



**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
İSTANBUL FATİH KAMU HASTANELER BİRLİĞİ GENEL SEKRETERLİĞİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
ÜROLOJİ KLİNİĞİ**

**Klinik Eğitim Sorumlusu: Doç. Dr. Emin ÖZBEK
Klinik İdari Sorumlusu: Op. Dr. Mahmut Gökhan TOKTAŞ**

**PLATELETTEN ZENGİN PLAZMANIN
RAT MODELİNDE
PEYRONİE HASTALIĞI ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Mehmet Gökhan ÇULHA
ÜROLOJİ KLİNİĞİ
UZMANLIK TEZİ**

İSTANBUL- 2017



**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
İSTANBUL FATİH KAMU HASTANELER BİRLİĞİ GENEL SEKRETERLİĞİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
ÜROLOJİ KLİNİĞİ**

**Klinik Eğitim Sorumlusu: Doç. Dr. Emin ÖZBEK
Klinik İdari Sorumlusu: Op. Dr. Mahmut Gökhan TOKTAŞ**

**PLATELETTEN ZENGİN PLAZMANIN
RAT MODELİNDE
PEYRONİE HASTALIĞI ÜZERİNE ETKİSİ**

Tez Danışmanı: Op. Dr. Erkan Erkan

**Dr. Mehmet Gökhan ÇULHA
ÜROLOJİ KLİNİĞİ
UZMANLIK TEZİ**

İSTANBUL- 2017

ÖNSÖZ

Üroloji eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini bizlere aktaran, saygıdeğer hocalarım, klinik eğitim sorumlumuz Sayın Doç. Dr. Emin Özbeğ'e ve idari sorumlumuz Sayın Op. Dr. Mahmut Gökhan Toktaş'a;

Uzmanlık eğitimim süresince her zaman yanımda olan ve desteklerini hiç esirgemeyen, klinik başasistanlarımız Sayın Op. Dr. Erkan Erkan'a ve Sayın Op. Dr. Uğur Yüçetaş'a,

Eğitimim süresince üzerinde ciddi emekleri olan ve hiçbir zaman unutmayaçağım uzman abilerim Sayın Doç. Dr. Ali Ferruh Akay'a, Sayın Op. Dr. Vural Saçak'a, Sayın Op. Dr. Bülent Mansuroğlu'na, Sayın Op. Dr. Cemalettin Murat'a, Sayın Op. Dr. Arman Çekmen'e, Sayın Op. Dr. Serdar Ogan'a, Sayın Op. Dr. Güven Tidi'm'e, Sayın Op. Dr. Mustafa Kadıhasanoğlu'na, Sayın Op. Dr. Tunç Erdil'e ve Sayın Op. Dr. Şaban Mimaroglu'na;

Tez çalışmamın başlangıcından itibaren desteğini esirgemeyen Bağıcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği'nden Sayın Dr. Tuğçe Çay'a ve patoloji teknisyeni Damla Hanım'a, Bağıcılar Hayvan Deneyleri Laboratuvarı Sorumlusu Sayın Vet. Hek. Duygu Sultan Çelik'e ve tezimin her aşamasında yardımcı olan sevgili Gökşel Abi'ye;

Asistanlık sürecinin bir bölümünü birlikte paylaştığım, birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım abilerim Sayın Op. Dr. Hüseyin Koçan'a, Sayın Op. Dr. Soner Ulusoy'a, Sayın Op. Dr. Yusuf Şahin'e, Sayın Op. Dr. Hüseyin Aytaç Ateş'e ve Sayın Op. Dr. Emre Karabay'a;

Hepsini tek tek kardeşim kadar çok sevdiğim, eğitim sürem boyunca devamlı desteklerini gördüğüm Dr. Nejdet Karşıyakalı'ya, Dr. Bahruz Khaligov'a ve Dr. Emrah Okucu'ya;

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığımız servisimiz ve ameliyathanemizin değerli hemşire ve personellerine,

Ömrüm boyunca haklarını ödeyemeyeceğim, desteklerini hiç esirgemeyen, canım eşime ve sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Mehmet Gökhan Çulha

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLolar.....	iv
RESİMLER VE ŞEKİLLER.....	v
KISALTMALAR.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. PENİS ANATOMİSİ.....	3
2.2. PEYRONİE HASTALIĞI.....	8
2.2.1. Tanımı ve Tarihçesi.....	8
2.2.2. Epidemiyoloji.....	10
2.2.3. Etiyoloji.....	11
2.2.3.1. Travma.....	11
2.2.3.2. İmmun Sistem.....	12
2.2.3.3. Enfeksiyon.....	12
2.2.3.4. Sitogenetik Değişiklikler ve Dupuytren Kontraktürü.....	12
2.2.3.5. Radyoterapi.....	13
2.2.3.6. Sistemik Hastalıklar.....	13
2.2.4. Patofizyoloji.....	14
2.2.4.1. Travmanın Tetiklediği Olaylar.....	14
2.2.4.2. Perivasküler İnflamasyon ve Fibrin Birikimi.....	14
2.2.4.3. Kollajen ve Elastik Liflerde Değişiklikler.....	15

2.2.4.4. Fibrozis ve TGF- β	15
2.2.4.5. Kalsifikasyon.....	16
2.2.5. Tedavi.....	16
2.2.5.1. Cerrahi Dışı Tedavi.....	16
2.2.5.2. Cerrahi Tedavi.....	16
2.3. PLATELETTEN ZENGİN PLAZMA.....	18
2.3.1. Tanımı.....	18
2.3.2. Tarihçe.....	18
2.3.3. Etki mekanizması.....	18
2.3.4. Hazırlanışı.....	19
2.4. HAYVAN MODELİNİN SEÇİMİ.....	20
GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
İstatistiksel Analiz.....	25
BULGULAR.....	26
TARTIŞMA.....	33
SONUÇ.....	36
KAYNAKLAR.....	37

TABLULAR

Tablo-1: Peyronie Hastalığı'nda kullanılan cerrahi dışı tedaviler.....	17
Tablo-2: Penil Greft Materyalleri.....	17
Tablo-3: PRP içerisinde bulunan bazı büyüme faktörleri ve görevleri.....	19
Tablo-4: H&E boyama ile değerlendirilen fibrozis skorları.....	26
Tablo-5: Masson-Trikrom boyama ile kollajen/ düz kas oranları.....	27
Tablo-6: Picro-Sirius Kırmızısı boyama ile polarize ışık mikroskobu altında Tip III / Tip I kollajen oranları.....	28

RESİMLER VE ŞEKİLLER

Resim-1: Penisin yüzeyel arter ve venleri.....	5
Resim-2: Penisin venöz drenajı.....	6
Resim-3: Penisin innervasyonu.....	7
Resim-4: François de La Peyronie.....	9
Resim-5 ve 6: Midpenil bölgede tunika albugineaya yapılan enjeksiyonlar.....	22
Resim-7: GLO-PRP kiti ile ilk santrifüj sonrası plazma ve süpernatantın ayrılmış görüntüsü.....	23
Resim-8: GLO-GT426 PRP santrifüj cihazı.....	23
Resim-9: İkinci santrifüj sonrası kitin alt kısmında kullanıma hazır olan PRP.....	24
Resim-10 ve 11: Ratların midpenil dokuları eksize edildi.....	25
Resim-12: H&E boyama ile 4 gruptaki fibrozis karşılaştırılması (x10). A. Sham grubu, B. Peyronie grubu, C. Peyronie + PRP grubu, D. PRP grubu.....	30
Resim-13: Masson Trikrom boyama ile kollajen / düz kas oranlarının incelenmesi (x10). A. Sham grubu, B. Peyronie grubu, C. Peyronie + PRP grubu, D. PRP grubu.....	31
Resim-14: Polarize ışık altında Picro-sirius kırmızısı ile tip III /tip kollajen oranı incelemesi (x10). A. Sham grubu, B. Peyronie grubu, C. Peyronie + PRP grubu, D. PRP grubu.....	32
Şekil-1: Fibrozis skoru grafiği.....	27
Şekil-2: Çalışma gruplarında Kollajen / Düz kas oranları grafiği.....	28
Şekil-3: Çalışma gruplarında Tip III / Tip I Kollajen oranı grafiği.....	29

KISALTMALAR

CMV: Citomegalovirus

DM: diyabetes mellitus

DNA: Deoksiribonükleik asit

ED: Erektile disfonksiyon

EGF: Epidermal growth faktör

ESWT: Eksrakorporeal şok dalga tedavisi

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi

FGF: Fibroblast growth faktör

H & E: Hematoksilen Eozin

HIV: Human immunodeficiency virüs

HLA: Human Leukocyte Antijen

HT: Hipertansiyon

ICP / MAP: İntrakavernozal basınç / Ortalama arter basıncı

IGF: insülin benzeri büyüme faktörü

MT: Masson Trikrom

PDGF: Platelet kaynaklı büyüme faktörü

PH: Peyronie Hastalığı

PRP: Plateletten Zengin Plazma

TGF- β : Transforming Growth Faktör Beta

TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa

ÖZET

Giriş ve Amaç: Peyronie hastalığı (PH), penisin tunika albugineasını içeren lokalize bir bağ dokusu hastalığıdır. Cerrahi düzeltme altın standart tedavi olarak bilinirken, etkili ve daha az invaziv bir tedavi arayışı sürmektedir. Bu çalışmanın amacı; rat modelinde PH'nin tedavisinde intratunikal plateletten zengin plazma (PRP) enjeksiyonunun etkilerini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Yirmi erkek Sprague-Dawley sıçan (300-350 g) dört gruba ayrıldı: Sham, PD, PD + PRP ve PRP. Tüm sıçanlara, 0,1 ml %0,9 NaCl (sham) veya 0,5 µg transforming growth factor (TGF) -β1 tunika albuginea içine enjekte edildi. PD + PRP grubu ve PRP grubu, 15. günde (tedavi) veya ilk işlem gününde (PRP etkisi) 0,1 ml PRP enjekte edilerek takip edildi. TGF-β1 enjeksiyonunu takiben kırk beş gün sonra, ratlara patolojik inceleme yapıldı. Doku fibroz derecesi (Hematoksilen ve Eozin boyama), kollajen / düz kas oranı (Masson Trichrome boyama) ve tip III / tip I kollajen oranı (Picro-sirius kırmızı boyama) histolojik olarak değerlendirildi. İstatistiksel analiz, Kruskal-Wallis ve Chi-Square ve bunu takiben post-hoc karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

Bulgular: Her 3 grup ta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık göstermekteydi ($p < 0,0001$ fibrozis için, $p = 0,001$ kollajen / düz kas oranı için ve $p = 0,003$ tip III / tip I kollajen oranı için). PH grubu ve PRP grubundaki değerler birbirine benzerdi ($p = 0,122$ fibrozis için, $p = 0,221$ kollajen / düz kas oranı için ve $p = 1,0$ tip III / tip I kollajen oranı için).

Sonuç: PRP'nin PH üzerine tedavi edici etkisi bulunmamıştır. Patolojik incelemeler sonucunda PRP ratlarda PH benzeri etkiler göstermektedir. PRP, PH tedavisi araştırmaları için ucuz, kolay elde edilebilen ve etkili bir hastalık modeli oluşturabilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Peyronie Hastalığı, Plateletten zengin plazma, rat modeli, fibrozis, transforming büyüme faktörü-β

ABSTRACT

Introduction and Aim: Peyronie's disease (PD) is a localized connective tissue disorder that involves the tunica albuginea (TA) of the penis. While surgical correction remains the gold standard, the search for an effective and less invasive therapy continues. The objective of this study was to evaluate the effects of intratunical injection of platelet rich plasma (PRP) for the treatment of PD in a rat model.

Material and Method: Twenty male Sprague–Dawley rats (300–350 g) were randomly divided into four groups: sham, PD, PD + PRP and PRP. All rats underwent penile injections into the TA with 0.1 ml vehicle (sham) or 0.5 μ g transforming growth factor (TGF)- β 1. The PD + PRP groups received intratunical injections with 0.1 ml PRP on day 15 (treatment) or day 0 (PRP effect). Forty-five days following TGF- β 1 injection, rats underwent pathological examination. Tissues were evaluated histologically for fibrosis grade (Haematoxylin & Eosin staining), collagen / smooth muscle ratio (Masson Trichrome staining) and type III / type I collagen ratio (Picro-sirius red staining). Statistical analysis was performed by Kruskal-Wallis and Chi-Square followed by the Mann-Whitney U test for post hoc comparisons.

Results: Significant changes were found in all three groups compared to the control group ($p < 0.0001$ for fibrosis, $p = 0.001$ for collagen / smooth muscle ratio and $p = 0.003$ for type III / type I collagen ratio). The values in the PRP group and the findings in the PD group are similar ($p = 0.122$ for fibrosis, $p = 0.221$ for collagen / smooth muscle ratio and $p = 1,0$ for type III / type I collagen ratio)

Conclusion: PRP has no therapeutic effect on PD. As a result of pathological examinations, PRP shows PD-like effects in rats. PRP may be a cheap, easily accessible and effective disease model for PD treatment research.

Keywords: Peyronie's Disease, Platelet rich plasma, Rat model, fibrosis, transforming growth factor- β

GİRİŞ ve AMAÇ

Peyronie hastalığı (PH) genellikle peniste tunika albuginea bölgesinde fibrozis oluşması sonucu gelişen bir hastalıktır. Tunika albuginea üzerinde düzensiz olarak oluşan nodüler, kollajenize plak ile karakterizedir. PH prevalansı %0.4 – 9 arasında izlenmektedir(1, 2). Etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte tunika albugineanın tekrarlayan mikrovasküler travmaya maruziyeti en yaygın kabul edilen hipotezdir. Travma sonrası uzamış olan inflamatuvar cevap bağ dokuda değişiklik göstererek fibröz plak ile sonuçlanır(3). Travma sonrası dokuda fibrinojenin aktive olmasıyla kanın intravazasyonu görülür. Trombositler, nötrofiller ve mast hücreleri fibrozise neden olan sitokin, otakoid ve vazoaktif faktörler salgırlar. Trombüs oluşumu büyüme faktörlerine bağlanan ve onları hasar bölgesinde tutan fibronektin depolanmasına neden olur. Değişici büyüme faktörü- beta (TGF- β) nın travma sonrası birikimi, devamlı olan ve sağlıksız bir iyileşmeyle sonuçlanan inflamatuvar sürece neden olur(4-6).

PH tedavisi cerrahi olmayan ve cerrahi tedaviler olmak üzere iki ana başlığa ayrılmaktadır. Cerrahi olmayan tedaviler oral, intralezyoner ve topikal olarak ayrılmaktadır. Tedavi için birçok ajan kullanılmasına rağmen optimal tedavi il ilgili ortak bir görüş birliği sağlanmamıştır.

Plateletten zengin plazma (PRP) birim hacimde barındırdığı trombosit konsantrasyonunun ortalama değerden daha yüksek olduğu otolog plazmadır. PRP platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü (TGF), insülin-benzeri büyüme faktörü (IGF), epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi yara iyileşmesi ve doku tamiri ile ilgili büyüme faktörleri ile fibrin, fibronektin ve

vitronektin gibi hemostaz ve adhezyonu sağlayan plazma proteinlerini içinde bulundurur(7-9). Klinik olarak etkin PRP tanımı ‘normal trombosit konsantrasyonunun en az dört katı trombosit içeriği olmalıdır’ şeklindedir. İyi hazırlanmış bir PRP örneğinin 5 ml’sinde optimal 1,000,000 trombosit/ μ l bulunmalıdır(10, 11). Günümüzde PRP, baş-boyun cerrahisi, otolaringoloji, kardiyak cerrahi, oral cerrahi ve birçok bölümde kullanım alanı bulmuştur(10).

PRP’nin tam biyolojik içeriği ve net etkisi henüz tam olarak anlaşılamamıştır(12). PRP içinde bulunan büyüme faktörleri iyileşmeyi uyarır ve düzenler, hücresel düzeyde de mitogenez, kemotaksi, farklılaşma ve metabolizmayı düzenlerler(13). Makrofaj, monosit, nötrofil miğrasyonunu sağlar ve aynı zamanda makrofajlardan İnterlökin-1 salınımını baskılayarak proinflamatuvar sitokinlerin salınımını da inhibe eder(14, 15).

Çalışmamızda peyronie plağı oluşturulan rat modelinde PRP enjeksiyonu ile plak boyutunda ve içeriğindeki değişiklikler değerlendirilecektir.

GENEL BİLGİLER

2.1. PENİS ANATOMİSİ

Penis iki korpus kavernosum, korpus spongiosum ve uretradan oluşmaktadır. Penisin tabakaları dıştan içe doğru deri, Dartos fasyası, Buck fasyası ve tunika albuginea olarak sıralanmaktadır. Penis derisi, koyu renkte, bez ve kıl içermeyen elastik yapıda bir dokudur. Penis derisi distalde korona seviyesinden itibaren glans penisin üzerine sarılarak prepişyumu oluşturur. Derinin arteriyel beslenmesini sağlayan yüzeyel penil arter (ventrolateral ve dorsolateral dallar) eksternal pudental arterin dalıdır. Venöz drenajı sağlayan yüzeyel penil ven ise (ventrolateral ve dorsolateral dallar) safen vene dökülmektedir. Bu damarlar longitudinal olarak Dartos fasyası üzerinde uzanmakta ve aralarında anostomoz oluşturmaktadır. Dartos fasyasının Buck fasyası ile zayıf bağlantısı bulunmaktadır ve bu durum cinsel ilişki sırasında Dartos fasyasının, Buck fasyası üzerinden kaymasına izin vermektedir.

Buck fasyası dorsalde her iki korpus kavernosumu çevrelerken, ventralde ise korpus spongiosumu sarmaktadır. Distalde koronada glans penisin tabanı ile birleşen Buck fasyası travma sonrası oluşan korpus kavernosum yırtıklarında hematoma penis shaftında lokalize eder.

Tunika albuginea penise elastikiyet, sertlik, güç ve dayanıklılık sağlayan çoğunluğunu kollajenin oluşturduğu bir bağ dokudur (16). Yapısında kollajen ve elastin lifler bulunmaktadır. Bu yapılar tunika albugineanın güçlü ve esnek olmasını sağlamaktadır (17). İç tabakadaki kollajen lifler iki kavernoza cisim arasındaki median septumu oluşturarak ortada birleşip kalınlaşmaktadır. Dış tabaka daha kalın ve longitudinal yerleşimli kollajen liflerden oluşmaktadır. Tunikanın dayanıklılığı ve kalınlığı lokalizasyonuna göre değişiklik göstermektedir. Tunikanın kalınlığı saat 5 ve 7 hizasında 0.8 mm, saat 3 ve 9 hizasında 1.2 mm, saat 11 ve 1 hizasında 2.2 mm'dir (17). Saat 5 ve 7 arasında yer alan bu bölge tunika albugineanın en dayanıksız bölgesini oluşturmaktadır. Bu bölgede yer alan korpus spongiosum, spongios erektil dokuların bulunduğu korpus kavernoza benzer bir histolojik yapıdadır, fakat bu erektil doku ereksiyona destek sağlamamaktadır (18).

Tunika albugineanın ikinci temel yapısı olan elastik lifler, kollajenin üzerine oturacağı düzensiz kafesler oluşturur ve ışık mikroskopunda tipik ondulan görüntü verir. Elastik lifler

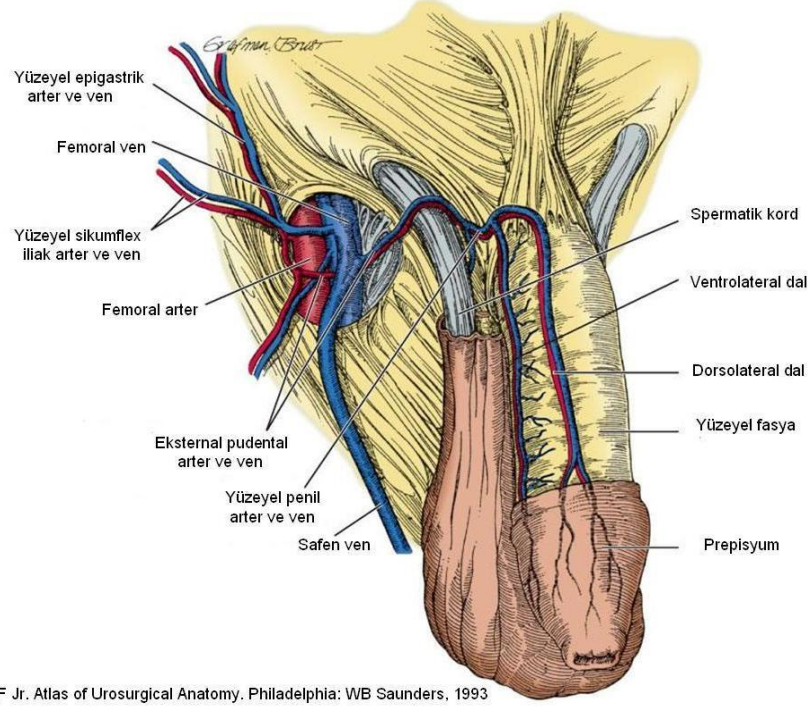
boylarının %150'sine kadar uzayabilirler ve tunikanın kompliyansından sorumludurlar (18). Tunikanın yapısında bulunan elastin içeriğinin azalması ya da bozulması, sirküler ya da longitudinal tabakaların yapısal düzensizlikleri ereksiyon sırasında meydana gelebilecek penil deformatelere ve erektil disfonksiyona yol açabilir.

Korpus kavernoza fibröz bir iskelete sahiptir ve bu iskelet tunika albugineadan uzanan sütun şeklindeki lifler, kavernoza fibröz ağ, periarterial ve perinöral fibröz kılıflardan oluşmaktadır (19).

Penisin arteriyel sistemi yüzeysel ve derin arterler olmak üzere ikiye ayrılırlar.

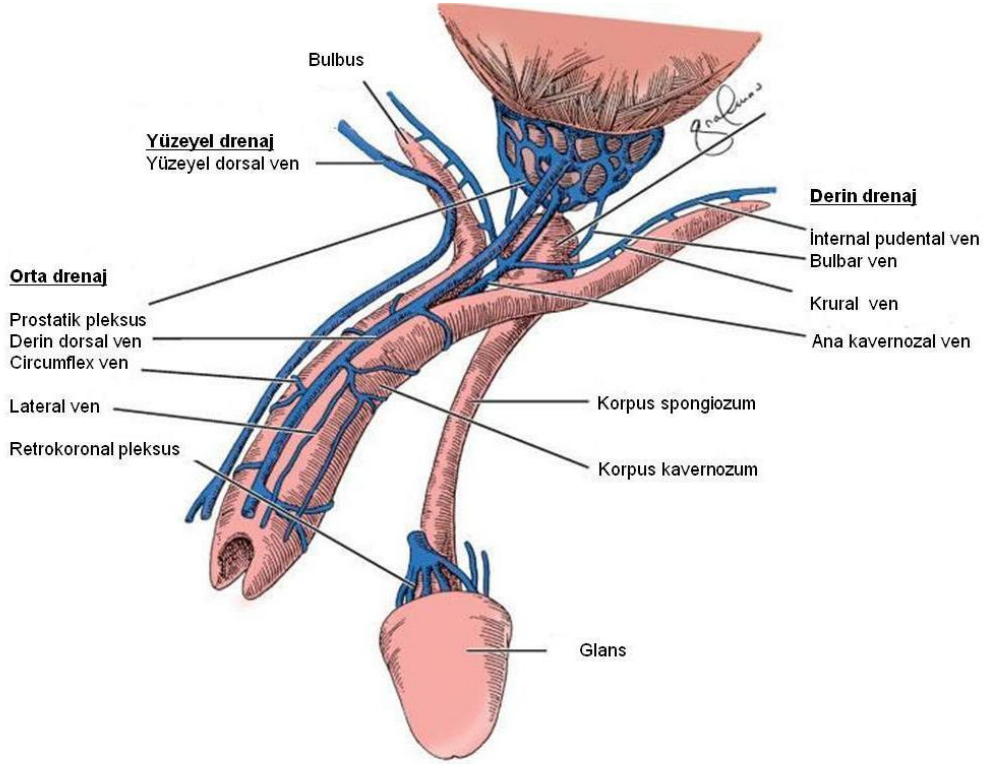
Eksternal pudental arter, dorsolateral ve ventrolateral penil arter olmak üzere iki dala ayrılarak penis cildini beslerler. Hipoagastrik arterin dalı olan internal pudental arter, penisin ana arteridir. Dorsal penil arter pubis ve penisin krusları arasından geçip Buck fasyası içinde ikiye dallanarak peniste saat 11 ve 1 pozisyonunda dorsal sinirlerin mediali boyunca yayılır ve peniste yüzeysel yapıları ve korpus kavernoza besleyen sirkumfleks arteri oluşturur. Penis venöz dreanjı yüzeysel, orta ve derin olmak üzere üç seviyede gerçekleşmektedir. Buck fasyasının hemen üzerinde uzanan yüzeysel venöz

sistem genel olarak penis derisinin venöz drenajını sağlar ve buna ek olarak derin dorsal venle de anastomotik bağlantıları gözlenebilmektedir. Yüzeysel sistem safen vene dökülürken, derin dorsal ve sirkumfleks venler intermediate sistemi oluşturur. (Resim-1 ve 2)



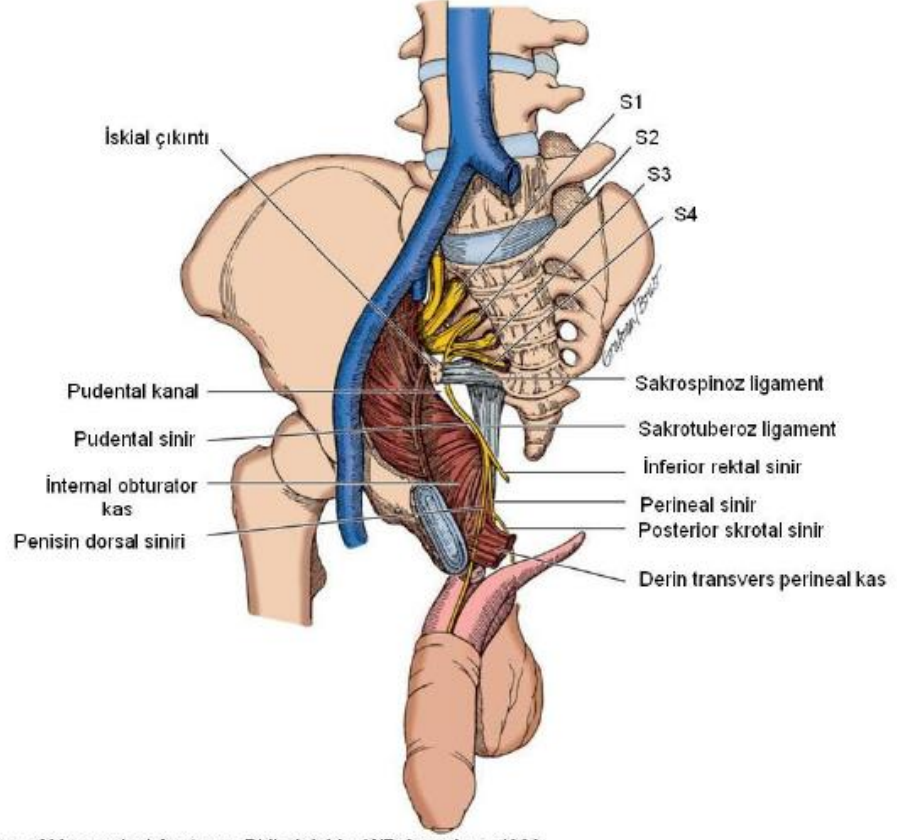
Resim-1: Penisin yüzeysel arter ve venleri

Penisin innervasyonu hem otonomik hem de somatiktir. S2-S4 duysal nükleuslardan çıkan somatosensoryal liflerden kaynaklanan pudental sinir; penisin dorsal siniri, perineal sinir ve inferior rektal sinir olarak üç dala ayrılır.(Resim 3) Penisin dorsal siniri, penisin duysal innervasyonunu sağlamaktadır. Penisin dorsal yüzü ve glansı innerve eder. Perineal sinir de penisin ventral yüzü ve glansı, ilioinguinal sinir de penis kökünün cildini innerve eder. Pudental sinirin somatik lifleri dışında otonom lifleri de bulunmaktadır. İskiokavernozal kaslar ve bulbospongioz kaslar pudental sinirin bu lifleri tarafından innerve edilirler.



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

Resim-2: Penisin venöz drenajı



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

Resim-3: Penisin innervasyonu

2.2. PEYRONİE HASTALIĞI

2.2.1. Tanımı ve Tarihçesi

Peyronie Hastalığı (PH) tunika albuginea ve çevre erektil dokuların fibrozisi ile karakterizedir. Ereksiyon sırasında ağrı, plak şeklinde ele gelen kitle ve peniste eğrilik oluşturan deformasyon bulguları klinik olarak görülen şikayetlerdendir.

Bu patolojik durum ilk olarak 1561 yılında Fallopius tarafından tariflenmiş olmasına rağmen, 1743 yılında François de La Peyronie (Resim-4) tarafından bildirilen bir olgu sonucunda hastalık olarak tıp literatüründeki yerini almıştır ve halen Peyronie adıyla anılmaktadır (20).

François de La Peyronie, çağının ünlü cerrahlarından olup, XIV. ve XV. Louis dönemlerinde hizmet vermiş ve 1743'te Fransa'da cerrahların 'berber' sınıfından ayrılıp 'doktor' olarak kabul edilmesini sağlamıştır (21). Bu hastalığın ilk olgu sunumunda peniste tesbih taneleri şeklinde ele gelen sertlikleri olan ve ereksiyon sırasında penisin yukarı doğru kıvrılmış olan bir vakayı tariflemiştir (20).



Resim-4: François de La Peyronie.

2.2.2. Epidemiyoloji

PH'nın semptomatik insidansının %1 kadar olduğu tahmin edilmektedir. Beyaz erkeklerde PH görülme ortalama 5. dekattadır (22). Semptomatik olmayan prevalansın ise %0,4 ile 1 arasında olduğu düşünülmektedir (23). Erkek kadavralar üzerinde yapılan çalışmada PH ile uyumlu tunika albugineada fibrotik lezyonların, 100 kadavranın 22'sinde bulunduğu görülmüştür (24).

Schwarzer ve ark. yapmış olduğu Avrupa'daki epidemiyolojik çalışmada hastalığın prevalansının %3,2 olduğu bildirilmiştir. Bu hastalığın en sık 50'li yaşlarda görülmesiyle beraber 18-84 yaş aralığı gibi geniş bir yaş dağılımının olması da ilgi çekicidir (25).

Bu hastalık çeşitli hastalıklarla birlikte görülebilir. PH'nın birçok nedenle ilişkisi olduğu düşünülmektedir. En güçlü birliktelik Dupuytren hastalığı ile ilgili bulunmuştur. Dupuytren hastalığı ailesel olup, otozomal dominant bir kalıtım göstermektedir. PH olan hastaların %30-40'ında Dupuytren hastalığı olduğu gösterilmiştir (26).

Cinsel fonksiyon bozukluğu nedeni ile hekime başvuran hastaların yaklaşık %5-10'unda PH klinik olarak tespit edilmiştir (27). Ayrıca bazı çalışmalarda peniste deformite ve ereksiyon sırasında oluşan ağrı nedeni ile erektil disfonksiyon (ED) gelişen olgularda peniste fibrozis görülme sıklığının tahmin edilenden daha fazla olduğu ileri sürülmektedir (24).

Ülkemizde yapılan epidemiyolojik çalışmada ise 40 yaş altı erkek hastalarda PH prevalansının %8,2 olduğu belirtilmiştir (28). Hastaların yaş ortalaması 32'dir ve hastaların %78,9'u hastalığın akut fazında kliniğe başvurmuşlardır.

Tüm bu epidemiyolojik çalışmaların özeti olarak PH'nın günümüzde giderek daha sık rastlanılan bir patoloji olduğu ve genç hasta popülasyonunun da etkilenebileceği düşünülmektedir.

2.2.3. Etiyoloji

Çok uzun süre öncesinde tanımı yapılmış olmasına rağmen PH'nın etiyojisi halen netlik kazanmamıştır. Uzun yıllar boyunca en önemli etken olarak travma düşünülmüştür ve halen etiyojide en çok sorumlu tutulan faktör olarak değerlendirilmektedir. Ancak günümüzde hastalığın patofizyolojik mekanizmaları ile ilgili bilgiler arttıkça etiyojide travma dışında etkenlerin de olduğu düşünülmektedir.

2.2.3.1. Travma

Peniste oluşan tekrarlayan mikro travmaların PH etiyojisinde önemli bir yere sahip olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur. Hinman 1980 yılında travmanın penil plak formasyonu ile sonuçlanacak mekanik stresi tetikleyebileceği fikrini öne sürmüştür (29). Tunika albugineanın dorsumda çift katmanlı olmasından dolayı, travma sonrasında bu katmanların ayrılması ve ventral bölgedeki tabanın longitudinal olarak seyretmemesi, lezyonların dorsal yerleşimli olmasını desteklemektedir (30). Travma sonrası bölgede oluşan fibrin depolanması ve sonrasında gelişen fibroblast aktivasyonu plak oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Mikrovasküler travma penil fraktür vakalarında görüldüğü gibi normal cinsel ilişki sırasında da gelişebilmektedir (31).

İran'ın Kermanshah bölgesinde penisin kemik, kırık ve eklemlerde oluştuğuna inanılmaktadır. Cinsel tatminin sonlandırılması ve detümesansın sağlanması için erekte haldeki penis çeşitli yönlere bükülmesi (Taqaandan) yöreye ait kültürel bir özelliktir. Taqaandan'dan dolayı penil fraktür vakaları sık görülmektedir. Bu uygulamadan sonra penil fraktür gelişen 120 olgunun kısa süreli takiplerinde 5 hastada nodül ve 7 hastada hafif ve orta derecede penil kurvatür tespit edilmiştir (32).

Tedavi veya tanı amaçlı penise yapılan invaziv girişimlerin de PH görülme sıklığını arttırdığı bildirilmiştir. Daha önce üretral kateterizasyon, sistoskopi veya transüretral prostat rezeksiyonu hikayesi olan hastalarda PH riskinin 16 kat fazla olduğu saptanmıştır (33).

2.2.3.2. İmmun Sistem

İmmunolojik değişikliklerin PH patofizyolojisinde rolü olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur. PH'da immün sistem bozukluğunu araştırmak amacı ile 21-76 yaş arası 66 PH olan erkek, hücresele ve humoral immünite testleri ile değerlendirilmiştir (34). PH olan 66 erkeğin 50'sinde (%75,8) en az bir immünolojik test anormal olarak sonuçlanmıştır. Bu olguların %48,5'inde hücresele immün cevapta anormallik görülürken %31,8'inde humoral immün cevapta anormallik tespit edilmiştir. Hastaların %25,8'inde anti nükleer antikor (ANA) pozitifliği saptanırken %25,8'inde anti-düz kas hücre antikoruna pozitifliği gösterilmiştir.

Kanda artmış halde bulunan antikorlar haricinde plak bölgesindeki subtunikal alanda IgM yükü ve T lenfosit infiltrasyonu, yüksek miktarda Human Leukocyte Antigen (HLA) tip II antijenleri ve adezyon molekülleri (GMP-140, ICAM-1) saptanmıştır (35). Bu immünolojik bulguların etiyolojide tam olarak yer aldığını kanıtlamak için farklı merkezlerden ve farklı etnik kökenlerden yapılacak olan hasta sayısının daha yüksek olduğu çalışmalara ihtiyaç vardır (36).

2.2.3.3. Enfeksiyon

Patofizyolojide önemli bir yer almasına rağmen enfeksiyon ajanı için yeterli sayıda çalışma yoktur. PH olan erkeklerin idrar, gaita ve sürüntü örneklerinde herhangi bir bakteri üremesi olmamıştır (37). Uzun yıllar citomegalovirus (CMV) ile ateroskleroz arasındaki ilişki gündemde kalmış ancak kesin bir ilişki saptanmamıştır. CMV'nin fibroblastlara yüksek afinitesi olduğu gösterilmiştir. Bir çalışmada peyronie plağından elde edilen fibroblastlarda CMV deoksiribonükleik asit(DNA)'i gösterilmiştir (38).

2.2.3.4. Sitogenetik Değişiklikler ve Dupuytren Kontraktürü

Fibrotik değişiklikler açısından PH ile benzer özelliklere sahip olan palmar fasyadaki fibrotik nodüller ile krakterize Dupuytren kontraktürü ve PH arasında ilişkiyi araştıran pek çok çalışma literatürde mevcuttur. PH olanlarda Dupuytren kontraktürü görülme sıklığı %21 olarak bildirilmiştir (33).

Penil plak ve palmar fasyadan elde edilen fibroblastlarda yapılan sitogenetik çalışmalarda bazı spesifik kromozomlarda mikroskobik değişiklikler gözlenmiştir.

Bunlar 7. ve 8. Kromozom kopya sayılarında artış ve Y kromozomunda delesyonlardır (39).

2.2.3.5. Radyoterapi

Radyoterapi PH'da ilk etiyolojik ajan olarak görülmeyebilir ancak genetik veya diğer etiyolojik faktörler açısından yatkın hastalarda fibrotik olayı arttırıcı etkisinin olduğunu bilmek gereklidir.

Mulhall ve ark. Peyronie plağı kaynaklı hücre kültürü ve yenidoğan prepisyumu kaynaklı hücre kültürünü 5 Gy'lik radyoterapiye maruz bırakmış ve hücre kültürlerinde fibrojenik sitokin ölçümü yapmıştır. Bu çalışmada sonuç olarak radyasyonun PH 'da fibrotik süreci, fibrotik sitokinleri arttırarak desteklediği fikri ortaya atılmıştır (40).

2.2.3.6. Sistemik Hastalıklar

PH'nın bazı sistemik vasküler hastalıklarla birlikteliği gösterilmiştir. İtalya'da 279 erkek ile yapılan vaka-kontrol çalışmasında PH olan ve olmayan aynı yaş grubundaki erkekler çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların hipertansiyon(HT) ve diyabetes mellitus (DM) öyküleri ve sigara maruziyeti bilgileri kaydedilmiştir. Sonuç olarak PH olan grupta sigara içenlerin ve HT olanların oranının anlamlı olarak daha fazla olduğu izlenmiştir (41). Bir başka çalışmada ise PH olan hastaların penil deformitelerinin en az bir sistemik hastalığa sahip olanlarda olmayanlara göre daha ağır olduğu bildirilmiştir (29). Bu deformite artışının temelinde risk faktörlerinin artması sonrası erektil doku oksijenizasyonunda azalma ve hipoksi ile indüklenen TGF- β aktivasyonu yatmaktadır.

2.2.4. Patofizyoloji

PH'da primer patolojik süreç, tunika albugineadaki lokal inflamasyon, fibröz kalınlaşma ve bunun ardından elastikiyetini kaybetmiş skar dokusu oluşumudur.

Kollajen ve elastin tunika albugineayı oluşturan 2 temel yapıdır. Bağ dokusunun bu iki yapısı tunika albugineanın güçlü ve kompliyan yapısını sağlamaktadır. Elastik lifler, boylarının %150'sine kadar uzayabilirler ve tunikanın kompliyansından sorumludurlar.

PH patogenezinde 5 ana basamak bulunur:

- 1- Travmanın tetiklediği olaylar
- 2- Perivasküler inflamasyon ve fibrin birikimi
- 3- Kollajen ve elastin yapısındaki değişiklikler
- 4- Fibrozis
- 5- Kalsifikasyon

2.2.4.1. Travmanın Tetiklediği Olaylar:

PH'da fibrozis ve plak oluşumu, travmanın tetiklediği mekanizmalarla açıklanabilir. Penisi etkileyen ani travma (Cinsel ilişki sırasında ani bükülme) özellikle ilerleyen yaş ile beraber kompliyansı azalmış ve travmalara daha hassas olan tunika albugineanın yırtıklarına neden olabilir (3). Devamlı tekrarlayan mikro travmalar ise tunika albugineada yorgunluğa sebep olarak zamanla hasara yol açabilir. Her iki travma sonrası subtunikal damarlar zarar görür ve hemorajiler meydana gelir. Plakların elektron mikroskobu ile incelendiğinde endotelial hücre membranlarında yaygın hasar görülmektedir (42). Bu hasar sonrası inflamatuvar süreç başlar ve fibroblastik aktivite artar. Vasküler geçirgenliğin bozulması fibrin birikimine sebep olur ve fibroblastlar daha da aktif hale gelir.

2.2.4.2. Perivasküler İnflamasyon ve Fibrin Birikimi:

PH'da patofizyolojinin ilk basamağının tunika çevresinde oluşan perivasküler inflamasyon olduğunu ve dokunun fibrozise ilerlediğini ilk olarak Smith 1966 yılında göstermiştir (43). Bu inflamasyonun ardından tunika çevresine lenfositik infiltrasyon başlamaktadır. Özellikle makrofajlar ve T lenfositlerden oluşan infiltrasyon ile fibroblastların yakın ilişkide oldukları izlenmiştir (35). Bununla beraber hasarlı dokuya

gelen mast hücreleri salgıladıkları tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) ve TGF- β gibi sitokinler ile fibroblast aktivasyonunu arttırmaktadır (44).

2.2.4.3. Kollajen ve Elastik Liflerde Değişiklikler:

Yara iyileşmesinin ilerleyen döneminde, ortama fibroblastlar hakim olur. Fibroblastlar vücutta kollajen yapımından sorumlu bağ doku hücreleridir. PH'da normal dokudaki kollajen-elastin düzeni bozulmuştur. Elastik lifler ayrılmıştır. Kollajen lifler ise nodüler tarzda kümeleşirler. Kollajen lifleri ondulan görünümünü kaybederek kümeleşme gösterirler (45). PH plakları jel elektroforezi ile incelendiğinde Tip III kollajen miktarının belirgin olarak arttığı dikkat çekmektedir. Kollajen metabolizmasında hasar olması ile birlikte ekstrasellüler matriksin embriyonel bir yapıya kaydığı görülmektedir (46).

2.2.4.4. Fibrozis ve TGF- β

Fibrozisten primer olarak sorumlu olan fibroblastların proliferasyonu, aktivasyonu ve ekstrasellüler matriks birikimi, direk ve dolaylı olarak inflamatuvar hücrelerden ve fibroblastın salgılamış olduğu sitokinler tarafından (TGF- β , Platelet Derive Growth Faktör:PDGF, Epidermal Growth Faktör:EGF, Fibroblast Growth Faktör: FGF) uyarılmaktadır.

Yapılan çalışmalar TGF- β 'nın fibrozis patogenezinde etkin bir rolü olduğunu göstermektedir. Doku hasarı olan bölgelerdeki trombositlerde bol miktarda bulunan bu sitokin, çevreye salınarak fibrozisten sorumlu inflamatuvar hücre ve trombositlerin kontraksiyonunu sağlamaktadır (47). Bunun yanında gen ekspresyonunu hızlandırıp, ekstrasellüler matriks elemanlarının sentezini arttırır ve yıkımını azaltır. Kendi sentezini indükleyebilmesi ise, fibrozis ve skar oluşumundaki ana rolünü daha da önemli kılmaktadır (48).

PH'da tunikada fibrozis sonucu gelişen elastik olmayan skar dokusu 'plak' olarak adlandırılır. Aynı anda birden fazla plak bulunabilmesi, tüm tunikanın hastalıktan etkilendiğinin bir göstergesidir. Ereksiyon sırasında, inelastik bölge kısa kalır ve penis o tarafa doğru bükülür.

2.2.4.5. Kalsifikasyon

Tunika albuginea ve çevre erektil dokuda gelişen skar dokusu, olguların yaklaşık %25-30'unda kalsifiye olur. Plakların bir kısmının 'kemikleştiği' de gözlenmiştir. Serum fosfor ve kalsiyum seviyelerinin normal olduğu vakalarda gözlenen ve 'distrofik' olarak adlandırılan kalsifikasyonların bozulan kollajen metabolizmasına bağlı artmış kollajen lifleri arasında hidroksiapatit kristallerinin birikmesi ile oluştuğu öne sürülmektedir.

2.2.5. Tedavi

PH tedavisi cerrahi olmayan ve cerrahi olarak ikiye ayrılmaktadır. Hastalığın ortaya çıkması sonrası ilk 12 aylık süre 'akut dönem' olarak adlandırılmış olup, bu süre içerisinde cerrahi yöntemler tercih edilmez. Kronik dönemde ise eğriliğin açısına göre cerrahi tedavi yöntemi değişebilmektedir.

2.2.5.1. Cerrahi Dışı Tedaviler

PH tedavisinde özellikle akut dönemde kullanılan birçok ajan mevcuttur. Bunların birbirlerine karşı üstünlüğü yoktur ve Clostridyum Kollajenaz enzimi haricinde geri kalan ajanların Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onayı bulunmamaktadır. Kullanılan ajanlar tablo-1'de gösterilmiştir.

2.2.5.2. Cerrahi Tedaviler

Hastalığın kronik fazında uygulanan cerrahi tedavi, penis kısaltıcı ve penis uzatıcı cerrahiler olarak sınıflandırılır. Penisin eğrilik açısı 60 derecenin altında ise ve yeterli penis boyu varsa penil kısaltıcı cerrahi (plikasyon, Nesbit yöntemi, 16 dot tekniği) uygulanmalıdır. Eğrilik açısı 60 derecenin üzerinde veya kum saati deformitesi gibi özellikler mevcutsa, bu hastalar plak eksizyonu ve greftleme yöntemi olan penil uzatıcı cerrahi ile tedavi edilmelidir. Greft materyali olarak en sık safen ven kullanılmış olsa da birçok organik ve sentetik madde kullanılabilir. Greft materyallerinin listesi tablo-2'de verilmiştir.

Tablo-1: Peyronie Hastalığı'nda kullanılan cerrahi dışı tedaviler:

Oral Tedaviler
E Vitamini
Potasyum para-aminobenzoate(Potaba)
Tamoksifen
Kolşisin
Karnitin asetil esterleri
Pentoksifilin
Fosfodiesteraz 5 inhibitörleri
İntralezyonel Tedaviler
Steroidler
Verapamil
Clostridium Kollajenaz
İnterferon
Topikal Tedaviler
Verapamil
İyontoforez
Extracorporeal Şok Dalga Tedavisi (ESWT)
Traksiyon cihazları
Vakum Cihazları

Tablo-2:Penil Greft Materyalleri

Otolog Graftler
Dermis
Safen ven
Tunika albuginea, Tunika vaginalis
Temporal fasya, Bukkal mukoza
Allograft (Kadavradan)
Perikard, fascia lata, dura mater, dermis
Xenograft
Domuz ince bağırsak mukozası, dermisi
Sığır perikardı
Sentetik
Gore-Tex, Dakron

2.3. PLATELETTEN ZENGİN PLAZMA

2.3.1. Tanım

Plateletten zengin plazma (PRP) birim hacimde içeriğindeki trombosit konsantrasyonunun ortalama değerden daha yüksek olduğu plazmadır. İçerisinde platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü (TGF), insülin-benzeri büyüme faktörü (IGF), epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi yara iyileşmesi ve doku tamiri ile ilgili büyüme faktörleri ile fibrin, fibronektin ve vitronektin gibi hemostaz ve adhezyonu sağlayan plazma proteinlerini bulundurur (7, 9). Klinik olarak etkin PRP tanımı ‘normal trombosit konsantrasyonunun en az dört katı trombosit içeriği olmalıdır’ şeklindedir. İyi hazırlanmış bir PRP örneğinin 5 ml’inde optimal 1,000,000 trombosit/µl bulunmalıdır (9).

2.3.2. Tarihçe

PRP ilk olarak 1990’lı yıllarda maksillofasial cerrahi ve plastik cerrahide kullanımı ile popüler hale gelmiştir. Ortopedide ise son on yılın erken dönemlerinde kemik greftleri ile birlikte spinal füzyon ve kırık iyileşmesini hızlandırmak amacıyla başlamıştır (9). Ayrıca günümüzde PRP, baş-boyun cerrahisi, otolaringoloji, kardiyak cerrahi, oral cerrahide kullanım alanı bulmuştur. Kemik iyileşmesini hızlandırma konusundaki potansiyel faydaları üzerine tartışmalar halen devam etse de, kas ve tendon yaralanmaları ve dejenerasyonlarının tedavilerinde PRP enjeksiyonu kullanımı gün geçtikçe artan klinik ve laboratuvar kanıtları ile desteklenmektedir(49).

2.3.3. Etki Mekanizması

PRP etkisini platelet aktivasyonunu takiben bu büyüme ve farklılaşma faktörlerini salgılanmasıyla gösterir. Bu faktörler birbiriyle etkileşebilir, farklı dokularda farklı etki gösterebilir, etkisini gösterirken iyileşme ortamından da etkilenebilir. Yetişkin mezenkimal kök hücreleri, osteoblastlar, fibroblastlar, endotelial ve epidermal hücreler PRP’deki büyüme faktörleri için spesifik hücre membran reseptörleri sentezlerler. Bütün bu kanıtlara rağmen PRP’nin tam biyolojik içeriği ve net etkisi henüz tam olarak anlaşılammıştır (12). PRP içinde bulunan büyüme faktörleri iyileşmeyi uyarır ve düzenler, hücresel düzeyde de mitogenez, kemotaksi, farklılaşma ve metabolizmayı düzenlerler. Makrofaj, monosit, nötrofil migrasyonunu sağlar ve aynı zamanda

makrofajlardan İnterlökin-1 salınımını baskılayarak proinflamatuvar sitokinlerin salınımını da inhibe eder (13, 14). Bu iki yönlü etki mekanizması tamiri kolaylaştırıp doku yıkımını en aza indirerek iyileşme sürecini hızlandırır.

Yapılan çalışmalarda PRP ile muamele edilmiş hayvan modellerinde daha fazla hücre proliferasyonu ve anjiogenez olduğu gösterilmiştir (11). Virchenko ve Aspenberg tarafından 2006 yılında yapılan bir çalışmada PRP'nin tendon tamirinde başlangıç enflamatuvar fazı hızlandırabileceği ve erken mekanik yükleme için hücreleri daha hazır duruma getirebileceği sonucuna varılmıştır(50). PRP'nin içerisinde yer alan büyüme faktörleri ve görevleri tablo-3'te özetlenmiştir.

Tablo-3: PRP içerisinde bulunan bazı büyüme faktörleri ve görevleri

Büyüme Faktörü	Görevi
Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü	Hücre replikasyonu ve anjiogenezis uyarılması
Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü	Anjiogenez
Transforme Edici Büyüme Faktörü- β 1	Fibrozis ve hücre rejenerasyonu
Fibroblast Büyüme Faktörü	Myofibroblast proliferasyonu stimülasyonu
Epidermal Büyüme Faktörü	mezenşimal ve epitelyal hücre proliferasyonu
İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1	Fibroblast stimülasyonu

2.3.4. Hazırlanışı

Otolog kandan doğru konsantrasyonda trombosit elde etmek için mutlaka çift santrifüj tekniği kullanılmalıdır. İlk çevirim plazmadan kırmızı kan hücrelerini ayırır ve bu kısım trombositleri, beyaz küreleri ve pıhtılaşma faktörlerini içerir. İkinci çevirim hassas bir biçimde plazmadaki trombositler ve birkaç kırmızı kan hücresi ile beraber beyaz küreleri birbirinden ayırır. Bu yumuşak çevrim ile PRP elde edilir ve trombositten fakir plazma ayrılmış olur. Santrifüj hızından veya süresinden bağımsız olarak, tek bir çevrim ile trombositler ve kan hücreleri karışacağından yeterli trombosit konsantrasyonu sağlanamaz; tek bir çevrim ile gerçek bir PRP elde edilemez (51). PRP otolog kandan elde edildiği için güvenlik bakımından endişeler en azdır, HIV ve hepatit gibi kanla bulaşan hastalıklar yönünden risk taşımaz. PRP içindeki artmış trombosit sayısı ile cerrahi bölgeye ulaşan büyüme faktörlerinin sayısı da artmaktadır. Herhangi bir enjeksiyon tekniğinde olacağı üzere potansiyel enfeksiyonu engellemek amacıyla

aseptik teknik kullanılmalıdır. Çeşitli laboratuvar çalışmaları PRP'nin antimikrobiyal etkisi olabileceğini öne sürmektedir (52).

Deney hayvanları için PRP hazırlanışı 2007'de Nagae tarafından da tariflenmiştir . Bu çalışmada 12 haftalık Sprague-Dawley sıçanlar (3 adet) PRP hazırlanmak üzere sakrifiye edilip her bir sıçandan 2.0 ml koagülasyonu engelleyici asit sitrat dekstroz içeren enjektörlere 20 ml taze kan alınmış, toplam 60 ml tam kan 1500rpm (250g)'de 10 dk. santrifüj edilmiş, takiben plazma kısmı toplanarak 3000 rpm (1000g)'de 10dk daha santrifüj edilerek trombositler presipite edilmiştir. Santrifüj tüpünün dibinde presipite edilen trombositler 300 mikrolitre supernatani (trombositten fakir plazma) ile PRP elde etmek için toplanmış, trombosit sayısı tam kanda, PRP'de ölçülmüştür (53).

2.4. HAYVAN MODELİNİN SEÇİMİ

Çalışma planı yapılırken deneklerde PH modeline en yakın hayvan modeli oluşturulmaya çalışıldı. Yapılan literatür araştırmasında buna en yakın ve kolay uygulanabilen hayvan modelinin tunika albugineaya rekombinant TGF- β 1 enjeksiyonu kullanılarak oluşturulduğu bulundu (54-56). Çalışmalarda PH patolojik bulgularının tam olarak ne zaman oluştuğu net olarak belirlenmemişse de 14. gün sonunda tunika albugineada fibrozis, kollajen oranında belirgin artış oluştuğuna dair yayınlar mevcuttur (54). Bu nedenle çalışmamızda 300-350 gr ağırlığında Sprague-Dawley cinsi erkek ratlar kullanılmıştır. Uygulayacağımız PH rat modeli ile ilgili ilk çalışma 1997 yılında El-Sakka ve ark. tarafından yapılmıştır (55). Bu çalışmada 18 adet rat 3 gruba ayrılmıştır. Her grupta rat tunika albugineasına ilk gün 22 G iğne ile 0.1 ml TGF- β enjekte edilmiş ve ratların penil dokuları enjeksiyon sonrası 3. gün, 2. hafta ve 6. haftalarda fibrozis bakımından incelenmiştir. Çalışma sonunda TGF- β verilerek 2 haftalık takip periyodu sonrasında penil dokuda PH benzeri lezyon oluşturulduğu belirtilmiştir. Biz de bu çalışmadan esinlenerek PH modeli oluşturmak amacı ile ratların tunika albuginealarına 0.1 ml TGF- β enjekte etmeyi planlamaktayız. Bu hastalığın etkisini değerlendirmeyi düşündüğümüz plateletten zengin plazma (PRP), içerisinde bulunan büyüme faktörlerinin doku iyileşmesini arttırıcı, fibrozis gelişimini azaltıcı ve önleyici rollerinin kanıtlanmış olması nedeni ile tercih edilmektedir. Uygulama yolu ve dozu materyal metot bölümünde belirtilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, 'Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu' tarafından 2016/12 proje numarası verilerek kabul edilmiştir ve ratların tüm işlemleri ve bakımları Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Hayvan Deneyleri Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Yirmi adet Sprague – Dawley cinsi rat (300-350 gr) çalışmaya dahil edildi ve randomize olarak 4 gruba ayrıldı (n=5). Enjeksiyonlar öncesi ratlara anestezi amaçlı intraperitoneal olarak 50 mg/kg ketamin hidroklorid ve 7.5 mg/kg xylazine kombinasyonu uygulandı.

Deney grupları aşağıdaki gibi düzenlenmiştir.

1.Grup (Kontrol/Sham): Kontrol grubundaki ratlara çalışmanın ilk günü penil dokuda tunika albuginea içine 0.1 ml serum fizyolojik (%0.9 NaCl) enjekte edildi ve ratlar 45 gün boyunca takip edildi.

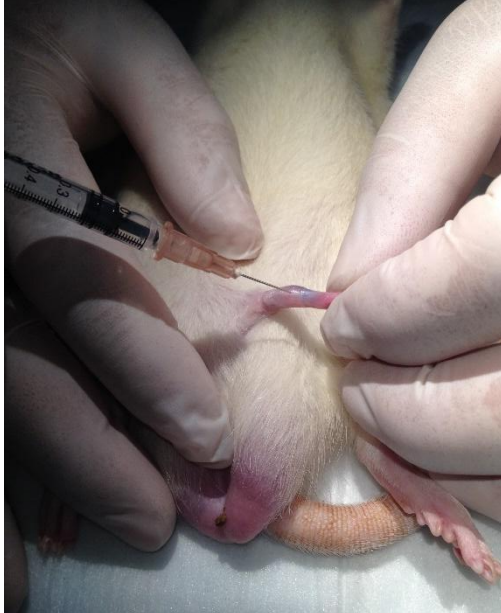
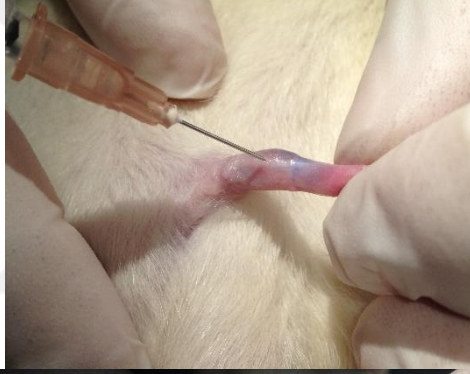
2.Grup (Peyronie modeli +Tedavisiz grup): Bu gruptaki ratlara çalışmanın ilk günü tunika albuginea içine 0.1 ml TGF- β (R&D Systems®) enjekte edildi (Resim-5 ve 6) ve 45 gün boyunca tedavi uygulanmadan takip edildi.

3.Grup (Peyronie + PRP Grubu): Çalışmanın ilk günü tunika albuginea içine 0.1 ml TGF- β enjekte edildi, bu işlemi takiben 15. günde ise intrakardiyak olarak hazırlanmış olan PRP aynı enjeksiyon bölgesine 0.1 ml olarak enjekte edildi ve 45. güne kadar takip edildi.

4.Grup (PRP Grubu): Bu gruptaki ratlara ise ilk gün 0.1 ml PRP enjekte edildi ve 45 gün boyunca takip edildi.

Çalışmada 4. grubun amacı: PRP, içindeki platelet ve büyüme faktörleri içerisinde yer alan TGF- β etkisi ile diğer organlarda doku iyileşmesinde kullanılmaktadır. PH'nın patofizyolojisinde tekrarlayan mikro travmalar sonucu ortaya çıkan TGF- β 'nın fibrotik sürece doğrudan etkisi hipotezi ortaya konulmuştur.

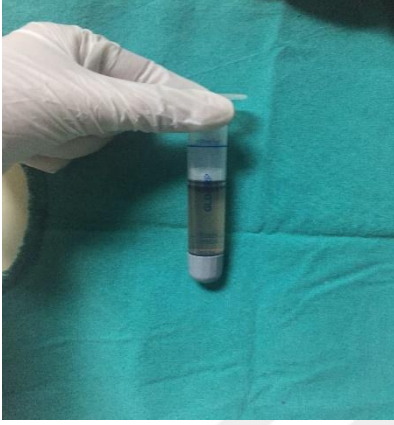
Çalışmamızda 4. gruptaki ratlara TGF- β enjekte etmeden PRP enjeksiyonu yaparak sadece PRP'nin penil dokudaki fibrozis üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçlamaktayız.



Resim-5 ve 6: Midpenil bölgede tunika albugineaya yapılan enjeksiyonlar.

PRP için ratlardan intrakardiyak olarak 2-3 cc kan alındı (Toplam 10cc), alınan kanlar hemen 10 cclik özel PRP kiti (GLO-PRP kit, Finlandiya) içerisine konuldu (Resim-7).

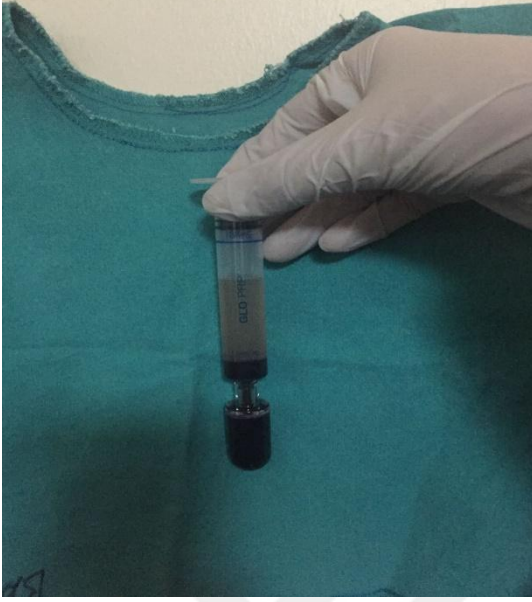
Ardından PRP kitine uygun santrifüj cihazı içinde (GLO-GT426, Finlandiya) (Resim-8)1500 rpm (250g) de 10 dk süre ile santrifüje edildi ve süpernatan kısmı 3000 rpm (1000g) de 10 dk süreyle santrifüje edildi. Tüpün altında kalan süpernatan PRP olarak kullanıldı (Resim-9).



Resim-7: GLO-PRP kiti ile ilk santrifüj sonrası plazma ve süpernatatın ayrılmış görüntüsü



Resim-8: GLO-GT426 PRP santrifüj cihazı



Resim-9: İkinci santrifüj sonrası kitin alt kısmında kullanıma hazır olan PRP

Çalışmada 45. günde ratların midpenil dokularının sakrifiye edilmesini takiben 120 mg/kg (normal dozun 3 katı) intraperitoneal sodyum pentotal kullanılarak ratlar sakrifiye edildi.

Tüm ratların midpenil dokuları ilk enjeksiyondan 45 gün sonra eksize edildi. (Resim-10 ve 11) Penis shaftının orta bölümünden alınan doku 1 gece %10 luk formalin ile fixe edildi, sonrasında %70 lik alkol ile +4 °C yıkanacak ve parafin ile muamele edilip 5 mikronluk kesitler ile inceleme yapıldı. Kavernozal doku, fibrozisin gösterilmesi amacı ile Hematoxilen & Eosin (Sigma-Aldrich®), Kollajen /düz kas oranının gösterilmesi amacı ile masson trikrom boyası(Sigma-Aldrich®) ile boyandı. Kollajen oranının değerlendirilmesi amacı ile Picro-sirius kırmızısı (Polysciences, Inc.®) ile boyandı ve kollajen tip III/ tip I oranı incelendi (57, 58). Her 4 grup arasındaki değişiklikler deneyimli patolog tarafından değerlendirildi. Fibrozis derecesi patolog T.Ç. tarafından 1= az, 2=orta, 3=orta-yoğun, 4= yoğun olarak derecelendirilerek belirtildi.



Resim-10 ve 11: Ratların midpenil dokuları eksize edildi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 20.0 istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu One sample Kolmogorov-Smirnov testi ile araştırıldı. Değişkenler ortalama ve standart deviasyon ($\text{Ort} \pm \text{SD}$) ile gösterildi. İstatistiksel analiz için Kruskal-Wallis ve ki-kare testi kullanıldı. Kruskal-Wallis testi sonucu anlamlı bulunan gruplar için ikişerli post-hoc karşılaştırmalar Mann Whitney U testi kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ değeri kabul edildi.

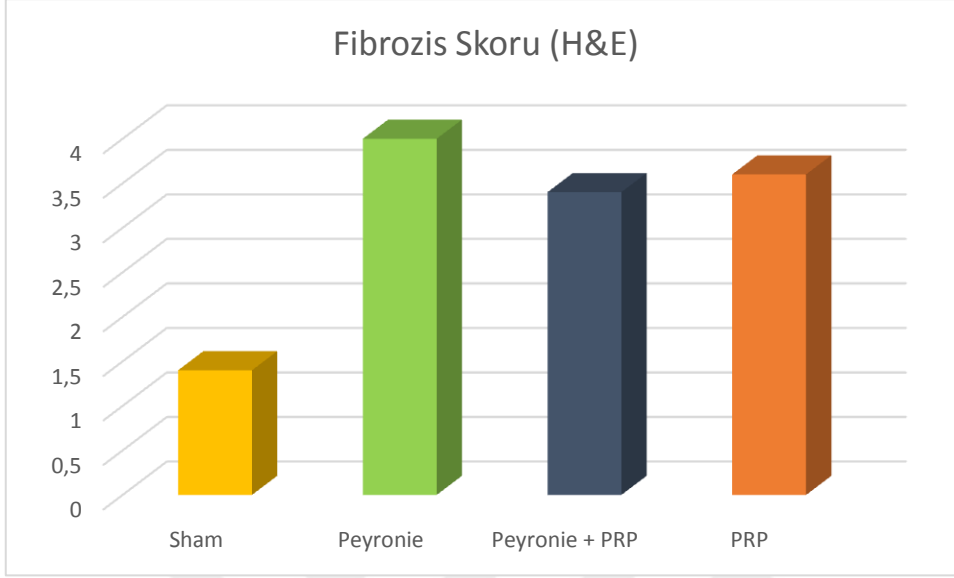
BULGULAR

Yapılan patolojik incelemeler sonucunda H&E boyama ile fibrozis skoru sham grubunda ortalama $1,4 \pm 0,55$ iken, Peyronie grubunda 4, Peyronie + PRP grubunda $3,4 \pm 0,55$ ve PRP grubunda ise $3,6 \pm 0,55$ olarak değerlendirildi (Tablo-4). Sham grubu ile karşılaştırıldığında diğer 3 grupta fibrozis istatistiksel olarak daha yoğun görüldü ($p < 0,0001$) (Resim-12). Diğer gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p = 0,122$) (Şekil-1).

Tablo-4: H&E boyama ile değerlendirilen fibrozis skorları

	Sham	Peyronie	Peyronie+PRP	PRP	p
Hafif	5	0	0	0	<0,0001
Orta	0	0	3	2	
Şiddetli	0	5	2	3	

Ki-kare test



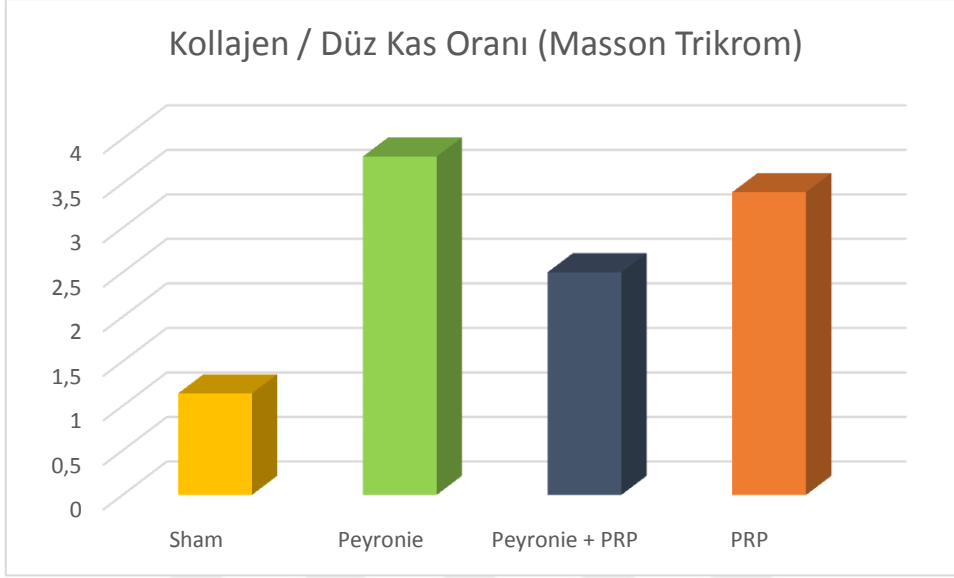
Şekil-1: Fibrosis skoru grafiği.

Masson trikrom boyama ile değerlendirilen kollajen / düz kas oranı incelemesinde kollajen lifleri mavi renkte boyanırken, düz kas lifleri kırmızı boyanmaktaydı. Kollajen / düz kas oranları sırası ile sham grubunda $1,14 \pm 0,13$, Peyronie grubunda $3,8 \pm 0,45$, Peyronie + PRP grubunda $2,5 \pm 0,5$ ve PRP grubunda $3,4 \pm 0,55$ 'ti (Tablo-5). Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,001$) (Resim-13). Sham grubu dışlandığında diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı (Şekil-2).

Tablo-5: Masson-Trikrom boyama ile kollajen/ düz kas oranları

	Sham	Peyronie	Peyronie+PRP	PRP	p
Kollajen/SM [median(IQR)]	1,2(0,3)	4(0,5)	2,5(1)	3(1)	0,001

Kruskal-Wallis test



Şekil-2: Çalışma gruplarında Kollajen / Düz kas oranları grafiği

Kontrol/Peyronie: $p=0,007$ Mann-Whitney U Test

Kontrol/ Peyronie+PRP: $p=0,008$ Mann-Whitney U Test

Kontrol/PRP: $p=0,008$ Mann-Whitney U Test

Peyronie/Peyronie+PRP: $p=0,012$ Mann-Whitney U Test

Peyronie/PRP: $p=0,221$ Mann-Whitney U Test

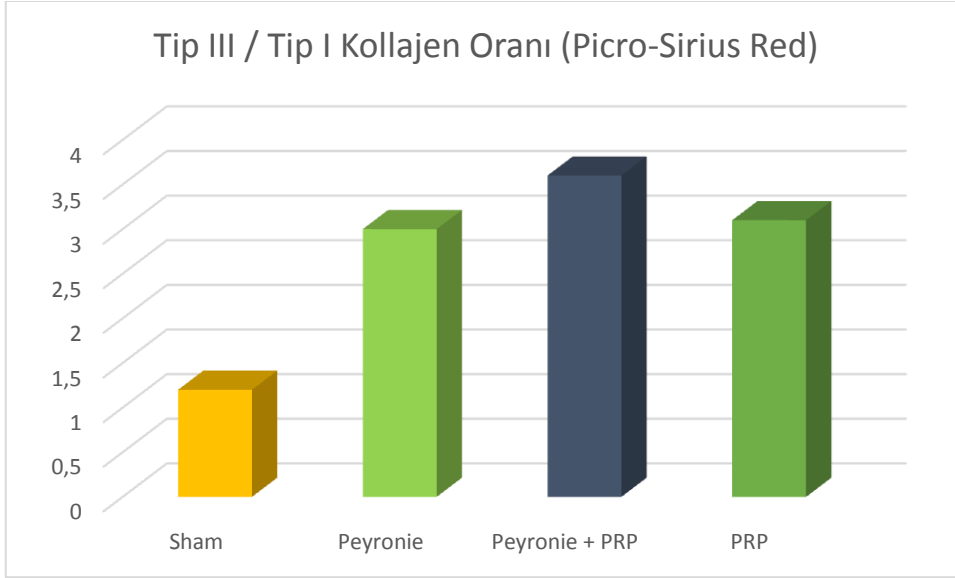
Peyronie+PRP/PRP: $p=0,033$ Mann-Whitney U Test

Picro-Sirius Kırmızısı ile yapılan ve polarize ışık mikroskobu altında yapılan incelemede Tip III kollajen lifleri yeşil renkte görülürken, Tip I kollajen lifleri sarı ve turuncu renkte izlenmektedir. Tip III/ Tip I kollajen oranları sırası ile sham grubunda $1,2±0,45$, Peyronie grubunda 3, Peyronie + PRP grubunda $3,6±0,55$ ve PRP grubunda $3,1±0,55$ 'tir. Gruplara arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p=0,003$) (Tablo-6). Sham grubu dışında diğer grupların birbiri ile karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Şekil-3) (Resim-14).

Tablo-6: Picro-Sirius Kırmızısı boyama ile polarize ışık mikroskobu altında Tip III / Tip I kollajen oranları

	Kontrol	Peyronie	Peyronie+PRP	PRP	p
Kol III/Kol I [median(IQR)]	1(0,5)	3(0)	4(1)	3(0,8)	0,003

Kruskal-Wallis testi, $p=0,003$



Şekil-3: Çalışma gruplarında Tip III / Tip I Kollajen oranı grafiği

Kontrol/Peyronie: $p=0,004$ Mann-Whitney U Test

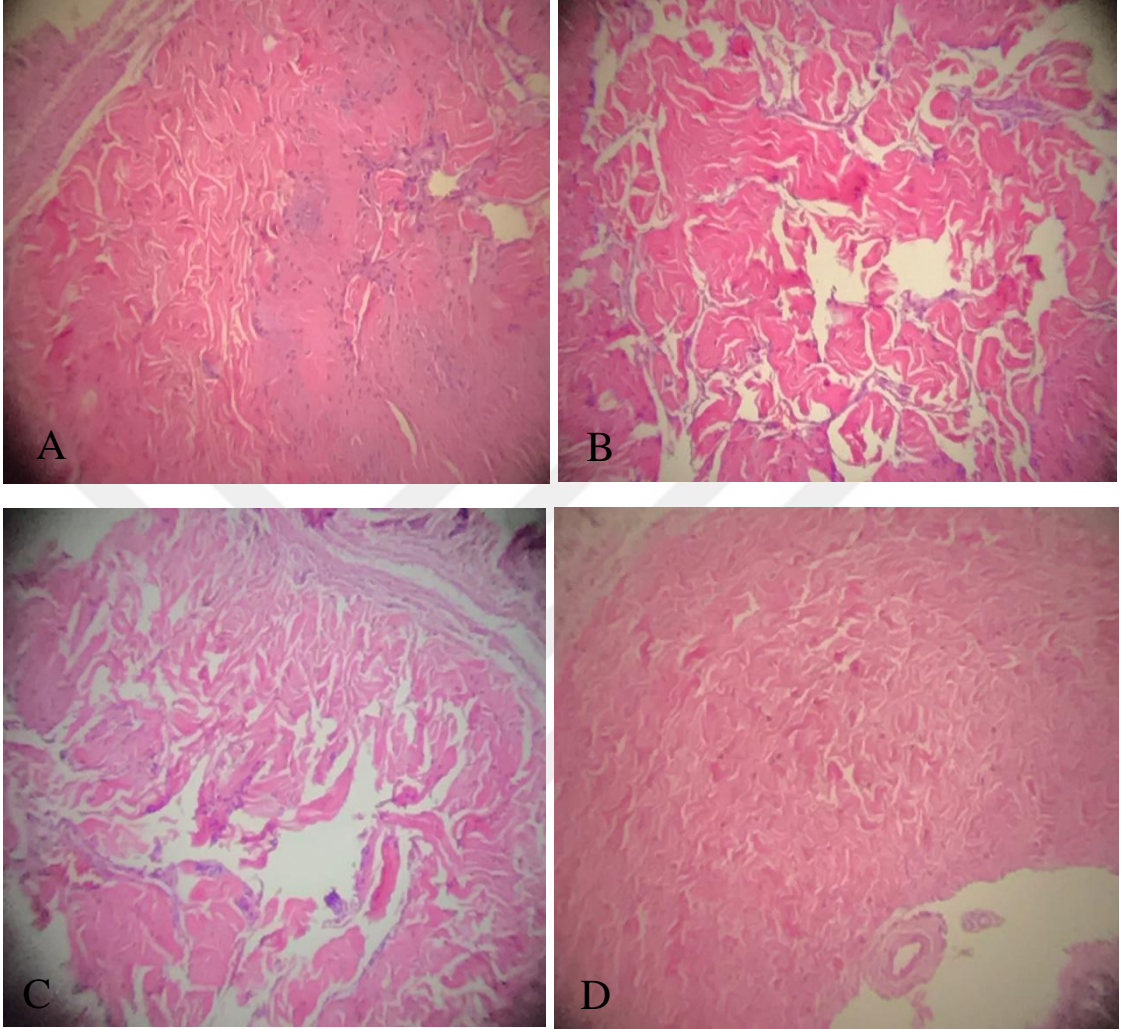
Kontrol/ Peyronie+PRP: $p=0,006$ Mann-Whitney U Test

Kontrol/PRP: $p=0,006$ Mann-Whitney U Test

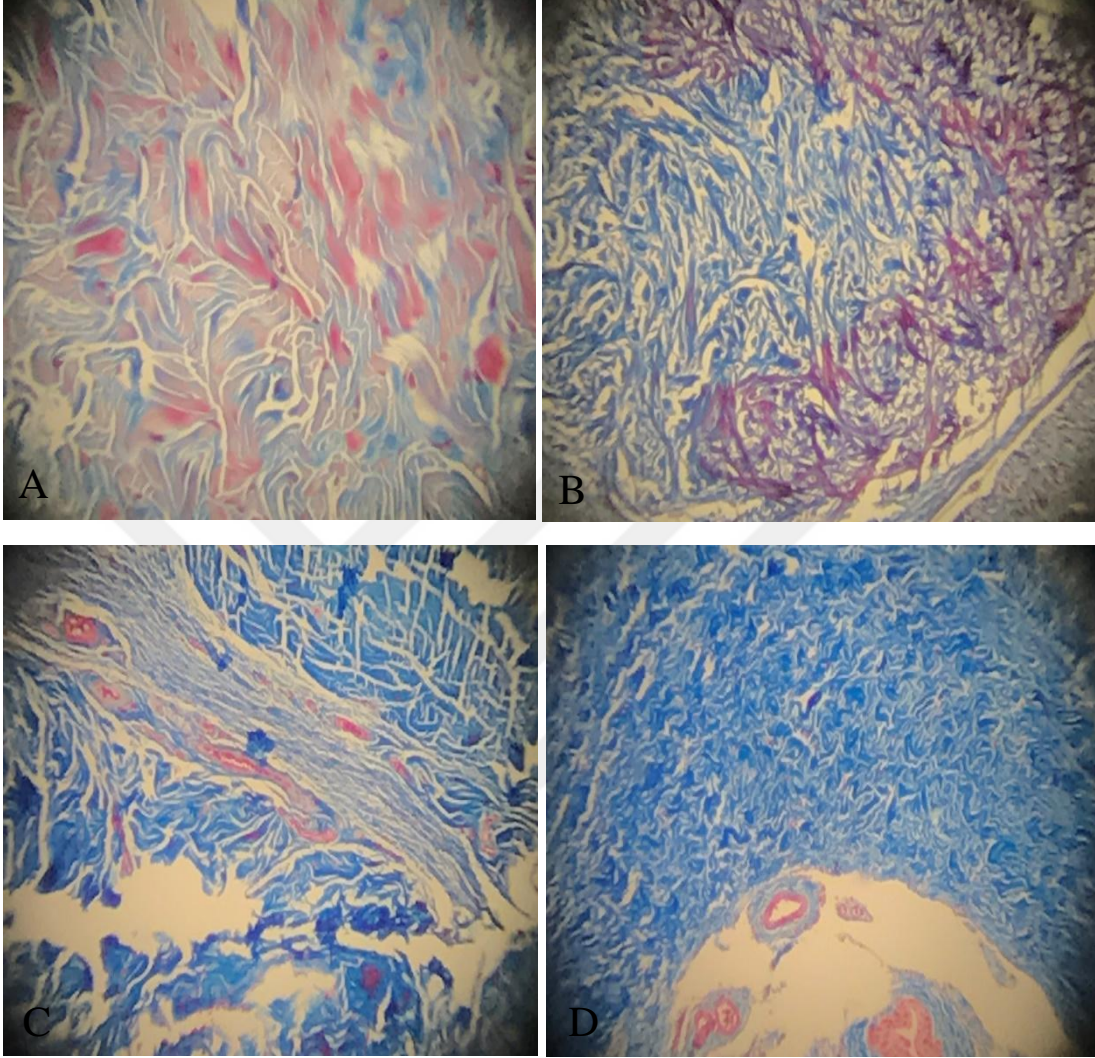
Peyronie/Peyronie+PRP: $p=0,05$ Mann-Whitney U Test

Peyronie/PRP: $p=1,00$ Mann-Whitney U Test

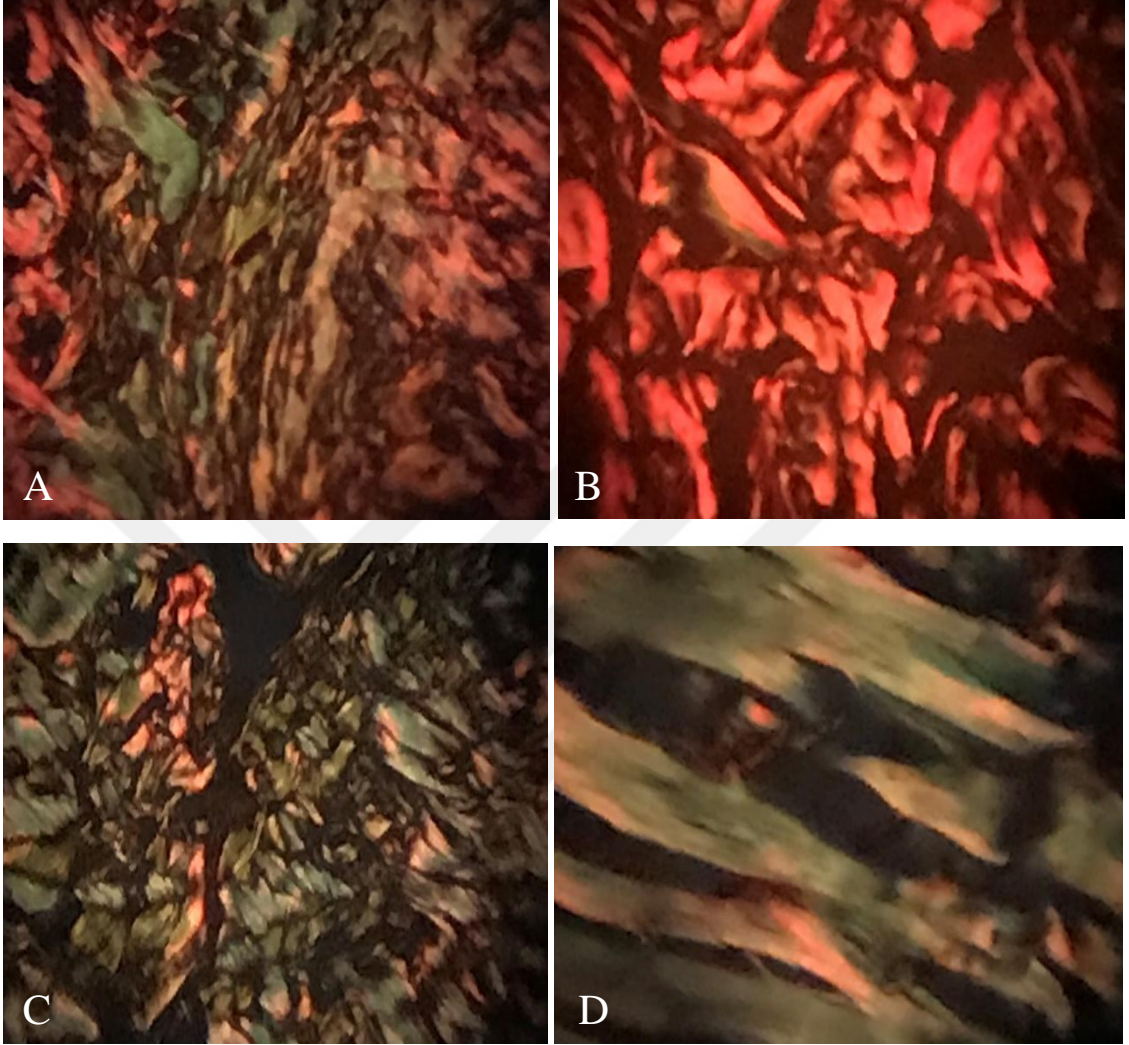
Peyronie+PRP/PRP: $p=0,17$ Mann-Whitney U Test



Resim-12: H&E boyama ile 4 gruptaki fibrozis karşılaştırılması (x10). A. Sham grubu, B. Peyronie grubu, C. Peyronie + PRP grubu, D. PRP grubu



Resim-13: Masson Trikrom boyama ile kollajen / düz kas oranlarının incelenmesi (x10).
A. Sham grubu, B. Peyronie grubu, C. Peyronie + PRP grubu, D. PRP grubu



Resim-14: Polarize ışık altında Picro-sirius kırmızısı ile tip III /tip kollajen oranı incelemesi (x10). A. Sham grubu, B. Peyronie grubu, C. Peyronie + PRP grubu, D. PRP grubu.

TARTIŞMA

Ratların tunika albuginealarına rekombinant olarak enjekte edilen TGF- β 1 ile oluşturulan Peyronie modelinde PRP'nin etkisinin değerlendirdiği çalışmada PRP'nin PH üzerine tedavi edici etkisinin olmadığı görülmüştür. Sadece PRP enjekte edilen grupta incelenen patolojik değerlendirmelerde fibrozis derecesinin ve tip III / tip I kollajen oranlarının TGF- β 1 ile oluşturulan PH modelindeki histolojik bulgularla anlamlı derecede benzerlik göstermesi ise dikkat çekicidir.

Literatürde Peyronie modeli ile ilgili ilk çalışma 1997 yılında El-Sakka ve ark. tarafından yapılmıştır (55). Çalışmada 24 adet Sprague-Dawley cinsi rat TGF- β (n=18) ve normal salin (n=6) enjekte edilmek üzere iki gruba ayrılmıştır. TGF- β enjekte edilen gruptaki ratların enjeksiyon sonrası sırası ile 3. gün, 2. hafta ve 6. haftada midpenil dokuları histopatolojik olarak incelenmiş ve TGF- β enjeksiyonu sonrası en erken 2. hafta sonunda PH ile ilgili değişikliklerin ortaya çıktığı gözlenmiştir. Bu bilginin literatüre girmesinden sonra birçok çalışmada PH modeli oluşturmak için TGF- β kullanılmıştır (56, 57, 59-62).

İn vitro ve in vivo olarak birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen FDA tarafından onaylı bir ajan olan clostridyum kollajenaz enzimi haricinde ruhsatlı bir tedavi yoktur (63). Birçok hayvan çalışmasında verilen tedavilerin Peyronie plakları üzerine anlamlı etkiler görülse de bu tedaviler için yeterli faz II ve faz III çalışmaların olmaması, bu ajanların faydasını net olarak gösterememektedir.

Uzun dönem vardenafil tedavisinin Peyronie modeli üzerindeki etkisinin değerlendirildiği rat çalışmasında 344 erkek Fisher rat 10 gruba ayrılmış ve vardenafilin etkileri incelenmiştir (59). Patolojik incelemelerde TGF- β ile oluşturulan Peyronie

modelinde H&E ile boyamada fibrozis derecesinin tuinkal bölgede oldukça yoğun olduğu izlenmiş ve bu fibrozisin oral vardenafil instilasyonu yapılan ratlarda 42. günde en aza indiği gösterilmiştir. Ayrıca masson trikrom boyama ile yapılan incelemelerde kollajen / düz kas oranının Peyronie modeli grubunda kontrol grubuna göre 4 kat daha yüksek olduğu ve bu oranın da yine geç dönemde oral instilasyon ile vardenafil verilen grupta en aza indiği gösterilmiştir.

Polarize ışık altında incelenen micro-sirius kırmızısı ile boyamada tip III kollajenler yeşil renkte görülmekte ve tip I kollajen ise sarı-turuncu görülmektedir. Tip III/tip I kollajen oranlarının PH modelinde kontrol grubuna göre 2,5-3 kat fazla olduğu izlenmiştir ve vardenafil tedavisinin bu oranı azalttığı gösterilmiştir.

Gökçe ve ark. tarafından adipoz kök hücrenin PH üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada 24 Sprague-Dawley cinsi erkek rat 4 gruba ayrılmıştır (61). PH modeli oluşturularak 30. günde kök hücre tedavisi verilen grupta H&E boyamada ve mason trikrom boyamada PH modeli grubuna göre anlamlı değişiklikler izlenmiştir. Kollajen liflerinin yoğun olarak yerleşmesi ve tunika çevresinde yerleşen fibrozisin artışı PH modelinde görülürken bu bulgular kök hücre ile tedavi edilen grupta azalma göstermiştir.

Özellikle dermatologlar ve ortopedistler tarafından kullanılan PRP, içerisinde barındırdığı büyüme faktörleri nedeni ile yara iyileşmesinde önemli rol oynamaktadır (10). İki aşamada hazırlanan PRP, ilk santrifüjden sonra kalan süpernatanın tekrar santrifüje edilmesi ile oluşmaktadır. PRP'nin uygun koşullarda hazırlanması için değişik santrifüj metotları uygulanmıştır (64). Bu çalışmada PRP kiti önce 1500 rpm 10 dk. santrifüj edildi ardından 3000 rpm- 10 dk. ikinci santrifüj yapıldı ve elde edilen PRP -80 °C'de saklandı. İçeriğindeki büyüme faktörlerinin fazlalığı nedeni ile ilk başta PH üzerine tedavi edici etkisinin beklendiği çalışmada, PRP enjekte edilen grupta PH modeline benzer bulgular elde edilmiştir. Bu durumun PRP'nin içerisindeki bol miktarda TGF- β 'nin etkisi ile olması olası bir senaryodur. Daha önce kas iskelet sistemi ile ilgili yapılan çalışmalarda PRP içeriğindeki yoğun TGF- β nedeni ile dokulardaki fibrozisin hızlandığı bildirilmiştir (65, 66). PRP enjekte edilen 3. ve 4. grupta fibrozisin artmış olması ve kollajen depolanmasının artması bu etki ile açıklanmaktadır.

Bu çalışma literatürde ilk defa PRP'nin rat modelinde PH üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmadır. Dermatoloji, ortopedi, kulak-burun-boğaz- plastik ve rekonstrüktif cerrahi bilim dallarınca yaygın olarak kullanılan PRP'nin androlojide kullanımı ile ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır. Eretil disfonksiyon tedavisinde nöroprotektif etkisi olduğunu gösteren rat çalışmaları mevcuttur (67, 68).

Bu çalışmanın temelini oluşturan PRP'nin PH'de iyileştirici etkisi olabileceği varsayımının çalışmada elde edilen bulgularla desteklenmemesinin dışında; elde edilen histopatolojik bulgular PRP ile TGF- β ile oluşturulan PH modeline benzer deneysel PH modeli oluşturulabileceğini desteklemektedir. Özellikle deneysel çalışmalarda önemli bir sorun olan maliyetin azaltılması açısından PRP uygun bir deneysel PH oluşturma model olabilir. Rekombinant olarak kullanılan TGF- β proteini 5 μ g maliyeti yaklaşık 600 USD'dir. Bu miktardaki TGF- β ile 10 rat PH modeli oluşturulabilir. Ancak maliyeti 40 USD olan PRP kiti ile 30-40 rat için PH modeli yapılabilir. Bu modelin geliştirilmesi için daha ileri araştırmalara ihtiyaç olduğu aşikardır.

Çalışmada bazı kısıtlılıklar mevcuttur. Ratların ereksiyon kapasiteleri intrakavernozal basınç / ortalama arteriyel basınç (ICP/MAP) ölçümü yapılarak değerlendirilmemiştir. Anti TGF- β antijeni ile boyama yapılmamıştır. Fibrozis skoru için kantitatif bir değerlendirme yerine göreceli olarak subjektif sayılabilecek bir skorlama sistemi kullanılmıştır.

SONUÇ

Yaptığımız bu deneysel rat çalışmasında birçok doku ve organda tedavi edici ve rejeneratif özelliğiyle bilinen PRP'nin, rat penisinde PH tedavisinde bir etkinliğinin olmadığı; dahası histopatolojik olarak PH'na benzer etkisi olduğu gözlenmiştir. Özellikle bu açıdan ele alındığında PRP enjeksiyonu; Peyronie hastalığına yönelik deneysel hayvan modeli oluşturmada ucuz ve basit bir yöntem olarak kullanılabilir. Yine de bu modelin geliştirilmesi ve validasyonu için özellikle ultrastrüktürel ve moleküler incelemelerle desteklenen daha ileri histopatolojik bazlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Mulhall JP, Creech SD, Boorjian SA, Ghaly S, Kim ED, Moty A, et al. Subjective and objective analysis of the prevalence of Peyronie's disease in a population of men presenting for prostate cancer screening. *The Journal of urology*. 2004;171(6 Pt 1):2350-3.
2. La Pera G, Pescatori ES, Calabrese M, Boffini A, Colombo F, Andriani E, et al. Peyronie's disease: prevalence and association with cigarette smoking. A multicenter population-based study in men aged 50-69 years. *European urology*. 2001;40(5):525-30.
3. Devine CJ, Jr., Somers KD, Jordan SG, Schlossberg SM. Proposal: trauma as the cause of the Peyronie's lesion. *The Journal of urology*. 1997;157(1):285-90.
4. Border WA, Noble NA. Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. *The New England journal of medicine*. 1994;331(19):1286-92.
5. Diegelmann RF. Cellular and biochemical aspects of normal and abnormal wound healing: an overview. *The Journal of urology*. 1997;157(1):298-302.
6. Mulhall JP, Thom J, Lubrano T, Shankey TV. Basic fibroblast growth factor expression in Peyronie's disease. *The Journal of urology*. 2001;165(2):419-23.
7. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and haemostasis*. 2004;91(1):4-15.
8. Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. *Clinical orthopaedics and related research*. 1998(355 Suppl):S7-21.
9. Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plastic and reconstructive surgery*. 2004;114(6):1502-8.
10. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2004;62(4):489-96.
11. Hall MP, Band PA, Meislin RJ, Jazrawi LM, Cardone DA. Platelet-rich plasma: current concepts and application in sports medicine. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 2009;17(10):602-8.

12. Sanchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *The International journal of oral & maxillofacial implants.* 2003;18(1):93-103.
13. Garg AK. The use of platelet-rich plasma to enhance the success of bone grafts around dental implants. *Dental implantology update.* 2000;11(3):17-21.
14. Pietrzak WS, Eppley BL. Platelet rich plasma: biology and new technology. *The Journal of craniofacial surgery.* 2005;16(6):1043-54.
15. Woodall J, Jr., Tucci M, Mishra A, Asfour A, Benghuzzi H. Cellular effects of platelet rich plasma interleukin1 release from prp treated macrophages. *Biomedical sciences instrumentation.* 2008;44:489-94.
16. Hsu GL, Brock G, von Heyden B, Nunes L, Lue TF, Tanagho EA. The distribution of elastic fibrous elements within the human penis. *British journal of urology.* 1994;73(5):566-71.
17. Brock G, Hsu GL, Nunes L, von Heyden B, Lue TF. The anatomy of the tunica albuginea in the normal penis and Peyronie's disease. *The Journal of urology.* 1997;157(1):276-81.
18. Udelson D, Nehra A, Hatzichristou DG, Azadzi K, Moreland RB, Krane J, et al. Engineering analysis of penile hemodynamic and structural-dynamic relationships: Part I--Clinical implications of penile tissue mechanical properties. *International journal of impotence research.* 1998;10(1):15-24.
19. Goldstein AM, Morrow JW, Meehan JP, Buckley PA, Rogers FA. Special microanatomical features surrounding the intracorpora cavernosa nerves and their probable function during erection. *The Journal of urology.* 1984;132(1):44-6.
20. Dunsmuir WD, Kirby RS. Francois de LaPeyronie (1778-1747): the man and the disease he described. *British journal of urology.* 1996;78(4):613-22.
21. DeMoulin D. In a History of Surgery: With Emphasis on the Netherlands. 1st Edition ed. Boston 1988. 151 p.
22. Lindsay MB, Schain DM, Grambsch P, Benson RC, Beard CM, Kurland LT. The incidence of Peyronie's disease in Rochester, Minnesota, 1950 through 1984. *The Journal of urology.* 1991;146(4):1007-9.

23. Smith BH. Subclinical Peyronie's disease. *American journal of clinical pathology*. 1969;52(4):385-90.
24. Gelbard MK, Dorey F, James K. The natural history of Peyronie's disease. *The Journal of urology*. 1990;144(6):1376-9.
25. Sommer F, Schwarzer U, Wassmer G, Bloch W, Braun M, Klotz T, et al. Epidemiology of Peyronie's disease. *International journal of impotence research*. 2002;14(5):379-83.
26. Herati AS, Pastuszak AW. The Genetic Basis of Peyronie Disease: A Review. *Sexual medicine reviews*. 2016;4(1):85-94.
27. Jarow JP, Lowe FC. Penile trauma: an etiologic factor in Peyronie's disease and erectile dysfunction. *The Journal of urology*. 1997;158(4):1388-90.
28. Tefekli A, Kandirali E, Erol H, Alp T, Koksal T, Kadioglu A. Peyronie's disease in men under age 40: characteristics and outcome. *International journal of impotence research*. 2001;13(1):18-23.
29. Hinman F, Jr. Etiologic factors in Peyronie's disease. *Urologia internationalis*. 1980;35(6):407-13.
30. Devine CJ, Jr., Horton CE. Peyronie's disease. *Clinics in plastic surgery*. 1988;15(3):405-9.
31. Moreland RB, Nehra A. Pathophysiology of Peyronie's disease. *International journal of impotence research*. 2002;14(5):406-10.
32. Zargooshi J. Trauma as the cause of Peyronie's disease: penile fracture as a model of trauma. *The Journal of urology*. 2004;172(1):186-8.
33. Carrieri MP, Serraino D, Palmiotto F, Nucci G, Sasso F. A case-control study on risk factors for Peyronie's disease. *Journal of clinical epidemiology*. 1998;51(6):511-5.
34. Schiavino D, Sasso F, Nucera E, Alcini E, Gulino G, Milani A, et al. Immunologic findings in Peyronie's disease: a controlled study. *Urology*. 1997;50(5):764-8.
35. Ralph DJ, Mirakian R, Pryor JP, Bottazzo GF. The immunological features of Peyronie's disease. *The Journal of urology*. 1996;155(1):159-62.

36. Hauck EW, Hauptmann A, Weidner W, Bein G, Hackstein H. Prospective analysis of HLA classes I and II antigen frequency in patients with Peyronie's disease. *The Journal of urology*. 2003;170(4 Pt 1):1443-6.
37. Ralph DJ, Schwartz G, Moore W, Pryor JP, Ebringer A, Bottazzo GF. The genetic and bacteriological aspects of Peyronie's disease. *The Journal of urology*. 1997;157(1):291-4.
38. Hauck EW, Domann E, Hauptmann A, Weidner W, Chakraborty T, Hossain HM. Prospective analysis of 16S rDNA as a highly sensitive marker for bacterial presence in Peyronie's disease plaques. *The Journal of urology*. 2003;170(5):2053-6.
39. Bowser-Riley S, Bain AD, Noble J, Lamb DW. Chromosome abnormalities in Dupuytren's disease. *Lancet (London, England)*. 1975;2(7948):1282-3.
40. Mulhall JP, Branch J, Lubrano T, Shankey TV. Radiation increases fibrogenic cytokine expression by Peyronie's disease fibroblasts. *The Journal of urology*. 2003;170(1):281-4.
41. Pavone C, D'Amato F, Dispensa N, Torretta F, Magno C. Smoking, diabetes, blood hypertension: possible etiologic role for Peyronie's disease? Analysis in 279 patients with a control group in Sicily. *Archivio italiano di urologia, andrologia : organo ufficiale [di] Societa italiana di ecografia urologica e nefrologica*. 2015;87(1):20-4.
42. Vande Berg JS, Devine CJ, Jr., Horton CE, Somers KD, Wright GL, Jr., Leffell MS, et al. Mechanisms of calcification in Peyronie's disease. *The Journal of urology*. 1982;127(1):52-4.
43. Smith BH. Peyronie's disease. *American journal of clinical pathology*. 1966;45(6):670-8.
44. Gordon JR, Galli SJ. Promotion of mouse fibroblast collagen gene expression by mast cells stimulated via the Fc epsilon RI. Role for mast cell-derived transforming growth factor beta and tumor necrosis factor alpha. *The Journal of experimental medicine*. 1994;180(6):2027-37.
45. Akkus E, Carrier S, Baba K, Hsu GL, Padma-Nathan H, Nunes L, et al. Structural alterations in the tunica albuginea of the penis: impact of Peyronie's disease, ageing and impotence. *British journal of urology*. 1997;79(1):47-53.

46. Chiang PH, Chiang CP, Shen MR, Huang CH, Wang CJ, Huang IY, et al. Study of the changes in collagen of the tunica albuginea in venogenic impotence and Peyronie's disease. *European urology*. 1992;21(1):48-51.
47. Border WA, Ruoslahti E. Transforming growth factor-beta in disease: the dark side of tissue repair. *The Journal of clinical investigation*. 1992;90(1):1-7.
48. Westergren-Thorsson G, Hernnas J, Sarnstrand B, Oldberg A, Heinegard D, Malmstrom A. Altered expression of small proteoglycans, collagen, and transforming growth factor-beta 1 in developing bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *The Journal of clinical investigation*. 1993;92(2):632-7.
49. Griffin XL, Smith CM, Costa ML. The clinical use of platelet-rich plasma in the promotion of bone healing: a systematic review. *Injury*. 2009;40(2):158-62.
50. Virchenko O, Aspenberg P. How can one platelet injection after tendon injury lead to a stronger tendon after 4 weeks? Interplay between early regeneration and mechanical stimulation. *Acta orthopaedica*. 2006;77(5):806-12.
51. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant dentistry*. 2001;10(4):225-8.
52. Bielecki TM, Gazdzik TS, Arendt J, Szczepanski T, Krol W, Wielkoszynski T. Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances: an in vitro study. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 2007;89(3):417-20.
53. Nagae M, Ikeda T, Mikami Y, Hase H, Ozawa H, Matsuda K, et al. Intervertebral disc regeneration using platelet-rich plasma and biodegradable gelatin hydrogel microspheres. *Tissue engineering*. 2007;13(1):147-58.
54. Bivalacqua TJ, Diner EK, Novak TE, Vohra Y, Sikka SC, Champion HC, et al. A rat model of Peyronie's disease associated with a decrease in erectile activity and an increase in inducible nitric oxide synthase protein expression. *The Journal of urology*. 2000;163(6):1992-8.
55. El-Sakka AI, Hassoba HM, Chui RM, Bhatnagar RS, Dahiya R, Lue TF. An animal model of Peyronie's-like condition associated with an increase of transforming

growth factor beta mRNA and protein expression. *The Journal of urology*. 1997;158(6):2284-90.

56. Chung E, Garcia F, Young LD, Solomon M, Brock GB. A comparative study of the efficacy of intralesional verapamil versus normal saline injection in a novel Peyronie disease animal model: assessment of immunohistopathological changes and erectile function outcome. *The Journal of urology*. 2013;189(1):380-4.

57. El-Sakka AI, Hassan MU, Nunes L, Bhatnagar RS, Yen TS, Lue TF. Histological and ultrastructural alterations in an animal model of Peyronie's disease. *British journal of urology*. 1998;81(3):445-52.

58. Piao S, Ryu JK, Shin HY, Zhang L, Song SU, Han JY, et al. Repeated intratunical injection of adenovirus expressing transforming growth factor-beta1 in a rat induces penile curvature with tunical fibrotic plaque: a useful model for the study of Peyronie's disease. *International journal of andrology*. 2008;31(3):346-53.

59. Ferrini MG, Kovanecz I, Nolzco G, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Effects of long-term vardenafil treatment on the development of fibrotic plaques in a rat model of Peyronie's disease. *BJU international*. 2006;97(3):625-33.

60. Davila HH, Ferrini MG, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Fibrin as an inducer of fibrosis in the tunica albuginea of the rat: a new animal model of Peyronie's disease. *BJU international*. 2003;91(9):830-8.

61. Gokce A, Abd Elmageed ZY, Lasker GF, Bouljihad M, Kim H, Trost LW, et al. Adipose tissue-derived stem cell therapy for prevention and treatment of erectile dysfunction in a rat model of Peyronie's disease. *Andrology*. 2014;2(2):244-51.

62. Sohn DW, Bae WJ, Kim HS, Kim SW, Kim SW. The anti-inflammatory and antifibrosis effects of anthocyanin extracted from black soybean on a Peyronie disease rat model. *Urology*. 2014;84(5):1112-6.

63. Lipshultz LI, Goldstein I, Seftel AD, Kaufman GJ, Smith TM, Tursi JP, et al. Clinical efficacy of collagenase *Clostridium histolyticum* in the treatment of Peyronie's disease by subgroup: results from two large, double-blind, randomized, placebo-controlled, phase III studies. *BJU international*. 2015;116(4):650-6.

64. Dhurat R, Sukesh M. Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective. *Journal of cutaneous and aesthetic surgery*. 2014;7(4):189-97.
65. Beye JA, Hart DA, Bray RC, McDougall JJ, Salo PT. Injury-induced changes in mRNA levels differ widely between anterior cruciate ligament and medial collateral ligament. *The American journal of sports medicine*. 2008;36(7):1337-46.
66. Hildebrand KA, Frank CB. Scar formation and ligament healing. *Canadian journal of surgery Journal canadien de chirurgie*. 1998;41(6):425-9.
67. Wu CC, Wu YN, Ho HO, Chen KC, Sheu MT, Chiang HS. The neuroprotective effect of platelet-rich plasma on erectile function in bilateral cavernous nerve injury rat model. *The journal of sexual medicine*. 2012;9(11):2838-48.
68. Ding XG, Li SW, Zheng XM, Hu LQ, Hu WL, Luo Y. The effect of platelet-rich plasma on cavernous nerve regeneration in a rat model. *Asian journal of andrology*. 2009;11(2):215-21.