



**T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BİLATERAL KAVERNÖZ SİNİR HASARLI SIÇANLARDA  
GELİŞEN EREKTİL DİSFONKSİYON ÜZERİNE KLOROJENİK  
ASİDİN TERAPÖTİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Büşra KURU PEKTAŞ**

**Trabzon – 2025**



**T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BİLATERAL KAVERNÖZ SİNİR HASARLI SIÇANLARDA  
GELİŞEN EREKTİL DİSFONKSİYON ÜZERİNE KLOROJENİK  
ASİDİN TERAPÖTİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Büşra KURU PEKTAŞ**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nuri İhsan KALYONCU**

**Trabzon – 2025**

## BEYAN

“Bilateral Kavernöz Sinir Hasarlı Sıçanlarda Gelişen Eretil Disfonksiyon Üzerine Klorojenik Asidin Terapötik Etkisinin Araştırılması” başlıklı uzmanlık tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin kaynaklarda gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü / fakülte yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği’nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.



## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitim sürecinde bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, yardımını hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Nuri İhsan KALYONCU'ya,

Eğitimimi ve kendimi geliştirmem için her daim beni destekleyen KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mine DUMAN'a ve kıymetli hocalarıma

Asistanlığa başladığı günden bugüne her durumda desteğini hep gördüğüm meslektaşım ve arkadaşım Arş. Gör. Dr. Büşra DEMİRCİ'ye

Tez sürecimde yardımlarını eksik etmeyen Arş. Gör. Dr. Talha GÜRSOY'a, Ecz. Manar MUSTAFA'ya ve asistan arkadaşlarıma

Tezimde bulunan histoloji çalışmalarındaki kıymetli emekleri için Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Gökçen KERİMOĞLU'na ve Arş. Gör. Dr. Gülten AYDIN'a

Her türlü destek ve yardımları için KTÜ Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı ailesinden, Dr. Öğr. Üyesi Elif Nur BARUT, Dr. Öğr. Üyesi Seçkin ENGİN'e,

Tüm hayatım boyunca her zaman yanımda olan annem Hacer KURU, babam Hasan KURU, kardeşlerim Esra KURU ve Betül KURU'ya

Her daim yanımda olan yol arkadaşlarım, sevgili eşim Alırıza PEKTAŞ ve canım kızım Nisan PEKTAŞ'a teşekkür ederim.

Büşra KURU PEKTAŞ

## ÖZET

### **Bilateral Kavernoöz Sinir Hasarlı Sıçanlarda Gelişen Erektile Disfonksiyon Üzerine Klorojenik Asidin Terapötik Etkisinin Araştırılması**

Radikal prostatektomi, lokalize prostat kanseri tedavisinde yaygın olarak uygulanan bir cerrahi yöntemdir. Ancak bu işlem sırasında kavernoöz sinirlerin (KS) hasar görmesi, postoperatif dönemde sık karşılaşılan erektile disfonksiyona (ED) yol açmaktadır. ED, erkeklerin yaşam kalitesini ciddi şekilde etkileyen, multifaktöriyel etiyolojiye sahip önemli bir klinik problemdir. Patofizyolojisinde sinir hasarı, oksidatif stres, inflamasyon ve fibrozis yer almaktadır. KS hasarı sonrası gelişen oksidatif stres ve inflamatuvar süreçler, endotel disfonksiyonu ve düz kas bozulmasıyla penil doku bütünlüğünün kaybına neden olmaktadır. Klorojenik asit (KA), kahve çekirdekleri başta olmak üzere birçok bitkisel kaynaktan bulunan doğal bir fenolik bileşiktir. Antioksidan ve anti-inflamatuvar etkileriyle öne çıkan KA, özellikle NRF2/HO-1 sinyal yolunu aktive ederek oksidatif strese karşı hücrel savunmayı artırır ve inflamatuvar sitokin ekspresyonunu baskılar. Bu özellikleriyle KA, potansiyel bir nöroprotektif ve antifibrotik ajan olarak değerlendirilmektedir. Bu çalışmada, bilateral kavernoöz sinir hasarı (BKSH) oluşturulan sıçan modelinde KA'nın NRF2/HO-1 yolu üzerinden erektile fonksiyon üzerine olası koruyucu ve iyileştirici etkileri fonksiyonel, histopatolojik ve moleküler düzeyde incelenmiştir. Wistar albino cinsi 30 erkek sıçan, kontrol, BKSH-kontrol ve KA (10, 30, 100 mg/kg) tedavi gruplarına ayrıldı. KA, intraperitoneal olarak uygulandı. Cerrahiden 14 gün sonra İntrakavernoöz Basınç ve ortalama arter basıncı ölçülerek Maksimum İntrakavernoöz Basınç / Ortalama Arter Basıncı ve Toplam İntrakavernoöz Basınç / Ortalama Arter Basıncı oranları hesaplandı. ELISA ile IL-6, TNF- $\alpha$  ve malondialdehit düzeyleri belirlendi. Histopatolojik inceleme Masson Trikrom boyama ile, protein düzeyleri Western Blot yöntemiyle değerlendirildi. KA tedavisi, BKSH sonrası penil dokuda oksidatif stresi baskılayıp NRF2 ve HO-1 ekspresyonunu artırmış; kolajen birikimi ve düz kas oranı gibi fibrozis belirteçlerini anlamlı şekilde azaltmıştır. Bu etkilerin doz bağımlı olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, KA'nın Nrf2/HO-1 yolunu aktive ederek oksidatif stres ve inflamasyonu baskıladığı, penil dokuyu koruyarak erektile fonksiyonu iyileştirdiği gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Erektile disfonksiyon, klorojenik asit, kavernoöz sinir hasarı, NRF2/HO-1, oksidatif stres, radikal prostatektomi

## SUMMARY

### **Investigation of the Potential Therapeutic Effect of Chlorogenic Acid on Erectile Dysfunction in a Rat Model of Bilateral Cavernous Nerve Injury**

Radical prostatectomy is a commonly performed surgical method in the treatment of localized prostate cancer. However, damage to the cavernous nerves (CNs) during this procedure often leads to postoperative erectile dysfunction (ED). ED is a significant clinical problem with a multifactorial etiology that severely affects the quality of life in men. Its pathophysiology involves nerve injury, oxidative stress, inflammation, and fibrosis. Oxidative stress and inflammatory processes following CN injury cause endothelial dysfunction and smooth muscle deterioration, resulting in the loss of structural integrity in penile tissue. Chlorogenic acid (CGA) is a natural phenolic compound found in various plant sources, particularly coffee beans. Known for its antioxidant and anti-inflammatory effects, CGA enhances cellular defense against oxidative stress primarily by activating the NRF2/HO-1 signaling pathway and suppresses the expression of pro-inflammatory cytokines. These features make CGA a promising neuroprotective and antifibrotic agent. In this study, the potential protective and therapeutic effects of CGA on erectile function via the NRF2/HO-1 pathway were investigated at functional, histopathological, and molecular levels in a bilateral cavernous nerve injury (BCNI) rat model. Thirty male Wistar albino rats were divided into control, BCNI-control, and CGA treatment groups (10, 30, and 100 mg/kg). CGA was administered intraperitoneally. 14 days post-surgery, intracavernosal pressure and mean arterial pressure were measured, and Maximum Intracavernous Pressure / Mean Arterial Pressure and Total Intracavernous Pressure / Mean Arterial Pressure ratios were calculated. ELISA was used to determine IL-6, TNF- $\alpha$ , and malondialdehyde levels. Histopathological evaluation was performed using Masson's trichrome staining, and protein expression levels were analyzed via Western blot CGA reduced oxidative stress, upregulated NRF2/HO-1, and decreased fibrosis markers in penile tissue after BCNI. CGA improved erectile function dose-dependently by activating the NRF2/HO-1 pathway, reducing oxidative stress and inflammation, and preserving penile tissue.

**Keywords:** Erectile dysfunction, chlorogenic acid, cavernous nerve injury, NRF2/HO-1, oxidative stress, radical prostatectomy

## İÇİNDEKİLER

|                                                                               |          |
|-------------------------------------------------------------------------------|----------|
| KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....                                           | vi       |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                          | viii     |
| TABLolar DİZİNİ.....                                                          | ix       |
| <b>1. GİRİŞ.....</b>                                                          | <b>1</b> |
| <b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>                                                 | <b>3</b> |
| 2.1 PENİSİN ANATOMİ VE HISTOLOJİSİ.....                                       | 3        |
| 2.1.1 Penisin Fonksiyonel Anatomisi ve Histolojisi.....                       | 3        |
| 2.1.2 Penisin Arterleri ve Venleri.....                                       | 5        |
| 2.1.3 Penis İnnerve Eden Sinirler.....                                        | 8        |
| 2.2 EREKSİYON FİZYOLOJİSİ.....                                                | 10       |
| 2.2.1 Ereksiyon Hemodinamisi.....                                             | 10       |
| 2.2.2 Ereksiyon Nörofizyolojisi.....                                          | 11       |
| 2.3 EREKTİL DİSFONKSİYON.....                                                 | 12       |
| 2.3.1 Erektıl Disfonksiyon Tanımı ve Epidemiyolojisi.....                     | 12       |
| 2.3.1 Etyoloji ve Risk Faktörleri.....                                        | 13       |
| 2.3.2 Tedavi Modaliteleri.....                                                | 16       |
| 2.4 RADİKAL PROSTATEKTOMİ.....                                                | 17       |
| 2.4.1 Prostat Klinik Anatomisi.....                                           | 17       |
| 2.4.2 Prostat Kanseri.....                                                    | 18       |
| 2.4.3 Radikal Prostatektomi Sonrası Erektıl Disfonksiyon.....                 | 19       |
| 2.5 DENEYSEL EREKTİL DİSFONKSİYON MODELLERİ.....                              | 21       |
| 2.5.1 Diyabet Modelleri.....                                                  | 22       |
| 2.5.2 Vasküler Modeller.....                                                  | 22       |
| 2.5.3 Endokrin Modeller.....                                                  | 22       |
| 2.5.4 Psikojenik Modeller.....                                                | 23       |
| 2.5.5 Nörojenik Modeller.....                                                 | 23       |
| 2.5.6 Erektıl Fonksiyonun Ölçümü.....                                         | 25       |
| 2.6 NÜKLEER FAKTÖR-ERİTROİD 2 İLE İLİŞKİLİ FAKTÖR/HEM OKSİJENAZ-1 YOLAĞI..... | 26       |

|                                                                                                |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.6.1 Nükleer Faktör-Eritroid 2 ile İlişkili Faktör/Hem Oksijenaz-1 Mekanizması ve İşlevi..... | 27        |
| 2.6.2 Erektile Disfonksiyon ve NRF2/HO-1 Sinyal Yolağı.....                                    | 28        |
| 2.6.3 Klinik Uygulamalarda NRF2/HO-1 Sinyal Yolağı.....                                        | 29        |
| 2.7 KLOROJENİK ASİT.....                                                                       | 30        |
| 2.7.1. Kimyasal Yapısı.....                                                                    | 31        |
| 2.7.2. Bitkisel Kaynaklar.....                                                                 | 32        |
| 2.7.3 Farmakolojik Profili.....                                                                | 33        |
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                                                                 | <b>36</b> |
| 3.1 DENEY HAYVANLARI.....                                                                      | 36        |
| 3.2 KİMYASAL MADDELER VE CİHAZLAR.....                                                         | 36        |
| 3.2.1 Kimyasallar.....                                                                         | 36        |
| 3.2.2 Antikorlar.....                                                                          | 37        |
| 3.2.3 Kitler.....                                                                              | 38        |
| 3.2.4 Çözelti ve Tamponlar.....                                                                | 38        |
| 3.2.5 Alet ve Cihazlar.....                                                                    | 39        |
| 3.3 DENEY PROTOKOLÜ.....                                                                       | 42        |
| .....                                                                                          | 42        |
| 3.4 DENEY HAYVANLARI GRUPLANDIRILMASI.....                                                     | 42        |
| 3.5 BKSH OLUŞTURULMASI VE TEDAVİ.....                                                          | 43        |
| 3.5.1 BKSH Oluşturulması.....                                                                  | 43        |
| 3.5.2 Cerrahi Sonrası Bakım.....                                                               | 44        |
| 3.5.3 Klorojenik Asit Çözelti Hazırlanması ve Uygulaması.....                                  | 45        |
| 3.6 İNTRAKAVERNÖZ BASINÇ ÖLÇÜMÜ.....                                                           | 45        |
| 3.7 MOLEKÜLER VE HISTOPATOLOJİK ANALİZLER.....                                                 | 47        |
| 3.7.1 Doku Örneklerinin İzole Edilmesi.....                                                    | 48        |
| 3.7.2 Western Blot Analizi.....                                                                | 48        |
| 3.7.3 Histopatolojik Değerlendirme.....                                                        | 50        |
| 3.7.4 Biyokimyasal Analizler.....                                                              | 51        |
| 3.8 İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....                                                                  | 52        |

|                                                                                                           |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>4. BULGULAR.....</b>                                                                                   | <b>53</b> |
| 4.1 DENEY HAYVANLARININ VÜCUT AĞIRLIKLARI VE GENEL SAĞLIK DURUMLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....             | 53        |
| 4.2 İNTRAKAVERNÖZ BASINÇ ÖLÇÜM SONUÇLARI.....                                                             | 53        |
| 4.2.1 4 Volt Stimülasyon ile Ölçülen Maksimum İKB/OAB Oranı ve Toplam İKB/OAB Değerleri.....              | 54        |
| 4.2.2 8 Volt Stimülasyon ile Ölçülen Maksimum İKB/OAB Oranı ve Toplam İKB/OAB Değerleri.....              | 56        |
| 4.3 KAVERNÖZ DOKUDA NRF2 VE HO-1 PROTEİN EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....                         | 58        |
| 4.4 KAVERNÖZ DOKUDA TNF-A VE IL-6 DÜZEYLERİ İLE İNFLAMATUAR YANITIN İNCELENMESİ.....                      | 60        |
| 4.5 KAVERNÖZ DOKUDA MALONDIALDEHİT DÜZEYLERİ İLE OKSIDATİF HASARIN DEĞERLENDİRİLMESİ.....                 | 61        |
| 4.6 KAVERNÖZ DOKUDA MASSON TRIKROM BOYAMA İLE FİBROZİS VE HISTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN İNCELENMESİ..... | 62        |
| <b>5. TARTIŞMA.....</b>                                                                                   | <b>66</b> |
| <b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>                                                                          | <b>71</b> |
| <b>7. KAYNAKLAR.....</b>                                                                                  | <b>74</b> |

## KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

| Kısaltma                       | Açılımı                                                |
|--------------------------------|--------------------------------------------------------|
| <b>ED</b>                      | Eretil Disfonksiyon                                    |
| <b>RP</b>                      | Radikal Prostatektomi                                  |
| <b>KA</b>                      | Klorojenik Asit                                        |
| <b>KS</b>                      | Kavernöz Sinir                                         |
| <b>PCa</b>                     | Prostat Kanseri                                        |
| <b>m-İKB/OAB</b>               | Maksimum İntrakavernöz Basınç / Ortalama Arter Basıncı |
| <b>t-İKB/OAB</b>               | Toplam İntrakavernöz Basınç / Ortalama Arter Basıncı   |
| <b>BKSH</b>                    | Bilateral Kavernöz Sinir Hasarı                        |
| <b>IKB</b>                     | İntrakavernöz Basınç                                   |
| <b>OAB</b>                     | Ortalama Arter Basıncı                                 |
| <b>PDE5i</b>                   | Fosfodiesteraz Tip 5 İnhibitörü                        |
| <b>NRF2</b>                    | Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2        |
| <b>HO-1</b>                    | Hem Oksijenaz-1                                        |
| <b>ROS</b>                     | Reaktif Oksijen Türleri                                |
| <b>IL-1<math>\beta</math></b>  | Interlökin-1 beta                                      |
| <b>TNF-<math>\alpha</math></b> | Tümör Nekroz Faktörü alfa                              |
| <b>H&amp;E</b>                 | Hematoksilen & Eozin                                   |
| <b>MPOA</b>                    | Medial Preoptik Alan                                   |
| <b>MPG</b>                     | Majör Pelvik Ganglion                                  |
| <b>Diyabet</b>                 | Diabetes Mellitus                                      |
| <b>g</b>                       | Gram                                                   |
| <b>kg</b>                      | Kilogram                                               |
| <b>kDA</b>                     | Kilodalton                                             |
| <b>KTÜ</b>                     | Karadeniz Teknik Üniversitesi                          |

| Kısaltma | Açılımı                              |
|----------|--------------------------------------|
| mg       | Miligram                             |
| ml       | mililitre                            |
| µm       | mikrometre                           |
| mg       | Miligram                             |
| NO       | Nitrik Oksit                         |
| V        | Volt                                 |
| NFκ-β    | Nükleer faktör kappa-beta            |
| TGF-β    | Transforme edici büyüme faktörü beta |

| Simgeler |      |
|----------|------|
| α        | Alfa |
| β        | Beta |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1 Penis Anatomisi.....                                                                                                      | 3  |
| Şekil 2 Penis Histolojisi ve Katmanları.....                                                                                      | 5  |
| Şekil 3 Penisin Arterleri.....                                                                                                    | 6  |
| Şekil 4 Penisin Venleri.....                                                                                                      | 7  |
| Şekil 5 Penisin İnnervasyonu.....                                                                                                 | 9  |
| Şekil 6 Penil ereksiyona aracılık eden anatomik yapılar ve ereksiyonun fizyolojisi.....                                           | 10 |
| Şekil 7 NRF2/HO-1 Sinyal Yolunun Sinyal İletimi.....                                                                              | 27 |
| Şekil 8 Klorojenik Asidin Kimyasal Yapısı.....                                                                                    | 31 |
| Şekil 9 Klorojenik Asit Kaynakları.....                                                                                           | 32 |
| Şekil 10 Deney Protokolü.....                                                                                                     | 42 |
| Şekil 11 Bilateral Kavernöz Sinir Hasarı Protokolü.....                                                                           | 44 |
| Şekil 12 İntrakavernöz Katater Yerleştirme.....                                                                                   | 46 |
| Şekil 13 Penis kurusuna Kateter Yerleştirme.....                                                                                  | 47 |
| Şekil 14 Kavernöz sinirlerin 60 saniye boyunca 4V stimülasyonu sırasında kaydedilen OAB ve İKB değerleri için örnek traseler..... | 54 |
| Şekil 15 Kavernöz sinirlere 4V elektriksel stimülasyon ile hesaplanan m-İKB/OAB ve t-İKB/OAB Değerleri.....                       | 55 |
| Şekil 16 Kavernöz sinirlerin 60 saniye boyunca 8V stimülasyonu sırasında kaydedilen OAB ve İKB değerleri için örnek traseler..... | 56 |
| Şekil 17 Kavernöz sinirlere 8V stimülasyon ile hesaplanan m-İKB/OAB ve t-İKB/OAB Değerleri.....                                   | 57 |
| Şekil 18 Kavernöz dokuda NRF2 protein ekspresyon düzeyleri.....                                                                   | 59 |
| Şekil 19 Kavernöz dokuda HO-1 protein ekspresyon düzeyleri.....                                                                   | 60 |
| Şekil 20 Kavernöz dokuda TNF- $\alpha$ , IL-6 düzeyleri.....                                                                      | 61 |
| Şekil 21 Kavernöz doku MDA düzeyleri.....                                                                                         | 62 |
| Şekil 22 Kavernöz doku Masson Trikrom Boyama Histopatolojisi.....                                                                 | 63 |
| Şekil 23 Penil dokuda fibrozis skorları.....                                                                                      | 65 |

## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1 Kimyasallar.....                                                                                             | 50 |
| Tablo 2 Antikorlar.....                                                                                              | 51 |
| Tablo 3 Kitler.....                                                                                                  | 52 |
| Tablo 4 Çözelti ve Tamponlar.....                                                                                    | 53 |
| Tablo 5 Alet ve Cihazlar.....                                                                                        | 53 |
| Tablo 6 Deney Grupları.....                                                                                          | 57 |
| Tablo 7 Sıçan Ağırlıkları.....                                                                                       | 68 |
| Tablo 8 Kavernöz sinirlerin 60 saniye boyunca 4V stimülasyonu sırasında kaydedilen m-İKB/OAB ve t-İKB değerleri..... | 70 |
| Tablo 9 Kavernöz sinirlerin 60 saniye boyunca 8V stimülasyonu sırasında kaydedilen m-İKB/OAB ve t-İKB değerleri..... | 73 |

## 1. GİRİŞ

Erektile disfonksiyon (ED), tıbbi olarak tatmin edici bir cinsel performans için yeterli ereksiyonun sağlanamaması veya sürdürülememesi şeklinde tanımlanır. Bu durum, hafif dereceden şiddetliye kadar farklı seviyelerde ereksiyon sorunlarını kapsar ve erkeklerin sağlığı ile yaşam kalitesini ciddi şekilde etkileyebilir. ED'nin etiyolojisi karmaşıktır ve genellikle vasküler, nörojenik, endokrinolojik, psikojenik, ilaç kaynaklı ve yaşlanmaya bağlı nedenler ile yaşam tarzı faktörleri ve sistemik hastalıklarla ilişkilendirilir (1). Ayrıca, radikal prostatektomi cerrahisi ED'nin önemli bir nedenidir. Prostat kanseri (PCa), dünya genelinde erkekler arasında en yaygın malignitelerden biridir ve 2022'de yaklaşık 1,4 milyon yeni vaka bildirilmiştir (2). Radikal prostatektomi (RP), lokalize PCa tedavisinde uygulanan cerrahi bir yöntem olup, prostat bezinin total çıkarılmasını içerir. Cerrahi sırasında nörovasküler yapıların etkilenmesi nedeniyle postoperatif ED'ye yol açabilmektedir (3,4).

RP sonrası gelişen ED, hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde etkileyen bir komplikasyondur. Çalışmalar, RP uygulanan hastaların %30-80'inde çeşitli derecelerde ED geliştiğini göstermektedir (5-7). RP sonrası ED'nin temel mekanizması, penil ereksiyonun sürdürülmesinde kritik rol oynayan kavernöz sinirlerin (KS) cerrahi işlem sırasında hasar görmesidir. KS yapısı karmaşıktır ve yaralanmaya eğilimlidir. Uzun yıllar boyunca, fosfodiesteraz-5 inhibitörleri KS hasarına bağlı ED için birinci basamak tedavi yöntemi olmuştur. Çalışmalar, öncelikle vasküler ED için kullanılan bu ilaçların etkinliğini göstermiş olsa da, kavernöz doku hasarı, sinir hasarı olan inhibitörleri KS hasarına bağlı ED hastalarında daha karmaşıktır ve bu da bu ilaçlara karşı daha düşük etkinlik ve dirençle sonuçlanabilmektedir (3). Bu nedenle, nöroprotektif ve rejeneratif etkileri hedefleyen yeni tedavi ajanlarına ihtiyaç duyulmaktadır.

KS'ler, prostat boyunca uzanarak penise kan akışını düzenler ve ereksiyonun sağlanmasına katkıda bulunur (6-8). Sinir koruyucu cerrahi teknikler uygulanmasına rağmen, traksiyon, termal yaralanma veya iskemik hasar nedeniyle sinirlerde hasar meydana gelebilir (9,10). Cerrahi travma sonrasında meydana gelen bu sinir hasarı, proinflatuar

sitokinlerin salınımı ve reaktif oksijen türlerinin artışıyla karakterize edilen inflamatuvar bir yanıtı tetikler (6,11). Gelişen oksidatif stres, nöronal hasarın ilerlemesine neden olarak erektile fonksiyonun iyileşmesini güçleştirir (12). Cerrahi sonrası uygulanan antioksidan tedavi, oksidatif stresin azaltılması yoluyla inflamatuvar süreci hafifletebilir ve sinir iyileşmesini kolaylaştırabilir. (13).

Klorojenik asit (KA), kahve çekirdekleri gibi bitkilerde bulunan, kafeik asit ve kinik asidin esterleşmesiyle oluşan fenolik bir bileşiktir. Yapısındaki çoklu hidroksil grupları, KA'nın antioksidan özelliklerini ve biyolojik aktivitelerini destekler (14–16). KA, NF- $\kappa$ B sinyal yolunu baskılayarak inflamasyonu azaltırken, Nükleer Faktör Eritroid 2 ile ilişkili Faktör/Hem Oksijenaz-1 (NRF2/HO-1) eksenini aktive ederek oksidatif stresi hafifletir ve doku koruyucu etkiler gösterir (17,18). Bu özellikleri sayesinde nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi, kardiyovasküler sağlığın korunması, gastrointestinal bariyer fonksiyonlarının iyileştirilmesi ve böbrek ile karaciğer dokularının oksidatif hasara karşı korunmasına katkıda bulunduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (18–22). KA'nın NRF2 aktivasyonu yoluyla oksidatif stresle ilişkili hastalıkların önlenmesine ve doku koruyucu mekanizmaların desteklenmesine katkı sağlaması, terapötik potansiyelini öne çıkaran önemli özelliklerinden biridir.

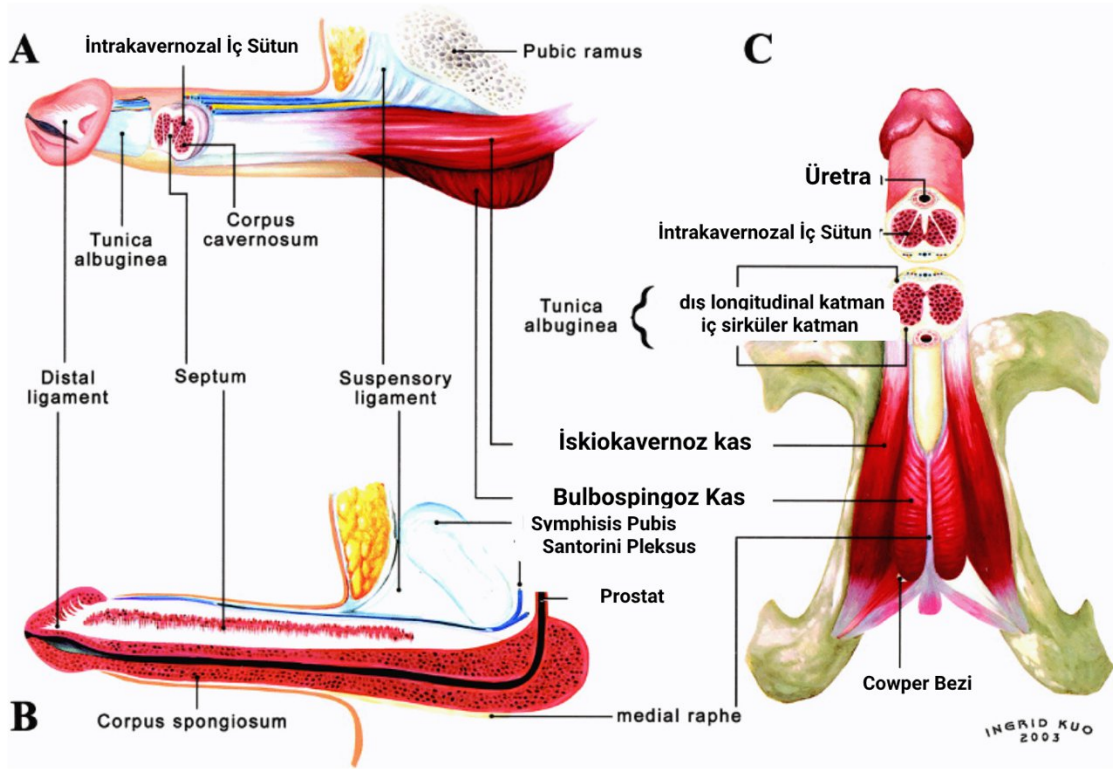
Bu çalışmanın amacı, Wistar sıçanlarında BKSH modeli kullanılarak, KA'nın NRF2 sinyal yolu aktivasyonu aracılığıyla ED üzerindeki potansiyel koruyucu ve iyileştirici etkilerini deneysel olarak incelemektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Penisin Anatomi ve Histolojisi

#### 2.1.1 Penisin Fonksiyonel Anatomisi ve Histolojisi

Penis, üreme ve ürünasyon gibi temel fizyolojik işlevleri gerçekleştiren çok yönlü bir organdır. Anatomik olarak üç bölgeye ayrılır: kök, gövde (şaft) ve glans. Kök, penisi pelvik kemiklere bağlarken, gövde dışarı doğru uzanan uzun kısımdır ve glans ise çokça sinir uçlarının bulunduğu penisin hassas ucudur (23,24).



Şekil 1 Penis Anatomisi Hsu'dan (23)

Yapısal olarak penis, üç ana ereksiyon gövdesinden oluşur: iki Corpus cavernosum (CC) ve Corpus spongiosum (CS). CC'ler penisin dorsal yüzü boyunca uzanan silindirik yapılardır ve ereksiyon sırasındaki rijiditeden primer olarak sorumludurlar. Ereksiyon

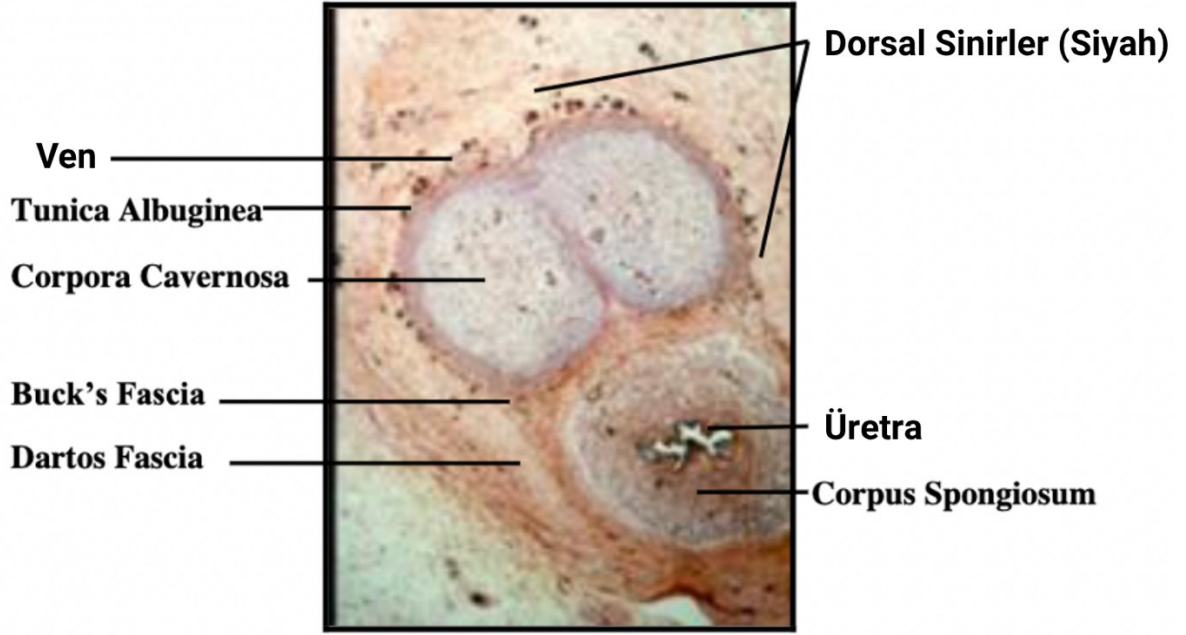
sırasında penisten kan akışını kısıtlayarak basıncı korumaya yardımcı olan Tunica albuginea olarak bilinen sert bir lifli kılıfla çevrilidir (25,26). CS penis gövdesinin ventral yüzünde bulunur, üretrayı çevreler ve glans penisi oluşturmak için genişler, böylece ereksiyon sırasında üretranın açık kalmasını sağlar (27,28) (Şekil 1).

CC ereksiyon fonksiyonu için kritik öneme sahiptir. Her bir CC, sinüzoidler olarak bilinen trabeküler düz kas, endotel, elastik bağ dokusu içeren bir yapıya sahiptir. Bu yapılar, cinsel ilişki için gerekli rijiditeyi sağlayan, geniş bir kan dolum kapasitesine sahiptir. CC, yapısal destek sağlayan ve ereksiyon sırasında corpus içindeki basıncı koruyan tunika albuginea olarak bilinen lifli bir kılıfla çevrilidir (29–31).

CS, CC'den daha az yer kaplasa da cinsel işlevde benzer derecede kritik bir görev üstlenir. CC göre daha az sert olan CS üretrayı çevreler ve ereksiyon sırasında üretranın daralmasını önleyerek ejakülasyonun gerçekleşmesine katkıda bulunur. Sinir uçları açısından zengin olan CS, glans penisin hassasiyetini artırır (30–32).

Penis, koruma ve yapısal bütünlük sunan çeşitli doku katmanlarıyla çevrilmiştir. Histolojik yapısı içten dışa doğru tunica albuginea, Buck fasyası, Darter fasyası ve deri olarak sıralanmaktadır (Şekil 2).

Ereksiyon sırasında rijiditeyi sağlayan CC, Tunica albuginea olarak bilinen yoğun miktarda kolajen içeren fibröz bir kılıfla çevrilidir. Tunica albuginea, kanın CC'ye dolmasını kolaylaştırmak ve ereksiyon sırasındaki basıncı korumak üzere düzenlenmiş iç sirküler ve dış longitudinal katmanlardan oluşur (33–35). Tunika albuginea'nın bütünlüğü, ereksiyon sırasında kanı CC içinde tutmaya yardımcı olduğu için ereksiyon fonksiyonunun sürdürülmesi için önemlidir.



Şekil 2 Penis Histolojisi ve Katmanları. Yiee'den (36)

CC ve CS'yi saran Buck fasyası, penisin derin fasyası olarak da bilinir. Bu tabaka, derin perineal fasyanın devamıdır. Buck fasyası, penil dokunun aşırı dolmasını önler ve kanın korpus kavernozaum içinde kalmasını sağlar. Bu sayede ereksiyon sırasında ereksiyon dokularının bütünlüğünün korunmasında kritik bir rol oynar (37–39).

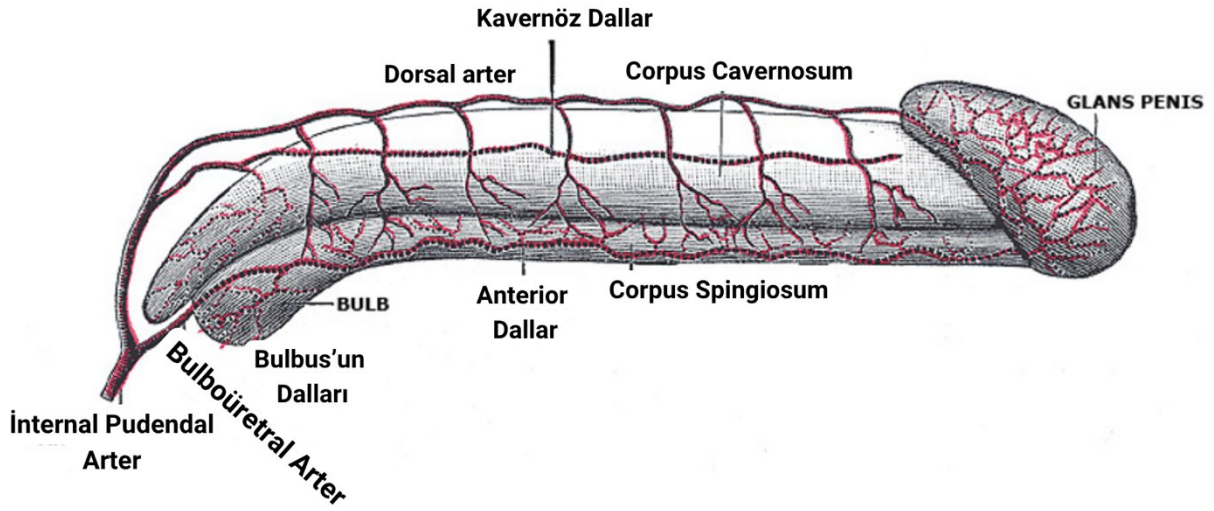
Dartos fasyası, penis derisinin altında bulunan düz kas tabakasıdır. Penis dış travmalardan koruyan bu doku, sıcaklık değişimlerine yanıt olarak kasılıp gevşer ve bu sayede cildi büzerek termoregülasyonda rol oynar. Bu tabaka vasküler, sinirler ve bağ dokusu içerir ve penis derisinin hem duyuşal hem de vasküler beslenmesini sağlar (31,32).

Penisin en dış tabakası olan deri ise ince ve elastiktir, ereksiyon sırasında harekete ve genişlemeye izin verir (40).

### 2.1.2 Penisin Arterleri ve Venleri

## Penisin Arterleri

Penisin arteriyel beslenmesi esas olarak Arteria iliaca interna'nın bir dalı olan Arteria pudenda interna'dan kaynaklanır. Penise ulaştığında, Arteria pudenda interna, özellikle Arteria cavernosa (Arteria profunda penis), Arteria dorsalis penis ve arteria bulbi penis olmak üzere birkaç dala ayrılır (41,42) (Şekil 3).



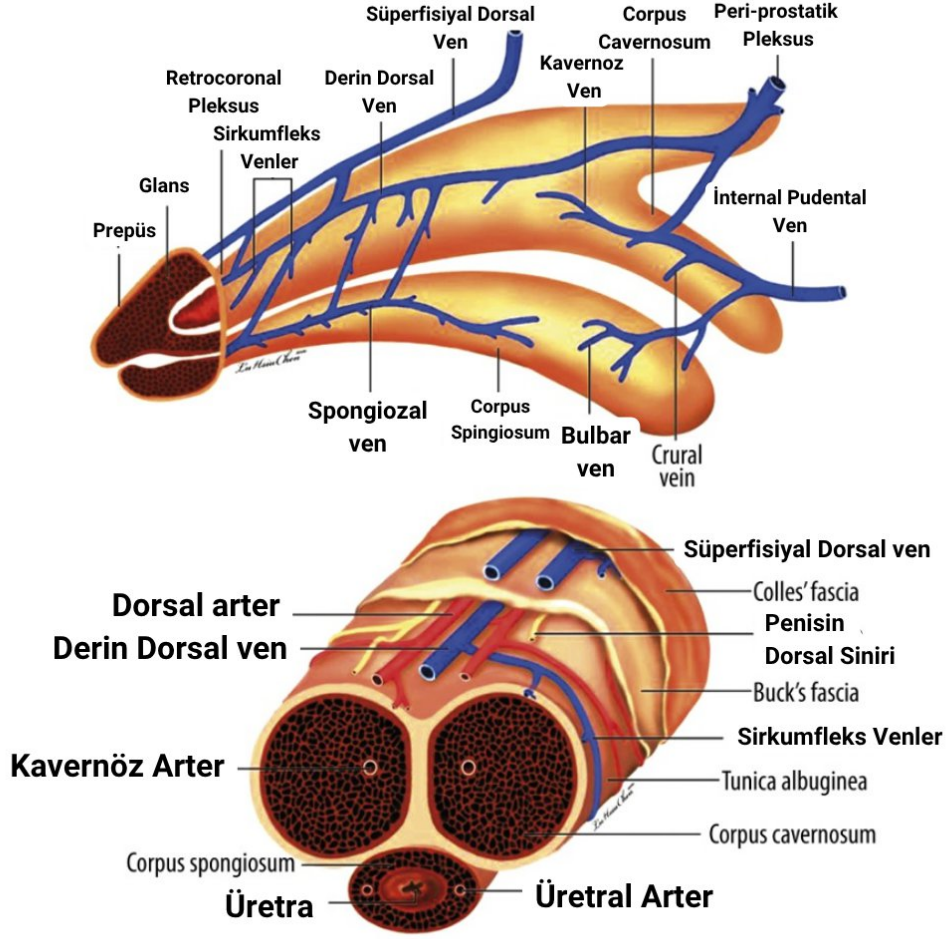
Şekil 3 Penisin Arterleri. Sam'den (43)

Arteria cavernosa corpora cavernosa'yı çevreleyen fibröz kılıf olan tunica albuginea'yı deler ve erektil dokulara doğrudan kan sağlar. Bu arter, erektil dokunun laküner boşluklarına kan akışını kolaylaştırdığı için cinsel uyarılma sırasında CC'nin genişlemesini sağlar (42,44).

Arteria dorsalis penis ise penisin dorsumu boyunca uzanır ve öncelikle cildi ve glans penis de dahil olmak üzere yüzeyel yapıları besler (41,45).

Arteriyel besleme, yine Arteria pudenda interna'dan dallanan penis bulbusunu ve CS'yi besleyen Arteria bulbi penis tarafından tamamlanır (37).

## Penisin Venleri



Şekil 4 Penisin Venleri. Hsieh'den (46)

Penisin venöz sistemi temel olarak v. dorsalis profunda penis (derin dorsal ven), v. dorsalis superficialis penis (yüzeyel dorsal ven) ve v. circumflexae penis (sirkumfleks venler)'den oluşur ve her biri venöz drenajda farklı roller oynar (Şekil 4).

V. dorsalis profunda penis, CC ve CS'den venöz drenajından sorumlu ana vendir. Tunika albuginea ile Buck fasyası arasında yer alır (47,48). V. dorsalis profunda penis, kavernöz boşluklardan kan toplar ve periprostatik venöz pleksusa boşalır, bu da daha sonra v. iliaca interna'ya boşalır (49).

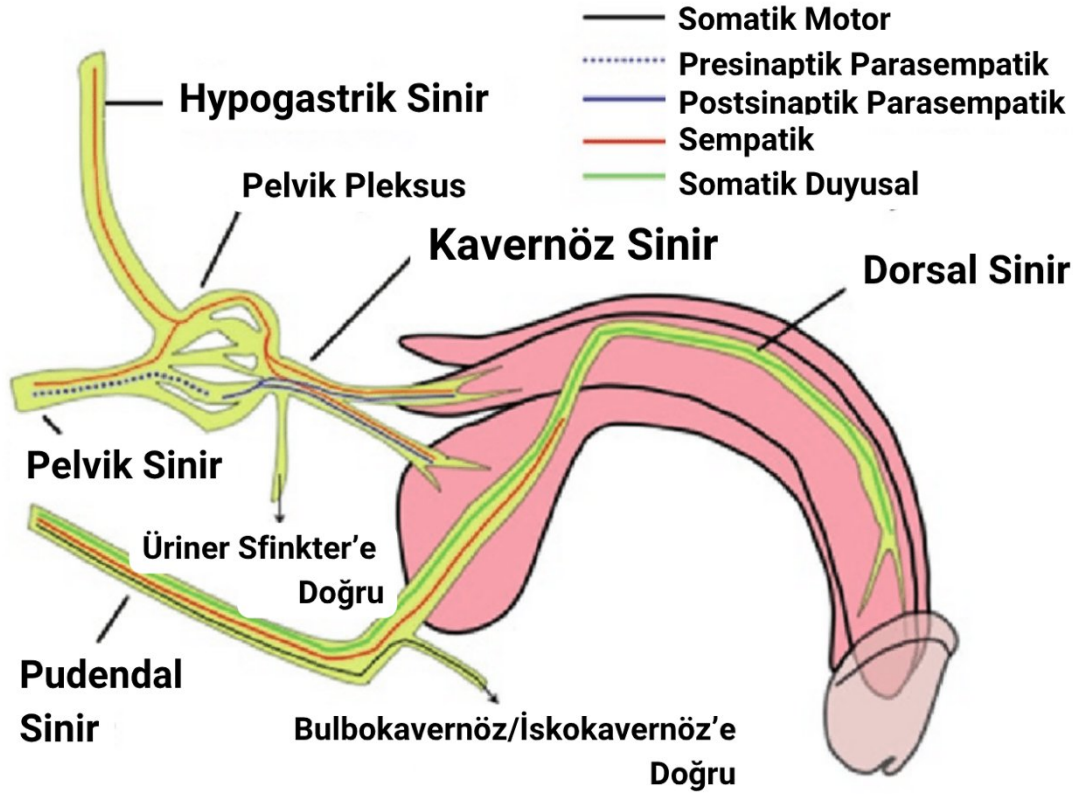
Derin dorsal vene ek olarak, v. dorsalis superficialis penis de venöz drenajda önemli bir rol oynar. Penisin dorsal yönü boyunca uzanır ve öncelikle deri ve deri altı dokuları drene eder. Yüzeyel dorsal ven tipik olarak v. pudenda externa'ya boşalır ve sonrasında v. saphena magna'ya bağlanır (49). Bu ven yüzeysel yapıların drenajı ve penis cildinden yeterli venöz dönüşün sağlanması için önemlidir.

Sirkumfleks venler penil venöz drenaj sisteminin bir diğer bileşenidir. Bu venler CS'den çıkar ve derin dorsal vene boşalmadan önce dorsal arterlerin ve sinirlerin altından geçerek CC etrafında lateral olarak seyrederek (50). Sirkumfleks venler de oksijene kanın erektile dokulardan drenajı için alternatif yollar sağlayarak genel venöz drenaja katkıda bulunur.

### **2.1.3 Penis İnnerve Eden Sinirler**

Penisin innervasyonu hem duysal hem motor fonksiyonları gerçekleştirmesini sağlayan kompleks bir yapıdır. Bu innervasyonun birincil kaynağı, S2-S4 sakral spinal segmentlerinden çıkan n. pudendus (pudental sinir)'dur. Bu sinir, perine ve penis de dahil olmak üzere dış genital organların somatik innervasyonundan sorumludur. Üç ana bileşene ayrılır: n. dorsalis penis (penisin dorsal siniri), n. perinealis (perineal sinir) ve n. cavernosi penis (kavernöz sinirler) (51–53).

Penisin dorsal siniri, penil duysal innervasyon ile ilgili pudental sinirin en önemli dalıdır. Penisin dorsal yönünü kat eder, Buck fasyasının derinliklerinde ve penil arterlerin lateralinde ilerler ve nihayetinde glans peniste sonlanır (52,55). Bu sinir, öncelikle cinsel uyarılma için çok önemli olan cilt ve glanstaki duysal bilgilerin iletilmesinden sorumludur (56,57). n. dorsalis penis aynı zamanda ejakülasyon refleksinde de yer alır bu sayede otonomik işleve de katkı sağlar (57,58) (Şekil 5).



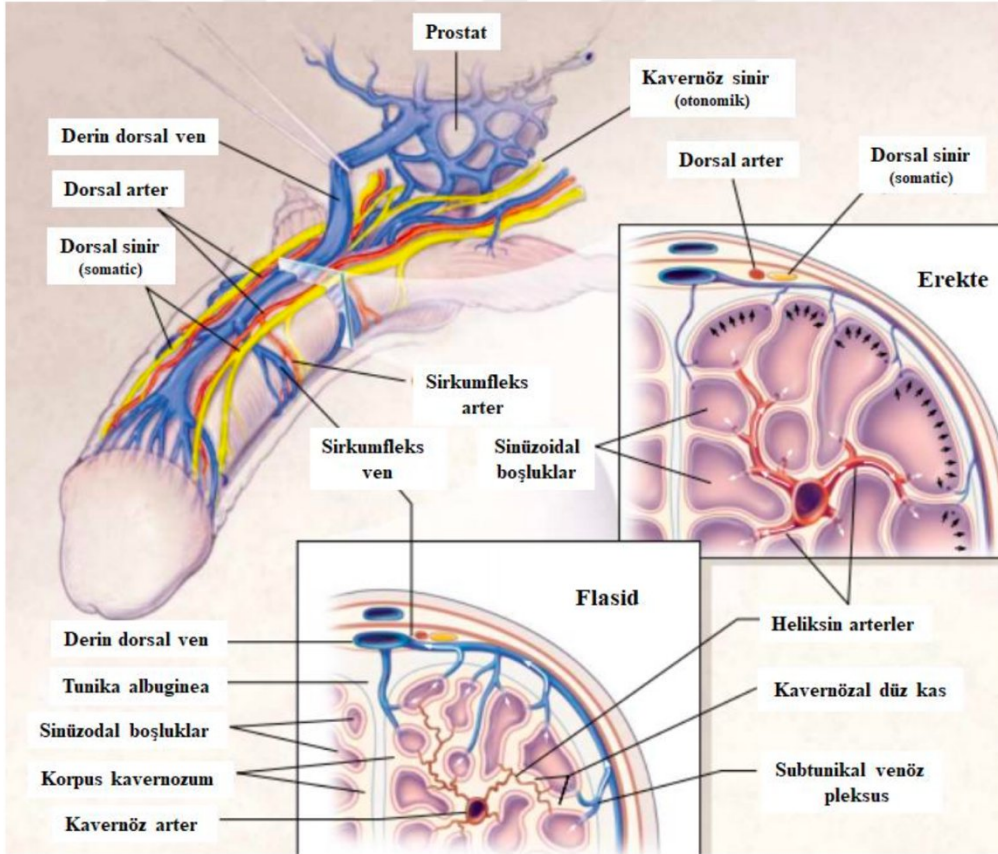
Şekil 5 Penisin İnnervasyonu. Auffenberg'den (54)

N. dorsalis penis'e ek olarak, perineal sinir, penisin özellikle ventral yüzeyinde ve CS'nin innervasyonuna katılır. Ventral shaft ve frenulum derisine duyusal lifler sağlayarak cinsel aktivite sırasında genel duyusal deneyime katkı sağlar (45,53). Perineal sinir ayrıca ereksiyon ve ejakülasyon mekaniğinde rol oynayan perinenin çizgili kaslarına motor innervasyon sağlar (33,34).

Pelvik pleksusun dalları olan kavernöz sinirler (KS) de penisin otonomik innervasyonunda kritik bir rol oynamaktadır. KS'ler major pelvik gangliondan (MPG) kaynaklanır ve penise girmeden önce prostat boyunca ilerleyerek erektil dokuları, özellikle de CC ve CS'yi innerve ederler (59,60). Bu sinirler ereksiyon sırasında dokulara giden kan akışının düzenlenmesinden sorumludur. Hem sempatik hem de parasempatik lifler içerirler.

KS'ler ve penisin vasküler yapıları arasındaki etkileşim, ereksiyonun sağlanması ve sürdürülmesi için gereklidir (28,60,61).

## 2.2 Ereksiyon Fizyolojisi



Şekil 6 Penil ereksiyona aracılık eden anatomik yapılar ve ereksiyonun fizyolojisi. Correa'dan (62)

### 2.2.1 Ereksiyon Hemodinamisi

Ereksiyon hemodinamiği, vasküler, nöral ve endokrin faktörlerin koordinasyon içinde etkileşimini içeren kompleks bir fizyolojik süreçtir. Penis ereksiyonunun altında yatan primer mekanizma, venöz akımın kısıtlanmasıyla birlikte penise kan akışının artması ve erektile dokuların genişlemesine ve rijitliğine yol açmasıdır. Bu süreç öncelikle endotel

hücrelerinden ve nitroerjik sinirlerden nitrik oksit (NO) saliverilmesi ile kolaylaştırılan korpus kavernozum içindeki düz kas hücrelerinin gevşemesine aracılık eder (63–65).

Ereksiyon dokunsal, görsel veya psikolojik faktörler de dahil olmak üzere çeşitli uyarılar tarafından tetiklenebilen cinsel uyarılma ile başlar. Bu uyarılar merkezi sinir sistemini aktive ederek vazodilatasyonu teşvik eden nörotransmitterlerin saliverilmesine yol açar. Bu nörotransmitterlerin en önemlisi, korpus kavernozumun düz kas hücrelerine yayılan ve guanilat siklazı aktive eden NO'dur. Guanilat siklaz aktivasyonu siklik guanozin monofosfat (cGMP) seviyelerini artırarak düz kas gevşemesine ve ardından arteriyel genişlemeye yol açar (63,65).

Penise kan akışı, öncelikle pudental ve penil arterler yoluyla önemli ölçüde artar. Sonuçta kan akışı korpus kavernozum içindeki sinüzoidleri doldurarak penisin genişlemesine ve rijit hale gelmesine neden olur. Erektile dokunun büyümesi aynı zamanda subtunikal venleri tunika albuginea'ya doğru sıkıştırarak venöz dönüşü kısıtlar ve ereksiyonu sürdürür (63,66,67) (Şekil 6). Arteriyel giriş ve venöz dönüş arasındaki uyum ereksiyonun sürdürülmesi için kritik öneme sahiptir ve bu uyumdaki herhangi bir bozulma erektil disfonksiyona (ED) yol açabilir (63,68).

### **2.2.2 Ereksiyon Nörofizyolojisi**

Penil ereksiyonun nöral kontrolü, belirli beyin bölgelerinin, özellikle medial preoptik alanın (MPOA) ve hipotalamusun paraventriküler çekirdeğinin aktivasyonu ile başlar. Bu bölgeler duysal girdilerin birleştirilmesi ve ardından otonom sinir sisteminin etkinleştirilmesi için çok önemlidir. MPOA medulla spinalise inen lifler aracılığıyla penisi innerve eden KS'lerle sinaps yapar (69,70). Bu nöral yolların aktivasyonu, KS'lerden NO saliverilmesini sağlayarak korpus kavernozumun düz kas hücrelerine yayılır ve gevşemeye ve kan akışının artmasına neden olur (65).

NO'ya ek olarak, asetilkolin, bazı nöropeptid ve nörotransmitterler de ereksiyon sürecine katkıda bulunur. Parasempatik sinir uçlarından salınan asetilkolin, penis

vaskülerindeki endotel hücrelerinde muskarinik reseptörleri uyararak NO salıverilmesi daha da teşvik eder (71). Vazoaktif intestinal peptid (VIP) ve kalsitonin geniyle ilişkili peptid (CGRP) gibi nöropeptidler NO'nun vazodilatör etkilerini artırır ve erektil fonksiyonun modülasyonunda rol oynar (72). Ayrıca, RhoA/Rho-kinaz yolağının düz kas kasılmasına aracılık ettiği ve NO/cGMP'nin etkilerine karşı koyabildiği bilinmektedir (73,74). Bu nörotransmitterlerin koordineli etkisi stabil ve sürdürülebilir bir ereksiyon sağlar.

Ereksiyonun vasküler bileşeni, penisin rijiditesinin sağlanması açısından kritik bir rol oynamaktadır. Korpus kavernozumdaki düz kasların gevşemesi, penil arterlerin vazodilatasyonuna yol açarak kan akışını artırır. Bu süreç, vazodilatör ve vazokonstriktör sinyallerinin etkileşimi ve dengesiyle düzenlenmektedir. Sempatik sinir sistemi, öncelikle flask halin korunmasından sorumlu olsa da adrenerjik reseptörler üzerinde etkili olan norepinefrin salgılayarak ereksiyon sırasında kan akışını modüle edebilir (75,76). Bununla birlikte, cinsel uyarılma sırasında, parasempatik aktivitenin baskınlığı vazodilatasyon ve genişlemeyi kolaylaştırır.

Nöral ve vasküler sistemler arasındaki etkileşim, hormonal faktörlerin, özellikle de testosteronun dahil olmasıyla daha da karmaşık hale gelir. Testosteron, eNOS ekspresyonunu ve cGMP'yi parçalayan PDE5 aktivitesini modüle eder. Bu nedenle, düz kastaki gevşeme ve kasılma yolları arasındaki dengeyi sağladıkları için yeterli testosteron seviyeleri optimal erektil fonksiyon için gereklidir (74,77).

Ereksiyon fizyolojisi üzerine yapılan son çalışmalarda nöroplastisite ve sinir hasarını sonrası rejenerasyon potansiyeli de dikkat çekmektedir. Çalışmalarda KS'in, hasar sonrası, erektil işlevi düzeltebilecek şekilde, iyileşebileceği gösterilmiştir.

## **2.3 Eretil Disfonksiyon**

### **2.3.1 Eretil Disfonksiyon Tanımı ve Epidemiyolojisi**

ED tıbbi olarak, tatmin edici bir cinsel performans için yeterli ereksiyonun sağlanamaması veya sürdürülememesi olarak tanımlanmaktadır. Bu tanım, hafiften şiddetliye kadar çeşitli derecelerde ereksiyon sorunlarını kapsar ve durumun erkeklerin sağlığı ve yaşam kalitesini ciddi bir biçimde etkiler (78,79). ED prevalansı, özellikle ileri yaş erkeklerde oldukça yüksektir ve çalışmalar, 40 ila 70 yaşlarındaki erkeklerin yaklaşık %52'sinin bir tür ED yaşadığını göstermektedir (80). Ayrıca, ED'nin küresel prevalansının 2025 yılına kadar yaklaşık 322 milyon erkeği etkileyeceği tahmin edilmektedir. Öngörülen prevalans, ED'nin halk sağlığı üzerindeki etkisi ve büyüklüğünü anlamak için önemlidir (78,81).

ED prevalansı yaşla birlikte önemli ölçüde artmakta, yapılan çalışmalarda 50 yaşındaki erkeklerin yaklaşık %20'sinin ED yaşadığını ve bu rakamın hipertansiyon ve diyabet gibi ek sağlık sorunları olan erkeklerde iki katına çıktığını göstermektedir (82). Makarem ve ark. yaptığı bir çalışmada, hemodiyalize giren kronik böbrek hastalığı olan erkekler arasında ED prevalansının endişe verici derecede yüksek olduğu ve %82'ye kadar ulaştığı bulunmuştur (83). Prostat kanseri (PCa) nedeniyle yapılan radikal prostatektomi (RP) sonrası ED iyileştirilmiş cerrahi teknik ve sinir koruyucu yaklaşımlara rağmen %10 ile %89 arasında değişmektedir (84–86).

Dahası, ED'nin eksik raporlanması, gerçek prevalansının anlaşılmasını zorlaştıran kritik bir konudur. ED yaşayan birçok erkek, stigma ve algılanan mahcubiyet nedeniyle durumlarını tartışmakta isteksizdir ve bu da gerçek prevalans ile bildirilen vakalar arasında önemli bir uçuruma yol açmaktadır. Bu eksik bildirim, özellikle ED'nin psikolojik etkisinin bireyleri yardım aramaktan daha da uzaklaştırabileceği kronik hastalıkları olan popülasyonlarda belirgindir (87,88).

ED'nin etkisi, partnerleri ve ilişkilerini etkileyerek bireyin ötesine uzanır ve yaşam kalitesinin düşmesine ve psikiyatrik rahatsızlıkların artmasına neden olabilir. ED ve ruh sağlığı arasındaki ilişki önemlidir, çünkü ED'li erkekler genellikle durumu daha da kötüleştirebilecek yetersizlik, anksiyete ve depresyon duyguları yaşarlar (88).

### **2.3.1 Etyoloji ve Risk Faktörleri**

ED'nin etiyolojisi karmaşıktır ve genel olarak vaskülojenik, nörojenik, endokrinolojik, psikojenik, ilaç nedenli ve yaşlanma, yaşam tarzı faktörleri ve sistemik hastalıklara bağlı ED olarak kategorize edilebilir (1). Altta yatan bu mekanizmaların anlaşılması, etkili tanı ve tedavi için çok önemlidir.

#### **Vaskülojenik Eretil Disfonksiyon**

ED'nin en yaygın nedeni, genellikle endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz ile ilişkili olan vasküler yapıdır. Vasküler sistemin sağlığı, yeterli kan akışına bağlı olan penis ereksiyonu için kritik öneme sahiptir. Hipertansiyon, diabetes mellitus ve hiperlipidemi gibi durumlar vasküler patolojilere önemli ölçüde katkıda bulunarak arteriyojenik ED'ye yol açar (89–91). Çalışmalar, diyabetli erkeklerde ED prevalansının daha yüksek olduğunu ve bu oranın %50 ila %80 arasında değiştiğini göstermiştir (92,93). ED ve kardiyovasküler hastalık arasındaki ilişki iyi bilinmektedir; ED'li erkekler koroner arter hastalığı ve inme açısından daha yüksek risk altındadır (91,94). ED, kardiyovasküler hastalıklar açısından önemli bir risk belirteci olarak kabul edilmektedir (95).

#### **Nörojenik Eretil Disfonksiyon**

ED'nin nörojenik nedenleri ereksiyonu kolaylaştıran sinirlerin hasar görmesinden kaynaklanmaktadır. Bu, KS'lere zarar verebilecek RP gibi cerrahi prosedürler nedeniyle ortaya çıkabilir (96,97). Multipl skleroz ve Parkinson hastalığı gibi nörolojik durumlar da nörojenik ED'ye neden olmaktadır. Bu durumun patofizyolojisi, ereksiyona aracılık eden KS ve dolayısıyla kan akışının bozulmasını ve ereksiyonun yetersiz kalmasını içerir (98). Ayrıca, diyabetik nöropati, otonom sinir sisteminin penil kan akışını düzenleme yeteneğini etkilediği için nörojenik ED için önemli bir risk faktörüdür.

#### **Endokrinolojik Eretil Disfonksiyon**

Endokrin hormonal dengesizlikler ED etiyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Testosteron eksikliği, ED ile ilişkili yaygın bir endokrin bozukluktur, çünkü testosteron libido ve erektile fonksiyonun sürdürülmesi için çok önemlidir (99,100). Hiperprolaktinemi ve tiroid disfonksiyonu gibi diğer hormonal bozukluklar da ED'ye katkıda bulunabilir (101,102). Bu hormonlar ile vasküler ve nörolojik sistemler arasındaki etkileşim, endotel sağlığını ve penil kan akışını toplu olarak etkiledikleri için karmaşıktır (99,100,103).

### **Psikojenik Erektile Disfonksiyon**

ED'nin değerlendirilmesinde psikojenik faktörler genellikle göz ardı edilir. Anksiyete, depresyon ve stres gibi psikolojik sorunlar cinsel işlevi önemli ölçüde etkileyebilir. Çalışmalar, performans kaygısının ve ilişki sorunlarının ED'yi şiddetlendirebileceğini ve hatta ED'ye neden olabileceğini göstermektedir (101,104). ED'nin psikolojik deneyimi, cinsel performansla ilgili endişenin erektile işlevi daha da bozduğu ve tedaviyi zorlaştıran bir geri bildirim döngüsü yarattığı bir kısır döngüye yol açabilir (104,105).

### **İlaç ve Madde Nedenli Erektile Disfonksiyon**

Bazı ilaçlar yan etki olarak ED'ye neden olabilir. Genel olarak antihipertansifler, antidepresanlar ve prostat hastalıkları için kullanılan ilaçlar bu duruma yol açabilmektedir. Bu ilaçlar arasında gonadotropin salıverici hormon agonistleri (leuprolid, goserelin, lupron, zoladex), kemoterapi ilaçları (siklofosfamid, busulfan), flutamid, ketokonazol, spironolakton, H<sub>2</sub> blokörleri (simetidin) ve antihipertansifler (tiazid diüretikler,  $\beta$ -blokörler, kalsiyum kanal blokörleri) yer alır. Ayrıca, bazı antiaritmik ilaçlar (digoksin, amiodaron, disopiramid), statinler (atorvastatinin erektile fonksiyon üzerindeki etkileri konusunda tartışmalı bulgular vardır), psikotrop ilaçlar (trisiklik antidepresanlar, selektif serotonin geri alım inhibitörleri, fenotiyazinler, butirofenonlar) ve keyif verici uyuşturucular (marijuana, opiatlar, kokain, nikotin, alkol) da erektile işlevi bozabilir. İlaç ve madde maruziyeti endokrin, vasküler hemodinami ve nörolojik işlevleri bozarak ereksiyon kabiliyetine zarar verir (1,106,107).

## **Yaşlanma, Yaşam Tarzı ve Sistemik Hastalıklara Bağlı Erektıl Disfonksiyon**

Sigara, aşırı alkol tüketimi ve hareketsizlik gibi yaşam tarzı tercihleri ED'ye önemli ölçüde neden olmaktadır. Sigara içmek, vasküler hasara neden olduğu ve penise giden kan akışını azalttığı için özellikle zararlıdır (90,108). Ayrıca, obezite ve metabolik sendrom hem vasküler hem de hormonal disfonksiyona sebep oldukları için ED ile yakından bağlantılıdır (109,110). Polütan ve endokrin bozuculara maruz kalma gibi çevresel faktörler de ED gelişimine dahil edilmiştir (111,112).

Yaşlanma, ED için önemli bir risk faktörüdür ve prevalans oranları yaşlı popülasyonlarda belirgin şekilde artmaktadır. Azalan testosteron seviyeleri, vasküler değişiklikler ve artan komorbiditeler dahil olmak üzere yaşlanma ile ilişkili metabolik değişimler, yaşlı erkeklerde ED insidansının daha yüksek olmasına ortam sağlar (92,113,114). Yaşla birlikte erektıl fonksiyondaki düşüş, genellikle yaşam tarzı faktörlerinin ve kronik sağlık koşullarının kümülatif etkileriyle birleşir (90,92).

### **2.3.2 Tedavi Modaliteleri**

ED tedavisi, organik, psikojenik ve ilişkisel bileşenleri kapsayacak şekilde multifaktöriyeldir ve bu da tedaviye kapsamlı bir yaklaşım gerektirir (115–117). ED için tedavi yöntemleri yıllar içinde önemli ölçüde gelişmiştir; farmakolojik tedaviler, yaşam tarzı değişiklikleri, psikolojik müdahaleler ve cerrahi seçenekler de dahil olmak üzere çok çeşitli seçenekler mevcuttur.

### **Farmakolojik Tedavi**

Farmakoterapi, ED yönetiminin temel taşı olmaya devam etmektedir; sildenafil, tadalafil ve vardenafil gibi fosfodiesteraz tip 5 inhibitörleri (PDE5i) ilk basamak tedavilerdir. Bu ilaçlar, penis ereksiyonu için çok önemli olan nitrik oksidin etkilerini artırarak etki gösterir (118–120). Klinik çalışmalar, PDE5 inhibitörlerinin etkili, güvenli ve iyi tolere

edildiğini, erkeklerin önemli bir kısmının erektil fonksiyon ve genel yaşam kalitesinde iyileşme yaşadığını göstermiştir (121–123). Bununla birlikte, hastaların yaklaşık %30-40'ının bu ilaçlara yeterince yanıt verememektedir. Bu noktada alternatif tedavi stratejilerine ihtiyaç vardır (124).

Oral ilaçlara yanıt vermeyen veya alternatif seçenekleri tercih eden hastalar için intrakavernozal enjeksiyonlar ve intraüretral tedaviler uygulanabilir alternatiflerdir. İntrakavernozal alprostadil uygulaması, özellikle vaskülojenik etyolojili ED'li erkeklerde ereksiyon sağlamada etkili olduğu gösterilmiştir (125,126). Benzer şekilde, intraüretral alprostadil, enjeksiyon kullanmaktan çekinebilecek hastalar için invazif olmayan bir seçenek sunmaktadır (119,127). Bu tedaviler, oral ilaçların daha az fayda sunacağı diyabet gibi belirli tıbbi durumları olan erkekler için özellikle faydalı olabilir (128).

## **2.4 Radikal Prostatektomi**

### **2.4.1 Prostat Klinik Anatomisi**

Prostat bezinin anatomisi oldukça kompleks olup hem ürolojik operasyonlar hem de PCa başta olmak üzere prostatla ilgili hastalıkların cerrahi tedavisinde önemli bir rol oynar. Prostat, mesanenin altında yer alan ceviz büyüklüğünde bir bezdir ve idrar ve semenin vücuttan çıktığı kanal olan üretrayı çevreler. McNeal'in bölgesel anatomi modelinde tanımlandığı gibi periferik bölge, geçiş bölgesi, merkezi bölge ve ön yüz olmak üzere 4 bölgeden oluşur. Bu model, PCa ve benign prostat hiperplazisinin (BPH) lokalizasyonunun anlaşılmasında etkili olmuştur (140–142). Periferik bölge en geniş bölgedir ve prostat kanserlerinin çoğunun ortaya çıktığı yerdir, geçiş bölgesi ise BPH'nin tipik olarak ortaya çıktığı yerdir (141,142).

Prostatın anatomik yapısı glandüler ve stromal bileşenleri içerir; glandüler doku spermi besleyen ve taşıyan seminal sıvının üretilmesinden sorumludur. Stroma yapısal destek sağlar ve ejakülasyonda rol oynayan düz kas lifleri içerir (143). Prostat ayrıca zengin

bir şekilde vaskülarize edilmiştir ve kanlanması internal pudendal arterlerin dalı olan prostatik arterlerle sağlanır. Vasküler anatominin anlaşılması cerrahi prosedürler için kritik öneme sahiptir çünkü bu damarların sehven zarar görmesi ED'ye yol açabilir (144,145).

Prostatı çevreleyen ve KS'leri içeren nörovasküler demetler, erektil fonksiyon için hayati öneme sahiptir. Bu sinirler prostatın lateralinde yer alır ve cerrahi prosedürler sırasında, özellikle RP esnasında, bu sinirlerin korunması, ameliyat sonrası erektil işlevin sürdürülmesi açısından kritik bir husustur (140,146,147). KS'ler pelvik pleksustan kaynaklanır ve penisin erektil dokularını innerve etmeden önce prostatın lateral tarafları boyunca ilerler. Ancak bu sinirlerin anatomisi karmaşıktır ve bireyler arasında önemli farklılıklar gösterebilir, bu da sinir koruyucu cerrahi tekniklerin uygulanmasını zorlaştırır. Bu zorluklara rağmen, sinirlerin korunması cinsel işlevin devamı için gereklidir (146,147).

Prostat cerrahisi sırasında KS'lerin hasar görmesi, RP sonrası sık karşılaşılan bir komplikasyon ED'ye yol açabilir. Son yıllarda MRI ve renkli Doppler ultrason gibi görüntüleme tekniklerindeki gelişmeler, bu sinirlerin ve çevresindeki anatomik yapıların daha hassas şekilde görüntülenmesini sağlayarak cerrahi tekniklerin iyileştirilmesine yardımcı olmuştur. Bununla birlikte, KS hasarı, halen ciddi bir komplikasyon olarak varlığını sürdürmektedir (147,148).

#### **2.4.2 Prostat Kanseri**

PCa, erkekler arasında en yaygın görülen malignitelerden biridir ve küresel olarak önemli bir halk sağlığı sorununu teşkil etmektedir. Prostat hücrelerinin kontrolsüz çoğalması ile karakterize olup, benign veya malign tümörlerin oluşumuna yol açabilir. PCa'nın etiyolojisi, genetik yatkınlıkları, çevresel faktörleri ve hormonal etkileri, özellikle de testosteron gibi androjenleri içerecek şekilde multifaktöriyeldir (3,149). Hastalık genellikle yavaş ilerler ve tanı anında kanserin evresine bağlı olarak bir dizi tedavi seçeneğine izin verir.

Tanı, tipik olarak dijital rektal muayene, prostat spesifik antijen (PSA) testi ve görüntüleme çalışmalarının bir kombinasyonunu içerir. Yüksek PSA seviyeleri PCa'nın varlığına işaret edebilir, ancak benign prostat hiperplazisi (BPH) gibi selim durumların da PSA seviyelerini yükseltebilmesi nedeniyle kesin değildir (150). Biyopsi, PCa tanısını doğrulamak için altın standart olmaya devam etmekte ve kanserin agresifliğini değerlendirmeye yardımcı olan Gleason skorunu belirlemek için histopatolojik incelemeye izin vermektedir (3).

PCa, tümörün yayılma derecesine göre çeşitli evrelere ayrılır. En yaygın kullanılan evreleme sistemi TNM sınıflandırmasıdır (T:tümör boyutunu, N:lenf nodu tutulumunu, M: metastaz varlığını) (149). Lokalize PCa prostatla sınırlıyken, ileri evreler bölgesel lenf nodlarını veya genellikle kemiklere, karaciğere veya akciğerlere uzak metastazı içerebilir (3). PCa'nın prognozu, tanı anındaki evreye bağlı olarak önemli ölçüde değişir; lokalize hastalık genellikle metastatik hastalığa kıyasla daha iyi prognoza sahiptir.

PCa için tedavi seçenekleri çeşitlidir. Yaş, genel sağlık durumu ve kanser evresi gibi faktörlere bağlı olarak hastaya göre seçim yapılır. Aktif gözetim genellikle düşük riskli hastalar için kullanılır ve acil müdahale olmadan izlemeye olanak tanır (151). Tedavi gerektiren hastalar için seçenekler arasında RP, radyasyon tedavisi, hormon tedavisi ve kemoterapi yer almaktadır. Prostat bezinin cerrahi olarak çıkarılması olan RP, lokalize PCa için yaygın bir tedavidir, ancak ED ve idrar kaçırma gibi komplikasyon riskleri taşır (3,4).

PCa ve tedavisinin yaşam kalitesi üzerindeki etkisi önemlidir. ED, RP'yi takiben, öncelikle penisi innerve eden KS'lerdeki potansiyel hasar nedeniyle sık görülen bir komplikasyondur. Ameliyat sırasında bu sinirlerin korunması, erektil fonksiyonun sürdürülmesi için çok önemlidir ve sinir hasarını en aza indirmek için çeşitli sinir koruyucu teknikler geliştirilmiştir (4,152). Bu gelişmelere rağmen, birçok hasta hala ameliyat sonrası ED yaşamakta ve bu da yaşam kalitelerini ve psikolojik refahlarını derinden etkilemektedir (153).

### **2.4.3 Radikal Prostatektomi Sonrası Erektile Disfonksiyon**

#### **Mekanizma**

RP sonrası ED'nin altında yatan başlıca mekanizma, penil ereksiyon için çok önemli olan KS'lerin cerrahi işlem sırasında zarar görmesidir. Bu sinirler prostat boyunca uzanır ve penise kan akışını kolaylaştırarak ereksiyonun başlatılması ve sürdürülmesinden sorumludur (6–8). RP sırasında, özellikle kanserin lokalize olduğu durumlarda, cerrahlar sinir koruyucu tekniklerle bu sinirleri korumayı amaçlamaktadır. Ancak bu tekniklerle bile traksiyon, cerrahi aletlerden kaynaklanan termal yaralanma veya cerrahi sürecin kendisinden kaynaklanan iskemik yaralanma nedeniyle sinir hasarı meydana gelebilir (9,10). Sinir koruma derecesi, ameliyat sonrası erektile fonksiyon iyileşmesi olasılığı ile doğrudan ilişkilidir (154,155).

#### **Farmakolojik Tedavi**

ED için birincil farmakolojik tedavilerden biri, sildenafil, tadalafil ve vardenafil gibi PDE5i kullanılmasıdır. Bu ilaçlar, penise kan akışını artıran ve ereksiyonu kolaylaştıran nitrik oksitin etkilerini artırarak çalışır (156,157). Bununla birlikte, çalışmalar, RP geçirmiş hastalarda, özellikle cerrahi prosedür sırasında önemli sinir hasarı varsa, bu ilaçların etkinliğinin önemli ölçüde azalabileceğini göstermektedir (158,159). Raporlar, erkeklerin %45 ila %67'sinin bu ilaçlarla erektile fonksiyonda bir miktar iyileşme yaşayabileceğini, ancak başarılı cinsel ilişkinin genellikle vakaların yalnızca yaklaşık %40'ında mümkün olduğunu göstermektedir (157,160).

#### **Cerrahi Tedavi**

RP sonrası ED'yi ele alan cerrahi yaklaşımlardan biri penil revaskülarizasyondur. Bu prosedür, ameliyat sırasında sinir hasarı veya vasküler hasar nedeniyle sıklıkla azalan kan akışını yeniden sağlamayı amaçlamaktadır. Penil revaskülarizasyon 1980'lerin sonlarından beri uygulanmasına rağmen, başarı oranları değişken olmuştur. İlk raporlar bazı vakalarda

başarısız sonuçlara işaret ederek etkinliği konusunda şüpheciliğe yol açmıştır (161,162). Bununla birlikte, daha yeni çalışmalar, bu yaklaşımın özellikle vasküler kökenli ED'si olan seçilmiş hastalara fayda sağlayabileceğini öne sürmüştür (161).

Penil implantlar, RP sonrası kalıcı ED yaşayan erkekler için başka bir cerrahi seçeneğini temsil etmektedir. Bu cihazlar, PDE5i gibi farmakolojik tedavilere yanıt vermeyen erkekler için güvenilir bir çözüm sağlayabilir. Penil implantların iki ana türü şişirilebilir ve bükülebilir cihazlardır. Şişirilebilir implantlar daha doğal bir ereksiyon sağlar ve hasta tarafından kontrol edilebilirken, bükülebilir implantlar daha basit bir çözüm sağlar ancak aynı derecede esneklik sunmayabilir (160,163). Çalışmalar, penil implant ameliyatı geçiren hastalar arasında yüksek memnuniyet oranları olduğunu göstermiştir ve birçoğu cinsel işlev ve yaşam kalitesinde önemli gelişmeler olduğunu bildirmiştir (163,164). Bununla birlikte, bu seçenekle devam etme kararı genellikle hastanın genel sağlığına, beklentilerine ve komorbid durumun varlığına bağlıdır.

Bu cerrahi müdahalelere ek olarak, penil rehabilitasyon stratejileri RP sonrası erektil fonksiyon iyileşmesini iyileştirmenin bir yolu olarak dikkat çekmektedir. Bu stratejiler arasında vakum ereksiyon cihazlarının kullanımı, intrakavernöz enjeksiyonlar ve PDE5i tedavisinin erken başlatılması sayılabilir. Penil rehabilitasyonun amacı, penise kan akışını teşvik etmek ve erektil dokuları uyarmak, böylece zaman içinde erektil fonksiyonun iyileşme şansını artırmaktır. Araştırmalar, bu rehabilitasyon teknikleriyle erken müdahalenin erektil fonksiyon iyileşmesi açısından daha iyi sonuçlara yol açabileceğini göstermiştir (165–167).

Cerrahi teknikler ve rehabilitasyon stratejilerindeki gelişmelere rağmen, RP sonrası ED oranları önemli bir endişe kaynağı olmaya devam etmektedir. Çalışmalar, erkeklerin %14 ila %90'ının ameliyattan sonra bir dereceye kadar ED yaşadığını ve değişkenliğin büyük ölçüde yaş, ameliyat öncesi erektil fonksiyon ve ameliyat sırasında sinir koruma derecesi gibi faktörlere bağlı olduğunu göstermektedir (168,169).

## **2.5 Deneyisel Eretil Disfonksiyon Modelleri**

ED çeşitli fizyolojik, psikolojik ve patolojik faktörlerden kaynaklanabilen çok yönlü bir durumdur. Hayvan modelleri, ED'nin altında yatan mekanizmaların anlaşılmasında ve potansiyel terapötik müdahalelerin geliştirilmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır. ED'nin hayvan modelleri, durumun altında yatan fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmaları incelemek için gereklidir. Sıçanlar, fareler ve tavşanlar da dahil olmak üzere çeşitli türler, insanlarla anatomik ve fizyolojik benzerlikleri nedeniyle araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (170,171).

### **2.5.1 Diyabet Modelleri**

Diabetes mellitus, ED'nin en yaygın nedenlerinden biridir. Özellikle streptozotosin ile indüklenen hayvan modelleri, diyabetin erektile fonksiyon üzerindeki etkilerini incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu modeller, ED'ye katkıda bulunan bozulmuş nitrik oksit (NO) sinyali ve artan oksidatif stres dahil olmak üzere önemli fizyolojik değişiklikler sergilemektedir (172–174). Araştırmalar, diyabetik sıçanların korpus kavernozumda azalmış düz kas içeriği ve artmış kolajen birikimi sergilediğini ve bunun da erektile fonksiyonda bozulmaya yol açtığını göstermiştir (173,174).

### **2.5.2 Vasküler Modeller**

Vasküler sağlık normal erektile fonksiyon için kritik öneme sahiptir ve vasküler hastalıkların ED üzerindeki etkilerini incelemek için çeşitli hayvan modelleri tasarlanmıştır. Örneğin, Zucker obez-diyabetik sıçan modeli, ED'de metabolik sendromun rolünü araştırmak için kullanılmış, penil vasküler reaktivitedeki değişiklikleri ve bozulmuş endotel fonksiyonunu ortaya çıkarmıştır (175,176). Ayrıca, vaskülojenik ED mekanizmalarını incelemek için ateroskleroza indükleyen veya vasküler oklüzyonu simüle eden modeller kullanılmış ve ereksiyonun sağlanmasında ve sürdürülmesinde endotelial bütünlüğün ve kan akışının önemi ortaya konmuştur (44,177).

### **2.5.3 Endokrin Modeller**

Hormonal faktörler, özellikle testosteron, erektil fonksiyonda önemli bir rol oynamaktadır. Androjen eksikliğinin erektil fonksiyon üzerindeki etkilerini araştırmak için kastrasyon uygulanmış hayvan modelleri kullanılmaktadır. Araştırmalar, testosteron replasman tedavisinin kastre edilmiş sıçanlarda erektil işlevi geri kazandırabileceğini göstermekte ve hormonun penil doku bütünlüğünü ve işlevini korumadaki kritik rolünü göstermektedir (178,179). Ayrıca, çalışmalar testosteron eksikliğinin penis dokusunda, ED'ye katkıda bulunan azalmış düz kas ve artmış fibrozis dahil olmak üzere yapısal değişikliklere yol açtığını göstermiştir (179,180)

### **2.5.4 Psikojenik Modeller**

Psikojenik faktörler de ED'ye katkıda bulunabilir ve stres ve anksiyetenin cinsel işlev üzerindeki etkisini incelemek için hayvan modelleri geliştirilmiştir. Özellikle, immobilizasyon ve soğuk suya daldırma gibi kronik stresi simüle eden modeller, potansiyel olarak nörokimyasal sinyal yollarındaki değişikliklerin aracılık ettiği erektil fonksiyonda kayıplara neden olmuştur (181,182).

### **2.5.5 Nörojenik Modeller**

Nörojenik ED modellerini incelemek için en yaygın kullanılan hayvan modellerinden biri KS hasarlı sıçan modelidir. Bu model, KS'lerin yaralanması nedeniyle ED'ye yol açtığı bilinen prostatektomi gibi cerrahi prosedürler sırasında meydana gelen sinir hasarını simüle eder. Araştırmalar, KS hasarının ardından erektil fonksiyonda önemli bir azalma olduğunu ve bunun intrakavernöz basınç kayıtlarıyla ölçülebildiğini göstermiştir (183–185). Bu model, araştırmacıların farmakolojik ajanlar ve rejeneratif tedaviler de dahil olmak üzere erektil işlevi geri kazanmayı amaçlayan çeşitli tedavilerin etkinliğini değerlendirmelerine olanak tanır.

Nörojenik ED araştırmalarının bir diğerk önemli yönü, sinir hasarını takiben inflamasyon ve nörodejenerasyonda rol oynamasıdır. Çalışmalar, KS yaralanmasından sonra majör pelvik ganglionda makrofaj infiltrasyonunun meydana geldiğini ve bunun nöroinflamasyona ve ardından ED'ye katkıda bulunduğunu göstermiştir (96,117). Enflamatuvar hücrelerin toplanması ve pro-inflamatuvar sitokinlerin salıverilmesi sinir hasarını şiddetlendirebilir ve iyileşmeyi engelleyebilir, bu da onu NED'in hayvan modellerinde kritik bir araştırma alanı haline getirir. Örneğin, anti-inflamatuvar ajanların uygulanmasının, inflamasyonu azaltarak ve sinir rejenerasyonunu teşvik ederek bu modellerde erektil fonksiyonu iyileştirdiği gösterilmiştir (117,184).

Ayrıca, oksidatif stresin erektil fonksiyon üzerindeki etkisi hayvan modellerinde araştırmaların odak noktası olmuştur. Artan reaktif oksijen türleri (ROS) seviyeleri, özellikle diyabet kaynaklı nörojenik ED patogenezinde dahil edilmiştir. Antioksidan tedaviler bu modellerde test edilmiş ve oksidatif hasarı azaltma ve erektil fonksiyonu geri kazanma potansiyelini göstermiştir (173,186). Oksidatif stres ve nörojenik mekanizmalar arasındaki etkileşimi anlamak, ED için etkili tedavi stratejileri geliştirmek için gereklidir.

### **Kavernöz Sinir Hasarı**

Kavernozal sinir hasarı bağlamında, insanlarla anatomik ve fizyolojik benzerlikleri nedeniyle ağırlıklı olarak sıçanların kullanıldığı çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. Bilateral kavernöz sinir hasarı (BKSH) modeli en sık kullanılan yaklaşımlardan biridir. Bu modelde, KS'ler cerrahi olarak kesilir veya sıkıştırılır, bu da erektil fonksiyonda, intrakavernozal basınç (İKB) ölçümleri ve erektil fonksiyonun davranışsal değerlendirmeleri dahil olmak üzere çeşitli yöntemlerle kantitatif olarak değerlendirilebilen öngörülebilir bir düşüşe yol açar (185,187).

KS hasarını takiben ED'nin patofizyolojisi nörojenik, vasküler ve düz kas faktörlerinin karmaşık bir etkileşimini içerir. Sinir hasarını takiben, korpus kavernozumdaki düz kasın gevşemesi ve ardından penil ereksiyon için kritik olan nitrik oksit (NO) gibi nörotransmitterlerin salıverilmesinde önemli bir azalma olur. Ek olarak, yaralanma kavernöz

dokuda fibrozis ve düz kas hücrelerinin apoptozu dahil olmak üzere yapısal değişikliklere yol açarak ED'yi daha da şiddetlendirir (185,187)

Preklinik çalışmalarda, RP ile ilişkili ED'yi taklit etmek için kullanılan KS hasar modelleri, MPG'den köken alarak prostatın dorsolateralinde erektile fonksiyonu düzenleyen KS'lerin hasar görmesiyle oluşturulur. Bu modeller, MPG'nin distalinden yapılan basınçla sıkıştırma (crush) hasarı, dondurma, gerilme, transeksiyon ve eksizyon gibi yöntemlerle tasarlanabilir. Dondurma, sinir kılıfını bozmadan rejenerasyonu teşvik ederken, transeksiyon ve eksizyon, daha ciddi ve sinir koruyucu olmayan hasarları simüle eder. Bilateral KS eksizyonu, penil denervasyonun uzun vadeli değerlendirilmesi için tercih edilirken, unilateral modeller aynı hayvanda hasar ve kontrol karşılaştırmalarına olanak tanır (181,188,189).

Preklinik çalışmalarda, çift taraflı sinir koruyucu RP sonrası kısmi sinir hasarını taklit etmek için BKSH modelleri yaygın kullanılır. Bu model, nörorejeneratif ve nöroprotektif ajanlar ile ilgili çalışmalarda ve antifibrotik stratejilerin değerlendirilmesinde kullanılır. (181,188,189). KS hasar modelleri, bir klemp veya forseps ile sinirleri sıkıştırarak yapılır ve sıkıştırma süresi, şiddeti ve aralıkları çalışmanın amacına göre belirlenir. Çalışmanın amacına göre 15 saniyelik üç set veya 2-3 dakikalık sürekli sıkıştırma gibi farklı protokoller kullanılabilir (190–192).

#### **2.5.6 Erektile Fonksiyonun Ölçümü**

Hayvan modellerinde erektile işlevi değerlendirmek için en yaygın kullanılan teknik, KS stimülasyonuna yanıt olarak İntrakavernöz basıncın (IKB) ölçülmesidir. Bu yöntem, KS'lerin elektriksel olarak uyarılmasını ve erektile dokuların kanla dolma ve ereksiyon sağlama yeteneğini yansıtan IKB'de ortaya çıkan artışın ölçülmesini içerir (193,194). IKB, erektile fonksiyonun daha doğru bir temsilini sağlamak için tipik olarak ortalama arter basıncına (OAB) karşı normalize edilir ve IKB/OAB oranı olarak ifade edilir (194). KS nörotomisi gibi elektriksel sinir stimülasyonunun yapılamadığı durumlarda ise erektile

cevabın elde edilebilmesi amacıyla papaverin gibi intrakavernozal enjeksiyon uygulamalarından faydalanılabilmektedir (195).

Santral merkezler, özellikle hipotalamik paraventriküler alan ve MPOA, ereksiyonun santral mekanizmalarının araştırılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu bölgelerin stereotaktik kimyasal ajanlarla (oksitosin, NMDA, apomorfin, dopamin ve agonistleri gibi) ya da elektriksel stimülasyon ile uyarılması, bu mekanizmaların daha derinlemesine incelenmesini sağlayan etkili yöntemler arasında yer almaktadır (196,197). Telemetrik sistemler aracılığıyla yapılan İKB ve OAB ölçümleri, medikal müdahalelerin etkisini minimize ederek basınç değişikliklerini kaydedebilmek için geliştirilmiş son derece pratik bir çözümdür. Bu sayede daha doğrudan ve güvenilir veriler elde edilebilir (198). Literatürdeki bazı çalışmalar, ereksiyon fonksiyonlarının değerlendirilmesinde bazal İKB değeri, tūmesans süresi ve elektriksel stimülasyon sonrası sabit bazal İKB'ye dönüş için geçen detūmesans zamanı gibi parametreleri kullanmaktadır. Bu ölçütler, santral mekanizmaların anlaşılması ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi açısından önemli veriler sunmaktadır (188). Bunlara ek olarak, erektil işlevi değerlendirmek için penis sıcaklığındaki değişiklikleri anlamak için termal görüntüleme teknolojisi de kullanılabilmektedir (199).

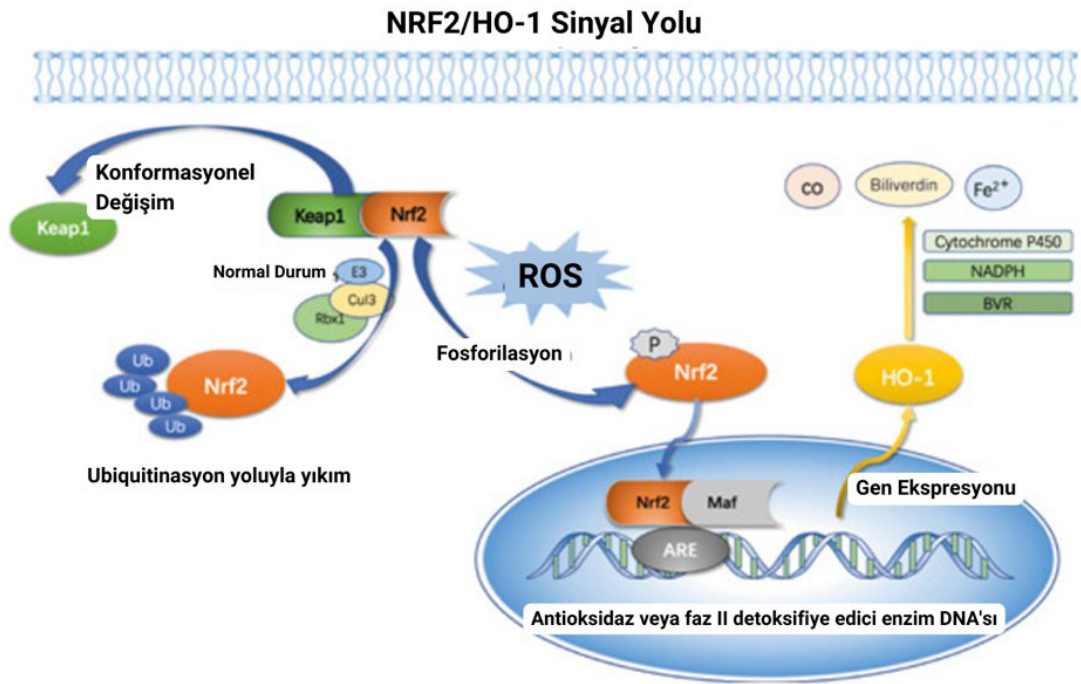
Deney hayvanlarının cinsel davranışlarını değerlendirirken çiftleşme testi, temassız ereksiyon testi ve refleksif ereksiyon testleri gibi yöntemler kullanılır. Bazı çalışmalarda ise apomorfin enjeksiyonundan sonra, ilk 30 dakikada os penisinin görünmesiyle ereksiyon sayısı kaydedilerek ereksiyon fonksiyonu değerlendirilir (188,200).

IKB ölçümü erektil işlevi değerlendirmek için birincil yöntem olsa da bu değerlendirmeyi tamamlamak için başka teknikler de geliştirilmiştir. Örneğin, erektil fonksiyonun dolaylı bir ölçüsü olarak penis sıcaklığındaki değişiklikleri izlemek için termal görüntüleme teknolojisi kullanılmıştır (199). Ek olarak, apomorfin kaynaklı erektil yanıt testi gibi davranışsal değerlendirmeler, erektil fonksiyonun psikolojik yönleri hakkında içgörü sağlar ve tedavilerin cinsel motivasyon ve uyarılma üzerindeki etkilerini değerlendirmek için kullanılabilir (201).

## 2.6 Nükleer Faktör-Eritroid 2 ile İlişkili Faktör/Hem Oksijenaz-1 Yolağı

### 2.6.1 Nükleer Faktör-Eritroid 2 ile İlişkili Faktör/Hem Oksijenaz-1 Mekanizması ve İşlevi

Nükleer Faktör-Eritroid 2 ile İlişkili Faktör/Hem Oksijenaz-1 (NRF2/HO-1) yolağı, hücrel savunma mekanizmalarının oksidatif stres ve inflamasyona karşı düzenlenmesinde temel bir rol oynamaktadır. NRF2-HO-1 olmak üzere birçok sitoprotektif enzimin ekspresyonunu kontrol eden bir transkripsiyon faktörüdür. Fizyolojik koşullar altında NRF2, Keap1 (Kelch-benzeri ECH ilişkili protein 1) tarafından sitoplazmada tutulur. Oksidatif veya inflamatuvar stres durumlarında Keap1'den ayrılan NRF2, nükleusa transloke olur ve antioksidan yanıt elementlerini aktive ederek hücrel korunmaya yönelik genlerin transkripsiyonunu başlatır (202,203). (Şekil 7).



Şekil 7 NRF2/HO-1 Sinyal Yolunun Sinyal İletimi. Zhang'dan (204)

NRF2 sinyal yolağının yalnızca antioksidan kapasiteyi artırmakla kalmayıp; inflamasyon, apoptoz ve hücrel hayatta kalma gibi kritik süreçleri de düzenlediği gösterilmiştir. Bu özellikleri sayesinde kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar ve metabolik sendromlar gibi çeşitli patolojik durumlara karşı hücrel düzeyde koruyucu etkiler sağlamaktadır (205–207). Ayrıca, NRF2'nin; profibrotik gen ekspresyonunu baskılayarak ve TGF- $\beta$  gibi sinyal yollarını inhibe ederek fibrozisin düzenlenmesinde de önemli bir rol oynadığı, bu sayede aşırı ekstraselüler matriks birikimini sınırlayarak doku bütünlüğünü koruduğu bildirilmektedir (208–210).

## 2.6.2 Eretil Disfonksiyon ve NRF2/HO-1 Sinyal Yolağı

NRF2/HO-1 sinyal yolağı, özellikle diabetes mellitus gibi metabolik bozukluklarla ilişkili ED patofizyolojisinde merkezi bir rol oynamaktadır. HO-1 gibi antioksidan ve anti-inflamatuar genlerin ekspresyonunu indükleyerek NRF2 aktivasyonu; vasküler bütünlüğün, nörolojik işlevin ve penil dokunun yapısal sağlığının korunmasına katkı sağlar (211,212). Diyabetik ED modellerinde, *Rhodiola rosea* kökenli doğal bir bileşik olan salidroside, NRF2/HO-1 aktivasyonu yoluyla oksidatif stres ve apoptozu azaltarak terapötik etki göstermiştir (213). Ayrıca, prelinik veriler sistemik oksidatif strese karşı yetersiz NRF2 yanıtlarının kalıcı endotel disfonksiyonuna neden olarak ED'yi ağırlaştırabileceğini düşündürmektedir (214).

Terapötik potansiyel, losartan gibi ajanlarla da gösterilmiştir. Anjiyotensin II reseptör blokörü olan losartan, yaşlı sıçan modellerinde oksidatif hasarı azaltıp korporeal apoptozu baskılayarak erektile fonksiyonu iyileştirmiştir (215,216). Benzer şekilde, kurkuminin de diyabetik modellerde NRF2/HO-1 yolunu aktive ederek erektile fonksiyonu artırdığı gösterilmiştir (211).

Ek olarak, sülforafan ve oltipraz gibi bileşiklerin de oksidatif stres belirteçlerini azaltarak ve penil dokularda nitrik oksit düzeylerini artırarak endotelial fonksiyonu iyileştirdiği; dolayısıyla yaşa bağlı ED'nin tedavisinde umut vadettiği bildirilmiştir (217). Ayrıca, NRF2 aktivasyonunun, nörojenik ED modellerinde adiposit kaynaklı kök hücre

tedavisinin etkinliğini artırabileceği de bildirilmiştir; bu da kombine tedavi stratejilerinin sonuçları iyileştirebileceğini düşündürmektedir (218).

### **2.6.3 Klinik Uygulamalarda NRF2/HO-1 Sinyal Yolağı**

NRF2/HO-1 yolunu hedefleyen çalışmalar, giderek artan bir ilgi görmektedir. Çeşitli farmakolojik ajanlar ve doğal bileşiklerin NRF2'yi aktive edip HO-1 ekspresyonunu artırdığı gösterilmiş; bu sayede oksidatif stres ve inflamasyonla ilişkili hastalıklara karşı koruyucu etkiler sağladığı bildirilmiştir (202,205,219). Özellikle diyet polifenoller, NRF2/HO-1 sinyal yolunu indüklemeye yetenekleri sayesinde dikkat çekmekte olup, bu yolun kronik hastalıklara yönelik nutrisyonel protektif yaklaşımlarda taşıdığı potansiyeli ortaya koymaktadır (220,221).

Miyokard ve beyini etkileyen iskemik-reperfüzyon hasarı modellerinde, NRF2/HO-1 yolunun aktivasyonunun hücre ölümünü azalttığı ve fonksiyonel iyileşmeyi desteklediği gösterilmiştir (222,223). Ayrıca, romatoid artrit ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi inflamatuvar hastalıklarda da bu yolun modülasyonunun, anti-inflamatuvar etkileri aracılığıyla semptomları hafifletip, progresyonu yavaşlatabileceği öne sürülmektedir (224,225).

Ortaya çıkan kanıtlar, NRF2/HO-1 yolunun kanser ilerleyişinde de rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu yol, tümör mikroçevresinde oksidatif stresi azaltabilmesine rağmen; HO-1 ekspresyonundaki artışın erken tümör evrelerinde tümör hücrelerinin hayatta kalmasını kolaylaştırabileceği bildirilmiştir (226).

Ayrıca çeşitli doğal bileşiklerin NRF2/HO-1 sinyalizasyonunu modüle ederek sitoprotektif etkiler gösterdiği ortaya konmuştur. Örneğin, berberin hidroklorür, C2C12 miyoblast hücrelerini hidrojen peroksit kaynaklı oksidatif hasardan HO-1 ekspresyonunu artırarak korumaktadır (227). Benzer şekilde, bitki kökenli bir flavonoid olan ikariin, kardiyomiyositlerde hipoksi/reoksijenasyon kaynaklı ferroptozisi NRF2 aktivasyonu

yoluyla azaltmakta ve kardiyoprotektif etkiler sağlamaktadır (228). Cai ve arkadaşları (2022), astaksantin NRF2/HO-1 sinyal yolunu aktive ettiğini, bu yolla hücre sağkalımını artırdığını, otofajiyi desteklediğini ve parasetamol kaynaklı karaciğer hasarını azalttığını göstermiştir (229).

NRF2/HO-1 nörodejeneratif hastalıklardaki nöroprotektif etkileri de gösterilmiştir. Bu yolun aktivasyonunun, nöronları oksidatif hasardan koruduğu ve Alzheimer ile Parkinson gibi hastalıklarda terapötik potansiyel sunduğu bildirilmiştir (230). Ayrıca, bu sinyal yolunun sepsis gibi akut inflamatuvar durumlarda oksidatif stresin ve inflamasyonun azaltılması yoluyla kardiyak hasarı hafiflettiği gösterilmiştir (231, 232).

Kas-iskelet sistemi uygulamalarında ise, verapamilin NRF2/HO-1 yolağını aktive ederek tendinopatiyi hafiflettiği ve bu yolun hücre içi antioksidan kapasitesini arttırdığı belirlenmiştir (233).

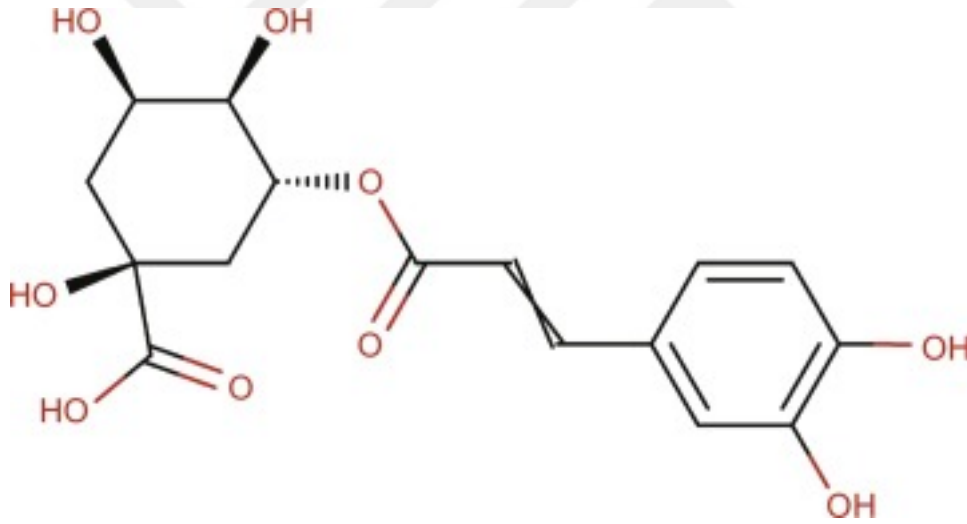
Deneyisel bulgular, fibroblastlara özgü NRF2 aktivasyonunun profibrotik gen ekspresyonunu baskıladığını ve kalp ile böbrek hastalığı modellerinde fibrotik remodellingi azalttığını göstermektedir (234). Ayrıca, NRF2'nin TGF- $\beta$ 1 ve IL-13 gibi profibrotik mediatörleri inhibe ederek fibroblastlarda periostin ekspresyonunu azalttığı ve TGF- $\beta$  sinyal yolunu baskılayarak renal fibrozisi önlediği bildirilmektedir (209, 235). Pulmoner fibrozis modellerinde ise, güçlü bir NRF2 aktivatörü olan Sülföröfan'ın, bleomisin kaynaklı fibrotik progresyonu oksidatif stresi azaltarak ve fibrotik yolları baskılayarak etkili biçimde sınırladığı gösterilmiştir (236).

Son çalışmalar, genetik varyasyonlar ve epigenetik modifikasyonların NRF2/HO-1 sinyal etkinliğini değiştirebileceğini, bu nedenle tedavi yaklaşımlarının kişiselleştirilmesinin özellikle yaşa bağlı ve oksidatif stres kaynaklı hastalıklar için önem taşıdığını ortaya koymaktadır (237). Buna ek olarak, düzenli fiziksel egzersiz gibi yaşam tarzı müdahaleleri NRF2 aktivitesini artırmakta; bu da antioksidan mekanizmaların gelişmesine, oksidatif doku hasarının azalmasına ve genel iyilik halinin desteklenmesine katkı sağlamaktadır (238).

## 2.7 Klorojenik Asit

### 2.7.1. Kimyasal Yapısı

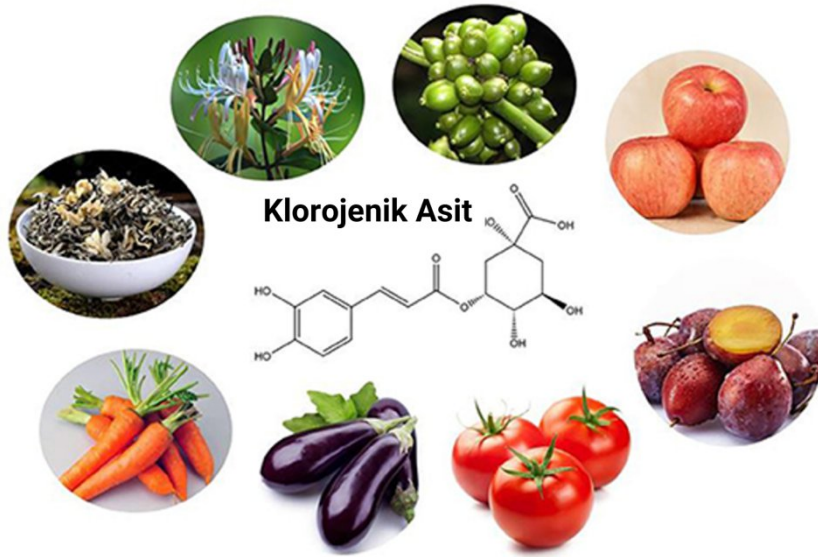
Klorojenik asit (KA), önemli bir fenolik bileşik olup, yapısal olarak bir kinik asit parçasının esterlenmiş bir kafeik asit parçasını içermesiyle tanınır. Bu özgün yapı, KA'yı hidroksisinnamik asit ailesinde, özellikle 5-O-kafeoilkinik asit (5-CQA) olarak sınıflandırılmasını sağlar. Moleküler formülü  $C_{16}H_{18}O_9$  olan KA'nın sistematik adı, fonksiyonel gruplarının düzenini yansıtan 3-O-kafeoilkinik asit'tir. KA'nın kimyasal yapısı, antioksidan özellikleri ve biyolojik aktivitelerine katkı sağlayan bir dizi hidroksil grubunun varlığıyla karakterizedir. (14,239,240) (Şekil 8).



Şekil 8 Klorojenik Asidin Kimyasal Yapısı. Pawar'dan (239)

KA oluşumu, başta kahve çekirdekleri olmak üzere çeşitli bitki türlerinde iyi belgelenmiş bir süreç olan kafeik asit ve kinik asidin enzimatik yoğunlaşması yoluyla gerçekleşir (241,242). Bu iki asit arasındaki ester bağı oluşumu, KA'nın biyolojik sistemlerdeki stabilitesini ve reaktivitesini etkilediği için çok önemlidir (16). KA'nın yapısal bütünlüğü, terapötik potansiyeli üzerinde etkileri olan çeşitli biyolojik hedeflerle etkileşimi için hayati öneme sahiptir (243).

KA, her biri kinik asit omurgasındaki kafeoil grubunun pozisyonunda farklılık gösteren 3-CQA, 4-CQA ve 5-CQA dahil olmak üzere çeşitli izomerik formlarda bulunur (14,242). Bu izomerler, yapısal varyasyonlarına atfedilebilecek farklı biyolojik aktiviteler ve antioksidan kapasiteler sergilemektedir (14,244). Örneğin, 5-CQA izomeri kahvede en bol bulunan izomerdir ve güçlü bir antioksidan ve anti-inflamatuar etkileri mevcuttur. (240).



Şekil 9 Klorojenik Asit Kaynakları. Wang'dan (243)

### 2.7.2. Bitkisel Kaynaklar

KA'nın biyolojik kaynakları oldukça çeşitlidir. En sık kahve çekirdekleri erişilir. Yeşil kahve çekirdekleri, kuru ağırlıklarının yaklaşık %6-10'u oranında KA içerir (245,246). Bu yüksek konsantrasyon, kahveyi dünya çapında birçok birey için önemli bir KA kaynağı haline getirmektedir. Kahvenin yanı sıra, KA, elma, armut ve kiraz gibi çeşitli meyvelerde de bulunur ve bu gıdaların genel antioksidan kapasitesine katkıda bulunur (247,248) (Şekil 9).

Meyvelerin yanı sıra patlıcan ve domates gibi sebzeler de KA açısından zengindir (249,250). Bu sebzelerdeki KA varlığı sadece besin profillerini geliştirmekle kalmaz, aynı zamanda insan sağlığı için faydalı olan antioksidan özelliklerine de katkıda bulunur (251).

Ayrıca, KA özellikle çay ve şarap olmak üzere diğer bitki bazlı gıdalarda da bulunur ve bu da insan diyetindeki kaynaklarını daha da çeşitlendirir (252,253).

Bitkilerde KA biyosentezi, çoklu enzimatik yolları içeren karmaşık bir süreçtir. Bu yoldaki anahtar enzim, kafeoil-CoA ve kinik asitten KA oluşumunu katalize eden hidroksisinnamoil-CoA kinat transferazdır (HQT) (254). Bu biyosentetik yol; bitki türleri, çevresel koşullar ve yetiştirme uygulamaları gibi çeşitli faktörlerden etkilenir ve bu da farklı bitki çeşitleri arasında KA içeriğinde değişkenliğe yol açabilir (255,256).

### 2.7.3 Farmakolojik Profili

KA, son yıllarda sağlık üzerindeki potansiyel faydaları nedeniyle geniş bir araştırma alanı bulmuş bir bileşiktir. Birçok farmakolojik etkiye sahip olan KA, nörolojik, kardiyovasküler, gastrointestinal, böbrek, karaciğer sağlığı ve kanser gibi çeşitli alanlarda koruyucu ve tedavi edici özellikler göstermektedir. Mevcut literatür, bu bileşiğin oksidatif stres, inflamasyon ve hücre ölümüne karşı gösterdiği etkiler aracılığıyla çeşitli hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır (257).

KA'nın Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi nörolojik hastalıklara karşı protektif etkiler gösterdiği bildirilmiştir (19,20). Bu etkiler, KA'nın asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimlerinin aktivitelerini inhibe etmesiyle ilişkili olup, oksidatif stres kaynaklı nöronal hasarı engellemeye yardımcı olur (19). Ayrıca, NQO1 ifadesini artırarak ve apoptoz düzenleyicilerinin ifadesini koruyarak hücre ölümünü engeller (258). NF-κB sinyal yolunu baskılayarak ise nörodejeneratif hastalıkların gelişimini önleyebilir (17).

KA, kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde önemli bir bileşik olarak öne çıkmaktadır. Adenozin reseptör A2A, adenilat siklaz ve cAMP sinyal yollarını aktive ederek trombosit aktivasyonunu inhibe eder ve arteriyel vaskülatür üzerindeki olumlu etkilerini göstermektedir (259). Ayrıca, NO biyoyararlanımını artırarak endotel fonksiyonunu iyileştirir ve hipertansiyon tedavisinde potansiyel taşımaktadır (21). Bunun yanı sıra, SIRT1,

AMPK ve PPARGC1A sinyal yollarını modüle ederek oksidatif stresi azaltır, mitokondriyal fonksiyonu iyileştirir ve kardiyovasküler sağlığı destekler (260).

Gastrointestinal sistemde de KA'nın etkileri önemlidir. Bu bileşik, gastrik mukozal hasara karşı koruma sağlar ve bağırsak bariyer fonksiyonlarını iyileştirir. LPS kaynaklı bağırsak disfonksiyonunu hafifleten TJP1 ve OCLN düzeylerini artırarak bağırsak permeabilitesini azaltır (261). Ayrıca, MLCK'nın antioksidan kapasitesini artırarak intestinal oksidatif hasara karşı koruyucu etkiler gösterir (22).

Böbrek sağlığı açısından da KA önemli bir bileşiktir. Yapılan çalışmalarda sisplatin kaynaklı böbrek hasarına karşı terapötik etkileri gösterilmiştir ve bunu TLR4 ve NF-κB sinyal yollarını inhibe ederek göstermektedir (17). Ayrıca, diyabetik böbrek hasarını hafifleterek diyabetik nefropatinin önlenmesinde rol oynar; bu etki, NRF2 ve HO-1 yollarının aktivasyonu ile böbrek fonksiyonlarının iyileştirilmesi ve böbreklerin oksidatif hasara karşı korunmasıyla sağlanır (18).

KA'nın karaciğer sağlığını koruma üzerindeki etkileri de önemli bir araştırma konusudur. CCl4 ile indüklenen karaciğer fibrogenezi ve hepatik hasara karşı koruyucu etki göstermektedir. Ayrıca, nötrofil infiltrasyonunu ve hepatosit nekrozunu azaltarak karaciğer hasarını iyileştirir. NRF2 aracılı antioksidan yolun güçlendirilmesi ve NLRP3 inflamasyonunun inhibisyonu, karaciğerin oksidatif hasara karşı korunmasına katkı sağlar (257).

Yüksek yağlı diyet kaynaklı obeziteyi önler, insülin direncini azaltır ve hepatik steatozu engeller (262). Ayrıca, AMPK aktivasyonunu sağlayarak obezite yönetiminde yardımcı olur (263). SLC5A1 inhibisyonu yoluyla ince bağırsakta glikoz emilimini azaltır ve diyabetik etkileri engeller (264).

Mevcut araştırmalar, KA'nın kanser hücrelerinin proliferasyonunu baskılayarak, hücre döngüsünü inhibe ederek ve apoptozu indükleyerek antikanser etkiler sergilediğini göstermektedir. *NFATC2* ve *NFATC3* genlerinin ifadesini artırarak immün sistem ilişkili

yolaklarıyla ilgili mekanizmaları modüle eder ve BMI1 proteini ile SRY-box transkripsiyon faktörü 2 (SOX2) geninin ekspresyonunu azaltarak tümör hücrelerinin invazyon ve migrasyonunu engeller (265,266).

KA ayrıca geniş bir antimikrobiyal etki yelpazesine sahiptir. Virüsler, bakteriler, küfler, mayalar ve amipler gibi patojenlere karşı belirgin bir antimikrobiyal aktivite sergiler. Yapılan çalışmalarda hücre membran yapısını bozarak antifungal etkisi gösterilmiştir (257,267). Ayrıca stafiloccus aureus üzerine antibakteriyel ve antibiyofilm etkileri de gösterilmiştir (268).

Bu çalışmanın amacı, Wistar sıçanlarında BKSH modeli kullanılarak, KA'nın NRF2 sinyal yolu aktivasyonu aracılığıyla ED üzerindeki potansiyel koruyucu ve iyileştirici etkilerini deneysel olarak incelemektir.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1 Deney Hayvanları

Çalışma, KTÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 2024/53(Sayı: 53488718-606) protokol numarası ile onaylandı (Ek 1). Çalışmada, Karadeniz Teknik Üniversitesi Cerrahi Araştırma Merkezi tarafından temini yapılan 10-12 haftalık, 300-385 g ağırlığında 30 adet Wistar sıçan kullanıldı. Hayvanların bakımı deney gününe kadar Karadeniz Teknik Üniversitesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Sıçanlar pleksiglas kafeste, 12 saat aydınlık/karanlık döngüsünde, oda sıcaklığında ( $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) ve neminde (%60) koşullarda barındırılmıştır. Yiyecek ve su ihtiyacı *ad libitum* sağlanmıştır. Sıçanların ağırlıkları sağlık durumu takibi amacıyla deney protokolünün başlangıcında ve bitişinde ölçülmüştür.

#### 3.2 Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

##### 3.2.1 Kimyasallar

Tez çalışmasında kullanılan kimyasallar Tablo 1'de belirtilmiştir.

Tablo 1: Kimyasallar

| Adı                  | Marka ve Kodu            |
|----------------------|--------------------------|
| Klorojenik Asit (KA) | BLD Pharm, 102763660     |
| Etanol (absolü)      | Isolab, 920.026, 64-17-5 |
| Etanol (%96)         | Isolab, 920.052, 67-56-1 |

|                                             |                              |
|---------------------------------------------|------------------------------|
| <b>Formaldehit %37</b>                      | Tekkim, TK-911012            |
| <b>Heparin</b>                              | Nevparin®, Mustafa Nevzat    |
| <b>İzofluran</b>                            | Forane®, Abbott              |
| <b>Ketamin HCl</b>                          | Ketalar®, Pfizer             |
| <b>Ksilazin (%2)</b>                        | Rompun®, Bayer               |
| <b>Ksilen</b>                               | Isolab, 990.019, 1330-20-7   |
| <b>Metanol</b>                              | Isolab, 947.046, 67-56-1     |
| <b>Parafin (granül)</b>                     | Tekkim, 200661.00502         |
| <b>Asetaminofen</b>                         | Partemol®, Vem İlaç          |
| <b>Proteaz inhibitör karışımı</b>           | Sigma, P8340                 |
| <b>Povidon iyot (%10)</b>                   | Batiodin®, Angelini İlaç     |
| <b>Sığır serum albümin (BSA)</b>            | Capricorn Scientific, BSA-1U |
| <b>Tween 20</b>                             | Sigma, P1379                 |
| <b>Tris tamponlu salin (TBS-10X)</b>        | Cell Signaling Tech., #12498 |
| <b>%0,9'luk izotonik sodyum klorür (SF)</b> | Medifleks, Koçak Farma       |

### 3.2.2 Antikorlar

Tez çalışmasında kullanılan antikorlar tablo 2’de belirtilmiştir.

Tablo 2: Antikorlar

| <b>Adı</b>                  | <b>Marka, Kod ve Seyreltme Oranı</b> |
|-----------------------------|--------------------------------------|
| <b>Anti-β aktin antikor</b> | ABclonal Technology, A026, 1:1000    |

|                                                           |                                    |
|-----------------------------------------------------------|------------------------------------|
| <b>Anti-Nrf 2 antikoru</b>                                | ABclonal Technology, A0674, 1:1000 |
| <b>Anti- HO-1 antikoru</b>                                | ABclonal Technology, A1346, 1:1000 |
| <b>Sekonder antikoru (HRP Goat Anti-Rabbit IgG (H+L))</b> | ABclonal Technology, AS014, 1:1000 |

### 3.2.3 Kitler

Çalışmada biyokimyasal, histopatolojik ve moleküler testler için kullanılan kitler tablo 3’te verilmiştir.

Tablo 3: Kitler

| <b>Adı</b>                                    | <b>Marka ve Kodu</b>                |
|-----------------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>GBL Masson Trikrom Boyama Kiti</b>         | GBL San. Tic. Lim. Şti., 5022-100   |
| <b>Qubit® Protein Assay Kits</b>              | Thermo Fisher Scientific, Q33211    |
| <b>İblot transfer kiti</b>                    | Invitrogen, IB301001                |
| <b>Coomassie Plus – Bradford Assay Kit</b>    | Thermo Scientific, 3236, USA        |
| <b>Rat TNF-<math>\alpha</math> ELISA Kiti</b> | Bioassay Technology Laboratory, Çin |
| <b>Rat IL-6 ELISA Kiti</b>                    | Bioassay Technology Laboratory, Çin |
| <b>Rat MDA ELISA Kiti</b>                     | Thermo Fisher Scientific, Q33211    |
| <b>BSA (Bovine Serum Albumin) Standardı</b>   | Thermo Scientific, USA              |
| <b>ELISA Okuyucu</b>                          | Chromate 4300, Awareness            |

### 3.2.4 Çözelti ve Tamponlar

Çalışmada kullanılan çözelti ve tamponlar tablo 4’te verilmiştir.

Tablo 4: Çözelti ve Tamponlar

| Adı                                  | Marka ve Kodu                                                   |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| <b>Qubit Protein Buffer</b>          | Thermo Fisher Scientific, Q33211                                |
| <b>Qubit Protein Reagent</b>         | Thermo Fisher Scientific, Q33211                                |
| <b>LDS Sample Buffer</b>             | Thermo Fisher Scientific, NP0007                                |
| <b>Sample Reducing Agent</b>         | Thermo Fisher Scientific, NP0009                                |
| <b>Running Buffer (1X)</b>           | Thermo Fisher Scientific (NuPAGE)                               |
| <b>iBind™ Flex Blocking Buffer</b>   | Thermo Fisher Scientific, iBind™ Flex Solution Kit              |
| <b>ECL Luminol/Enhancer Solution</b> | Thermo Fisher Scientific, SuperSignal West Femto, 32106 (örnek) |
| <b>ECL Peroxidase Solution</b>       | Thermo Fisher Scientific, SuperSignal West Femto, 34095 (örnek) |

### 3.2.5 Alet ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar tablo 5’te verilmiştir.

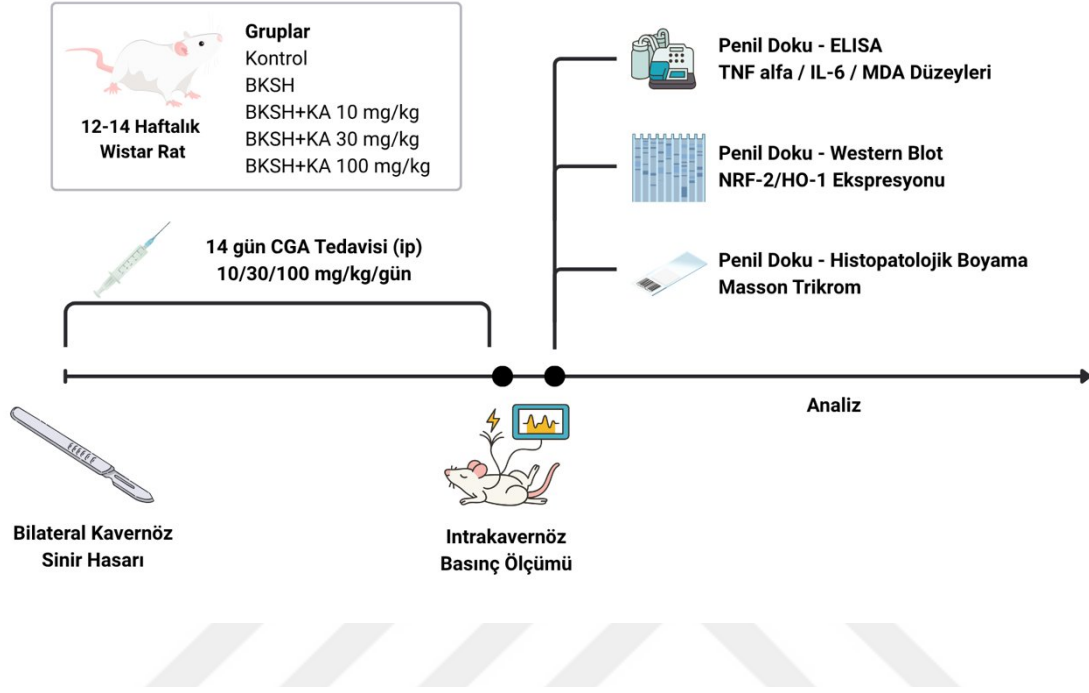
Tablo 5: Alet ve Cihazlar

| <b>Adı</b>                                 | <b>Marka ve Üretim Yeri</b>             |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------|
| <b>Buzdolabı</b>                           | Arçelik, Türkiye                        |
| <b>Buz makinesi</b>                        | Uğur UMB30, Türkiye                     |
| <b>Cerrahi ipek iplik (3/0)</b>            | Medipac, Greece                         |
| <b>Cerrahi ipek iplik (4/0)</b>            | Medipac, Greece                         |
| <b>Cryo tüp</b>                            | Isolab-091.11.102, Türkiye              |
| <b>Cryo tüp kutusu</b>                     | Isolab-093.02.001, Türkiye              |
| <b>Doku takip kaseti kapaklı (plastik)</b> | Isolab-07403001, Türkiye                |
| <b>Derin dondurucu (-20°C)</b>             | Arçelik, Türkiye                        |
| <b>Derin dondurucu (-80°C)</b>             | Thermo Scientific, ABD                  |
| <b>Deiyonize su cihazı</b>                 | Sartorius, Almanya                      |
| <b>Elektriksel alan stimülatörü</b>        | MAY, Türkiye                            |
| <b>Etüv</b>                                | Magaterm, Türkiye                       |
| <b>Hassas Terazi</b>                       | Ohaus, Türkiye                          |
| <b>Hemostat klemp (curved smooth)</b>      | FST-13021-12, Almanya                   |
| <b>Homojenizatör</b>                       | Qiagen, ABD                             |
| <b>Işık mikroskobu</b>                     | Olympus BX51; Olympus Co., Tokyo, Japan |
| <b>İnhaler anestezi cihazı</b>             | E-Z Systems Inc., ABD                   |
| <b>Jel kaset ve tarakları</b>              | Invitrogen, ABD                         |
| <b>Kaba terazi</b>                         | Premier, Türkiye                        |
| <b>Lam (Rodajlı)</b>                       | Isolab-075.05.004, Türkiye              |

|                                       |                                                     |
|---------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| <b>Lamel (24/60 mm)</b>               | Isolab-075.01.007, Türkiye                          |
| <b>Membran çalkalayıcı</b>            | Thermo Scientific, ABD                              |
| <b>Mikroskoba entegre kamera</b>      | Olympus DP 71, Olympus Co., Japan                   |
| <b>Mikro-santrifüj tüpleri</b>        | Isolab-078.03.001, Türkiye                          |
| <b>Mikrotom</b>                       | RM 2255; Leica Inst., Nussloch, Almanya             |
| <b>Mikrotom bıçağı</b>                | Feather, FE 2007500011                              |
| <b>Otomatik pipetler</b>              | Eppendorf Research, ABD                             |
| <b>PCR tüp</b>                        | Isolab-123.01.005, Türkiye                          |
| <b>Platin elektrod</b>                | Grass Technologies, ABD                             |
| <b>Santrifüj cihazı (soğutmalı)</b>   | Sigma, ABD                                          |
| <b>Tank (sıvı azot)</b>               | Isotherm, Türkiye                                   |
| <b>Invitrogen-Mını Gel Tank</b>       | 1107195243-İsrail                                   |
| <b>Invitrogen-Mını Gel Tank</b>       | Thermo Fisher Scientific Inc. – 1107195243 - İsrail |
| <b>IBlot™ 2 Transfer Stacks</b>       | Thermo Fisher Scientific Inc. – IB21001- İsrail     |
| <b>Invitrogen™ iBind™ Flex</b>        | Thermo Fisher Scientific Inc. – SLF2000- İsrail     |
| <b>Erbiyotek-Genbox imagER Fx-CFx</b> | ER Biotech Ltd - O109 - Türkiye                     |
| <b>Denovix Florometer</b>             | Denovix - S04642 - USA                              |
| <b>Veri kayıt sistemi</b>             | BIOPAC MP35, ABD                                    |
| <b>Vorteks</b>                        | Isolab, Türkiye                                     |



### 3.3 Deney Protokolü



Şekil 10 Deney Protokolü

BKSH ile oluşturulan ED modelinde KA'nın terapötik etkinliğinin araştırıldığı çalışmanın deney protokolü ve şekil 10'da gösterilmiştir.

### 3.4 Deney Hayvanları Gruplandırılması

Sıçanlar her grupta 6 sıçan olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. BKSH modeli ve kontrol grubu için cerrahi prosedürün uygulandığı gün 1. gün olarak kaydedildi. Cerrahi prosedürün ardından kontrol grubuna 10 ml/kg taşıyıcı (serum fizyolojik), tedavi gruplarına 10 mg/kg/gün KA, 30 mg/kg/gün KA ve 100 mg/kg/gün KA 14 gün boyunca uygulandı. Çalışma grupları, uygulanan tedaviler tablo 6'da belirtilmiştir.

Tablo 6 Deney Grupları

| Grup                                                     | n |
|----------------------------------------------------------|---|
| Kontrol + Taşıyıcı (Serum fizyolojik 0.5 cc)             | 6 |
| BKSH + Taşıyıcı (Serum fizyolojik 0.5 cc)                | 5 |
| BKSH + Düşük Doz Tedavi (10 mg/kg/gün Klorojenik Asit)   | 6 |
| BKSH + Orta Doz Tedavi (30 mg/kg/gün Klorojenik Asit)    | 6 |
| BKSH + Yüksek Doz Tedavi (100 mg/kg/gün Klorojenik Asit) | 6 |

### 3.5 BKSH Oluşturulması ve Tedavi

#### 3.5.1 BKSH Oluşturulması

Cerrahi işlemden bir gün önce operasyon odası hazırlandı ve gerekli sterilizasyon işlemleri yapıldı.

Operasyon günü sıçanlar tartıldı. Sıçanlara inhaler anestezi cihazı ile %2'lik izofluran inhalasyon anestezisi uygulandı. Anestezi derinliği parmak kıstırma ile test edildi. Ardından sıçanlar supin pozisyonuna getirildi ve tespit edildi. Cerrahi işlemin yapılacağı abdomen ve kasık bölgesinde kıllar tıraş makinesi aracılığıyla kesildi. %10'luk povidon iyot ile işlemin yapılacağı bölge içten dışa sirküler hat halinde temizlendi.

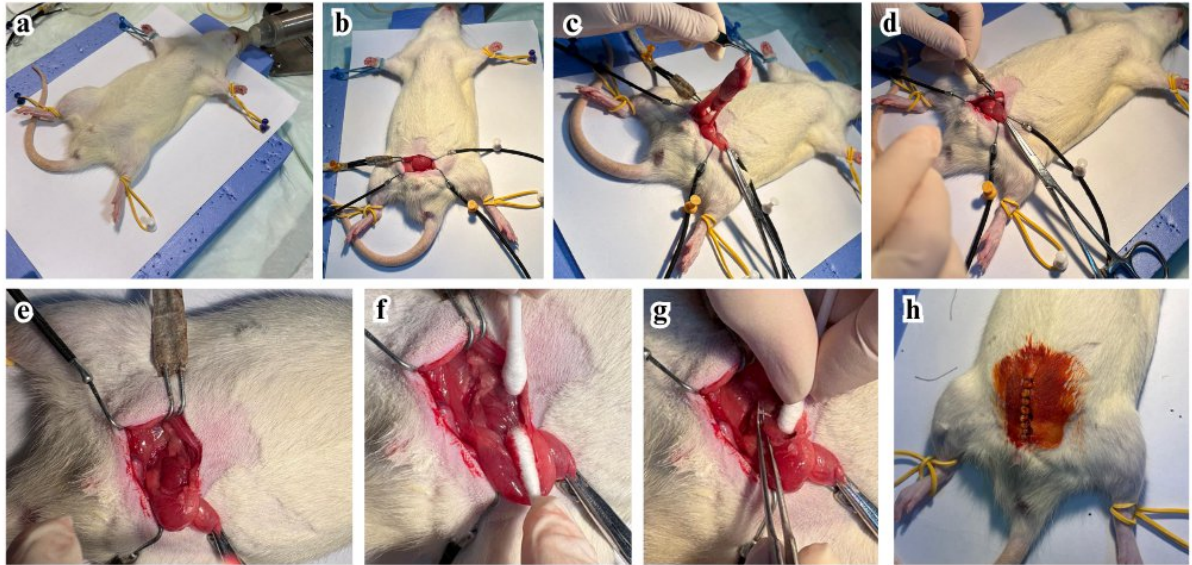
Bistüri yardımıyla abdominal bölgenin ventral yüzünde orta hatta 3 cm'lik bir insizyon yapıldı. Adipöz dokular ve musküler dokular diseke edilerek batına ulaşıldı. Daha sonra cerrahi alanı genişletmek maksadıyla mesane klemp yardımıyla lateralde tespit edildi. MPG ve KS'in görülmesi amacıyla testisin skrotumla bağı kesildi ve steril gazlı bez ile geçici olarak üst abdomene yerleştirildi. Bu işlemleri takiben prostat bezinin dorsolateralinde yer alan MPG ve KS görüldü ve forseps ile tespit edildi. MPG'nin 3 mm

distalinde KS hemostat klemp marifetiyle sabit basınç uygulanarak her set 1 dakika sıkıştırma, 15 sn serbest bırakma olacak şekilde toplam 2 dk sıkıştırıldı. Bu cerrahi prosedür her iki KS'e de uygulandı.

Hasar verme işlemi sonrası batın SF'le ıslatıldı ve üst abdomende yer alan testisler tekrar skrotuma yerleştirildi. Cerrahi işlemin başında tespit edilen mesane serbestleştirildikten sonra kas dokusu ve cilt dokusu cerrahi suture ile kapatıldı (Şekil 11).

Kontrol gruplarına ise KS'ler görülecek şekilde cerrahi işlem yapıldı ve kapatıldı.

Sıçanlar cerrahi işlem sonrası bireysel kafeslerine alındı ve bakım odalarına götürüldü.



Şekil 11 Bilateral Kavernoöz Sinir Hasarı Protokolü. a) Supin pozisyonu, b) Batın kesisi, c) testis elevasyonu, d) Testisin batın içine alınması, e) Mesanenin sabitlenmesi, f) Mesanenin dorsolateralinde MPG ve kavernoöz sinirin tespiti, g) Kavernoöz sinirin ayrıştırılması ve sıkıştırılması, h) Testisin geri yerleştirilmesi ve batının kapatılması

### 3.5.2 Cerrahi Sonrası Bakım

Bakım odalarına yerleştirilen sıçanlar cerrahi uygulamadan sonraki 72 saat boyunca 2 mg/ml asetaminofen içeren su ve standart yemle ad libitum beslendi. İşlemin hemen

ardından günde bir kez ilaç ve taşıyıcı enjeksiyonuna başlandı ve 14 gün boyunca devam edildi. Cerrahi sonrası hayvanların genel sağlık durumu takip edildi ve hayati bir komplikasyonla karşılaşılmadı. Ancak hasar grubundan 1 hayvan cerrahi sonrası 3. günde öldü.

### **3.5.3 Klorojenik Asit Çözelti Hazırlanması ve Uygulaması**

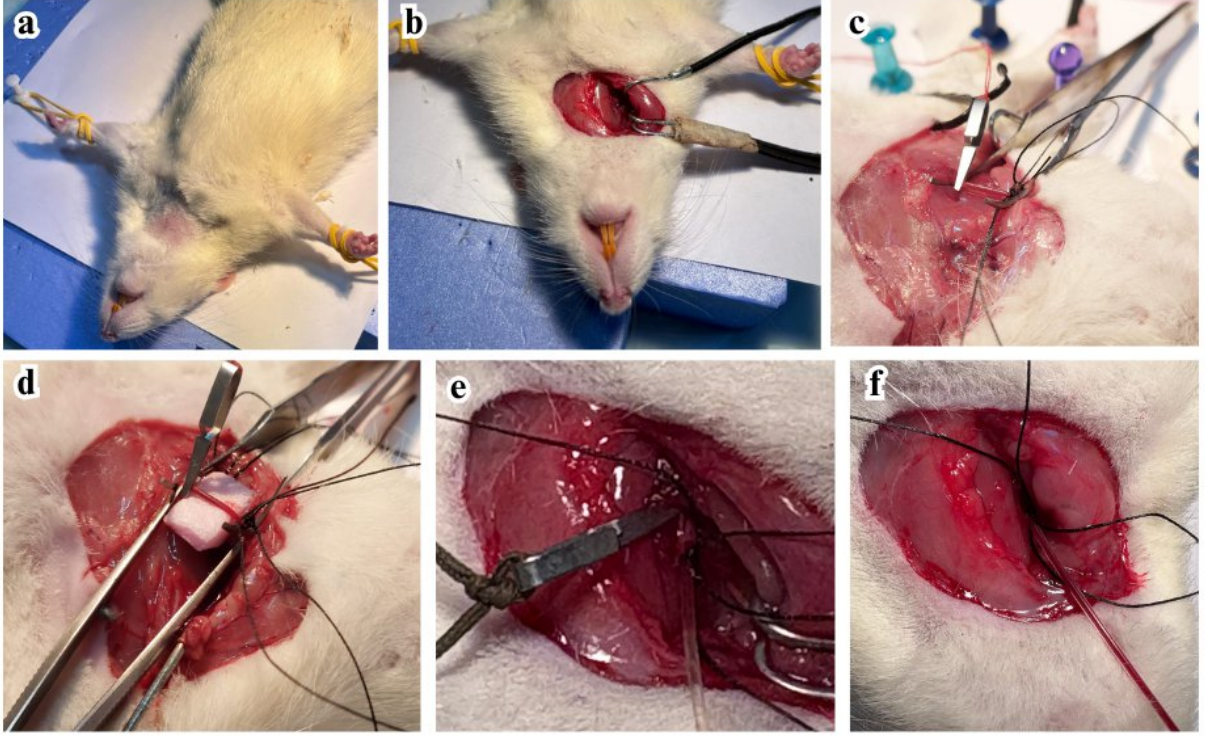
KA kuru toz halinde oda sıcaklığında uygulama gününe kadar muhafaza edildi. İlaçlar uygulama günleri günlük taze olarak hazırlandı. Gruplara 10 mg/kg, 30 mg/kg ve 100 mg/kg olarak tartılan KA, 100 g sıçan ağırlığı başına 0.5 ml SF ile çözdürüldü. Enjeksiyon işlemi sağ ya da sol abdominal bölgeye 45 derecelik açıyla her gün 10.00-11.00 arası uygulandı.

### **3.6 İntrakavernöz Basınç Ölçümü**

Operasyon odası ölçümden bir gün önce hazırlandı ve gerekli sterilizasyon işlemleri yapıldı.

Sıçanlara ketamin/ksilazin (80 mg/kg-15mg/kg) intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezi uygulandı. Anestezi derinliği parmak kısırtma ile test edildi. Ardından sıçanlar diseksiyon tablasına baş aşağı olacak şekilde supin pozisyonunda tespit edildi. Boyun bölgesi tıraş edildi ve %10'luk povidon iyot ile temizlendi. 3-4 cm uzunluğunda transvers boyun insizyonu yapıldı. Tükürük bezi ve lenf nodları ekarte edilerek sternohyoid kası görüldü. Sternohyoid kas diseke edildikten sonra vagus siniri ve juguler ven gibi hayati dokulara zarar vermeden sol karotid arter tespit edildi. Artere kanül takılması amacıyla öncelikle kraniyel tarafında 4.0 cerrahi iplik yardımıyla ligasyon yapıldı. Ligasyon yerinden 1,5 cm aşağıdan damar klempisi yardımıyla kan akışı tamamen durduruldu. Ardından 22G enjektör ucuyla kan akışının durdurulduğu bölgeye kan akışına karşı olacak şekilde 15-30 derecelik açıyla girildi. Ardından yavaşça enjektör ucu çıkarıldı ve 250 ml/ünite SF içeren, bir ucu basınç transdusera bağlı polietilen-50 (PE-50) kanül yerleştirildi. Kanül 4.0 cerrahi

iplik yardımıyla karotid artere bağlandı. Son olarak kan akışını tekrar açmak için damar klemp ve cerrahi iplik açıldı. Açık bölge SF ile ıslatılmış gazlı bezle üstü kapatıldıktan sonra sıçan intrakavernöz basınç ölçümü cerrahisi için uygun pozisyona getirildi (Şekil 12).

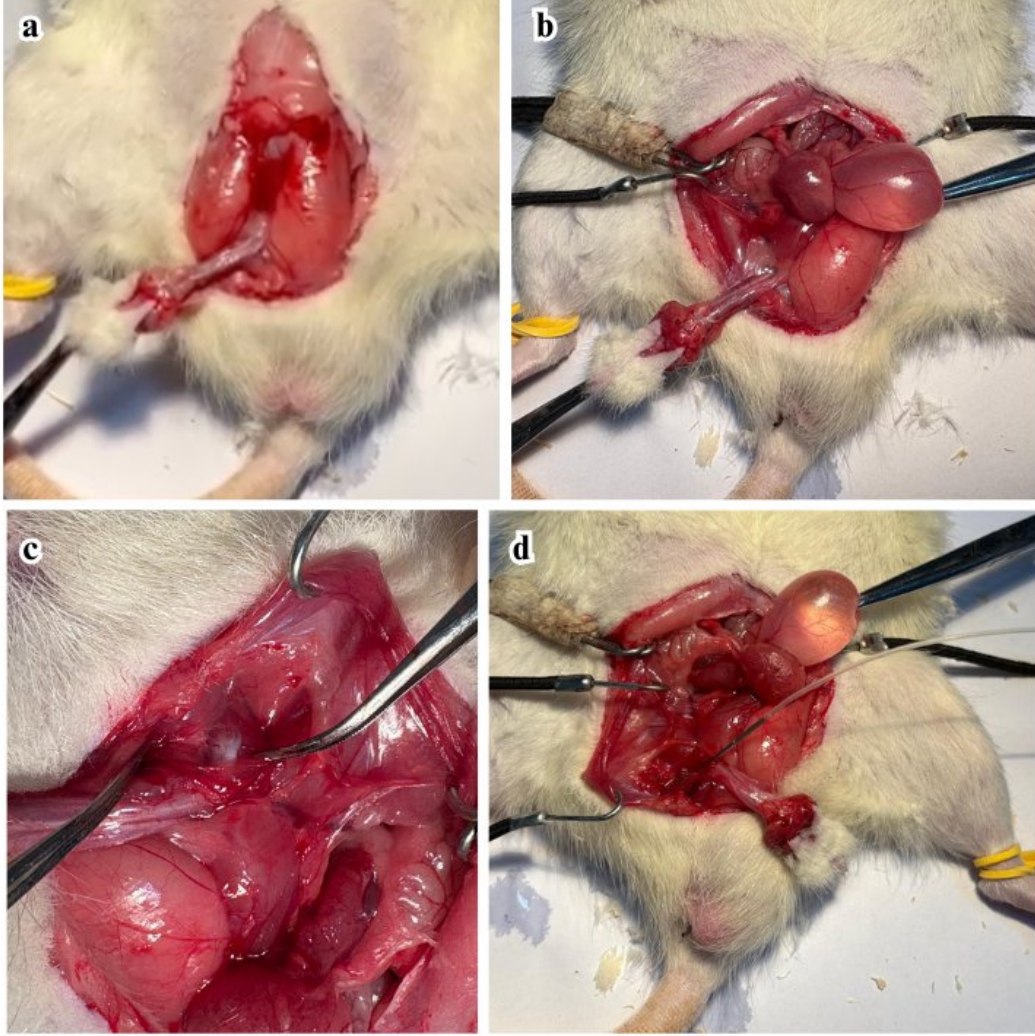


Şekil 12 İntrakavernöz Katater Yerleştirme. a) Boyun bölgesinin tıraşlanması, b) Bölge kaslarının diseksiyonu, c) Karotid arterin tespiti, d) Karotid arterin uygun pozisyona alınması e) Kateter yerleştirilmesi, f) Kan akışının kontrolü

BKSH modeli sonrası sütüre edilen abdomen bölgesi tekrar insize edildi. Adipöz ve musküler dokular ekarte edildi. Mesane lateral tespiti yapıldı ve testis üst abdomene alındı. Prostat dorsolateralinde yer alan sağ KS tespit edildi (Şekil 12).

Alt abdomen insize edildi. Penise hasar vermeden çevre dokular ayrıştırıldı ve penis serbestleştirildi. Ardından cerrahi makas ile iskiokavernöz kasın altında bulundan sağ korpus kavernozum görüldü. Serbest haldeki penis, pens yardımıyla yatay konuma getirildikten sonra, bir ucu basınç transdüserine bağlı olan 27G enjektör ucu içeren polivinil kanül, sağ korpus kavernozuma tek hamlede yerleştirildi. Yerleştirilen yerin kontrolü ve sızdırma olup

olmadığının tespiti için 250 U/ml heparinize SF dokuya kanül aracılığıyla gönderildi (Şekil 13).



Şekil 13 Penis krusuna Kateter Yerleştirme. a) Penil dokunun çevresinin temizlenmesi ve penisin serbestleştirilmesi, b) Batının eksizyonu ve penis kökünün tespiti, c) Penis krusunun tespiti, d) Penis krusuna kateter yerleştirilmesi

Kavernöz dokuya kanül yerleştirilmeden önce tespit edilen sağ KS'ye bipolar elektrot yerleştirildi. Elektrod kablosu stimülatöre bağlandı ve stimülasyon parametreleri; 16 Hz, 1 ms süre; 4 ve 8 volt için 1 dakika şeklinde uygulandı. Elde edilen veriler MP 35 sistemi aracılığıyla bilgisayara kaydedildi.

### **3.7 Moleküler ve Histopatolojik Analizler**

#### **3.7.1 Doku Örneklerinin İzole Edilmesi**

İntrakavernöz basınç ölçümünün ardından penis izole edildi. Çevre dokular temizlendikten sonra penis dokusunun distal tarafından 0,5 cm uzunluğunda sirküler kesitler alındı. Histopatolojik çalışmalar amacıyla alınan doku örnekleri trim işlemi yapılmasının ardından nötral tamponlu %10 formaldehit solüsyonu bulunan bir kapta fikse edildi. Penil dokunun proksimal parçası ise moleküler testler için sıvı azotta dondurulup moleküler çalışmalar yapılana kadar -80°C’de derin dondurucuda saklandı.

Doku örneklerinin alımı tamamlandıktan sonra sıçanlar, kansızlaştırma yöntemi ile sakrifiye edildi.

#### **3.7.2 Western Blot Analizi**

##### **Örneklerin Hazırlanması**

Protein analizine başlanmadan önce, doku örneklerinin işlenmesi ve uygun koşullarda hazırlanması sağlandı. Protein miktarının tayini amacıyla Qubit™ Protein and Protein Broad Range (BR) Assay Kit (Cat No: Q33211) kullanıldı. Her bir örnek için 199 µL Qubit Protein Buffer ile 1 µL Qubit Protein Reagent karıştırılarak Qubit Buffer Mix hazırlandı. Ardından, ölçüm tüplerine (0,5 ml ependorf) 198 µL bu karışımdan ve 2 µL örnekten eklendi; 2 dakikalık inkübasyon süresi sonunda ölçümler gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar, dilüsyon katsayısı ile çarpılarak değerlendirildi.

Örneklerin elektroforez işlemine hazırlanabilmesi için öncelikle konsantrasyonları ayarlandı ve bu amaçla  $M1V1 = M2V2$  formülüyle gerekli hesaplamalar yapıldı. Her bir örnek için 2,5 µL LDS Sample Buffer, 1 µL Sample Reducing Agent ve hesaplanan miktarda

örnek kullanıldı. Distile su, toplam hacim 10 µL olacak şekilde tamamlandı. Hazırlanan bu karışımlar, analiz öncesi uygun şekilde inkübasyona alındı.

## **İnkübasyon**

Hazırlanan protein örnekleri, denatürasyon işlemi amacıyla 70 °C'de 10 dakika süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından örnekler, analiz zamanına kadar +4 °C'de veya buz üzerinde bekletildi.

## **Yürütme İşlemi**

Proteinlerin ayrıştırılması amacıyla Bolt™ 4–12% Bis-Tris Plus jel kullanılmış ve elektroforez işlemi 1X Running Buffer eşliğinde gerçekleştirilmiştir. İlk kuyucuğa protein marker yüklenmiş ve elektroforez, 200 voltluk gerilim altında yaklaşık 30–35 dakika sürdürüldü.

## **Membrana Transfer**

Proteinlerin membrana aktarımı Thermo Fisher Scientific IBlot 2 Dry Blotting System cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Jeller, saf su ile yıkanıp dikkatlice çıkarıldıktan sonra IBlot™ 2 Transfer Stacks sistemine yerleştirilmiş ve 20 voltluk gerilim altında 7 dakika süresince transfer işlemi uygulanmıştır. Transfer sonrasında membran, bloklama işlemi için 40 mL saf su, 10 mL 5X Buffer ve 500 µL 100X Additive solüsyonundan oluşan çözeltiye alınmış ve 5 dakika inkübe edildi.

## **Antikor Uygulaması**

Antikor uygulaması Invitrogen™ iBind™ Flex Western sisteminde gerçekleştirilmiştir. Membran, iBind™ Flex kartına 10 mL bloklama solüsyonu ile ıslatılarak yerleştirilmiş ve üzerine 1 mL ek bloklama solüsyonu uygulanmıştır. Primer ve

sekonder antikorların bağlanması işlemi, cihazın özel sistemi sayesinde yaklaşık 2,5 saat içerisinde tamamlanmıştır. Blotlama işlemi için antikor solüsyonları 2,5 mL'lik tüplerde blokama solüsyonu ile hazırlanmış, membran sabitlenerek kart üzerine yerleştirildi. iBind™ Flex cihazında 3 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bağlama sonrası membran, 1:1 oranında hazırlanan ECL solüsyonu (1 mL Luminol/Enhancer + 1 mL Peroksidaz solüsyonu) içerisine aktarıldı.

### **Görüntüleme**

Proteinlerin tespiti için kemilüminesans esaslı görüntüleme sistemi kullanılmıştır. Membran, karanlık ortamda 1:1 oranında hazırlanmış ECL solüsyonunda 5 dakika inkübe edilmiş ve sonrasında Genbox görüntüleme cihazında analiz edilmiştir. Görüntüler, bilgisayara bağlı yazılım aracılığıyla kaydedilmiştir. Her bir kuyucuğa yüklenen protein miktarı 50 µg olarak hesaplanarak jel yürütme işlemi bu doğrultuda gerçekleştirildi.

### **3.7.3 Histopatolojik Değerlendirme**

Histopatolojik değerlendirme için ayrılan penil dokular, içinde %10'luk formalin solüsyonu bulunan numaralı cam kavanozlarda tespit için bekletildi. Tespit sonrası dokular, artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Dokular dehidratasyon sonrası ksilenle muamele edilip şeffaflaştırıldı ve sonra parafine gömülerek bloklandı.

Elde edilen parafin bloklardan yarı otomatik mikrotom (Leica RM 2255, Nussloch, Almanya) yardımı ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Lam üzerine alınan kesitler deparafinizasyon için etüvde ısıtıldıktan sonra sırasıyla ksilen ve azalan dereceli alkol serilerinden geçirildi.

Üretici firma direktiflerine göre Masson trikrom boyası ile boyanan kesitler ışık mikroskopunda incelenerek mikroskoba entegre kamera ile fotoğraflandı.

Değerlendirmeler için Analysis 5 Research programı kullanıldı ve kesitlerde özellikle CC'lerdeki bağ doku-kolajen liflerin (mavi renkte) yoğunluğu semikantitatif olarak (0: normal (fibrozis yok), 1: hafif bağ dokusu/kolajen artışı (hafif fibrozis gelişimi), 2: orta düzeyde bağ dokusu/kolajen artışı (orta düzeyde fibrozis gelişimi) ve 3: şiddetli bağ dokusu/kolajen artışı (şiddetli fibrozis gelişimi) skorlandı. Ayrıca korpus kavernozumlardaki düz kas içeriği (kırmızı renkte) de (0: Normal (Azalma yok), 1: Hafif azalma, 2: Orta düzeyde azalma ve 3: Şiddetli azalma) şeklinde skorlandı (269,270).

### **3.7.4 Biyokimyasal Analizler**

#### **Total Protein Düzeylerinin Ölçümü**

Penil doku örneklerinde total protein düzeylerinin belirlenmesi amacıyla Thermo Scientific firmasına ait Coomassie Plus – The Better Bradford Assay kiti (Prod #23236) kullanılmıştır. Absorbans ölçümleri, Awareness Technology Inc. (Martin Hwy, Palm City, USA) üretimi Chromate 4300 marka ELISA okuyucu cihazı ile 595 nm dalga boyunda gerçekleştirildi. Elde edilen veriler Point-to-Point analizi yöntemiyle değerlendirilmiş ve sonuçlar  $\mu\text{g/mL}$  biriminde raporlandı. Ölçüm prosedürü kapsamında, standart çözeltiler ve örneklerden her biri 5  $\mu\text{L}$  olacak şekilde 96 kuyucuklu mikropalakaya yüklenmiş; her kuyucuğa 150  $\mu\text{L}$  Coomassie Plus reaktifi ilave edilerek 30 saniye süreyle çalkalanmıştır. Plaka kapağı kapatıldıktan sonra örnekler 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve ardından absorbans okumaları gerçekleştirildi. BSA (bovine serum albumin) standart çözeltileri, stok BSA'nın çeşitli oranlarda distile su ile seyreltilmesiyle hazırlanmış olup, blank olarak saf su kullanıldı.

#### **TNF- $\alpha$ Düzeylerinin Ölçümü**

Penil doku örneklerinde tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ) düzeylerinin ölçümü, Bioassay Technology Laboratory (Shanghai, China) Rat TNF- $\alpha$  ELISA kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Absorbans ölçümleri, Chromate 4300 marka ELISA okuyucu cihazı ile

450 nm dalga boyunda yapılmıştır. Elde edilen veriler, lineer regresyon analizi kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar ng/L cinsinden ifade edildi.

### **IL-6 Düzeylerinin Ölçümü**

Penil doku örneklerinde interlökin-6 (IL-6) düzeylerinin tayini, Bioassay Technology Laboratory (Shanghai, China) Rat IL-6 ELISA kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Absorbans okumaları Chromate 4300 marka ELISA okuyucu cihazında 450 nm dalga boyunda alınmıştır. Ölçüm sonuçları lineer regresyon analizi ile değerlendirilmiş ve ng/L biriminde raporlanmıştır.

### **MDA Düzeylerinin Ölçümü**

Penil doku örneklerinde malondialdehit (MDA) düzeylerinin tayini, Bioassay Technology Laboratory (Shanghai, China) Rat MDA ELISA kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Absorbans değerleri Chromate 4300 marka ELISA okuyucu cihazı ile 450 nm dalga boyunda ölçülmüş, veriler lineer regresyon analizi yöntemiyle analiz edilmiştir. Sonuçlar nmol/ml biriminde ifade edilmiştir.

## **3.8 İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analizler Graphad Prism v8.02 kullanılarak gerçekleştirildi. Ölçümle elde edilen veriler aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak ifade edildi ve normal dağılıma uygunluk Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi.

Vücut ağırlıkları, fonksiyonel veriler, maksimum İKB/OAB (m-İKB/OAB), toplam İKB/OAB (t-İKB/OAB) ve moleküler verilerin karşılaştırılması için tek yönlü ANOVA ve ardından post-hoc Tukey testi yapıldı.

Histopatolojik verilerin karşılaştırılması için nonparametrik testler arasında yer alan Mann-Whitney U testi kullanıldı.

İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p<0,05$  olarak kabul edildi

## 4. BULGULAR

### 4.1 Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlıkları ve Genel Sağlık Durumlarının Değerlendirilmesi

Sıçanların genel sağlık durumlarını değerlendirmek amacıyla günlük olarak ağırlık ölçümü yapıldı. Periyodik gözlemlerde, protokol süresince grupların günlük su ve yem tüketim miktarlarının benzer olduğu gözlemlendi. Deneylerin başlangıç ve bitiş günlerinde ölçülen vücut ağırlıkları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. (Tablo: 7)

Tablo 7 Sıçan Ağırlıkları

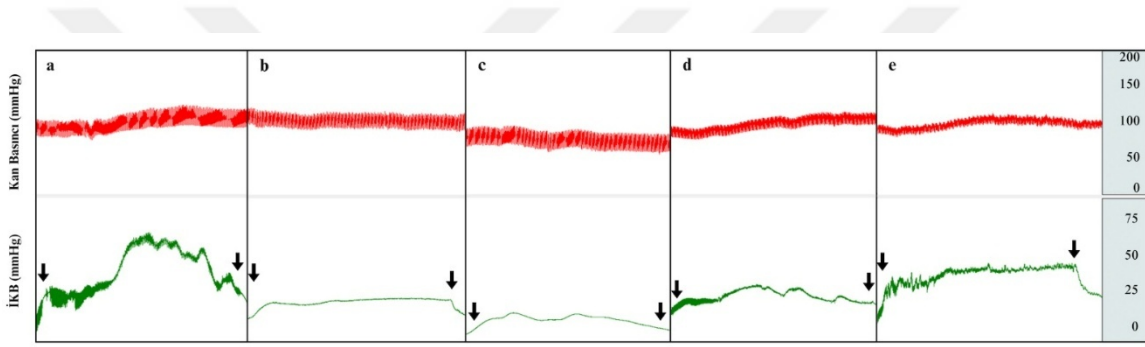
| Grup                 | Ağırlık (1.gün) (g) | Ağırlık (15. Gün) (g) |
|----------------------|---------------------|-----------------------|
| <b>Kontrol</b>       | 346 ± 22,56         | 346,67 ± 19,91        |
| <b>BKSH</b>          | 350,00 ± 24,49      | 348,50 ± 24,09        |
| <b>BKSH + 10 mg</b>  | 340,00 ± 20,97      | 340,20 ± 20,24        |
| <b>BKSH + 30 mg</b>  | 330,40 ± 21,62      | 330,60 ± 20,40        |
| <b>BKSH + 100 mg</b> | 331,60 ± 24,27      | 332,80 ± 24,27        |

\* $p<0,05$  altında istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

### 4.2 İntrakavernöz Basınç Ölçüm Sonuçları

Sıçanlarda fonksiyonel erektil fonksiyon değerlendirmesi, KS stimülasyonu sonrası meydana gelen intrakavernöz basınç (İKB) değişimleri üzerinden gerçekleştirildi. Düşük, orta ve yüksek doz KA tedavisinin BKSH ile indüklenen ED üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla, 4V ve 8V elektriksel stimülasyon koşullarında elde edilen maksimum İKB/OAB (m-İKB/OAB) oranları ve toplam İKB/OAB (t-İKB/OAB) değerleri karşılaştırıldı.

#### 4.2.1 4 Volt Stimülasyon ile Ölçülen Maksimum İKB/OAB Oranı ve Toplam İKB/OAB Değerleri



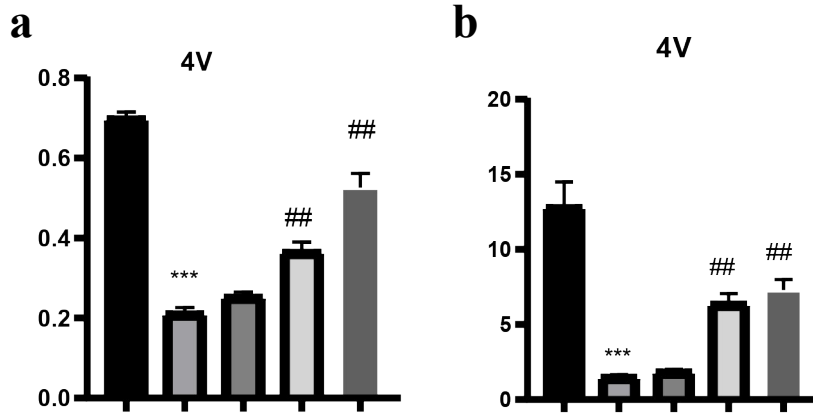
Şekil 14 Kavernoöz sinirlerin 60 saniye boyunca 4V stimülasyonu sırasında kaydedilen OAB ve İKB değerleri için örnek traseler. a) Kontrol, b) BKSH, c) KA 10 mg/gün, d) KA 30 mg/gün, e) KA 100 mg/gün. Ok işaretleri uyarının başlangıç ve bitişini göstermektedir. OAB: Ortalama Arteriyel Basınç. İKB: İntrakavernöz Basınç. BKSH: Bilateral Kavernoöz Sinir Hasarı KA: Klorojenik asit.

4V elektriksel stimülasyon ile ölçülen m-İKB/OAB ve t-İKB/OAB değerleri gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdi (Şekil 14).

Kontrol grubunda m-İKB/OAB oranı ortalama  $0.70 (\pm 0.03)$  iken, BKSH grubunda bu oran anlamlı şekilde azalarak  $0.21 (\pm 0.03)$ 'e düştü. Düşük (10 mg/kg), orta (30 mg/kg) ve yüksek (100 mg/kg) doz KA tedavisi uygulanan gruplarda m-İKB/OAB oranları sırasıyla  $0.25 (\pm 0.02)$ ,  $0.36 (\pm 0.05)$  ve  $0.52 (\pm 0.08)$  olarak ölçüldü (Tablo 8). Orta ve yüksek doz KA tedavisi, BKSH grubuna kıyasla m-İKB/OAB oranlarında anlamlı bir artış sağladı ( $p < 0,001$ ) (Şekil 11).

Tablo 8 Kavernöz sinirlerin 60 saniye boyunca 4V stimülasyonu sırasında kaydedilen m-İKB/OAB ve t-İKB değerleri

|                          | 4v m-İKB/OAB | 4v t-İKB/OAB |
|--------------------------|--------------|--------------|
| <b>Kontrol</b>           | 0,70 ± 0,03  | 12,83 ± 4,05 |
| <b>BKSH</b>              | 0,21 ± 0,03  | 1,52 ± 0,30  |
| <b>BKSH+KA 10 mg/kg</b>  | 0,25 ± 0,02  | 1,87 ± 0,34  |
| <b>BKSH+KA 30 mg/kg</b>  | 0,36 ± 0,05  | 6,38 ± 1,63  |
| <b>BKSH+KA 100 mg/kg</b> | 0,52 ± 0,08  | 7,29 ± 1,69  |

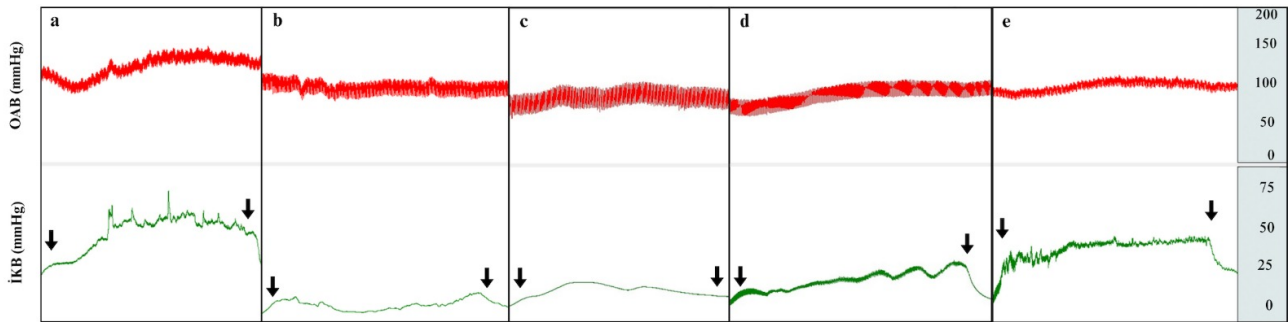


Şekil 15 Kavernöz sinirlere 4V elektriksel stimülasyon ile hesaplanan m-İKB/OAB ve t-İKB/OAB Değerleri. (a) 14 günlük BKSH ve KA tedavisinin m-İKB/OAB oranları. (n=5-6) (b) 14 günlük BKSH ve KA tedavisinin t-İKB/OAB oranları (n=5-6) . Değerler ortalama ± standart hata (SH) olarak ifade edilmiştir. \*Kontrolle göre karşılaştırıldığında. (\*\*\*)p < 0,001). # BKSH'eye göre karşılaştırıldığında (#p < 0,05, ##p < 0,01). BKSH: Bilateral Kavernöz Sinir Hasarı. KA: Klorojenik asit. m-İKB/OAB: Maximum-İntrakavernöz Basınç/Ortalama Arter Basıncı. t-İKB/OAB: Toplam-İntrakavernöz Basınç/Ortalama Arter Basıncı.

Benzer şekilde, kontrol grubunda t-İKB/OAB değeri ortalama 12.83 (±4.05) iken, BKSH grubunda bu değer belirgin bir şekilde azalarak 1.52 (±0.30)'e geriledi. KA tedavisi alan gruplarda t-İKB/OAB değerleri 10 mg, 30 mg ve 100 mg dozlarında sırasıyla

1.87( $\pm$ 0.34), 6.38 ( $\pm$ 1.63) ve 7.29 ( $\pm$ 1.69) olarak bulundu. Özellikle 30 mg ve 100 mg KA tedavileri, BKSH grubuna kıyasla t-İKB/OAB değerlerinde anlamlı artış gösterdi ( $p < 0.001$ ). (Şekil 15)

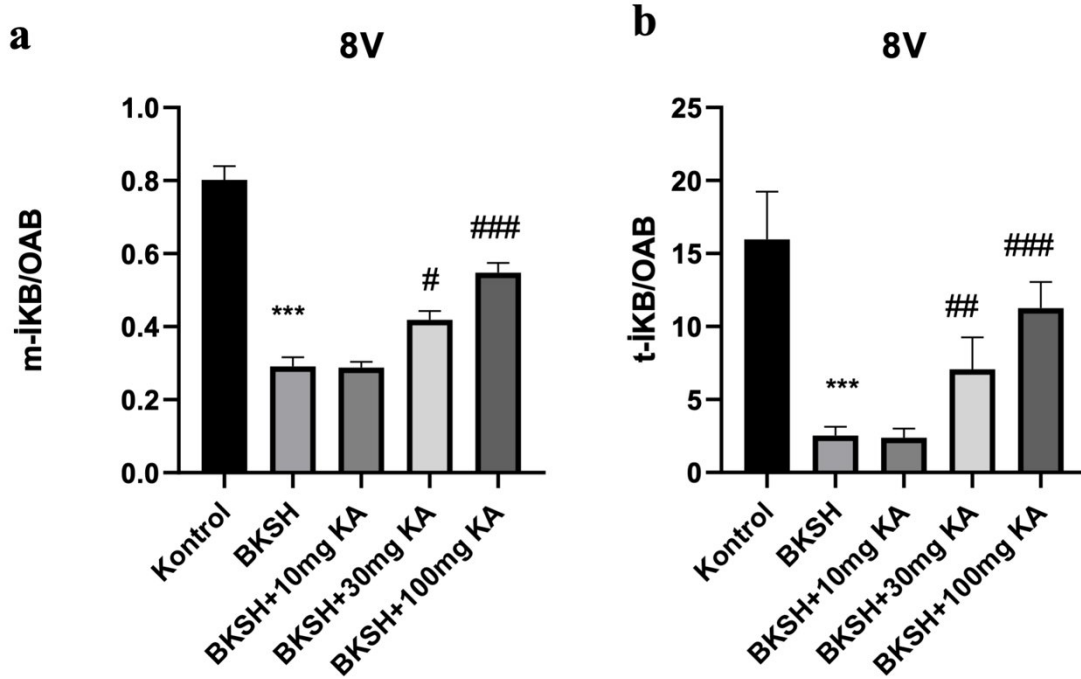
#### 4.2.2 8 Volt Stimülasyon ile Ölçülen Maksimum İKB/OAB Oranı ve Toplam İKB/OAB Değerleri



Şekil 16 Kavernöz sinirlerin 60 saniye boyunca 8V stimülasyonu sırasında kaydedilen OAB ve İKB değerleri için örnek traseler. a) Kontrol, b) BKSH, c) KA 10 mg/gün, d) KA 30 mg/gün, e) KA 100 mg/gün. Ok işareti uyarının başlangıç ve bitişini göstermektedir. OAB: Ortalama Arteriyel Basınç. İKB: İntrakavernöz Basınç. BKSH: Bilateral Kavernöz Sinir Hasarı. KA: Klorojenik asit

8V elektriksel stimülasyon ile ölçülen m-İKB/OAB ve t-İKB/OAB değerleri gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdi (Şekil 16).

Kontrol grubunda m-İKB/OAB oranı ortalama 0.80 ( $\pm$ 0.09) iken, BKSH grubunda bu oran belirgin şekilde azalarak 0.29( $\pm$ 0.05)'e düştü. Düşük (10 mg/kg), orta (30 mg/kg) ve yüksek (100 mg/kg) doz KA tedavisi uygulanan gruplarda m-İKB/OAB oranları sırasıyla 0.28( $\pm$ 0.03), 0.41( $\pm$ 0.05) ve 0.54( $\pm$ 0.06) olarak ölçüldü (Tablo 9). Özellikle orta ve yüksek doz KA uygulamaları, BKSH grubuna göre anlamlı bir artış sağladı ( $p < 0,001$ ).



Şekil 17 Kavernöz sinirlere 8V stimülasyon ile hesaplanan m-İKB/OAB ve t-İKB/OAB Değerleri. (a) 14 günlük BKSH ve KA tedavisinin m-İKB/OAB oranları. (n=5-6) (b) 14 günlük BKSH ve KA tedavisinin t-İKB/OAB oranları (n=5-6) . Değerler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak ifade edilmiştir. . \*Kontrole göre karşılaştırıldığında. (\*\*\*)  $p < 0,001$ . # BKSH'eye göre karşılaştırıldığında (#  $p < 0,05$ , ##  $p < 0,01$ , ###  $p < 0,005$ ). BKSH: Bilateral Kavernöz Sinir Hasarı. KA: Klorojenik asit. m-İKB/OAB: Maximum-İntrakavernöz Basınç/Ortalama Arter Basıncı. t-İKB/OAB: Toplam-İntrakavernöz Basınç/Ortalama Arter Basıncı.

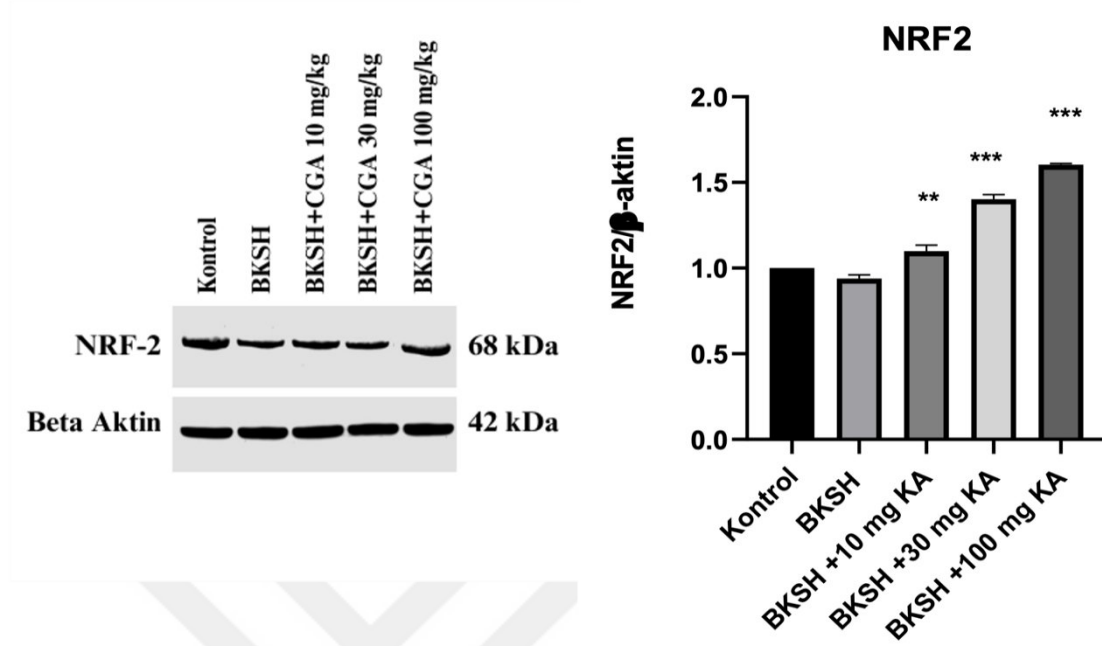
Benzer şekilde, kontrol grubunda t-İKB/OAB değeri ortalama 15.96 ( $\pm 3.27$ ) iken, BKSH grubunda bu değer anlamlı şekilde azalarak 2.54 ( $\pm 0.59$ ) seviyesine indi. KA tedavisi alan gruplarda t-İKB/OAB değerleri 10 mg, 30 mg ve 100 mg dozlarında sırasıyla 2.39( $\pm 0.61$ ), 7.07( $\pm 2.18$ ) ve 11.27( $\pm 1.79$ ) olarak bulundu. Orta ve yüksek doz KA uygulamaları, BKSH grubuna göre anlamlı düzeyde iyileşme sağladı ( $p < 0,005$ ). (Şekil 17)

Tablo 9: Kavernöz sinirlerin 60 saniye boyunca 8V stimülasyonu sırasında kaydedilen m-İKB/OAB ve t-İKB değerleri

|                          | 8v m-İKB/OAB | 8v t-İKB/OAB |
|--------------------------|--------------|--------------|
| <b>Kontrol</b>           | 0,80 ± 0,09  | 15,96 ± 3,27 |
| <b>BKSH</b>              | 0,29 ± 0,05  | 2,54 ± 0,59  |
| <b>BKSH+KA 10 mg/kg</b>  | 0,28 ± 0,03  | 2,39 ± 0,61  |
| <b>BKSH+KA 30 mg/kg</b>  | 0,41 ± 0,05  | 7,07 ± 2,18  |
| <b>BKSH+KA 100 mg/kg</b> | 0,54 ± 0,06  | 11,27 ± 1,79 |

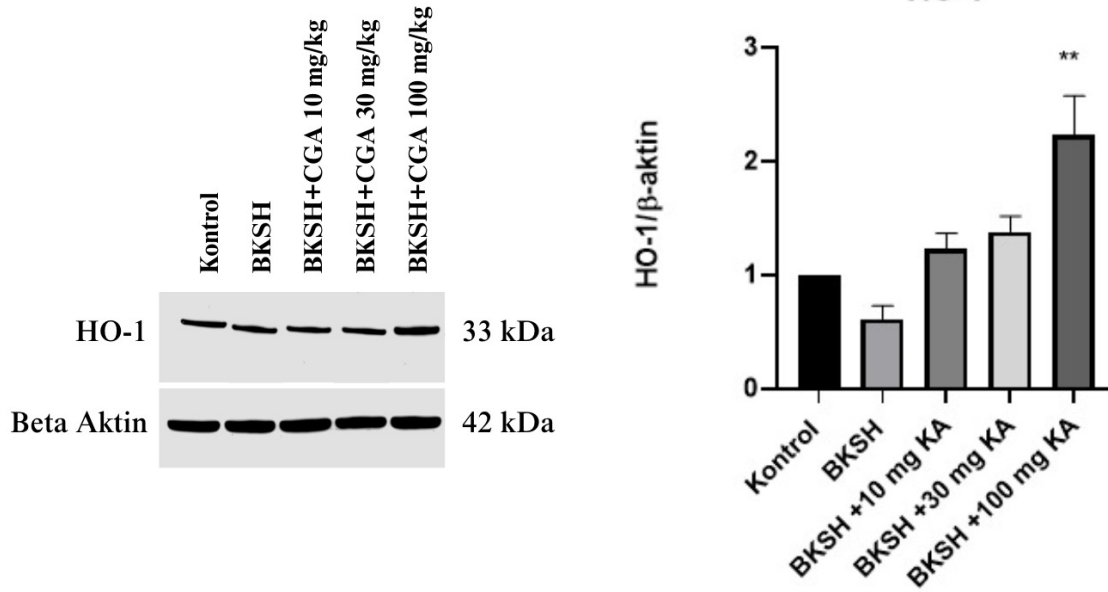
#### 4.3 Kavernöz Dokuda NRF2 ve HO-1 Protein Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi

BKSH grubunun kavernöz dokularındaki NRF2 protein ekspresyon seviyeleri, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı azalma saptanmamıştır. KA tedavisi uygulanan BKSH gruplarında ise, NRF2 ekspresyon düzeyleri hasar grubuna kıyasla anlamlı derecede artış göstermiştir. Bu artış, 10, 30 ve 100 mg/kg dozlarında uygulanan KA ile birlikte doz bağımlı şekilde belirginleşmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ ) (Şekil 18).



Şekil 18 Kavernoöz dokuda NRF2 protein ekspresyon düzeyleri. 14 günlük BKSH ve KA tedavisinin penis NRF2 ekspresyon düzeyi üzerine etkileri (n=5-6). Western blot analizi ile belirlenen NRF2 düzeyleri, β-aktin proteini referans alınarak normalize edilmiştir. Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak sunulmuştur. \*Kontrole göre karşılaştırıldığında. (\*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001). BKSH: Bilateral kavernoöz sinir hasarı. NRF2: Nükleer Faktör Eritroid 2 ile ilişkili Faktör. KA: Klorojenik Asit

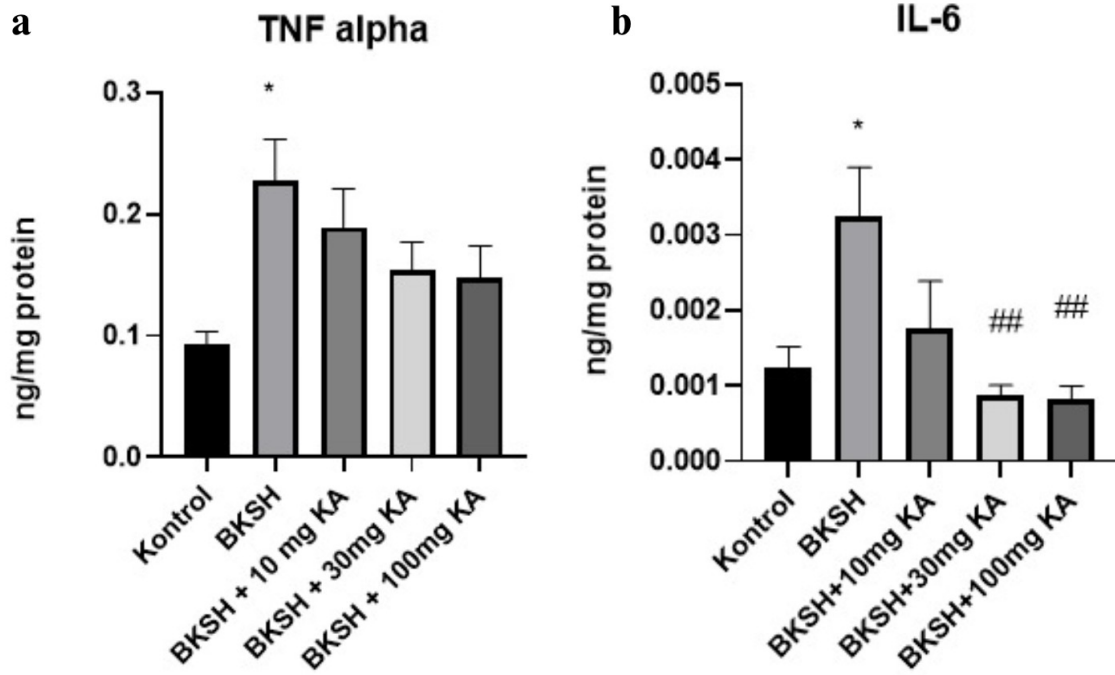
KS hasarı oluşturulan gruplarda HO-1 protein ekspresyon seviyeleri, Kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde artış göstermiştir. KA tedavisi uygulanan gruplarda HO-1 düzeyleri, tedavi almayan BKSH grubuna göre artış göstermiş; bu artış doz bağımlı bir eğilim sergilemiştir. Ancak, 10 ve 30 mg/kg KA uygulanan gruplar ile BKSH grubu arasında HO-1 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir. Bununla birlikte 100 mg/kg KA uygulanan grupta, HO-1 protein ekspresyonundaki artış BKSH grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p < 0,01) (Şekil 19).



#### 4.4 Kavernöz Dokuda TNF-α ve IL-6 Düzeyleri ile İnflamatuvar Yanıtın İncelenmesi

Şekil 19 Kavernöz dokuda HO-1 protein ekspresyon düzeyleri. 14 günlük BKSH ve KA tedavisinin penis HO-1 ekspresyon düzeyi üzerine etkileri (n=5-6). Western blot analizi ile belirlenen HO-1 düzeyleri, β-aktin proteini referans alınarak normalize edilmiştir. Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak sunulmuştur. \*Kontrolle göre karşılaştırıldığında. \*\*p < 0,01). BKSH: Bilateral kavernöz sinir hasarı. HO-1: Hem Oksijenaz-1 KA: Klorojenik Asit

BKSH grubunda TNF-α düzeyi, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artmıştır (\*p < 0,05). Bu bulgu, BKSH' in inflamatuvar yanıtı artırdığını göstermektedir. KA tedavisi uygulanan gruplarda ise TNF-α düzeyleri doza bağlı olarak azalma eğilimi göstermiştir. Özellikle 30 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarında, TNF-α düzeyleri BKSH grubuna göre daha düşük bulunmuş ancak istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (20a).



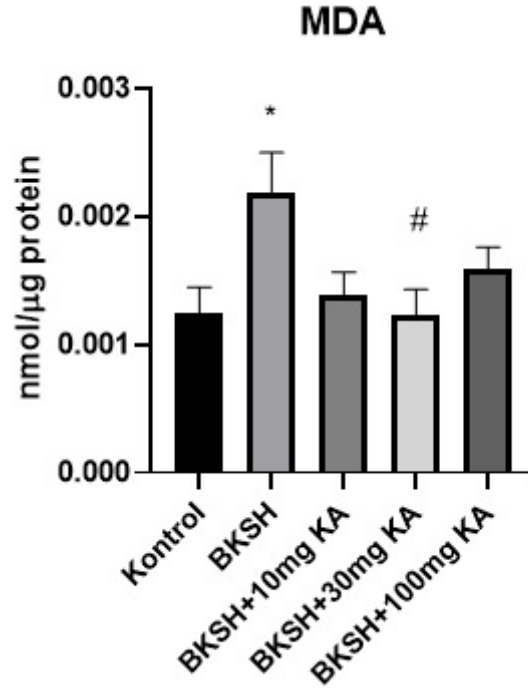
Şekil 20 Kavernöz dokuda TNF- $\alpha$  , IL-6 düzeyleri (a) 14 günlük BKSH ve KA tedavisinin penis TNF alfa düzeyi üzerine etkileri (n=5-6). (b) 14 günlük BKSH ve KA tedavisinin penis IL-6 üzerine etkileri (n=5-6). Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak sunulmuştur. \*Kontrole göre karşılaştırıldığında. (\*p < 0,05). # BKSH'eye göre karşılaştırıldığında ##p < 0,01). BKSH: Bilateral kavernöz sinir hasarı. TNF alfa: Tümör nekroz faktörü alfa. IL-6: İnterlökin 6. KA: Klorojenik Asit.

BKSH grubunda IL-6 düzeyi, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artmıştır (\*p < 0,05). KA tedavisi uygulanan gruplarda ise IL-6 düzeylerinde doza bağlı olarak azalma gözlenmiştir. Özellikle 30 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarında, IL-6 düzeyleri BKSH grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azalmıştır (\*p < 0,05). 10 mg/kg dozunda da azalma eğilimi gözlene de istatistiksel anlamlılık elde edilememiştir (20b).

#### 4.5 Kavernöz Dokuda Malondialdehit Düzeyleri ile Oksidatif Hasarın Değerlendirilmesi

Kavernöz doku örneklerinde ölçülen malondialdehit (MDA) düzeyleri, gruplar arasında anlamlı farklılık göstermiştir. BKSH grubunda MDA düzeyi, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artmıştır (\*p < 0,05). KA uygulanan gruplarda ise MDA düzeyleri, BKSH grubuna göre azalma eğilimi göstermiştir. Özellikle 30 mg/kg dozunda uygulanan KA, MDA düzeylerini anlamlı düzeyde azaltmıştır (\*p < 0,05). KA 10 mg/kg ve 100 mg/kg

dozlarında da düşüş gözlenmiş olsa da bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. (21)

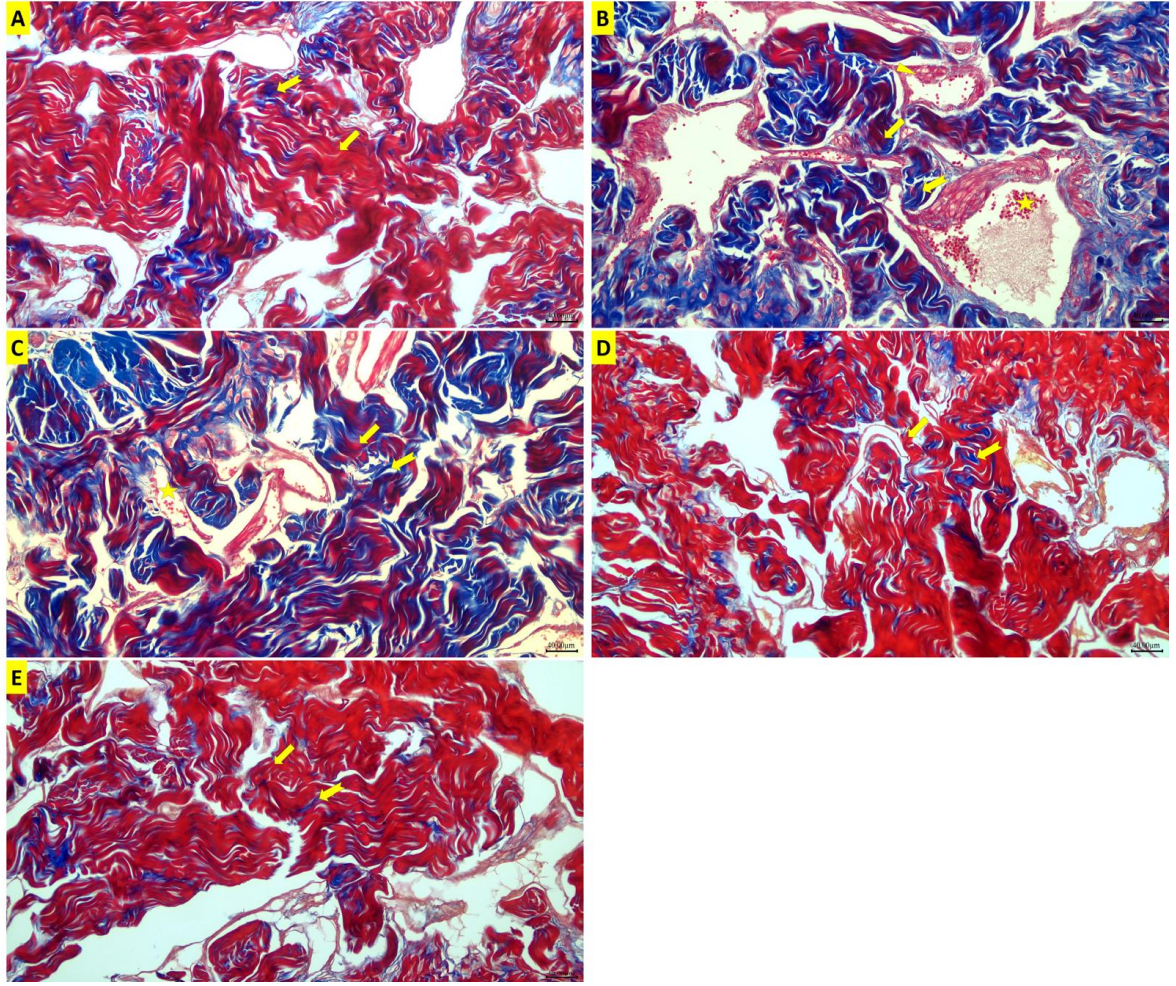


Şekil 21 Kavernöz doku MDA düzeyleri. 14 günlük BKSH ve KA tedavisinin penis MDA düzeyi üzerine etkileri (n=5-6). Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak sunulmuştur. \*Kontrole göre karşılaştırıldığında. (\*p < 0,05). # BKSH'ye göre karşılaştırıldığında #p < 0,05) BKSH: Bilateral kavernöz sinir hasarı. KA: Klorojenik Asit. MDA: Malondialdehit

#### 4.6 Kavernöz Dokuda Masson Trikrom Boyama ile Fibrozis ve Histopatolojik Değişikliklerin İncelenmesi

Kontrol grubuna ait penis dokularında (Şekil 22A); korpus kavernozumlarda endotelle çevrili geniş lümenli sinüzoidler ve çevrelerinde normal görünümde düz kas ve bağ doku mevcuttu.

BKSH grubuna ait penis dokularında (Şekil 22B); korpus kavernozumlardaki sinüzoid duvarlarında kalınlaşma ve belirgin sinüzoidal konjesyon mevcuttu. Ayrıca korpus kavernozumlardaki düz kas miktarı azalırken bağ doku ve kolajen miktarının ileri derecede arttığı görüldü.



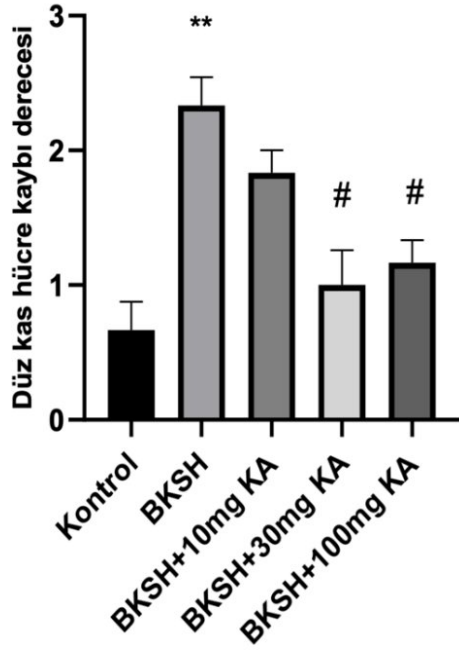
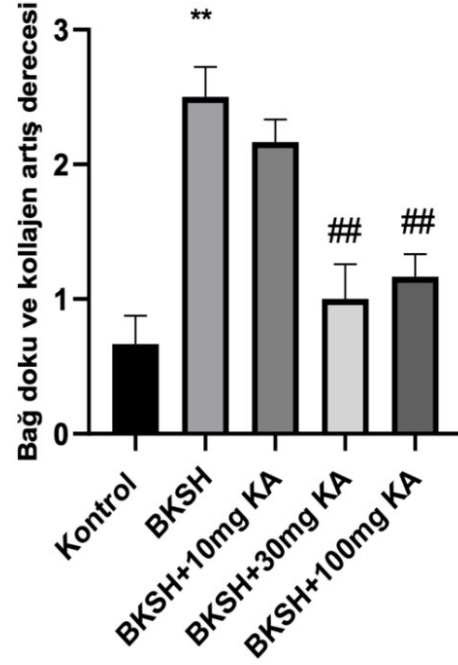
Şekil 22 Kavernöz doku Masson Trikrom Boyama Histopatolojisi. Resim A. Grup kontrole ait penis kesiti. Düz kas (sarı ok), kolajen lifler ve bağ doku (çentikli ok), (Masson Trikrom; X200). Resim B. Grup bilateral kavernöz sinir hasarı (BKSH) grubuna ait penis kesiti. Düz kas (Ok), kolajen lifler ve bağ doku (çentikli ok), sinüzoidal duvar kalınlaşması (ok başı), intravasküler konjesyon (yıldız), (Masson Trikrom; X200). Resim C Grup BKSH+10 mg ilaç grubuna ait penis kesiti. Düz kas (Ok), kolajen lifler ve bağ doku (çentikli ok), intravasküler konjesyon (yıldız), (Masson Trikrom; X200). Resim D Grup BKSH +30 mg ilaç grubuna ait penis kesiti. Düz kas (Ok), kolajen lifler ve bağ doku (çentikli ok), (Masson Trikrom; X200). Resim E Grup BKSH +100 mg ilaç grubuna ait penis kesiti. Düz kas (Ok), kolajen lifler ve bağ doku (çentikli ok), (Masson Trikrom; X200).

Grup BKSH+10 mg KA ilaç grubuna ait penis dokularında (Şekil 22C); korpus kavernozumlardaki sinüzoid duvarı kalınlaşmasında BKSH grubuna göre azalma mevcuttu ancak sinüzoidal konjesyon azalmakla birlikte devam etmekteydi. Korpus kavernozumlardaki düz kas miktarındaki azalma ve bağ doku ve kolajen miktarındaki artışın da devam ettiği görüldü.

Grup BKSH+30 mg KA ve Grup BKSH+100 mg KA ilaç gruplarına ait penis dokularında (Şekil 22D, Şekil 22E) sinüzoid duvarı kalınlaşması ve sinüzoidal konjesyonun BKSH grubuna göre belirgin olarak azaldığı görüldü. Bağ doku ve kolajen miktarı kontrole benzer şekilde azalırken düz kas miktarı BKSH grubuna göre artmış olarak izlendi.

Masson Trikrom boyama ile yapılan histopatolojik değerlendirme sonucunda, BKSH grubunda kavernöz doku düzeyinde fibrozis skorunun kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede arttığı ve düz kas skorunun ise anlamlı şekilde azaldığı gözlenmiştir. Bu bulgular, sinir hasarına bağlı olarak kavernöz dokuda yapısal bütünlüğün bozulduğunu göstermektedir.

KA tedavisi uygulanan gruplarda ise fibrozis skoru, BKSH grubuna kıyasla doza bağımlı olarak azalmış; özellikle 30 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarında bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (\*\*p <0,01) (Şekil 23a). Benzer şekilde düz kas skorunda da tedaviye bağlı anlamlı iyileşmeler gözlenmiştir. 30 mg/kg ve 100 mg/kg KA uygulamaları, düz kas içeriğini koruyarak yapısal bütünlüğün yeniden sağlanmasına katkı sağlamıştır (\*\*p <0,01, \*\*\*p <0,001) (Şekil 23b).

**a****b**

Şekil 23 Penil dokuda fibrozis skorları. A) Düz Kas Hücre Kaybı. B) Bağ Doku/Kolajen artış Dereceleri. Fibrozis skoru: 0: Yok, 1: Hafif, 2: Orta, 3: Şiddetli. Düz kas skoru: 0: Normal, 1: Hafif azalma, 2: Orta düzeyde azalma, 3: Şiddetli azalma. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak sunulmuştur. \*Kontrol vs. BKSH; #BKSH vs. BKSH+KA (\*\* $p < 0,01$ ) # BKSH'ye göre karşılaştırıldığında # $p < 0,05$ . ## $p < 0,01$ . BKSH: Bilateral Kavernöz Sinir Hasarı, KA: Klorojenik Asit.

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, BKSH ile oluşturulan ED modelinde, KA'nın NRF2/HO-1 sinyal yolları üzerinden sağladığı olası koruyucu etkiler değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, KA'nın antioksidan, antifibrotik ve anti inflamatuvar etki göstererek sinir hasarına bağlı gelişen fonksiyonel ve histopatolojik bozulmaları hafifletebileceğini göstermektedir.

Birçok tedavi modalitesi geliştirilmesine rağmen RP sonrası gelişen ED'nin tedavisi hala önemli bir sorun olarak güncelliğini korumaktadır. Bu nedenle doğal ve bitkisel maddelere olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Bu çalışmada, sıçanlarda bilateral kavernöz sinir hasarı (BKSH) ile oluşturulan erektil disfonksiyonu (ED) iyileştirmede klorojenik asidin (KA) terapötik potansiyeli ve altta yatan mekanizmalar fonksiyonel ve moleküler düzeyde araştırıldı. Gratzke ve ark. yaptığı çalışmada, çalışmamızda olduğu gib, BKSH sıçan modelinde 14. günde erektil fonksiyonun anlamlı olarak azaldığı ve ED geliştiği rapor edilmiştir (271). Bu çalışmada da 14 gün ilaç uygulaması yapılmıştır.

Önce, çalışmaya alınan her bir sıçanın birinci ve on beşinci günde vücut ağırlıkları ölçüldü. Hem kontrol hem de KA ile tedavi edilen gruplarında sıçanların vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. Ae-Sim Cho ve ark tarafından yüksek yağlı diyetle indüklenen farelerde KA'nın, kilo azaltıcı etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir. KA'nın bu etkisi yağ metabolizması üzerinde yaptığı değişikliklerle açıklanmıştır. Kanchanasurakit ve ark. tarafından obez insanlarda yapılan randomize kontrollü klinik çalışmaların meta-analizinde, KA'nın kilo azaltıcı etkisi olduğu gösterilmiştir. Çalışmalarda görülen bu anti-obez etki, KA'nın antioksidan ve anti inflamatuvar özelliklerine bağlanmıştır (272). Ancak, Soga ve ark. yaptığı KA ile 18 sağlıklı erkek denek üzerinde yapılan bir randomize klinik çalışmada, vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi izlenmemiştir. (273). Literatürde KA'nın sağlıklı insan ve hayvanlarda vücut ağırlığını düşürdüğüne dair bir rapor bildirilmemiştir. Bu araştırma normal diyetle beslenen sağlıklı ve normal kilolu sıçanlarda yapılmıştır. Çalışmaya alınan sıçanlarda kilo değişikliğinin olmaması araştırmanın güvenilirliği açısından önemlidir.

KA'nın ED üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla KS'ye 4 ve 8 voltluk elektriksel stimülasyon uygulandı. Eş zamanlı İKB ve OKB oranları ölçüldü. m-İKB/OAB ve t-İKB/OAB oranları hesaplandı. Her iki oranın da kontrol grubuna göre BKSH grubunda anlamlı olarak düştüğü gözlemlendi. Bu bulgu sıçanlarda erektil fonksiyonun bozulduğunu göstermektedir. Çalışmamızda, KA 30 mg ve 100 mg tedavi gruplarında ölçülen m-İKB/OAB ve t-İKB/OAB oranının BKSH grubuna göre anlamlı olarak arttığı gözlemlendi. Bu bulgu KA'nın bozulmuş ED üzerinde iyileştirici bir etkisi olduğunu göstermektedir. BKSH modeli ED'yi değerlendirmede ve ilaçların ED üzerine iyileştirici etkilerini araştırmada kullanılan etkili bir modeldir. Literatürde BKSH'den sonra ereksiyon fonksiyonunun azaldığını gösteren çalışmalarda kullanılan ilaçların (274–276) erektil fonksiyon üzerine iyileştirici etkileri m-İKB/OAB ve t-İKB/OAB oranları karşılaştırarak değerlendirmiştir. Hanney ve ark. BKSH ilgili çalışmaların yöntem ve sonuçlarını değerlendirdiği bir derlemede, çalışmaların sonuçlarında yakın benzerlik olduğu izlenmiştir (277). Çalışmamızda kullandığımız yöntem ve elde ettiğimiz veriler mevcut literatürle uyumlu olduğu görüldü.

Çalışmamızın en önemli bulgusu penil dokularındaki NRF2 ve HO-1 protein ekspresyon seviyelerindeki artışı. BKSH grubunda NRF2 düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı farklılık saptanmazken, BKSH+KA tedavisi uygulanan gruplarında NRF2 ekspresyon düzeyleri hem BKSH hem de kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artış göstermiştir (Şekil 5). HO-1 protein ekspresyon seviyeleri, BKSH gruplarda kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde artış göstermiştir. BKSH+KA gruplarında HO-1 düzeyleri, BKSH grubuna göre artış göstermiş, ancak bu artış sadece BKSH+KA 100 grubunda BKSH grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 6).

NRF2/HO-1 yolağı, hücrel savunma mekanizmalarının oksidatif stres ve inflamasyona karşı düzenlenmesinde temel bir rol oynamaktadır. NRF2, başta HO-1 olmak üzere birçok sitoprotektif enzimin ekspresyonunu kontrol eden bir transkripsiyon faktörüdür. Fizyolojik koşullar altında NRF2, Keap1 tarafından sitoplazmada tutulur. Oksidatif veya inflamatuvar stres durumlarında Keap1'den ayrılarak nükleusa transloke olur ve antioksidan

yanıt elementlerini aktive ederek hücrel korunmaya yönelik genlerin transkripsiyonunu başlatır (202,203). NRF2 sinyal yolağının yalnızca antioksidan kapasiteyi artırmakla kalmayıp; inflamasyon, apoptoz ve hücrel hayatta kalma gibi kritik süreçleri de düzenlediği gösterilmiştir. Bu özellikleri sayesinde kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar ve metabolik sendromlar gibi çeşitli patolojik durumlara karşı hücrel düzeyde koruyucu etkiler sağlamaktadır (205–207). Ayrıca, NRF2'nin; profibrotik gen ekspresyonunu baskılayarak ve TGF- $\beta$  gibi sinyal yollarını inhibe ederek fibrozisin düzenlenmesinde de önemli bir rol oynadığı, bu sayede aşırı ekstraselüler matriks birikimini sınırlayarak doku bütünlüğünü koruduğu bildirilmektedir (208–210).

KA nörolojik, kardiyovasküler, gastrointestinal, böbrek, karaciğer ve kanser gibi çeşitli alanlarda sahip olduğu farmakolojik özellikleri aracılığıyla koruyucu ve tedavi edici etkiler göstermektedir. Lu ve ark. yaptığı derleme çalışmasında KA'nın antioksidan, ve anti inflamatuvar etkileri olduğu ve hücre ölümünü engellediğini ortaya koymaktadır (257). Hada ve ark. KA'nın, hem in vivo hem de in vitro olarak NRF2/HO-1 yolu üzerinden diyabete bağlı endotelial yaşlanmayı engellediğini göstermiştir (278). Han ve ark. KA, deksametazon ile indüklenen apoptoz ve osteoporozun ilerlemesini, NRF2/HO-1 anti-oksidatif yolu aktive ederek engellediğini göstermişler (279).

NRF2/HO-1 yolağı özellikle diabetes mellitus gibi metabolik bozukluklarla ilişkili ED patofizyolojisinde merkezi bir rol oynamaktadır. NRF2 aktivasyonu, HO-1 gibi antioksidan ve anti-inflamatuvar genlerin ekspresyonunu indükleyerek; vasküler bütünlüğün, nörolojik işlevin ve penil dokunun yapısal sağlığının korunmasına katkı sağlar (211,212). Diyabetik ED modellerinde, *Rhodiola rosea* kökenli doğal bir bileşik olan salidroside, NRF2/HO-1 aktivasyonu yoluyla oksidatif stres ve apoptozu azaltarak terapötik etki göstermiştir. Ayrıca, Alves-Lopes ve ark. yaptığı çalışmada sistemik oksidatif strese karşı yetersiz NRF2 yanıtlarının kalıcı endotel disfonksiyonuna yol açarak ED'yi ağırlaştırabileceğini bildirilmektedir. (214). Wang ve ark. yaptığı çalışmalarda Anjiyotensin II reseptör blokörü olan losartan, yaşlı sıçan modellerinde NRF2/HO-1 yolağı üzerinden oksidatif hasarı azaltıp korporal apoptozu baskılayarak erektil fonksiyonu iyileştirmiştir (215,216). Song ve ark. yaptığı çalışmada ise dimetil fumaratın NRF2'yi aktive ederek sinir

hasarına bağı ED'yi hafiflettiğı gösterilmiştir (280). Benzer şekilde, Jiang ve ark. da kurkuminin de diyabetik ED modelinde NRF2/HO-1 yolunu aktive ederek erektil fonksiyonu iyileştirdiğı bildirmiştir (211). Bizim çalışmamızda KA'nın, KS hasarına bağı erektil disfonksiyonu NRF2 ve HO-1'i artırarak ve oksidan stresi azaltarak iyileştirdiğini düşünmekteyiz.

Anti inflamatuvar etkiyi değerlendirmek için penil dokuda TNF- $\alpha$  ve IL-6 değerleri ölçüldü. BKSH grubunda TNF- $\alpha$ , IL-6 ve MDA düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artmıştır. Bu bulgu, BKSH'nin inflamatuvar yanıtı artırdığını göstermektedir. BKSH+KA tedavisi uygulanan gruplarda ise TNF- $\alpha$  düzeyleri doza bağı belirgin olarak azalma eğilimi göstermiştir. Ancak bu azalma istatistiksel anlamlı bulunmamıştır (Şekil 3a). BKSH + KA tedavi grubunda IL-6 düzeyi, BKSH ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azalmıştır. BKSH+KA tedavi gruplarında MDA düzeyleri kontrol değerlerine yakın azalmıştır.

BKSH sonrası penil dokuda TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerinde artış gözlenmiş, bu durum lokal inflamatuvar sürecin varlığını ortaya koymuştur. KA uygulaması özellikle 30 ve 100 mg/kg dozlarda bu proinflamatuvar sitokinleri anlamlı düzeyde azaltmıştır. IL-6 düzeylerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, TNF- $\alpha$ 'daki düşüş anlamlılık göstermemiştir. KA'nın NF- $\kappa$ B yolu üzerinden TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi sitokinleri baskıladığı düşünülmektedir (17). Literatürde de KA'nın TNF-alfa, nitrik oksit ve interlökinler gibi bazı inflamatuvar mediyatörlerin periferik sentezini ve salıverilmesini inhibe edici etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (281–283). İnflamasyonun baskılanması, yalnızca patolojik sürecin durdurulmasına değil, aynı zamanda NRF2 yolunun daha etkin çalışmasına da katkı sağlar. Böylece KA, hem inflamasyonu azaltan hem de rejeneratif süreçleri kolaylaştıran çift yönlü bir etki profiline sahiptir.

MDA düzeyleri, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak penil dokuda oksidatif stresin derecesini yansıtmaktadır. BKSH grubunda MDA düzeyleri anlamlı biçimde artmış, KA tedavisiyle özellikle 30 mg/kg dozunda bu artış belirgin şekilde azalmıştır. 100 mg/kg dozunda da düşüş gözlenmiş ancak istatistiksel anlamlılığa

ulaşmamıştır. Bu durum, KA'nın hem serbest radikal temizleyici özelliği hem de NRF2 yolunu aktive ederek endojen antioksidan sistemleri güçlendirmesi sayesinde oksidatif hasarı azalttığını göstermektedir. Literatüre göre KA aynı zamanda kimyasal yapısı sebebiyle serbest radikallerle reaksiyona girerek onları etkisiz hale getiren bir bileşiktir. Antioksidan etkilerinin oluşan süperoksit radikalini süpürücü etkisi, hidroksil radikali oluşumunu azaltması ve lipid peroksidasyon hızını azaltmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (284).

BKSH, CC düz kas hücrelerinin gevşeme kapasitesinin bozulmasına neden olmaktadır. Ayrıca, penil kavernöz dokuda uzun süreli iskemi ve hipoksiye maruziyet, düz kas ve endotel hücrelerinde fibrozis gibi geri dönüşümsüz yapısal hasarlara neden olabilmektedir (285,286). Bizim çalışmamızda da histopatolojik incelemelerde, BKSH grubunda kavernöz dokuda belirgin düz kas kaybı ve bağ doku artışına bağlı fibrozis geliştiği gözlenmiştir. KA tedavisi, özellikle 30 mg/kg ve 100 mg/kg dozda bu yapısal bozulmaları hafifletmiş; düz kas bütünlüğü korunmuş ve fibrotik skorlarda azalma sağlanmıştır. Ferrini ve ark. KA'nın fibrozisi engelleyici etkilerini göstermiştir. (287). Bu etkilerin, KA'nın TGF- $\beta$  gibi fibrogenezi uyaran yolları baskılaması ve NRF2 üzerinden hücrel koruyucu yanıtları artırmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu bulgular, KA'nın yapısal düzeyde de terapötik etki sunduğunu desteklemektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Bu tez çalışmasında, BKSH ile oluşturulan sıçan ED modelinde KA'nın tedavi edici etkileri değerlendirilmiştir. Bulgular, KA'nın fonksiyonel, histopatolojik ve moleküler düzeyde anlamlı iyileşmeler sağladığını göstermektedir.
- KA tedavisi uygulanan gruplarda, İKB parametrelerinde anlamlı artışlar gözlemlenmiştir. Bu artış, erektil fonksiyonun doğrudan bir göstergesi olup KA'nın iyileşme sağladığını düşündürmektedir.
- Histopatolojik analizlerde, KA'nın kavernöz dokuda düz kas bütünlüğünü koruduğu ve fibrotik değişimleri belirgin biçimde azalttığı gösterilmiştir. Bu durum, sinir hasarı sonrası gelişen doku yıkımını ve remodeling sürecini baskılayıcı etkisine işaret etmektedir.
- Moleküler düzeyde, KA tedavisi NRF2 ve HO-1 protein ekspresyonlarını anlamlı şekilde artırmıştır. Aynı zamanda oksidatif stres göstergesi olan MDA düzeyinde ve inflamatuvar belirteçler olan TNF- $\alpha$  ile IL-6 düzeylerinde belirgin azalma sağlanmıştır. Bu bulgular, KA'nın antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerini doğrulamaktadır.
- Elde edilen tüm bu veriler, KA'nın sinir hasarı kaynaklı ED'de birden fazla patofizyolojik mekanizmayı hedef alarak doku koruyucu ve onarıcı bir etki oluşturduğunu göstermektedir. Bu yönüyle KA, sadece semptomatik değil, hastalığın temel mekanizmalarına yönelik bir ajan olarak değerlendirilmektedir.
- Mevcut klinik uygulamalarda, özellikle sinir hasarına bağlı gelişen ve PDE5 inhibitörlerine yanıt vermeyen ED olgularında etkili tedavi seçenekleri sınırlıdır. Bu nedenle, KA'nın nöroprotektif ve antifibrotik özellikleri, onu bu zor hasta grubunda potansiyel bir adjuvan tedavi adayı haline getirmektedir.

- Ancak KA'nın klinik olarak kullanılabilmesi için, öncelikle biyoyararlanımı, farmakokinetiği ve güvenlik profiline dair kapsamlı prelinik değerlendirmelere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu temel farmakolojik parametrelerin netleştirilmesi, olası doz aralıklarının ve uygulama yollarının belirlenmesi açısından kritik önemdedir.
- KA'nın sadece nörojenik ED değil, aynı zamanda diyabetik, vasküler ve psikojenik gibi farklı ED etiyolojileri üzerinde de test edilmesi gerekmektedir. Böylece ilacın etkili olabileceği klinik alt gruplar tanımlanabilir ve tedavi genellenebilirliği artırılabilir.
- Ayrıca KA'nın PDE5 inhibitörleri, kök hücre tedavileri veya düşük yoğunluklu şok dalga tedavisi gibi mevcut veya deneysel tedavi modaliteleri ile kombinasyonlarının araştırılması, daha etkili ve bireyselleştirilmiş tedavi protokollerinin oluşturulmasına katkı sağlayabilir.
- Literatürdeki birçok çalışmada KA'nın antioksidan, antiinflamatuar ve antikanser özellikleri nedeniyle terapötik potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma ise, KA'nın sinir hasarına bağlı ED modeli üzerinde tedavi edici etkisini deneysel düzeyde ilk kez ortaya koyarak önemli bir katkı sunmaktadır.
- Sonuç olarak, KA'nın sinir hasarına bağlı ED'de terapötik potansiyeli olduğuna dair bu öncül kanıtlar, gelecekte yapılacak farmakolojik ve klinik araştırmalara güçlü bir bilimsel temel sağlamaktadır. Bu etkinin klinik geçerliliğini ortaya koymak adına uygun şekilde tasarlanmış, kontrollü klinik çalışmaların yürütülmesi gereklidir.

#### Kısıtlılıklar:

BKSH modeli, nörojenik ED'nin simülasyonu açısından uygun ve geçerliliği yüksek bir modeldir. ICP ölçümleri ve histopatolojik değerlendirmeler için uygun bir deneysel zemin sunmuştur. Ancak modelin yalnızca nörojenik bileşene odaklanması, klinik olarak daha karmaşık ED etiyolojilerini dışarda bırakmaktadır. Ayrıca, çalışma süresi kısa tutulmuş; yalnızca erken dönem etkiler değerlendirilmiştir. Moleküler düzeyde yalnızca NRF2/HO-1 yolu incelenmiş; NF- $\kappa$ B, TGF- $\beta$ , eNOS, MAPK gibi diğer önemli yolların

analizi yapılmamıştır. Ek olarak, KA'nın etkisinin spesifik olarak NRF2 üzerinden gerçekleştiğini doğrulamak amacıyla bir NRF2 antagonisti kullanılmamış olması, mekanistik doğrulama açısından metodolojik bir sınırlılık oluşturmuştur.



## 7. KAYNAKLAR

1. Shamloul R, Ghanem H. Erectile dysfunction. *Lancet Lond Engl*. 12 Ocak 2013;381(9861):153-65.
2. dillonbenngrove. Prostate Cancer Playback: Highlights of 2024. 13 Mart 2025 [a.yer 18 Mart 2025]; Erişim adresi: <https://www.emjreviews.com/urology/symposium/prostate-cancer-playback-highlights-of-2024-s180125/>
3. Jiang N, Wu C, Zhou X, Zhai G, Wu J. Cavernous Nerve Injury Resulted Erectile Dysfunction and Regeneration. Wu Y, editör. *J Immunol Res*. 21 Aralık 2021;2021:1-10.
4. Tavukçu HH, Şener TE, Albayrak Ö, Çevik Ö, Erşahin M, Çetinel Ş, vd. Pre-emptive Use of Riboflavin in a Rat Model of Bilateral Cavernous Nerve Injury. *J Urol Surg*. 15 Haziran 2018;5(2):98-104.
5. Bella A, Fandel T, Tantiwongse K, Brant W, Klein R, Garcia C, vd. Neurturin enhances the recovery of erectile function following bilateral cavernous nerve crush injury in the rat. *J Brachial Plex Peripher Nerve Inj*. 17 Eylül 2014;02(01):e16-21.
6. Song G, Hu P, Song J, Liu J, Ruan Y. Molecular pathogenesis and treatment of cavernous nerve injury-induced erectile dysfunction: A narrative review. *Front Physiol*. 06 Ekim 2022;13:1029650.
7. Sopko NA, Burnett AL. Erection rehabilitation following prostatectomy — current strategies and future directions. *Nat Rev Urol*. Nisan 2016;13(4):216-25.
8. Andersson KE. Mechanisms of Penile Erection and Basis for Pharmacological Treatment of Erectile Dysfunction. *Pharmacol Rev*. Aralık 2011;63(4):811-59.
9. Hyun JS. Prostate Cancer and Sexual Function. *World J Mens Health*. 2012;30(2):99.
10. Chung E, Gillman M. Prostate cancer survivorship: a review of erectile dysfunction and penile rehabilitation after prostate cancer therapy. *Med J Aust*. Haziran 2014;200(10):582-5.
11. Wang H, Ding XG, Li SW, Zheng H, Zheng XM, Navin S, vd. Role of oxidative stress in surgical cavernous nerve injury in a rat model. *J Neurosci Res*. 2015;93(6):922-9.
12. Yin GN, Kim WJ, Jin H, Kwon M, Song K, Choi MJ, vd. Nerve Injury-Induced Protein 1 (Ninjurin-1) is a Novel Therapeutic Target for Cavernous Nerve Injury-Induced Erectile Dysfunction in Mice. *J Sex Med*. 01 Haziran 2013;10(6):1488-501.

13. Yang S, Shi W, Liu Q, Song Y, Fang J. Nrf2 enhances the therapeutic efficiency of adipose-derived stem cells in the treatment of neurogenic erectile dysfunction in a rat model. *Basic Clin Androl.* 20 Aralık 2023;33(1):39.
14. Santana-Gálvez J, Cisneros-Zevallos L, Jacobo-Velázquez D. Chlorogenic Acid: Recent Advances on Its Dual Role as a Food Additive and a Nutraceutical against Metabolic Syndrome. *Molecules.* 26 Şubat 2017;22(3):358.
15. Meng F, Liao X, Chen H, Deng S, Wang L, Zhao M, vd. Bibliometric and visualization analysis of literature relating to diabetic erectile dysfunction. *Front Endocrinol.* 09 Aralık 2022;13:1091999.
16. Nam SH, Ko JA, Jun W, Wee YJ, Walsh MK, Yang KY, vd. Enzymatic synthesis of chlorogenic acid glucoside using dextransucrase and its physical and functional properties. *Enzyme Microb Technol.* Aralık 2017;107:15-21.
17. Ye HY, Jin J, Jin LW, Chen Y, Zhou ZH, Li ZY. Chlorogenic Acid Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Acute Kidney Injury by Inhibiting TLR4/NF- $\kappa$ B Signal Pathway. *Inflammation.* Nisan 2017;40(2):523-9.
18. Bao L, Li J, Zha D, Zhang L, Gao P, Yao T, vd. Chlorogenic acid prevents diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress and inflammation through modulation of the Nrf2/HO-1 and NF- $\kappa$ B pathways. *Int Immunopharmacol.* Ocak 2018;54:245-53.
19. Oboh G, Agunloye OM, Akinyemi AJ, Ademiluyi AO, Adefegha SA. Comparative Study on the Inhibitory Effect of Caffeic and Chlorogenic Acids on Key Enzymes Linked to Alzheimer's Disease and Some Pro-oxidant Induced Oxidative Stress in Rats' Brain-In Vitro. *Neurochem Res.* Şubat 2013;38(2):413-9.
20. Teraoka M, Nakaso K, Kusumoto C, Katano S, Tajima N, Yamashita A, vd. Cytoprotective effect of chlorogenic acid against  $\alpha$ -synuclein-related toxicity in catecholaminergic PC12 cells. *J Clin Biochem Nutr.* 2012;51(2):122-7.
21. Zhao Y, Wang J, Ballevre O, Luo H, Zhang W. Antihypertensive effects and mechanisms of chlorogenic acids. *Hypertens Res Off J Jpn Soc Hypertens.* Nisan 2012;35(4):370-4.
22. Ruan Z, Mi S, Zhou L, Zhou Y, Li J, Liu W, vd. Chlorogenic acid enhances intestinal barrier by decreasing MLCK expression and promoting dynamic distribution of tight junction proteins in colitic rats. *J Funct Foods.* Ekim 2016;26:698-708.
23. Hsu G, Hsieh C, Wen H, Hsu W, Wu C, Fong T, vd. Anatomy of the Human Penis: The Relationship of the Architecture Between Skeletal and Smooth Muscles. *J Androl.* 06 Mayıs 2004;25(3):426-31.
24. Kamel I, Gadalla A, Ghanem H, Oraby M. Comparing Penile Measurements in Normal and Erectile Dysfunction Subjects. *J Sex Med.* 01 Ağustos 2009;6(8):2305-10.

25. Turkey R, Inci E, Yenice MG, Tugcu V. Shear wave elastography: Can it be a new radiologic approach for the diagnosis of erectile dysfunction? *Ultrasound*. Ağustos 2017;25(3):150-5.
26. Gratzke C, Angulo J, Chitaley K, Dai Y tian, Kim NN, Paick JS, vd. Anatomy, Physiology, and Pathophysiology of Erectile Dysfunction. *J Sex Med*. 01 Ocak 2010;7(1\_Part\_2):445-75.
27. Saad F, Grahl AS, Aversa A, Yassin AA, Kadioglu A, Moncada I, vd. Effects of testosterone on erectile function: implications for the therapy of erectile dysfunction. *BJU Int*. Mayıs 2007;99(5):988-92.
28. Jung J, Jo HW, Kwon H, Jeong NY. Clinical Neuroanatomy and Neurotransmitter-Mediated Regulation of Penile Erection. *Int Neurourol J*. 2014;18(2):58.
29. Xu L, Yang T, Wang R, Chen Y, Ji P. Analgesic efficacy and impact of pudendal block on surgery in children: a systematic review and meta-analysis. 27 Haziran 2023 [a.yer 24 Şubat 2025]; Erişim adresi: <https://www.researchsquare.com/article/rs-2966677/v1>
30. Yucel S, Baskin LS. Neuroanatomy of the male urethra and perineum. *BJU Int*. Ekim 2003;92(6):624-30.
31. Chaux A, Amin M, Cubilla AL, Young RH. Metastatic Tumors to the Penis: A Report of 17 Cases and Review of the Literature. *Int J Surg Pathol*. Ekim 2011;19(5):597-606.
32. Iturralde GG, Leal-Zanchet A. Why be original? Two new species of Choeradoplana resembling the type species of the genus in their external aspects (Platyhelminthes, Continenticola). *ZooKeys*. 07 Ocak 2019;813:1-19.
33. Perdziński W, Adamek M. A new corporoplasty based on stratified structure of tunica albuginea for the treatment of congenital penile curvature - long term results. *Cent Eur J Urol* [İnternet]. 2015 [a.yer 24 Şubat 2025];68. Erişim adresi: <http://ceju.online/journal/2015/congenital-penile-curvature-tunica-albuginea-surgical-reconstruction-496.php>
34. Three Anatomical Levels: Possibilities To Decrease Invasiveness Of Reconstructive Surgery For Congenital Penile Curvature. *Cent Eur J Urol* [İnternet]. 2017 [a.yer 24 Şubat 2025]; Erişim adresi: <http://www.ceju.online/journal/2017/Penis-anatomy-of-penis-stratified-structure-of-tunica-albuginea-1509.php>
35. Hsieh CH, Liu SP, Hsu GL, Chen HS, Molodysky E, Chen YH, vd. physiology: Clinical implications for physicians and surgeons. *Med Sci Monit*. 2012;18(7):RA118-25.
36. Yiee JH, Baskin LS. Penile Embryology and Anatomy. *Sci World J*. 2010;10(1):132104.

37. Patel DV, Halls J, Patel U. Investigation of erectile dysfunction. *Br J Radiol.* 01 Kasım 2012;85(special\_issue\_1):S69-78.
38. Molodysky E, Liu SP, Huang SJ, Hsu GL. Penile vascular surgery for treating erectile dysfunction: Current role and future direction. *Arab J Urol.* Eylül 2013;11(3):254-66.
39. Sam P, LaGrange CA. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Penis. İçinde: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [a.yer 24 Şubat 2025]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482236/>
40. Baskin L, Shen J, Sinclair A, Cao M, Liu X, Liu G, vd. Development of the human penis and clitoris. *Differentiation.* Eylül 2018;103:74-85.
41. Ozel A, Issayev F, Erturk SM, Halefoglu AM, Karpat Z. Sonographic diagnosis of penile Mondor's disease associated with absence of a dorsal penile artery. *J Clin Ultrasound.* Haziran 2010;38(5):263-6.
42. Ozgel O, Dursun N, Cengelci A, Ates S. Arterial Supply of the Penis in the New Zealand Rabbit ( *Oryctolagus cuniculus* L.). *Anat Histol Embryol.* Şubat 2003;32(1):6-8.
43. Sam P, LaGrange CA. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Penis. İçinde: StatPearls [Internet] [Internet]. StatPearls Publishing; 2023 [a.yer 03 Haziran 2025]. Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK482236/>
44. Simonsen U, García-Sacristán A, Prieto D. Penile Arteries and Erection. *J Vasc Res.* 2002;39(4):283-303.
45. Yiee JH, Baskin LS. Penile Embryology and Anatomy. *Sci World J.* 2010;10:1174-9.
46. Hsieh CH, Liu SP, Hsu GL, Chen HS, Molodysky E, Chen YH, vd. Advances in understanding of mammalian penile evolution, human penile anatomy and human erection physiology: Clinical implications for physicians and surgeons. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res.* 01 Temmuz 2012;18(7):RA118-25.
47. Hsu GL, Hung YP, Tsai MH, Chang HC, Liu SP, Molodysky E, vd. The venous drainage of the corpora cavernosa in the human penis. *Arab J Urol.* Aralık 2013;11(4):384-91.
48. Paul JF, Virag R. Does Anatomy of the Pubic Arch Interfere with the Maintaining of Erection? *J Sex Med.* 01 Mart 2013;10(3):777-81.
49. Zimbelmann M, Cordes J. Erectile function improvement after endovenous varicosis therapy of the great saphenous vein. *Phlebologie.* Temmuz 2015;44(04):180-1.
50. Arora R, Sonthalia S, Gera T, Sarkar R. Atypical penile Mondor's disease – involvement of the circumflex vein. *Int J STD AIDS.* Nisan 2015;26(5):360-3.

51. Huang W, Tang D, Gu W. The Characteristics and Distribution of Nerve Plexuses in the Dartos Fascia From Concealed Penis Children. *Front Pediatr.* 05 Ağustos 2021;9:705155.
52. Long RM, McCartan D, Cullen I, Harmon D, Flood HD. A preliminary study of the sensory distribution of the penile dorsal and ventral nerves: implications for effective penile block for circumcision. *BJU Int.* Haziran 2010;105(11):1576-8.
53. Zhang H, Li B. Male genital sensation after spinal cord injury: a review. *Transl Androl Urol.* Haziran 2020;9(3):1382-93.
54. Auffenberg GB, Helfand BT, McVary KT. Normal Erectile Physiology. İçinde: McVary KT, editör. *Contemporary Treatment of Erectile Dysfunction: A Clinical Guide* [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2011 [a.yer 03 Haziran 2025]. s. 11-22. Erişim adresi: [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-536-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-536-1_2)
55. Waters K, Hopper R, Douglas JM. Diagnosis of penile denervation in the bull: a review. *Clin Theriogenology.* 07 Temmuz 2023;15:1-4.
56. Watson DD, Zhu X. A Case of Chronic Penile Pain Successfully Treated With Dorsal Nerve Block. *AA Pract.* 23 Ağustos 2023;17(8):e01714.
57. Kozacioglu Z, Vatansever HS, Onal T, Kutlu N, Ozel F, Gunlusoy B, vd. Histologic and physiologic analysis of the relationship between the dorsal nerve of the penis and the corpus cavernosum on a rat model. A complementary pathway on the innervation of penile erection? *Neurourol Urodyn.* Ocak 2022;41(1):188-94.
58. Aoun F, Alkassis M, Tayeh GA, Chebel JA, Semaan A, Sarkis J, vd. Sexual dysfunction due to pudendal neuralgia: a systematic review. *Transl Androl Urol.* Haziran 2021;10(6):2500-11.
59. Fandel TM, Bella AJ, Lin G, Tantiwongse K, Lin CS, Pohl J, vd. Intracavernous Growth Differentiation Factor-5 Therapy Enhances the Recovery of Erectile Function in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury. *J Sex Med.* 01 Ağustos 2008;5(8):1866-75.
60. Giuliano F. New horizons in erectile and endothelial dysfunction research and therapies. *Int J Impot Res.* Aralık 2008;20(S2):S2-8.
61. Andersson KE, Hedlund P, Alm P. Sympathetic pathways and adrenergic innervation of the penis. *Int J Impot Res.* 01 Mart 2000;12(S1):S5-12.
62. Corrêa LBNS, Contreiras EC, Daleprane JB, Boaventura GT, Figueiredo MA, Chagas MA. Effects of Transgenic Soybean and Organic Soybean on Rat Penis Morphology during the Aging Process. *Int J Morphol.* Eylül 2017;35(3):1043-9.

63. Sommer F, Klotz T, Steinritz D, Bloch W. Evaluation of tetrahydrobiopterin (BH4) as a potential therapeutic agent to treat erectile dysfunction. *Asian J Androl.* Mart 2006;8(2):159-67.
64. Muneer A, The St Peter's Andrology Centre, London, Borley N, The St Peter's Andrology Centre, London, Ralph DJ, The St Peter's Andrology Centre, London. Erectile Dysfunction. *US Endocrinol.* 2007;00(01):92.
65. Burnett AL. Novel nitric oxide signaling mechanisms regulate the erectile response. *Int J Impot Res.* 01 Haziran 2004;16(S1):S15-9.
66. Wen J, Xia Y. Adenosine Signaling: Good or Bad in Erectile Function? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* Nisan 2012;32(4):845-50.
67. Meldrum DR, Burnett AL, Dorey G, Esposito K, Ignarro LJ. Erectile Hydraulics: Maximizing Inflow While Minimizing Outflow. *J Sex Med.* 01 Mayıs 2014;11(5):1208-20.
68. Chung E. Contemporary and Novel Imaging Studies for the Evaluation of Erectile Dysfunction. *Med Sci.* 09 Ağustos 2019;7(8):87.
69. Suzuki N, Sato Y, Hisasue S, Kato R, Suzuki K, Tsukamoto T. Effect of Testosterone on Intracavernous Pressure Elicited With Electrical Stimulation of the Medial Preoptic Area and Cavernous Nerve in Male Rats. *J Androl.* 04 Mart 2007;28(2):218-22.
70. Chen K. Paraventricular nucleus of hypothalamus – a brain locus in central neural regulation of penile erection in the rat. *Int J Androl.* Nisan 2000;23(S2):81-81.
71. Nangle MR, Keast JR. Loss of nitrenergic neurotransmission to mouse corpus cavernosum in the absence of neurturin is accompanied by increased response to acetylcholine. *Br J Pharmacol.* Haziran 2006;148(4):423-33.
72. Mizusawa H, Hedlund P, Håkansson A, Alm P, Andersson K. Morphological and functional in vitro and in vivo characterization of the mouse corpus cavernosum. *Br J Pharmacol.* Mart 2001;132(6):1333-41.
73. Karakus S, Musicki B, Burnett AL. Phosphodiesterase type 5 in men with vasculogenic and post-radical prostatectomy erectile dysfunction: is there a molecular difference? *BJU Int.* Aralık 2018;122(6):1066-74.
74. Akakpo W, Musicki B, Burnett AL. cAMP -dependent regulation of RhoA/Rho-kinase attenuates detrusor overactivity in a novel mouse experimental model. *BJU Int.* Temmuz 2017;120(1):143-51.
75. Prieto D. Physiological regulation of penile arteries and veins. *Int J Impot Res.* Ocak 2008;20(1):17-29.

76. Carella MC, Forleo C, Stanca A, Carulli E, Basile P, Carbonara U, vd. Heart Failure and Erectile Dysfunction: a Review of the Current Evidence and Clinical Implications. *Curr Heart Fail Rep*. Aralık 2023;20(6):530-41.
77. Musicki B, Burnett AL. eNOS Function and Dysfunction in the Penis. *Exp Biol Med*. Şubat 2006;231(2):154-65.
78. Chen CH, Lin CL, Kao CH. Erectile Dysfunction in Men With Gallbladder Stone Disease: A Nationwide Population-Based Study. *Am J Mens Health*. Mart 2019;13(2):1557988319839589.
79. Cioe PA, Friedmann PD, Stein MD. Erectile Dysfunction in Opioid Users: Lack of Association with Serum Testosterone. *J Addict Dis*. 24 Eylül 2010;29(4):455-60.
80. Rosen RC. Assessment of sexual dysfunction in patients with benign prostatic hyperplasia. *BJU Int*. Nisan 2006;97(s2):29-33.
81. Yap J, Tan FCL, Shen T, Teo TY, Yeo KK. Erectile dysfunction: A hidden epidemic. *Proc Singap Healthc*. Eylül 2018;27(3):211-3.
82. Toljan K, Briggs FBS. Male sexual and reproductive health in multiple sclerosis: a scoping review. *J Neurol*. Mayıs 2024;271(5):2169-81.
83. Makarem AR, Karami MY, Zekavat OR. Erectile dysfunction among hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol*. Mart 2011;43(1):117-23.
84. Kimura Y, Honda M, Teraoka S, Yumioka T, Iwamoto H, Morizane S, vd. Impact of penile rehabilitation with phosphodiesterase-5 inhibitors on recovery of erectile function in patients undergoing robot-assisted radical prostatectomy: A propensity score-matched analysis. *Int J Urol*. Haziran 2021;28(6):637-42.
85. Novara G, Ficarra V, D'Elia C, Secco S, De Gobbi A, Cavalleri S, vd. Preoperative Criteria to Select Patients for Bilateral Nerve-sparing Robotic-assisted Radical Prostatectomy. *J Sex Med*. 01 Şubat 2010;7(2\_Part\_1):839-45.
86. Capogrosso P, Vertosick EA, Benfante NE, Eastham JA, Scardino PJ, Vickers AJ, vd. Are We Improving Erectile Function Recovery After Radical Prostatectomy? Analysis of Patients Treated over the Last Decade. *Eur Urol*. Şubat 2019;75(2):221-8.
87. Rakovac Tisdall A, King TFJ, Mahmood WAW, Keat CS, Ali R, Abdin R, vd. Erectile dysfunction: they don't talk, we don't ask. *Diabet Med*. Mayıs 2018;35(5):667-8.
88. Mosaku KS, Ukpong DI. Erectile dysfunction in a sample of patients attending a psychiatric outpatient department. *Int J Impot Res*. Temmuz 2009;21(4):235-9.

89. Khanzada U, Khan SA, Hussain M, Adel H, Masood K, Adil SO, vd. Evaluation of the Causes of Erectile Dysfunction in Patients Undergoing Penile Doppler Ultrasonography in Pakistan. *World J Mens Health*. 2017;35(1):22.
90. Kovac JR, Labbate C, Ramasamy R, Tang D, Lipshultz LI. Effects of cigarette smoking on erectile dysfunction. *Andrologia*. Aralık 2015;47(10):1087-92.
91. Moore CS, Grant MD, Zink TA, Panizzon MS, Franz CE, Logue MW, vd. Erectile dysfunction, vascular risk, and cognitive performance in late middle age. *Psychol Aging*. 2014;29(1):163-72.
92. Batty GD, Li Q, Czernichow S, Neal B, Zoungas S, Huxley R, vd. Erectile Dysfunction and Later Cardiovascular Disease in Men With Type 2 Diabetes. *J Am Coll Cardiol*. Kasım 2010;56(23):1908-13.
93. Suzuki E. Chronic kidney disease and erectile dysfunction. *World J Nephrol*. 2014;3(4):220.
94. Ibrahim A, Cardiology Department, University Hospital Limerick, Limerick, Ireland, Ali M, Cardiology Department, St James's Hospital, Dublin, Ireland, Kiernan TJ, Cardiology Department, University Hospital Limerick, Limerick, Ireland, vd. Erectile Dysfunction and Ischaemic Heart Disease. *Eur Cardiol Rev*. 2018;13(2):1.
95. Banks E, Joshy G, Abhayaratna WP, Kritharides L, Macdonald PS, Korda RJ, vd. Erectile Dysfunction Severity as a Risk Marker for Cardiovascular Disease Hospitalisation and All-Cause Mortality: A Prospective Cohort Study. *PLOS Med*. 29 Ocak 2013;10(1):e1001372.
96. Matsui H, Sopko NA, Hannan JL, Reinhardt AA, Kates M, Yoshida T, vd. M1 Macrophages Are Predominantly Recruited to the Major Pelvic Ganglion of the Rat Following Cavernous Nerve Injury. *J Sex Med*. 01 Şubat 2017;14(2):187-95.
97. Patel JP, Lee EH, Mena CI, Walker CN. Effects of metformin on endothelial health and erectile dysfunction. *Transl Androl Urol*. Haziran 2017;6(3):556-65.
98. Deng CY, Ke XP, Guo XG. Investigating a novel surrogate indicator of adipose accumulation in relation to erectile dysfunction. *Lipids Health Dis*. 13 Mayıs 2024;23(1):139.
99. Zheng H, Mayhan WG, Patel KP. Exercise Training Improves the Defective Centrally Mediated Erectile Responses in Rats with Type I Diabetes. *J Sex Med*. 01 Kasım 2011;8(11):3086-97.
100. Canguven O, Al-Malki AH, Majzoub A. Serum testosterone status in men with penile corporovenous-occlusive dysfunction. *Aging Male*. 04 Aralık 2020;23(5):1227-31.

101. Fiala L, Lenz J, Sajdlova R. Effect of increased prolactin and psychosocial stress on erectile function. *Andrologia* [Internet]. Mayıs 2021 [a.yer 24 Şubat 2025];53(4). Erişim adresi: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/and.14009>
102. Antonucci M, Palermo G, Recupero SM, Bientinesi R, Presicce F, Foschi N, vd. Male sexual dysfunction in patients with chronic end-stage renal insufficiency and in renal transplant recipients. *Arch Ital Urol E Androl*. 14 Ocak 2016;87(4):299.
103. Bai D, Luo X. Research Progress of Shaofu Zhuyu Decoction in the Treatment of Male Diseases. *J Contemp Med Pract*. 30 Haziran 2024;6(6):118-24.
104. Allen MS, Wood AM, Sheffield D. The Psychology of Erectile Dysfunction. *Curr Dir Psychol Sci*. Aralık 2023;32(6):487-93.
105. Galhom RA, Korayem HE, Ibrahim MA, Abd-Eltawab Tammam A, Khalifa MM, Rashwan EK, vd. Urine-Derived Stem Cells Versus Their Lysate in Ameliorating Erectile Dysfunction in a Rat Model of Type 2 Diabetes. *Front Physiol*. 10 Mayıs 2022;13:854949.
106. Türe E, Yazar A, Akın F, Kılıç AO. Valproic Acid-Induced Priapism in a Child. *J Pediatr Acad*. 29 Ağustos 2021;74-6.
107. Broderick GA, Kadioglu A, Bivalacqua TJ, Ghanem H, Nehra A, Shamloul R. Priapism: Pathogenesis, Epidemiology, and Management. *J Sex Med*. 01 Ocak 2010;7(1\_Part\_2):476-500.
108. Tor-Anyiin I, Omokhua OE, Swende LT. Association between erectile dysfunction and cardiovascular risk factors in a Nigeria tertiary hospital. *Rwanda Med J*. 28 Ocak 2024;56-62.
109. Pohjantähti-Maaroos H, Palomäki A, Hartikainen J. Erectile dysfunction, physical activity and metabolic syndrome: differences in markers of atherosclerosis. *BMC Cardiovasc Disord*. Aralık 2011;11(1):36.
110. Hoppe H, Diehm N. Percutaneous Treatment of Venous Erectile Dysfunction. *Front Cardiovasc Med*. 02 Şubat 2021;7:626943.
111. Omolaoye TS, Skosana BT, Ferguson LM, Ramsunder Y, Ayad BM, Du Plessis SS. Implications of Exposure to Air Pollution on Male Reproduction: The Role of Oxidative Stress. *Antioxidants*. 01 Ocak 2024;13(1):64.
112. Gurbuz C, Kuzu Okur H, Demir S, Ordu S, Caskurlu T. Pure Obstructive Sleep Apnea Syndrome and Erectile Dysfunction. *Balk Med J* [Internet]. 01 Mart 2011 [a.yer 24 Şubat 2025]; Erişim adresi: <http://www.balkanmedicaljournal.org/pdf.php?&id=667>
113. Trip E, Torenvlied H, Elzevier H, Pelger R, Beck J. Feasibility of penile erection detection through measurements of light reflection of hemoglobin of the penis

[Internet]. Sexual and Reproductive Health; 2024 [a.yer 24 Şubat 2025]. Erişim adresi: <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2024.05.06.24306762>

114. Yu W, Wang J, Dai YT, Wang B, Xu Y, Gao QQ, vd. Modulation of SIRT1 expression improves erectile function in aged rats. *Asian J Androl*. Kasım 2022;24(6):666-70.
115. Padma-Nathan H, Hellstrom WJG, Kaiser FE, Labasky RF, Lue TF, Noltén WE, vd. Treatment of Men with Erectile Dysfunction with Transurethral Alprostadil. *N Engl J Med*. 02 Ocak 1997;336(1):1-7.
116. Mazzilli F. Erectile Dysfunction: Causes, Diagnosis and Treatment: An Update. *J Clin Med*. 30 Ekim 2022;11(21):6429.
117. Yafi FA, Jenkins L, Albersen M, Corona G, Isidori AM, Goldfarb S, vd. Erectile dysfunction. *Nat Rev Dis Primer*. 04 Şubat 2016;2(1):16003.
118. Wang CM, Wu BR, Xiang P, Xiao J, Hu XC. Management of male erectile dysfunction: From the past to the future. *Front Endocrinol*. 27 Şubat 2023;14:1148834.
119. Eardley I, Donatucci C, Corbin J, El-Meliegy A, Hatzimouratidis K, McVary K, vd. Pharmacotherapy for Erectile Dysfunction. *J Sex Med*. 01 Ocak 2010;7(1\_Part\_2):524-40.
120. Hellstrom W, Katz E, Tan R, Rittenberg D. Avanafil for erectile dysfunction in elderly and younger adults: differential pharmacology and clinical utility. *Ther Clin Risk Manag*. Ağustos 2014;701.
121. Rosen R, Shabsigh R, Berber M, Assalian P, Menza M, Rodriguez-Vela L, vd. Efficacy and Tolerability of Vardenafil in Men With Mild Depression and Erectile Dysfunction: The Depression-Related Improvement With Vardenafil for Erectile Response Study. *Am J Psychiatry*. 01 Ocak 2006;163(1):79-87.
122. Hatzimouratidis K, Salonia A, Adaikan G, Buvat J, Carrier S, El-Meliegy A, vd. Pharmacotherapy for Erectile Dysfunction: Recommendations From the Fourth International Consultation for Sexual Medicine (ICSM 2015). *J Sex Med*. 01 Nisan 2016;13(4):465-88.
123. Fazio L. Erectile dysfunction: management update. *Can Med Assoc J*. 27 Nisan 2004;170(9):1429-37.
124. Simonsen U, Comerma-Steffensen S, Andersson K. Modulation of Dopaminergic Pathways to Treat Erectile Dysfunction. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. Ekim 2016;119(S3):63-74.
125. Carson CC. Oral and injectable medications for the treatment of erectile dysfunction. *Curr Urol Rep*. Aralık 2000;1(4):307-12.

126. Truss MC, Becker AJ, Schultheiss D, Jonas U. Intracavernous pharmacotherapy. *World J Urol.* Şubat 1997;15(1):71-7.
127. Linet OI, Neff LL. Intracavernous prostaglandin E1 in erectile dysfunction. *J Mol Med.* Ocak 1994;72(2):139-49.
128. Machingura PI. Erectile Dysfunction among Diabetic Patients at Parirenyatwa Group of Hospitals in Zimbabwe. *TEXILA Int J PUBLIC Health.* 29 Haziran 2018;6(2):69-73.
129. Patoulas D, Katsimardou A, Imprialos K, Doumas M. Exercise, Erectile Dysfunction and Co-Morbidities: “The Good, the Bad and the Ugly”. *Rev Cardiovasc Med.* 09 Eylül 2022;23(9):304.
130. Skeldon SC, Detsky AS, Goldenberg SL, Law MR. Erectile Dysfunction and Undiagnosed Diabetes, Hypertension, and Hypercholesterolemia. *Ann Fam Med.* 01 Temmuz 2015;13(4):331-5.
131. Defeudis G, Mazzilli R, Di Tommaso AM, Zamponi V, Carlomagno F, Tuccinardi D, vd. Effects of diet and antihyperglycemic drugs on erectile dysfunction: A systematic review. *Andrology.* Şubat 2023;11(2):282-94.
132. Bodie JA, Beeman WW, Monga M. Psychogenic Erectile Dysfunction. *Int J Psychiatry Med.* Eylül 2003;33(3):273-93.
133. Wassersug R, Wibowo E. Non-pharmacological and non-surgical strategies to promote sexual recovery for men with erectile dysfunction. *Transl Androl Urol.* Kasım 2017;6(S5):S776-94.
134. Nakanishi S, Yamane K, Kamei N, Okubo M, Kohno N. Erectile dysfunction is strongly linked with decreased libido in diabetic men. *Aging Male.* Haziran 2004;7(2):113-9.
135. Al-Najar A, Naumann CM, Kaufmann S, Steinbach-Jensch A, Hamann MF, Jünemann K, vd. Should being aged over 70 years hinder penile prosthesis implantation? *BJU Int.* Eylül 2009;104(6):834-7.
136. Bozkurt IH, Arslan B, Kozacioglu Z, Yonguc T, Degirmenci T, Gunlusoy B, vd. Does the etiology affect the outcome and satisfaction rates of penile prosthesis implantation surgery? *Kaohsiung J Med Sci.* Kasım 2014;30(11):570-3.
137. Bertero EB, Antunes DL. Surgical Treatment of Erectile Dysfunction. *Sex Med Rev.* Ekim 2015;3(4):316-27.
138. Siregar S, Novesar AR, Mustafa A. Application of Stem Cell in Human Erectile Dysfunction – A Systematic Review. *Res Rep Urol.* Ekim 2022;Volume 14:379-88.

139. Yee C, Chan ES, Hou SS, Ng C. Extracorporeal shockwave therapy in the treatment of erectile dysfunction: A prospective, randomized, double-blinded, placebo controlled study. *Int J Urol.* Ekim 2014;21(10):1041-5.
140. Hoeh B, Wenzel M, Hohenhorst L, Köllermann J, Graefen M, Haese A, vd. Anatomical Fundamentals and Current Surgical Knowledge of Prostate Anatomy Related to Functional and Oncological Outcomes for Robotic-Assisted Radical Prostatectomy. *Front Surg.* 22 Şubat 2022;8:825183.
141. Lee CH, Akin-Olugbade O, Kirschenbaum A. Overview of Prostate Anatomy, Histology, and Pathology. *Endocrinol Metab Clin North Am.* Eylül 2011;40(3):565-75.
142. Palmeri ML, Miller ZA, Glass TJ, Garcia-Reyes K, Gupta RT, Rosenzweig SJ, vd. B-Mode and Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) Imaging of Prostate Zonal Anatomy: Comparison with 3T T2-Weighted MR Imaging. *Ultrason Imaging.* Ocak 2015;37(1):22-41.
143. Henry GH, Malewska A, Joseph DB, Malladi VS, Lee J, Torrealba J, vd. A Cellular Anatomy of the Normal Adult Human Prostate and Prostatic Urethra. *Cell Rep.* Aralık 2018;25(12):3530-3542.e5.
144. Çelebioğlu EC, Akkaşoğlu S, Çalışkan S, Günenç Beşer C, Sancak T. Evaluation of the prostatic artery origin using computed tomography angiography. *Anatomy.* 01 Aralık 2018;12(3):140-4.
145. Bilhim T, Pisco JM, Rio Tinto H, Fernandes L, Pinheiro LC, Furtado A, vd. Prostatic Arterial Supply: Anatomic and Imaging Findings Relevant for Selective Arterial Embolization. *J Vasc Interv Radiol.* Kasım 2012;23(11):1403-15.
146. Costello AJ, Brooks M, Cole OJ. Anatomical studies of the neurovascular bundle and cavernosal nerves. *BJU Int.* Kasım 2004;94(7):1071-6.
147. Hinata N, Sejima T, Takenaka A. Progress in pelvic anatomy from the viewpoint of radical prostatectomy. *Int J Urol.* Mart 2013;20(3):260-70.
148. Leventis AK, Shariat SF, Utsunomiya T, Slawin KM. Characteristics of normal prostate vascular anatomy as displayed by power Doppler. *The Prostate.* 01 Mart 2001;46(4):281-8.
149. Dwivedi S, Bautista M, Shrestha S, Elhasasna H, Chaphekar T, Vizeacoumar FS, vd. Sympathetic signaling facilitates progression of neuroendocrine prostate cancer. *Cell Death Discov.* 22 Kasım 2021;7(1):364.
150. Moskovic DJ, Alphs H, Nelson CJ, Rabbani F, Eastham J, Touijer K, vd. Subjective Characterization of Nerve Sparing Predicts Recovery of Erectile Function After Radical Prostatectomy: Defining the Utility of a Nerve Sparing Grading System. *J Sex Med.* 01 Ocak 2011;8(1):255-60.

151. Wu H, Tang WH, Zhao LM, Liu DF, Yang YZ, Zhang HT, vd. Nanotechnology-assisted adipose-derived stem cell (ADSC) therapy for erectile dysfunction of cavernous nerve injury: In vivo cell tracking, optimized injection dosage, and functional evaluation. *Asian J Androl*. 2018;20(5):442.
152. Moon HW, Kim IG, Kim MY, Jung AR, Park K, Lee JY. Erectile Dysfunction Treatment Using Stem Cell Delivery Patch in a Cavernous Nerve Injury Rat Model. *Bioengineering*. 24 Mayıs 2023;10(6):635.
153. Weyne E, Mulhall J, Albersen M. Molecular Pathophysiology of Cavernous Nerve Injury and Identification of Strategies for Nerve Function Recovery After Radical Prostatectomy. *Curr Drug Targets*. 04 Mayıs 2015;16(5):459-73.
154. Du Y, Long Q, Guan B, Mu L, Tian J, Jiang Y, vd. Robot-Assisted Radical Prostatectomy Is More Beneficial for Prostate Cancer Patients: A System Review and Meta-Analysis. *Med Sci Monit*. 14 Ocak 2018;24:272-87.
155. Wang X, Wu Y, Guo J, Chen H, Weng X, Liu X. Intrafascial nerve-sparing radical prostatectomy improves patients' postoperative continence recovery and erectile function: A pooled analysis based on available literatures. *Medicine (Baltimore)*. Temmuz 2018;97(29):e11297.
156. Rakauskas A, Marra G, Heidegger I, Kasivisvanathan V, Kretschmer A, Zattoni F, vd. Focal Therapy for Prostate Cancer: Complications and Their Treatment. *Front Surg*. 12 Temmuz 2021;8:696242.
157. Hansen SB, Oggesen BT, Fonnes S, Rosenberg J. Erectile Dysfunction Is Common after Rectal Cancer Surgery: A Cohort Study. *Curr Oncol*. 20 Ekim 2023;30(10):9317-26.
158. Huang W, Zhang Y, Shen BH, Wang S, Meng HZ, Jin XD. Outcomes of health-related quality of life after open, laparoscopic, or robot-assisted radical prostatectomy in China. *Cancer Manag Res*. Ocak 2019;Volume 11:899-907.
159. Simo RT, Cheunieu CN, Ahmadou M, Baiguerel EM, Kamdje AHN, Sillong FD, vd. Influence of Prostate Cancer on Erectile Dysfunction in Northern Cameroon and Its Management. *J Cancer Tumor Int*. 28 Kasım 2020;7-15.
160. Tal R, Jacks LM, Elkin E, Mulhall JP. Penile Implant Utilization Following Treatment for Prostate Cancer: Analysis of the SEER-Medicare Database. *J Sex Med*. 01 Haziran 2011;8(6):1797-804.
161. Akdemir F, Kayıgil Ö. Penile Revascularization In Improving Erectile Function After Radical Prostatectomy: An Alternative Therapeutic Approach For Penile Rehabilitation [Internet]. In Review; 2025 [a.yer 24 Şubat 2025]. Erişim adresi: <https://www.researchsquare.com/article/rs-5854281/v1>

162. Albaugh JA. Addressing and Managing Erectile Dysfunction after Prostatectomy for Prostate Cancer. *Urol Nurs.* 2010;30(3):167.
163. Menard J, Tremeaux JC, Faix A, Pierrevelcin J, Staerman F. Erectile Function and Sexual Satisfaction Before and After Penile Prosthesis Implantation in Radical Prostatectomy Patients: A Comparison with Patients with Vasculogenic Erectile Dysfunction. *J Sex Med.* 01 Aralık 2011;8(12):3479-86.
164. Nelson CJ, Scardino PT, Eastham JA, Mulhall JP. Back to Baseline: Erectile Function Recovery After Radical Prostatectomy from the Patients' Perspective. *J Sex Med.* 01 Haziran 2013;10(6):1636-43.
165. Blecher G, Almekaty K, Kalejaiye O, Minhas S. Does penile rehabilitation have a role in the treatment of erectile dysfunction following radical prostatectomy? *F1000Research.* 31 Ekim 2017;6:1923.
166. Segal RL, Bivalacqua TJ, Burnett AL. Current penile-rehabilitation strategies: Clinical evidence. *Arab J Urol.* Eylül 2013;11(3):230-6.
167. Whelan P, Ekbal S, Nehra A. Erectile dysfunction in robotic radical prostatectomy: Outcomes and management. *Indian J Urol.* 2014;30(4):434.
168. Teloken PE, Nelson CJ, Karellas M, Stasi J, Eastham J, Scardino PT, vd. Defining the impact of vascular risk factors on erectile function recovery after radical prostatectomy. *BJU Int.* Nisan 2013;111(4):653-7.
169. Geuna S, Muratori L, Fregnan F, Manfredi M, Bertolo R, Porpiglia F. Strategies to improve nerve regeneration after radical prostatectomy: a narrative review. *Minerva Urol Nefrol* [İnternet]. Aralık 2018 [a.yer 24 Şubat 2025];70(6). Erişim adresi: <http://www.minervamedica.it/index2.php?show=R19Y2018N06A0546>
170. Gur S, Kadowitz PJ, Hellstrom WJG. A critical appraisal of erectile function in animal models of diabetes mellitus. *Int J Androl.* Nisan 2009;32(2):93-114.
171. Chitaley K, Kupelian V, Subak L, Wessells H. Diabetes, Obesity and Erectile Dysfunction: Field Overview and Research Priorities. *J Urol* [İnternet]. Aralık 2009 [a.yer 24 Şubat 2025];182(6S). Erişim adresi: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/j.juro.2009.07.089>
172. Wen J, Wang B, Du C, Xu G, Zhang Z, Li Y, vd. A2B Adenosine Receptor Agonist Improves Erectile Function in Diabetic Rats. *Tohoku J Exp Med.* 2015;237(2):141-8.
173. Suresh S, Prakash S. Effect of *Mucuna pruriens* (Linn.) on Oxidative Stress-Induced Structural Alteration of Corpus Cavernosum in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat. *J Sex Med.* 01 Temmuz 2011;8(7):1943-56.
174. Hannan JL, Albersen M, Kutlu O, Gratzke C, Stief CG, Burnett AL, vd. Inhibition of Rho-Kinase Improves Erectile Function, Increases Nitric Oxide Signaling and

- Decreases Penile Apoptosis in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury. *J Urol.* Mart 2013;189(3):1155-61.
175. Wingard C, Fulton D, Husain S. Altered Penile Vascular Reactivity and Erection in the Zucker Obese-Diabetic Rat. *J Sex Med.* 01 Mart 2007;4(2):348-63.
176. Kouidrat Y, Pizzol D, Cosco T, Thompson T, Carnaghi M, Bertoldo A, vd. High prevalence of erectile dysfunction in diabetes: a systematic review and meta-analysis of 145 studies. *Diabet Med.* Eylül 2017;34(9):1185-92.
177. Davies KP. Development and Therapeutic Applications of Nitric Oxide Releasing Materials to Treat Erectile Dysfunction. *Future Sci OA.* Ağustos 2015;1(1):FSO53.
178. Palese MA, Crone JK, Burnett AL. A Castrated Mouse Model of Erectile Dysfunction. *J Androl.* 10 Eylül 2003;24(5):699-703.
179. Traish AM, Munarriz R, O'Connell L, Choi S, Kim SW, Kim NN, vd. Effects of Medical or Surgical Castration on Erectile Function in an Animal Model. *J Androl.* 06 Mayıs 2003;24(3):381-7.
180. Armagan A, Hatsushi K, Toselli P. The effects of testosterone deficiency on the structural integrity of the penile dorsal nerve in the rat. *Int J Impot Res.* Ocak 2008;20(1):73-8.
181. Kapoor MS, Khan SA, Gupta SK, Choudhary R, Bodakhe SH. Animal models of erectile dysfunction. *J Pharmacol Toxicol Methods.* Kasım 2015;76:43-54.
182. Gareri P, Castagna A, Francomano D, Cerminara G, De Fazio P. Erectile Dysfunction in the Elderly: An Old Widespread Issue with Novel Treatment Perspectives. *Int J Endocrinol.* 2014;2014:1-15.
183. Sezen SF, Lagoda G, Musicki B, Burnett AL. Hydroxyl Fasudil, an Inhibitor of Rho Signaling, Improves Erectile Function in Diabetic Rats: A Role for Neuronal ROCK. *J Sex Med.* 01 Eylül 2014;11(9):2164-71.
184. Albersen M, Fandel TM, Lin G, Wang G, Banie L, Lin CS, vd. Injections of Adipose Tissue-Derived Stem Cells and Stem Cell Lysate Improve Recovery of Erectile Function in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury. *J Sex Med.* 01 Ekim 2010;7(10):3331-40.
185. Li Z, Ye K, Yin Y, Zhou J, Li D, Gan Y, vd. Low-intensity pulsed ultrasound ameliorates erectile dysfunction induced by bilateral cavernous nerve injury through enhancing Schwann cell-mediated cavernous nerve regeneration. *Andrology.* Eylül 2023;11(6):1188-202.
186. Hou Y, Jia L, Zhang Y, Ji W, Li H. Activation of the NGF/TrkA signaling pathway attenuates diabetic erectile dysfunction. *Oncotarget.* 01 Aralık 2017;8(62):105692-702.

187. Peng DY, Reed-Maldonado A, Lin GT, Xia SJ, Lue T. Low-intensity pulsed ultrasound for regenerating peripheral nerves: potential for penile nerve. *Asian J Androl.* 2020;22(4):335.
188. Gajbhiye SV, Jadhav KS, Marathe PA, Pawar DB. Animal models of erectile dysfunction. *Indian J Urol IJU J Urol Soc India.* 2015;31(1):15-21.
189. Chung E, De Young L, Brock GB. Investigative models in erectile dysfunction: a state-of-the-art review of current animal models. *J Sex Med.* Aralık 2011;8(12):3291-305.
190. Canguven O, Burnett A. Cavernous nerve injury using rodent animal models. *J Sex Med.* Ağustos 2008;5(8):1776-85.
191. Sezen SF, Hoke A, Burnett AL, Snyder SH. Immunophilin ligand FK506 is neuroprotective for penile innervation. *Nat Med.* Ekim 2001;7(10):1073-4.
192. Hsieh PS, Bochinski DJ, Lin GT, Nunes L, Lin CS, Lue TF. The effect of vascular endothelial growth factor and brain-derived neurotrophic factor on cavernosal nerve regeneration in a nerve-crush rat model. *BJU Int.* Eylül 2003;92(4):470-5.
193. Sandoval-Salinas C, Saffon JP, Corredor HA, Fonseca L, Manrique L, Solis G. Are Radial Pressure Waves Effective in Treating Erectile Dysfunction? A Systematic Review of Preclinical and Clinical Studies. *Sex Med.* 01 Ağustos 2021;9(4):100393-100393.
194. Vignozzi L, Morelli A, Filippi S, Comeglio P, Chavalmane AK, Marchetta M, vd. Farnesoid X Receptor Activation Improves Erectile Function in Animal Models of Metabolic Syndrome and Diabetes. *J Sex Med.* 01 Ocak 2011;8(1):57-77.
195. Leungwattanakij S, Bivalacqua TJ, Usta MF, Yang D, Hyun J, Champion HC, vd. Cavernous Neurotomy Causes Hypoxia and Fibrosis in Rat Corpus Cavernosum. *J Androl.* 04 Mart 2003;24(2):239-45.
196. Argiolas A, Melis MR. Central control of penile erection: role of the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Prog Neurobiol.* Mayıs 2005;76(1):1-21.
197. Chen KK, Chang LS. Involvement of L-arginine/nitric oxide pathway at the paraventricular nucleus of hypothalamus in central neural regulation of penile erection in the rat. *Int J Impot Res.* Haziran 2002;14(3):139-45.
198. Bernabé J, Rampin O, Sachs BD, Giuliano F. Intracavernous pressure during erection in rats: an integrative approach based on telemetric recording. *Am J Physiol.* Şubat 1999;276(2):R441-449.
199. Liu S, Zhao Z, Wang Z, Diao T, Zhang K, Zhang H, vd. Establishing a Thermal Imaging Technology (IRT) Based System for Evaluating Rat Erectile Function. *Sex Med.* 01 Şubat 2022;10(1):100475-100475.

200. Wu Z, Wang H, Ni F, Jiang X, Xu Z, Liu C, vd. Islet transplantation improved penile tissue fibrosis in a rat model of type 1 diabetes. *BMC Endocr Disord*. 27 Temmuz 2018;18(1):49.
201. Pan F, Zhang J, Liu Y, Lu L, Qiu X, Lv K, vd. Intracavernosal Pressure Recording to Evaluate Erectile Function in Rodents. *J Vis Exp*. 06 Haziran 2018;(136):56798.
202. Yu H, Jiang G, Hu W, Xu C. Pin1 aggravates renal injury induced by ischemia and reperfusion in rats via Nrf2/HO-1 mediated endoplasmic reticulum stress. *Acta Cirúrgica Bras*. 08 Nisan 2022;37:e370101.
203. Ryu MJ, Kang KA, Piao MJ, Kim KC, Zheng J, Yao CW, vd. 7,8-Dihydroxyflavone protects human keratinocytes against oxidative stress-induced cell damage via the ERK and PI3K/Akt-mediated Nrf2/HO-1 signaling pathways. *Int J Mol Med*. 01 Nisan 2014;33(4):964-70.
204. Zhang X, Yu Y, Lei H, Cai Y, Shen J, Zhu P, vd. The Nrf-2/HO-1 Signaling Axis: A Ray of Hope in Cardiovascular Diseases. *Cardiol Res Pract*. 2020;2020:5695723.
205. Yuan R, Gao D, Yang G, Zhuoma D, Pu Z, Ciren Y, vd. Oxysophocarpine Prevents the Glutamate-Induced Apoptosis of HT-22 Cells via the Nrf2/HO-1 Signaling Pathway. *Curr Issues Mol Biol*. Kasım 2024;46(11):13035-49.
206. Zhu M, Zhang Y, Zhang C, Chen L, Kuang Y. Rutin modified selenium nanoparticles reduces cell oxidative damage induced by H2O2 by activating Nrf2/HO-1 signaling pathway. *J Biomater Appl*. 01 Temmuz 2023;38(1):109-21.
207. Zhang X, Yu Y, Lei H, Cai Y, Shen J, Zhu P, vd. The Nrf-2/HO-1 Signaling Axis: A Ray of Hope in Cardiovascular Diseases. *Cardiol Res Pract*. 2020;2020(1):5695723.
208. Nishiji T, Hoshino A, IKemura N, Alcantara MC, Higuchi Y, Uchio Y, vd. Fibroblast Nrf2 inhibits profibrotic transcription with Ddx54 and mitigates pathological fibrosis in the mouse heart and kidney [Internet]. *bioRxiv*; 2023 [a.yer 19 Mayıs 2025]. s. 2023.11.09.566496. Erişim adresi: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2023.11.09.566496v1>
209. Hao W, Li M, Cai Q, Wu S, Li X, He Q, vd. Roles of NRF2 in Fibrotic Diseases: From Mechanisms to Therapeutic Approaches. *Front Physiol* [Internet]. 03 Haziran 2022 [a.yer 19 Mayıs 2025];13. Erişim adresi: <https://www.frontiersin.org/journals/physiology/articles/10.3389/fphys.2022.889792/full>
210. Yan B, Ma Z, Shi S, Hu Y, Ma T, Rong G, vd. Sulforaphane prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice by inhibiting oxidative stress via nuclear factor erythroid 2-related factor-2 activation. *Mol Med Rep*. 01 Haziran 2017;15(6):4005-14.

211. Jiang Y, Xing S, Ni D, Yang B, Kai J, Wang T, vd. Curcumin Attenuates Ferroptosis and Ameliorates Erectile Function in Diabetic Rats by Activating Nrf2/HO-1 Pathway. *Andrologia*. 2023;2023(1):7236816.
212. Ma Z, Wang W, Pan C, Fan C, Li Y, Wang W, vd. N-acetylcysteine improves diabetic associated erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic mice by inhibiting oxidative stress. *J Cell Mol Med*. 2022;26(12):3527-37.
213. Li Z, Jia B, Guo Z, Zhang K, Zhao D, Li Z, vd. Therapeutic potential of salidroside in type I diabetic erectile dysfunction: Attenuation of oxidative stress and apoptosis via the Nrf2/HO-1 pathway. *PLOS ONE*. 11 Temmuz 2024;19(7):e0306926.
214. Internal Pudental Artery Dysfunction in Diabetes Mellitus Is Mediated by NOX1-Derived ROS-, Nrf2-, and Rho Kinase-Dependent Mechanisms | Hypertension [İnternet]. [a.yer 19 Mayıs 2025]. Erişim adresi: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07518>
215. Wang Y, Meng XH, Zhang QJ, Wang YM, Chen C, Wang YC, vd. Losartan improves erectile function through suppression of corporal apoptosis and oxidative stress in rats with cavernous nerve injury. *Asian J Androl*. Ekim 2019;21(5):452.
216. Wang Y, Wang Y, Cong R, Tian Y, Chen C, Wang Y, vd. Restoration of erectile function by suppression of corporal apoptosis and oxidative stress with losartan in aged rats with erectile dysfunction. *Andrology*. 2020;8(3):769-79.
217. Angulo J, El Assar M, Sevilleja-Ortiz A, Fernández A, Sánchez-Ferrer A, Romero-Otero J, vd. Short-term pharmacological activation of Nrf2 ameliorates vascular dysfunction in aged rats and in pathological human vasculature. A potential target for therapeutic intervention. *Redox Biol*. 01 Eylül 2019;26:101271.
218. Yang S, Shi W, Liu Q, Song Y, Fang J. Nrf2 enhances the therapeutic efficiency of adipose-derived stem cells in the treatment of neurogenic erectile dysfunction in a rat model. *Basic Clin Androl*. 20 Aralık 2023;33(1):39.
219. Liang J, Li L, Sun Y, He W, Wang X, Su Q. The protective effect of activating Nrf2 / HO-1 signaling pathway on cardiomyocyte apoptosis after coronary microembolization in rats. *BMC Cardiovasc Disord*. 24 Ekim 2017;17(1):272.
220. Lv H, Ren W, Zheng Y, Wang L, Lu G, Yi P, vd. Tenuigenin exhibits anti-inflammatory activity via inhibiting MAPK and NF-κB and inducing Nrf2/HO-1 signaling in macrophages. *Food Funct*. 20 Ocak 2016;7(1):355-63.
221. Shuhua Y, Lingqi M, Yunlong D, He T, Yao S, Peng L. Proanthocyanidins Activate Nrf2/ARE Signaling Pathway in Intestinal Epithelial Cells by Inhibiting the Ubiquitinated Degradation of Nrf2. *BioMed Res Int*. 2022;2022(1):8562795.

222. Yu H, Shi L, Zhao S, Sun Y, Gao Y, Sun Y, vd. Triptolide Attenuates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injuries in Rats by Inducing the Activation of Nrf2/HO-1 Defense Pathway. *Cardiovasc Toxicol*. 01 Ekim 2016;16(4):325-35.
223. Nrf2 Regulates Oxidative Stress and Its Role in Cerebral Ischemic Stroke [İnternet]. [a.yer 19 Mayıs 2025]. Erişim adresi: <https://www.mdpi.com/2076-3921/11/12/2377>
224. Zhang Y, Wang J, Wang Y, Lei K. Nrf2/HO-1 signaling activation alleviates cigarette smoke-induced inflammation in chronic obstructive pulmonary disease by suppressing NLRP3-mediated pyroptosis. *J Cardiothorac Surg*. 05 Şubat 2024;19(1):58.
225. Chadha S, Behl T, Kumar A, Khullar G, Arora S. Role of Nrf2 in rheumatoid arthritis. *Curr Res Transl Med*. 01 Kasım 2020;68(4):171-81.
226. Nitti M, Ivaldo C, Traverso N, Furfaro AL. Clinical Significance of Heme Oxygenase 1 in Tumor Progression. *Antioxidants*. Mayıs 2021;10(5):789.
227. Berberine Hydrochloride Protects C2C12 Myoblast Cells Against Oxidative Stress-Induced Damage via Induction of Nrf-2-Mediated HO-1 Expression - Choi - 2016 - Drug Development Research - Wiley Online Library [İnternet]. [a.yer 19 Mayıs 2025]. Erişim adresi: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ddr.21325>
228. Liu XJ, Lv YF, Cui WZ, Li Y, Liu Y, Xue YT, vd. Icaritin inhibits hypoxia/reoxygenation-induced ferroptosis of cardiomyocytes via regulation of the Nrf2/HO-1 signaling pathway. *FEBS Open Bio*. 2021;11(11):2966-76.
229. Cai X, Hua S, Deng J, Du Z, Zhang D, Liu Z, vd. Astaxanthin Activated the Nrf2/HO-1 Pathway to Enhance Autophagy and Inhibit Ferroptosis, Ameliorating Acetaminophen-Induced Liver Injury. *ACS Appl Mater Interfaces*. 28 Eylül 2022;14(38):42887-903.
230. Lee J, Song K, Huh E, Oh MS, Kim YS. Neuroprotection against 6-OHDA toxicity in PC12 cells and mice through the Nrf2 pathway by a sesquiterpenoid from *Tussilago farfara*. *Redox Biol*. 01 Eylül 2018;18:6-15.
231. Liu X, Zhu Q, Zhang M, Yin T, Xu R, Xiao W, vd. Isoliquiritigenin Ameliorates Acute Pancreatitis in Mice via Inhibition of Oxidative Stress and Modulation of the Nrf2/HO-1 Pathway. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018(1):7161592.
232. Fang Z, Wang G, Huang R, Liu C, Yushanjiang F, Mao T, vd. Astilbin protects from sepsis-induced cardiac injury through the NRF2/HO-1 and TLR4/NF-κB pathway. *Phytother Res*. 2024;38(2):1044-58.
233. Verapamil Attenuates the Severity of Tendinopathy by Mitigating Mitochondrial Dysfunction through the Activation of the Nrf2/HO-1 Pathway [İnternet]. [a.yer 19 Mayıs 2025]. Erişim adresi: <https://www.mdpi.com/2227-9059/12/4/904>

234. Fibroblast Nrf2 inhibits profibrotic transcription with Ddx54 and mitigates pathological fibrosis in the mouse heart and kidney | bioRxiv [Internet]. [a.yer 19 Mayıs 2025]. Erişim adresi: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2023.11.09.566496v1>
235. NRF2 Activation Inhibits Both TGF- $\beta$ 1- and IL-13-Mediated Periostin Expression in Fibroblasts: Benefit of Cinnamaldehyde for Antifibrotic Treatment - Mitamura - 2018 - Oxidative Medicine and Cellular Longevity - Wiley Online Library [Internet]. [a.yer 19 Mayıs 2025]. Erişim adresi: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2018/2475047>
236. Yan B, Ma Z, Shi S, Hu Y, Ma T, Rong G, vd. Sulforaphane prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice by inhibiting oxidative stress via nuclear factor erythroid 2-related factor-2 activation. *Mol Med Rep.* 01 Haziran 2017;15(6):4005-14.
237. McCord JM, Gao B, Hybertson BM. The Complex Genetic and Epigenetic Regulation of the Nrf2 Pathways: A Review. *Antioxidants.* Şubat 2023;12(2):366.
238. Powers SK, Lategan-Potgieter R, Goldstein E. Exercise-induced Nrf2 activation increases antioxidant defenses in skeletal muscles. *Free Radic Biol Med.* 01 Kasım 2024;224:470-8.
239. Bano S, Malik JK. Chlorogenic Acid a Potent Anti-inflammatory Agent: In-Silico Molecular Docking approach. *Middle East Res J Pharm Sci.* 27 Aralık 2021;2(1):10-20.
240. He X, Zheng S, Sheng Y, Miao T, Xu J, Xu W, vd. Chlorogenic acid ameliorates obesity by preventing energy balance shift in high-fat diet induced obese mice. *J Sci Food Agric.* 30 Ocak 2021;101(2):631-7.
241. Meng H, Li Y, Lu B, Zhang W, Shi X, Fu H, vd. The Effect of Light Intensity on the Chlorogenic Acid Biosynthesis Pathway in *Marsdenia tenacissima*. *Agronomy.* 17 Mayıs 2024;14(5):1063.
242. Jaiswal R, Matei MF, Golon A, Witt M, Kuhnert N. Understanding the fate of chlorogenic acids in coffee roasting using mass spectrometry based targeted and non-targeted analytical strategies. *Food Funct.* 2012;3(9):976.
243. Wang L, Du H, Chen P. Annexin a2 as a target protein for chlorogenic acid in human lung cancer A549 cells [Internet]. *Pharmacology and Toxicology*; 2020 [a.yer 24 Şubat 2025]. Erişim adresi: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.06.11.146027>
244. Jaiswal R, Patras MA, Eravuchira PJ, Kuhnert N. Profile and Characterization of the Chlorogenic Acids in Green Robusta Coffee Beans by LC-MS n : Identification of Seven New Classes of Compounds. *J Agric Food Chem.* 11 Ağustos 2010;58(15):8722-37.

245. Sieniawska E, Skalicka-Woźniak K. Isolation of chlorogenic acid from *Mutellina purpurea* L. herb using high-performance counter-current chromatography. *Nat Prod Res.* 02 Kasım 2014;28(21):1936-9.
246. Clifford MN, Jaganath IB, Ludwig IA, Crozier A. Chlorogenic acids and the acyl-quinic acids: discovery, biosynthesis, bioavailability and bioactivity. *Nat Prod Rep.* 2017;34(12):1391-421.
247. Butkevičiūtė A, Liaudanskas M, Kviklys D, Gelvonauskienė D, Janulis V. The Qualitative and Quantitative Compositions of Phenolic Compounds in Fruits of Lithuanian Heirloom Apple Cultivars. *Molecules.* 11 Kasım 2020;25(22):5263.
248. Nabavi SF, Tejada S, Setzer WN, Gortzi O, Sureda A, Braidý N, vd. Chlorogenic Acid and Mental Diseases: From Chemistry to Medicine. *Curr Neuropharmacol.* 11 Nisan 2017;15(4):471-9.
249. Šilarová P, Boulekbache-Makhlouf L, Pellati F, Česlová L. Monitoring of Chlorogenic Acid and Antioxidant Capacity of *Solanum melongena* L. (Eggplant) under Different Heat and Storage Treatments. *Antioxidants.* 20 Temmuz 2019;8(7):234.
250. Docimo T, Francese G, De Palma M, Mennella D, Toppino L, Lo Scalzo R, vd. Insights in the Fruit Flesh Browning Mechanisms in *Solanum melongena* Genetic Lines with Opposite Postcut Behavior. *J Agric Food Chem.* 08 Haziran 2016;64(22):4675-85.
251. Rahali FZ, Lamine M, Rebey IB, Aidi Wannes W, Hammami M, Selmi S, vd. Biochemical characterization of fennel (*Ferula communis* L.) different parts through their essential oils, fatty acids and phenolics. *Acta Sci Pol Hortorum Cultus.* 26 Şubat 2021;20(1):3-14.
252. Rajic J, Djordjevic S, Tesevic V, Zivkovic M, Djordjevic N, Paunovic D, vd. The extract of fennel fruit as a potential natural additive in food industry. *J Agric Sci Belgrade.* 2018;63(2):205-15.
253. Vladimir-Knežević S, Bival Štefan M, Blažeković B, Jelić D, Petković T, Mandić M, vd. Src Tyrosine Kinase Inhibitory and Antioxidant Activity of Black Chokeberry and Bilberry Fruit Extracts Rich in Chlorogenic Acid. *Int J Mol Sci.* 24 Ekim 2023;24(21):15512.
254. Kaushik P, Saini DK. Sequence Analysis and Homology Modelling of SmHQT Protein, a Key Player in Chlorogenic Acid Pathway of Eggplant [Internet]. *Bioinformatics*; 2019 [a.yer 24 Şubat 2025]. Erişim adresi: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/599282>

255. Can A, Kazankaya A, Orman E, Gundogdu M, Ercisli S, Choudhary R, vd. Sustainable Mulberry (*Morus nigra* L., *Morus alba* L. and *Morus rubra* L.) Production in Eastern Turkey. *Sustainability*. 07 Aralık 2021;13(24):13507.
256. Gundogdu M, Canan I, Gecer MK, Kan T, Ercisli S. Phenolic compounds, bioactive content and antioxidant capacity of the fruits of mulberry (*Morus* spp.) germplasm in Turkey. *Folia Hortic*. 20 Aralık 2017;29(2):251-62.
257. Lu H, Tian Z, Cui Y, Liu Z, Ma X. Chlorogenic acid: A comprehensive review of the dietary sources, processing effects, bioavailability, beneficial properties, mechanisms of action, and future directions. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. Kasım 2020;19(6):3130-58.
258. Kim J, Lee S, Shim J, Kim HW, Kim J, Jang YJ, vd. Caffeinated coffee, decaffeinated coffee, and the phenolic phytochemical chlorogenic acid up-regulate NQO1 expression and prevent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis in primary cortical neurons. *Neurochem Int*. Nisan 2012;60(5):466-74.
259. Fuentes E, Caballero J, Alarcón M, Rojas A, Palomo I. Chlorogenic Acid Inhibits Human Platelet Activation and Thrombus Formation. Schulz C, editör. *PLoS ONE*. 05 Mart 2014;9(3):e90699.
260. Tsai KL, Hung CH, Chan SH, Hsieh PL, Ou HC, Cheng YH, vd. Chlorogenic Acid Protects Against oxLDL-Induced Oxidative Damage and Mitochondrial Dysfunction by Modulating SIRT1 in Endothelial Cells. *Mol Nutr Food Res*. Haziran 2018;62(11):e1700928.
261. Ruan Z, Liu S, Zhou Y, Mi S, Liu G, Wu X, vd. Chlorogenic acid decreases intestinal permeability and increases expression of intestinal tight junction proteins in weaned rats challenged with LPS. *PloS One*. 2014;9(6):e97815.
262. Ma Y, Gao M, Liu D. Chlorogenic acid improves high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance in mice. *Pharm Res*. Nisan 2015;32(4):1200-9.
263. Ong KW, Hsu A, Tan BKH. Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by ampk activation. *Biochem Pharmacol*. 01 Mayıs 2013;85(9):1341-51.
264. Tunnicliffe JM, Cowan T, Shearer J. Chlorogenic Acid in Whole Body and Tissue-Specific Glucose Regulation. İçinde: *Coffee in Health and Disease Prevention* [Internet]. Elsevier; 2015 [a.yer 24 Şubat 2025]. s. 777-85. Erişim adresi: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124095175000863>
265. Mojica BE, Fong LE, Biju D, Muharram A, Davis IM, Vela KO, vd. The Impact of the Roast Levels of Coffee Extracts on their Potential Anticancer Activities. *J Food Sci*. Nisan 2018;83(4):1125-30.

266. Gupta A, Atanasov AG, Li Y, Kumar N, Bishayee A. Chlorogenic acid for cancer prevention and therapy: Current status on efficacy and mechanisms of action. *Pharmacol Res.* Aralık 2022;186:106505.
267. Sung WS, Lee DG. Antifungal action of chlorogenic acid against pathogenic fungi, mediated by membrane disruption. *Pure Appl Chem.* 03 Ocak 2010;82(1):219-26.
268. Yang X, Lan W, Xie J. Antimicrobial and anti-biofilm activities of chlorogenic acid grafted chitosan against *Staphylococcus aureus*. *Microb Pathog.* Aralık 2022;173(Pt A):105748.
269. Ursodeoxycholic acid ameliorates erectile dysfunction and corporal fibrosis in diabetic rats by inhibiting the TGF- $\beta$ 1/Smad2 pathway | *International Journal of Impotence Research* [İnternet]. [a.yer 02 Mayıs 2025]. Erişim adresi: <https://www.nature.com/articles/s41443-024-00868-9>
270. Kamshoushi AME, Sobhy N, Helal SF, Hassaan PS, Omar H. A Study of the Correlation between Angiotensin (1-7) and the Histopathological Changes in the Penises of Experimentally Diabetic Rats. *Open J Endocr Metab Dis.* 16 Mart 2018;8(3):81-92.
271. Gratzke C, Strong TD, Gebaska MA, Champion HC, Stief CG, Burnett AL, vd. Activated RhoA/Rho kinase impairs erectile function after cavernous nerve injury in rats. *J Urol.* Kasım 2010;184(5):2197-204.
272. Kanchanasurakit S, Saokaew S, Phisalprapa P, Duangjai A. Chlorogenic acid in green bean coffee on body weight: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Syst Rev.* 14 Eylül 2023;12(1):163.
273. Soga S, Ota N, Shimotoyodome A. Stimulation of postprandial fat utilization in healthy humans by daily consumption of chlorogenic acids. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2013;77(8):1633-6.
274. Off-Target Effect of Sildenafil on Postsurgical Erectile Dysfunction: Alternate Pathways and Localized Delivery System | *The Journal of Sexual Medicine* | Oxford Academic [İnternet]. [a.yer 02 Haziran 2025]. Erişim adresi: <https://academic.oup.com/jsm/article-abstract/13/12/1834/6940488?redirectedFrom=fulltext&login=true>
275. Mulhall JP, Müller A, Donohue JF, Mullerad M, Kobylarz K, Paduch DA, vd. The Functional and Structural Consequences of Cavernous Nerve Injury are Ameliorated by Sildenafil Citrate. *J Sex Med.* 01 Mayıs 2008;5(5):1126-36.
276. Burnett AL, Sezen SF, Hoke A, Caggiano AO, Iaci J, Lagoda G, vd. GGF2 Is Neuroprotective in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury-Induced Erectile Dysfunction. *J Sex Med.* 01 Nisan 2015;12(4):897-905.

277. Bilateral Cavernous Nerve Crush Injury in the Rat Model: A Comparative Review of Pharmacologic Interventions | Sexual Medicine Reviews | Oxford Academic [İnternet]. [a.yer 02 Haziran 2025]. Erişim adresi: <https://academic.oup.com/smr/article-abstract/6/2/234/6830806?redirectedFrom=fulltext&login=true>
278. The Protective Effect of Chlorogenic Acid on Vascular Senescence via the Nrf2/HO-1 Pathway [İnternet]. [a.yer 02 Haziran 2025]. Erişim adresi: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/12/4527>
279. Han D, Gu X, Gao J, Wang Z, Liu G, Barkema HW, vd. Chlorogenic acid promotes the Nrf2/HO-1 anti-oxidative pathway by activating p21Waf1/Cip1 to resist dexamethasone-induced apoptosis in osteoblastic cells. *Free Radic Biol Med.* 01 Haziran 2019;137:1-12.
280. Song G, Wang J, Liu J, Ruan Y. Dimethyl fumarate ameliorates erectile dysfunction in bilateral cavernous nerve injury rats by inhibiting oxidative stress and NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis of nerve via activation of Nrf2/HO-1 signaling pathway. *Redox Biol.* Aralık 2023;68:102938.
281. Chauhan PS, Satti NK, Sharma P, Sharma VK, Suri KA, Bani S. Differential Effects of Chlorogenic Acid on Various Immunological Parameters Relevant to Rheumatoid Arthritis. *Phytother Res.* 2012;26(8):1156-65.
282. Evaluation of the Anti-inflammatory, Analgesic and Antipyretic Activities of the Natural Polyphenol Chlorogenic Acid [İnternet]. [a.yer 23 Mayıs 2025]. Erişim adresi: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/29/11/29\\_11\\_2236/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/29/11/29_11_2236/_article)
283. Ethnopharmacological evaluation of some *Scorzonera* species: In vivo anti-inflammatory and antinociceptive effects - ScienceDirect [İnternet]. [a.yer 23 Mayıs 2025]. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874112000281?via%3Dihub>
284. Full article: Protective effects of ellagic and chlorogenic acids against oxidative stress in PC12 cells [İnternet]. [a.yer 23 Mayıs 2025]. Erişim adresi: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09670260500197660>
285. Leungwattanakij S, Bivalacqua TJ, Usta MF, Yang DY, Hyun JS, Champion HC, vd. Cavernous neurotomy causes hypoxia and fibrosis in rat corpus cavernosum. *J Androl.* 2003;24(2):239-45.
286. Ferrini MG, Davila HH, Kovanecz I, Sanchez SP, Gonzalez-Cadavid NF, Rajfer J. Vardenafil prevents fibrosis and loss of corporal smooth muscle that occurs after bilateral cavernosal nerve resection in the rat. *Urology.* Ağustos 2006;68(2):429-35.
287. Nwafor, E. O., Lu, P., Zhang, Y., Liu, R., Peng, H., Xing, B., Liu, Y., Li, Z., Zhang, K., Zhang, Y., & Liu, Z. (2022). Chlorogenic acid: Potential source of natural drugs

for the therapeutics of fibrosis and cancer. *Translational oncology*, 15(1), 101294.  
<https://doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101294>

