

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

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

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

Uzmanlık Tezi

Dr. Ali BÜYÜK

TRABZON-2023

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

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

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

Uzmanlık Tezi

Dr. Ali BÜYÜK

**Tez Danışmanı:
Doç. Dr. İlke Onur KAZAZ**

TRABZON-2023

ÖZET

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

Giriş:

İskemik priapizm durumunda venöz obstrüksiyon ve korpus kavernozum içerisinde staz meydana gelmektedir. Geç müdahale durumunda ise bu, kavernozaal düz kaslarda nekroz, irreversibl korporal fibrozis ve erektil disfonksiyona yol açabilmektedir. Birbiriyle ilişkili birçok mekanizma sonucu devam eden süreçte priapizm sonlanır ve iskemi reperfüzyon hasarı oluşur. Günümüzde priapizm tedavisinde iskemi reperfüzyon hasarı sonucu oluşan doku hasarını engellemek amacıyla kullanılmakta olan herhangi bir medikal tedavi yoktur. Şiringik asit insan diyetindeki en yaygın saf fenol bileşiklerden biridir. Şiringik asit üzüm, yulaf, buğday, elma, mısır, çay, kahve dahil olmak üzere birçok meyve ve sebze de bulunan aktif bir maddedir.

Amaç:

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

Gereç ve Yöntem:

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

Bulgular:

Çalışmamızda şiringik asitin biyokimyasal olarak doku MDA, TAS ve OSI değerlerindeki bozulmayı engelleyebildiği görüldü, histolojik incelemelerde ise istatistiksel olarak anlamlı iyileşme görülmedi.

Sonuç:

Şiringik asitin, priapizm/ reperfüzyon durumunda dokularda oluşabilecek biyokimyasal hasarı engellemede etkili olabileceği kanısı uyanmıştır.

Anahtar Kelimeler:

Priapizm, şiringik asit, Reperfüzyon hasarı

SUMMARY

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

Introduction

In the case of ischemic priapism in the penis, venous obstruction and stasis in the corpus cavernosum occur. Event of delay in the treatment, lead to necrosis of cavernous smooth muscles, irreversible corporal fibrosis and erectile dysfunction. As a result of many interrelated mechanisms, priapism ends in the ongoing process and ischemia reperfusion damage occurs. Currently, there is no medical treatment used to prevent tissue damage caused by ischemia-reperfusion injury in the treatment of priapism. Syringic acid is one of the most common pure phenol compounds in the human diet. Syringic acid is an active ingredient found in many fruits and vegetables, including grapes, oats, wheat, apples, corn, tea and coffee.

Objective

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

Materials and Methods:

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

Changes in tissue levels of TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx, IL-6, CAT, CASPASE-3, TNF- α in the penectomy material taken and histological characteristics of the penis tissue taken from the sacrificed rats (cavernous sinus congestion, inflammatory cell infiltration, separation in the tunica albuginea) were evaluated.

Findings

In our study, it was observed that syringic acid could biochemically prevent the deterioration in tissue MDA, TAS and OSI values, but no statistically significant improvement was observed in

histological examinations.

Result

It is believed that syringic acid may be effective in preventing biochemical damage that may occur in tissues in case of priapism/reperfusion.

Keywords: Priapism, Syringic acid, Reperfusion injury



İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	- 12 -
2. GENEL BİLGİLER.....	- 14 -
2.1. Penis Anatomisi	- 14 -
2.1.1. Embriyoloji	- 15 -
2.1.2. Damar ve Lenfatikleri	- 15 -
2.1.3. İnnervasyonu	- 16 -
2.1.4. Kasları	- 16 -
2.2. Penis Histolojisi	- 16 -
2.3. Ereksiyon Fizyolojisi	- 17 -
2.4. Priapizm Patofizyolojisi	- 18 -
2.4.1. Kavernozal Düz Kas Relaksasyonunda Artışa Yol Açan Mekanizmalar	- 18 -
2.4.2. Kavernozal Düz Kas Kontraksiyonunda Azalmaya Yol Açan Mekanizmalar	- 21 -
2.5. İskemi ve Repezfüzyon	- 24 -
2.5.1. Mekanizmalar	- 24 -
2.5.2. Antioksidanların Rolü	- 33 -
2.6. Şiringik Asit	- 39 -
2.6.1. Şiringik Asitin Yapısı ve Organizmadaki Etkileri	- 39 -
2.6.2. Şiringik Asitin Farmakokinetiği	- 40 -
2.6.3. Şiringik Asit Farmakodinamisi	- 41 -
3. MATERYAL VE METOD.....	- 41 -
3.1. Çalışma Grupları	- 42 -
3.2. Biyokimyasal İnceleme Yöntemi	- 44 -
3.2.1 Doku MDA Düzeylerinin Belirlenmesi	- 45 -
Doku MDA Ölçümünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	- 45 -
1) Doku homojenizasyon tamponu (0.01 M Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS), pH 7.4):	- 45 -
2) %1'lik H ₃ PO ₄ çözeltisi:	- 45 -
3) TBA çözeltisi:	- 45 -
4) Standart çözeltiler:	- 45 -
3.2.2 Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Seviyelerinin Belirlenmesi	- 47 -
3.2.3 Doku Katalaz (CAT) Seviyelerinin Belirlenmesi	- 48 -
3.2.4 Doku Glutasyon Peroksidaz (GPx) Seviyelerinin Belirlenmesi	- 49 -
3.2.5 Doku Glukoz ile Düzenlenen Protein 78 (GRP78) Seviyelerinin Belirlenmesi	- 51 -
3.2.6 Doku Aktifleştirici Transkripsiyon Faktör 6 (ATF6) Seviyelerinin Belirlenmesi	- 52 -
3.2.7 Doku C/EBP Homolog Protein (CHOP) Seviyelerinin Belirlenmesi	- 54 -
3.2.8 Doku Miyeloperoksidaz (MPO) Seviyelerinin Belirlenmesi	- 55 -
3.2.9 Doku Glutasyon (GSH) Seviyelerinin Belirlenmesi	- 56 -
3.2.10 Doku Tümör Nekroz Faktör-Alfa (TNF- α) Seviyelerinin Belirlenmesi	- 58 -

3.2.11	Doku Kaspaz-3 Seviyelerinin Belirlenmesi	59 -
3.2.12	Toplam Oksidan Durumun (TOS) Belirlenmesi.....	60 -
3.2.13	Doku İnterlökin-6 (IL-6) Seviyelerinin Belirlenmesi	60 -
3.2.14	Toplam Antioksidan Durumun (TAS) Belirlenmesi	62 -
3.2.15	Oksidatif Stres İndeksinin (OSI) Hesaplanması.....	62 -
3.3.	Histopatolojik İnceleme Yöntemi.....	62 -
3.4.	İstatistiksel İnceleme Yöntemi.....	62 -
4.	BULGULAR	63 -
4.1	Histolojik Bulgular	63 -
4.1.1.	Kontrol Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;.....	63 -
4.1.2	Priapizm/Reperfüzyon Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları	63 -
4.1.3	Priapizm/Reperfüzyon + Gallik Asit Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları..	63 -
4.2	Biyokimyasal Bulgular	66 -
5.	TARTIŞMA	68 -
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	72 -
7	KAYNAKÇA	73 -

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

AC	Adenilat siklazi
ADA	Adenozin deaminaz
ADK	Adenozin kinaz
ATF6	Aktifleştirici Transkripsiyon Faktör 6
BIP	Binding immunoglobulin protein
C	Kompleman
CAMP	Siklik adenozin monofosfat
CHOP	C/EBP Homolog Protein
DNA	Deoksiribonükleikasit
DPA	Dorsal penil arter
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentetaz
ENT	Equilibrative Nükleotit Transporter
ERAD	ER-ilişkili degradasyon
ET	Endotelin-1
ETZ	Elektron transport zinciri
FA	Ferulik Asit
FAD	Flavin adenin dinükleotid
GM-CSF	Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör
GRP78	Glikoz regüle protein-78
GSH	Glutasyon S-Transferaz
GSHPx	Glutasyon peroksidaz
GSSG	Glutasyon disülfid
GST	Glutasyon S-transferaz
GTP	Guanozin trifosfat
H&E	Hematoksilen-eozin
H2O2	Hidrojen peroksit
	HO
	Hemoksijena
	z
HO1-CO	Hemoksijenaz 1-karbonmonoksit
IFN γ	İnterferon gama
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
IR	İskemi reperfüzyon
KDH	Ksantin dehidrojenaz
KO	Ksantin oksidaz
MCP	Monosit kemoatraktan protein
MDA	Malondialdehit
MPO	Myeloperoksidaz
NAD ⁺	Nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

NE	Norepinefrin
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentetaz
NO	Nitrik oksit
SA asit	Şiringik

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

ŞEKİLLER

Şekil 2.1 penis korpus transversal kesiti	- 14 -
Şekil 2.2 Penisin damarları	- 15 -
Şekil 2.3 Penis histolojisi	- 17 -
Şekil 2.4 nitrik oksit CGMP yolağı	- 19 -
Şekil 2.5 Adenozin reseptörleri	- 20 -
Şekil 2.6 İskemi-reperfüzyon hasarında ksantin oksidaz aracılı reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu	- 25 -
Şekil 2.7:ETZ'de ROS oluşum mekanizması	- 26 -
Şekil 2.8: Şiringik asidin yapısı	- 39 -
Resim 3. 1 Konstriktör bant kullanılarak oluşturulan ereksiyon modeli.....	- 43 -
Resim 3. 2 Penis diseksiyonu.....	- 44 -
Şekil 4.1 penis kesiti	- 64 -

GRAFİKLER

Grafik3. 1 Doku MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği	- 46 -
Grafik3. 2	- 48 -
Grafik 3.3	- 49 -
Grafik 3.4	- 51 -
Grafik 3.5	- 52 -
Grafik 3.6	- 54 -
Grafik 3.7	- 55 -
Grafik 3.8	- 56 -
Grafik 3.9	- 57 -
Grafik 3.10.	- 59 -
Grafik 3.11	- 60 -
Grafik 3.12	- 61 -

TABLÖLAR

Tablo 2.1: alfa 1 adrenerjik subtipleri	- 22 -
Tablo 2.2: endotelin aileleri ve etkileri	- 23 -
Tablo 2.3: NOS türleri	- 27 -
Tablo 2.4: Fagosom ROS oluşum mekanizmaları	- 28 -
Tablo 2.5: Kalsiyum hemostazının bozulması	- 30 -
Tablo 2.6: İskemi reperfüzyon hasarında nötrofil aktivasyon yolları	- 31 -
Tablo 2.7: Mitokondriyal disfonksiyon mekanizmaları.....	- 32 -
Tablo2.8: Antioksidanların etki mekanizmaları.....	- 34 -
Tablo 4.1 histolojik değerlendirme sonuçları	- 65 -
Tablo 4.2 Gruplardan elde edilen histolojik verilerin istatistiksel analizi.....	- 66 -
Tablo 4.3: Anova analizinde fark saptanan parametreler.....	- 66 -
Tablo 4.4 Anova analizinde fark saptanmayan parametreler.....	- 67 -

1. GİRİŞ

Priapizm, cinsel uyarı olmaksızın dört saatten uzun süren ve genellikle acil müdahale gerektiren kalıcı ve ağrılı bir ereksiyon olarak tanımlanır. Priapizm, patofizyolojik olarak 3 başlık altında incelenmektedir: Priapizmin, iskemik, non-iskemik ve tekrarlayan (stuttering) olmak üzere 3 ana tipi vardır (1). İnsidansı yılda 0.34 ila 0.52/100.000 erkek arasında değişir Tipik hastalar 40-50 yaşındaydı(2). Nedenler priapizmin klinik tipine göre farklılık gösterse de çoğu vaka idiyopatiktir, %21'i alkol veya uyuşturucu kullanımı, %12'si perineal travma ve %11'i orak hücre hastalığı ile ilişkilidir (3). Epizod öyküsü ve patofizyolojisine göre, priapizm üç alt tipe ayrılır: iskemik (düşük akım), iskemik olmayan (yüksek akım) ve sluttering (aralıklı) priapizm.

İskemik priapizm: Tüm priapizm vakalarının %95'ini oluşturan iskemik priapizm en sık görülen tiptir (1). Bu doku kütlesinden venöz kanın ayrılamamasının neden olduğu corpora cavernosa'nın dikkat çekici sertliği ile kalıcı, ağrılı bir ereksiyon ile karakterizedir. Bu nedenle, penil doku, corpora cavernosa'nın kapalı alanı içinde, penil kompartman sendromuna benzer bir hipoksik ve asidotik durum gösterir. Zamanla bedensel doku hasarına yol açabileceğinden acil muayene ve tedavi gerekir; gecikmiş tedavi tam erektil disfonksiyona (ED) neden olabilir (1). İskemi kaynaklı fibrozun ilerlemesinde yer alan ek patofizyolojik mekanizmalar, hipoksi kaynaklı büyüme faktörlerinin uyarılmasıyla başlar. TGF- β , doku onarımı için hayati önem taşıyan bir sitokindir. Pulmoner fibroz, fibrotik karaciğer hastalığı, Peyronie hastalığı ve sistemik skleroz gibi hastalıklarda TGF- β aşırı salınımının etkisi olduğu bilinmektedir. Son çalışmalar, TGF- β 'nin korporal düz kas hücrelerinde in vitro kollajen sentezini arttırdığını ve endotelyal ve düz kas hücrelerinde müteakip bir düşüşle birlikte peniste kollajen sentezinde doza bağlı artışları indüklediğini göstermektedir Hipoksi sırasında ve oksidatif strese yanıt olarak TGF- β 'nin up regülasyonu meydana gelir. Priapik penisin uzun süreli iskemisi sırasında, TGF- β 'nin penis dokusunun aşıkâr fibroza ilerlemesinde rol oynayabileceği varsayılmaktadır(4).

24 saatten uzun süren uzamış korporal iskemisi, endotelyal ve düz kas hücresi yıkımı ile değişen derecelerde geri dönüşümsüz penil fibrozis ile sonuçlanır (4). 48 saat sonra, kalıcı erektil disfonksiyon (ED) ile birlikte yaygın düz kas nekrozu oluşur. Bu nedenle, tedavi edilmemiş iskemik priapizm veya tekrarlayan priapizmin doğal sonucu, bu hasta popülasyonunda %59'a varan genel bir ED oranıyla sonuçlanan, erektil mekanizmalarda önemli bozulmalar olan global penil fibrozistir(5). Hematolojik diskreziler, iskemik priapizm için başlıca risk faktörüdür. İyatrojenik olarak intrakavernozal enjeksiyonlar, oral fosfodiesteraz tip 5 (PDE 5) inhibitörleri de priapizme neden olabilmektedir. Penisin mesane ve prostat kanserine sekonder metastatik infiltrasyonu da priapizme neden olur.

Priapizmin bitmesiyle birlikte iskemi reperfüzyon (I/R) hasarı meydana gelmektedir. Reperfüzyon iskemik dokunun korunması için gerekli olmasına rağmen, reperfüzyonun kendisi I/R hasarını meydana getiren patofizyolojik süreci başlatmaktadır(6). Priapizm sonrasında gelişen hipoksi ve oksidatif stres dokuda TGF- β 1 artışına yol açar. TGF- β 1 dokuda fibroze neden olur. TGF- β 1'yi nötralize edici antikorlar kısa süreli priapizm durumlarında TGF- β 1'in fibrotik etkilerini azalttığı gözlenmiştir(7).

Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin hücre membranında bulunan fosfolipidlerin doymamış yağ asitlerini etkilemesi sonucu meydana gelen zincirleme bir reaksiyondur. Bu nedenle oksidatif hasar, lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan malondialdehitin (MDA), 4- Hidroksinonenal (4-HNE) ve hegzenal isimli aldehitlerin doku düzeylerinde artmasına neden olur(8,9).

Polifenoller, meyve ve sebzelerde bulunan iyi antioksidanlardır. Polifenoller (flavonoidler, stilbenler, fenolik asitler ve lignanlar) arasında fenolik asitler, fonksiyonel grupların yanı sıra benzer yapısal özellikleri paylaşan bitkiler alemindeki ana bileşenlerdir. Antioksidanlar, oksidatif stresi bastırma ve biyolojik sistemlerde üretilen serbest radikalleri nötralize etme eğilimindedir. Şiringik asit zeytin, hurma, baharat, kabak, üzüm, acai hurması, bal, kırmızı şarap ve diğer bitkilerde bol miktarda bulunan fenolik bileşiklerden biridir(10). Şiringik asit mısır, yulaf, arpa, pirinç, çavdar, buğday ve sorgum gibi tahıllarda bol miktarda bulunur(11). Şiringik asit anti-oksidan, anti-mikrobiyal, anti-inflamasyon, anti-obezite, anti-kanser, anti-diyabetik ve kalp, karaciğer ve nöro protektif etkileri gibi biyomedikal sektöründe yararlı özellikler sergiler(12). Biyomedikal alanda kullanımının yanı sıra şiringik asit biyoremediasyon, fotokatalitik ozonlama ve lakkaz bazlı katalizde daha büyük endüstriyel uygulamalara sahiptir(13,14).

Biz bu çalışmada ratlarda deneysel olarak oluşturulan akut iskemik priapizm modelinde doku TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx,IL-6, CAT,TNF-alfa,KASPAZ-3 seviyelerindeki değişiklikler ve uygulanacak olan şiringik asidin iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olası koruyucu etkilerinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesini amaçlıyoruz.

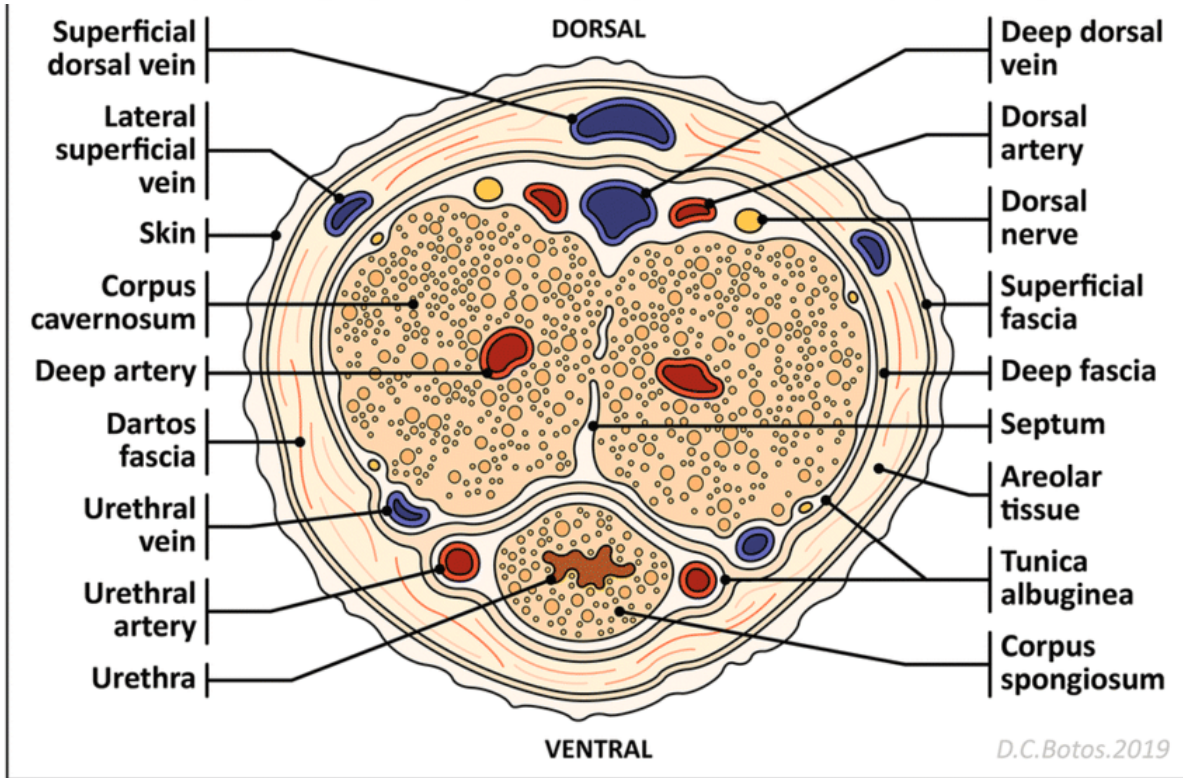


2. GENEL BİLGİLER

2.1. Penis Anatomisi

Penis üstte perineal membran ile altta derin perineal fasya arasındaki ürogenital üçgen içinde yer alan üreme ve idrara çıkma için kullanılan bir erkek organıdır. Bileşimi onu 3 kısma ayırır: glans, gövde ve kök. Dorsal olarak, iki eş corpora cavernosa'dan ve ventral olarak üretrayı içeren corpus spongiosum'dan oluşur. Tunica albuginea, kavernöz gövdeyi içine alan lifli bir tabakadır. Penisin derin fasyası olarak da bilinen Buck fasyası, tunica albuginea'nın yüzeyselidir ve korpora kavernoza ile korpus spongiosum'u birlikte örten derin perineal fasyanın devamıdır. Üretra, korpus spongiosum içinde bulunur. Penisin kruası, dıştan medyan düzlemde 2 corpora cavernosa arasındadır. Corpora cavernosa, penisin septumu ile içten ayrılır. Penisin tutunma yeri, topluca penisin kökünü oluşturan ampul, krura ve iskiokavernöz ve bulbospongiosus kaslarından oluşur. Penisin ampulü ve crura erektil doku içerir. Penisin orta kısmı penisin gövdesi olarak bilinir. Penis gövdesi kaslardan yoksundur ve çoğunlukla corpora cavernosa, corpus spongiosum ve üretra ile destekleyici deri, bağ dokusu ve kan, lenf ve fasyadan oluşur. Penisin distal kısmı glans penis olarak bilinir. Penis başının proksimal kısmı korona olarak adlandırılır. Korona glansın boynu onu penisin gövdesinden ayırır. Penis başının ucu, meatus olarak bilinen üretranın açıklığını içerir.

Penisin ince derisi ile tunica albuginea arasında gevşek bağ dokusu vardır. Sünnet derisi glans penisini kaplayan ikinci deri tabakasıdır. Sünnet derisinin frenulumu onu penis başının üretral yüzeyine bağlar. Penisin asıcı bağı, simfizis pubisin ön yüzeyinden çıkan derin fasyanın bir parçasıdır. Penisin fundiform bağı orta hatta linea alba anteriordan pubik simfizise iner ve penisi çevrelemek için ayrılır ve daha sonra dartos fasyası ile aşağı doğru birleşerek skrotal septumu oluşturur(15).



2.1.1. Embriyoloji

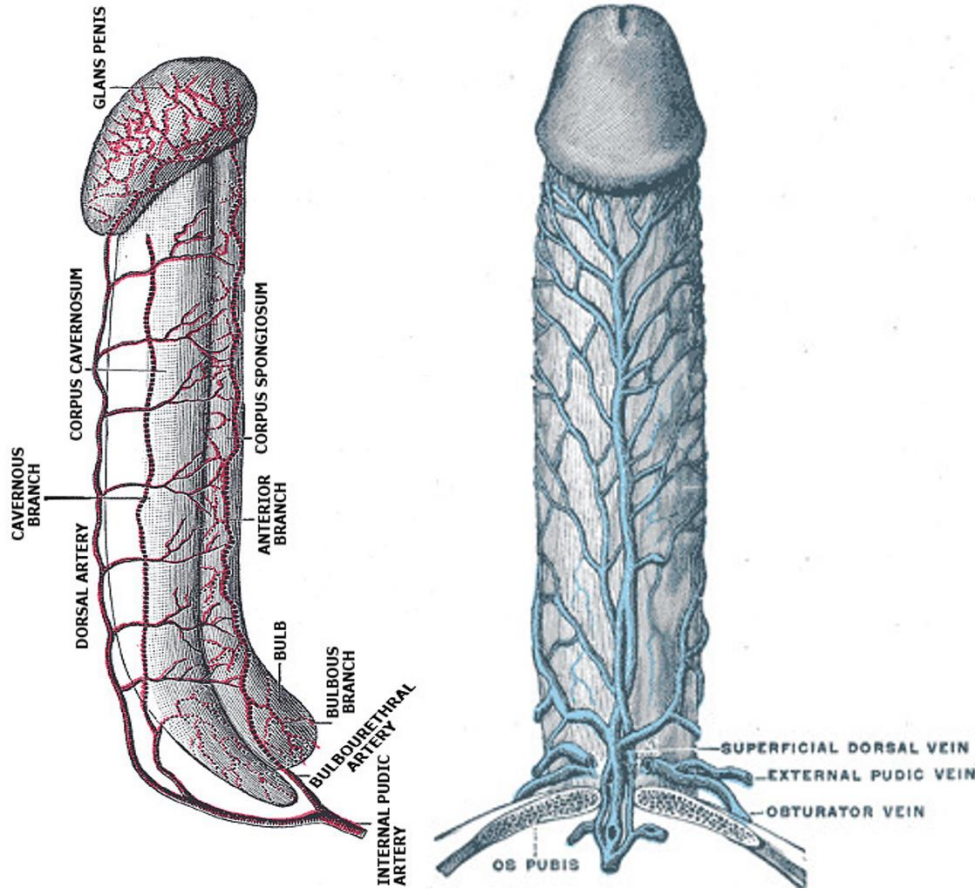
Penis, fetüste genital tüberkülden türetilir. Genital tüberkül, testislerden gelen androjenlerin etkisiyle fallusa dönüşmeye başlar. Uzama süreci, üretral oluğa ait olan yanal duvarlar haline gelmek için üretral kıvrımları ileriye doğru sürükler. Oluktan gelen epitelyal astar, üretral plakaya dönüşür. Penil üretra, üretral kıvrımların her ikisi de üretral plağın üzerine kapandığında oluşur. Bu süreç genellikle üçüncü ayın sonuna doğru gerçekleşir. Üretranın en distal kısmı 4. ayın sonunda oluşur ve dış üretral meatusta biter. 2 üretral kıvrım bir araya gelir ve kaynaşır, bu kısım sonunda süngerimsi gövdeye dönüşür. Sonra süngerimsi gövdenin üzerinde 2 kavernöz gövde ortaya çıkar(15).

2.1.2. Damar ve Lenfatikleri

İnternal pudendal arterlerin dalları, penise giden ana kan kaynağıdır. Penisin dorsal arterleri, corpora cavernosa, corpus spongiosum, spongioz üretra ve penis derisini çevreleyen fibröz dokuyu beslemek için corpora cavernosa arasındaki dorsal ven boyunca uzanır. Penisin derin arterleri, penisin erektıl dokusunu beslemek için her corpora cavernosa'nın merkezinde uzanır.

Penisin derin dorsal veni, kavernöz boşluklardan süzölmüş kanı alan venöz pleksustan kan alır. Yüzeyel dorsal ven, kanı penisin deri ve deri altı dokusundan boşaltır.

Penis derisi ve glans penisi hariç perinenin tamamı yüzeyel inguinal lenf nodlarına drene olur. Üretranın orta ve proksimal kısımlarının ve kavernöz cisimlerin lenfatikleri, internal iliak lenf düğümlerine boşalır. Distal üretra ve glans penis derin inguinal lenf nodlarına drene olur.



Şekil 1.2 Penisin damarları (17)

2.1.3. İnnervasyonu

Penis innervasyonu, S2'den S4'e kadar olan omurilik segmentlerinden gelir. Bu kord segmentleri pelvik splanknik sinirlerden geçer. S2'den S4'e kadar olan spinal ganglionlar, pudendal sinirlerden geçer. Dorsal sinir penise sempatik ve duyuşal innervasyon sağlar. Pudendal sinir dallanarak penisin dorsal siniri olur. Sinir dorsal arterin yanından geçer ve cildi ve glansı inerve eder. Glans penis bol miktarda duyuşal sinir ucuna sahiptir. Penis kökü ilioinguinal sinirden innervasyona sahiptir. Kavernöz sinirler, erektil doku sağlayan helisin arterleri inerve eden parasempatik liflere sahiptir(18).

2.1.4. Kasları

Bulbospongiosus kasları, yüzeysel enine perineal kaslarla kesişerek pelvik çıkışı geçer. Bu yapılar perineal gövdeyi ve pelvik organları destekler. Bulbospongiosus kasları, penisin ampulünü ve korpus spongiosumunu sıkıştırarak üretranın boşalmasına yardımcı olur. Kasın ön lifleri, penis gövdesinin proksimal kısmını çevreler. Bu lifler, ereksiyon için penisin kökündeki erektil doku üzerindeki baskıyı artırabilir. Bulbospongiosus kası, kavernöz boşlukların drenajını önlemek ve penisin ereksiyonunu desteklemeye yardımcı olmak için derin dorsal damarları sıkıştırabilir. Penisin kökü, ischiocavernosus kası tarafından çevrelenmiş olan crura'yı içerir. Kas, kanı corpora cavernosa'nın uzak kısımlarına itebilir ve ereksiyona yardımcı olabilir(19).

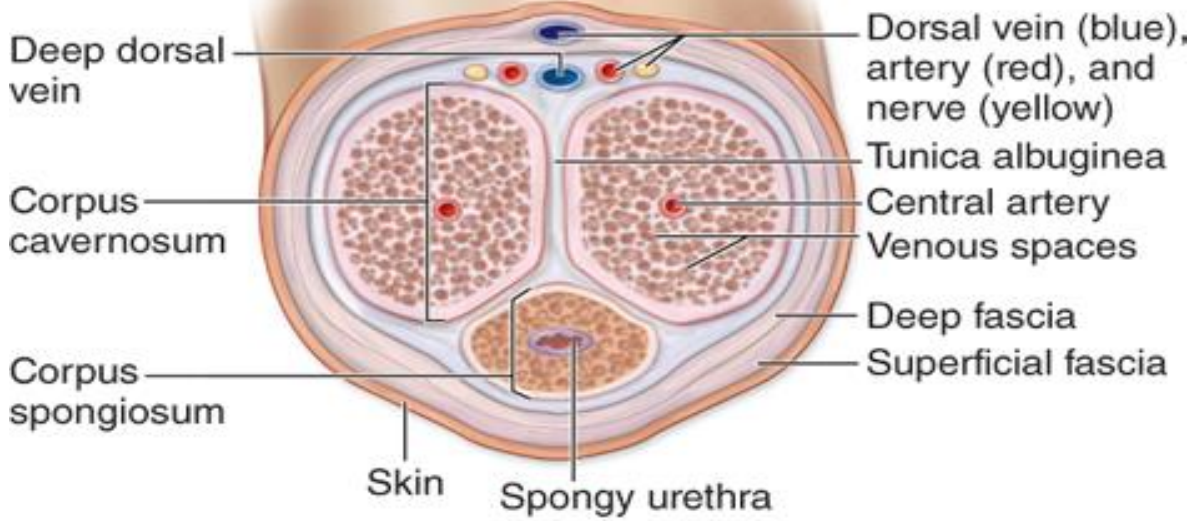
2.2. Penis Histolojisi

Penis, ciltle çevrelenmiş üç silindirik erektil doku kitlesinden ve penil üretradan oluşur. Eretil kitlelerden ikisi -corpora cavernosa- dorsaldır; ventral korpus spongiosum üretrayı çevreler (Şekil 2.3). Sonunda korpus spongiosum genişleyerek glansı oluşturur. Penil üretranın çoğu psödostratifye kolumnar epitel ile kaplıdır. Glansta, glans yüzeyini kaplayan ince epidermisinki ile devam eden tabakalı skuamöz epitel haline gelir. Mukus salgılayan küçük üretral bezler penis üretrasının uzunluğu boyunca bulunur. Sünnetsiz erkeklerde penis başı , iç yüzeyinde yağ bezleri bulunan geri çekilebilir ince bir deri kıvrımı olan sünnet derisi ile kaplıdır.

Corpora cavernosa'nın her biri, yoğun bir fibroelastik tabaka olan tunika albuginea ile çevrilidir. Üç erektil doku da endotel ile kaplı düz kas ve bağ dokusu içeren trabeküllerle ayrılmış birçok venöz kavernöz boşluktan oluşur.

Corpora cavernosa'daki merkezi arterler, erektil dokunun kavernöz vasküler boşluklarına yol açan besleyici arteriyoller ve küçük kıvrımlı helisin arterler oluşturmak için dallanır. Santral arterler ile dorsal venler arasında arteriovenöz şantlar bulunur.

Penis ereksiyonu kanın üç erektil doku kütleindeki kavernöz boşlukları doldurmasını içerir. Dış uyaranlarla tetiklenen ereksiyon, bu damar duvarlarındaki otonom sinirler tarafından kontrol edilir. Parasempatik stimülasyon, trabeküler düz kası gevşetir ve helisin arterleri genişleterek kan akışının artmasına ve kavernöz boşlukların doldurulmasına izin verir. Bu, corpora cavernosa'yı genişletir ve dorsal damarları, venöz çıkışı bloke eden ve erektil dokuda şişkinlik ve sertlik oluşturan yoğun tunica albuginea'ya karşı sıkıştırmasına neden olur. Boşalmadan başlayarak, sempatik stimülasyon helisin arterleri ve trabeküler kası daraltır, boşluklara kan akışını azaltır, buradaki basıncı düşürür ve damarların erektil dokudan kanın çoğunu boşaltmasına izin verir(20).



Şekil 2.3 Penis histolojisi (21)

2.3. Ereksiyon Fizyolojisi

Ereksiyonun fizyolojisi arteriyel dilatasyon ve venöz oklüzyon olarak ayrılabilir. Çoğu durumda, cinsel uyarılmanın ardından ereksiyon meydana gelir. Bu süreç sempatik inhibisyonu, parasempatik aktivasyonu ve pro-erektojenik nörotransmitterlerin kavernoöz sinirlerden salınmasını tetikler. Parasempatik sinirlerin aktivasyonu hücre içi kalsiyum seviyelerinin düşmesine yol açarak kavernoza ve arteriyel düz kas gevşemesine neden olur. Bu etki, kan akışını corpora cavernosa'nın genişleyen sinüzoidlerinin yaklaşık 20 ila 40 katı kadar artırır(22). Bu sinüzoidler genişledikçe korpusun tunika albugineaya yakın dış kısımları venöz çıkışı tıkamaya başlar. Emissary damarlar sinüzoidler ile tunika albuginea'nın elastik olmayan kısmı arasında sıkışır ve şişkinliğin korunmasına yardımcı olur(23).

Korpus kavernosumdaki basınç çoğu erkekte ortalama 100 mmHg'ye yükselir. Corpora spongiosum'daki basınç, corpus cavernosa'da bulunanın yaklaşık üçte biri kadardır. Bu farkın nedeni, minimal venöz oklüzyon oluşturan daha zayıf ve daha elastik tunika albugineadır. İschioavernosus ve bulbospongiosus kaslarının kasılması, rijit ereksiyon fazı sırasında penisin üç odası ve penis başı içindeki basıncı artırır. Cinsel ilişki ve tekrarlayan penil uyarım, bu kaslarda güçlü bir kasılma yaratır ve tüm haznelere fazladan kan girerek sertliği artırır. Sert ereksiyon fazı olarak bilinen bu süreç, erektil odacıklardaki basıncın birkaç yüz mmHg'ye ulaştığı dönemdir(24).

Intrakorporaal basınç, detümesansın ancak ikinci fazında azalmaya başlar. Sinüzoidlerdeki trabeküler düz kaslar tıkalı bir venöz sisteme karşı kasılmaya başladığından, ilk aşamada basınçta geçici bir artış olur. Detümesansın ikinci fazında, emisser venlerin genişlemesi sinüzoidleri boşaltmaya başlar ve intrakorporeal basınçta yavaş bir düşüş meydana gelir. Detümesansın son aşamasında venöz drenaj ve temel arteriyel akıştan kaynaklanan basınçta hızlı bir düşüşü ortaya çıkar(25).

Glans penis ereksiyonun başlaması için gerekli olan duyuşal sinirlerden zengindir. Seksüel sinyaller pudendal sinire, sonrasında spinal kordun sakral bölgesindeki sakral pleksusa ardından beyinde son bulur(26). Ereksiyon spinal kordun sakral bölgesinden gelen penise pelvik sinirlerle geçen parasempatik uyarılarla gerçekleşir. Bu parasempatik sinir lifleri, diğer çoğu parasempatik liflerin aksine, asetilkoline ek olarak, nitrik oksit ve/veya vazodilatör intestinal peptid salgılar. Özellikle nitrik oksit, korpus kavernoza ve korpus spongiosumun erektil dokunun kas yapısını ve penis arterlerini gevşetir (27).

2.4. Priapizm Patofizyolojisi

Priapizm, cinsel uyarı olmaksızın dört saatten uzun süren ve genellikle acil müdahale gerektiren kalıcı ve ağrılı bir ereksiyon olarak tanımlanır. Priapizm, patofizyolojik olarak 3 başlık altında incelenmektedir: Priapizmin, iskemik, non-iskemik ve tekrarlayan (stuttering) olmak üzere 3 ana tipi vardır (1). İnsidansı yılda 0.34 ila 0.52/100.000 erkek arasında değişir. Tipik hastalar 40-50 yaşındaydı (2). Nedenler priapizmin klinik tipine göre farklılık gösterse de çoğu vaka idiyopatikdir, %21'i alkol veya uyuşturucu kullanımı, %12'si perineal travma ve %11'i orak hücre hastalığı ile ilişkilidir (3). Epizod öyküsü ve patofizyolojisine göre, priapizm üç alt tipe ayrılır: iskemik (düşük akım), iskemik olmayan (yüksek akım) ve stuttering (aralıklı) priapizm.

İskemik priapizm: Tüm priapizm vakalarının %95'ini oluşturan iskemik priapizm en sık görülen tiptir (1). Bu doku kütlesinden venöz kanın ayrılamamasının neden olduğu corpora cavernosa'nın dikkat çekici sertliği ile kalıcı, ağrılı bir ereksiyon ile karakterizedir. Bu nedenle, penil doku, corpora cavernosa'nın kapalı alanı içinde, penil kompartman sendromuna benzer bir hipoksik ve asidotik durum gösterir. Zamanla bedensel doku hasarına yol açabileceğinden acil muayene ve tedavi gerekir; gecikmiş tedavi tam erektil disfonksiyona (ED) neden olabilir (1). İskemi kaynaklı fibrozun ilerlemesinde yer alan ek patofizyolojik mekanizmalar, hipoksi kaynaklı büyüme faktörlerinin uyarılmasıyla başlar. TGF- β , doku onarımı için hayati önem taşıyan bir sitokindir. Pulmoner fibroz, fibrotik karaciğer hastalığı, Peyronie hastalığı ve sistemik skleroz gibi hastalıklarda TGF- β aşırı salınımının etkisi olduğu bilinmektedir. Son çalışmalar, TGF- β 'nin korporal düz kas hücrelerinde in vitro kollajen sentezini arttırdığını ve endotelial ve düz kas hücrelerinde müteakip bir düşüşle birlikte peniste kollajen sentezinde doza bağlı artışları indüklediğini göstermektedir. Hipoksi sırasında ve oksidatif strese yanıt olarak TGF- β 'nin up regülasyonu meydana gelir. Priapik penisin uzun süreli iskemisi sırasında, TGF- β 'nin penis dokusunun aşırı fibroza ilerlemesinde rol oynayabileceği varsayılmaktadır (4).

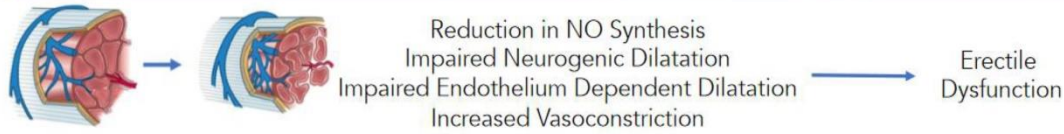
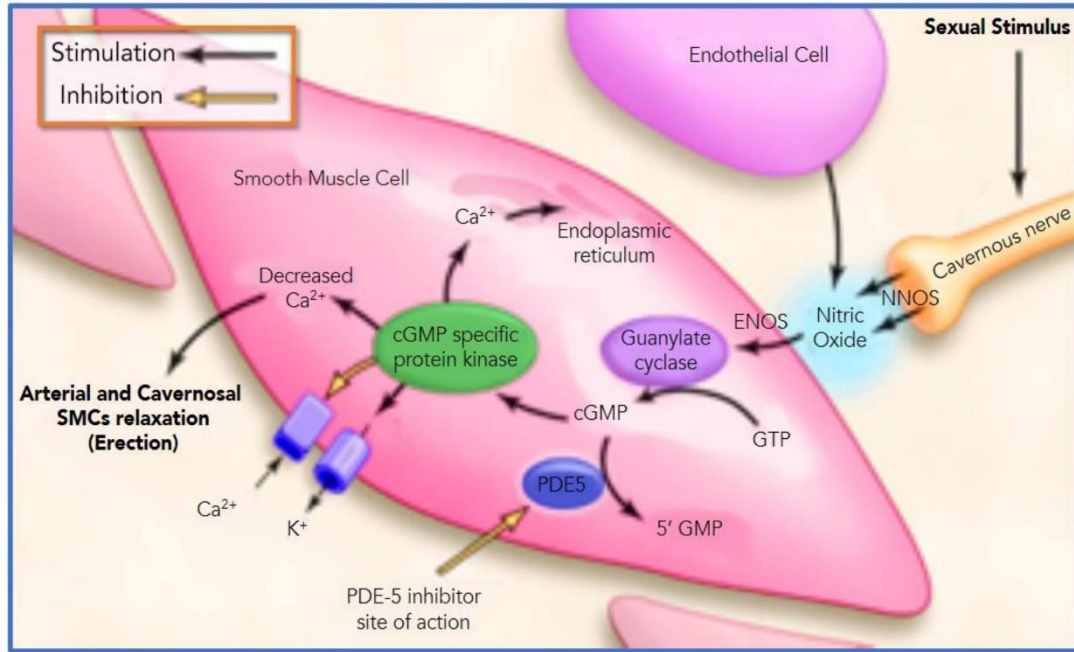
Non-iskemik priapizm: İskemik olmayan priapizm iskemik priapizme göre çok daha nadir görülür. Etiyolojisinden çoğunlukla perineal travmalar sorumludur. Travma sebepleri kavernoöz arter veya dallarında laserasyona yol açan künt ya da penetran yaralanmalar olabilir. En çok meydana geliş yolu ise ata biner pozisyonda bir yere otururken olan yaralanmalardır. Diğer durumlar; koital travma, penise veya perineye tekme, pelvik kırıklar, intrakavernozal enjeksiyon sırasında oluşan laserasyonlar şeklinde sıralanabilir (28).

Tekrarlayıcı priapizm (İntermittant veya stuttering priapizm): Orak hücreli anemili hastalardaki tekrarlayan ve ağrılı priapizm epizodlarıyla özdeşleşmiştir. Tekrarlayıcı priapizm olgularında endotelial NO ve FDE5 aktivitesi azalmıştır (29). NO ve cGMP üretimi azalmıştır, bu da FDE5 fonksiyonunu azaltır. Ayrıca orak hücreli anemide hipoksi periyodlarında gelişen intravasküler hemoliz hemoglobinin ve reaktif oksijen radikallerinin salınımına neden olur, bunlarda dolaşımdaki NO'ı temizlerler (30). NO'nın tüketilmesiyle vazodilatasyon engellenir ve vazokonstriksiyon gelişir. Böylece iskemi ve doku hasarı oluşur.

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

Penis ereksiyonunda kavernozaal arterlerin ve kavernozaal boşlukların düz kas hücrelerinin genişlemesine nitrik oksit (NO)-siklik guanozin monofosfat (cGMP) yolu aracılık eder. NO, adrenerjik olmayan, kolinerjik olmayan sinirlerden (nNOS, NOS tip I) ve kavernozaal sinüslerin endotelinden (eNOS veya NOS tip III) (her ikisi de kalsiyum $^{2+}$ /kalmodulin-bağımlı izoformlar) türetilir. NO, vasküler düz kas hücrelerine girmek için plazma zarlarını geçer ve hücre içi kalsiyum seviyesini

azaltarak düz kas gevşemesine yol açan kademeli bir reaksiyonu indükleyen cGMP'nin sentezini ve birikimini destekler(31).



Şekil 2.4 nitrik oksit CGMP yolağı (32)

Kolinerjik olmayan liflerden ve endotelden salınan NO, penil ereksiyondan sorumlu baskın nörotransmitter olarak kabul edilmektedir. NO, NO sentaz (NOS) enzimi tarafından üretilir. Üç farklı NOS alt tipi tanımlanmış ve izole edildikleri kaynağa göre farklılaştırılmıştır: nNOS (n = nöronal), iNOS (I = immünoaktif makrofaj hücre dizisi) ve eNOS (e = vasküler endotel). Tüm NOS alt tipleri NO üretir, ancak çeşitli dokularda farklı bir biyolojik rol oynarlar. nNO'lar ve eNOS kalsiyum bağımlı formlardır. İlk alt tip nörotransmisyonu düzenlerken, ikincisi kan akışını düzenler. Tersine, iNOS kalsiyumdan bağımsızdır ve esas olarak karsinogenezde rol oynar. NO hücre düzeyinde yayılır ve guanilat siklazı aktive ederek (Şekil 2.4), kavernoöz düz kası gevşeten cGMP (siklik guanozin monofosfat) üretimini artırır (33). Protein kinaz aracılı bir kaskad (fosfatidilinositol-3-kinaz/protein kinaz B) yoluyla, hücre zarının hiperpolarizasyonu ve hücre içi kalsiyum sekestrasyonu meydana gelir, bu da corpora cavernosa'nın düz kas hücrelerinin salınmasına ve arteriyel vazodilatasyona yol açar. Kavernoöz sinüs dalgalarının şişmesi aynı anda tunica albuginea'da venöz pleksusun sıkışmasına neden olarak venöz çıkış obstrüksiyonuna ve erektil fazın korunmasına neden olur. Fosfodiesteraz-5 bileşikleri, cGMP hidrolizi yoluyla penil detümesans durumuna dönüşün aracılarıdır(34).

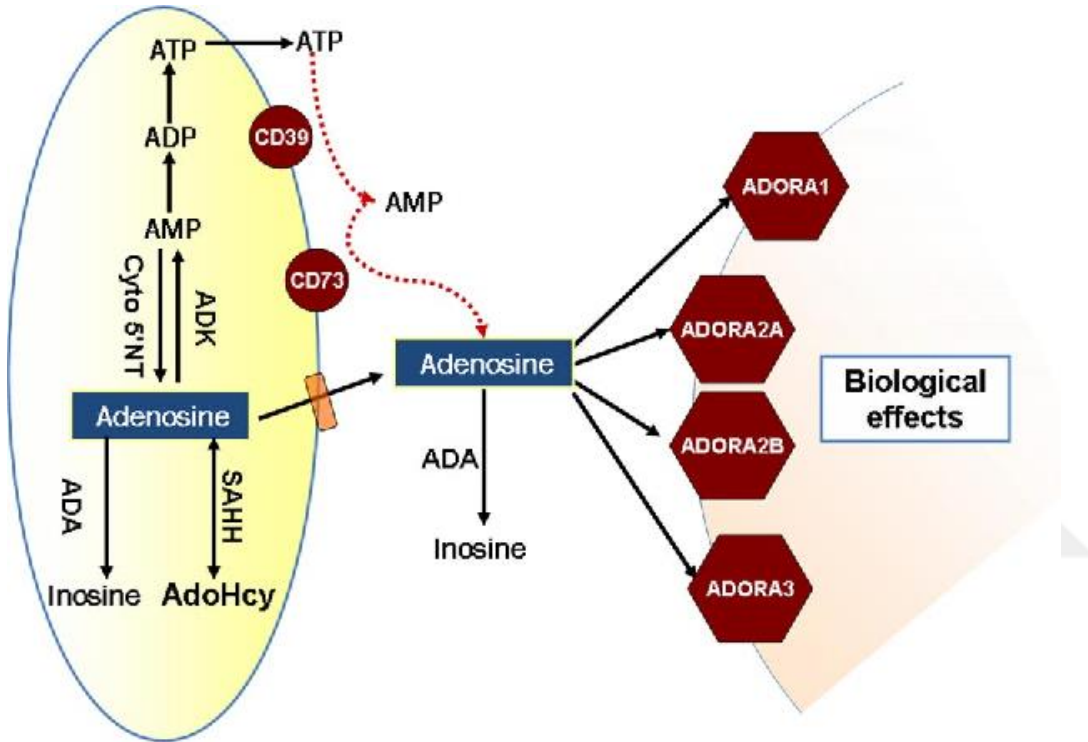
Adenozin Yolağı:

Kavernoözal düz kaslarda relaksasyon sağlayan başlıca yollardan biri adenozin yolağıdır(35). 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(36).

Adenozin fizyolojik etkilerini A1, A2, A3 reseptörleri üzerinden yapmaktadır. A2 reseptörü G5 proteinine bağlanarak adenilat siklazı (AC) aktive etmektedir. Sonuç olarak aktive adenilat siklaz ATP'nin cAMP'ye dönüşümünü sağlayarak, A2 reseptörü aracılığı ile düz kasta relaksasyon yapmaktadır. A1 reseptörü G1 ve G0, A3 reseptörü ise G1 ve Gq proteinlerine bağlanarak, ATP'den

cAMP oluşumunu aktive eden adenilat siklazı inhibe etmekte ve azalan cAMP düz kasta kontraksiyona eğilimi arttırmaktadır(37,38) (Şekil 2.5).

Adenozin fonksiyonunu tamamladıktan sonra hem ekstrasellüler hem de intrasellüler ortamda adenozin deaminaz (ADA) enzimi aracılığıyla inosine, ayrıca intrasellüler adenozin kinaz (ADK) enzim aracılığıyla AMP'ye ve s-adenozin-homosistein hidrolaz (SAHH) aracılığıyla da adenozin-homosisteine metabolize olmaktadır(36). ADA enzim bozukluğu olan hastalarda adenozin seviyesi artmaktadır. Yükselen adenozin seviyesine bağlı olarak A2B reseptör aktivitesinde ve priapik aktivitede artış gözlenmiştir (39). Kavernoza dokularda artan oranlardaki Adenozin'in A2B reseptörü yolu ile ereksiyonu uzattığı bazı çalışmalarda görülmüştür. Yine bu çalışmada Adenozin'i yıkan ADA enziminin modifiye şekli PEG-ADA (polyethylene glycol-modified) tedavisi ile ereksiyonun sonlandığını bildirmişlerdir(40).



Şekil 2.5 Adenozin reseptörleri (41)

HO-1-CO Yolağı

Kavernoza düz kaslar, penisin ereksiyonunu sağlamak için önemli bir rol oynar. Bu kasların gevşemesi, penisin kanla dolmasını sağlar ve ereksiyonu destekler. HO-1-CO yolağının kavernoza düz kasların relaksasyonuna katkıda bulunduğunu keşfedilmiştir.

Heme proteini, demir ve protoporfirin-IX kompleksinden oluşan ve canlı hücrelerde çok önemli fonksiyonları olan hemoproteinlerin yapısında yer almaktadır. Başlıca hemoproteinler; oksijen taşınmasında rol alan hemoglobin, oksijen metabolizmasında rol oynayan oksidaz, peroksidaz, katalaz, elektron transportunda rol oynayan sitokromdur. Heme proteini, endotel ve düz kasta bulunan hemoksijenaz (HO) enzimi aracılığı ile yıkılmaktadır. Hemoksijenaz enziminin HO1, HO2 ve HO3 olmak üzere 3 izoformu bulunup, 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 (42). Oluşan CO, NO benzeri bir gazotransmitter olup bazı hücre fonksiyonları regüle etmektedir. Ancak CO yarı ömrü NO'ye oranla oldukça kısadır. İskemi sonucu artan HO1 aktivitesi ile ortaya çıkan CO, guanilat siklazı aktive ederek c-GMP artışına yol açıp, K kanal aktivitesini arttırarak ya da sitokrom p450 monooksijenaz yolunu inhibe ederek düz

kas relaksasyonuna neden olmaktadır(43). Ayrıca CO ile NO arasında da çeşitli feedback mekanizmalarıyla karşılıklı etkileşim söz konusudur (42).

2.4.2. Kavernozal Düz Kas Kontraksiyonunda Azalmaya Yol Açan Mekanizmalar

Konvansiyonel PDE5 Yolunda Disregülasyon:

Kavernozal düz kasların normal işlevi, çeşitli fizyolojik ve nörokimyasal faktörler tarafından düzenlenir. Nitrik oksit (NO) özellikle önemlidir, çünkü penil ereksiyonda anahtar bir rol oynar. NO, endotelial hücreler tarafından üretilir ve kavernozal düz kas hücreleri üzerindeki guanilat siklaz enzimini aktive ederek siklik guanozin monofosfat (cGMP) sentezlenmesine neden olur. cGMP, düz kas hücrelerinde kalsiyumun salınmasını inhibe ederek gevşeme ve ereksiyonu sağlar(44).

Konvansiyonel fosfodiesteraz tip 5 (PDE5), cGMP'nin hidrolizine neden olarak düz kas hücrelerinin kasılmasına yol açar ve ereksiyonu sonlandırır. PDE5 inhibitörleri (sildenafil, tadalafil, vardenafil gibi) bu yolu bloke ederek cGMP seviyelerini artırır ve ereksiyon süresini uzatır(45).

Ancak, kavernozal düz kas kasılması ile ilgili birçok patolojik durumda (örneğin diyabetik erektil disfonksiyon, Peyronie hastalığı, pelvik cerrahi sonrası erektil disfonksiyon) konvansiyonel PDE5 yolu disregüle olur ve PDE5 inhibitörlerinin etkinliği azalır(45). Bu disregülasyon, düz kas hücrelerinde artan oksidatif stres, artmış inflamasyon ve apoptozis gibi faktörler tarafından tetiklenir(46).

Azalmış Norepinefrin(NE) Cevabı:

Kavernozal düz kas kontraksiyonu, penisin sertleşmesinden sorumlu olan bir süreçtir. Bu süreç, nöropatik, hormonal ve vasküler faktörlerden etkilenir. Norepinefrin, sempatik sinir sistemi tarafından salgılanan bir nörotransmitterdir ve kavernozal düz kas kontraksiyonunu etkileyebilir(47).

Norepinefrin, kavernözal düz kaslarda $\alpha 1$ -adrenerjik reseptörlere bağlanarak kasılma sağlar. $\alpha 1$ -adrenerjik reseptörler, G proteine bağlı reseptörlerdir ve fosfolipaz C sinyal yolunu etkinleştirir. Fosfolipaz C, inositol trifosfat ve diasilgliserol üretir, bu da kalsiyum salınımına ve protein kinaz C aktivasyonuna yol açar. Kalsiyum, kavernözal düz kas hücrelerinde kontraktil proteinlerin, aktin ve miyozin arasındaki bağlanma aktivitesini arttırarak kasılma sağlar (48).

Nörepinefrin $\rightarrow$ $\alpha 1$ -adrenerjik reseptörlere bağlanma $\rightarrow$ G proteine bağlı reseptörlerin etkinleştirilmesi $\rightarrow$ Fosfolipaz C sinyal yolunun aktive edilmesi $\rightarrow$ İnositol trifosfat ve diasilgliserol üretimi $\rightarrow$ Kalsiyum salınımı $\rightarrow$ Protein kinaz C aktivasyonu $\rightarrow$ Aktin ve miyozin arasındaki bağlanma aktivitesinin artması $\rightarrow$ Kavernözal düz kas kontraksiyonu

Nörepinefrinin kavernözal düz kaslardaki etkisinin şeması

Nörepinefrin, kavernözal düz kaslarda $\alpha 1$ -adrenerjik reseptörlere bağlanarak kasılma sağlar. Bu reseptörlerin üç alt tipi vardır: $\alpha 1A$, $\alpha 1B$ ve $\alpha 1D$. Bu alt tipler farklı dokularda farklı dağılım gösterir ve farklı etkilere neden olabilir(49). (Tablo 2.1)

$\alpha 1$ -Adrenerjik Reseptör Subtipi	Bulunduğu Yer	Etkileri
--	---------------	----------

α1-Adrenerjik Reseptör Subtipi	Bulunduğu Yer	Etkileri
α 1A	Prostat, Karaciğer, Beyin, Kalp, Vasküler Düz Kas	Kılcal damarların kasılması, katekolamin salınımı, hipertansiyon, Kavernözal düz kaslardaki kasılma
α 1B	Beyin, Kalp, Vasküler Düz Kas, Mesane	Kan basıncının artması, damarların kasılması, üretranın gevşemesi
α 1D	Beyin, Karaciğer, Vasküler Düz Kas, Mesane, Sindirim Sistemi, Uterus	Damarların kasılması, kan basıncının artması, idrar yolunun gevşemesi, gastrointestinal kas aktivasyonu, uterus kasılması, Kavernözal düz kaslardaki kasılma

Tablo 2.1: alfa 1 adrenerjik subtipleri (50)

Örneğin, kavernözal düz kaslarda α 1A-adrenerjik reseptörler, α 1B-adrenerjik reseptörlere göre daha baskındır ve nörepinefrinin kasılma etkisine daha fazla katkı sağlarlar. Bu nedenle, α 1A-adrenerjik reseptörlerinin seçici blokajı, kavernözal düz kaslardaki kasılma etkisini azaltabilir ve ereksiyon bozukluklarına neden olabilir.

Azalmış nörepinefrin cevabı, kavernozaal düz kas kontraksiyonunun azalmasına neden olur.

Azalmış nörepinefrin cevabı, birkaç nedenden dolayı olabilir. Örneğin, yaşlanma, diyabet ve kalp hastalığı gibi durumlar, nöropatik etkiler nedeniyle sempatik sinir sisteminin işlevini etkileyebilir. Bu, kavernozaal düz kas kontraksiyonunun azalmasına ve erektile disfonksiyona (ED) yol açabilir(51).

Endotelin Etkinliği:

Kavernozaal düz kas kontraksiyonunda azalmaya yol açan endotelin etkinliği, ereksiyon sürecinde önemli bir rol oynar. Endotelin, bir çeşit vazokonstriktör hormondur ve kavernozaal düz kas hücrelerinde etki göstererek kas kontraksiyonunu artırır. Bu, normalde ereksiyonun gerçekleşmesi için gereken kan akışının azalmasına ve sonuç olarak penisin sertleşmesine neden olur(52).

Endotelin, vasküler tonusun düzenlenmesi, hücre proliferasyonu ve inflamasyon gibi çeşitli hücre işlevlerinde önemli bir rol oynayan bir peptid hormondur. Endotelin, vasküler düz kas hücreleri ve diğer hücre tipleri gibi çeşitli hücrelerde üretilir.

Endotelin ailesi üç farklı peptid içerir: Endotelin-1, Endotelin-2 ve Endotelin-3. Endotelin-1, en yaygın olanıdır ve vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Endotelin-2 ve Endotelin-3 de diğer hücre işlevlerinde önemli bir rol oynarlar.

Endotelin, ET_A ve ET_B olarak adlandırılan iki ana reseptöre bağlanabilir. ET_A reseptörleri vazokonstriktif etkiye sahiptir ve çoğunlukla vasküler düz kas hücrelerinde bulunur. ET_B reseptörleri hem vazokonstriktif hem de vazodilatatör etkilere sahiptir ve vasküler düz kas hücreleri dışında da bulunur. ET_B reseptörleri ayrıca endotelin metabolizmasında da rol oynarlar.

Endotelin vazokonstriksiyonu aracılığıyla kan basıncını artırabilir ve diğer hücre işlevlerinde de

rol oynayabilir. Öte yandan, ET_B reseptörleri aracılığıyla endotelin, damar genişlemesi ve antiproliferatif etki gibi vazodilatatör etkilere de sahiptir.

Endotelin ayrıca inflamasyon ve hücre proliferasyonunda da rol oynar. Örneğin, endotelin-1 hücre proliferasyonunu artırırken, endotelin-2 ve endotelin-3 antiproliferatif etki gösterir.

Endotelin Aileleri	Reseptörler	Etkileri	Lokasyonlar
Endotelin-1 (ET-1)	ET_A	Konstriksiyon, hücre büyümesi, inflamasyon	Damar duvarı, akciğer, kalp, böbrek, beyin, gastrointestinal sistem
	ET_B	Vasodilatasyon, nitrik oksit salınımı, hücre büyümesi, antiproliferatif etkiler	Damar duvarı, böbrek, adrenal medulla, gastrointestinal sistem, üreme sistemi
Endotelin-2 (ET-2)	ET_A	Konstriksiyon, hücre büyümesi, inflamasyon	Damar duvarı, böbrek, gastrointestinal sistem, üreme sistemi
	ET_B	Vasodilatasyon, nitrik oksit salınımı, hücre büyümesi, antiproliferatif etkiler	Damar duvarı, böbrek, adrenal medulla, gastrointestinal sistem, üreme sistemi
Endotelin-3 (ET-3)	ET_A	Konstriksiyon, hücre büyümesi, inflamasyon	Damar duvarı, akciğer, kalp, beyin, gastrointestinal sistem, üreme sistemi
	ET_B	Vasodilatasyon, nitrik oksit salınımı, hücre büyümesi, antiproliferatif etkiler	Damar duvarı, böbrek, adrenal medulla, gastrointestinal sistem, üreme sistemi

Tablo 2.2: endotelin aileleri ve etkileri(53)

Endotelin aileleri (ET-1, ET-2, ET-3) farklı dokularda üretilir ve etki gösterirler. Her bir endotelin ailesi hem ET_A hem de ET_B reseptörlerine bağlanabilir. ET_A reseptörü konstriksiyon ve hücre büyümesini artırırken, ET_B reseptörü nitrik oksit salınımını arttırarak vasodilatasyonu artırır. Bu etkiler, endotelinlerin kontraksiyon ve/veya dilatasyon mekanizmalarını kontrol etmesine yardımcı olur (53).

Endotelinlerin konstriksiyon mekanizmaları, ET_A reseptörlerinin varlığına dayanır. ET_A reseptörleri, G-protein bağımlı bir sinyal iletimi yoluyla vazoaaktif intrasellüler işaretlerin üretildiği hücre içi mekanizmaları tetikler. Bu işaretler, kalsiyum (Ca^{2+}) kanallarının açılması ve/veya kalsiyum duyarlı myosin hafif zincir fosfatazın aktive edilmesi yoluyla düz kas hücrelerinde kontraksiyonu artırır. Endotelinler ayrıca, düz kas hücrelerinde kalsiyum duyarlılık proteinlerinin (Calponin,

Caldesmon vb.) fosforilasyonunu arttırarak kontraksiyonu da arttırabilirler (54).

Ayrıca, endotelinlerin konstriksiyon mekanizmaları arasında, reseptör dışı mekanizmalar da yer alır. Bu mekanizmalar, endotelinlerin hücre dışında plazma zarına bağlanması yoluyla gerçekleşir. Bu bağlanma, hücre dışı matriks proteini fibulin-5 ve zonula okludens protein 1 (ZO-1) ile oluşan kompleksler aracılığıyla gerçekleşebilir. Bu kompleksler, ET_A reseptörlerine benzer şekilde, intrasellüler işaretlerin üretildiği G-protein bağımlı bir sinyal iletimi yoluyla kontraksiyona neden olur(55).

Penil düz kas hücrelerinde endotelin kontraksiyonu artırarak ereksiyon fonksiyonunu da olumsuz etkileyebilir. Bu nedenle, endotelin reseptör antagonistleri, özellikle ET_A reseptör antagonistleri, ereksiyon bozukluğu tedavisinde de kullanılabilir(56).

2.5. İskemi ve Reperfüzyon

2.5.1. Mekanizmalar

Kavernözal düz kaslar, penisteki kavernöz cisimlerde bulunan düz kas hücreleridir ve sertleşme işlevinde önemli bir rol oynarlar. İskemi-reperfüzyon hasarı, bu düz kas hücrelerine zarar verebilir ve dolayısıyla sertleşme işlevinde bozulmaya neden olabilir(56).

İskemi, dokulara yeterli miktarda oksijen ve besin maddesi sağlayan kan akışının kesilmesi anlamına gelir. Kavernözal düz kaslarda iskemi, penisteki kan akışının azalması veya tamamen kesilmesi sonucu oluşabilir. Bu durum, kavernözal düz kas hücrelerinin enerji üretimi ve diğer biyokimyasal süreçlerinde bozulmaya neden olur ve sonuçta hücre hasarı ve hücre ölümü oluşabilir(57).

Reperfüzyon, kan akışının yeniden sağlanmasıdır. Ancak, kan akışının yeniden başlaması, hasarlı hücrelerin ürettiği serbest radikallerin artmasına ve oksidatif stresin artmasına neden olabilir. Bu da, hücre hasarını daha da kötüleştirir ve sertleşme işlevinde bozulmaya neden olabilir(58).

İskemi sırasında, düz kas hücrelerinde enerji üretimi azalır ve hücrelerin normal fonksiyonlarını sürdürmeleri için gerekli olan ATP seviyeleri düşer. Reperfüzyon aşamasında, oksijen ve besin maddelerinin yeniden sağlanmasıyla birlikte, hücrelerin normal fonksiyonlarını sürdürmek için enerjiye ihtiyaçları artar. Ancak, bu hızlı değişim, hücrelerde serbest radikallerin oluşumuna, oksidatif stresin artmasına ve hatta hücre ölümüne neden olabilir(59).

İskemi reperfüzyon hasarı, bir dokunun veya organın kan akışının azalması (iskemi) ve ardından kan akışının yeniden sağlanması (reperfüzyon) sonrasında oluşan hasardır. Bu hasarın mekanizmaları oldukça karmaşıktır ve birden fazla yolla gerçekleşebilir. İşte iskemi reperfüzyon hasarının oluşumunda rol oynayan temel mekanizmalar(60,61):

1. Oksidatif Stres:

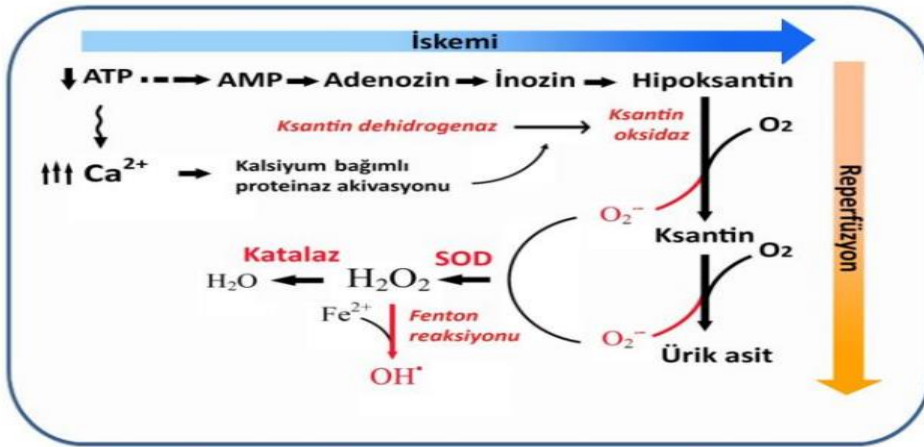
İskemi reperfüzyon hasarında oksidatif stres sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri, hücre hasarına neden olan ana etmenlerden biridir. Serbest radikallerin oluşumu, oksijenin yarım reaksiyonlarından kaynaklanır ve oksijenin tekli haldeki elektronlarının yüksek reaktivliğinden kaynaklanır(62).

Oksijen molekülü, normal koşullarda çift bağlarla birbirine bağlı iki atom içerir. Oksidatif stres durumunda, oksijenin elektronlarından biri serbest kalır ve tekli haldeki oksijen radikalleri (ROS) oluşur. ROS'lar, hücre içindeki organik moleküllere saldırarak, zarar verici etki gösterirler(63). Genel olarak 4 biyokimyasal mekanizma sonucu meydana gelmektedir(64,65). Bu mekanizmalar şunlardır:

I) Ksantin oksidaz aracılı

İskemi süresince mitokondriyal ATP üretimi durur ve hücre içerisinde bulunan mevcut ATP katabolize olarak sırasıyla ADP, AMP, adenozin, inozin ve son basamakta da hipoksantin açığa çıkarır. Hem mitokondriyal üretimin durması hem de hücre içerisindeki ATP yıkımına bağlı oluşan enerji kaybı, membrandaki enerji bağımlı iyon pompalarında fonksiyon bozukluğuna ve hücre içi metabolizmanın anaerobik faza yönelmesine yol açar.

Laktat ve hidrojen birikimi ile hücre içi pH düşer ve asidoz oluşur. Hücre içi artan hidrojen yükünü dengelemek için Na^+ -H + pompası ile artan hidrojen hücre dışına atılır ve Na^+ - Ca^{2+} pompası ile de kalsiyum hücre içine yer değiştirir(66). Hasarlanan endoplazmik retikulum da hücre içine kalsiyum salınımına yol açarak kalsiyum artışına katkıda bulunur. İntraselüler kalsiyum artışı, kalsiyum bağımlı sitozolik proteazları aktive eder. Aktivasyonu artan proteazlar, hücre içi hipoksantin dehidrogenaz enzimini ksantin oksidaza dönüştürür(67). Ksantin oksidaz ise reperfüzyonla gelen oksijeni oksidan olarak kullanır ve hipoksantini önce ksantine ve sonra da ürik aside dönüştürür. Son iki basamakta ürün olarak reaktif oksijen türlerinden süperoksit anyonu ($\text{O}_2^{\bullet-}$) oluşur. Normal fizyolojik koşullarda oluşan $\text{O}_2^{\bullet-}$, süperoksit dismutaz (SOD) ile önce hidrojen peroksite sonra da katalaz etkisi ile suya dönüşür. Ancak İ-R'da ksantin oksidaz etkisine bağlı olarak artan süperoksit radikali ($\text{O}_2^{\bullet-}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2), antioksidan kapasiteyi aşar ve ortamdan etkin bir şekilde temizlenemez. Hidrojen peroksit daha sonra Fe^{2+} gibi geçiş metalleri veya süperoksit radikalleri ile (Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları) reaksiyona girer ve en güçlü radikal olarak bilinen hidroksil radikalini ($\text{OH}^{\bullet}$) oluşturur (68). Reaktif oksijen türleri miktarındaki bu artış sonuçta hücre membranlarındaki lipid yapılarında hasar, hücre içi proteinlerin yapı ve fonksiyonlarında bozulma ve DNA'da yapısal hasar meydana getirerek hücre zedelenmesine yol açar(69).



Şekil 2.2 İskemi-reperfüzyon hasarında ksantin oksidaz aracılı reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu(64)

II) Mitokondriyal elektron transport zinciri (ETZ)

İskemi-reperfüzyon hasarı, oksijen yetersizliği (iskemi) sonrası yeniden oksijenlenme (reperfüzyon) sırasında hücrelerde oluşan bir dizi biyokimyasal reaksiyon sonucunda meydana gelen hasardır. Bu hasarın önemli bir nedeni, reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılan zararlı moleküllerin oluşmasıdır. Mitokondriler, hücrelerin enerji üretiminden sorumlu organelledir ve ETZ yolu olarak adlandırılan bir dizi kompleks reaksiyon zinciriyle ATP sentezine katkıda bulunur. Ancak, ETZ yolu sırasında ROS'lar da oluşur(70).

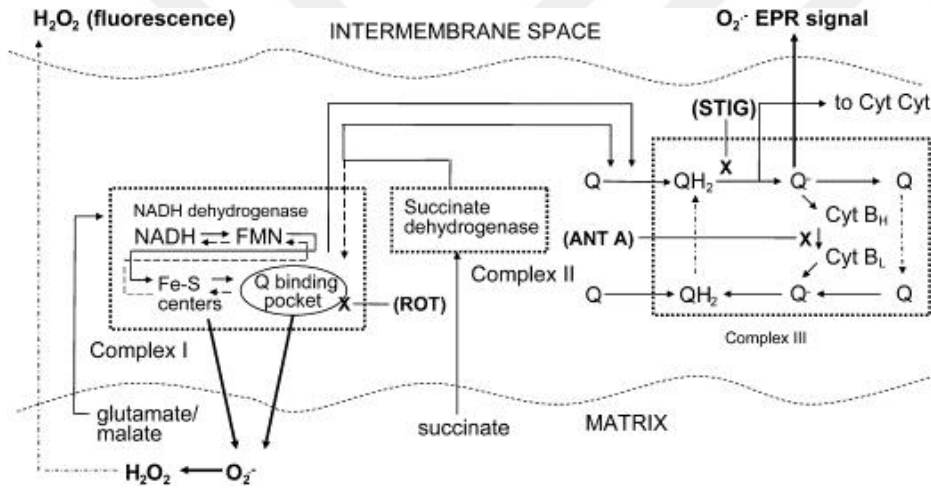
Mitokondrilerdeki ETZ yolu, dört büyük protein kompleksinden oluşur: NADH dehidrogenaz, sitokrom bc1 kompleksi, sitokrom c oksidaz ve ATP sentaz. Bu kompleksler, elektronlar ve protonlar taşıyan moleküllerin birbirlerine aktarılmasına izin veren bir dizi reaksiyon içerir. Bu işlem sırasında,

ROS'lar, özellikle süperoksit radikalleri, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi zararlı moleküllerin oluşumuna neden olur(71).

ETZ yolu boyunca, ROS'lar üreten anahtar enzimler arasında, NADH dehidrogenaz kompleksi, sitokrom bc1 kompleksi ve sitokrom c oksidaz yer almaktadır. Özellikle, NADH dehidrogenaz kompleksi I, elektronların oksijene aktarılması sırasında ROS'ların oluşumuna neden olan birincil hedeftir. Bu kompleks, elektronların NADH'dan başlayarak mitokondriyal elektron taşıyıcı zincirinde taşınmasına izin verir. Bu süreç sırasında, elektronlar mitokondriyal iç zarından geçer ve oksijene doğru taşınırken ROS'lar oluşur(72).

Sitokrom bc1 kompleksi de ROS oluşumuna katkıda bulunan bir diğer enzimdir. Bu kompleks, elektronların mitokondrilerdeki diğer bir taşıyıcı molekül olan ubiquinone'ye aktarılmasına izin verir. Bu sırada, ROS'ların oluşumuna neden olan süperoksit radikalleri üretilebilir.

Sitokrom c oksidaz kompleksi ise, elektronların son olarak oksijene aktarıldığı yerdir. Bu kompleks, oksijenin bir dizi redoks tepkimesi ile suya dönüştürülmesine izin verirken, ROS'ların oluşumuna neden olan hidrojen peroksit üretilebilir(73).



Şekil 2.3:ETZ'de ROS oluşum mekanizması (73)

Tüm bu komplekslerin bir arada çalışması sonucu, elektronların taşınması sırasında ROS'ların oluşumu kaçınılmazdır. Ancak, hücreler bu ROS'ları etkisiz hale getirebilen antioksidan savunma sistemleri ile donatılmıştır. Bu savunma sistemleri arasında, glutatyon, süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz gibi enzimler bulunur. Bu enzimler ROS'ların zararlı etkilerini önler veya ortadan kaldırır.

Ancak, iske mi reperfüzyon hasarı gibi durumlarda, ROS üretimi antioksidan savunma sistemlerinin üstesinden gelebilecek kadar artar. Bu durumda, ROS'lar hücre zarlarını, nükleik asitleri, proteinleri ve diğer biyomolekülleri hasarlayabilir. Bu hasar, hücre ölümüne veya hasarlanmış hücrelerin doku işlevlerini yerine getirememesine yol açabilir(74).

Bu nedenle, iske mi reperfüzyon hasarının önlenmesi ve tedavisi için ROS üretiminin azaltılması veya antioksidan savunma sistemlerinin güçlendirilmesi gibi stratejiler geliştirilmiştir.

Iske mi reperfüzyon hasarında mitokondriyal ETZ yoluyla ROS oluşumunun bir diğer mekanizması, NADPH oksidaz (NOX) enzimi tarafından üretilen ROS'ların mitokondriyal ETZ'deki kompleksler tarafından yakalanmasıdır. NOX enzimi, hücre zarlarında bulunur ve NADPH'yi okside ederek ROS üretir. Iske mi sırasında NOX aktivitesi artar ve ROS üretimi artar. Reperfüzyon sırasında ise, mitokondriyal ETZ'nin kompleksleri ROS'ları yakalar ve üretimleri artar. Bu mekanizma, ROS'ların birikmesine ve hasara yol açar(75).

Sonuç olarak, iskemi reperfüzyon hasarında mitokondriyal ETZ yoluyla ROS oluşumu, kompleks I ve III'teki elektron sızıntılarından kaynaklanan doğrudan ROS üretimi ve NOX enzimi tarafından üretilen ROS'ların mitokondriyal ETZ tarafından yakalanması yoluyla gerçekleşir. Bu mekanizmaların önemi, hasarın şiddeti ve etkileri göz önüne alındığında, iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesi ve tedavisi için hedef olarak belirlenmiştir.

III) Nitrik oksit sentaz

İskemi reperfüzyon hasarı sırasında nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi yoluyla reaktif oksijen radikalleri (ROS) oluşumu da önemli bir mekanizmadır. NOS enzimi, L-arginin amino asidi ve oksijen ile birlikte nitrik oksit (NO) sentezler. NO, vazodilatasyon, inflamasyon, nörotransmisyon ve diğer birçok fizyolojik süreçte rol oynar. Ancak, reperfüzyon sırasında artan NOS aktivitesi, aşırı NO üretimine yol açarak hasarlı etki gösterebilir(76).

NOS enzimi, üç izoformdan oluşur: endotelyal NOS (eNOS), nöronal NOS (nNOS) ve immünolojik NOS (iNOS). Bu izoformlar arasındaki farklılıklar, lokalizasyon, düzenleyici moleküller ve fonksiyonlar ile ilgilidir.

NOS Enzimi	Lokalizasyonu	Aktivasyonu	İnhibisyonu	Fonksiyonu
nNOS (nöronal NOS)	Sinir hücreleri	Kalsiyum-kalsmodulin	NO üretimini engelleyen proteinler (CAPON, NOSIP)	Nörotransmitter salınımı, sinirsel sinyal iletimi, nörojeniz
eNOS (endotelyal NOS)	Endotel hücreleri	Kalsiyum-kalsmodulin	Asimetrik dimetilarginin (ADMA), inflamasyon, oksidatif stres	Damar tonusu, kan basıncı düzenlenmesi, kan pıhtılaşması, inflamasyon
iNOS (indüklenebilir NOS)	Makrofajlar, nötrofiller, diğer hücreler	İnflamatuvar sitokinler (IFN- γ , TNF- α)	Antioksidanlar (glutasyon, N-asetilsistein), NOS inhibitörleri (L-NAME, L-NMMA)	İmmün yanıt, enfeksiyon, inflamasyon, oksidatif stres

Tablo 2.3: NOS türleri

İskemi reperfüzyon hasarında, iNOS izoformunun artan aktivitesi önemli bir rol oynar. iNOS, genellikle inflamasyon ve immünolojik yanıtla ilişkili olan makrofajlar, nötrofiller ve diğer hücrelerde bulunur. İskemi sırasında, iNOS geni transkripsiyonel olarak indüklenir ve protein sentezi artar(77). Reperfüzyon sırasında, artan oksijen miktarı, iNOS tarafından sentezlenen NO'nun süperoksit radikali (O₂.-) gibi ROS'larla reaksiyona girmesine neden olur. Bu reaksiyon sonucu, daha fazla ROS oluşumu ve hasar meydana gelir(78).

Özetle, iskemi reperfüzyon hasarında NOS enzimi yoluyla ROS oluşumu, iNOS izoformunun artan aktivitesine bağlıdır. İskemi sırasında iNOS geni indüklenir ve protein sentezi artar, reperfüzyon sırasında ise artan oksijen miktarı nedeniyle iNOS tarafından sentezlenen NO, ROS'larla reaksiyona girer ve hasara yol açar. Bu mekanizmaların anlaşılması, iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesi ve tedavisi için hedef olarak belirlenmiştir.

IV) Fagositik hücre aracılı

Fagositik hücreler, immün yanıtın bir parçası olarak enfekte veya hasarlı dokuları fagositoz yoluyla ortadan kaldırmak için tasarlanmıştır. Bu süreçte, fagositoz yapan hücrelerin sitoplazmasına, oksidatif patlamalar yoluyla ROS üretmek için tasarlanmış enzimlerin bulunduğu fagosomlar göç eder.

Fagosomlar, NADPH oksidaz (NOX) enzimi, miyeloperoksidaz (MPO) enzimi ve nitrik oksit sentaz (NOS) gibi enzimleri içerir. Bu enzimlerin aktivitesi, ROS üretiminde önemli bir rol oynar(79).

NOX enzimi, hücre zarındaki membran proteinlerinde bulunur ve NADPH'yi oksitleyerek ROS üretir. NOX enzimi, iskemi sırasında aktive olur ve ROS üretimini artırır. Reperfüzyon sırasında, ROS'lar hızla oluşur ve çevreleyen dokulara zarar verir.

MPO enzimi, nötrofillerde bulunur ve hidrojen peroksit ve klorid iyonu kullanarak ROS üretir. İskemi sırasında, nötrofiller hasarlı dokulara doğru akın eder ve ROS üretirler. Reperfüzyon sırasında, nötrofiller tekrar dokulara girdiğinde ROS üretimi artar(80).

NOS enzimi, nitrik oksit (NO) üretir ve hücrelerde birçok farklı işleve sahiptir. İskemi sırasında, NOS aktivitesi azalır ve NO üretimi düşer. Reperfüzyon sırasında, NOS aktivitesi artar ve NO üretimi artar. NO, ROS'ların hasarlı dokulara yayılmasını önleyen ve enfeksiyonlarla mücadeleye yardımcı olan bir antioksidan olarak görev yapar(81).

Fagosomların ROS üretimi, bu enzimlerin bir arada çalışmasıyla gerçekleşir. Fagosomlar, NOX enzimi tarafından üretilen ROS'lar, MPO enzimi tarafından üretilen ROS'lar ve NOS enzimi tarafından üretilen NO gibi diğer antioksidanlar gibi çeşitli moleküller içerebilir. Fagosomların ROS üretimindeki önemi, fagositik hücrelerin hasarlı dokuları ortadan kaldırmak için tasarlanmış olmasından kaynaklanmaktadır.

Enzim/Protein	Görevi	Oluşturduğu ROS	Lokasyon
NADPH Oksidaz	NADPH'yi okside ederek ROS üretir	Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Hücre zarı
MPO	Hidrojen peroksitin miyeloperoksidaz ile reaksiyona girerek ROS üretimini artırır	Hidroksil radikali ($\bullet OH$)	Fagosom
NOS	L-Argininin oksitlenmesi sonucu NO ve ROS'lar üretir	Peroksinitrit ($ONOO^-$), Nitrik oksit (NO), Nitrojen dioksit ($NO_2^{\bullet}$)	Endotelial hücreler, nöronlar, makrofajlar
Fagosom	İçerdiği enzimler ve NADPH oksidaz kompleksi aracılığıyla ROS oluşumunu artırır	Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), Hidrojen peroksit (H_2O_2), Hidroksil radikali ($\bullet OH$)	Fagosom

Tablo 2.4: Fagosom ROS oluşum mekanizmaları

Serbest radikallerin zarar verici etkileri, moleküler düzeyde gerçekleşir. Özellikle, ROS'lar hücre zarını, DNA'yı, proteinleri ve lipitleri oksitleyerek, hücre hasarına neden olurlar. Hücre zarının oksidatif hasarı, hücre membranında yapısal değişikliklere ve hasara yol açar. Bu durum, hücrenin yapısal bütünlüğünü bozar ve hücrenin işlevselliğinde azalmaya neden olur.

DNA'nın oksidatif hasarı, DNA mutasyonlarına ve nihayetinde kansere yol açabilir. Proteinlerin oksidatif hasarı, proteinlerin işlevlerini değiştirir ve hücrenin normal işleyişini bozar. Lipitlerin oksidatif hasarı, hücre zarının yapısını bozar ve hücrenin membran bütünlüğünü etkiler.

2. İnflamasyon:

İskemi, dokulara kan akışının azalması ve oksijenin yetersiz olması nedeniyle hücre hasarına ve hücre ölümüne yol açar. Reperfüzyon ise, kan akışının yeniden sağlanması ile birlikte dokularda oksijenin hızlı bir şekilde geri dönmesi sonucu, serbest radikallerin üretilmesine, proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına ve inflamasyon sürecinin başlamasına neden olur. İnflamasyon, hasarlı dokunun iyileşmesi için gereklidir, ancak aşırı inflamasyon durumunda, hücre hasarı ve doku ölümü artabilir. İskemi reperfüzyon hasarında inflamasyon mekanizmaları arasında nötrofil infiltrasyonu, komplement sistemi aktivasyonu, lökosit aktivasyonu, adhezyon molekülleri ve sitokinlerin salınması yer alır(82).

3. Kalsiyum Homeostazının Bozulması:

İskemi reperfüzyon hasarında kalsiyum homeostazının bozulması, hücre içindeki kalsiyum seviyelerinin artması ve çeşitli patolojik süreçlere yol açmasıdır. Normal koşullarda, hücre içindeki kalsiyum seviyesi sıkı bir şekilde kontrol edilir ve hücre fonksiyonlarının düzgün bir şekilde gerçekleştirilmesi için gereklidir. Ancak, iskemi süresince oksijen ve besin eksikliği nedeniyle hücre zarı bütünlüğü bozulur ve kalsiyumun hücre içine sızması artar. Reperfüzyon sırasında, hasarlı dokuya yeniden oksijen ve besin sağlandığı için hücrelerin ihtiyaç duyduğu kalsiyum da artar. Bu durum, kalsiyum homeostazının bozulmasına ve hücre hasarına neden olur.

Kalsiyum homeostazının bozulması, çeşitli hücresel mekanizmaları etkiler. Özellikle, hücre içindeki kalsiyum artışı mitokondrileri etkiler ve mitokondriyal fonksiyonların bozulmasına neden olur. Bu durum mitokondriyal hasara, sitokrom c'nin salınmasına ve apoptozis sürecinin başlamasına neden olur. Ayrıca, hücre içindeki kalsiyum artışı enzim aktivitelerini de değiştirir ve hücredeki çeşitli enzimlerin aktivasyonunu artırır. Bunun sonucunda, ROS üretimi artar ve hücre hasarı artar(83).

Mekanizma	Etki
Kalsiyum akışındaki	Hücre membranındaki akımların değişmesi, hücre şişmesi, hücre hasarı

Mekanizma	Etki
artış	
Mitokondriyal kalsiyum yüklenmesinde artış	Mitokondriyal membran potansiyelinde azalma, mitokondriyal hasar, ROS oluşumu, hücre apoptoza yatkınlığı
Kalsiyum-ATPaz pompası aktivitesinde azalma	Kalsiyum birikimi, hücre şişmesi, hücre hasarı
Kalsiyum-bağımlı enzim aktivitesinde artış	ROS oluşumu, hücre hasarı
Kalsiyum-bağımlı proteaz aktivitesinde artış	Hücre membranındaki proteinlerin parçalanması, hücre hasarı
Kalsiyum-sinyal yolu aktivasyonu	İnflamasyon, hücre apoptoza yatkınlığı

Tablo 2.5: Kalsiyum homeostazının bozulması

Kalsiyum homeostazının bozulması, ayrıca inflamasyon sürecini de etkiler. İskemi reperfüzyon hasarı sırasında, kalsiyum artışı nedeniyle nötrofiller ve makrofajlar aktive olur ve inflamatuvar sitokinlerin salınımı artar. Bu durum, özellikle reperfüzyonun ilk saatlerinde inflamasyonun şiddetlenmesine neden olur.

Sonuç olarak, iskemi reperfüzyon hasarında kalsiyum homeostazının bozulması, hücre hasarına ve inflamasyon sürecinin şiddetlenmesine neden olur.

4. Apoptozis:

İskemi-reperfüzyon hasarı apoptotik hücre ölümü ile sonuçlanabilir. Apoptozis, hücrenin programlı hücre ölümü mekanizmasıdır ve normal bir hücre yaşam döngüsünün doğal bir parçasıdır. İskemi-reperfüzyon hasarı durumunda, apoptozis süreci, oksidatif stres ve iltihaplanma ile tetiklenir.

Apoptozis, iki ana yola ayrılır: iç yola (mitokondriyal yol) ve dış yola (öncüsü sinyal yola). İskemi-reperfüzyon hasarında, mitokondriyal yol önemlidir.

Mitokondriyal yol, çeşitli stres faktörleri sonucu mitokondrilerin içindeki sitokrom c'nin salınmasıyla başlar. Sitokrom c, Apaf-1 (apoptozis proteaz aktivasyon faktörü-1) ile birleşir ve bir apoptozis

kompleksi oluşturur. Bu kompleks, caspaz-9'u aktive eder. Aktif caspaz-9, daha sonra hücre içindeki diğer caspazları (örneğin caspaz-3 ve caspaz-7) aktive eder. Aktive olan caspazlar, hücrenin esasen kendini yok etmesine neden olan bir dizi proteolitik reaksiyonu başlatır(84).

Bununla birlikte, apoptozisin moleküler mekanizması oldukça kompleks olup, çok sayıda proteini, geni ve sinyal yolunu içerir. İskemi-reperfüzyon hasarı durumunda, oksidatif stres ve iltihaplanma gibi faktörler, apoptozis sinyal yollarını etkileyerek, apoptozisin tetiklenmesine neden olur.

5. Nötrofil Aktivasyonu:

İskemi-reperfüzyon hasarında nötrofiller, inflamasyon ve hasarın başlıca kaynaklarından biridir. İskemi sırasında nötrofiller endotel hücrelerine doğru hareket ederler ve reperfüzyonun başlamasıyla birlikte aktive olurlar.

Aktivasyon kaynakları arasında lökotrienler, C5a, IL-8, PAF, trombin gibi moleküller yer alırken, aktivasyon sinyalleri nötrofil adezyon molekülleri (ICAM-1, VCAM-1, P-selectin, E-selectin), kemokinler ve kompleman bileşenleri (C3a, C5a) gibi faktörlerdir. Aktivasyon yolu ise PKC, PI3K, MAPK, NADPH oksidaz gibi biyokimyasal yolları içerir. Nötrofil aktivasyonunun sonucu olarak, reaktif oksijen türleri (ROS) üretilir ve doku hasarı, oksidatif stres, enflamasyon, apoptozis gibi fonksiyonel sonuçlar meydana gelir(85).

Mekanizma	Açıklama
Primer nötrofil aktivasyonu	Oksidatif stres, komplement aktivasyonu, inflamasyon, sitokin salınımı, katekolamin salınımı
Sekonder nötrofil aktivasyonu	Nötrofil-epitel hücre etkileşimi, platelet-aktivasyon faktörü (PAF), lipoksijenaz (LO) metabolitleri
Nötrofil adezyon molekülleri (NAM)	E-selectin, P-selectin, intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)
Nötrofil inflamatuvar sitokinleri	Tumor nekrozis faktörü- α (TNF- α), interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8)
Nötrofil enzimleri	Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), miyeloperoksidaz (MPO), elastaz

Tablo 2.6: İskemi reperfüzyon hasarında nötrofil aktivasyon yolları (86)

6. Endotelial Disfonksiyon:

İskemi-reperfüzyon hasarı sırasında, endotel hücreleri yetersiz oksijen ve besin maddeleri nedeniyle hasar görmektedir. Bu durum, endotel hücrelerinin disfonksiyonuna ve damar yapılarının bozulmasına neden olabilir. Endotel disfonksiyonu, nitrik oksit (NO) üretiminde azalma, vazodilatasyon kapasitesinin azalması, trombosit aktivasyonu ve adezyonu, sitokinlerin artmış salınımı, enflamasyon ve oksidatif stres gibi bir dizi patolojik değişikliği içerir(87).

Endotel hücrelerinin disfonksiyonu, iskemi süresine, reperfüzyon süresine ve bu süreçte etkileşime giren birçok faktöre bağlıdır. İskemi, endotel hücrelerinin anaerobik metabolizması nedeniyle laktik asit üretimini artırır ve pH dengesini bozar. Bu, NO sentezini azaltarak vasküler tonusun bozulmasına

neden olur(88). Reperfüzyon süreci, daha önce iskemiye maruz kalmış dokuların oksijen ve besin maddeleri ile yeniden beslenmesini sağlar. Ancak, aynı zamanda endotel hücrelerinin ROS üretiminde artışa neden olarak endotel disfonksiyonunu daha da kötüleştirir.

Endotel disfonksiyonunun bir diğer önemli sonucu da tromboz riskinde artıştır(88). NO üretimindeki azalma, trombositlerin adezyonunu ve aktivasyonunu artırarak kanama süresini kısaltır. Bu durum, trombotik olayların gelişmesine yol açabilir. Ayrıca, endotel disfonksiyonu, enflamatuvar cevapları artırarak enfeksiyonlara, yaralanmalara ve diğer doku hasarlarına duyarlılığı artırabilir.

7. Mitokondriyal Disfonksiyon:

Mitokondriler, hücrelerin enerji üretimi için önemlidir ve mitokondriyal disfonksiyon, enerji üretiminde bozukluklara neden olur. İskemi sürecinde, mitokondriler enerji üretimini durdurur ve hücre içindeki enerji kaynakları azalır. Reperfüzyon sürecinde ise, oksijen tekrar sağlandığından, mitokondrilerin çalışması hızlanır ve artan enerji üretimi ile beraber serbest radikaller oluşur. Serbest radikaller, hücre zarlarına zarar verir, hücre zarlarının geçirgenliğini artırarak hücre içindeki sıvı dengesizliğine yol açar(89). Bu durum, hücre ölümüne veya hasarına neden olabilir.

Mitokondriyal disfonksiyonun nedenleri arasında kalsiyum iyonları, oksidatif stres, nitrik oksit metabolizması bozuklukları, inflamasyon, protein hasarı ve mitokondriyal DNA hasarı sayılabilir. Kalsiyum iyonları, mitokondriyal işlevleri bozarak hasara neden olur. Oksidatif stres, mitokondriyal DNA hasarına neden olabilir ve mitokondrilerin hücre zarlarında lipid peroksidasyonuna yol açabilir. Nitrik oksit metabolizması bozuklukları, nitrik oksitin artan seviyelerine neden olur ve nitrik oksit serbest radikallerle reaksiyona girerek hücre zarlarına zarar verir. İnflamasyon, mitokondriyal hasara neden olan sitokinlerin salınmasına yol açar. Protein hasarı ise, mitokondrilerdeki proteinlerin yapılarını bozarak hasara neden olabilir(90).

Mekanizma	Açıklama
Kalsiyum yüklenmesi	İskemi sırasında hücre dışındaki kalsiyum konsantrasyonu düşerken, reperfüzyon sırasında hızlı bir kalsiyum girişi yaşanır. Bu durum, mitokondrilerdeki kalsiyum depolarının aşırı yüklenmesine ve mitokondriyal disfonksiyona neden olabilir.
Serbest oksijen radikalleri	Mitokondriler, serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olan birçok enzim ve mekanizmaya sahiptir. Reperfüzyon sırasında artan oksijen konsantrasyonu ve oksidatif stres, mitokondriyal fonksiyonları bozabilir ve mitokondriyal disfonksiyona neden olabilir.
Sitokinler	Reperfüzyon sırasında artan sitokin üretimi, mitokondriyal membranların permeabilitesinde artışa neden olabilir. Bu da mitokondriyal disfonksiyona neden olabilir.
Asitosis	İskemi sırasında hücre içi pH düşerken, reperfüzyon sırasında hızlı bir pH artışı yaşanır. Bu durum, mitokondrilerin işlevselliğini bozabilir ve mitokondriyal disfonksiyona neden olabilir.
Mitokondriyal DNA hasarı	İskemi-reperfüzyon hasarı, mitokondriyal DNA hasarına neden olabilir ve mitokondrilerin işlevselliğini bozabilir.

Tablo 2.7: Mitokondriyal disfonksiyon mekanizmaları

Bu mekanizmaların hepsi birbirleriyle etkileşim halindedir ve iskemi reperfüzyon hasarının

önlenmesi için birden fazla tedavi stratejisi gereklidir.

2.5.2. Antioksidanların Rolü

İskemi-reperfüzyon hasarında antioksidanlar, serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresi azaltarak dokuların hasar görmesini ve hücre ölümünü önleyebilirler(91). Antioksidanlar, endojen ve eksojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir.

Endojen antioksidanlar, vücutta doğal olarak üretilen antioksidanlardır. Bu antioksidanlar arasında glutatyon, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz yer alır. Glutatyon, hücrelerde serbest radikalleri nötralize eden bir tripeptittir. Süperoksit dismutaz, süperoksit radikallerini hidrojen peroksite dönüştürerek nötralize eder. Katalaz, hidrojen peroksiti suya ve oksijene dönüştürerek nötralize eder. Glutatyon peroksidaz, hidrojen peroksiti ve organik hidroperoksitleri nötralize eder(92).

Eksojen antioksidanlar ise besinlerden veya takviyelerden alınan antioksidanlardır. Bu antioksidanlar arasında C vitamini, E vitamini, beta-karoten, koenzim Q10 ve selenyum yer alır. C vitamini, E vitamini ve beta-karoten, yağda çözünen serbest radikalleri nötralize ederken, koenzim Q10 ve selenyum, hücre içindeki serbest radikalleri nötralize eder(93).

Antioksidan savunma sistemi, serbest radikalleri nötralize etmek için birkaç farklı yolla etkisini gösterir. Bunlar arasında serbest radikalleri doğrudan nötralize etmek, serbest radikal oluşumunu önlemek, oksijen tüketimini azaltmak, hücre zarlarını stabilize etmek ve antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırmak yer alır(94).

Sonuç olarak, iskemi-reperfüzyon hasarında antioksidanlar, endojen ve eksojen antioksidanlar ve antioksidan savunma sistemi yoluyla oksidatif stresi azaltarak dokuların hasar görmesini önleyebilirler.

Yöntem	Açıklama	Endojen Antioksidanlar	Eksojen Antioksidanlar
Doğrudan nötralizasyon	Antioksidanlar serbest radikallerle doğrudan reaksiyona girerek onları nötralize ederler.	Glutatyon, Superoxide Dismutase, Katalaz, Coenzyme Q10, Melatonin	Vitamin C, Vitamin E, Ubikinol, Beta-karoten

Oksidatif stresi önleme	Antioksidanlar, serbest radikal oluşumunu önleyerek oksidatif stresi önlerler.	Glutasyon, Superoxide Dismutase, Katalaz	Vitamin C, Vitamin E, Ubikinol, Beta-karoten
Oksijen tüketimini azaltma	Antioksidanlar, hücredeki oksijen tüketimini azaltarak serbest radikal oluşumunu engellerler.	Coenzyme Q10	Vitamin C, Vitamin E, Beta-karoten
Hücre zarı stabilizasyonu	Antioksidanlar, hücre zarlarını stabil hale getirerek serbest radikal hasarını önlerler.	Glutasyon	Vitamin E, Flavonoidler, Beta-karoten
Antioksidan enzim aktivitesini artırma	Antioksidanlar, hücrelerin endojen antioksidan enzim aktivitesini artırarak serbest radikal oluşumunu azaltırlar.	Selenyum*, Bakır*, Çinko*, Manganez*	N-Asetil Sistein, Alfa Lipoik Asit, Resveratrol

Tablo 2.8:
Antioksidanların etki mekanizmaları

* hem endojen hem ekzojen antioksidanlardır.

Endojen Antioksidanlar

Enzimatik Endojen Antioksidanlar

Enzimatik endojen antioksidanlar, hücreler tarafından sentezlenen ve serbest radikalleri doğrudan nötralize etmek veya serbest radikal oluşumunu engellemek için etki gösteren enzimlerdir. Bu enzimler hücrelerin normal fonksiyonları sırasında üretilir ve hücre zarında, sitoplazmada veya hücre içinde yer alan organel ve mitokondride faaliyet gösterirler(95). Bazı enzimatik endojen antioksidanlar şunlardır:

Süperoksit dismutaz (SOD): Enzimatik endojen antioksidanlar arasında yer alan bir enzimdir. SOD, süperoksit radikallerini nötralize ederek hücreleri serbest radikallerin zararlı etkilerinden korur.

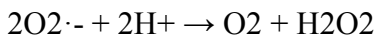
SOD'nin genel özellikleri şunlardır:

SOD, hemen hemen tüm canlı organizmalarda bulunur.

Birkaç farklı formu vardır, ancak en yaygın olanı bakır ve çinko iyonlarını içeren Cu-Zn SOD'dur(96).

SOD, süperoksit radikallerini hidrojen peroksit ve oksijene dönüştüren bir katalaz veya glutathion peroksidaz gibi diğer antioksidan enzimlerle birlikte çalışarak hücrelerin antioksidan savunma sistemini oluşturur.

SOD'nin kimyasal reaksiyonu aşağıdaki gibidir:



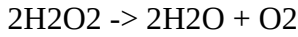
Bu reaksiyonda, SOD süperoksit radikallerini hidrojen iyonları (protonlar) ile birleştirerek su ve hidrojen peroksit oluşumuna neden olur.

SOD'nin yapısı, dört alt üniteden oluşan bir tetramerdir. Her alt ünite, bakır ve çinko iyonlarını içeren bir aktif bölgeye sahiptir. Bu iki iyon, süperoksit radikallerinin katalitik dönüşümünü katalize etmek için gereklidir. SOD, aktif bölgesindeki bu iyonlar sayesinde hızlı bir reaksiyon hızına sahiptir(97).

Katalaz: Hidrojen peroksit (H₂O₂) moleküllerini parçalayarak su ve oksijen oluşumuna neden olur. Bu reaksiyon, hücrelerde biriken toksik H₂O₂'yi nötralize etmek için kullanılır.

Katalazın genel özellikleri:

- Yüksek katalitik aktiviteye sahiptir.
- Tetramerdir, yani dört alt birimden oluşur.
- Hücrelerde çeşitli bölgelerde bulunabilir.
- Katalaz'ın kimyasal reaksiyonu şu şekildedir:

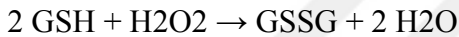


Bu reaksiyon sırasında, katalaz hidrojen peroksit (H₂O₂) moleküllerini su ve oksijene ayırır. Bu nedenle, hücrelerde biriken toksik H₂O₂'yi nötralize etmek için kullanılır(98).

Glutasyon peroksidaz (GPx): Hücrelerde hidrojen peroksit ve lipid hidroperoksidlerinin nötralizasyonunda önemli bir rol oynar. GPx, glutasyon (GSH) adlı tripeptit antioksidan ile birlikte çalışarak peroksidleri suya indirgeyerek nötralize eder.

GPx'nin yapısı, dört alt birimden oluşan bir tetramerdir ve her alt birimi selenosistein adı verilen bir amino asit içerir. Bu selenosistein, peroksidlerle reaksiyona girerek onları nötralize eder.

GPx'nin kimyasal reaksiyonu aşağıdaki gibidir:



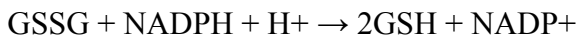
Bu reaksiyonda, iki glutasyon molekülü (GSH) ve bir hidrojen peroksit molekülü (H₂O₂) kullanılarak, iki okside glutasyon (GSSG) ve iki su molekülü (H₂O) oluşur(99).

GPx, glutasyon peroksidaz aktivitesi (GPx-1) olarak da bilinir ve insanlarda en yaygın olarak bulunan formudur. GPx'nin diğer formları, tiyoredoksin redüktaz (TrxR) veya glutaredoksin (Grx) gibi diğer antioksidan enzimlerle birlikte çalışarak hücrelerdeki redoks dengesini korur(99).

Glutasyon redüktaz (GR): Glutasyon redüktaz (GR), enzimatik bir antioksidandır ve glutasyonu (GSH) okside olmuş formu olan glutasyon disülfidini (GSSG) indirgeme işleminde kullanılır. Bu işlem, hücrelerin oksidatif stres altında zarar görmesini önlemeye yardımcı olur.

GR, dört alt üniteye sahip bir homodimerdir. Her alt ünite, bir FAD (flavin adenin dinükleotid) kofaktörü ve bir NADPH (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) kofaktörü içerir. GR, GSSG'nin indirgenmesi için NADPH'nin kullanılmasını gerektirir. GR, glutasyon peroksidaz (GPx) enzimiyle birlikte çalışarak hücrelerin serbest radikallerden korunmasına yardımcı olur(100).

GR'nin kimyasal reaksiyonu, NADPH'nin GSSG'ye indirgenmesiyle başlar. Bu reaksiyon sonucunda glutasyon disülfidindeki disülfid bağı kırılır ve GSH elde edilir(101). Bu reaksiyon aşağıdaki gibidir:



Bu reaksiyon, hücrelerin oksidatif stres altında zarar görmesini önlemeye yardımcı olur ve hücrelerin normal fonksiyonlarını sürdürmelerine yardımcı olur.

Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar

Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar, hücrelerimiz tarafından doğal olarak üretilen ve serbest radikallerin zararlı etkilerini nötralize eden moleküllerdir. Bu moleküller, oksidatif stresin önlenmesi ve hücre hasarının azaltılması için önemlidir. İşte en yaygın olarak bilinenler:

Glutasyon (GSH): Glutasyon, üç amino asit (glutamik asit, sistein ve glisin) birleşerek oluşan tripeptid yapısında bir antioksidandır. Vücutta hücre içinde ve hücre dışında bulunur. GSH, hücrelerin oksidatif stres ve hasara karşı korunmasında önemli bir rol oynar. GSH'nin antioksidan mekanizması, glutasyon peroksidaz (GPx) adı verilen bir enzim tarafından katalizlenir. GPx, H₂O₂ ve lipid hidroperoksitlerini (ROOH) nötralize ederek GSH'nin oksidize olmasına neden olur. GSH okside olduğunda, glutasyon redüktaz (GR) adı verilen bir başka enzim tarafından tekrar redükte edilir. Bu döngü, hücrelerdeki ROS'ların yok edilmesi için önemlidir(102).

GSH, özellikle hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi ROS'ların nötralizasyonunda etkilidir. H₂O₂, GPx enzimi tarafından GSH ile reaksiyona girerek nötralize edilir(103). Bu reaksiyon, H₂O₂'nin su ve oksijene dönüşmesine neden olur.

GSH, ayrıca serbest radikallerin nötralizasyonunda da rol oynar. Serbest radikaller, elektronlarından yoksun olan moleküllerdir ve diğer moleküllere kolayca bağlanarak hasar vermelerine neden olurlar. GSH, serbest radikalleri elektrofilik reaksiyonlar yoluyla nötralize ederek hücrelerdeki hasarın önlenmesine yardımcı olur(104).

Sonuç olarak, GSH'nin antioksidan mekanizması ROS'ların nötralizasyonu ve serbest radikallerin nötralizasyonu yoluyla hücre hasarını önler.

Bilirubin: Bilirubin, hemoglobin metabolizmasından kaynaklanan bir atık üründür. Hemoglobin parçalanarak oluşan biliverdin, bilirubinogen ve bilirubin adlı üç bileşen aracılığıyla oluşur. Bilirubin, vücudun oksidatif stresle mücadelesinde önemli bir rol oynar. Bilirubin, peroksidaz enzimleri yardımıyla hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi ROS'ları nötralize ederek antioksidan etki gösterir. Bilirubin, diğer antioksidanlar gibi lipid peroksidasyonunu önleyerek hücre zarının stabilitesini koruyabilir. Bilirubin, aynı zamanda diğer antioksidanlar gibi, serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stresi azaltarak, hücre hasarını önleyebilir(105). Özellikle, bilirubin, reaktif oksijen türleri olan hidroksil radikalleri ve peroksinitriti yok ederek antioksidan etki gösterir.

Bilirubin'in antioksidan özellikleri, sağlıklı insanlarda bile, oksidatif stresin arttığı durumlarda önemli bir koruyucu faktör olarak kabul edilir(106).

Albümin: Albümin, kan plazmasında bulunan bir proteindir. Yüksek affinitesi sayesinde, albümin vücuttaki serbest radikalleri ve diğer toksinleri bağlayarak nötralize eder.

Albumin, sistein ve metiyonin gibi amino asitlerden oluşur ve sülfhidril grubu içerir. Bu sülfhidril grupları, ROS'ları yakalayan reaktif bir antioksidan oluşturmak için birleşebilir. Ayrıca, albumin bir demir bağlama proteini olarak da görev yapabilir ve ROS oluşumunu engelleyebilir(107).

Albumin'in antioksidan etkisi, serbest radikalleri yakalayıp veya bağlayarak çalışır. Albumin, ROS'ları nötralize etmek için sülfhidril gruplarını kullanır ve böylece hücre zarları, DNA ve diğer hücresel bileşenlerin hasar görmesini önler.

Transferin: Transferin, demir taşıma proteini olarak bilinir. Demirin vücutta taşınmasında ve

depolanmasında önemli bir rol oynar. Aynı zamanda transferin, demirin oksidasyonuna neden olabilecek serbest radikalleri nötralize ederek antioksidan bir etki sağlar(108).

Ürik asit: Ürik asit, purin metabolizması sonucu oluşan bir metabolittir. Antioksidan özellikleri sayesinde, serbest radikalleri nötralize ederek vücudu oksidatif strese karşı korur. Serbest radikallerin doğrudan nötralizasyonu, ürik asitin hidroksil radikalleri, peroksinitrit ve süperoksit radikalleri ile reaksiyona girerek nötralize etmesi ile gerçekleşir. Bu reaksiyonlar sonucunda, ürik asit kendisi oksidize olur ve kendini bir antioksidan enzim olan katalaz tarafından yeniden indirgenir(109).

Ürik asit ayrıca demir ve bakır gibi redoks aktif metal iyonlarının redoks aktivitelerini düzenleyerek ROS üretimini azaltır. Bu işlem, ROS üretimindeki artışı ve oksidatif hasarı önler(109). Ancak, yüksek seviyelerde ürik asit, gut ve diğer sağlık sorunlarına yol açabilir.

Melatonin: Melatonin, pineal bezden salgılanan bir hormondur. Vücudun uyku düzenlemesinde önemli bir rol oynar. Aynı zamanda, güçlü bir antioksidan etkiye sahiptir ve serbest radikalleri nötralize ederek vücudu oksidatif hasara karşı korur.

Melatonin, antioksidan etkisini birkaç mekanizma aracılığıyla gerçekleştirir. İlk olarak, melatonin, serbest radikalleri nötralize eden doğrudan bir antioksidan olarak işlev görür. Ayrıca, melatonin, hücrelerdeki diğer antioksidan enzimleri (örneğin süperoksit dismutaz) artırarak, indirekt olarak antioksidan etki sağlar(110).

Melatonin, özellikle hidroksil radikalleri olmak üzere birçok ROS'u yok edebilir. Hidroksil radikalleri, vücutta en zararlı ROS'lardan biridir ve DNA hasarına neden olabilir. Melatonin, hidroksil radikallerinin üretimini engelleyerek ve hücrelerin hasarını önleyerek bu ROS'un zararlı etkilerini azaltabilir(111).

Ayrıca, melatonin, nükleer faktör eritroid 2 ilgili faktör 2 (Nrf2) yolu üzerinden antioksidan etki gösterir. Nrf2, hücrelerde antioksidan enzimlerin artmasına neden olan bir transkripsiyon faktörüdür. Melatonin, Nrf2 yolunu aktive ederek hücrelerdeki antioksidan savunmayı artırabilir(112).

Koenzim Q10: hücrelerimizin enerji üretimi için gereken bir moleküldür ve vücudumuzda doğal olarak bulunur. Bu molekül aynı zamanda güçlü bir antioksidan olarak da işlev görür.

Elektron transport zincirindeki oksidatif fosforilasyon süreci sırasında, elektronların taşınması sırasında serbest radikaller oluşabilir. Bu serbest radikaller, lipid, protein ve DNA hasarına neden olabilir. Koenzim Q10, elektron transport zincirinde elektron taşıyıcısı olarak görev yapar ve bu serbest radikalleri nötralize eder.

Koenzim Q10, aynı zamanda diğer antioksidanlarla birlikte çalışarak serbest radikallerin neden olduğu hasarı azaltır. Özellikle E vitamini ile sinerjik etki gösterir. Koenzim Q10, hücre zarlarını serbest radikallerin saldırısına karşı korur ve aynı zamanda anti-inflamatuvar etkisiyle de hücre hasarını azaltabilir(113).

Koenzim Q10, ayrıca Nrf2 yolu üzerinden de antioksidan etki gösterir. Nrf2, hücrelerde antioksidan enzimlerin artmasına neden olan bir transkripsiyon faktörüdür. Koenzim Q10, Nrf2 yolunu aktive ederek hücrelerdeki antioksidan savunmayı artırabilir(114).

Ayrıca, koenzim Q10 hücre zarlarının stabilizasyonuna yardımcı olabilir ve LDL kolesterolün oksidasyonunu engelleyerek kalp sağlığına katkıda bulunabilir. Koenzim Q10 ayrıca bağışıklık sistemi fonksiyonlarını da destekleyebilir.

Alpha-lipoic acid (ALA): Bir diğerk adıyla tiyoktik asit, hem su hem de yağda çözünebilen bir antioksidandır ve doğal olarak vücutta üretilir. ALA, hücrelerde enerji üretiminde rol oynayan mitokondrilerde bulunur ve diğerk antioksidanların yenilenmesine yardımcı olur. Ayrıca ALA, hücre membranları ve kan dolaşımı sistemi için de önemlidir. Yapısında kükürt atomları bulunduğu için bir tiol (sülfhidril) grubu içerir. ALA, serbest radikalleri nötralize ederek ve diğerk antioksidanlarla etkileşime girerek oksidatif stresi azaltır(115). ALA ayrıca, C ve E vitaminleri gibi diğerk antioksidanların yenilenmesine de yardımcı olabilir.

Haptoglobulin: Kan plazmasında bulunan bir protein olup, serbest hemoglobin (oksijen taşıyan hücrelerin parçalanması sonucu ortaya çıkan) bağlar. Böylece haptoglobulin, oksidatif stresin neden olduğu serbest hemoglobin etkilerini azaltarak antioksidan etki gösterir. Ayrıca haptoglobulin, oksidatif stresin neden olduğu inflamasyonu azaltabilir(116). Haptoglobulinin yapısında glikoproteinler ve disülfid bağları vardır.

Seruloplazmin: Bakır içeren bir proteindir ve vücutta önemli bir antioksidan olarak görev yapar. Seruloplazmin, hücrelerin oksidatif hasarını önleyerek, iltihaplanma sürecindeki serbest radikalleri temizleyerek ve bakırın toksisitesini azaltarak antioksidan etki gösterir. Ayrıca, serum bakır seviyelerinin kontrolünde de rol oynar. Seruloplazminin yapısında bakır, glikoproteinler ve disülfid bağları bulunur(117).

Laktoferrin: Demir içeren bir proteindir ve pek çok dokuda ve sıvıda bulunur. Antioksidan etkisi yanı sıra bağışıklık sistemi üzerinde de etkili olabilir. Laktoferrin, oksidatif stresin neden olduğu DNA hasarını azaltarak, serbest radikalleri nötralize ederek ve iltihaplanma sürecinde antioksidan etki gösterir(118). Ayrıca laktoferrin, bağırsakta bakterilerin büyümesini önleyebilir ve bağırsak sağlığı için faydalıdır. Laktoferrin, sütte yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve anne sütünde bebeklerin bağışıklık sistemini güçlendirmek için önemlidir. Yapısı olarak laktoferrin, demir bağlama kapasitesine sahip olan bir glikoprotein olup, 80 kDa ağırlığında bir polipeptit zincirinden oluşur. Demir bağlama kapasitesi, laktoferrinin demir taşıma yeteneği için önemlidir. Laktoferrin ayrıca, protein yapısının N-terminal bölgesindeki bir bölgede, lizozim ve defensinler gibi antimikrobiyal peptitleri bağlayabilen bir antimikrobiyal bölgeye sahiptir(119).

Eksojen Antioksidanlar

Vitamin Olan Eksojen Antioksidanlar:

Vitaminler, vücudun düzgün işlevleri için gereklidir ve birçok önemli rol oynarlar. Antioksidanlar da vücudumuzdaki oksidatif stresi önlemeye yardımcı olan önemli bir moleküler sınıftır. Eksojen antioksidanlar, besinler veya takviyeler yoluyla alınan antioksidanlardır(120).

C vitamini

C vitamini, en iyi bilinen antioksidan vitaminlerden biridir ve en iyi kaynakları turunçgiller, kivi, brokoli ve çilektir. C vitamini, ROS moleküllerini inaktive etmek için iki mekanizma kullanır: elektron verici ve redoks tamponlama. İlk mekanizma, C vitamini molekülünün serbest radikal molekülünü yakalayarak ve kendisi oksitlenerek stabilize etmesidir. İkinci mekanizma, C vitamini molekülünün oksitlenen bir başka antioksidan moleküle elektron vererek, o molekülün kendini yeniden düzenlemesine yardımcı olmasıdır(121).

E vitamini

E vitamini, antioksidan aktivitesi için bilinen bir diğerk önemli vitamin ve en iyi kaynakları ceviz,

badem, ıspanak ve yağlı tohumlardır. E vitamini, lipid peroksidasyonunu engelleyerek ROS moleküllerinin hücre zarına zarar vermesini önler. Bu vitamin, serbest radikalleri inaktive etmek için hidrojen bağları aracılığıyla elektronlarını paylaşarak onları stabilize eder(122).

A vitamini

A vitamini, antioksidan aktivitesi için daha az bilinir, ancak antioksidan aktiviteye sahiptir. En iyi kaynakları karaciğer, tatlı patates ve havuçtadır. A vitamini, hücre membranlarını koruyarak ve serbest radikallerin hücre zarlarını hasara uğratmasını önleyerek antioksidan aktivitesini gerçekleştirir. A vitamini, serbest radikalleri yakalayarak ve onları stabilize ederek ROS moleküllerini inaktive eder(123).

D vitamini

D vitamini, vücudumuzdaki kalsiyum Emilimini arttırmak için gereklidir ve en iyi kaynakları güneş ışığıdır. Antioksidan aktivitesi için bilinmese de, son araştırmalar D vitamini ile antioksidan aktivite arasında bir bağlantı olduğunu öne sürmektedir. D vitamini, antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak ROS moleküllerini inaktive edebilir(124).

İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar

Ksantin oksidaz inhibitörleri: Allopürinol, Oksipürinol, Pterin aldehit, Tungsten, Quercetin, Resveratrol, Epigallocateşin gallat (EGCG), Benzbromaron, Topiroksostat, Sulfipirazon(125)

NADPH oksidaz inhibitörleri: Adenozin, Apocynin, lokal anestetikler, kalsiyum kanal blokörleri, nonsteroid antiinflatuvar ilaçlar, Rekombinant süperoksit dismutaz, Trolox-C (Vitamin E analoğu), diphenylene iodonium (DPI) ve VAS-2870(126)

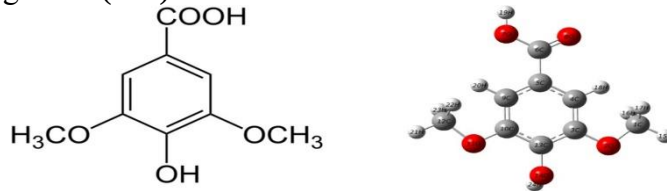
Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar: (GSHPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)

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

2.6. Şiringik Asit

2.6.1. Şiringik Asidin Yapısı ve Organizmadaki Etkileri

Şiringik asit, bitkilerin ve bazı bakterilerin metabolizması sırasında oluşan bir fenolik bileşiktir. Kimyasal formülü $C_9H_{10}O_5$ olan şiringik asit, fenilpropanoidlerin bir alt grubudur ve doğada geniş bir yayılım gösterir(127).



Şekil 2.4: Şiringik asidin yapısı (128)

Şiringik asidin yapısı, aromatik bir halkası ve iki yan zinciri olan bir hidroksifenilpropanoittir. İki yan zincir, bir tane hidroksil ve bir tane karboksil grubuna sahip olan 3-(4-hidroksifenil)propanoik asit olarak bilinen benzen halkasıdır.

Doğada, şiringik asit birçok bitkide bulunur. Yapraklı sebzeler, turuncgiller, zencefil, ahududu, yaban mersini, sarımsak, soğan, kepekli tahıllar, fındık ve defne yaprakları, şiringik asit açısından zengin kaynaklardır(128).

Şiringik asit, antioksidan ve anti-enflamatuvar özelliklere sahiptir.

2.6.2. Şiringik Asitin Farmakokinetiği

Emilim: Şiringik asitin emilimi, gastrointestinal sistemde bir dizi faktör tarafından etkilenir. Bunlar arasında pH, mukus ve glikoproteinlerin varlığı, emilim yüzeyinin büyüklüğü ve gıdalarla birlikte alınması yer alır. Şiringik asidin emilimi, daha çok ince bağırsakta gerçekleşir. İnce bağırsakta şiringik asidin emilimi, hücre zarında yer alan taşıyıcı proteinler aracılığıyla gerçekleşir.

Şiringik asidin emilimi, P-glikoprotein (P-gp) tarafından da etkilenir. P-gp, hücre zarında yer alan bir protein olup, hücreye giren ve çıkan maddelerin düzenlenmesinde rol oynar. P-gp, şiringik asit gibi bazı bileşikler hücreye girişini engelleyerek, emilimi azaltır(129). Bazı çalışmalar, P-gp inhibitörleri ile şiringik asidin emiliminin artabileceğini göstermektedir.

Şiringik asidin emilimi ayrıca, intestinal bakteriler tarafından da etkilenir. İntestinal bakteriler, şiringik asiti parçalayabilir ve metabolik ürünler oluşturabilir. Bazı çalışmalar, intestinal bakterilerin şiringik asidin emilimini arttırdığını göstermektedir(130).

Şiringik asidin emilimi üzerindeki diğer bir faktör, sindirim enzimlerinin etkisidir. Sindirim enzimleri, şiringik asidin parçalanmasına neden olabilir ve emilimi azaltabilir(131). Bazı çalışmalar, şiringik asitin bir enzim inhibitörü olarak hareket ettiğini ve bu nedenle sindirim enzimlerinin aktivitesini azalttığını göstermektedir.

Dağılım: Şiringik asidin dağılımı, vücuttaki sıvı ve dokular arasında gerçekleşir. Şiringik asit, plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır ve bu bağlanma, ilacın dağılımını etkiler(132). Şiringik asitin dağılımı aynı zamanda hücre membranlarındaki taşıyıcı proteinler tarafından da etkilenir. Şiringik asit, hücre içine aktif taşınan bir bileşik değildir, ancak hücre membranlarını pasif olarak geçebilir. Şiringik asit, organik anion taşıyıcı proteinleri (OATP) ve organik anyon taşıyıcı proteinleri (OAT) gibi taşıyıcı proteinler tarafından taşınabilir. Bu taşıyıcı proteinlerin aktivitesi, şiringik asidin hücre içine taşınmasını etkileyebilir(133).

Şiringik asitin kan-beyin bariyerini geçme kabiliyeti de önemlidir. Bu, ilacın merkezi sinir sistemi üzerindeki etkisini belirleyebilir. Şiringik asit, kan-beyin bariyerini nispeten zayıf bir şekilde geçebilir. Bu nedenle, şiringik asitin merkezi sinir sistemi üzerindeki etkileri sınırlı olabilir(134).

Metabolizma: Şiringik asitin, CYP1A1, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 ve CYP3A4 gibi birçok sitokrom P450 izoenzimi tarafından metabolize edildiği gösterilmiştir. Bu enzimler, şiringik asitin farklı yapısal özelliklerine bağlı olarak farklı metabolitler oluşturabilirler(135).

Örneğin, CYP1A1 ve CYP1A2 enzimleri, şiringik asidin 5-karbonil ve 5-hidroksi metabolitlerini oluştururken, CYP2C9 enzimi 5-karbonil metabolitini üretir. CYP2C19 enzimi, şiringik asidin 4-hidroksi metabolitini üretirken, CYP2D6 enzimi de 5-karbonil ve 5-hidroksi metabolitlerini oluşturabilir. CYP3A4 enzimi ise, şiringik asidin 5-karbonil, 5-hidroksi ve 3-karbonil metabolitlerini üretir(136).

Bunun yanı sıra, şiringik asit değişikliklerle, özellikle sülfat veya glukuronid bağlanarak

metabolize olabilir. Bu değişiklikler, karaciğerde bulunan transferaz enzimleri tarafından geręekleştirilir.

Şiringik asitin metabolitleri, genellikle daha suya çözüner ve daha kolay idrar yoluyla atılabilirler. Ancak, bazı metabolitler, özellikle sülfat ve glukuronid bağlanmış olanlar, böbreklerden filtre edilemez ve safra yoluyla atılır(137).

2.6.3. Şiringik Asit Farmakodinamisi

Syringik asit, doğal bir bileşik olup antioksidan, anti-inflamatuar, antikanser, anti-diabetik ve anti-obezite gibi çeşitli sağlık yararlarına sahiptir. Bu sağlık yararları, moleküler düzeyde hücre içindeki çeşitli sinyal yolları ve gen ifadelerindeki değişiklikler yoluyla geręekleşir.

Antioksidan etkileri: Syringik asit, antioksidan özellikleri nedeniyle serbest radikallerin neden olduğu hasarları önleyerek hücrelerin sağlıklı kalmasına yardımcı olur. Bileşiğin antioksidan etkileri, moleküler düzeyde ROS (reaktif oksijen türleri) ve lipid peroksidasyonu yoluyla hücre hasarını engeller. Syringik asidin antioksidan etkileri, hücrelerin oksidatif stresin neden olduğu hasarlardan korunmasına yardımcı olarak geręekleşir(138).

Anti-inflamatuar etkileri: Syringik asit, anti-inflamatuar özellikleri nedeniyle inflamasyonu azaltarak sağlıklı bir vücut için önemli bir rol oynar. Bileşiğin anti-inflamatuar etkileri, moleküler düzeyde pro-inflamatuar sitokinlerin ifadesinin azaltılması, inflamasyonla ilgili sinyal yollarının hedef alınması ve inflamasyonla ilgili genlerin ifadesindeki değişiklikler yoluyla geręekleşir. Özellikle nükleer faktör kappa B (NF-κB) sinyal yolunu hedef alarak, inflamasyon ve oksidatif stresi azaltmaktadır(139).

Antikanser etkileri: Syringik asit, antikanser özellikleri nedeniyle kanser hücrelerinin büyümesini ve yayılmasını engelleyerek kanser tedavisinde potansiyel bir seçenek olabilir. Bileşiğin antikanser etkileri, moleküler düzeyde kanser hücrelerinde apoptoz yani ölüm sinyal yolunu hedef alarak geręekleşir. Syringik asidin antikanser etkileri aynı zamanda kanser hücrelerinin büyümesini ve yayılmasını kontrol eden sinyal yollarını hedef alarak geręekleşir. Özellikle p53, Bcl-2, NF-κB, ve MAPK sinyal yollarını hedef alarak kanser hücreleri üzerinde etki göstermektedir(140).

Anti-diabetik etkileri: Syringik asit, anti-diabetik özellikleri nedeniyle kan şekeri seviyelerinin düzenlenmesine yardımcı olabilir. Bileşiğin anti-diabetik etkileri, moleküler düzeyde insülin salınımını ve glukoz taşıma proteini aktivitesini artırarak geręekleşir. Syringik asit ayrıca glukozun karaciğerde depolanmasına da yardımcı olur. Bu etkileri ile syringik asit, diyabetik hastalarda kan şekeri düzeylerini kontrol etmek için bir potansiyel tedavi yöntemi olabilir(141).

Anti-obezite etkileri: Syringik asit, anti-obezite özellikleri nedeniyle obezite ile ilgili sorunların önlenmesine yardımcı olabilir. Bileşiğin anti-obezite etkileri, moleküler düzeyde yağ hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını engelleyerek geręekleşir. Syringik asit ayrıca lipid metabolizmasını da düzenleyerek vücutta yağ birikimini önler. Bu etkileri ile syringik asit, obezite ile mücadele edenler için faydalı olabilir(142).

3. MATERYAL VE METOD

Priapizm modelinde klorojenik asitin reperfüzyon hasarı üzerine olası koruyucu etkilerinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesi amaçlanan bu deneysel çalışma öncesinde

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınmış, deney Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Çalışma Grupları

Bu deneysel çalışmada 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, her bir grupta 6 rat (n=6) bulunacak şekilde 3 rat grubu üzerinden yürütüldü (Tablo 3.1). Tüm gruplar deney süresince standart oda sıcaklığı ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$), ışıklandırma (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık) ve nem ($\%50 \pm 10$) koşullarında tutuldu. Ratlar normal standart yem ve musluk suyu ile beslendi.

Tablo 3.1 Deney grupları

Deney ve kontrol grupları	Grup başına hayvan adedi
Grup 1 (Kontrol grubu)	6
Grup 2 (Priapizm/Reperfüzyon)	6
Grup 3 (Priapizm/Reperfüzyon+Şiringik asit)	6
Kullanılan toplam hayvan sayısı	18

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

bant penis köküne enjektörden itilerek yerleştirilip priapizmle uyumlu klinik oluşturuldu (Resim 3.1).



Resim 3. 1 Konstriktör bant kullanılarak oluşturulan ereksiyon modeli

Grup 1 (Kontrol) (n=6): Kontrol grubu yalnızca penektomi uygulanan ratlarda doku TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx, IL-6, KASPAZ-3, CAT, TNF-alfa değerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen penis dokusunun histolojik özellikleri değerlendirildi (Resim 3.2).

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

Grup 3 (Priapizm / Reperfüzyon + Şiringik asit) (n=6): 1 saatlik priapizm oluşturulan ratlarda, reperfüzyondan yarım saat önce şiringik asit, 20 mg/kg 0.5 cc hacimde olacak şekilde transperitoneal olarak verildi ve yarım saatlik reperfüzyon sağlanan gruba penektomi uygulandı, doku TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx, CAT, IL-6, TNF-alfa, Kaspaz-3 değerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen penis dokusunun histolojik özellikleri değerlendirildi. Bu gruptaki ratlara verilecek olan şiringik asit dozu, daha önce yapılmış iskemi-reperfüzyon çalışması baz alınarak belirlenmiştir.

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



Resim 3. 2 Penis diseksiyonu

3.2. Biyokimyasal İnceleme Yöntemi

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.

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.

3.2.1 Doku MDA Düzeylerinin Belirlenmesi

MDA ölçümü, Mihara ve Uchiyama yöntemi(143) modifiye edilerek gerçekleştirildi. Bu metodun esası, MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu molekülün renginin 532 nm'deki absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Doku MDA Ölçümünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1) Doku homojenizasyon tamponu (0.01 M Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS), pH 7.4):

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

2) %1'lik H_3PO_4 çözeltisi:

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

3) TBA çözeltisi:

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

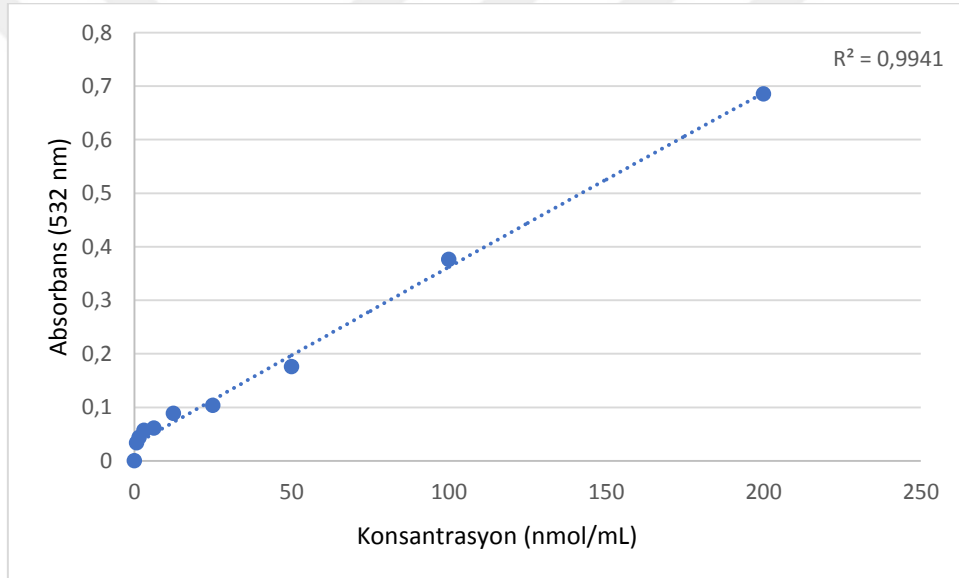
4) Standart çözeltiler:

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

Doku MDA Ölçümü:

1. 500 µL homojenata 3 mL %1'lik H_3PO_4 eklenerek karıştırıldı.
2. Karışıma 1 mL %0.672'lik TBA eklenip karıştırıldıktan sonra 60 dakika kaynar su banyosunda inkübe edildi.
3. Süre sonunda tüpler oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı ve sonrasında 1800xg'de 10 dakika santrifüj edildi.

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

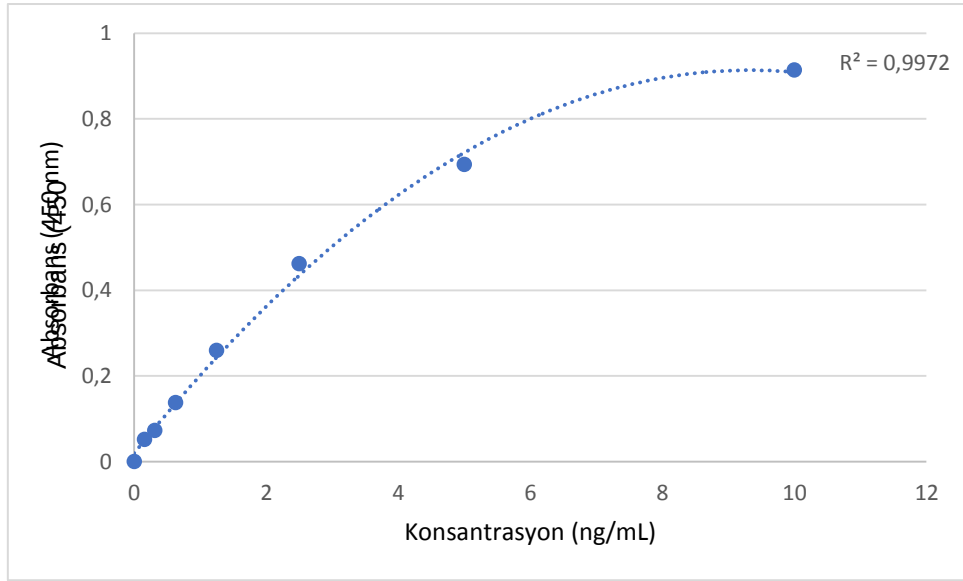


Grafik3. 1 Doku MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.2 Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki SOD seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Bostonchem, Katalog No: BLS-8178Ra, Boston, MA) 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 (ShellLab/Sheldon S14-2, Cornelius, USA) 80 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 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 50 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar µL eklendi ve pleyt 37°C'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer µL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, USA) 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek SOD standart grafiği çizildi (**Grafik 3.2**). Bu grafikten yararlanılarak doku SOD seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.



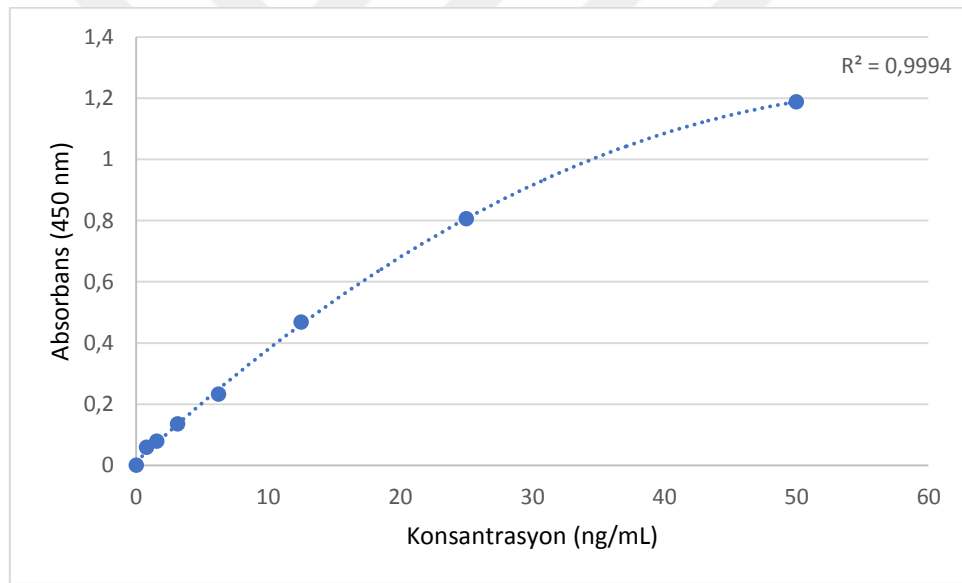
Grafik3. 2 SOD ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.3 Doku Katalaz (CAT) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki CAT seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Bostonchem, Katalog No: BLS-5986Ra, Boston, MA) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- CAT 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 80 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 antikör 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 μ L streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, tekrar folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 50 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 μ L eklendi ve pleyt 37°C'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.

- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer 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 CAT standart grafiği çizildi (**Grafik 3.3**). Bu grafikten yararlanılarak doku CAT seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.



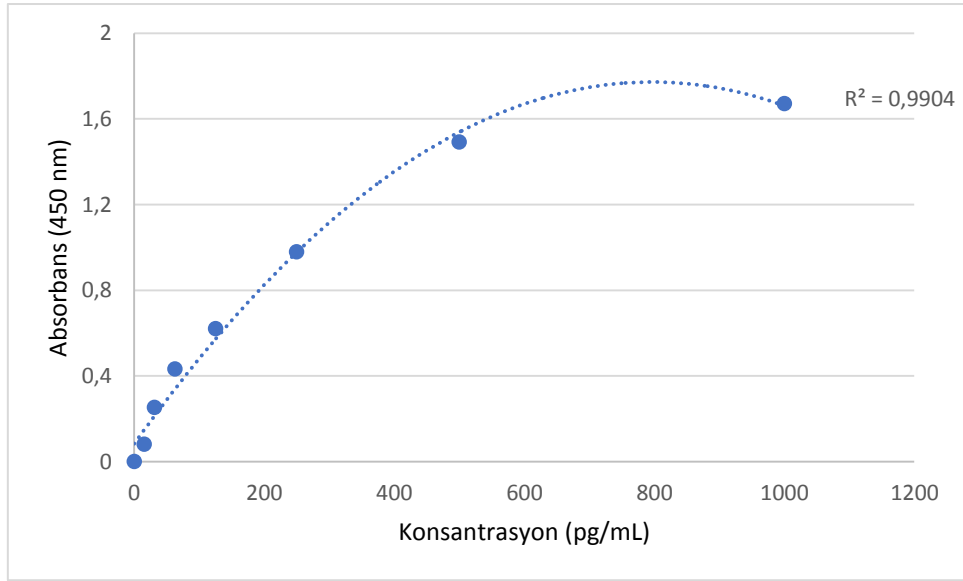
Grafik 3.3 CAT ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.4 Doku Glutasyon Peroksidaz (GPx) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki GPx seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Bostonchem, Katalog No: BLS-2222Ra, Boston, MA) 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 80 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 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 50 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar μL eklendi ve pleyt 37°C 'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek GPx standart grafiği çizildi (**Grafik 3.4**). 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.



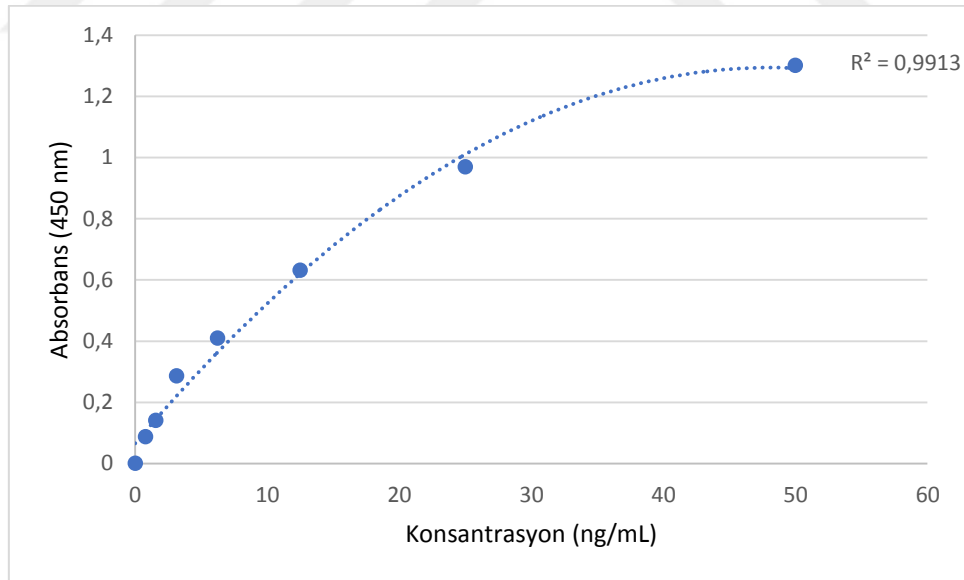
Grafik 3.4 GPx ölçümünde kullanılan standart grafiği

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

Doku örneklerindeki GRP78 seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Bostonchem, Katalog No: BLS-6834Ra, Boston, MA) 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 µL olacak şekilde ilaveler yapıldı. Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 80 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 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 50 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar µL eklendi ve pleyt 37°C'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer µL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek GRP78 standart grafiği çizildi (**Grafik 3.5**). Bu grafikten yararlanılarak doku GRP78 seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.

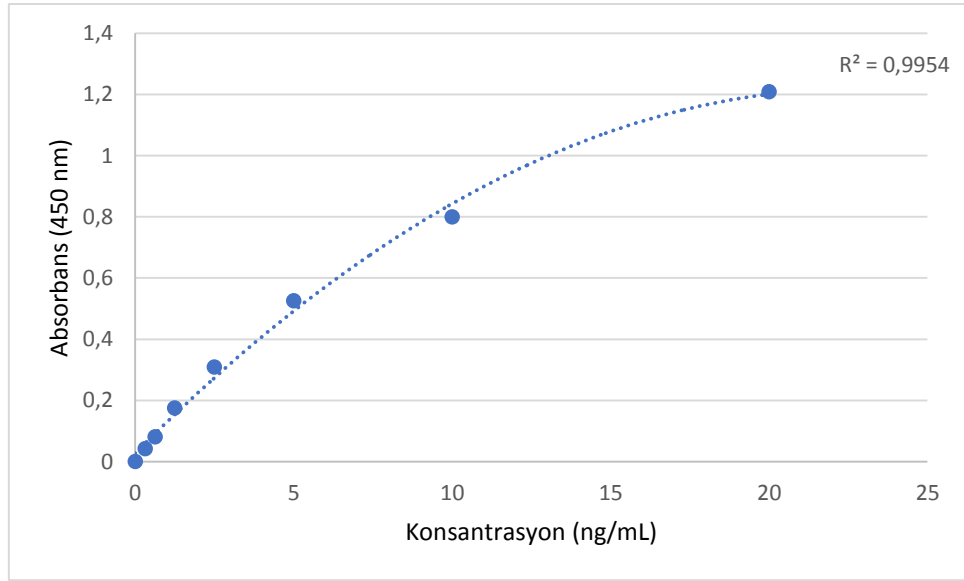


Grafik 3.5 GRP78 ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.6 Doku Aktifleştirici Transkripsiyon Faktör 6 (ATF6) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki ATF6 seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Bostonchem, Katalog No: BLS-9545Ra, Boston, MA) 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 80 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 antikör 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 50 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 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm 'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun $0.9-0.95$ 'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'er μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek ATF6 standart grafiği çizildi (**Grafik 3.6**). Bu grafikten yararlanılarak doku ATF6 seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.



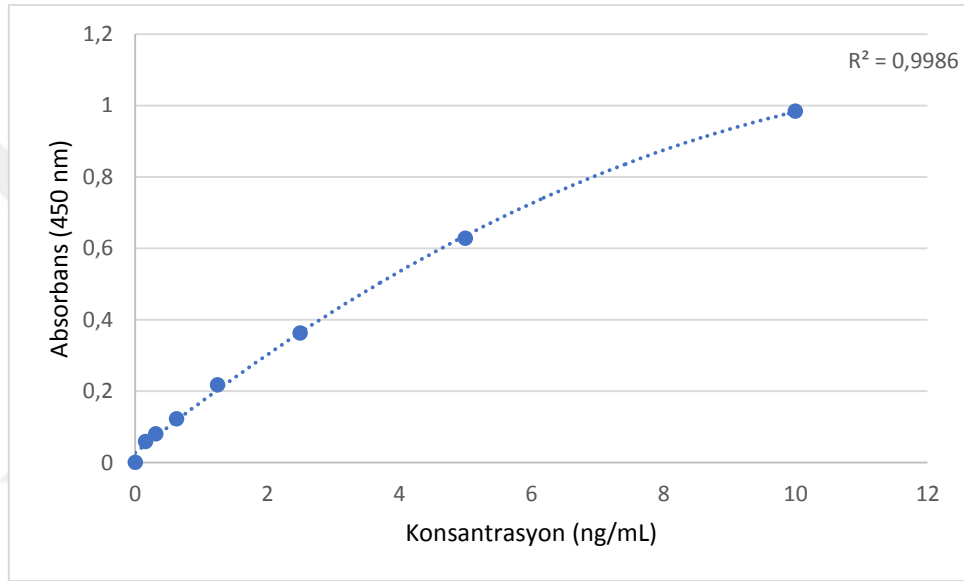
Grafik 3.6. ATF6 ölçümünde kullanılan standart grafiği

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

Doku örneklerindeki CHOP seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Bostonchem, Katalog No: BLS-5125Ra, Boston, MA) 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 μ L olacak şekilde ilaveler yapıldı. Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 80 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 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 μ L streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, tekrar folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 50 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar μ L eklendi ve pleyt 37°C'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.

- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer µL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek CHOP standart grafiği çizildi (**Grafik 3.7**). Bu grafikten yararlanılarak doku CHOP seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.



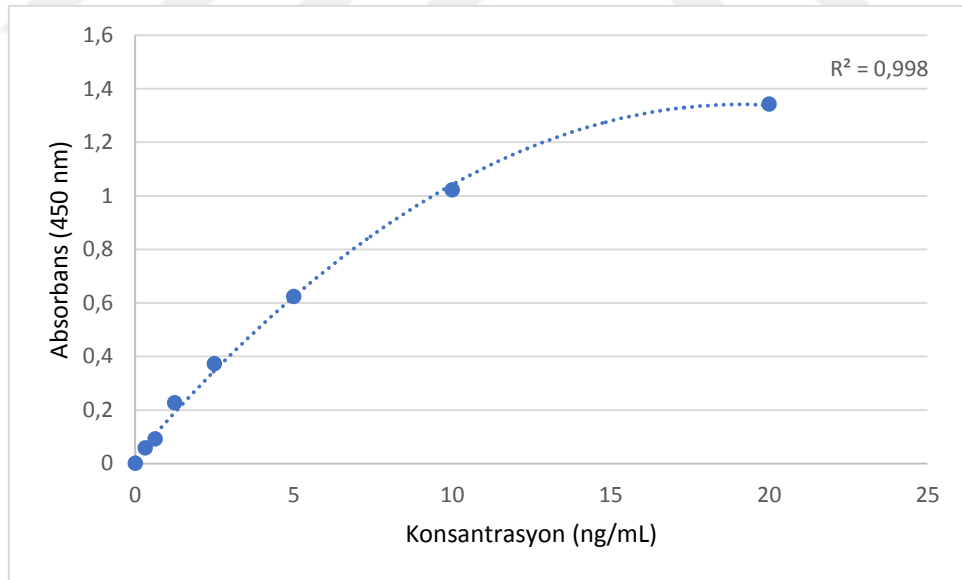
Grafik 3.7. CHOP ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.8 Doku Miyeloperoksidaz (MPO) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki MPO seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Bostonchem, Katalog No: BLS-1661Ra, Boston, MA) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- MPO 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 80 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 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 50 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar µL eklendi ve pleyt 37°C'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer µL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek MPO standart grafiği çizildi (**Grafik 3.8**). Bu grafikten yararlanılarak doku MPO seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.

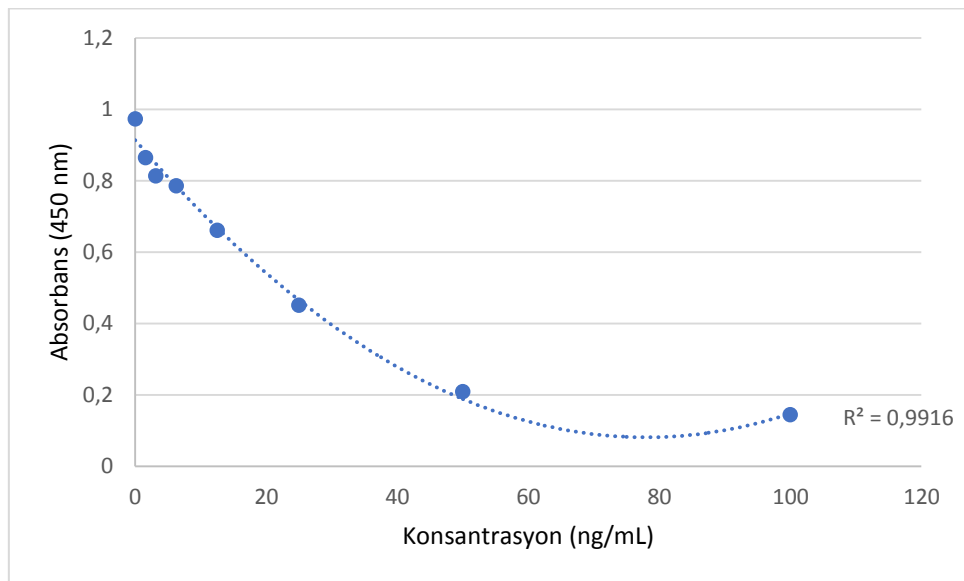


Grafik 3.8 MPO ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.9 Doku Glutasyon (GSH) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki GSH seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda yarışmalı ELISA kit (Bostonchem, Katalog No: BLS-8577Ra, Boston, MA) 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 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 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar μL eklendi ve pleyt 37°C 'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en 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 absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek GSH standart grafiği çizildi (**Grafik 3.9**). Bu grafikten yararlanılarak doku GSH seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.

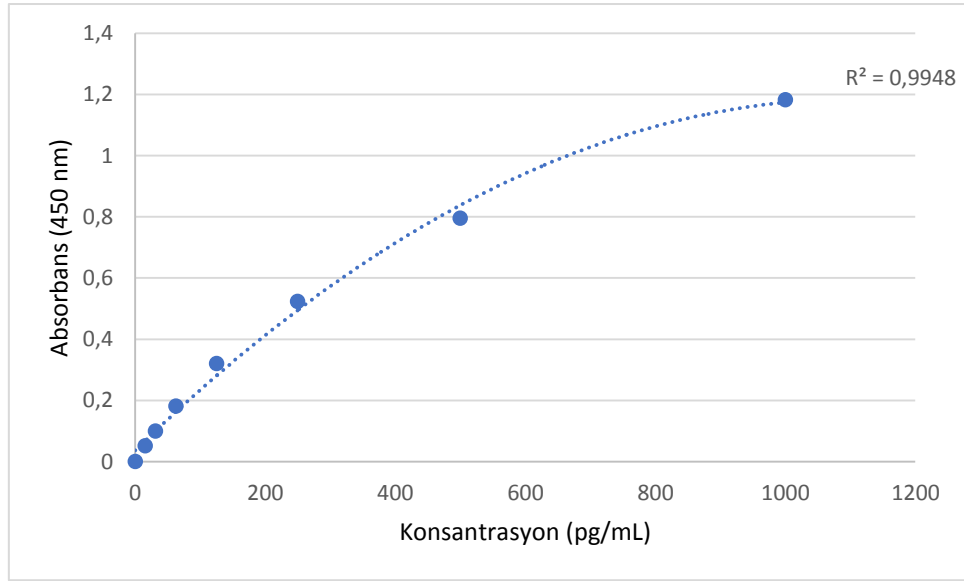


Grafik 3.9 GSH ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.10 Doku Tümör Nekroz Faktör-Alfa (TNF- α) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki TNF- α seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Bostonchem, Katalog No: BLS-1396Ra, Boston, MA) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- TNF- 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 80 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 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 μ L streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, tekrar folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 50 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 μ L eklendi ve pleyt 37°C'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μ L renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek TNF- α standart grafiği çizildi (**Grafik 3.10**). Bu grafikten yararlanılarak doku TNF- α seviyeleri pg/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar pg/mg protein olarak verildi.



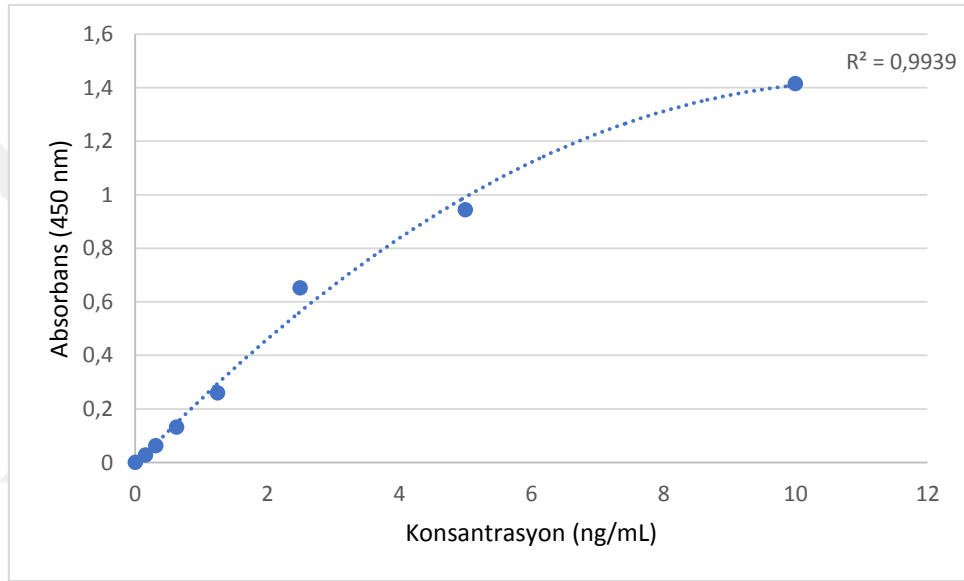
Grafik 3.10. TNF- α ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.11 Doku Kaspaz-3 Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku örneklerindeki kaspaz-3 seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Bostonchem, Katalog No: BLS-1528Ra, Boston, MA) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- Kaspaz-3 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 80 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 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 μ L streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, tekrar folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 50 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'er μ L eklendi ve pleyt 37°C'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.

- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer 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 kaspaz-3 standart grafiği çizildi (**Grafik 3.11**). Bu grafikten yararlanılarak doku kaspaz-3 seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Elde edilen değerler doku protein miktarına (mg/mL) oranlandı ve sonuçlar ng/mg protein olarak verildi.



Grafik 3.11. Kaspaz-3 ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.12 Toplam Oksidan Durumun (TOS) Belirlenmesi

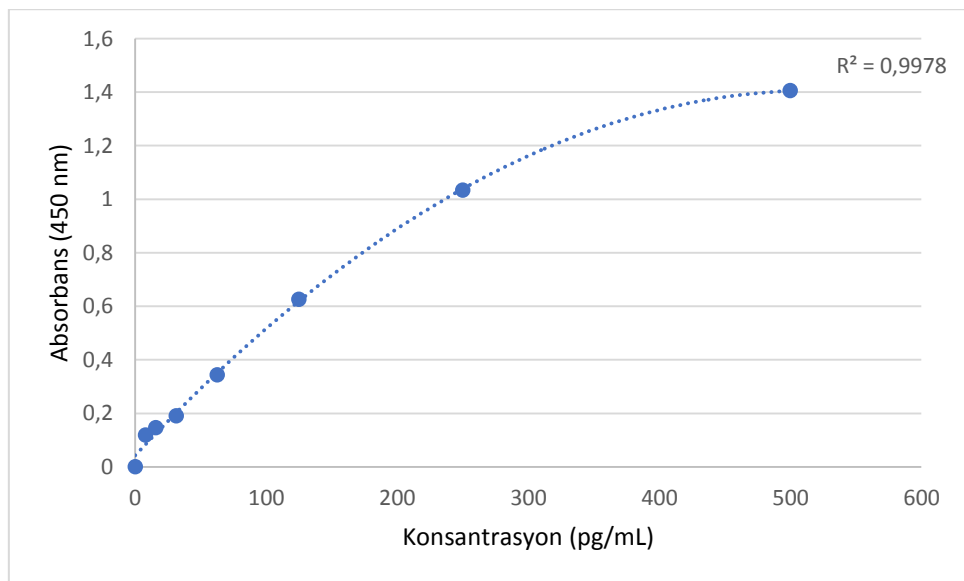
Doku örneklerindeki TOS seviyeleri ticari kolorimetrik kit (Rel Assay Diagnostics, Cat No: RL0024, Gaziantep, Turkey) kullanılarak üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda belirlendi ve sonuçlar µmol H₂O₂ eşdeğeri/L birimiyle verildi.

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

Doku örneklerindeki IL-6 seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Bostonchem, Katalog No: BLS-1158Ra, Boston, MA) 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 80 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 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 50 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için TMB substrat çözeltisinden 90'ar μL eklendi ve pleyt 37°C 'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm 'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun $0.9-0.95$ 'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek IL-6 standart grafiği çizildi (**Grafik 3.12**). 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 3.12 IL-6 ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.14 Toplam Antioksidan Durumun (TAS) Belirlenmesi

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

3.2.15 Oksidatif Stres İndeksinin (OSI) Hesaplanması

Doku örneklerindeki OSI seviyeleri;

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

Formülü kullanılarak hesaplandı (144).

3.3. Histopatolojik İnceleme Yöntemi

Histopatolojik değerlendirme için ayrılan penil dokular, ayrı ayrı %10'luk formolin solüsyonu içinde tespit edildi. Tespit sonrası dokular artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Dehidratasyon sonrası ksilenle muamele edilip şeffaflaştırıldı ve sonra parafine gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan yarı otomatik mikrotom (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) yardımı ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Lam üzerine alınan kesitler deparafinizasyon için etüvde ısıtıldıktan sonra sırasıyla ksilen ve alkolden geçirildi. Son olarak hematoksilen-eozin (H&E) boyası ile boyanan kesitler, histopatolojik olarak değerlendirildi. Her bir preparatta rastgele seçilen beş farklı alan; ışık mikroskopunda (Olympus BX51; Olympus Co., Tokyo, Japonya) incelendi ve fotoğraflandı. İnceleme sonucunda kavernoöz sinüslerde dilatasyon-konjesyon, enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve tunika albugineada ayrılma gibi patolojik değişiklikler yarı kantitatif olarak "0-3" arasında (0: Hiç yok, 1: Hafif, 2: Orta, 3: Şiddetli) skorlandı(145). Masson trikrom boyası ile boyanan kesitlerde ise özellikle korpus kavernozumdaki düz kas (kırmızı) ve bağ doku-kollajen liflerin (mavi) yoğunluğu kalitatif olarak değerlendirildi.

3.4. İstatistiksel İnceleme Yöntemi

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

4. BULGULAR

4.1 Histolojik Bulgular

Gruplara ait penis dokusunun ışık mikroskopik değerlendirmesinde;

4.1.1. Kontrol Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;

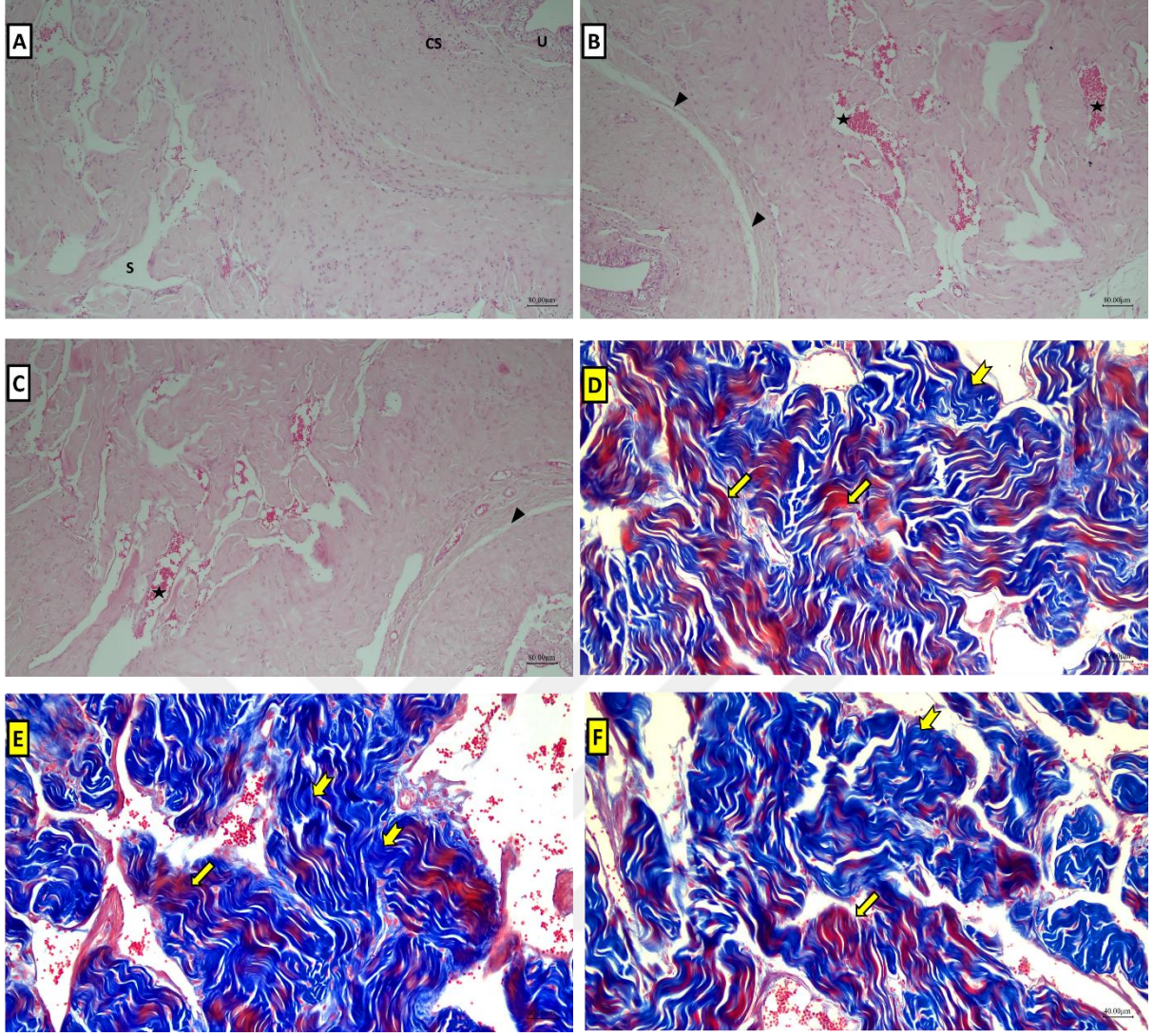
Korpus spongiosum ve korpus kavernozumlar düzenli görünümdeydi. Korpus kavernozum yapısındaki kavernöz sinüslerde yer yer hafif konjesyon olmakla birlikte genel yapı normal görünümdeydi. Düz kas ve kollajen lifler normal görünüm ve yapıda izlendi. (Resim A, D).

4.1.2 Priapizm/Reperfüzyon Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

Korpus kavernozumda, kavernöz sinüslerde belirgin dilatasyon ve konjesyon izlendi. Tunika albugineada da ayrılmalar mevcuttu. Korpus kavernozum yapısına ait düz kas ve kollajen liflerde düzensizlik ve yer yer dejenerasyonlar görüldü. Kollajen lif yoğunluğu kontrol grubuna göre fazlaydı (Resim B, E).

4.1.3 Priapizm/Reperfüzyon + Gallik Asit Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

Kavernöz sinüslerdeki dilatasyon-konjesyon ve Tunika albugineadaki ayrılmaların priapizm grubuna göre nispeten azaldığı görüldü. Korpus kavernozumuna ait düz kas ve kollajen lifler hasar grubuna göre daha düzenli yapıya sahipti. Kollajen lif yoğunluğunda da hasar grubuna göre azalma görüldü (Resim C, F).



Şekil 4.1 penis kesiti

Resim A: Grup kontrole ait penis kesiti. Üretral epitel (U), Korpus spongiozum (CS), kavernoöz sinüs (S), (H&E x100).

Resim B: Grup priapizme ait penis kesiti. Tunika albugineada ayrılma (ok başı), kavernoöz sinüslerde dilatasyon ve konjesyon (yıldız) (H&E x100).

Resim C: Grup tedaviye ait penis kesiti. Tunika albugineada ayrılma (ok başı), kavernoöz sinüslerde dilatasyon ve konjesyon (yıldız) (H&E x100).

Resim D: Grup kontrole ait penis kesiti. Bağ doku-kollajen lifler (çentikli ok) ve düz kas (ok) (Masson trikrom x200).

Resim E: Grup priapizme ait penis kesiti. Bağ doku-kollajen lifler (çentikli ok) ve düz kas (ok) (Masson trikrom x200).

Resim F: Grup tedaviye ait penis kesiti. Bağ doku-kollajen lifler (çentikli ok) ve düz kas (ok) (Masson trikrom x200).

Tüm dokularda ortak parametreler olarak kavernoöz sinüs konjesyonu, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, tunika albugineada ayrılma ve/veya hemoraji araştırıldı. Gruplara ait incelemelerde elde edilen histolojik değerlendirme sonuçları tablo 4.1’de sunulmuştur.

<i>GRUPLAR</i>	<i>KORPUS KAVERNOZUM VE SPONGİÖZUMDA VAZOKONJESYON</i>	<i>İNFLAMATUAR HÜCRE İNİLTRASYONU</i>	<i>TUNİKA ALBUGİNEADA AYRILMA</i>
<i>Kontrol 1</i>	1	0	1
<i>Kontrol 2</i>	2	1	0
<i>Kontrol 3</i>	1	1	1
<i>Kontrol 4</i>	2	1	2
<i>Kontrol 5</i>	1	0	0
<i>Kontrol 6</i>	1	1	1
<i>Priapizm/Reperfüzyon 1</i>	3	2	2
<i>Priapizm/Reperfüzyon 2</i>	3	1	2
<i>Priapizm/Reperfüzyon 3</i>	3	1	2
<i>Priapizm/Reperfüzyon 4</i>	3	1	3
<i>Priapizm/Reperfüzyon 5</i>	2	1	2
<i>Priapizm/Reperfüzyon 6</i>	2	1	1
<i>Pri/Rep+ Şiringik Asit 1</i>	1	1	1
<i>Pri/Rep+ Şiringik Asit 2</i>	1	1	2
<i>Pri/Rep+ Şiringik Asit 3</i>	1	0	1
<i>Pri/Rep+ Şiringik Asit 4</i>	2	1	1
<i>Pri/Rep+ Şiringik Asit 5</i>	3	1	3
<i>Pri/Rep+ Şiringik Asit 6</i>	2	1	1

Tablo 4.1 histolojik değerlendirme sonuçları

Nonparametrik veriler (Kavernözlerde vazokonjesyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, tunika albugineada ayrılma) Ki Kare testi ile incelendiğinde şiringik asidin priapizm/reperfüzyon grubu ile priapizm/reperfüzyon şiringik asit grupları arasında kavernöz

sinüs konjesyonu,tunika albugineada ayrılma ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu yönünden anlamlı bir farklılık oluşmamıştır. (Tablo 4.2).

Gruplar	p değeri*
İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu	p > 0,05
Kavernöz Sinüs Konjesyonu	p>0,05
Tunika Albugineada Ayrılma	p > 0,05

Tablo 4.2 Gruplardan elde edilen histolojik verilerin istatistiksel analizi

* Ki kare testi

4.2 Biyokimyasal Bulgular

İnceleme sonrası gruplar arasında anlamlı fark bulunanlar; TOS, MDA, OSI, TAS,IL-6,MPO,GRP78 (Tablo 4.3), anlamlı bulunmayanlar; SOD, CAT, GPX,GSH,TNF-alfa,ATF6,CHOP,CASPAZ-3 olduğu görüldü.(Tablo 4.4)

Parametreler	Kontrol	P/R	P/R+SA	P değeri
MDA(nmol/mg protein) α, β	23 $\pm$ 8,6	74,2 $\pm$ 25,6	25,9 $\pm$ 15,3	P<0,001
TOS(μmol hidrojen peroksit eşdeğeri/L) α	12,6 $\pm$ 1,3	32,3 $\pm$ 10,9	16,9 $\pm$ 5,1	P<0,001
TAS (mmol troluks eşdeğeri/L) α, β	0,574 $\pm$ 0,072	0,318 $\pm$ 0,116	0,639 $\pm$ 0,058	P<0,001
OSI α, β	2,2 $\pm$ 0,3	11,8 $\pm$ 7	2,6 $\pm$ 0,7	P=0,001
IL-6 (pg/mg protein) α	43,08 $\pm$ 16,5	82,44 $\pm$ 25,55	63,33 $\pm$ 12,82	P=0,01
MPO (ng/mg protein)	0,7 $\pm$ 0,42	1,45 $\pm$ 0,67	0,64 $\pm$ 0,13	P=0,014
GRP78 (ng/mg protein)	2,18 $\pm$ 0,75	4,59 $\pm$ 2,51	2,36 $\pm$ 1,38	P=0,05

Tablo 4.3: Anova analizinde fark saptanan parametreler

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

Parametreler	Kontrol	P/R	P/R+GA	P değeri
SOD(ng/mg protein)	1,92 ±2,58	0,81 ±0,18	1,3 ±0,59	P=0,47
CAT (ng/mg protein)	7,88 ±7,4	4,34 ±1,41	6,5 ±2,4	P=0,42
GPx (pg/mg protein)	18,18 ±13,87	10,51 ±5,37	16,68 ±5,25	P=0,33
GSH (ng/mg protein)	39,94 ±34,45	16,73 ±23,48	36,91 ±19,33	P=0,287
TNF-alfa (pg/mg protein)	174,82 ±65,97	253,16 ±152,98	191,5 ±57,25	P=0,395
ATF6 (ng/mg protein)	1,52 ±0,64	2,05 ±1,3	1,7 ±0,39	P=0,561
CHOP (ng/mg protein)	1,19 ±0,34	1,96 ±0,89	1,2 ±0,54	P=0,087
CASPAZ-3 (ng/mg protein)	0,483 ±0,998	1,055 ±0,674	0,579 ±0,801	P=0,053

Tablo 4.4 Anova analizinde fark saptanmayan parametreler

5. TARTIŞMA

İskemik priapizm: Tüm priapizm vakalarının %95'ini oluşturan iskemik priapizm en sık görülen tiptir (1). Bu doku kütesinden venöz kanın ayrılamamasının neden olduğu corpora cavernosa'nın dikkat çekici sertliği ile kalıcı, ağrılı bir ereksiyon ile karakterizedir. Bu nedenle, penil doku, corpora cavernosa'nın kapalı alanı içinde, penil kompartman sendromuna benzer bir hipoksik ve asidotik durum gösterir. Zamanla bedensel doku hasarına yol açabileceğinden acil muayene ve tedavi gerekir; gecikmiş tedavi tam erektil disfonksiyona (ED) neden olabilir (1). Hipoksi sırasında ve oksidatif strese yanıt olarak TGF- β 'nın up regülasyonu meydana gelir. Priapik penisin uzun süreli iskemisi sırasında, TGF- β 'nın penis dokusunun aşırı fibroza ilerlemesinde rol oynayabileceği varsayılmaktadır(4).

24 saatten uzun süren uzamış korporal iske mi, endotelial ve düz kas hücresi yıkımı ile değişen derecelerde geri dönüşümsüz penil fibrozis ile sonuçlanır (4). 48 saat sonra, kalıcı erektil disfonksiyon (ED) ile birlikte yaygın düz kas nekrozu oluşur. Bu nedenle, tedavi edilmemiş iskemik priapizm veya tekrarlayan priapizmin doğal sonucu, bu hasta popülasyonunda %59'a varan genel bir ED oranıyla sonuçlanan, erektil mekanizmalarda önemli bozulmalar olan global penil fibrozistir(5). ED gelişiminin en önemli prediktörü priapizmin süresidir. Priapizmin başlangıcından 48-72 saat sonrasında yapılan müdahaleler ereksiyon ve ağrının giderilmesinde yardımcı olabilirken uzun dönemde ED gelişimini önlemede etkinliği azdır.

Kavernözal düz kaslar, penisteki kavernöz cisimlerde bulunan düz kas hücreleridir ve sertleşme işlevinde önemli bir rol oynarlar. İskemi-reperfüzyon hasarı, bu düz kas hücrelerine zarar verebilir ve dolayısıyla sertleşme işlevinde bozulmaya neden olabilir(56).

İskemi, dokulara yeterli miktarda oksijen ve besin maddesi sağlayan kan akışının kesilmesi anlamına gelir. Kavernözal düz kaslarda iske mi, penisteki kan akışının azalması veya tamamen kesilmesi sonucu oluşabilir. Bu durum, kavernözal düz kas hücrelerinin enerji üretimi ve diğer biyokimyasal süreçlerinde bozulmaya neden olur ve sonuçta hücre hasarı ve hücre ölümü oluşabilir(57).

Reperfüzyon, kan akışının yeniden sağlanmasıdır. Ancak, kan akışının yeniden başlaması, hasarlı hücrelerin ürettiği serbest radikallerin artmasına ve oksidatif stresin artmasına neden olabilir. Bu da, hücre hasarını daha da kötüleştirir ve sertleşme işlevinde bozulmaya neden olabilir(58).

İske mi sırasında, düz kas hücrelerinde enerji üretimi azalır ve hücrelerin normal fonksiyonlarını sürdürmeleri için gerekli olan ATP seviyeleri düşer. Reperfüzyon aşamasında, oksijen ve besin maddelerinin yeniden sağlanmasıyla birlikte, hücrelerin normal fonksiyonlarını sürdürmek için enerjiye ihtiyaçları artar. Ancak, bu hızlı değişim, hücrelerde serbest radikallerin oluşumuna, oksidatif stresin artmasına ve hatta hücre ölümüne neden olabilir(59).

Oksidatif stres, DNA hasarına neden olabilir ve mitokondrilerin hücre zarlarında lipid peroksidasyonuna yol açabilir(89,90).

Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin hücre membranında bulunan fosfolipidlerin doymamış 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 hegzanal isimli aldehitlerin doku düzeylerinde artmasına neden olur(8,9).

İskemi-reperfüzyon hasarında antioksidanlar, serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresi azaltarak dokuların hasar görmesini ve hücre ölümünü önleyebilirler(91).

Antioksidanlar, endojen ve eksojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir.

Endojen antioksidanlar, vücutta doğal olarak üretilen antioksidanlardır. Bu antioksidanlar arasında glutatyon, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutathion peroksidaz yer alır. Glutatyon, hücrelerde serbest radikalleri nötralize eden bir tripeptittir. Süperoksit dismutaz, süperoksit radikallerini hidrojen peroksit'e dönüştürerek nötralize eder. Katalaz, hidrojen peroksiti suya ve oksijene dönüştürerek nötralize eder. Glutathion peroksidaz, hidrojen peroksiti ve organik hidroperoksitleri nötralize eder(92).

Eksojen antioksidanlar ise besinlerden veya takviyelerden alınan antioksidanlardır. Bu antioksidanlar arasında C vitamini, E vitamini, beta-karoten, koenzim Q10 ve selenyum yer alır. C vitamini, E vitamini ve beta-karoten, yağda çözünen serbest radikalleri nötralize ederken, koenzim Q10 ve selenyum, hücre içindeki serbest radikalleri nötralize eder(93).

Fenolik bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin araştırılması özellikle son 25 yılda popüler bir alan haline gelmiştir. Bunun ana nedeni fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri ve bunların kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar, kanser, I/R hasarı ve oksidatif stresle ilişkili diyabet gibi çeşitli hastalıkları önlemedeki olası rolüdür.

Şiringik asit anti-oksidan, anti-mikrobiyal, anti-inflamasyon, anti-obezite, anti-kanser, anti-diyabetik ve kalp, karaciğer ve nöro protektif etkileri gibi biyomedikal sektöründe yararlı özellikler sergiler(12).

Şiringik asidin yapısı, aromatik bir halkası ve iki yan zinciri olan bir hidroksifenilpropanoittir. İki yan zincir, bir tane hidroksil ve bir tane karboksil grubuna sahip olan 3-(4-hidroksifenil)propanoik asit olarak bilinen benzen halkasıdır. Doğada, şiringik asit birçok bitkide bulunur. Yapraklı sebzeler, turuncgiller, zencefil, ahududu, yaban mersini, sarımsak, soğan, kepekli tahıllar, fındık ve defne yaprakları, şiringik asit açısından zengin kaynaklardır(128).

Ayazoğlu Demir ve arkadaşlarının ratların testislerinde torsiyon detorsiyon sonrası I/R reperfüzyon hasarını önlemede şiringik asiti 50 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarında uygulamışlardır. Şiringik asit uygulamasının torsiyon/detorsiyon grubundaki oksidatif stres, inflamasyon, endoplazmik retikulum stresi ve apoptoz düzeyleri anlamlı düzeyde onardığı gözlemlendi(146).

Lui ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada şiringik asitin PI3K/Akt/GSK-3β sinyal yolağı üzerinden mitokondri kaynaklı apoptozu inhibe ederek miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarını hafiflettiğini göstermişlerdir(147).

Biz yaptığımız bu çalışma ile ratlarda deneysel olarak oluşturulan akut iskemik priapizm modelinde, 1 saatlik akut iskemik priapizm ve yarım saatlik reperfüzyon sonrası geri dönüşümsüz hasar oluşmadan önce dokulardaki erken histopatolojik değişiklikleri (Kavernöz Sinüs Konjesyonu, İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu, Tunika Albugineada Ayrılma) ve biyokimyasal verileri (Doku TOS, TAS, OSI, GSH, MPO, GRP78, ATF6, CHOP, MDA, SOD, GPx, CAT, IL-6, TNF-alfa, GRP78) inceledik. Doku seviyelerindeki değişiklikler ve uygulanacak olan şiringik asidin I/R hasarı üzerine olası koruyucu etkisinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesini amaçladık.

Çalışmamızdaki histopatolojik veriler değerlendirildiğinde ŞA'nın kavernöz sinüs konjesyonu, tunika albugineada ayrılma ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu üzerinde etkisi

gözlenmemiştir.

I/R hasarı sırasında oluşan serbest radikaller, hücre membranlarındaki lipidlere saldırarak lipid peroksidasyonunu başlatırlar. MDA, lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve deneysel I/R modellerinde lipid peroksidasyon miktarının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır(8,9). MDA birikimi daha çok reperfüzyon fazında gelişen hasarın önemli bir komponentidir(148). Çalışmamızda doku MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre, priapizm grubunda daha yüksek olduğu izlenmiş olup hipotezimizle uyumlu olduğu görülmüştür. SA infüzyonu ile birlikte Pri/Rep+SA grubunda I/R grubuna göre doku MDA değerindeki düşüş istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir($P<0,001$). Bu bulgular şiringik antioksidan özelliğinin iskemi reperfüzyon hasarını engellemekte kullanılabileceğini desteklemektedir.

Plazma antioksidan bileşenlerinin antioksidatif etkisi olduğu için, toplam antioksidan kapasite ölçümü (TAS) plazma antioksidan durumunu yansıtır. TAS vücut sıvılarındaki ve plazmadaki bütün antioksidanların etkisini yansıtırken, TOS bütün oksidanların toplam etkisini yansıtır(149). Yaptığımız çalışmada parametrik veriler içerisinde değerlendirilen doku TOS seviyelerindeki değişimler Pri/Rep grubunda kontrol grubuna göre yükselmenin istatistiksel olarak anlamlı olarak görülmüştür. Şiringik asit grubunda istatistiksel olarak anlamsız olduğu görüldü. Doku TAS seviyelerinde Pri/Rep grubunda kontrol grubuna göre yükselmenin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüş; Pri/Rep+SA grubunda ise Pri/Rep grubuna göre doku TAS düzeylerindeki düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Bu bulgular SA'nın antioksidan özelliğini desteklemektedir.

Çalışmamızda toplam antioksidan kapasite düzeyleri için toplam oksidan seviye düzeyi yüzde oranı oksidatif stres indeksi (OSI) olarak değerlendirildi(150). Doku OSI düzeylerinin kontrol grubuna göre, priapizm grubunda daha yüksek olduğu izlenmiş olup hipotezimizle uyumlu olduğu görülmüştür. SA infüzyonu ile birlikte Pri/Rep+SA grubunda I/R grubuna göre doku OSI değerindeki düşüş istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir($P=0,001$). Bu bulgular şiringik antioksidan özelliğinin iskemi reperfüzyon hasarını engellemekte kullanılabileceğini desteklemektedir.

Interlokin 6, genellikle inflamatuvar süreçlerle ilişkilidir. İnflamasyon, bağışıklık sisteminin bir yanıtı olarak ROS üretimini artırabilir. Bu durumda, IL-6'nın pro-iltihap etkileri aracılığıyla ROS üretimini artırabileceği düşünülmektedir(151). Çalışmamızda Pri/Rep grubunda kontrol grubuna göre yükselmenin istatistiksel olarak anlamlı olarak görülmüştür. Şiringik asit uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamsız olduğu görüldü.

MPO nötrofillerde bulunan, vücut savunması için fagosit edilmiş bakterilerin öldürülmesinde serbest oksijen radikallerini kullanan önemli bir enzimdir(152). Çalışmamızda gruplar arasında doku MPO düzeyleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir sonucun oluşmadığı görüldü.

ATF6, hücrede ER stresi olmadığında, ER membranında Grp78 ile inaktif şekilde bulunmaktadır. ER stres ile karşılaşıncı Grp78 lümene katlanmaya yardımcı olmak için gönderilirken ATF6'da posttranskripsiyonel modifikasyona uğrar ve nükleusa gönderilir ve burada Grp78, Grp94 gibi ER şaperonlarının ekspresyonunu artırır(153). Sonuç olarak bu proteinlerin sentezi artar ve ER katlama kapasitesi yükselerek strese karşı korunma sağlanmaya çalışılır. Çalışmamızda doku Grp78 ve ATF6 seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir.

Nonenzimatik antioksidan olan Glutasyon bir antioksidan olarak hareket eder ve ayrıca hücrenin redoks durumunu korumada, detoksifikasyon sisteminin çalışmasında apoptozisde

de antioksidan olarak faaliyet gösterir. Glutasyon, GPx'in katalitik etkisiyle lipid peroksidleri ve H₂O₂'yi detoksifiye eder ya da O₂⁻ ve OH⁻'i temizler(154). Çalışmamızda GSH seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir.



6.SONUÇ VE ÖNERİLER

- Deneysel model, biyokimyasal olarak priapizm/ reperfüzyon grubundaki artan doku MDA seviyelerinin şiringik asit verilen ratlarda normalleştiğini göstermiştir.
- Deneysel model, biyokimyasal olarak priapizm/ reperfüzyon grubundaki artan doku TAS seviyelerinin şiringik asit verilen ratlarda normalleştiğini göstermiştir.
- Deneysel model, biyokimyasal olarak priapizm/ reperfüzyon grubundaki artan doku OSI seviyelerinin şiringik asit verilen ratlarda normalleştiğini göstermiştir
- Şiringik asitin, priapizm/ reperfüzyon durumunda dokularda oluşabilecek biyokimyasal hasarı engellemede etkili olabileceği kanısı uyanmıştır.
- Bu ve benzeri verilerin ışığında, şiringik asitin insanlarda kullanımı konusunda çalışmalara gerek duyulmaktadır.

1. Broderick GA, Kadioglu A, Bivalacqua TJ, Ghanem H, Nehra A, Shamloul R. Priapism: Pathogenesis, epidemiology, and management. *Journal of Sexual Medicine*. 2010;7(1 PART 2):476–500.
2. Kulmala R V., Lehtonen TA, Tammela TLJ. Priapism, its incidence and seasonal distribution in Finland. *Scand J Urol Nephrol*. 1995;29(1):93–6.
3. Song PH, Moon KH. Priapism: Current Updates in Clinical Management. *Korean J Urol* [Internet]. 2013 Dec 10 [cited 2023 Mar 14];54(12):816–23
4. Bivalacqua TJ, Burnett AL, Buchanan J, Urological B. Priapism: New Concepts in the Pathophysiology and New Treatment Strategies. *Curr Urol Rep*. 2006;7:497–502.
5. Melman A, Serels S. Priapism. *Int J Impot Res* [Internet]. 2000 [cited 2023 Mar 19];12 Suppl 4:S133–9
6. 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.
7. 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. [cited 2023 Mar 19]; Available from: www.nature.com/ijir
8. Halliwell B, Chirico S, Crawford MA, Bjerve KS, Gey KF. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 1993 May 1 [cited 2023 Mar 19];57(5):715S–725S
9. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 1991 [cited 2023 Mar 19];11(1):81–128
10. Srinivasulu C, Ramgopal M, Ramanjaneyulu G, Anuradha CM, Suresh Kumar C. Syringic acid (SA) – A Review of Its Occurrence, Biosynthesis, Pharmacological and Industrial Importance. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018 Dec 1;108:547–57.
11. Kim K, Tsao R, Yang R, Chemistry SCF, 2006 undefined. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. Elsevier [Internet]. [cited 2023 Mar 19]
12. Scopus preview - Scopus - Document details - Antidiabetic principles, phospholipids and fixed oil of kodo millet (*Paspalum scrobiculatum* Linn.) [Internet]. [cited 2023 Mar 19]
13. Abe T, Masai E, Miyauchi K, Katayama Y, Fukuda M. A tetrahydrofolate-dependent O-demethylase, LigM, is crucial for catabolism of vanillate and syringate in *Sphingomonas paucimobilis* SYK-6. *J Bacteriol* [Internet]. 2005 Mar [cited 2023 Mar 19];187(6):2030–7.
14. Ikeda R, Uyama H, Kobayashi S. Novel synthetic pathway to a poly(phenylene oxide). Laccase-catalyzed oxidative polymerization of syringic acid. *Macromolecules*. 1996 Apr 8;29(8):3053–4.
15. Sam P, LaGrange CA. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Penis. StatPearls [Internet]. 2022 Jul 25 [cited 2023 Mar 22]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482236/>
16. A cross section of the penis, demonstrating the erectile bodies,... | Download Scientific Diagram [Internet]. [cited 2023 Mar 22]. Available from: https://www.researchgate.net/figure/A-cross-section-of-the-penis-demonstrating-the-erectile-bodies-fascial-layers_fig1_337109321

17. [Figure, The Penis, Diagram of the...] - StatPearls - NCBI Bookshelf [Internet]. [cited 2023 Mar 22]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482236/figure/article-26904.image.f2/?report=objectonly>
18. Kinter KJ, Newton BW. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Pudendal Nerve. StatPearls [Internet]. 2020 [cited 2023 Mar 22]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32134612>
19. Hart BL, Melese-D'Hospital PY. Penile mechanisms and the role of the striated penile muscles in penile reflexes. *Physiol Behav*. 1983 Dec 1;31(6):807–13.
20. The Male Reproductive System | Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 15e | AccessMedicine | McGraw Hill Medical [Internet]. [cited 2023 Mar 29]. Available from: <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2430§ionid=190286898#1160663416>
21. Rehfeld A, Nylander M, Karnov K. The Male Reproductive System. *Compendium of Histology*. 2017;569–92.
22. Panchatsharam PK, Durland J, Zito PM. Physiology, Erection. StatPearls [Internet]. 2022 May 8 [cited 2023 Apr 1]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513278/>
23. Porst H, Burri A. Novel Treatment for Premature Ejaculation in the Light of Currently Used Therapies: A Review. *Sex Med Rev* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2023 Apr 1];7(1):129–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30057136/>
24. Bhat GS, Shastry A. New Tools to Measure Ejaculatory Latency-Arousal to Ejaculation Time Interval and Erection to Ejaculation Time Interval: A Pilot Study. *Urology* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2023 Apr 2];115:107–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29432875/>
25. Krassioukov A, Elliott S. Neural Control and Physiology of Sexual Function: Effect of Spinal Cord Injury. *Top Spinal Cord Inj Rehabil* [Internet]. 2017 Dec 1 [cited 2023 Apr 2];23(1):1–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29339872/>
26. Prof. Dr. M. Önder YAMAN, Prof. Dr. Ateş KADIOĞLU PDAİT. Güncel Üroloji 2. BASKI. 2. BASKI. Prof. Dr. M. Önder YAMAN, Prof. Dr. Ateş KADIOĞLU PDAİT, editor. Türk Üroloji Derneği/ Turkish Association of Urology; 2018. [Internet]. [cited 2023 Apr 2]. Available from:
27. Kandeel FR, Koussa VKT, Swerdloff RS. Male sexual function and its disorders: physiology, pathophysiology, clinical investigation, and treatment. *Endocr Rev* [Internet]. 2001 [cited 2023 Apr 2];22(3):342–88. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11399748/>
28. Broderick GA: Priapism. Campbell's Urology (Wein AJ, Kavaussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, ed). Tenth edition. Philadelp [Internet]. [cited 2023 Apr 2].
29. Lin CS. Phosphodiesterase type 5 regulation in the penile corpora cavernosa. *J Sex Med* [Internet]. 2009 [cited 2023 Apr 2];6 Suppl 3(SUPPL. 3):203–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19267844/>
30. Kato GJ. Priapism in Sick Cell Disease: A Hematologist's Perspective. *J Sex Med* [Internet]. 2012 [cited 2023 Apr 2];9(1):70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2153142/>
31. Sangiorgi G, Cereda A, Benedetto D, Bonanni M, Chiricolo G, Cota L, et al. Anatomy, Pathophysiology, Molecular Mechanisms, and Clinical Management of Erectile Dysfunction in Patients Affected by Coronary Artery Disease: A Review. *Biomedicines* 2021, Vol 9, Page 432 [Internet]. 2021 Apr 16 [cited 2023 Apr 4];9(4):432

32. biomedicines-09-00432-g001.png (2876×1978) [Internet]. [cited 2023 Apr 4]. Available from: https://www.mdpi.com/biomedicines/biomedicines-09-00432/article_deploy/html/images/biomedicines-09-00432-g001.png
33. Kim N, Azadzoi KM, Goldstein I, Saenz de Tejada I. A nitric oxide-like factor mediates nonadrenergic-noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle. *Journal of Clinical Investigation*. 1991;88(1):112–8.
34. McDonald LJ, Murad F. Nitric Oxide and Cyclic GMP Signaling. *Exp Biol Med* [Internet]. 1996 Jan 1 [cited 2023 Apr 4];211(1):1–6. Available from: <http://ebm.sagepub.com/lookup/doi/10.3181/00379727-211-43950A>
35. Karakeci A, Hastanesi HD, Kliniği Ü. Priapizm Patofizyolojisinde Alternatif Yolaklar. *Firat Med J*. 2014;19(1):1–5.
36. Oyeleye SI, Adefegha SA, Dada FA, Okeke BM, Oboh G. Effect of p-coumaric acid on the erectogenic enzyme activities and non-protein thiol level in the penile tissue of normal and doxorubicin-induced oxidative stress male rat. *Andrologia*. 2019 Jul 1;51(6).
37. 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* [Internet]. 2008 Apr 1 [cited 2023 Apr 6];118(4):1491–501. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18340377/>
38. Patole S, Lee J, Buettner P, Whitehall J. Improved oxygenation following adenosine infusion in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Biol Neonate* [Internet]. 1998 Nov [cited 2023 Apr 6];74(5):345–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9742263/>
39. Chiang P, Wu S, Tsai E, Wu C, Shen M, Huang C, et al. Adenosine modulation of neurotransmission in penile erection. *Br J Clin Pharmacol* [Internet]. 1994 Oct 1 [cited 2023 Apr 7];38(4):357–62. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2125.1994.tb04366.x>
40. Dai Y, Zhang Y, Phatarpekar P, Mi T, Zhang H, Blackburn MR, et al. Adenosine Signaling, Priapism and Novel Therapies. *J Sex Med* [Internet]. 2009 Mar 1 [cited 2023 Apr 7];6(Supplement_3):292–301. Available from: https://academic.oup.com/jsm/article/6/Supplement_3/292/6834385
41. Wen J, Xia Y. Increased Endogenous Adenosine Production in Penile Tissues in Response to Cavernosal Nerve Stimulation. 2012;
42. medicine RST journal of sexual, 2009 undefined. The potential role of the heme oxygenase/carbon monoxide system in male sexual dysfunctions. *academic.oup.com* [Internet]. 2008 [cited 2023 Apr 9];6(2):324–33. Available from: <https://academic.oup.com/jsm/article-abstract/6/2/324/6832511>
43. Chun Jin Y, Chul Gam S, Hun Jung J, Suk Hyun J, Churl Chang K, Seog Hyun J. Expression and activity of heme oxygenase- 1 in artificially induced low- flow priapism in rat penile tissues. *academic.oup.com* [Internet]. 2008 [cited 2023 Apr 9];5(8):1876–82. Available from: <https://academic.oup.com/jsm/article-abstract/5/8/1876/6862198>
44. Hatzimouratidis K, Amar E, Eardley I, Giuliano F, Hatzichristou D, Montorsi F, et al. Guidelines on Male Sexual Dysfunction: Erectile Dysfunction and Premature Ejaculation. *Eur Urol*. 2010 May 1;57(5):804–14.
45. Musicki B, Burnett AL. Endothelial dysfunction in diabetic erectile dysfunction. *Int J Impot Res* [Internet]. 2007 Mar 25 [cited 2023 Apr 9];19(2):129–38. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16775612/>
46. Ferrini MG, Vernet D, Magee TR, Shahed A, Qian A, Rajfer J, et al. Antifibrotic Role of Inducible Nitric Oxide Synthase. *Nitric Oxide*. 2002 May

1;6(3):283–94.

47. Andersson KE. Mechanisms of penile erection and basis for pharmacological treatment of erectile dysfunction. *Pharmacol Rev* [Internet]. 2011 Dec [cited 2023 Apr 10];63(4):811–59. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21880989/>
48. Kim YJ, Tamadon A, Park HT, Kim H, Ku SY. The role of sex steroid hormones in the pathophysiology and treatment of sarcopenia. *Osteoporos Sarcopenia* [Internet]. 2016 Sep [cited 2023 Apr 10];2(3):140–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30775480/>
49. Traish AM, Netsuwan N, Daley J, Padman-Nathan H, Goldstein I, Saenz de Tejada I. A Heterogeneous Population of Alpha sub 1 Adrenergic Receptors Mediates Contraction of Human Corpus Cavernosum Smooth Muscle to Norepinephrine. *J Urol* [Internet]. 1995 [cited 2023 Apr 10];153(1):222–7. Available from: <https://www.auajournals.org/doi/10.1097/00005392-199501000-00081>
50. Roehrborn CG, Schwinn DA. α 1-Adrenergic Receptors and Their Inhibitors in Lower Urinary Tract Symptoms and Benign Prostatic Hyperplasia. *J Urol*. 2004 Mar 1;171(3):1029–35.
51. Andersson KE. Mechanisms of Penile Erection and Basis for Pharmacological Treatment of Erectile Dysfunction. *Pharmacol Rev* [Internet]. 2011 Dec 1 [cited 2023 Apr 10];63(4):811–59. Available from: <https://pharmrev.aspetjournals.org/content/63/4/811>
52. MA K, RC C, ME S, CS T, FH M, RJ M, et al. Normal and pathological erectile function: the potential clinical role of endothelin-1 antagonists. *Curr Drug Targets* [Internet]. 2000 Mar 25 [cited 2023 Apr 10];1(3):247–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11465074/>
53. Maguire JJ, Davenport AP. Endothelin Receptors and Their Antagonists. *Semin Nephrol*. 2015 Mar 1;35(2):125–36.
54. Masashi Y, Tomoh M. Molecular biology and biochemistry of the endothelins. *Trends Pharmacol Sci*. 1989 Sep 1;10(9):374–8.
55. Schinelli S. Pharmacology and physiopathology of the brain endothelin system: an overview. *Curr Med Chem* [Internet]. 2006 Feb 28 [cited 2023 Apr 10];13(6):627–38. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16529555/>
56. Ritchie R, Sullivan M. Endothelins & erectile dysfunction. *Pharmacol Res* [Internet]. 2011 Jun [cited 2023 Apr 10];63(6):496–501. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21185376/>
57. Sanchez E, Pastuszak AW, Khera M. Erectile dysfunction, metabolic syndrome, and cardiovascular risks: facts and controversies. *Transl Androl Urol* [Internet]. 2017 [cited 2023 Apr 10];6(1):28–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28217448/>
58. Ericson C, Baird B, Broderick GA. Management of Priapism: 2021 Update. *Urol Clin North Am* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2023 Apr 11];48(4):565–76. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34602176/>
59. Capece M, Gillo A, Cocci A, Garaffa G, Timpano M, Falcone M. Management of refractory ischemic priapism: current perspectives. *Res Rep Urol* [Internet]. 2017 Aug 29 [cited 2023 Apr 11];9:175. Available from: <https://pmc/articles/PMC5587151/>
60. Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox Biol* [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2023 Apr 11];6:524–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26484802/>
61. Szabó C, Dawson VL. Role of poly(ADP-ribose) synthetase in inflammation and ischaemia-reperfusion. *Trends Pharmacol Sci* [Internet]. 1998 Jul 1 [cited 2023 Apr 11];19(7):287–98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9703762/>

62. [Oxidative stress in cells damage processes] - PubMed [Internet]. [cited 2023 Apr 11]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19650429/>
63. Balaban RS, Nemoto S, Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell* [Internet]. 2005 Feb 25 [cited 2023 Apr 11];120(4):483–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15734681/>
64. Kemal M, Tıp Ü, Özcan O, Erdal H, Yonden Z, Üniversitesi MK, et al. İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI VE OKSİDATİF STRES İLİŞKİSİNE BİYOKİMYASAL BAKIŞ Biochemical Aspect of Oxidative Stress Related to Ischemia-Reperfusion Damage. *Derg.* 2015;6(23):27–33.
65. Zhang X, Zhang JH, Chen XY, Hu QH, Wang MX, Jin R, et al. Reactive oxygen species-induced TXNIP drives fructose-mediated hepatic inflammation and lipid accumulation through NLRP3 inflammasome activation. *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2023 Apr 11];22(10):848–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25602171/>
66. Baines CP. The mitochondrial permeability transition pore and ischemia-reperfusion injury. *Basic Res Cardiol* [Internet]. 2009 [cited 2023 Apr 11];104(2):181–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19242640/>
67. Schaffer SW, Roy RS, McMord JM. Possible role for calmodulin in calcium paradox-induced heart failure. *Eur Heart J* [Internet]. 1983 [cited 2023 Apr 11];4 Suppl H(SUPPL. H):81–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6581973/>
68. Valko M, Morris H, Cronin M. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem* [Internet]. 2005 Apr 30 [cited 2023 Apr 11];12(10):1161–208. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15892631/>
69. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 1991 [cited 2023 Apr 11];11(1):81–128. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1937131/>
70. Chen Q, Vazquez EJ, Moghaddas S, Hoppel CL, Lesnefsky EJ. Production of reactive oxygen species by mitochondria: central role of complex III. *J Biol Chem* [Internet]. 2003 Sep 19 [cited 2023 Apr 13];278(38):36027–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12840017/>
71. Kudin AP, Bimpong-Buta NYB, Vielhaber S, Elger CE, Kunz WS. Characterization of superoxide-producing sites in isolated brain mitochondria. *J Biol Chem* [Internet]. 2004 Feb 6 [cited 2023 Apr 13];279(6):4127–35. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14625276/>
72. Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J* [Internet]. 2009 Jan 1 [cited 2023 Apr 13];417(1):1–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19061483/>
73. Sivitz WI, Yorek MA. Mitochondrial dysfunction in diabetes: from molecular mechanisms to functional significance and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 2010 Feb 15 [cited 2023 Apr 13];12(4):537–77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19650713/>
74. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial ROS-induced ROS release: an update and review. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2006 May [cited 2023 Apr 13];1757(5–6):509–17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16829228/>
75. 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 Apr 13];39(1):44–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16978905/>
76. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure,

- function and inhibition. *Biochem J* [Internet]. 2001 Aug 1 [cited 2023 Apr 13];357(Pt 3):593–615. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11463332/>
77. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease - PubMed [Internet]. [cited 2023 Apr 13]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10685059/>
 78. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J* [Internet]. 2012 Apr [cited 2023 Apr 13];33(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21890489/>
 79. Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox Biol* [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2023 Apr 13];6:524–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26484802/>
 80. Kalyanaraman B. Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biol* [Internet]. 2013 [cited 2023 Apr 13];1(1):244–57. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24024158/>
 81. Hausenloy DJ, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target. *J Clin Invest* [Internet]. 2013 Jan 2 [cited 2023 Apr 13];123(1):92–100. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23281415/>
 82. Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion--from mechanism to translation. *Nat Med* [Internet]. 2011 Nov [cited 2023 Apr 13];17(11):1391–401. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22064429/>
 83. Wang R, Wang M, He S, Sun G, Sun X. Targeting Calcium Homeostasis in Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: An Overview of Regulatory Mechanisms and Therapeutic Reagents. *Front Pharmacol* [Internet]. 2020 Jun 9 [cited 2023 Apr 13];11:1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34260666/>
 84. Ferdinandy P, Schulz R, Baxter GF. Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning. *Pharmacol Rev* [Internet]. 2007 Dec [cited 2023 Apr 14];59(4):418–58. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18048761/>
 85. Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox Biol* [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2023 Apr 14];6:524. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26484802/>
 86. Sandanger, Gao E, Ranheim T, Bliksøen M, Kaasbøll OJ, Alfsnes K, et al. NLRP3 inflammasome activation during myocardial ischemia reperfusion is cardioprotective. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2016 Jan 22 [cited 2023 Apr 14];469(4):1012–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26706279/>
 87. Faraci FM. Protecting against vascular disease in brain. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* [Internet]. 2011 May [cited 2023 Apr 14];300(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21335467/>
 88. Lefer AM, Tsao PS, Lefer DJ, Ma X. Role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of reperfusion injury after myocardial ischemia. *FASEB J* [Internet]. 1991 Apr [cited 2023 Apr 14];5(7):2029–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2010056/>
 89. Szeto HH, Birk A V. Serendipity and the discovery of novel compounds that restore mitochondrial plasticity. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2014 Dec 1 [cited 2023 Apr 14];96(6):672–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25188726/>
 90. Chouchani ET, Pell VR, James AM, Work LM, Saeb-Parsy K, Frezza C, et al. A Unifying Mechanism for Mitochondrial Superoxide Production during Ischemia-Reperfusion Injury. *Cell Metab* [Internet]. 2016 Feb 9 [cited 2023 Apr 14];23(2):254–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26777689/>

91. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007 Jan 1;39(1):44–84.
92. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. *Free Radicals in Biology and Medicine* [Internet]. 2015 Oct 22 [cited 2023 Apr 15]; Available from: <https://academic.oup.com/book/40045>
93. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* [Internet]. 1997 Mar 1 [cited 2023 Apr 15];82(2):291–5. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1113/expphysiol.1997.sp004024>
94. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci* [Internet]. 2008 Jun [cited 2023 Apr 15];4(2):89. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC3614697/>
95. Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc* [Internet]. 1998 [cited 2023 Apr 15];75(2):199–212. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32287334/>
96. Maurya DK, Devasagayam TPA. Antioxidant and prooxidant nature of hydroxycinnamic acid derivatives ferulic and caffeic acids. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2010 Dec [cited 2023 Apr 15];48(12):3369–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20837085/>
97. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein) - PubMed [Internet]. [cited 2023 Apr 16]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5389100/>
98. Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* [Internet]. 1979 [cited 2023 Apr 16];59(3):527–605. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37532/>
99. Maiorino FM, Brigelius-Flohé R, Aumann KD, Roveri A, Schomburg D, Flohé L. Diversity of glutathione peroxidases. *Methods Enzymol* [Internet]. 1995 [cited 2023 Apr 16];252(C):38–48. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7476373/>
100. Paolicchi A, Dominici S, Pieri L, Maellaro E, Pompella A. Glutathione catabolism as a signaling mechanism. *Biochem Pharmacol*. 2002 Sep 1;64(5–6):1027–35.
101. Cappiello M, Peroni E, Lepore A, Moschini R, Del Corso A, Balestri F, et al. Rapid colorimetric determination of reduced and oxidized glutathione using an end point coupled enzymatic assay. *Anal Bioanal Chem* [Internet]. 2013 Feb 1 [cited 2023 Apr 16];405(5):1779–85. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23203508/>
102. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* [Internet]. 1997 Mar 1 [cited 2023 Apr 16];82(2):291–5. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1113/expphysiol.1997.sp004024>
103. Jones DP. Redefining Oxidative Stress. <https://home.liebertpub.com/ars> [Internet]. 2006 Sep 20 [cited 2023 Apr 16];8(9–10):1865–79. Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ars.2006.8.1865>
104. Armstrong JS, Jones DP. Glutathione depletion enforces the mitochondrial permeability transition and causes cell death in HL60 cells that overexpress Bcl-2. *The FASEB Journal* [Internet]. 2002 Aug 1 [cited 2023 Apr 16];16(10):1263–5. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1096/fj.02-0097fje>
105. Barañano DE, Rao M, Ferris CD, Snyder SH. Biliverdin reductase: a major physiologic cytoprotectant. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2002 Dec 10 [cited 2023 Apr 16];99(25):16093–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12456881/>
106. Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN, Ames BN. Bilirubin is

- an antioxidant of possible physiological importance. *Science* [Internet]. 1987 [cited 2023 Apr 16];235(4792):1043–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3029864/>
107. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal* [Internet]. 1984 Apr 4 [cited 2023 Apr 16];219(1):1. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1153442/>
108. Sun X, Hong Y, Gong Y, Zheng S, Xie D. Bioengineered Ferritin Nanocarriers for Cancer Therapy. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 Jul 1 [cited 2023 Apr 16];22(13). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8268655/>
109. Davies KJA, Sevanian A, Muakkassah-Kelly SF, Hochstein P. Uric acid-iron ion complexes. A new aspect of the antioxidant functions of uric acid. *Biochemical Journal* [Internet]. 1986 May 1 [cited 2023 Apr 16];235(3):747–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21935/>
110. Reiter R, Tan D, Terron M, ... LFAB, 2007 undefined. Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their radical scavenging actions. *bibliotekanauki.pl* [Internet]. [cited 2023 Apr 16]; Available from: <https://bibliotekanauki.pl/articles/1041101.pdf>
111. Gitto E, Tan DX, Reiter RJ, Karbownik M, Manchester LC, Cuzzocrea S, et al. Individual and synergistic antioxidative actions of melatonin: studies with vitamin E, vitamin C, glutathione and desferrioxamine (desferoxamine) in rat liver. *Wiley Online Library* [Internet]. 2001 Feb 18 [cited 2023 Apr 16];53(10):1393–401. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1211/0022357011777747?casa_token=FVVdKXuaO2sAAAAA:Ro9zDuaYkgXuFZWcq-h8yMF9MUQYPsZVoH7OvUKfEnBIqKb-HWBP_RJjlcWuRJuXFdvjHj_nlZITVIE
112. Tan D, Manchester L, Qin L, of RRI journal, 2016 undefined. Melatonin: a mitochondrial targeting molecule involving mitochondrial protection and dynamics. *mdpi.com* [Internet]. 2016 Dec 16 [cited 2023 Apr 16];17(12). Available from: <https://www.mdpi.com/170830>
113. Mortensen SA, Rosenfeldt F, Kumar A, Dolliner P, Filipiak KJ, Pella D, et al. The effect of coenzyme Q10 on morbidity and mortality in chronic heart failure: Results from Q-SYMBIO: A randomized double-blind trial. *JACC Heart Fail*. 2014;2(6):641–9.
114. Hernández-Camacho JD, Bernier M, López-Lluch G, Navas P. Coenzyme Q10 supplementation in aging and disease. *Front Physiol*. 2018 Feb 5;9(FEB).
115. Packer L, Witt EH, Tritschler HJ. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic Biol Med*. 1995;19(2):227–50.
116. Society MKP of the N, 1998 undefined. Free radicals, exercise and antioxidant supplementation. *cambridge.org* [Internet]. 1998 [cited 2023 Apr 16];57:9–13. Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/proceedings-of-the-nutrition-society/article/free-radicals-exercise-and-antioxidant-supplementation/C2718103EE04DF790E5759E6C6A1139A>
117. Jeong S, Chemistry SDJ of B, 2003 undefined. Glycosylphosphatidylinositol-anchored ceruloplasmin is required for iron efflux from cells in the central nervous system. *ASBMB* [Internet]. [cited 2023 Apr 16]; Available from: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(20\)84681-X/abstract](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(20)84681-X/abstract)
118. Legrand D, Ellass E, Pierce A, Mazurier J. Lactoferrin and host defence: An overview of its immuno-modulating and anti-inflammatory properties. *BioMetals*. 2004 Jun;17(3):225–9.
119. Baveye S, Ellass E, Mazurier J, Spik G, Legrand D. Lactoferrin: A

- multifunctional glycoprotein involved in the modulation of the inflammatory process. *Clin Chem Lab Med*. 1999;37(3):281–6.
120. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000 408:6809 [Internet]. 2000 Nov 9 [cited 2023 Apr 19];408(6809):239–47. Available from: <https://www.nature.com/articles/35041687>
 121. Carr A, Nutrients SM, 2017 undefined. Vitamin C and immune function. *mdpi.com* [Internet]. [cited 2023 Apr 19]; Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/9/11/1211>
 122. Brigelius- Flohé R, Traber MG. Vitamin E: function and metabolism. *The FASEB Journal*. 1999 Jul;13(10):1145–55.
 123. nutrition ARTA journal of clinical, 2012 undefined. Vitamin A and retinoic acid in T cell–related immunity. *academic.oup.com* [Internet]. [cited 2023 Apr 19]; Available from: <https://academic.oup.com/ajcn/article-abstract/96/5/1166S/4577097>
 124. biology DBC&, 2014 undefined. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Elsevier* [Internet]. [cited 2023 Apr 19]; Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074552114000246>
 125. Kumar R, Darpan, Sharma S, Singh R. Xanthine oxidase inhibitors: a patent survey. *Expert Opin Ther Pat* [Internet]. 2011 Jul [cited 2023 Apr 20];21(7):1071–108. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21510722/>
 126. Suzuki H, Hatano N, Muraki Y, Itoh Y, Kimura S, Hayashi H, et al. The NADPH oxidase inhibitor diphenyleneiodonium activates the human TRPA1 nociceptor. *Am J Physiol Cell Physiol* [Internet]. 2014 Aug 15 [cited 2023 Apr 20];307(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24944203/>
 127. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *ScientificWorldJournal* [Internet]. 2013 [cited 2023 Apr 20];2013. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24470791/>
 128. Srinivasulu C, Ramgopal M, Ramanjaneyulu G, Anuradha CM, Suresh Kumar C. Syringic acid (SA) – A Review of Its Occurrence, Biosynthesis, Pharmacological and Industrial Importance. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018 Dec 1;108:547–57.
 129. Silva N, Salgueiro L, Fortuna A, Cavaleiro C. P-glycoprotein Mediated Efflux Modulators of Plant Origin: A Short Review.
 130. Grgić J, Šelo G, Planinić M, Tišma M, Bucić-Kojić A. Role of the Encapsulation in Bioavailability of Phenolic Compounds. *Antioxidants* 2020, Vol 9, Page 923 [Internet]. 2020 Sep 26 [cited 2023 Apr 23];9(10):923. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/10/923/htm>
 131. Li D, Luo F, Guo T, Han S, Wang H, Lin Q. Targeting NF-κB pathway by dietary lignans in inflammation: expanding roles of gut microbiota and metabolites. <https://doi.org/10.1080/1040839820222026871> [Internet]. 2022 [cited 2023 Apr 23]; Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2022.2026871>
 132. Noh K, Back HM, Shin BS, Kang W. Pharmacokinetics of Shikimic Acid Following Intragastric and Intravenous Administrations in Rats. *Pharmaceutics* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2023 Apr 23];12(9):1–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32872397/>
 133. Chandran SS, Yi J, Draths KM, Von Daeniken R, Weber W, Frost JW. Phosphoenolpyruvate Availability and the Biosynthesis of Shikimic Acid. *Biotechnol Prog* [Internet]. 2003 Jan 1 [cited 2023 Apr 23];19(3):808–14. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1021/bp025769p>
 134. Preformulation study and initial determination of biological Properties of ...: EBSCOhost [Internet]. [cited 2023 Apr 23]. Available from:

<https://web.s.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=0&sid=5fabf44b-9959-412d-884c-21c4945c7ec6%40redis>

135. Chen Z, Zheng S, Li L, Jiang H. Metabolism of Flavonoids in Human: A Comprehensive Review.
136. Zhang B, Lewis KM, Abril A, Davydov DR, Vermerris W, Sattler SE, et al. Structure and Function of the Cytochrome P450 Monooxygenase Cinnamate 4-hydroxylase from *Sorghum bicolor*. *Plant Physiol* [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2023 Apr 23];183(3):957. Available from: [/pmc/articles/PMC7333690/](https://pmc/articles/PMC7333690/)
137. Piazzon A, Vrhovsek U, Masuero D, Mattivi F, Mandoj F, Nardini M. Antioxidant activity of phenolic acids and their metabolites: Synthesis and antioxidant properties of the sulfate derivatives of ferulic and caffeic acids and of the acyl glucuronide of ferulic acid. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2012 Dec 19 [cited 2023 Apr 23];60(50):12312–23. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/jf304076z>
138. Choi JH, Seo EJ, Sung J, Choi KM, Kim H, Kim JS, et al. Polyphenolic compounds, antioxidant and anti-inflammatory effects of *Abeliophyllum distichum* Nakai extract. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 2017;90:266–73.
139. Xuan H, Yuan W, Chang H, Liu M, Hu F. Anti-inflammatory effects of Chinese propolis in lipopolysaccharide-stimulated human umbilical vein endothelial cells by suppressing autophagy and MAPK/NF- κ B signaling pathway. *Inflammopharmacology* [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2023 Apr 23];27(3):561–71. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10787-018-0533-6>
140. Spilioti E, Jaakkola M, Tolonen T, Lipponen M, Virtanen V, Chinou I, et al. Phenolic Acid Composition, Antiatherogenic and Anticancer Potential of Honeys Derived from Various Regions in Greece. *PLoS One* [Internet]. 2014 Apr 21 [cited 2023 Apr 23];9(4):e94860. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0094860>
141. Vinayagam R, Jayachandran M, Xu B. Antidiabetic Effects of Simple Phenolic Acids: A Comprehensive Review. *Phytotherapy Research* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2023 Apr 23];30(2):184–99. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ptr.5528>
142. Lee MS, Kim Y. Chrysanthemum morifolium Flower Extract Inhibits Adipogenesis of 3T3-L1 Cells via AMPK/SIRT1 Pathway Activation. *Nutrients* 2020, Vol 12, Page 2726 [Internet]. 2020 Sep 6 [cited 2023 Apr 23];12(9):2726. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/9/2726/htm>
143. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*. 1978;86(1):271–8.
144. 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. *Journal of Investigative Surgery*. 2022;35(5):1106–11.
145. Karagüzel E, Bayraktar C, Kutlu O, Yulug E, Mentese A, Okatan AE, et al. The possible protective effects of dipyrindamole on ischemic reperfusion injury of priapism. *International Braz J Urol*. 2016 Jan 1;42(1):146–53.
146. Demir EA, Demir S, Kazaz IO, Kucuk H, Alemdar NT, Gecici OF, et al. Syringic acid ameliorates ischemia/reperfusion-induced testicular injury in rats via suppressing of HMGB1/NF- κ B axis and endoplasmic reticulum stress. *Eur J Trauma Emerg Surg* [Internet]. 2023 Jun 1 [cited 2023 Nov 17];49(3):1595–602. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36692504/>
147. Liu G, Zhang B fang, Hu Q, Liu X pei, Chen J. Syringic acid mitigates myocardial ischemia reperfusion injury by activating the PI3K/Akt/GSK-3 β signaling

- pathway. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2020 Oct 15 [cited 2023 Nov 17];531(2):242–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32798018/>
148. Baltalarlı A, Özcan 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* [Internet]. 2006 [cited 2023 Nov 17];20(1):49–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16378148/>
149. 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.
150. Bahadır HM, Sarigoz T, Topuz Ö, Sevim Y, Ertan T, Sarıcı İŞ. Quercetin’in karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı üzerine koruyucu etkisi. 19(1):0–0.
151. Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı K. Deney hayvanlarındaki iskemi-reperfüzyon hasarı modellerinde yeşil çayın etkileri Effects of Green Tea in Ischemia-Reperfusion Injury Models of Experimental Animals Yusuf ERGÜN. *KSU Medical Journal*. 2017;12(2).
152. Chen S, Chen H, Du Q, Shen J. Targeting Myeloperoxidase (MPO) Mediated Oxidative Stress and Inflammation for Reducing Brain Ischemia Injury: Potential Application of Natural Compounds. *Front Physiol*. 2020 May 19;11:528444.
153. Shuda M, Kondoh N, Imazeki N, Tanaka K, Okada T, Mori K, et al. Activation of the ATF6, XBP1 and grp78 genes in human hepatocellular carcinoma: a possible involvement of the ER stress pathway in hepatocarcinogenesis. *J Hepatol*. 2003 May 1;38(5):605–14.
154. Fernández-Checa JC, Kaplowitz N, García-Ruiz C, Colell A, Miranda M, Mari M, et al. GSH transport in mitochondria: defense against TNF-induced oxidative stress and alcohol-induced defect. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1997.273.1.G7> [Internet]. 1997 [cited 2023 Nov 17];273(1 36-1). Available from: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/ajpgi.1997.273.1.G7>

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması,

KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince desteklenmiştir (TTU-2023-10528).

