

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

**İSKEMİK PRIAPİZM SONRASI GELİŞEN PENİL FİBROZİSİ
AZALTMADA VALPROİK ASİTİN ETKİNLİĞİ**

**THE EFFECTIVENESS OF VALPROIC ACID IN REDUCING
PENILE FIBROSIS AFTER ISCHEMIC PRIAPISM**

Uzmanlık Tezi

Dr. Ayhan ARSLAN

TRABZON – 2017

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

**İSKEMİK PRIAPİZM SONRASI GELİŞEN PENİL FİBROZİSİ
AZALTMADA VALPROİK ASİTİN ETKİNLİĞİ**

**THE EFFECTIVENESS OF VALPROIC ACID IN REDUCING
PENILE FIBROSIS AFTER ISCHEMIC PRIAPISM**

Uzmanlık Tezi

Dr. Ayhan ARSLAN

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

TRABZON – 2017

ÖZET

Priapizm seksüel uyarı ve orgazm ile birlikte veya uyarı olmaksızın 4 saatten fazla devam eden tam veya yarı ereksiyon halidir. İskemik priapizm arteriyel girişin az olduğu veya hiç olmadığı korpus kavernozum sertliğiyle olan kalıcı ereksiyon durumudur. İskemik priapizmde ilerleyici hipoksi, hiperkarbi ve asidozun olduğu korporal metabolik çevrenin zamana bağımlı değişimleri vardır. Genişletilmiş anoksi dönemleri korpus düz kas kontraktilesini bozar ve düz kas hücre ölümüne ve korpus kavernozumların nihai fibrozisine neden olur. TGF- β 1 iskemik priapizmde fibrozise neden olan araçılardan birisidir. Valproik asit(VPA) yaygın bir antikonvülzan ilaç olarak kullanılan nonspesifik bir Histon deasetilaz (HDAC) inhibitörüdür. Hipertansif ve miyokardiyal iskemik hayvan modellerinde VPA aracılı HDAC inhibisyonunun inflamasyon, düz kas dokusu değişikliklerini ve TGF- β kaynaklı fibrozisi önlediği görülmüştür. Bu çalışmada, VPA'nın mevcut potansiyelini, penil priapizm modelinde incelemek amaçlanmıştır.

Her biri 8 denek barındıran 4 grup oluşturuldu. Grup 1 (Kontrol - n:8); kontrol grubu ratlara intraperitoneal olarak 1 ay boyunca her gün distile su verildi. Grup 2 (Kontrol+VPA - n:8); çalışma başlangıcından itibaren 1 ay boyunca her gün 250 mg/kg intraperitoneal olarak VPA verildi. Grup 3 (Priapizm - n:8); 6 saatlik priapizm sonrası konstriktör bant çıkartıldı ve ratlara intraperitoneal olarak 1 ay boyunca distile su verildi. Grup 4 (Priapizm+VPA – n:8); 6 saatlik priapizm sonrası konstriktör bant çıkartıldı ve çalışma başlangıcından itibaren ratlara hergün 250 mg/kg intraperitoneal olarak VPA verildi. Birinci ayın sonunda tüm deneklerin in vivo erektile yanıtı değerlendirildi. Sonrasında alınan penis dokuları histolojik ve biyokimyasal olarak incelendi.

Priapizm modeli ile yürüyen bu çalışmadan elde edilen veriler; VPA tedavisinin kas kalınlığının korunmasında ve bağ dokusu apoptozunda olumlu katkılar sağladığını ortaya koymaktadır.

ABSTRACT

Priapism is an full or half erection which continuous more than four hours with or without sexual stimuli and orgasm. Ischemic priapism is a condition which is low or none arterial flow with corpus cavernosum hardening and persistent erection. In ischemic priapism there are time dependent changings in corporal metabolic microenvironment accompanied by hypoxia, hypercarbia and asidosis. Expanded anoxic episodes inhibit corpus cavernosum smooth muscle contractility, cause smooth muscle death and irreversible fibrosis in corpus cavernosums. TGF β -1 is a mediator which causes fibrosis in ischemic priapism. Valproic acid(VPA), nonspecific histone deacetylase inhibitör(HDAC), is a widely used anticonvulsant drug. Studies in hypertensive and myocardial ischemic animal models showed that VPA mediated HDAC inhibition prevents inflammation, smooth muscle tissue changes, TGF- β derived fibrosis. In this study, it was aimed to investigate the present potential of VPA in penile priapism model.

There were created four groups that each group had eight subject. In group 1(control-n:8) control group's rats were given distilled water intraperitoneally every day for a mount. In group 2(Control+VPA-n:8), rats were given 250 mg/kg VPA intraperitoneally every day for a mount since study beginning. In group 3 (Priapism-n:8) after six hour priapism, constrictor band was removed and rats were given distilled water intraperitoneally every day for a mount. In group 4 (Priapism+VPA-n:8) after six hour priapism, constrictor band was removed and rats were given 250 mg/kg VPA intraperitoneally every day for a mount since study beginning. All group's rats's evaluated for erectile responses in the first mount ending. Penile tissues were histologically and biochemically examined.

Datas which were obtained by this priapism model study, showed that VPA's treatment's positive effects on muscle thickness permanence and soft tissue's apopitosis.

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Penis Anatomisi.....	3
2.2. Penis Histolojisi.....	5
2.3. Ereksiyon Fizyolojisi.....	6
2.4. Priapizmin Fizyopatolojisi.....	7
2.5. Valproik Asit.....	10
3. MATERYAL VE METOD	12
3.1. Çalışma Grupları	12
3.2. İn vivo Eretil Yanıt Değerlendirilmesi.....	15
3.3. Histolojik İnceleme Yöntemi.....	17
3.4. Biyokimyasal İnceleme Yöntemi.....	18
3.4. İstatistiksel İnceleme Yöntemi.....	18
4. BULGULAR	19
4.1. Histopatolojik İnceleme Sonuçları.....	19
4.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları.....	24
4.3. İn vivo Eretil Yanıt Sonuçları.....	25
5. TARTIŞMA	31
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	33
7. KAYNAKLAR	34

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

TGF-β	: Transforming Growth Faktor Beta
VPA	: Valproik Asit
HDAC	: Histon Deasetilaz
mRNA	: Mitokondriyal Ribonükleik Asit
pO₂	: Parsiyel Oksijen Basıncı
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
NO	: Nitrik Oksit
cGMP	: Cyclic Guanozin Monofosfat
FDE5	: Fosfodiesteraz 5
KTÜ	: Karadeniz Teknik Üniversitesi
İKB	: İntrakavernozal Basınç
SKB	: Sistemik Kan Basıncı

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Şekil Adı</u>	<u>Sayfa No</u>
1.	Valproik asitin kimyasal yapısı	11

<u>Resim No</u>	<u>Resim Adı</u>	<u>Sayfa No</u>
1., 2.	Konstriktör bant kullanılarak oluşturulan ereksiyon	14
3., 4.	Kavernöz sinir elektrik stimülasyonu	16
5.	Gruplara ait penis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü.....	20
6.	Korpus kavernoza ait kesitler.....	22
7.	Üretra epiteline ait kesitler.....	23

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Tablo Adı</u>	<u>Sayfa No</u>
1.	Priapizm Etyolojileri	7
2.	Çalışma Grupları.....	12
3.	Ratların Gruplara Göre Ortalama Ağırlıkları.....	13
4.	Grupların Kas Kalınlığı Ve Düz Kas/bağ Dokusu Oranı Açısından İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	21
5.	Grupların Bağ Dokusu Apoptozis Ve Kas Dokusu Apoptozis Açısından İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	24
6.	Grupların Biyokimyasal İstatistiksel Sonuçları.....	24
7.	Grupların Total İntrakavernöz Basınçlarının Voltajlara Göre İstatistiksel Dağılımı.....	27
8.	Grupların Maksimum İntrakavernöz Basıncın Maksimum Sistemik Kan Basıncına Oranlarının Voltajlara Göre İstatistiksel Dağılımı.....	29

1.GİRİŞ

Priapizm terimi Yunan Tanrısı Priapus' dan köken alır. Priapus bereket tanrısıdır. Priapus heykellerde büyük penisi ile anılır. Priapizm seksüel uyarı ve orgazmı birlikte veya uyarı olmaksızın 4 saatten fazla devam eden tam veya yarı ereksiyon halidir. Üç tip priapizm vardır: iskemik priapizm(veno-oklüziv, düşük akımlı), tekrarlayıcı priapizm (intermitan) ve noniskemik priapizm(arteryel, yüksek akımlı). İskemik priapizm tipi daha yaygın olarak görülmektedir. İskemik priapizm(veno-oklüziv) arteriyel girişin az olduğu veya hiç olmadığı korpus kavernozum sertliğiyle olan kalıcı ereksiyon durumudur. İskemik priapizmde ilerleyici hipoksi, hiperkarbi ve asidozun olduğu korporal metabolik çevrenin zamana bağımlı değişimleri vardır (1). Histolojik olarak 12 saatte korporal örneklerde interstisyel ödem ilerlemiş sinüzoidal endotel hasarı, bazal membran yıkımı ve 24 saatte trombosit adherensi olur. Kırksekiz saatte sinüzoidal boşluklarda trombositler bulunur ve fibroblast benzeri hücre değişimiyle birlikte düz kas nekrozu olur (2). Genişletilmiş anoksi dönemleri korpus düz kas kontraktilitesini bozar ve düz kas hücre ölümüne ve korpus kavernozumların nihai fibrozisine neden olur. İskemik priapizminin deneysel hayvan modellerinde iskemik priapizm sırasında ve sonrasında peniste lipid peroksidasyonu, reaktif oksijen radikalleriyle tetiklenen yaralanma ve artan hemooksijenaz ekspresyonu oluşur. İskemi ilişkili fibrozisin artışı içeren patofizyolojik mekanizmalar hipoksi bağımlı büyüme faktörlerinin “upregülasyon” larıdır. TGF- β doku onarımında hayati önem taşıyan bir sitokindir. Bununla birlikte oksidatif stresin ortaya çıktığı durumlar ve hipoksi sırasında aşırı miktarları doku hasarına ve skar dokusuna ve TGF- β ' nın upregülasyonuna neden olabilir. TGF- β ' nın korpus dokusunun fibroze ilerlemesine dahil olabileceği hipotezine neden olmuştur (1). Priapizmin sonlanması ile birlikte iskemi reperfüzyon hasarı meydana gelmektedir. Reperfüzyon iskemik dokunun korunması için gerekli olmasına rağmen, reperfüzyonun kendisi iskemi reperfüzyon hasarını meydana getiren patofizyolojik süreci başlatmaktadır (3). TGF- β 1 iskemik priapizmde fibroze neden olan araçlardan birisidir. TGF- β 1 nötralize edici

antikorlar kısa süreli priapizm durumlarında TGF- β 1' in fibrotik etkilerini azaltmıştır (4).

Valproik asit(VPA) yaygın bir antikonvülzan ilaç olarak kullanılan nonspesifik bir Histon deasetilaz (HDAC) inhibitörüdür. En son olarak hipertansif ve miyokardiyal iskemik hayvan modellerinde VPA aracılı HDAC inhibisyonunun inflamasyon, düz kas hipertrofisi ve TGF- β kaynaklı fibrozisi önlediği görülmüştür. Kronik hastalıklardaki fibrozisin gelişme ve ilerlemesindeki artmış HDAC' ın enzimatik aktivitesinin rolü tam olarak belirlenmiştir (5, 6). HDAC inhibitörleri, akciğer ve karaciğer fibrozu gibi çeşitli hastalık modellerinde antifibrogenik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. VPA tedavisinin nörojenik mesane çalışmalarında doz bağımlı olarak kollajen tip 1 ve 3 mRNA ekspresyonunu azalttığı görülmüştür. VPA' nın TGF- β ve korporal fibrozisi azaltma ile ilgili potansiyeli kavernoöz sinir hasarı modelinde değerlendirilmiş ve anlamlı neticeler elde edilmiştir (5). Bu etki diyabete bağlı gelişen erektil disfonksiyon ve penil fibrozis modelinde de değerlendirilmiş olup sonuçlar ümit vericidir.

Biz bu çalışmada VPA'nın fibrozisi azaltmada mevcut potansiyelini, Androlojinin önemli hasta grubunu ve tedavi edilmediği taktirde penil protez implantasyonları gibi pahalı ve fizyolojik olmayan farklı tedavi gereksinimlerine neden olabilecek penil priapizm modelinde değerlendirmeyi amaçladık. Bu amaçla ratlarda deneysel olarak oluşturulan akut iskemik priapizm modeli seçilmiş olup, VPA tedavisi sonrası biyokimyasal ve histolojik yöntemlerle penil fibrozis ve apoptozis değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Penis Anatomisi

Penis gevşek bir deri altı tabakası ve ciltle sarılmış üç silindirik yapıdan oluşur: bir çift korpus kavernozum ve korpus spongiozum (ki üretrayı içerir). Flask haldeki uzunluğu erektile düz kasın kontraksiyonuyla kontrol edilir ve sıcaklık ve emosyon duruma bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik gösterir. Penis boyu flask halde ortalama 8-10 cm erekte halde 12-14 cm civarlarındadır. Penis korpus penis ve radiks penis olmak üzere iki bölümden oluşur. Glans penis ucundan pubise kadar olan serbest bölüm korpus penis, perineumda bulunan sabit bölüm ise radiks penistir. Perineal bölgede radiks penisin oluşumuna katılan kavernöz cisimler birbirinden ayrılarak krus penisleri spongioz cisim ise bulbus penisi oluşturur. Krus penisler iskiyon pubis koluna yapışır. Bulbus penis ise “diaphragma ürogenitale” nin alt yüzüne yapışır. Radiks penis “spatium perinei superficiale” denilen fasial aralık içinde bulunur (7).

Penis derisi koyu renkli ve incedir. Deri altında yağ dokusu bulunmaz. Uç kısmında kendi üzerinde katlanarak “preputium penis” i oluşturur. Penisin “fascia penis superficialis” ve “profundus” olmak üzere iki fasyası vardır. Süperfisyal fasya skrotumdaki yüzeysel fasya ile devamlıdır. Fasya penis profunda (Buck fasyası) tunika albuginea ile süperfisyal fasya arasında bulunur ve korpus penisi bir kılıf şeklinde sarar ve önde glans penise kadar devam eder (8).

Korpus kavernozum penisler sağlam bir fibröz kılıf olan tunika albuginea ile sarılmıştır. Tunika, penise büyük bir esneklik, rijidite ve güç verir. Korpus kavernozumun tunikal kılıfı birçok alt katman içeren iki tabakalı bir yapıdır. İç tabakanın demetleri kavernöz dokuyu sarar, destekler ve sirküler düzen gösterir. Bu tabakadan yayılan intrakavernoza bantlar septumu destekleyip erektile dokuya esas güç verir. Dış tabaka demetleri glans penisten proksimal kruraya kadar longitudinal olarak uzanır; inferior pubik ramusa tutunur fakat saat 5 ve 7 arasında görülmez. Korpus sponsiozumda dış tabaka veya intrakorporeal kolonların bulunmamasından dolayı, erekte haldeki basınç spongioz cisimde düşük kalır. Tunikanın kalınlığı ve gücü yeriyile istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler gösterir. En zayıf yer ventral

yivdir(5-7 arası) burada longitudinal dış tabaka yoktur ; penil protezlerin çoğu buradan protrüze olur (7).

Bulbusun distalinde korpus spongiozum incelir ve korpus kavernozum önünde seyreder ve daha sonra glans penisi oluşturur. Korona, glansın tabanını penis shaftından ayırır. Eksternal penil destek fundiform ve suspensuar olmak üzere iki ligamentten oluşur. Fundiform ligament Colles fasyasından çıkar, tunika albugineaya lateral ve yüzeyeldir,tunika albugineaya yapışmaz. Suspensuar ligament Buck fasyasından çıkar, iki lateral ve bir medyan dalı olup dorsal veni çevreler. Temel fonksiyonu tunika albugineayı pubise tutturmak ve penisin hareketli kısmını desteklemektir (7).

Penil kan başlıca internal iliak arterin dalı olan internal pudental arterden gelir. Birçok olguda eksternal iliak, obturator, vezikal ve femoral arterlerden gelen aksesuar arterler bulunur. Bazen dominant kan kaynağı ya da korpus kavernozumun tek arteri de olabilirler. İnternal pudental arter, perineye bir dal verdikten sonra “common” penil arter adını alır. Dorsal, bulboüretal, ve kavernoza olmak üzere üç dalı vardır. Glans yakınında, distalde halka oluşturacak şekilde birleşme gösterir. Dorsal arter ereksiyonda glansın dolgunluğundan sorumludur. Bulboüretal arter, bulbus ve korpus spongiozumu kanlandırır. Kavernoza arter, iki kruranın birleştiği hilus penisden korpus kavernoza girer ve kavernoza tümesansı sağlar. Seyri boyunca trabeküler erektile dokuyu ve sinüzoidleri besleyen çok sayıda helisin arterleri verir. Helisin arterler, flask halde kontrakte ve tortüöz iken ereksiyonda dilate ve doğrusal şekil alır (7).

Penisin cilt ve cilt altında multipl venler cilt altında seyrederek penis köküne doğru birleşerek yüzeyel dorsal veni (ya da çift) oluşturup safenöz vene drene olur.Bazen yüzeyel dorsal ven korpus kavernozumların bir bölümünü de drene edebilir. Koronal sulkusdan itibaren çok sayıda venöz kanal birleşerek derin dorsal veni oluşturur ki glansın ve 2/3 distal kavernoza cismin drenajını sağlar. Proksimal kavernoza dokuyu drene eden venler birleşerek kavernoza ve krural venleri oluştururlar. Bunlar bulböz üretradan gelen periüretal venlerle birleşip pudental ven olurlar (7).

Penisin lenfatikleri inguinal lenf nodlarına drene olurlar. Lenfatikler dorsal bölgede birleşirler ve inguinal bölgenin her iki tarafına doğru dallanırlar. Glansın

lenfatikleri dorsalde Buck fasyasının derininde seyreder ve inguinal bölgenin süperfisyal ve derin gruplarına drene olurlar (9).

Penisin inervasyonu iki önemli sinir grubu aracılığı ile olmaktadır. Bunlardan ilki pleksus pudendalis'in dalı olan N.pudendus'tur. S1,S2,S3,S4 medulla spinalis segmentlerinden çıkar. N.pudendus pelvis tabanı kaslarına motor dallar verdikten sonra penisin “sulcus dorsalis” inde a.dorsalis penis'le birlikte N.dorsalis penis olarak uzanır. N.dorsalis penis glans penis ve penis derisinden duyu alır. İnervasyondan sorumlu diğer sinir “N.corporis cevernosi penis majör” ve “N.corporis cevernosi penis minör” dur. Abdominal sempatik zincirden çıkan lifler sırayla pleksus mesentericus inferior (plexus submesentericus), pleksus hypogastricus superior (Laterjet siniri veya N.presacralis), N.hypogastricus yoluyla pleksus hypogastricus inferior'a (pleksus pelvicus veya pleksus pelvinus) ulaşırlar. Bu lifler T10, T11 , T12, L1 , L2 kaynaklı sempatik liflerdir. Bu pleksusa gelen parasempatik lifler ise S2,S3,S4'den çıkan Nn.splahniei pelvici (Nn.erigentes veya Eckhardt siniri) aracılığı ile gelir (10).

2.2. Penisin Histolojisi

Kavernöz cisimler, süngersi cisim ve penis glansı, vasküler boşlukları saran düz kas septası ve erektile dokuyu içerir. Penis glansının içinden geçen üretral mukoza yassı epitel hücreli epitelden yapılıdır. Glansın proksimalinde mukoza değişici epitel hücreleri içerir. Mukozanın altında bağ dokusu, elastik doku ve düz kastan ibaret submukoza bulunur. Submukozada üretra lümenine açılan çok sayıda Litre bezi bulunur. Üretra vasküler süngersi cisim ve penis glansı ile çevrelenmiştir (11).

Her üç silindirik yapı da ince bir deriyle örtülüdür. Bu erektile dokular fibroelastik bağ dokusunun oluşturduğu labirent yapılı trabekül kütleleri ve ereksiyon sırasında kanla dolan boşluklu venöz sinüzlerin oluşturduğu bir damar ağı ile birbirinden ayrılmış düz kas yapılarından ibarettir. Sinüsleri tipik olarak endotel döşer. Penis damardan zengin bir yapı olmasının yanında çok yaygın bir sinir ağına sahiptir (12).

2.3. Ereksiyon Fizyolojisi

Erkeklerde seksüel aktiviteyi başlatan duysal uyarıların en önemli kaynağı glans penisidir. Seksüel duyumlar pudental sinir yoluyla sakral pleksusa gider, oradan medulla spinalisin sakral bölümüne ulaşır ve omurilikten üst bölgelere iletilir. Kişide seksüel aktivite yeteneği, uygun psişik uyarılarla artabilir. Noktürnal emisyon birçok erkeklerde seksüel yaşamın belli dönemlerinde, özellikle pubertede uyku sırasında görülmektedir (13).

Ereksiyon seksüel uyarı sonucu ortaya çıkan ilk etkidir. Ereksiyonun derecesi, psişik ya da fiziksel uyarılmanın şiddetine bağlıdır. Ereksiyon omuriliğin sakral bölgesinden kaynaklanan pelvik sinirlerle penise ulaşan parasempatik uyarılarla oluşur. Bu parasempatik sinir liflerinin diğer parasempatik sinir liflerinin aksine, asetilkolin yerine nitrik oksid salgıladığı sanılmaktadır. Erektile doku geniş kavernoöz sinüzoidlerden ibarettir. Bu sinüzoidler normalde boştur. Ancak, arteriyel kan venöz damarların o anda kısmen kapalı olması nedeniyle büyük bir basınç ve hızla sinüzoidlere dolar. Bu olay, kavernoöz sinüzoidlerin aşırı dilatasyonuna yol açar. Ayrıca korpus kavernozumlar güçlü bir fibröz örtü ile kaplıdır. Bu nedenle sinüzoidler içindeki yüksek basınç erektile dokunun balon gibi şişmesine, penisin sertleşmesi ve uzamasına neden olur. Parasempatik uyarılar ereksiyon oluşturma yanında, üretral ve bulboüretral bezlerin mukus sekresyonuna neden olurlar. Bu mukus sıvısı cinsel birleşme sırasında lubrikasyon ile koitusu yardımcı olur (13).

Flask halde , beslenme amaçlı düşük oranda arteriyel akıma izin verecek şekilde, düz kaslar sürekli kontraksiyondadır. Parsiyel oksijen basıncı (pO₂) 35 mmHg dir. Seksüel uyarı kavernoöz sinir uçlarından nörotransmitter salınımı yaptırır. Düz kas gevşemesi sonrası pO₂ deki artış (yaklaşık 90 mmHg) ve intrakavernoöz basıncın 100 mmHg ye ulaşması ile penis erekte olur(full-ereksiyon fazı) ve iskiokavernoöz kasların kasılması ile basınç (birkaç yüz mmHg)daha da artar(rijid ereksiyon fazı). Ereksiyon ; sinüzoidal gevşemeyi, arteriyel dilatasyonu ve venöz kompresyonu kapsamaktadır (7).

Seksüel uyarıların yoğunlaşması sonucu, omurilikteki refleks merkezlerinden sempatik uyarılar doğmaya başlar. T12 ve L2 düzeyinde omurilikten çıkan uyarılar hipogastrik ve pelvik sempatik pleksuslar yoluyla genital organlara ulaşır ve emisyonu başlatır, ejakülasyonu haber verirler. Emisyon olayı, spermin internal

üretraya atılmasını sağlamak için vasa deferens ve ampullanın kasılmasıyla başlar. Daha sonra prostat bezinin kaslı kılıfı kasılır ve bu olayı seminal veziküllerin kasılması izler. Bu şekilde prostat ve seminal sıvıların boşalması ile spermin ileri doğru itilmesi sağlanır. Bütün bu sıvılar, bulboüretral bezlerden gelen mukus sıvısı ile karışarak semeni oluşturur. İnternal üretranın dolması ile, pudental sinirler yoluyla omiriliğin sakral bölgesine duysal impulslar ulaşmaya başlar. Bu impulslar genital organlarda ani bir dolgunluk duygusu yaratır. Genital kanal ve üretrada basınç artışı sonucunda ortaya çıkan ritmik ve dalga şeklindeki kasılmalar ejakülatın üretradan dışa atılmasını sağlar. Pelvis kasları ve hatta bazı gövde kaslarının ritmik kasılmalarıyla pelvis ve peniste itici hareketler olur. Bunun sonucunda erkeğin seksüel uyarısı 1-2 dakika içerisinde tamamen kaybolur, ereksiyon sona erer rezolüsyon gerçekleşir (13).

2.4. Priapizmin Fizyopatolojisi

Priapizm seksüel uyarı ve orgazm olmadan 4 saati aşkın devam eden kısmi ya da tam ereksiyon halidir. Priapizm etyolojisi çoğunlukla idiopatik olarak bulunmuştur. Hematolojik diskreziler, iskemik priapizm için başlıca risk faktörleridir (14).

Tablo 1. Priapizm Etiyolojileri

Alfa adrenerjik reseptör antagonistleri

Prazosin, terazosin, doksazosin, tamsulosin

Antianksiyete ajanlar

Hidroksizin

Antikoagülanlar

Heparin, varfarin

Antidepresanlar ve antipsikotikler

Trazodone, bupropion, fluoksetin, sertralin, lityum, klozapin, risperidon, olanzapin, klorpromazin, tiyoridazin, fenotiyazinler

Antihipertansifler

Hidralazin, guanethidin, propranolol

İlaçlar (keyif verici)

Tablo 1'in devamı

Alkol, kokain (intranazal ve topikal), "crack cocaine", marihuana

Genitoüriner

Ata biner tarzda yaralanma, koital yaralanma, pelvik travma, penise/perineye travma, arteriovenöz ya da arteriokavernöz "bypass" cerrahi, üriner retansiyon

Hematolojik diskreziler

Orak hücreli anemi, talasemi, granülositik lösemi, myeloid lösemi, lenfositik lösemi, multipl myelom, hemoglobin Olmsted varyantları, hiperalimentasyonla ilişkili yağ embolisi, hemodiyaliz, glukoz-6 fosfat dehidrogenaz eksikliği

Hormonlar

"Gonadotropin-releasing hormon", testosteron

Enfeksiyöz(toksin aracılı)

akrep sokması, örümcek ısırığı, kuduz, sıtma

Metabolik

Amiloidoz, "Fabry's disease", gut

Neoplastik (metastatik veya lokal infiltrasyon)

Prostat, üretra, testis, mesane, rektum, akciğer, böbrek

Nörojenik

Sifiliz, spinal kord zedelenmesi, kauda equina kompresyonu, Otonomik nöropati, lumbal disk hernisi, spinal stenoz, serebral vasküler olay, beyin tümörü, spinal anestezi, kauda equina sendromu

Vazoaktif erektil ajanlar

Papaverin, fentolamin, prostaglandin E1, , oral fosfodiesteraz tip 5 inhibitörleri,

kombinasyon tedavileri

Lue TF. 2002

İskemik priapizm hipoksi ve asidoza predispozan penisin vazokonstriktör ve vazorelaksatör mekanizmaların dengesizliğinden oluşur. İn vitro çalışmalar, korpus düz kas liflerinin ve kültür korpus düz kas hücrelerinin hipoksik koşullara maruz bırakıldığında, alfa adrenerjik stimülasyonunun korporal düz kas kontraksiyonunu

başlatmada başarısız olduğunu göstermiştir. İskemik priapizminin deneysel hayvan modellerinde iskemik priapizm sırasında ve sonrasında peniste lipid peroksidasyonu, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hasar ve artan hemooksijenaz ekspresyonu oluşur. İskemiye bağlı fibrozisin progresyonu ile ilgili ek patofizyolojik mekanizmalarda, hipoksi kaynaklı büyüme faktörlerinin “up regülasyonu” vardır. TGF- β doku onarımı için hayati önem taşıyan bir sitokindir. Bununla birlikte aşırı miktarları doku hasarı ve skara neden olabilir. TGF- β “up regülasyonu” hipoksi sırasında ve oksidatif strese yanıt olarak ortaya çıkar (14).

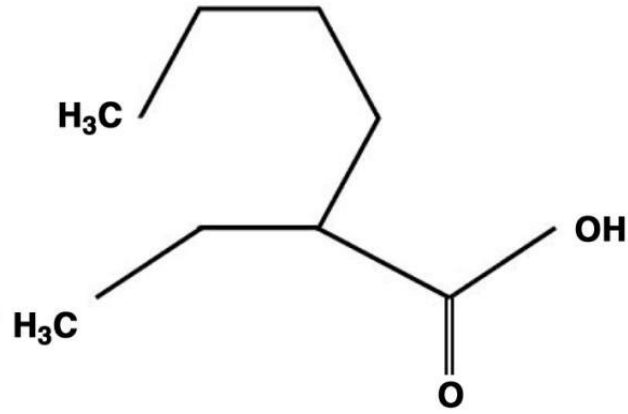
İskemik priapizmin moleküler mekanizmasını aydınlatmada iki büyük keşif olmuştur. Mi ve ark. transgenik orak hücreli farelerin korpus kavernozumlarında elektrik stimülasyonu ile düz kas gevşemesi geliştirmiştir.(Mi 2008) Transgenik orak hücreli farelerde ve diğer farelerdeki Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) gen ekspresyon eksikliği in vivo suprafizyolojik ereksiyona ve spontan fazik priapik aktiviteye neden olduğu gösterilmiştir. Bu farelerdeki anormal erektile yanıt gözlemlenmesi özellikle orak hücreli anemideki iskemik priapizm mekanizmasındaki gibi peniste anormal NO ve adenosin regülasyonu ile ilgili araştırmaları desteklemek için temel olmuştur (1).

Endotelyal hücreler, gevşetici ve kasıcı faktörlerin bir çeşitinin serbest bırakılmasıyla, mekanik güçlere ve nörohumoral medyatörlere cevap vererek, aktif olarak bazal vasküler tonus ve vasküler reaktiviteyi düzenler. Penisteki vasküler endotelyum, adenosin ve NO gibi vazorelaksör faktörlerin yanı sıra RhoA/Rho-kinaz gibi vazokonstriktör faktörlerin de bir kaynağıdır. Güncel kanıtlar, priapizm durumlarında aberan NO ve adenosin sinyali olabileceğini, böylece iskemik priapizm patofizyolojisinde NO/cGMP’ nin yanı sıra RhoA/Rho-kinaz sinyali için potansiyel bir rol tanımlanabileceğini önermektedir. eNOS -/- mutant fareler kavernoöz sinir uyarılarına abartılı erektile cevap verir ve priapizmle devam eden erektile fonksiyonlarda fenotipik değişimler vardır. eNOS geninden yoksun farelerde penisteki düzenleyici fonksiyonları bulunan defektif fosfodiesteraz 5’ in (FDE5) rol aldığı mekanizmalar vasıtasıyla organdaki bozulmuş endotelyal NO/cGMP sinyali sonucunda priapizm oluşur. Bu hipotezi destekleyici olarak anoksik ve hipoksik hücre kültürü durumları altında korpus kavernozumlardaki düz kas hücrelerinde FDE5 ekspresyonu önemli ölçüde azalır. Moleküler disregülasyon bağlamında siklik

nükleotid cGMP priapizm ile ilişkili olarak yıkılan vasküler endotelyumda düşük miktarda üretilir ve böylece endotelyal nitrik oksit aktivitesi azalır; bu sebeple FDE tip 5 “down regülasyonu “ sekonder olarak “feedback” kontrol mekanizmalarına bağlı cGMP düzeyinde değişim meydana getirir. Bu koşullar altında NO elektrojenik uyarıya cevap olarak ya da noktürnal ereksiyonlar sonucu nöronal olarak üretildiğinde ve yetersiz bazal FDE 5 düzeyi siklik mononükleotid düzeyini azalttığı için fazla miktarda erektil doku gevşemesine sebep olacak biçimde c GMP üretimi artar. Yine azalmış Rho-kinaz aktivitesi (kontraktil medyatör) iki farklı mekanizma yoluyla aşırı gevşeme için korporal doku duyarlılığına katkıda bulunabilir. Bu iki farklı mekanizma tekrarlayan priapizmi meydana getirmek için uyum içinde hareket edebilir: inhibe edilmemiş cGMP tarafından vasorelaksasyon ve Rho-kinaz’ın azaltılmış kontraktil etkisidir. Bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, iskemik priapizm ve tekrarlayan priapizmin, NO dengesizliği, FDE5 disregülasyonu, aşırı adenozin üretimi ve Rho-kinaz aktivitesindeki azalmalar gibi anormal moleküler sinyal sonucu, penisteki vasokonstriksiyonun inhibisyonu ve artmış korporal düz kas gevşemesine dönüşümünün doğrudan bir sonucu olduğunu göstermektedir (14).

2.5. Valproik Asit

Valproik asit 30 yıldan uzun süredir epileptik nöbetlerin birçok tipinde etkin bir şekilde kullanılan geniş spektrumlu bir antiepileptik ilaçtır. Ayrıca şizofrenik bozukluklar, sosyal fobiler, nöropatik ağrı ve migren tedavisinde de kullanılır. VPA kısa zincirli yağ asitlerine çok benzer bir kimyasal yapısıyla birlikte dallı zincirli bir karboksilik asittir (2-propilpentanoik asit ya da di-n-propilasetik asit) (15).



Şekil 1. Valproik asitin kimyasal yapısı

Vpa bir histon deasetilaz inhibitörüdür.Çoğu çalışmalarda HDAC inhibitörlerinin kanser hücrelerinde hücre farklılaşmasını, büyüme durmasına ve apoptoza neden olduğu gösterilmiş ve bu inhibitörlerden gelecek vaadeden yeni bir sınıf anti-kanser ilaçlarından valproik asitin kaspas bağımlı yol üzerinden apoptotik hücre ölümüne yol açtığı gösterilmiştir (16).

3. MATERYAL VE METOD

İskemik priapizm sonrası gelişen penil fibrozisi azaltmada valproik asitin etkinliğini araştırmayı amaçlayan bu deneysel çalışma öncesinde Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınmış ve deneyler Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Çalışma Grupları

Bu deneysel çalışmada Spraque Dawley tipi, 400-450 gr ağırlığında, toplam 32 adet erişkin erkek rat kullanıldı. Ratlar randomize olarak 4 gruba ayrıldı (n=8) (Tablo 2).

Tablo 2. Çalışma Grupları

Deney ve kontrol grupları	Grup başına hayvan adedi
Grup 1 (Kontrol grubu)	8
Grup 2 (Kontrol+VPA)	8
Grup 3 (Priapizm)	8
Grup 4 (Priapizm+VPA)	8
Kullanılan toplam hayvan sayısı	32

Toplam 32 Spraque Dawley rat, 4 gruba ayrıldı;

Grup 1 (Kontrol - n:8); kontrol grubu ratlara intraperitoneal olarak 1 ay boyunca her gün distile su verildi.

Grup 2 (Kontrol+VPA - n:8); çalışma başlangıcından itibaren 1 ay boyunca her gün 250 mg/kg intraperitoneal olarak VPA verildi.(5, 17, 18)

Grup 3 (Priapizm - n:8); 6 saatlik priapizm sonrası konstriktör bant çıkartıldı ve ratlara intraperitoneal olarak 1 ay boyunca distile su verildi..

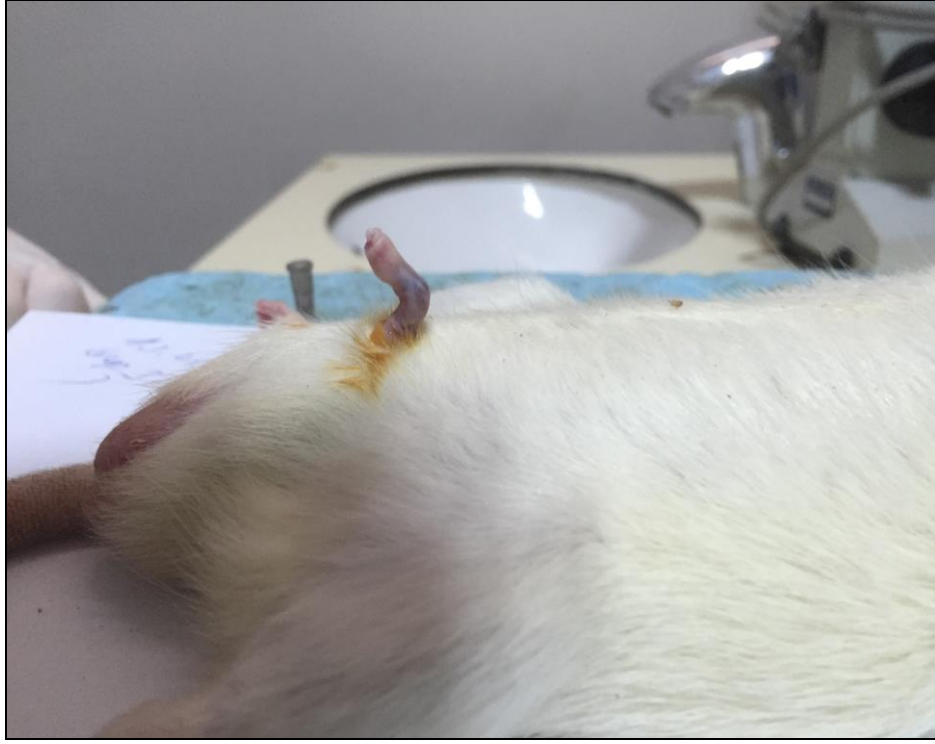
Grup 4 (Priapizm+VPA – n:8); 6 saatlik priapizm sonrası konstriktör bant çıkartıldı ve çalışma başlangıcından itibaren ratlara hergün 250 mg/kg intraperitoneal olarak VPA verildi (5, 17, 18).

Çalışmada toplam 32 adet genç erişkin Sprague – Dawley cinsi erkek rat kullanıldı. Ratların ortalama ağırlıkları 350-400 gr arasında değişmekteydi. Gruplar arasında rat ağırlıkları bakımından fark bulunmamaktaydı. ($p>0,05$)

Tablo 3. Ratların Gruplara Göre Ortalama Ağırlıkları

	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4	p
Rat ağırlık (gr)	399±7	395±7	379±10	367±13	0,1566

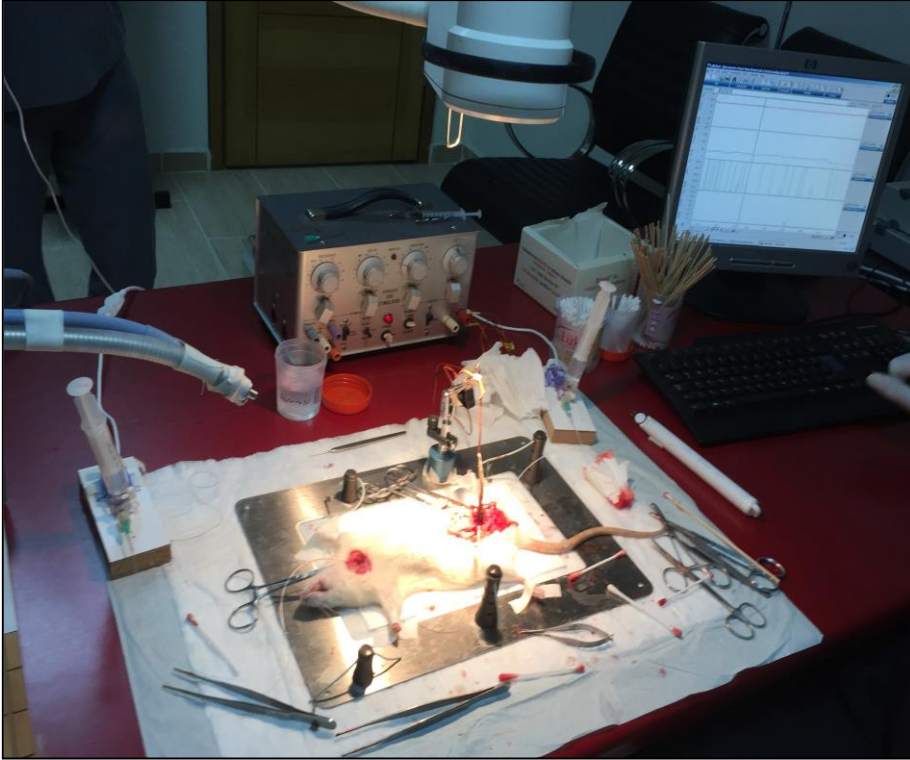
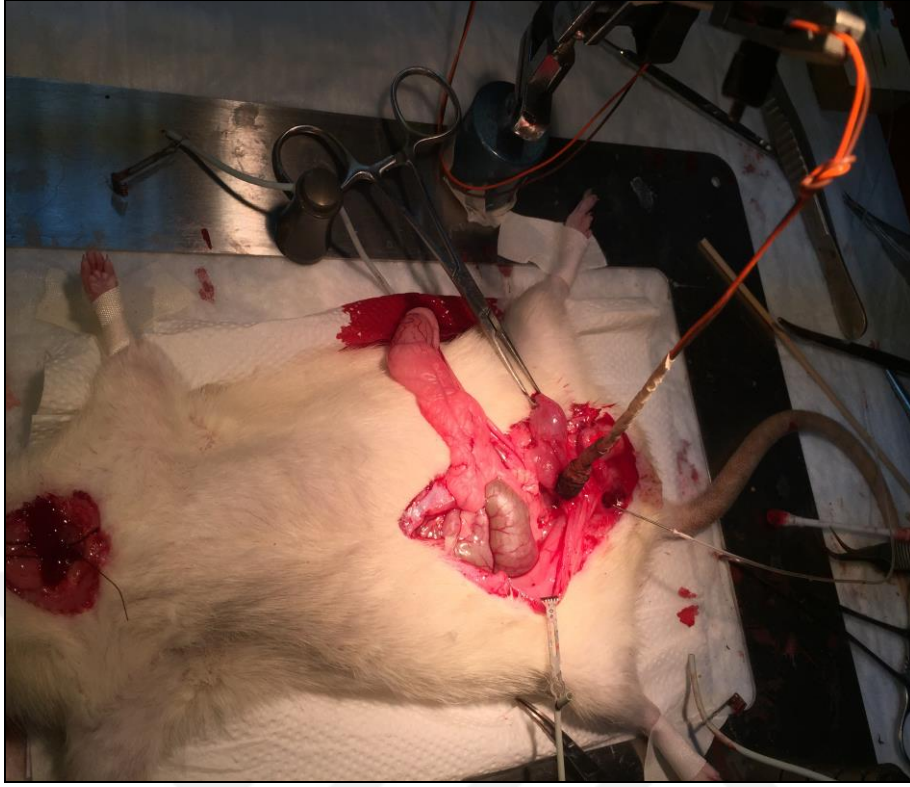
Cerrahi Araştırma Merkezinden sağlanan 32 adet rat adaptasyon süresi için 1 hafta önce kafeslerine alındı ve ratlara standart yem ve su verildi. Anestezi uygulamasından 12 saat önce aç bırakıldı ve bu sürede sadece su verildi. Tüm cerrahi işlemlerde anestezi, intraperitoneal yolla 80 mg/kg Ketamin ve 10mg/kg Xylazin verilerek yapıldı. Priapizm “In Vitro and In Vivo Animal Models in Priapism Research review” de belirlenmiş priapizm modeli ile oluşturuldu. İskemik priapizm standart 50 cc lik çam uçlu irigasyon enjektörü ile oluşturulan vakum ereksiyon cihazı ile elde edildi. Enjektör ucu flask penis taban çapına uygun hale getirildikten sonra 5 numara T tüp den (safra kesesi operasyonlarında kullanılan) oluşturulan konstriktör bant enjektör ucuna yerleştirildi, enjektör penis köküne yerleştirildikten sonra piston yavaşça geri çekildi ve ereksiyon oluşana kadar emme yapıldı. Yeterli ereksiyon elde edildiğinde lastik konstriktör bant penis köküne enjektörden itilerek yerleştirilip, 6 saat boyunca peniste bırakıldı. İşlemin sonunda ve her gün olmak üzere 1 ay boyunca deney gruplarına göre VPA ve plasebo tedavileri verildi.



Resim 1,2. Konstriktör bant kullanılarak oluşturulan ereksiyon

3.2. İnvivo Eretil Yanıt Değerlendirilmesi

Tedavinin sonunda tüm ratlarda in vivo olarak kavernoöz sinir elektrik uyarısıyla oluşturulan penil ereksiyon yanıtları değerlendirildi. Bu yöntem birçok çalışmada uygulanmış olup, KTÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan daha önce 2 ayrı çalışma için onay almıştır. Sıçanlarda, ketamin/xylazin (80+10 mg/kg) karışımının intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezi sağlandıktan sonra termal pet ile ısı kaybı önlenerek cerrahi masa üzerinde standart invivo deney protokolü gerçekleştirildi. Özetle, kavernoöz sinir elektrik stimülasyonuna yanıt olarak intrakavernoöz basınç ve sağ karotid arterden sistemik kan basıncı mm-Hg cinsinden belirlendi. Sağ karotid arterin ve sağ penil krusun PE50 tüp ile kateterizasyonunu takiben, abdominal orta hat insizyonunu ile prostat sağ lateralinde kavernoöz sinir izole edildikten sonra “square pulse stimulator” (Grass Instruments, Quincy, MA, USA) ve bipolar platin elektrot aracılığıyla 20 Hz frekansında 50 saniye pulse genişliğinde ve 2, 4, 6 ve 8 volt büyüklüğünde kavernoöz sinir elektrik stimülasyonu uygulandı. Stimülasyon süresi 1 dakika ve ardışık stimülasyonlar arasındaki dinlenme periyodu 5-10 dakika olarak belirlendi. Total erektile cevaplar; maksimum intrakavernoöz basınç (İKB; mm-Hg), ereksiyon eğrisi altında kalan alan (AUC; mmhg·saniye) ve maksimum İKB ‘ın maksimum sistemik kan basıncına oranları (İKB/SKB) stimülasyon öncesi (bazal) ve her stimülasyon için ayrı ayrı değerlendirildi. Deneyin sonunda penis dokuları radiks penis seviyesinden alınıp, hayvanlar letal doz KCl intrakardiyak enjeksiyonu ile kurban edildi. Dokuların distal 5 mm’lik kesimleri 48 saat süreyle formaldehit ile fikse edilip 48 saat sonra fosfat tamponlu serum fizyolojik içerisine alınıp parafin blokları çıkarıldı. Diğer penis kısmı alınır alınmaz krio tüplere konularak ELISA analiz için -80°C’de muhafaza edildi.



Resim 3,4. Kavernöz sinir elektrik stimölasyonu

3.3. Histolojik inceleme

Ratlara ait penis dokularının orta kısmından alınan doku örnekleri %10'luk formaldehitte 48 saat tespit edildi. Tespit işlemini takiben akan çeşme suyunda 24 saat boyunca yıkandı. Yükselen dereceli alkol serilerinden (%80, %96, %96, %100) geçirilerek dehidrate edildi. Kesilende şeffaflaştırıldı ve parafin bloklara gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan tam otomatik mikrotom (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) ile 5µm'lik kesitler ışık mikroskopik yöntemler için lam üzerine alındı. Kesitler genel histolojik yapıyı gözlemlemek, kollajen lif ve kas dokusunun daha iyi ayırt edilebilmesi için Masson'un trikrom boyası ile boyandı (19, 20). (Bu boyama yöntemi ile kas dokusu kırmızı renkte, kollajen lifler ise yeşil renkte boyanmaktadır (19)).

Histopatolojik analiz ışık mikroskop (Olympus BX-51; Olympus, Tokyo, Japan) altında gruptan habersiz bir histolog tarafından yapıldı. Doku örnekleri korpus spongiosum ve korpus kavernozum açısından genel olarak gözden geçirildi. Korpus kavernozumda düz kas /kollajen lif (SM/C) oranı yarı kantitatif olarak skorlandı. Bu skorlama sistemine göre grade 1(minimal): < % 5, Grade 2 (hafif) : % 5-25, Grade 3 (orta):%25-75 ve Grade 4 (şiddetli):> % 75 olarak skorlandı. Sinüzoidleri çevreleyen düz kas kalınlığının ölçümünde Analysis 5 Research program (OlympusSoftImaging Solutions, Münster, Germany) kullanıldı. Ölçümde ışık mikroskop altında 200 X büyütmede her bir gruba ait penis preparatlarında korpus kavernozumda rastgele 10 sinüzoid etrafındaki kas kalınlığı en kalın olduğu yerden ölçüldü ve ortalamaları alınarak ortalama kas kalınlığı (MT) olarak kayıt edildi.

TUNEL yöntemi

Gruplara ait rat penis dokularında üretra epitel hücrelerinde, korpus kavernozumda kollajen liflerdeki ve düz kas hücrelerindeki apoptozisi tespit için terminal deoxynucleotidyl transferase(TdT) deoxyuridine triphosphate nick end labeling assay (TUNEL) yöntemi kullanıldı. Hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Deparafinize edildi. Dokulara ait kesitlerde apoptozis tespitinde “ in situ cell death detection kit AP “ (Roche, Mannheim, Germany) kullanıldı. Apoptotik hücre nükleuslarında boyanma 3,3'-diaminobenzidine içeren kit

(DAB, Sigma, St Louis, MO, USA) ile sağlandı. Kahverengi nükleuslu hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Üretra epitel hücreleri ve korpus kavernozumda kollajen lif ve düz kas hücrelerinde ayrı ayrı 200X büyütmede 5 farklı alanda apoptotik hücreler sayıldı. Total hücre sayısına göre apoptotik hücre yüzdesi, apoptotik index (AI) olarak hesaplandı (20, 21). Hücrelerin sayımında Analysis 5 Research program (Olympus Soft Imaging Solutions, Münster, Germany) kullanıldı.

3.4. Biyokimyasal İnceleme

Biyokimyasal incelemeler KTÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapıldı. Çıkartılan penisin diğer kısmı alınır alınmaz krio tüplere konularak ELISA analiz için -80°C'de muhafaza edildi. Daha sonra TGF-β1 ve fibronektin seviyesi belirlenerek penil dokudaki fibrozis değerlendirildi.

3.5. İstatistiksel İnceleme Yöntemi

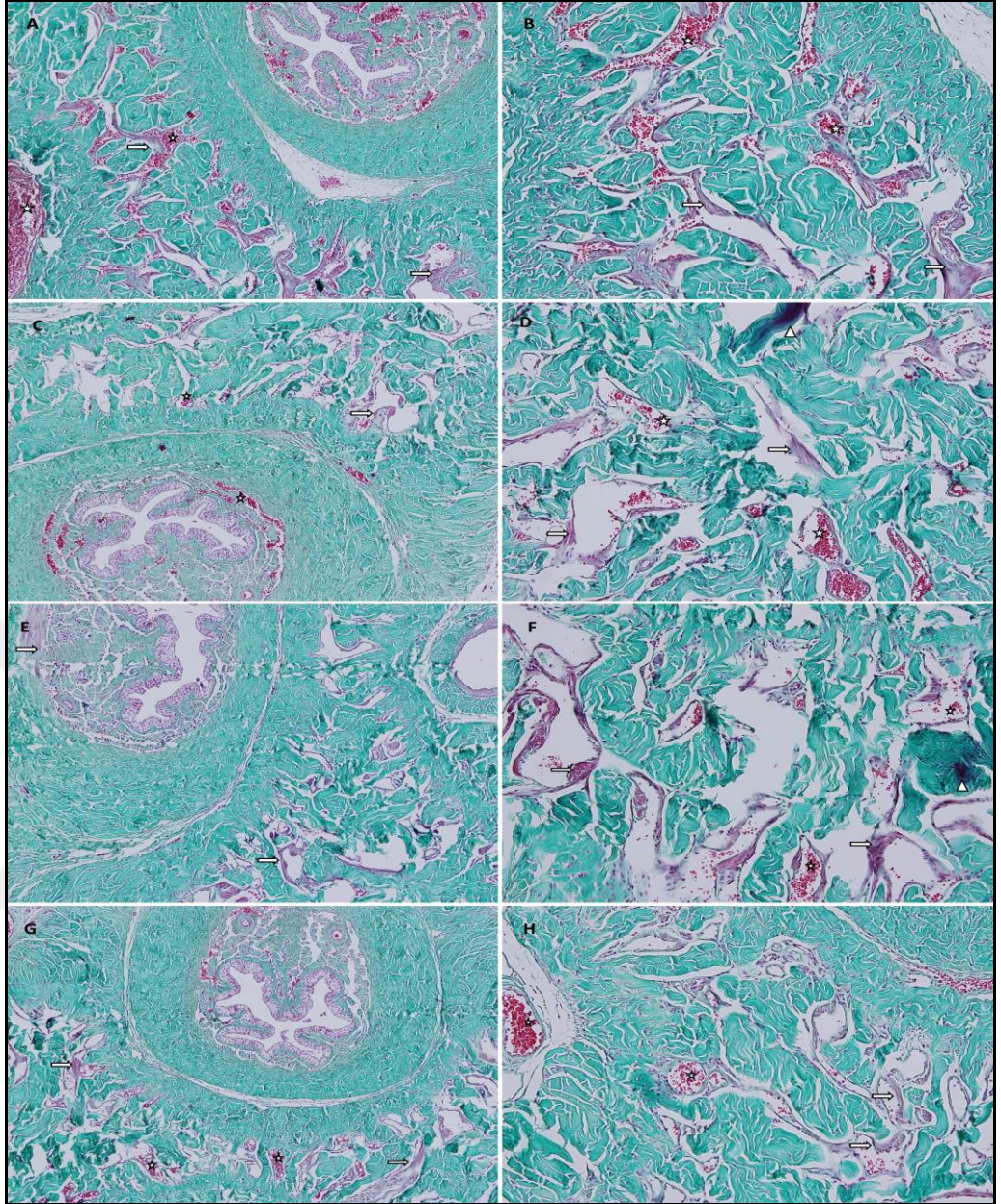
Grupların karşılaştırılmaları Kruskal Wallis varyans analizi ve Dunn's Multiple Comparison Test ile yapıldı. P<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4 . BULGULAR

4.1. Histopatolojik İnceleme Sonuçları

Gruplara ait penis dokusunun ışık mikroskopik değerlendirmesinde özellikle Grup 1,2 de ve Grup 4 ‘de sinüzoidler içinde ve üretrayı çevreleyen bağ dokusunda vazokonjesyon izlendi. Grup 2 ve 3 de korpus kavernozumda kollajen lifler arasında az miktarda düz kas oluşumları mevcut idi (Resim 5) .





Resim 5. Gruplara ait penis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. A: Grup 1, C:Grup 2, E: Grup 3, G: Grup 4 (Masson trikrom, 100x). B: Grup 1, D: Grup 2, F: Grup 3, H: Grup 4 (Masson trikrom, 200x). Düz kaslar kırmızı, kollajen lifler ve bağ dokusu yeşil renkte izlenmektedir. Kavernöz sinüsleri çevreleyen düz kas (↑), vazokonjesyon (yıldız), kollajen lifler arasında düz kas oluşumu (Δ).

Tablo 4. Grupların Kas Kalınlığı Ve Düz Kas/bağ Dokusu Oranı Açısından İstatistiksel Değerlendirilmesi

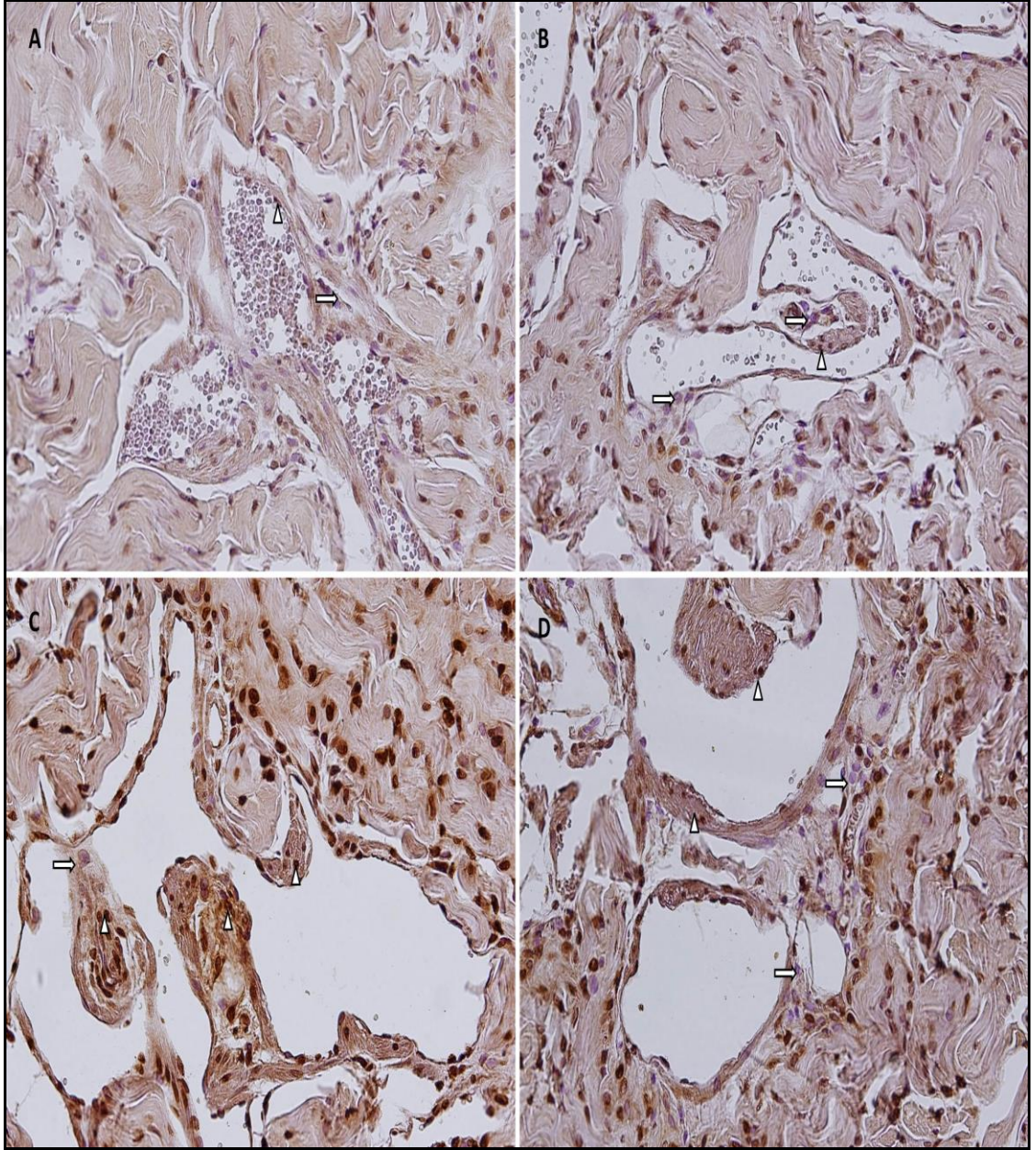
	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4	p
kas kalınlığı	5,62±0,43	6,75±0,43	7,48±0,25	5,98±0,52	0,0096 *
düz kas / bağ dokusu oranı	1,12±0,12	1,37±0,26	1,62±0,26	1,25±0,16	0,3969

*Grup 3 ve grup 4 arasında priapizm grubunda artmış olan kas kalınlığı priapizm+VPA grubunda normaleştiği görülmüştür.

Kas kalınlığı açısından baktığımızda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktaydı.(p<0,05) Grup 3 (priapizm+plasebo) ve grup 4 (priapizm+vpa) arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırmada anlamlı fark gözlenmiştir.(P<0,05)

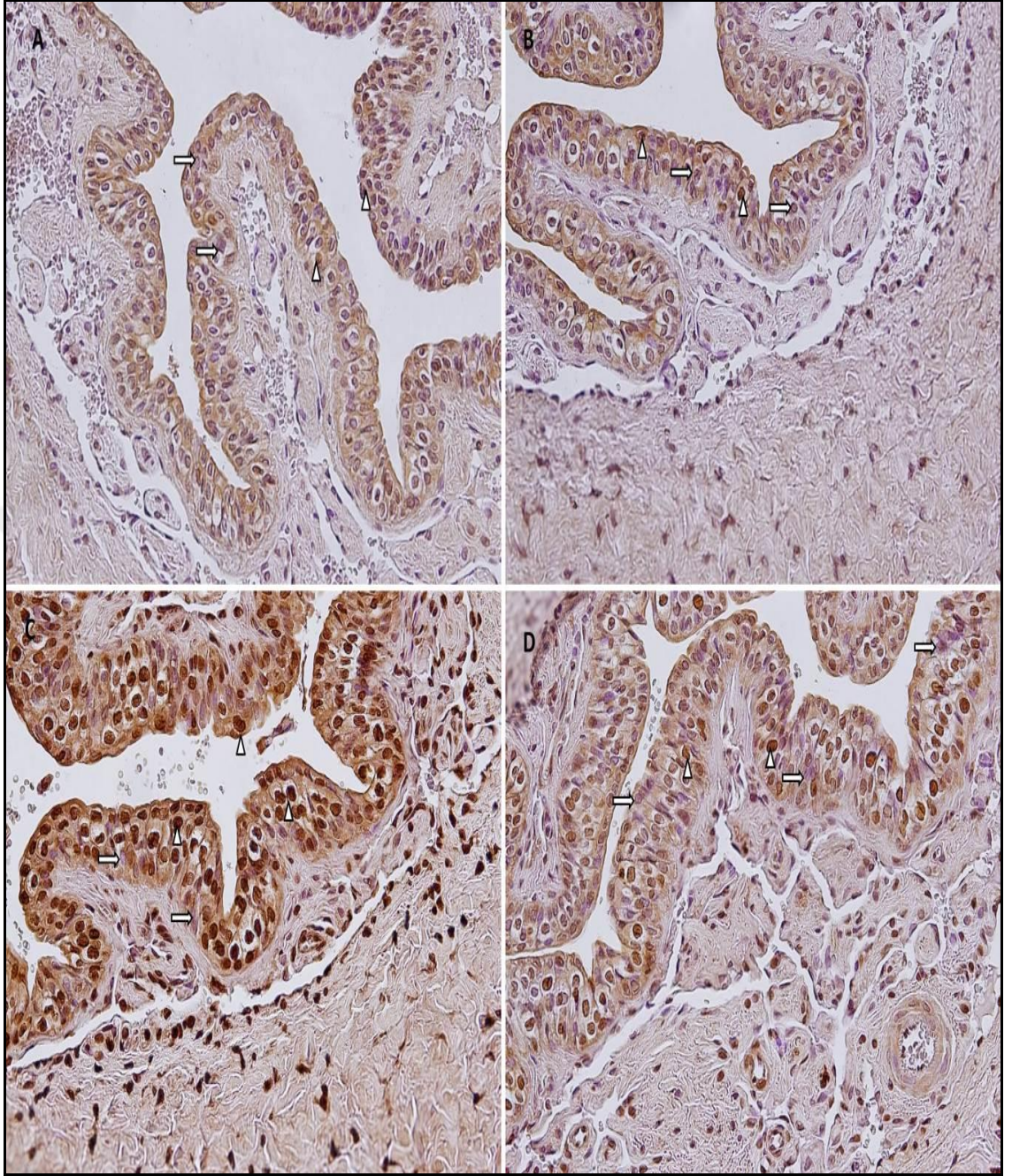
Düz kas/bağ dokusu oranı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunamamıştır.

Gruplara ait dokular apoptozis açısından değerlendirildi.(resim6-7)



Resim 6. Korpus kavernozauma ait kesitler (TUNEL, 400×) (A: Grup 1; B: Grup 2;

C: Grup 3; D: Grup 4). Apoptotik hücreler (Δ), normal hücreler (↑).



Resim 7. Üretra epiteline ait kesitler (TUNEL, 400×) (A: Grup 1; B: Grup 2; C: Grup 3; D: Grup 4). Apoptotik hücreler (Δ), normal hücreler (↑).

Tablo 5. Grupların Bağ Dokusu Apopitozis Ve Kas Dokusu Apopitozis Açısından İstatistiksel Değerlendirilmesi

	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4	p
Bağ dokusu apopitozis	56,5±2,23	54,88±2,45	80,38±3,14	58,63±2,01	0,0005 *
Kas dokusu apopitozis	9,62±1,25	12,75±1,65	66,25±4,42	26,88±2,09	0,0001 **

*Grup 3 de artmış olan bağ dokusu apopitozisinin Grup 4 de normalleştii görölmüştür.

** Genel olarak gruplar arasında anlamlı fark olmasına karşın Grup 3 ve Grup 4 arasında fark bulunamamıştır.

Bağ dokusunda apopitoz indeksi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır.(p<0,05) grup 3 ve grup 4 arasında ikili karşılaştırmada istatistiksel anlamlı fark bulunmaktadır. (p<0,05)

Kas dokusu apopitoz indeksi açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmaktadır.(p<0,05) Fakat grup 3 ve grup 4 arasında fark bulunamamıştır.

4.2. Biyokimyasal analiz sonuçları

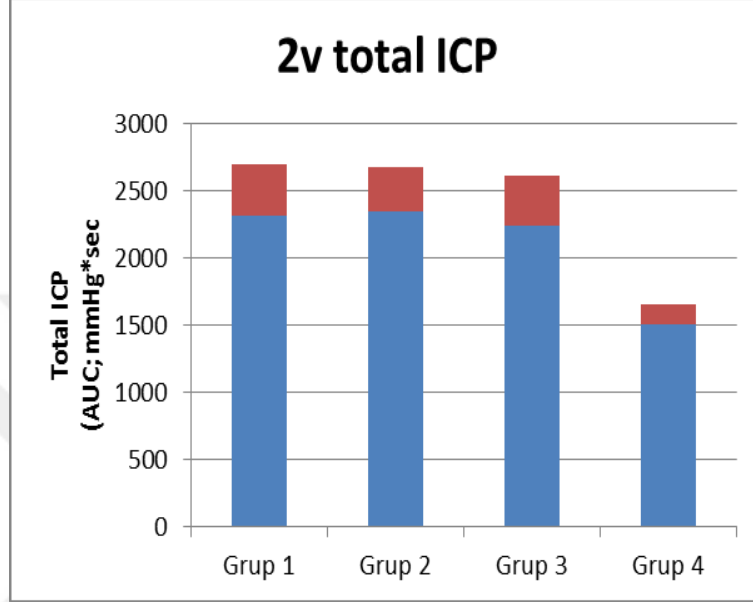
Fibronektin protein ekspresyonu açısından gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark saptanamadı.(p>0,05). TGF-beta1 açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı.(p>0,05)

Tablo 6. Grupların Biyokimyasal İstatistiksel Sonuçları

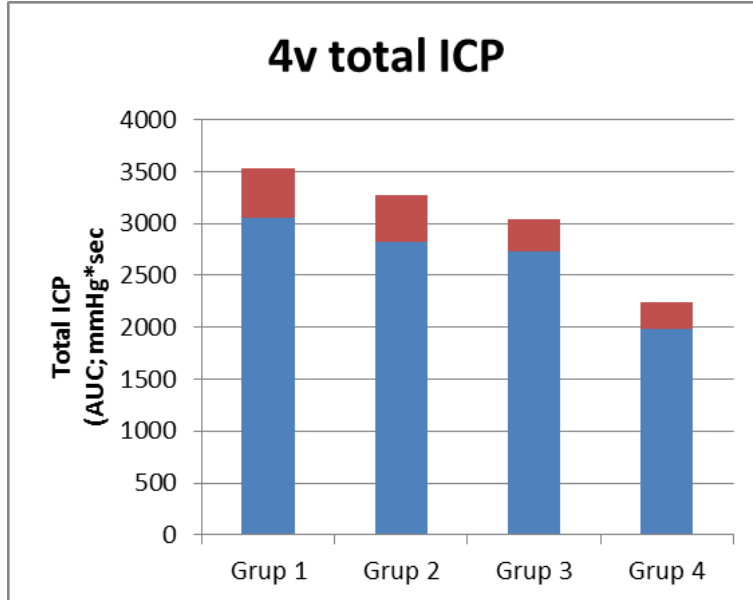
	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4	p
fibronektin(mg/gr protein başına)	60,25±13,12	66,88±17,13	57,87±20,58	85,25±10,95	0,3324
TGF-beta (ng/gr protein başına)	1083±221,9	1064±277,7	850,8±277,8	1293±204,1	0,3158

4.3. İn vivo erektıl yanıt sonuçları

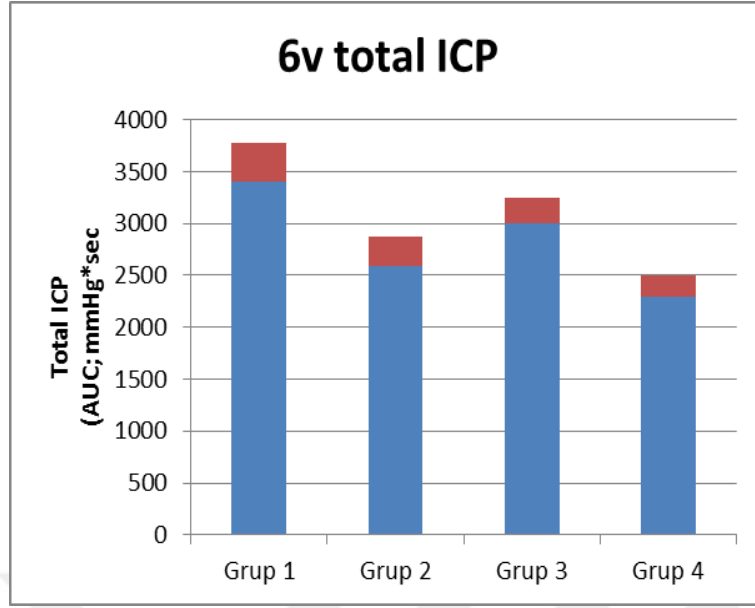
Uygulanan tüm voltajlarda erektıl yanıtlarda total intrakavernöz basınçlarda istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.($p>0,05$)



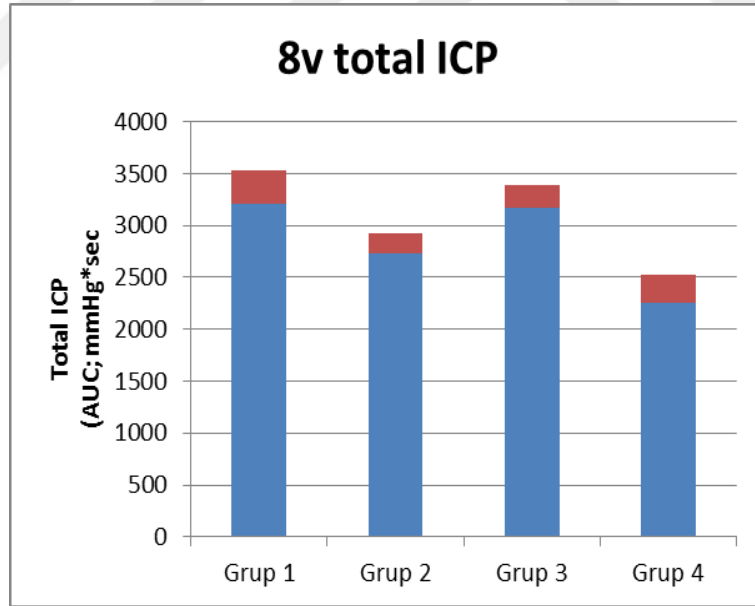
Grafık 1. Grupların 2v voltajında total intrakavernöz basınçlarının istatistiksel değeriendirmeleri



Grafık 2. Grupların 4v voltajında total intrakavernöz basınçlarının istatistiksel değeriendirmeleri



Grafik 3. Grupların 6v voltajında total intrakavernöz basınçlarının istatistiksel değerlendirmeleri

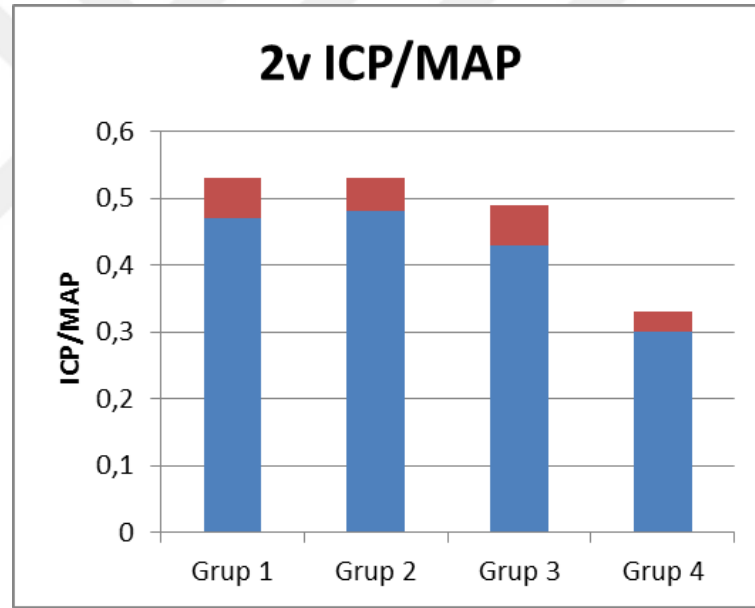


Grafik 4. Grupların 8v voltajında total intrakavernöz basınçlarının istatistiksel değerlendirmeleri

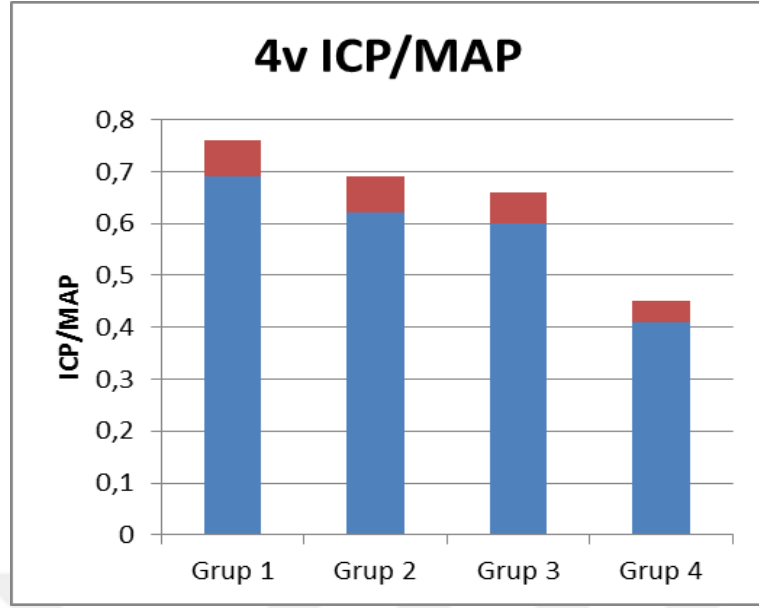
Tablo 7. Grupların Total İntrakavernöz Basınçlarının Voltajlara Göre İstatistiksel Dağılımı

	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4	p
2v total ICP	2318±381,9	2352±322,7	2241±369,9	1503±156,2	0,2110
4v total ICP	3059±474,3	2817±460,0	2734±304,8	1982±266,1	0,2270
6v total icp	3396±380,8	2591±280,3	3008±234,1	2292±212,2	0,1132
8v total ICP	3212±323,2	2726±198,2	3176±216,7	2252±279,4	0,0860

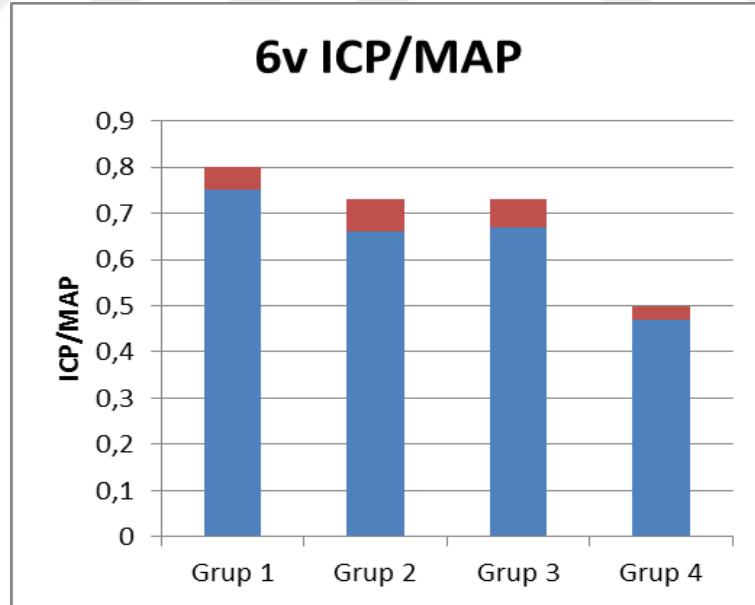
Maksimum İntrakavernözal basıncın maksimum sistemik kan basıncına oranlarında 6v ve 8v voltajlarında istatistiksel anlamlı fark gözlemlendi.($p<0,05$). Ancak Grup 4 lehine bulgu elde edilemedi.



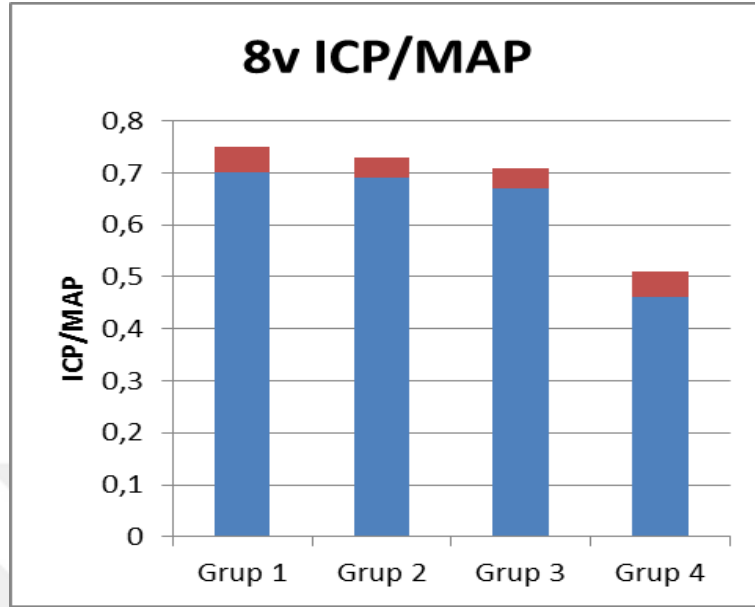
Grafik 5. Grupların 2v voltajında maksimum intrakavernöz basıncın maksimum sistemik kan basıncına oranlarının istatistiksel değerlendirmeleri



Grafik 6. Grupların 4v voltajında maksimum intrakavernöz basıncın maksimum sistemik kan basıncına oranlarının istatistiksel değerlendirmeleri



Grafik 7. Grupların 6v voltajında maksimum intrakavernöz basıncın maksimum sistemik kan basıncına oranlarının istatistiksel değerlendirmeleri



Grafik 8. Grupların 8v voltajında maksimum intrakavernöz basıncın maksimum sistemik kan basıncına oranlarının istatistiksel değerlendirmeleri

Tablo 8. Grupların Maksimum İntrakavernöz Basıncın Maksimum Sistemik Kan Basıncına Oranlarının Voltajlara Göre İstatistiksel Dağılımı

	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4	p
2v ICP/MAP	0,475±0,0627	0,480±0,0586	0,431±0,0642	0,308±0,0353	0,1217
4v ICP/MAP	0,692±0,0784	0,622±0,0757	0,605±0,0627	0,418±0,0494	0,0600
6v ICP/MAP	0,758±0,0519	0,665±0,0715	0,676±0,0636	0,478±0,0351	0,0218
8v ICP/MAP	0,707±0,0561	0,692±0,0460	0,671±0,0482	0,466±0,0507	0,0406

Çalışmamızda grupların rat ağırlıkları bakımından fark bulunmamaktaydı. Kas kalınlıkları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Grup 3 ve Grup 4 arasında, priapizm grubunda artmış olan kas kalınlığının priapizm+VPA grubunda normaleştiği görülmüştür. Bağ dokusunda apopitoz indeksi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Grup 3 de artmış olan bağ dokusu apopitozunun Grup 4 de normaleştiği görülmüştür.



5.TARTIŞMA

Priapizm modeli ratlarda papaverin enjeksiyonu veya konstriktör bant şeklinde uygulanabilmektedir. Papaverin enjeksiyonu yöntemiyle yapılan çalışmalarda bazal intrakavernozal basınç değerlerine 40-60 dakikada dönüşümde olduğu tespit edilmiştir(22). (6 saatlik bir priapizm oluşturmak için en az 6-9 kez papaverin enjeksiyonu yapmak ve anestezi ile desteklemek gerekmektedir). Diğer taraftan konstriktör bant ile priapizm uygulamak ise daha kolay ve daha az anestezi gerektirmektedir. Fakat bu yöntemde üriner retansiyon ve cilt nekrozu riskleri bulunmaktadır. Bizim çalışmamızda 6 saatlik priapizm süresinde ratlarda üriner retansiyon görülmemiş ve daha sonraki takiplerimizde de cilt nekrozuna rastlanmamıştır.

Priapizm sonrası oluşan hipoksik ortamda reaktif oksijen radikalleri ve TGF – beta gibi fibrogenik sitokinler bir dizi reaksiyon sonucunda iskemik hücresel hasara yol açmaktadırlar. TGF-beta, fibronektin ve kollejen gibi matriks moleküllerin sentezini stimüle etmektedir. Yapılan çalışmalarda priapizmde TGF-beta'nın kontrol gruplara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu yüzden fibrozis tedavilerinde TGF- β 1 in hedef sitokin olması gerektiği düşünülmektedir(4).

Priapizmin gelişmesinden 24 saat sonra düz kas hücrelerinin fokal nekrozu ve fibroblast benzeri hücrelere dönüşümünü tespit etmek mümkündür. Hastalar priapizmin başlamasından 48 saat sonra analiz edildiğinde, kas bileşeninde belirgin azalma tespit edilmiştir. Bu hastalarda korpus kavernozum kollajen içeriğindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. İskemik priapizmin, esasen doku fibrozu oluşumu ve düz kas hücrelerinde azalma olmak üzere, korpus kavernozum bileşenlerinde önemli değişikliklerle ilişkili olduğu görülmüştür(23). Bizim çalışmamız 6 saatlik priapizm sonrasında kas/bağ doku oranında istatistiksel anlamlı fark göremedik.

VPA FDA tarafından epilepsi ve bipolar bozukluk tedavisi için onay almış bir ilaçtır. Aynı zamanda bir HDAC inhibitörüdür. HDAC inhibitörlerinin akciğer ve karaciğer fibrozis hastalık modellerinde antifibrotik etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda HDAC inhibitörlerinin TGF- β 1 bağımlı fibrozisi engellediği

gösterilmiştir. HDAC inhibitörlerinin apoptoz yollarıyla hücre ölümünü indüklediği rapor edilmiştir. Korpus kavernoza dokusunda VPA tedavisinin apoptozu arttırdığı gösterilmiştir(6). VPA aynı zamanda fibronektin protein ekspresyonunu ve fibrozisi azaltarak erektil fonksiyonu düzeltmektedir. HDAC inhibitörlerinden VPA ile yapılan çalışmalarda TGF- β 1 bağımlı kollajen sentezinin insan karaciğer hücrelerinde baskılandığı gösterilmiştir. Ratlarda yapılan bir çalışmada üreter obstrüksiyonu veya diyabete bağlı renal fibrozisde HDAC inhibitörlerinin TGF- β 1 üretimini ve fibroblastların myofibroblastlara proliferasyonunu baskıladığı gösterilmiştir(5). HDAC inhibitörleri hem karaciğer hem de böbrek fibrozu için potansiyel antifibrotik ajanlardır, zira ECM birikimi ve inflamasyonu gibi fibrozun ortak mekanizmaları HDAC inhibitörlerinin tedavisi ile azaltılabilmektedir. HDAC aktivitesinin inhibisyonu, artmış histon asetilasyonuna, dolayısıyla çoğunlukla gen aktivasyonuna neden olacak, dolayısıyla deneysel bir ortamda miRNA'lar veya diğer transkripsiyonel baskılayıcılar yoluyla inflamatuvar ve fibrotik genlerin ekspresyonunun azalmasını sağlanacağı düşünülmektedir(24).

TGF- β 1 miyofibroblastik diferansiyasyon ile granülasyon dokusu oluşturmak için tek başına yeterli olup kronik fibrotik prosese katkıda bulunmaktadır. Bir çalışmada diyabetik sıçanlarda TGF- β 1 immünreaktivitesinin kontrollerle karşılaştırıldığında belirgin şekilde arttığı ve 15 günlük VPA tedavisiyle belirgin şekilde azaldığı görülmüştür. VPA tedavisinin diyabetin indüklediği penis fibrozisini azaltmada başarılı olduğu gösterilmiştir(25).

HDAC inhibitörlerinin apoptoz üzerindeki etkisi halen tartışmalı olmakla birlikte diğer organlar ve hücre kültürleri üzerinde yapılan birçok çalışma, HDAC inhibitörlerinin apoptotik hücre ölümünü arttırdığını göstermiştir(16). Sağlıklı ergen sıçanlardan elde ettiğimiz daha önceki verilerimize göre, VPA tedavisinin, korpus kavernoza bağ dokusunda apoptozu önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür(6). Ve benzer şekilde başka bir çalışmada diyabetik ratlarda artan apoptozun VPA tedavisi ile azalmadığı ortaya konmuştur(25). Bununla birlikte, VPA'nın apoptotik hücre ölümünü engellediğini bildiren bazı çalışmalar da vardır(26).

Sonuç olarak, priapizm modeli ile yürüyen bu çalışmadan elde edilen veriler; VPA tedavisinin kas kalınlığının korunmasında ve bağ dokusu apoptozunda olumlu katkılar sağladığını ortaya koymaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma sonucunda priapizm sonrası kas kalınlıklarının VPA tedavisi ile normalleştigi görülmüştür.

Bağ dokusu apoptozunda VPA tedavisi sonrası normalleştigi görülmüştür.

İskemik priapizm deneysel modelinde penil fibrozisi azaltmaya yönelik daha çok çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Broderick GA, Kadioglu A, Bivalacqua TJ, Ghanem H, Nehra A, Shamloul R. Priapism: pathogenesis, epidemiology, and management. *J Sex Med.* 2010;7(1 Pt 2):476-500.
2. Melman A, Serels S. Priapism. *Int J Impot Res.* 2000;12 Suppl 4:S133-9.
3. Munarriz R, Park K, Huang YH, Saenz de Tejada I, Moreland RB, Goldstein I, et al. Reperfusion of ischemic corporal tissue: physiologic and biochemical changes in an animal model of ischemic priapism. *Urology.* 2003;62(4):760-4.
4. Sanli O, Armagan A, Kandirali E, Ozerman B, Ahmedov I, Solakoglu S, et al. TGF-beta1 neutralizing antibodies decrease the fibrotic effects of ischemic priapism. *Int J Impot Res.* 2004;16(6):492-7.
5. Hannan JL, Kutlu O, Stopak BL, Liu X, Castiglione F, Hedlund P, et al. Valproic acid prevents penile fibrosis and erectile dysfunction in cavernous nerve-injured rats. *J Sex Med.* 2014;11(6):1442-51.
6. Kutlu O, Cansu A, Karaguzel E, Gurgun SG, Koc O, Gur M, et al. Effect of valproic acid treatment on penile structure in prepubertal rats. *Epilepsy Res.* 2012;99(3):306-11.
7. Lue. TF. Physiology Of Penile Erection And Pathophysiology Of Erectile Dysfunction. *Campbell's Urology* 10th Ed 2014.
8. Arıncı K. EA. Penis Anatomisi. *Anatomi 1 Cilt* 3 Baskı 2001.
9. Brooks WS. Anatomy Of The Lower Urinary Tract And Male Genitalia. *Campbell's Urology*, 10th Ed 2014.

10. Karahan AKAST. Penisin Damar Sistemi Ve Innervasyonu. . Turkiye Klinikleri Journal Of Medical Sciences. 1991;11:81-6.
11. Emil A. Tanagho JWM. Urogenital histology. Smith General Urology 17th Ed. 2009.
12. Ovalle WKAPCN. Urogenital histology. Netter's Essential Histology. 2009.
13. Guyton AC. HJ. Textbook of Medical Physiology 10th ed. 2000.
14. Gregory A. Broderick. Priapism In Campbell's Urology, 10th Ed Philadelphia. 2014.
15. Lheureux PE, Penaloza A, Zahir S, Gris M. Science review: carnitine in the treatment of valproic acid-induced toxicity - what is the evidence? Crit Care. 2005;9(5):431-40.
16. Chen J, Ghazawi FM, Bakkar W, Li Q. Valproic acid and butyrate induce apoptosis in human cancer cells through inhibition of gene expression of Akt/protein kinase B. Mol Cancer. 2006;5:71.
17. Bang WS, Kim KT, Cho DC, Kim HJ, Sung JK. Valproic Acid increases expression of neuronal stem/progenitor cell in spinal cord injury. J Korean Neurosurg Soc. 2013;54(1):8-13.
18. Zhang ZZ, Gong YY, Shi YH, Zhang W, Qin XH, Wu XW. Valproate promotes survival of retinal ganglion cells in a rat model of optic nerve crush. Neuroscience. 2012;224:282-93.
19. Bradbury P RK. Connectivetissuesandstains. In: Bancroft J. D., Stevens A., Turner D.R.(ed). . Churchill Livingstone Company: Tokyo. 1996.

20. Mulhall JP, Muller A, Donohue JF, Mullerad M, Kobylarz K, Paduch DA, et al. The functional and structural consequences of cavernous nerve injury are ameliorated by sildenafil citrate. *J Sex Med.* 2008;5(5):1126-36.
21. Bond CW, Angeloni NL, Harrington DA, Stupp SI, McKenna KE, Podlasek CA. Peptide amphiphile nanofiber delivery of sonic hedgehog protein to reduce smooth muscle apoptosis in the penis after cavernous nerve resection. *J Sex Med.* 2011;8(1):78-89.
22. Chen KK, Chan JY, Chang LS, Chen MT, Chan SH. Intracavernous pressure as an experimental index in a rat model for the evaluation of penile erection. *J Urol.* 1992;147(4):1124-8.
23. Costa WS, Felix B, Cavalcanti AG, Medeiros J, Jr., Sampaio FJ. Structural analysis of the corpora cavernosa in patients with ischaemic priapism. *BJU Int.* 2010;105(6):838-41; discussion 41.
24. Van Beneden K, Mannaerts I, Pauwels M, Van den Branden C, van Grunsven LA. HDAC inhibitors in experimental liver and kidney fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair.* 2013;6(1):1.
25. Kutlu O, Karaguzel E, Gorgen SG, Okatan AE, Kutlu S, Bayraktar C, et al. Antifibrogenic role of valproic acid in streptozotocin induced diabetic rat penis. *Andrologia.* 2016;48(4):453-63.
26. Michaelis M, Suhan T, Michaelis UR, Beek K, Rothweiler F, Tausch L, et al. Valproic acid induces extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation and inhibits apoptosis in endothelial cells. *Cell Death Differ.* 2006;13(3):446-53.