Urol*. 1993;150(1):73–6.
 51. Claudino MA, Franco-Penteado CF, Priviero FBM, Camargo EA, Teixeira SA, Muscará MN, et al. Upregulation of gp91phox subunit of NAD(P)H oxidase contributes to erectile dysfunction caused by long-term nitric oxide inhibition in rats: reversion by regular physical training. *Urology*. 2010 Apr;75(4):961–7.
 52. Phatarpekar P v., Wen J, Xia Y. Role of adenosine signaling in penile erection and erectile disorders. *J Sex Med*. 2010;7(11):3553–64.
 53. Patole S, Lee J, Buettner P, Whitehall J. Improved oxygenation following adenosine infusion in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Biol Neonate*. 1998 Nov;74(5):345–50.

54. 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.
55. Dean RC, Lue TF. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction. *Urol Clin North Am*. 2005 Nov;32(4):379–95.
56. 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.
57. Shamloul R. The potential role of the heme oxygenase/carbon monoxide system in male sexual dysfunctions. *J Sex Med*. 2009;6(2):324–33.
58. Ünüş İ, Firdolaş F, Özcan M, Karakeçi A, Onur R Oİ. Bosentan, Teofilin ve Vardenafil'in priapizm tedavisinde kullanımı. 9Ulusal Androloji Kongresi. :92. .
59. Hellstrom WJG, Gittelman M, Karlin G, Segerson T, Thibonnier M, Taylor T, et al. Sustained efficacy and tolerability of vardenafil, a highly potent selective phosphodiesterase type 5 inhibitor, in men with erectile dysfunction: Results of a randomized, double-blind, 26-week placebo-controlled pivotal trial. *Urology*. 2003 Apr 1;61(4 SUPPL. 1):8–14.
60. Lin CS. Phosphodiesterase type 5 regulation in the penile corpora cavernosa. *J Sex Med*. 2009;6 Suppl 3(SUPPL. 3):203–9.
61. Bialecki ES, Bridges KR. Sildenafil relieves priapism in patients with sickle cell disease [1]. *Am J Med*. 2002 Aug 15;113(3):252. .
62. Burnett AL, Bivalacqua TJ, Champion HC, Musicki B. Long-term oral phosphodiesterase 5 inhibitor therapy alleviates recurrent priapism. *Urology*. 2006 May;67(5):1043–8.
63. Lin CS, Lin G, Lue TF. Cyclic nucleotide signaling in cavernous smooth muscle. *J Sex Med*. 2005;2(4):478–91.
64. 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.
65. Muneer A, Minhas S, Freeman A, Kumar P, Ralph DJ. Investigating the effects of high-dose phenylephrine in the management of prolonged ischaemic priapism. *J Sex Med*. 2008;5(9):2152–9.

66. Raja SG, Dreyfus GD. Current status of bosentan for treatment of pulmonary hypertension. *Ann Card Anaesth*. 2008 Jan;11(1):6–14.
67. Dhillon S, Keating GM. Bosentan: a review of its use in the management of mildly symptomatic pulmonary arterial hypertension. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2009;9(5):331–50.
68. 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.
69. Damjanov I, Linder J. Cell injury and cellular adaptations. *Anderson's Pathology*. Tenth Edition. Volum 1: 357-365. .
70. Moreland RB, Gupta S, Goldstein I, Traish A. Cyclic AMP modulates TGF- β 1-induced fibrillar collagen synthesis in cultured human corpus cavernosum smooth muscle cells. *Int J Impot Res*. 1998;10(3):159–63.
71. 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.
72. Uluocak N, Atilgan 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.
73. 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.
74. Obinger C. Chemistry and biology of human peroxidases. *Arch Biochem Biophys*. 2006 Jan 15;445(2):197–8.
75. Wang JG, Mahmud SA, Thompson JA, Geng JG, Key NS, Slungaard A. The principal eosinophil peroxidase product, HOSCN, is a uniquely potent phagocyte oxidant inducer of endothelial cell tissue factor activity: a potential mechanism for thrombosis in eosinophilic inflammatory states. *Blood* [Internet]. 2006 Jan 15 [cited 2023 Jan 5];107(2):558–65. Available from: ,
76. Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO Rep*. 2006 Sep;7(9):880–5.
77. Rasheva VI, Domingos PM. Cellular responses to endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *Apoptosis*. 2009 Aug;14(8):996–1007.

78. Lin JH, Walter P, Yen TSB. Endoplasmic reticulum stress in disease pathogenesis. *Annu Rev Pathol.* 2008;3:399–425.
79. Kaufman RJ. Orchestrating the unfolded protein response in health and disease. *J Clin Invest.* 2002 Nov 15;110(10):1389–98.
80. Xu KY, Zweier JL, Becker LC. Hydroxyl radical inhibits sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase function by direct attack on the ATP binding site. *Circ Res.* 1997;80(1):76–81.
81. Schaffer SW, Roy RS, McMord JM. Possible role for calmodulin in calcium paradox-induced heart failure. *Eur Heart J.* 1983;4 Suppl H(SUPPL. H):81–7.
82. Valko M, Morris H, Cronin M. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.* 2005 Apr 30;12(10):1161–208.
83. 70. Ozcan O, Erdal H, Yonden Z. İskemi-reperfüzyon hasari ve oksidatif stres ilişkisine biyokimyasal bakiş. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi.* 2015;6(23):27-33.
84. 63. Şener G, Bç Y. İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim Derg.* 2009;22(3):5-14.
85. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.* 1994 Sep 10;344(8924):721–4.
86. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med.* 1987;107(4):526–45.
87. Lebensztejn DM, Chwiećko M, Semeniuk J, Kaczmarek M, Farbiszewski R. The role of free oxygen radicals in children with chronic viral hepatitis B. *Rocz Akad Med Białymst* 1995; 40: 667-672.
88. Bianchi G, Marchesini G, Fabbri A, et al. Lipoperoxide plasma levels in patients with liver cirrhosis. *Hepatology* 1997; 44: 784-788.
89. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med.* 2000 Jul 28;109(1):33–44.
90. Solaini G, Harris DA. Biochemical dysfunction in heart mitochondria exposed to ischaemia and reperfusion. *Biochem J.* 2005 Sep 1;390(Pt 2):377–94.
91. S J Davies SYR-PVIR. Differential effect of ischaemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney - PubMed. *Exp Nephrol.* 1995;348–54. .
92. Grisham MB, Granger DN, Lefer DJ. Modulation of leukocyte-endothelial interactions by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: relevance to ischemic heart disease. *Free Radic Biol Med.* 1998;25(4–5):404–33.

93. Neutrophil elastase promotes lung microvascular injury and proteolysis of endothelial cadherins. *Am J Physiol.* 1998;275(2).
94. Korthuis RJ, Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clin Cardiol.* 1993;16(4 Suppl 1):19–26.
95. Collard CD, Lekowski R, Jordan JE, Agah A, Stahl GL. Complement activation following oxidative stress. *Mol Immunol.* 1999 Sep;36(13–14):941–8.
96. Welbourn CRB, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg.* 1991;78(6):651–5.
97. 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.
98. 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.
99. García-Villalón AL, Amezquita YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Diéguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascul Pharmacol.* 2008 Feb;48(2–3):109–14.
100. Davies S, Reichardt-Pascal S, Vaughan D, Russell G. Differential effect of ischaemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney. *Experimental nephrology.* 1995;3(6):348-54.
101. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol [Internet].* 2007 [cited 2023 Jan 9];39(1):44–84. Available from: .
102. Matés JM, Pérez-Gómez C, de Castro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* 1999 Nov;32(8):595–603.
103. Dündar Y, Aslan R. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları. Afyonkarahisar.* 2000.

104. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 2007 [cited 2023 Jan 9];39(1):44–84. Available from: .
105. Tayfur, M. (1991). Kalsiyum. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 20(2), 251-255.
106. Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine and Pharmacotherapy* [Internet]. 2003 May 1 [cited 2023 Jan 5];57(3):145–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12818476/>
107. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınevi, Konya,1995.
108. Cadenas E, Packer L. Handbook of antioxidants. Marcel dekker New York. 1996.
109. WIENER CM, BOOTH G, SEMENZA GL: In vivo expression of mRNAs encoding hypoxia-inducible factor 1. *Biochem Biophys Res Commun* 225:485, 1996
110. Tam AB, Roberts LS, Chandra V, et al. The UPR activator ATF6 responds to proteotoxic and lipotoxic stress by distinct mechanisms. *Dev Cell*. 2018;46(3):327-343e7
111. Bader N, Bosy-Westphal A, Koch A, Mueller MJ. Influence of vitamin C and E supplementation on oxidative stress induced by hyperbaric oxygen in healthy men. *Ann Nutr Metab* [Internet]. 2006 May [cited 2023 Jan 9];50(3):173–6. Available from: .
112. Azzi A, Gysin R, Kempná P, Ricciarelli R, Villacorta L, Visarius T, et al. The role of α -tocopherol in preventing disease: From epidemiology to molecular events. *Mol Aspects Med* [Internet]. 2003 [cited 2023 Jan 9];24(6):325–36. Available from: .
113. Larson RA. Naturally occurring antioxidants. Lewis publishers. New York. 1997.
114. Çayır Y. Magnezyum. Demir Akca AS, editör. Aile Hekimliğinde Vitamin ve Mineral Gereksinimlerine Yaklaşım. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2023. p.49-53.
115. Anisimov VN, Popovich IG, Zabezhinski MA, Anisimov S v., Vesnushkin GM, Vinogradova IA. Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen. *Biochim Biophys Acta*. 2006 May;1757(5–6):573–89.

116. Aydılek N, Aksakal M. Testosteronun tavşanlarda karaciğer antioksidan sistemi üzerine etkisi. YYÜ Vet Fak Derg. 2003;142: 22-25.
117. Parcell S. Sulfur in human nutrition and applications in medicine. Altern Med Rev. 2002; 7: 22-44.
118. Dekhuijzen PNR. Antioxidant properties of N-acetylcysteine: their relevance in relation to chronic obstructive pulmonary disease. Eur Respir J. 2004 Apr;23(4):629–36.
119. Amanvermez R, Tunçel ÖK, Demir Ş, Kefeli M, Bek Y, Çelik C. Protective effects of cysteine, methionine and vitamin C on the stomach in chronically alcohol treated rats. J Appl Toxicol. 2008 Jul;28(5):591–8.
120. Brenneisen P, Steinbrenner H, Sies H. Selenium, oxidative stress, and health aspects. Mol Aspects Med. 2005 Aug;26(4–5):256–67.
121. Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. The American Journal of Clinical Nutrition, 81(1), 215S-217S.
122. Kumazawa, S., Hamasaka, T., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. Food Chemistry, 84(3), 329-339.
123. Burak, M., Çimen, Y., 1999, Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. T Klin Tıp Bilimleri , 296-304.
124. Bozkurt, A. & Kurtoğlu, Firuze. (2010). Farklı Düzeylerde Propolis Uygulamalarının farelerde Lipid Peroksidasyonu (MDA) İle Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Değerlendirilmesi (S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
125. Marwah, R. G., Majekodunmi, O. F., Mahrooqi, R. A., Varma, G. B., Abadi H. A., Al-Burtamani S. K. S., 2007 Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman., Food Chemistry 101 465–470.
126. Shahidi, F., & Naczk, M. (1995). Food phenolics: Sources, chemistry, effects, applications. Lancaster, PA: Technomic Publishing Company.
127. Chen, Y. J., Shiao, M. S., & Wang, S. Y. (2007). "The antioxidant caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis associated with selective scavenging of hydrogen peroxide in human leukemic HL-60 cells." Anticancer Research, 27(5A), 3367-3377.

128. Wu J., Omene C., Karkoszka J., et al. (2011) Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE), Derived from a Honeybee Product Propolis, Exhibits a Diversity of Anti-tumor Effects in Preclinical Models of Human Breast Cancer. *Cancer Lett.* 308(1): 43-53.
129. Caffeic Acid Phenethyl Ester Induces Apoptosis by Inhibition of NF κ B and Activation of Fas in Human Breast Cancer MCF-7 Cells*, *Journal of Biological Chemistry*, Volume 279, Issue 7, 2004, Pages 6017-6026, ISSN 0021-9258
130. Sud'ina, G.F., Mirzoeva, O.K., Pushkareva, M.A., et al. (2015) Caffeic Acid Phenethyl Ester as a Lipoxygenase Inhibitor with Antioxidant Properties. *FEBS Letters.* 509(2): 299-304. Kubo, I., Matsumoto, T., Ninomiya, M., et al. (2002) Anti-inflammatory Effects of Artepillin
131. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.* 1978; 86: 271-278.
132. Kazaz IO, Demir S, Kerimoglu G, Colak F, Alemdar NT, Akman AU, et al. Effect of Chrysin on Endoplasmic Reticulum Stress in a Rat Model of Testicular Torsion. *J Invest Surg.* 2022;35(5):1106–11.
133. 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.
134. El-Bahnasawy MS, Dawood A, Farouk A. Low-flow priapism: risk factors for erectile dysfunction. *BJU Int.* 2002;89(3):285–90.
135. Spycher MA, Hauri D. The ultrastructure of the erectile tissue in priapism. *J Urol.* 1986;135(1):142–7.
136. 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.
137. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol.* 2001 Aug 24;426(1–2):1–10.
138. Poli G, MUD EA. Free Radicals: from Basic Science to Medicine. Vol. 21. 1993. 1993 p .

139. The Protective Role of CAPE Pretreatment On Renal Ischemia-reperfusion Injury in Rats - PubMed.
140. Jadon A, Bhadauria M, Shukla S. Protective effect of Terminalia belerica Roxb. and gallic acid against carbon tetrachloride induced damage in albino rats. *J Ethnopharmacol.* 2007 Jan 19;109(2):214–8.
141. Bayramoglu G, Kurt H, Bayramoglu A, Gunes HV, Degirmenci İ, Colak S. Preventive role of gallic acid on hepatic ischemia and reperfusion injury in rats. *Cytotechnology.* 2015 Oct 24;67(5):845–9.
142. 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.
143. Aslan R, Kutlu R, Civi S, Tasyurek E. The correlation of the total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and paraoxonase activity (PON1) with smoking. *Clin Biochem.* 2014;47(6):393–7.
144. Arnhold J. Properties, functions, and secretion of human myeloperoxidase. *Biochemistry (Mosc).* 2004;69(1):4–9.
145. Aslankoç R, Demirci D, İnan Ü, Yıldız M, Öztürk A, Çetin M, Savran EŞ, Yılmaz B. The Role Of Antioxidant Enzymes İn Oxidative Stress - Superoxide Dismutase (Sod), Catalase (Cat) And Glutathione Peroxidase (Gpx). *Med J SDU* 2019; 26(3): 362-369.
146. Tergaonkar, V, Bottero, V, Ikawa, M, Li, Q, Verma, I.M, IkappaB kinase-independent IkappaB α degradation pathway: Functional NF-kappaB activity and implications for cancer therapy. *Molecular and Cellular Biology*, 2003, 23, 8070–8083.
147. 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-Y (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):1239–48.
148. Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN. 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods Enzymol* [Internet]. 1999 [cited 2023 Jan 11];300:156–66. Available from .
149. Kazaz IO, Demir S, Kerimoglu G, Colak F, Alemdar NT, Akman AU, Cekuc OC, Mentese A. Effect of chrysin on endoplasmic reticulum stress in a rat model of testicular torsion. *J Invest*

Surg. 2022; 35(5): 1106-1111.

150. Ozan E., Koyutürk L., Sapmaz T. Böbrek iskemi reperfüzyon hasarında antioksidan olarak prostoglandin E1 (PGE1) kullanımının incelenmesi. Fırat Tıp Dergisi. 9(3):67-71, 2004.



Bu tez çalışması,

KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince desteklenmiştir (TTU-2025-16041)

