

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

**PRIAPİZMDE DİPİRİDAMOLÜN İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI
ÜZERİNE OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN OKSİDAN-ANTIOKSİDAN
DENGE AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**THE POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF DIPYRIDAMOLE ON
ISCHEMIC REPERFUSION INJURY OF PRIAPISM IN TERMS OF
EVALUATION OF OXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE**

Uzmanlık Tezi

Dr. Cemil BAYRAKTAR

Trabzon – 2014

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

**PRIAPİZMDE DİPİRİDAMOLÜN İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI
ÜZERİNE OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN OKSİDAN-ANTIOKSİDAN
DENGE AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**THE POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF DIPYRIDAMOLE ON
ISCHEMIC REPERFUSION INJURY OF PRIAPISM IN TERMS OF
EVALUATION OF OXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE**

Uzmanlık Tezi

Dr. Cemil BAYRAKTAR

Tez Danışmanı: Doç.Dr.Ersagun KARAGÜZEL

Trabzon - 2014

ÖZET

Dipiridamol, koroner vazodilatatör olarak piyasaya çıkarılmış, fakat bu bakımdan etkisiz bulunmuş bir ilaçtır. Endotelyal hücrelerde ve trombositlerde reaktif oksijen radikalleri oluşumunu engelleyen antioksidan özelliklere sahiptir.

Çalışmada, iskemik priapizmde dipiridamolün iskemi/reperfüzyon hasarı üzerine olası etkilerini araştırmayı amaçladık. Oluşturulan priapizm modelinde 1 saatlik iskemi ve 30 dakikalık reperfüzyon sonrası kan örnekleri alındı. Ardından sakrifiye edilen ratlarda, penis diseke edilerek histolojik olarak incelendi. Çalışmada ratlar, 1. Grup kontrol grubu, 2. Grup priapizm/reperfüzyon, 3. Grup priapizm/reperfüzyon ve Dipiridamol, 4. Grup priapizm/reperfüzyon ve Dimetilsülfoksid (DMSO) olarak 6'şar ratlık 4 gruba yapıldı. Kontrol grubu hariç tüm gruplara 1 saatlik priapizm yapıldıktan sonra 30 dakikalık süre ile reperfüzyon uygulandı. Dipiridamol grubuna reperfüzyondan 30 dakika önce intraperitoneal dipiridamol uygulandı. DMSO grubuna reperfüzyondan 30 dakika önce DMSO uygulandı. Tüm gruplardan kan örnekleri alındı. TAS, TOS, OSI, IMA, MDA serum değerleri çalışıldı. Penis dokuları diseke edilerek alındı ve histolojik incelemeleri yapıldı.

Çalışmada reperfüzyon öncesi dipiridamol uygulamasının endotelyal hasarı önlemede etkili olmadığı, tunika albugineadaki hasarı azalttığı ancak tamamen ortadan kaldırmadığı sonucuna varıldı. Biyokimyasal parametrelerde yükseliş olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

30 dakika reperfüzyon ile yeniden kanlanma sağlandıktan sonra, penil iskemik ürünlerin sistemik etki gösterememesi ve serumda iskemik parametrelerde anlamlı değişiklikler gözlenememesi; deneysel olarak oluşturulmuş priapizmin bir kompartman sendromu olmasına ve reperfüzyon işleminin süresindeki kısalığa bağlanabilir.

SUMMARY

Dipyridamole is introduced as a coronary vasodilator but it has been found ineffective in this respect. It has antioxidant effects in endothelial cells and platelets and prevents the formation of reactive oxygen species.

In this study, we investigated that the potential effects of dipyridamole on ischemia/reperfusion injury of ischemic priapism. A priapism model created and after a 1-hour ischemia and 30 minute reperfusion, the blood samples were taken. Then the rats were sacrificed and the penis of rats were dissected and examined histologically. In this study rats were divided into 4 groups, each group included of 6 rats. The groups were: Group 1 control group, Group 2 Priapism/reperfusion, Group 3 Priapism/reperfusion + Dipyridamole, Group 4 priapism/reperfusion + DMSO. After 1 hour priapism, 30 minute reperfusion was performed to all groups except the control group. Dipyridamole was applied intraperitoneally 30 minutes before reperfusion to dipyridamol group. DMSO was applied 30 minutes before reperfusion to DMSO group. Blood samples were taken from all groups. TAS, TOS, OSI, IMA, MDA serum levels were measured. Dissected penis tissue were taken and histology were examined.

In this study we found that the dipyridamole application before reperfusion is not effective in preventing endothelial damage. The damage in the tunica albuginea was decreased but did not removed completely. The biochemical parameters were increased but they were not statistically significant.

The lack of systemic effects of ischemic penile products and non-significant changes in serum ischemic parameters after 30 minutes of reperfusion should be connected to that priapism is a sort of compartment syndrome and the shortness time of reperfusion process.

Key words: Priapism, dipyridamole, ischemia/reperfusion

ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Trabzon’ da doğdu. İlk, orta ve yükseköğrenimini Trabzon’ da tamamladı. Pratisyen hekim olarak ilk görev yeri Çaykara’ ya atandı. Ardından vatani görevi için Kayseri’ de bulundu. Vatani görevi sonrası Türk Kızılayı Doğu Karadeniz Bölge Kan Merkezinde çalıştı. 2008 yılında Tıpta Uzmanlık Sınavı sonucu ile Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalında Araştırma görevlisi olarak çalışmaya hak kazandı. Halen bu kurumda görevine devam etmektedir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Penis Anatomisi	3
2.1.1 Penisin Vasküler Anatomisi ve İnnervasyonu	4
2.2. Penisin Histolojisi.....	7
2.3. Ereksiyon Fizyolojisi.....	8
2.4. Priapizmin Fizyopatolojisi	8
2.4.1. Kavernozaal Düz Kas Relaksasyonunda Artışa Yol Açan Mekanizmalar	9
2.4.2. Kavernozaal Düz Kas Kontraksiyonunda Azalmaya Yol Açan Mekanizmalar	11
2.5. İskemi ve Reperfüzyon	13
2.5.1. Mekanizmalar	13
2.6. Dipiridamol.....	21
3. MATERYAL VE METOD.....	23
3.1. Deney Hayvanları.....	23
3.2. Çalışma Grupları	23
3.3. Histopatolojik İnceleme Yöntemi	26
3.4. Biyokimyasal İnceleme Yöntemi.....	27
3.4.1. Serum Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Belirlenmesi.....	27
3.4.2. IMA Ölçümü	28
3.4.3. Toplam Oksidan Kapasitenin Belirlenmesi (TOS).....	29

3.4.4. Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi (TAS)	31
3.5. İstatistiksel İnceleme Yöntemi	33
4. BULGULAR	34
4.1. Histopatolojik İnceleme Sonuçları.....	34
4.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları	38
4.3. İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları.....	40
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
7. KAYNAKLAR	47

KISALTMALAR

AC: Adenilat siklaz
ADA: Adenozin De Aminaz
ADK: Adenozin Kinaz
AMP: Adenozin Mono Fosfat
ATP: Adenozin Tri Fosfat
cAMP: Siklik Adenozin Mono Fosfat
CAT: Katalaz
cGMP: siklik Guanozin Mono Fosfat
CO: Karbonmonoksit
D: Dipiridamol
DMSO: Dimethyl Sulfoxide
DNA: Deoksi RiboNükleik Asid
DTT: Dithiothreitol
eNOS: endotelyal nitrik oksit sentetaz
ENT: Equilibrative nükleotit transporter
ET: Endotelin
G: Guanin
GSHPx: Glutasyon Peroksidaz
GST: glutasyon S-transferaz
GTP: Guanozin Tri Fosfat
H₂O₂: Hidrojen Peroksit
HCl: Hidroklorik Acid
HCL-KCL: O- Dianizidin Dihidroklorür
HO: Hemoksijenaz
HO: Hidroksil radikali
HO1-CO: Hemoksijenaz 1-Karbonmonoksit
IL: İnterlökin
IMA: İskemik Modifiyee Albümin
iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
İR: İskemi Reperfüzyon
KDH: Ksantin Dehidrojenazın
KO: Ksantin Oksidaz
MCP: Monosit Kemoatraktan Protein
MDA : Malondialdehit
MIP: Makrofaj İnflamatuvar Protein
NAD: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NE: Norepinefrin
nNOS: Nöronal nitrik oksit sentetaz
NO₃ : Nitrat
NO-cGMP: nitrik oksit-siklik Guanozin Mono-Fosfat
NOS: Nitrik oksit sentetaz
O₂: Oksijen
O₂˙: Süperoksit serbest radikali
OSI: Oksidatif Stres İndeksi

PAF: Platellet Aktive Faktör
PDE5: fosfodiesteraz tip 5
PEG-ADA: Poly Ethylene Glycol–Modified Adenozin De Aminaz
PGI2: Prostatiklin
PMNL: Polimorf Nüveli Lökositler
PP1: Protein Fosfataz 1
ROO[•]: Peroksil radikali
ROS: Reaktif Oksijen Türleri
SAHH: S-Adenozin-Homosistein Hidrolaz
sGC: Solubl guanilat siklazı
SOD: Süperoksit Dismutaz
TAS: Total Antioksidan Status
TBA: Tiyobarbitürik asit
TBARS: Tiobarbituric Acid Reactive Substance
TNF: Tümör Nekrozis Faktör
TOS: Total Oksidan Status
VCI: Vena Kava Inferior

ŞEKİLLER

	Sayfa No
Şekil 1. Penisin enine kesiti	4
Şekil 2. Penisin arteryel dolaşımı	5
Şekil 3. Dorsal penil arterler, venler, sinirlerin anatomisi	7
Şekil 4. Dipiridamolün kimyasal yapısı.....	21
Şekil 5. Dipiridamolün etki mekanizmasının şematik görünümü.....	22
Şekil 6. Rat penisine konstrüktör bant konularak oluşturulmuş olan priapizm modeli	24
Şekil 7. Rat penisinin diseke edilmiş görünümü	26
Şekil 8. Serum MDA standart grafiği	28
Şekil 9. Serum TOS standart grafiği.....	31
Şekil 10. Serum TAS standart grafiği.....	33
Şekil 11. Kontrol grubu histolojik görünümü.....	35
Şekil 12. Priapizm/Reperfüzyon grubu histolojik görünümü	36
Şekil 13. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO grubu histolojik görünümü	37
Şekil 14. Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol grubu histolojik görünümü	38

TABLÖLAR

	Sayfa No
Tablo 1. Çalışma grupları.....	24
Tablo 2. A2- A1 hesaplaması (TOS).....	30
Tablo 3. A2- A1 hesaplaması (TAS).....	32
Tablo 4. Kontrol grubu histolojik verileri	34
Tablo 5. Priapizm/Reperfüzyon grubu histolojik verileri	35
Tablo 6. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO grubu histopatolojik değerlendirme sonuçları.....	36
Tablo 7. Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol grubu histopatolojik değerlendirme sonuçları	37
Tablo 8. Kontrol grubu biyokimyasal analiz sonuçları	38
Tablo 9. Priapizm/Reperfüzyon grubuna ait biyokimyasal veriler	39
Tablo 10. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO grubuna ait biyokimyasal veriler.....	39
Tablo 11. Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol grubuna ait biyokimyasal veriler.....	40
Tablo 12. Denek gruplarına ait histolojik veriler	40
Tablo 13. Denek gruplarına ait biyokimyasal veriler.....	41

1. GİRİŞ

Priapizm, adını antik Yunan kültüründen, erkeklik ve fertilitenin sembolü olan Priapus tanrısından almıştır. Küçük Asya'da (günümüzdeki Türkiye) olan efsaneye göre, Zeus'un Afrodit'ten olan gayr-i meşru çocuklarına Zeus'un eşi Herakem gözlerini göndermiş ve doğan çocuğun penisi hemen hemen kendi boyu kadar ve sürekli ereksiyondaymış [1].

Priapizm, cinsel uyarana bağlı olan ya da olmayan, tam ya da kısmi ereksiyonun insanda 4 saatten uzun sürmesi durumudur [2]. Düşük akımlı priapizm (iskemik) ve yüksek akımlı (iskemik olmayan) priapizm olmak üzere iki ana türü vardır. Düşük akımlı priapizm tipi daha yaygın olarak görülmektedir. Düşük akımlı priapizmde kavernoza dokularda venöz akımın azalması ve venöz staz sonucu ortaya çıkan hipoksi ve asidozla ilişkili olarak histopatolojik değişiklikler izlenmektedir [3].

Yapılan farklı çalışmalarda akut iskemik olaylar sırasında albuminin metal bağlama kapasitesinin azalarak, iskemik modifiye albumin (IMA) adıyla bilinen metabolik bir varyanta dönüştüğü ve serum düzeyinin arttığı ortaya konmuştur [4].

Priapizmin sonlanması ile birlikte iskemi reperfüzyon (İR) hasarı meydana gelmektedir [5]. Reperfüzyon iskemik dokunun korunması için gerekli olmasına rağmen, reperfüzyonun kendisi İR hasarını meydana getiren patofizyolojik süreci başlatmaktadır. İR hasarı ile birlikte nötrofiller, inflamatuvar sitokinler ve artmış trombojeniteye sahip adhezyon molekülleri aktive olmakta; masif intraselüler Ca salınımı ile serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır [6, 7]. Oksidatif stres hücre membranında tahribat oluşturup kalıcı hücre hasarına yol açarak dokularda yıkıcı etkilere neden olur.

Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin hücre membranında bulunan poliansatüre yağ asitlerini etkilemesi sonucu meydana gelen zincirleme bir reaksiyondur. Bu nedenle oksidatif hasar lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan malondialdehitin (MDA) doku düzeylerinde artmasına neden olur [8, 9].

Antioksidanların plazma konsantrasyonları ayrı ayrı ölçülebilmektedir, ancak bu durum zaman alıcı, yoğun emek gerektiren ve yüksek maliyetli bir iştir. Bu sebeple biyolojik örneklerin antioksidan kapasitesini belirlemek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Plazma antioksidan bileşenlerinin antioksidatif etkisi

olduğu için toplam antioksidan kapasite ölçümü (TAS) plazma antioksidan durumunu yansıtır. Bu nedenle oksidatif metabolizma ve önerilen hastalıklar arasında belirli bir ilişki ararken toplam oksidan kapasitesi (TOS) ve toplam antioksidan kapasitesi (TAS) değerlendirilmesi esastır [10].

Birçok sayıda farklı ilaç ve molekülün İR hasarındaki koruyucu etkileri farklı organ sistemlerinde araştırılmıştır [8, 11-16]. Dipiridamol; siklik guanozin monofosfat (cGMP) bağımlı fosfodiesteraz ve adenozin taşıyıcısı inhibitörü olup, endotelial hücrelerde ve trombositlerde reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu engelleyen antioksidan özelliklere sahiptir [17]. Bu çalışma ile ratlarda deneysel olarak oluşturulan akut iskemik priapizm modelinde serum ve doku MDA düzeyleri ve serum İMA, TAS, TOS, seviyeleri ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) değeriindeki değişiklikler ve uygulanacak olan dipiridamolün iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olan olası koruyucu etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Penis Anatomisi

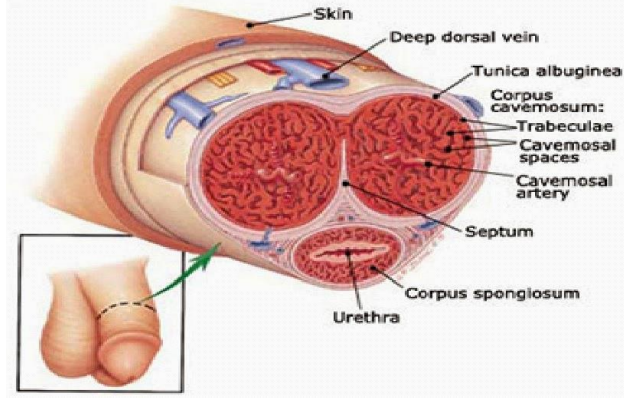
Penis erkeklerde anatomik ve fizyolojik olarak genitoüriner sistemin son parçasıdır. Penis üç kolumnar yapıdan oluşur. Bunlardan iki tanesi daha geniş bir şekilde dorsalde lokalizedir, penis boyunca uzanır ve korpus kavernozum adını alır. Korpus spongiozum adını alan üçüncü kısım ise üretrayı sarar ve distal ucu glans penisi oluşturan yuvarlak yapıdadır [18]. Korpus kavernozumlar pubisin devamında penisin yapısına katılırlar. Bir septum vasıtası ile ayrılmışlardır ve kollajenöz yapıdaki sert tunika albuginea ile sarılıdır. Tunika penise büyük fleksibilite, sertlik ve güç sağlar [19].

Korpus kavernozumların tunikal örtüsü, çok sayıda alt tabakadan oluşan iki yapraklı bir yapıdır. İç yaprağın demetleri kavernoöz dokuyu sarar, destekler ve sirküler düzenlenmiştir. İç yapraktan septuma uzanan intrakavernozal bantlar erektil dokuya asıl desteği sağlayan septumu güçlendirir. Dış yaprağın demetleri longitudinal seyrederek glans penisten proksimal kruraya doğru uzanır ve inferior ramus pubise yapışırlar. Ancak saat 5 ve 7 hizasında yoktur. Korpus sponsiozum ise dış yaprak ve septumdan yoksundur. Böylece ereksiyon sırasında düşük basınçlı bir yapı oluşturur [19].

Korpus penis yumuşakken, tunikanın dış longitudinal ve iç sirküler lifleri ondüle tarzındadır. Ereksiyonda ise sıkıca gergin vaziyettedirler. Bulbusun distalinde korpus spongiozum incelik ve korpus kavernozum önünde seyrederek ve daha sonra glans penisi oluşturur. Korona, glansın tabanını penis shaftından ayırır. Anterior üretra, bulbar ve glanüler segmentlerde (fossa navikularis) dilatedir ve eksternal meatusta en dardır. Buck fasyası dorsalde her iki kavernoöz yapıyı çevreler ve önde spongiosumu çevrelemek için ayrılır. Rektus shaftından gelen elastik ve kollajen lifler, Buck fasyası ile karışarak penisin fundiform ligamenti olarak devam ederler. Pubisten gelen derin lifler penisin suspansuar ligamentini oluşturur. Perinede Buck fasyası tunika albigunea ile distalde ise koronada glansın tabanı ile birleşir [20].

Glans penisin yapısı diğer erektil dokulardan farklıdır. Burada bulunan kavernalar geniş ve kıvrık damara benzer. Bu kavernalar arasında bağ dokusu yoğun

şekilde bulunur. Bununla birlikte kas lifleri de çok az bulunur ve tunika albuginea yoktur. Glansın ucunda üretranın sonlandığı meatus bulunur. Glans “prepisyum” adı verilen çift katlı penis cildi ile örtülüdür (Şekil 1). Prepisyumun ön yüzünde bulunan “frenulum” cildin medial bir plisi olup meatusa tutunur.



Şekil 1. Penisin enine kesiti

2.1.1 Penisin Vasküler Anatomisi ve İnnervasyonu

Penisin Arteriyel Dolaşımı

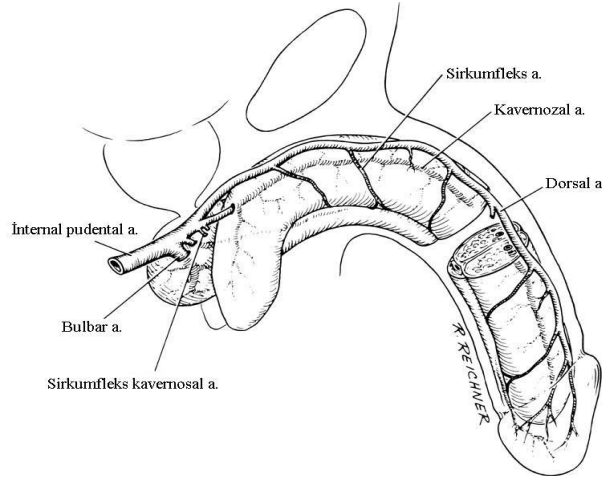
Penis derisinin beslenmesi erektil yapılara bağlı değildir. Femoral damarların eksternal pudental dallarından kanlanır. Bu damarlar penisin tabanından girerek, Dartos fasyasının içinde zengin bir anastomotik yapı oluşturarak longitudinal olarak seyrederek.

Penisin fonksiyonel kısmının beslenmesi, başlıca intenal iliak arterin bir dalı olan internal pudental arter tarafından sağlanır. Sakrospinal ligaman altından ve sakrotuberoz ligamanın üstünden geçtikten sonra perineal ve penil arter dallarına ayrılır. Penil arter Alcock kanalında devam eder ve erektil yapıları beslemek için üç dal halinde sonlanır.

1. Bulboüretal arter: Korpus spongiosumun posterolateral kenarından girmek için perineal membranı penetre eder. Bu arter üretra, spongiosum ve glansı besler.

2. Kavernal arter: Penil hilumda erektil dokunun merkezine yakın bir noktadan korporal yapıyı deler. Kavernal arter kavernal sinüsleri beslemek için düz ve helisin arter dallarını verir.

3. Dorsal arter: Korporal yapıların dorsal yüzeyine ulaşmak için, krus penis ve pubis arasında seyrederek. Dorsal arter, dorsal ven ile dorsal penil sinir arasında seyrederek ve Buck fasyasının altında yer alır. Ayrıca glansa doğru giderken spongiosoz yapıya ve üretraya kavernoöz dalları ve sirkumferensiyel dalları verir [20]. Dorsal arter glans penisin kanlanmasından sorumludur (Şekil 2) [19].



Şekil 2. Penisin arteriyel dolaşımı

Penisin Venöz Dolaşımı

Penisin cilt ve cilt altında multiple venler seyrederek ve penis köküne yaklaşıncaya bu venler birleşerek tek (veya çift) yüzeysel dorsal veni oluşturur. Daha sonra safen venlere dökülür. Nadiren yüzeysel dorsal ven korpus kavernozumların bir bölümünü de drene edebilir [19].

Glansın tabanında, birçok venöz dallar bir araya gelerek penisin derin dorsal venini oluşturur ve bu ven korporal yapıların arasındaki yarıktan seyrettikten sonra pre-prostatik pleksusa drene olur. Sirkumfleks venler spongiosumun içinden köken alırlar ve derin dorsal ven ile buluşmak için korpus kavernozumunun çevresinden dönerler. Bu venler sayıca 3-10 arasında olup yalnızca penil shaftın distal 2/3'lük kısmında bulunurlar. Kavernoöz sinüslerden çıkan intermedier venüller, subtunikal kapiller pleksusa dökülür. Bu subtunikal pleksus ise emisser venleri oluşturur. Emisser venler, tunika albuginea katları arasında oblik olarak seyrettikten sonra sirkumfleks venlere dökülürler. Penisin proksimal 1/3'lük bölümünde ise emisser venler, dorsomedial yüzeyde birleşerek kavernoöz venleri oluştururlar. Genellikle 2-5

adet kavernoöz ven vardır. Penisin hilumunda bu damarlar krura ve bulbustan dallar almak suretiyle her iki yapının arasında seyrederek ve internal pudendal vene dökülür [20]. Penisin cilt ve cilt altının venöz dönüşü, tek veya iki adet superfisiyal dorsal ven ile safen vene olmaktadır. Bu sistem nadiren korpus kavernoözünün drenajına da katkıda bulunur [21].

Penisin Lenfatik Drenajı

Penil cildin lenfatik drenajı superfisiyal inguinal ve subinguinal lenf nodlarına, glans ve distal üretranın lenfatik drenajı subinguinal ve eksternal iliak lenf nodlarına, derin lenfatikler ise hipogastrik ve ana iliak lenf nodlarına drene olur [18].

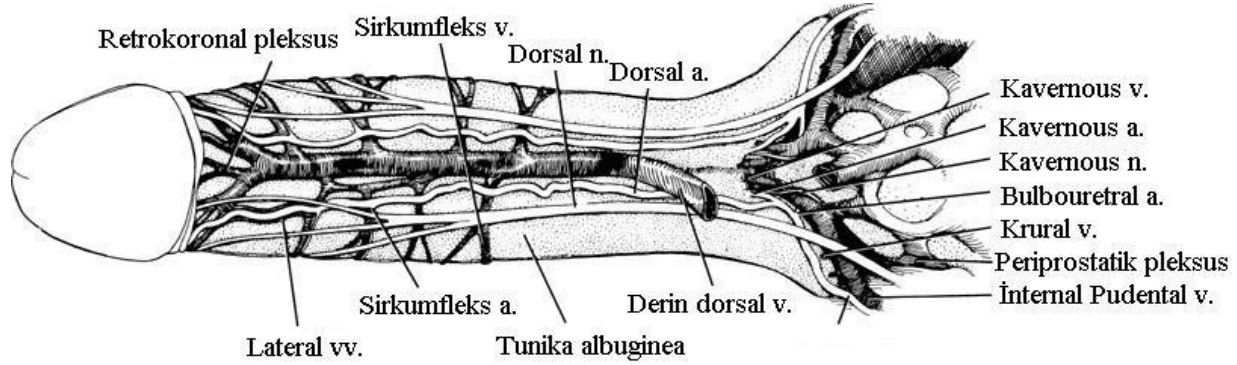
Penisin İnnervasyonu

Penisin innervasyonu iki önemli sinir grubu aracılığı ile olmaktadır. Bunlardan ilki pleksus pudendalis'in dalı olan n.pudendus'tur [22]. S1-S4 medulla spinalis segmentlerinden çıkar. Fossa ischiorectalis'te dış duvarda, fascia obturatoria'nın altında, canalis pudendalis'te (Alcock kanalı) seyrederek ve uç dallarına ayrılır. N.pudendus, pelvis tabanı kaslarına motor dallar verdikten sonra, penisin sulcus dorsalisinde a.dorsalis penis'le birlikte n.dorsalis penis olarak uzanır. N.dorsalis penis glans penis ve penis derisinden duyu alır (Şekil 3).

İnnervasyondan sorumlu diğer sinir n.corporis cavernosi penis major ve minör'dür. Abdominal sempatik zincirden çıkan lifler sırayla pleksus mesentericus inferior (pleksus 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-T₁₂, L₁, L₂ kaynaklı sempatik liflerdir.

Bu pleksusa gelen parasempatik lifler ise S₂-S₄'den çıkan nn.splanchniei pelvici (nn.crigentes veya Eckhardt siniri) aracılığı ile gelir. Ancak bu sinir salt parasempatik olmayıp, sakral sempatik ganglionlardan gelen rami communicantes aracılığı ile sempatik lifler de içermektedir. Bu liflerin bir kısmı pleksus

hypogastricus superior'a kadar çıkararak flexura coli sinistra'nın distalindeki ve pelvis içi organların bir kısmını innerve etmektedir [22].



Şekil 3. Dorsal penil arterler, venler, sinirlerin anatomisi

2.2. Penisin Histolojisi

Penis başlıca üç silindirik erektil doku kitlesi ve üretrayı içermekte olup dıştan deri ile sarılmıştır. Bu silindirlere ikisi penisin korpus kavernozumları olarak adlandırılır ve dorsal olarak yerleşmiştir. Üretranın korpus kavernozumunu ya da korpus spongiozum olarak adlandırılan üçüncü silindirik kitle ventral olarak yerleşmiştir ve üretrayı çevreler. Bu yapı en sonunda genişleyerek glans penisi oluşturur. Penil üretranın büyük bölümü yalancı çok katlı silindirik epitelle döşelidir. Glans peniste bu epitel çok katlı yassı epitele dönüşür. Mukus salgılayan Littre bezleri penil üretra boyunca uzanır.

Prepisyum içinde düz kas lifleri ve bağ dokusu içeren geriye çekilebilir (retraktil) bir deri katlantısıdır. Glansı çevreleyen deride ve katlantı içinde yağ bezleri bulunur.

Korpus kavernozumlar, tunika albuginea denilen ve sıkı bağ dokusundan oluşan dayanıklı bir katman ile örtülüdür. Korpus kavernozumlar erektil dokudan oluşur. Eretil doku, endotel hücreleri ile döşeli ve bağ dokusu lifleri ile düz kas hücrelerinden oluşan trabekülalarla ayrılan çok sayıda venöz boşluklar içerir [23].

2.3. Ereksiyon Fizyolojisi

Penil erekte doku, kavernöz düz kaslar, arteriol ve arter duvarlarının düz kasları erektil süreçte anahtar rol oynar. Flask durumunda düz kaslar kontrakte edilmiştir ve beslenme amacı ile sadece az miktarda arteriyel akıma izin verir. Flask penis orta derecede kontrakte durumdadır [19].

Seksüel uyarı kavernöz sinir terminallerinden nörotransmitterlerin salınımını uyarır ve bu da hem diastolik hem de sistolik fazlarda artmış kan akımıyla arteriyol ve arterlerde genişleme meydana getirir. Genişleyen sinüzoidlere dolan kan sayesinde subtunikal venüller, tunika albuginea ve periferik sinüzoidler arasında sıkışır ve venöz dönüşte azalma meydana gelir. Tunikanın genişleme kapasitesine kadar iç sirküler ve dış longitudinal tabakalar arasındaki emisser venlerde dolaşım daha da azalarak venöz dönüşüm minimuma iner. İntrakavernozal basınçta yükselme (100 mmHg civarında devam ettirilir) sonucu penis erekte duruma geçer. İskiokavernoz adalelerin kasılması ile basınçta daha da yükselme (birkaç yüz mmHg) meydana gelir.

Ereksiyon böylece sinüzoidal gevşeme, arteriyel genişleme ve venöz sıkışmayı içerir. Fakat korpus spongiosum ve glans penisteki hemodinamik olaylar korpus kavernozumlarında meydana gelenlerden biraz daha farklıdır. Ereksiyonda, arteriyel kan akımı aynı şekilde artar; bununla birlikte korpus spongiosum ve glanstaki basınç tunikanın özelliğinden dolayı (korpus spongiosumun üzerindeki ince ve glansta ise mevcut değil) venöz tıkanmanın minimal olması nedeniyle korpus kavernozumlardakinin sadece üçte biri ile yarısı arasındadır [19].

2.4. Priapizmin Fizyopatolojisi

Vücuttaki tüm düz kaslar istirahatte relaksasyon, fonksiyonel durumda kontraksiyon halinde bulunurlar. Bu durumun tek istisnası penistir. Penil düz kaslar istirahat halinde yani günün yaklaşık 23 saatinde kontrakte şekilde bulunurlar. Ancak penisin fonksiyonel olarak aktif hali olan ereksiyonda, düz kaslar relaksasyona uğramaktadırlar. Dolayısıyla peniste gerek tümesans, gerekse de detümesans oluşmasında penis düz kas fonksiyonu etkin rol oynamaktadır. Çeşitli

mekanizmalarla regüle edilen penil düz kas tonusunda kontraksiyona eğilimin artması erektil disfonksiyonla, relaksasyona eğilimin artması priapizmle sonuçlanabilmektedir [24]. Kavernozaal düz kaslarda relaksasyon sağlayan başlıca yolaklar; nitrik oksit-siklik guanozin monofosfat (NO-cGMP) yolağı, adenozin yolağı ve hemoksijenaz 1-karbonmonoksit (HO1-CO) yolağıdır. Kontraksiyonu etkileyen olası mekanizmalar ise; fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) enzim aktivitesi, norepinefrin (NE), endotelin-1 (ET) ve Rho-kinaz cevabıdır. Priapizm etiyopatogenezinde penis düz kas dokusunda kontraksiyonda etkin olan mekanizmalarda azalmış, relaksasyonda etkin olan mekanizmalarda ise artmış bir fonksiyon beklenmektedir [2, 25, 26].

2.4.1. Kavernozaal Düz Kas Relaksasyonunda Artışa Yol Açan Mekanizmalar

NO-cGMP Yolağı:

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

normal düz kas fonksiyonunu sağlayan NO-cGMP yolağının değışen etkinliğinin rol oynayabileceği bildirilmiştir [27].

Adenozin Yolağı:

Adenozin, adenozin trifosfattan (ATP) sentezlenen ve pek çok metabolik olayda etkin olan bir moleküdür. Özellikle hipoksi durumunda, artan oksijen ihtiyacına karşılık bir savunma mekanizması olarak vasküler dokularda kontraksiyon ya da relaksasyon yaparak etkin rol oynamaktır. Dolayısıyla iskemik bir kompartman sendromu olan priapizmde adenozinin de etkin olabileceği bildirilmiştir [28].

Ayrıca hücre içinde adenozin monofosfattan (AMP) da adenozin sentenlenmektedir. Bunu sağlayan da sitokrom 5'-nükleotidaz enzimidir. İntrasellüler ve ekstrasellüler adenozin seviyesi equilibrative nükleotit transporter (ENT) ile dengelenmektedir [28].

Adenozin fizyolojik etkilerini üç farklı reseptör üzerinden gerçekleştirir. Bunlar A₁, A₂, ve A₃ reseptörleridir. A₂ reseptörü G_s proteinine bağlanarak adenilat siklazı (AC) aktive eder. Aktive olan adenilat siklaz sayesinde ATP'den cAMP dönüşümü sağlanır ve sonrasında A₂ reseptörü aracılığı ile düz kasta relaksasyon meydana gelir. A₁ reseptörü G_i ve G_o, A₃ reseptörü ise G_i ve G_q proteinlerine bağlanarak, ATP'den cAMP oluşumunu aktive eden adenilat siklazı inhibe etmekte ve azalan cAMP düz kasta kontraksiyona eğilimi arttırmaktadır [29, 30].

Adenozin fonksiyonunu tamamladıktan sonra hem ekstrasellüler hem de intrasellüler ortamda adenozin deaminaz (ADA) enzimi aracılığıyla inosine, ayrıca intrasellüler adenozin kinaz (ADK) enzimi aracılığıyla AMP'ye ve s-adenozin-homosistein hidrolaz (SAHH) aracılığıyla da adenozin-homosisteine metabolize olmaktadır. Priapizm patofizyolojisinde iskemiye bağlı olarak adenozin sentezinde artış ve/veya yıkımında azalmanın olası etkenlerden biri olabileceği bildirilmektedir. Wen ve arkadaşları deneysel priapizm modellerinde ADA enzim defektine bağlı olarak adenozin seviyesinde artış olduğunu ve artan adenozin seviyesine bağlı olarak da, A_{2B} reseptörlerinin uyarılmasıyla priapizm ortaya çıktığını belirlemişlerdir. ADA enzim defekti olan orak hücre anemili ratlara, polyethylene glycol-modified

adenozin deaminaz (PEG-ADA) uygulanması sonucuda, adenozin seviyesinin azalmasına bağlı olarak priapizm ataklarının engellenebileceği saptanmıştır [28].

HO1-CO Yolağı:

Heme proteini, demir ve protoporfirin-IX kompleksinden oluşan ve canlı hücrelerde çok önemli fonksiyonları olan hemoproteinlerin yapısında yer almaktadır. Başlıca hemoproteinler; oksijen taşınmasında rol alan hemoglobin, oksijen metabolizmasında rol oynayan oksidaz, peroksidaz, katalaz, elektron transportunda rol oynayan sitokromdur [31]. Heme proteini, endotel ve düz kasta bulunan hemoksijenaz (HO) enzimi aracılığı ile yıkılmaktadır. Hemoksijenaz enzimi HO-1, HO-2 ve HO-3 olmak üzere 3 izoformda bulunmakla birlikte insanlardaki en önemli izoform HO-1'dir. Hipoksi, stres ve reaktif oksijen ürünlerinin varlığında HO-1 düzeyi artmakta ve HO-1 heme proteinini yıkarak karbonmonoksit CO, Fe (II) ve biliverdinin açığa çıkmasına neden olmaktadır [31].

Deneyisel priapizm modellerinde artmış HO1-CO etkinliğinin geç dönem priapizmde rol oynayabileceği bildirilmiştir [31]. Jin YC ve arkadaşları özellikle ratlarda oluşturulan deneysel priapizm modellerinin 24 saatlik geç dönemlerinde, kavernoza dokuda HO-1 aktivitesini kontrol grubuna göre altı kat yüksek oranda tespit etmişlerdir [32]. Artmış olan bu HO-1 aktivitesinin de, kavernoza dokuda yüksek oranlarda ortaya çıkarttığı CO'nun, priapizmin geç dönemlerinde etkin olabileceğini bildirmişlerdir [31].

2.4.2. Kavernoza Düz Kas Kontraksiyonunda Azalmaya Yol Açan Mekanizmalar

Konvansiyonel PDE5 Yolunda Disregülasyon:

Penil düz kas relaksasyonu ve dolayısıyla ereksiyonda en etkin rol oynayan cGMP, fosfodiesteraz enzimi (PDE) tarafından hidrolize edilerek inaktif form olan GMP'ye yıkılmaktadır. Vücuttaki pek çok organ doku sisteminde toplam 11 PDE izoenzimi bulunmaktadır. Peniste daha ziyade etkin olan izoenzim PDE5'tir.

Dolayısıyla penil düz kas relaksasyon ve kontraksiyon regülasyonunda cGMP kadar PDE5 enzimi de etkin rol oynamaktadır [33]. PDE5 sentez veya fonksiyonel disregülasyonlarının erektil disfonksiyon veya priapizmde etkin olabileceği bildirilmiştir [34].

PDE5 enziminin fonksiyonel aktivasyonunda, PDE5 enziminin fosforilasyonu önemli rol oynamaktadır. Ayrıca cGMP'nin allosterik bölgeye bağlanmasının, PDE5 katalitik etkinliğini on kat arttırdığı bildirilmiştir [34]. Bunun yanında PDE5 enziminin deaktivasyonu, protein fosfataz 1 (PP1) enzimi tarafından defosforile edilerek ya da caspase 3 enzimi tarafından hidrolize edilerek gerçekleştirilmektedir [34].

Bazal cGMP oluşumu normal sınırlarda olmayan orak hücre anemili hastalarda, orantısız cGMP sentezine bağımlı olarak PDE5'te bir disregülasyon ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla bazal seviyenin üzerinde cGMP salınımına sebep olabilecek, noktürnal penil tūmesans gibi fizyolojik süreçlerde kavernoza dokularda disregüle halde bulunan PDE5 tam etkinlik gösterememekte ve artmış bir vazodilatasyon sonucu uzamış ereksiyon ortaya çıkmaktadır [35].

Azalmış Norepinefrin (NE) Cevabı:

Penil arteryel ve sinüzoidal düz kaslarda kontraksiyon yaparak tūmesansı sonlandıran en önemli mediatör norepinefrindir. Penil arteryel düz kaslarda hem alfa hem de beta adrenerjik lifler ve reseptörler bulunmakla birlikte alfa reseptörlerinin beta reseptörlerinden on kat daha yüksek oranda bulunduğu belirlenmiştir [36]. NE, düz kas hücre zarındaki alfa 1 ve alfa 2 reseptörlerine bağlanarak etkinlik göstermektedir. Alfa 1 reseptörlerin uyarılması ile G-proteine bağılı fosfolipaz C aktivasyonu sağlanmakta ve bu da 1, 4, 5-inositol trifosfat oluşumunu uyararak hücre içi depolardan kalsiyum iyonu salınması sonucu vazokonstrüksiyona sebep olmaktadır. Ayrıca alfa 2 reseptör uyarımı adenilat siklaz enzimini inhibe ederek cAMP oluşumunu azaltarak penil detūmesans oluşumuna katkıda bulunmaktadır [37]. Priapizm patogenezinde uzamış ereksiyona sebep olacak artmış düz kas relaksasyonu yanında detūmesansı sağlayacak kontraksiyon mekanizmalarındaki azalmanın da etkin olabileceği bildirilmektedir. Muneer ve arkadaşları özellikle penil

kavernozal düz kas hücrelerinin uzamış priapizm süresi ile orantılı olarak, NE'ye azalan oranlarda cevap verdiğini belirlemiştir [38].

Endotelin Etkinliği:

Endotelin; endotel hücrelerinden salgılanan vücudun en güçlü vazokonstriktör maddelerinden biri olup, endotelin dönüştürücü enzim tarafından pre-pro ET-1'den sentezlenen 21 aminoasitli bir peptittir. Artmış endotelin seviyesi, düz kas vazokonstriksiyon ve hipertrofisine ayrıca fibrozis ve inflamasyona neden olmaktadır. Endotelin guanin nükleotid bağlayıcı (G) proteine bağlanan endotelin A (ETA) ve endotelin B (ETB) olmak üzere iki farklı reseptör üzerinden etkinlik göstermektedir. Bu iki reseptörün yerleşim yerleri ve endotelin peptidleri bağlama afiniteleri farklıdır. ETA reseptörleri esasen damar düz kas hücrelerinde bulunup vazokonstriksiyonu uyarmaktadırlar. Bu vazokonstriktör cevap G-proteine bağlı fosfolipaz C aktivasyonu aracılığıyla 1,4,5-inositol trifosfat oluşumu ve ardından hücre içi depolardan kalsiyum iyonu serbestleşmesi ile meydana gelmektedir. ETB reseptörleri ise endotelial hücrelerde bulunur ve NO, prostasiklin (PGI₂) üretimini artırmak yoluyla vazodilatasyona ve antiproliferatif etkilere yol açar [39-41].

Normal organ sistemlerinde ET-1, ETA reseptörleri üzerinden vazokonstriktör etki meydana getirmektedir. Ancak hipoksi gibi patolojik durumlarda ET-1 bir savunma mekanizması rolü üstlenerek, ETB reseptörü üzerinden vazodilatasyon ortaya çıkartmaktadır. Priapik kavernozal düz kaslar da oluşan iskemi neticesinde ET-1'in ETB reseptörler üzerinden düz kas relaksasyonu yapması, ereksiyonun uzamasında etkin olmaktadır [42].

2.5. İskemi ve Reperfüzyon

2.5.1. Mekanizmalar

Arteryel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu bu doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi, hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin

birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır [43]. İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Ancak iskemik dokunun reperfüzyonu, dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar [43, 44]. Reperfüzyon döneminde gözlenen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücresel yapılar; zar lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir [43, 45].

İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve adenozin 5'-trifosfat ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır [46]. Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na^+ - K^+ - ATP_{az} pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içinde Na^+ ve Ca^{2+} iyon konsantrasyonları artar [43, 46]. Hücre içinde Ca^{+2} iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir [43, 47]. Nitekim yine bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin ve lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar. İskemi döneminde ATP üretimi durduğu halde kullanımı devam ettiği için ATP'den AMP ve adenozin oluşur. Adenozin, hızla hücre dışına difüze olur ve inozin ve hipoksantine parçalanır. Dolayısıyla, iskemi sonucu yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin (ATP) yıkımı, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne yol açar. Normal şartlarda hipoksantin ürik asite metabolize olur ve bu reaksiyonda elektron alıcı NAD^+ (nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu) dir. Ancak hipoksi ya da iskemi nedeniyle KDH, KO'ya dönüştüğünden hipoksantin ürik asite dönüşümü KO tarafından gerçekleşir ve bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır [43, 48].

Normal şartlarda:

KDH (NAD⁺ 'yi kullanarak)

Hipoksantin →→→→→→→→→→ Ksantin ve ürik asit

İskemide:

ATP →→→→ parçalanır →→→→ AMP ve Adenozin

Adenozin hücre dışına geçer→→→→→ inozin ve hipoksantin

AMP →→→→ Hipoksantin

KDH →→→→ KO

Reperfüzyon ile:

KO (O₂'i kullanarak)

Hipoksantin →→→→→→→→→ Ksantin + O₂

KO

Ksantin + 2O₂ + H₂O →→→→→ Ürik asit + O₂ + H₂O₂

İR hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık olan hücrel ve humoral olaylar serisidir.

Özellikle serbest oksijen radikalleri, polimorf nüveli lökositler (PMNL), kompleman sistemi, endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasındadır [43, 49, 50].

Serbest Oksijen Radikalleri

Yapılarında tek sayıda elektron içeren, açık elektron kabuğu konfigürasyonuna sahip atom veya moleküller serbest radikallerdir [51, 52]. Biyolojik serbest radikaller oldukça dayanıksız ve aynı zamanda reaktif moleküller olup, elektronları hücredeki diğer moleküllerle etkileşime girerek oksidatif stres (hasar) meydana getirirler. Serbest radikaller normal hücrel katabolizma sırasında oluşabildiği gibi, çeşitli dış etkenler aracılığı ile de meydana gelebilir. Oksidatif stres, organizmadaki pro-oksidan ve anti-oksidan dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır [52, 53].

Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikallerin endojen kaynakları oksijen molekülü, NO, uyarılmış nötrofil, mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, peroksizom ve plazma membranı olarak sayılabilir. Solunan oksijenin %95'inden fazlası mitokondrilerde ATP şeklinde enerji oluşumunda kullanılırken, yaklaşık %5'i de son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron içeren ve bu özellikleri nedeniyle de toksik serbest radikallere dönüşmektedir [43, 54].

Serbest radikaller oldukça reaktif moleküller olup, birçok biyomolekül ile reaksiyona girerek çeşitli bileşikler oluştururlar. Bu bileşikler çoğu kez toksik özellikler taşımaktadırlar [55]. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar [56].

Her ne kadar serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da; serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır [56, 57].

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve yapılarının bozulmasına neden olurlar. Biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen türleri (ROS), süperoksit anyonu (O_2^{-2}), hidroksil radikali ($HO\cdot$), NO, peroksil radikali ($ROO\cdot$), ve radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi serbest radikaller oksidatif stresin en önemli nedenleri arasında yer almaktadır [56, 58].

Serbest radikal zincir reaksiyonları genellikle, moleküllerden hidrojenin uzaklaştırılmasıyla başlar. Lipid peroksidasyonu serbest radikal zincir reaksiyonu için iyi bir örnektir (doymamış yağ asitlerinin hücre membranlarında ve lipoproteinlerdeki oksidasyonu) [56, 59]. Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin hücre membranında bulunan poliansatüre yağ asitlerini etkilemesi sonucu meydana gelen zincirleme bir reaksiyondur. Bu nedenle oksidatif hasar lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan malondialdehitin doku düzeylerinde artmaya neden olur [8, 9].

Yapılan farklı çalışmalarda akut iskemik olaylar sırasında, albuminin metal bağlama kapasitesinin azalarak, IMA adıyla bilinen metabolik bir varyanta dönüştüğü ve serum düzeyinin arttığı ortaya konmuştur [4].

Polimorf Nüveli Lökositler

İR ile lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu meydana gelir [43, 60]. Diğer taraftan PMNL yüksek miktarda SOR üretme kapasitesine de sahiptir.

İR hasarında PMNL'nin rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür [43, 61]. Bunlar: 1) Mikrovasküler oklüzyon 2) SOR salınması 3) Sitotoksik enzim salınması 4) Vasküler permeabilite artışı ve 5) Sitokindir.

Aktif nötrofiller salıverdikleri maddelerle yol açtıkları hasarın yanı sıra, damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları (agregatlar) ve aktif trombositlerle birlikte damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya da neden olurlar [43, 44].

İskemik dokunun reperfüzyonu; arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşmasına ve sıvı filtrasyonunun artmasına, post-kapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur. Reperfüzyonun başlangıç döneminde, mikrosirkülasyonun tüm segmentlerinde aktive edilmiş endotel hücrelerinden fazla miktarda O₂ oluşurken NO oluşumu ise azalır. Süperoksit radikali ile NO arasındaki dengenin bozulması, endotel hücrelerinden platelet aktive edici faktör (PAF), tümör nekrozis faktör alfa (TNF-alfa) gibi inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına ve lökosit-endotel hücre adhezyonuna aracılık eden adhezyon moleküllerinin biyosentezinin artmasına neden olur [43, 62, 63].

Serbest radikallerin oluşumunda ve İR hasarında önemli bir kaynak olan nötrofiller, azurofilik granüllerinde oksidan etkili nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz, elastaz ve miyeloperoksidaz enzimlerini içerir. Bu enzimler oksidan doku hasarında önemli roller üstlenir. Aktive nötrofillerde KO'nun artması ile SOR'un salınması "solunum patlaması" olayını meydana getirir. İskemi sonrası reperfüzyonun başlaması ile birlikte, dokuya sunulan oksijenin yaklaşık %70'i NADPH-bağımlı oksidaz ile süperoksit iyonlarına oksitlenmektedir. Süperoksit iyonu, çoğu kez spontan dismutasyonla hidrojen perokside dönüşür. Hidrojen peroksit ise klorür iyonlarının varlığında miyeloperoksidaz enzimi aracılığı ile hipoklorik aside indirgenir. Hipoklorik asit güçlü bir oksidandır ve birçok

biyolojik molekülle kolayca reaksiyona girebilir. Nötrofillerin aktivasyonu ile nötrofil sekonder granüllerinden salıverilen apolaktoferrin, plazminojen aktivatörü, komplemanı aktive eden enzim ve elastaz, kolajenaz, ve jelatinaz gibi proteolitik enzimler damar endotelinde hasara neden olmaktadır. Proteinazların etkisi ile damar duvarında yapının değişimi ve duvar yapısının gevşemesi ile nötrofillerin dokuya göçü kolaylaşır [43, 64].

Komplemanın Rolü

Kompleman sisteminin aktivasyonu sonunda proinflamatuvar komponentler oluşur. Bunlar C_{3a} , C_{5a} , iC_{3b} ve C_{5b-9} ' dur. C_{3a} ve C_{5a} anaflatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. Lökosit aktivasyonu ve kemotaksisin uyarılmasına ek olarak C_{5a} , makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2, MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein (MCP)-1, TNF-alfa, interlökin-1 (IL-1) ve interlökin-6 (IL-6) üretimini uyarak inflamatuvar yanıtı amplifiye eder [43, 65].

Endotel Hücresinin Rolü

Oksidatif stres endotel hücrelerinin aktivasyonuna ve işlevlerinin bozulmasına neden olur. Endotel hücreleri SOR için potansiyel hedef konumundayken diğer taraftan da SOR üretim kaynağıdır. Endotel, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan ET'yi ve NO'yu üretir. NO arteryel dolaşımında ET'nin vazokonstrüktör etkisini tersine çevirme eğilimindedir. Venlerde ise bunun tersi söz konusudur. İR hasarında endotelin/NO oranı endotelin lehine bozulur. Sonuçta arteryel vazokonstrüksiyon, venlerde vazodilatasyon olur [43, 66].

Nitrik oksitlerin radikal olarak reaktivitesi düşüktür. Ancak metal içeren bileşikler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girerler. Özellikle lipid radikallerle tepkimeye girmesi NO'ya antioksidan bir etki kazandırır. Fizyolojik derişimde üretilen NO'nun aktivitesi, esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO_3^-) oksitlenerek sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksidi ortamdaki temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz enziminin indüksiyonu sırasında NO derişiminin artması ile oksidasyonu da

hızlanır ve çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bu reaktif türler NO'nun dolaylı etkilerinden sorumludur ve hücrel moleküllerin nitrozilasyonuna, nitrasyonuna, nitrozasyonuna yol açarak proteinlerin ve enzimlerin aktivitelerinin sonlanmasına neden olabilirler [43, 67].

Antioksidanların Rolü

Organizmanın pro-oksidan/antioksidan dengesi sağlıklı bir yaşam sürdürebilmek için çok önemlidir. SOR'ların oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere organizmayı koruyan "antioksidan savunma sistemi" dört yolla etki göstermektedir.

1. Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma, yok etme, "süpürücü etki". Antioksidan enzimler, küçük moleküller bu yolla etki gösterirler [43, 54, 68].
2. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya "inaktif şekle dönüştürücü etki". Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler [43, 69].
3. Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobın, seruloplazmin ve mineraller "zincir kırıcı etki" gösterirler [43, 70].
4. Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklinde "onarıcı etki" gösterirler [43, 71].

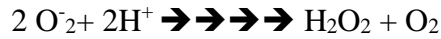
Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirilirler. Hücre dışı savunma; albümin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içermektedir. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidazdır. Bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir [56, 72].

Endojen Antioksidanlar: Enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

1) Enzim Olan Endojen Antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx), glutatyon S-transferaz (GST), katalaz (CAT), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, hidroperoksidaz [73].

Süperoksit dismutaz (SOD) : Süperoksit serbest radikalinin (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir.

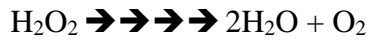
SOD



Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda O_2 üretilmesine rağmen hücre içi düzeyi SOD tarafında düşük tutulur. Ancak, H_2O_2 geçiş metalleri varlığında Fenton ve Haber Weiss reaksiyonu ile son derece aktif OH radikaline dönüşmektedir. Bu durumda CAT ve GSH-Px enzimlerinin aktivitesi artarak H_2O_2 düzeylerini kontrol altına almaktadır [43, 73].

Katalaz: Katalaz esas olarak peroksizomlarda, daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. H_2O_2 'yi oksijen ve suya parçalar. Böylece H_2O_2 'nin OH oluşumunu önlemek için ortadan kalkmasını sağlar [73].

katalaz



2) Enzim Olmayan Antioksidanlar: Melatonin, seruloplazmin, transferin, miyogloblin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, glutatyon, sistein, metiyonin, urat, laktoferrin, albümin.

Eksojen Antioksidanlar:

Vitamin Olan Eksojen Antioksidanlar: Alfa-tokoferol (vitamin E), β -karoten, askorbik asit (vitamin C), folik asit (folat).

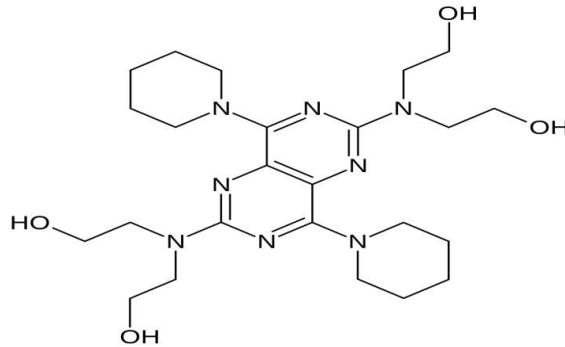
İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar: Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar), rekombinant süperoksit dismutaz, trolox-C (vitamin E analogu).

Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar: GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein

Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar: Mannitol, albümin, demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin), nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler (TNF ve IL-1), barbitüratlar, demir şelatörleri

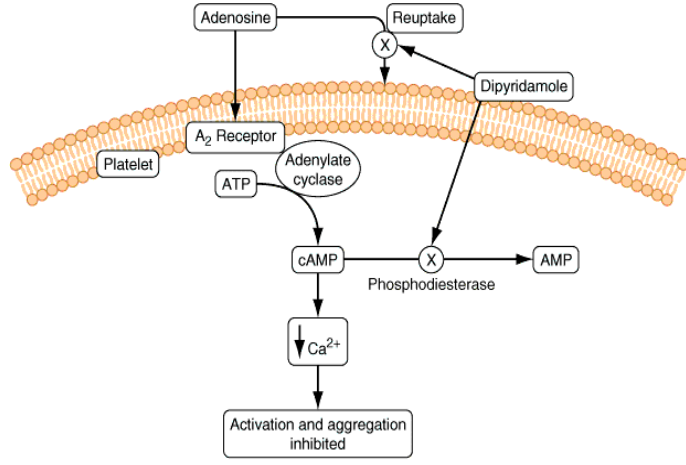
2.6. Dipiridamol

Koroner vazodilatör olarak çıkarılmış, fakat bu bakımdan etkisiz bulunmuş bir ilaçtır (Şekil 4). Trombositlerin adhezyonunu ve agregasyonunu inhibe eder. Bu etkisi, trombositlerde fosfodiesterazı inhibe etmesi sonucu cAMP düzeyini arttırmasına bağlı olabilir. Ayrıca alyuvar ve diğer hücrelerin adenozin uptake'inin dipiridamol tarafından inhibe edilmesi sonucu kanda adenozin etkinliğinin artması ve bu endojen maddenin trombosit adenilat siklazını aktive etmesi de cAMP düzeyinin arttırılmasında rol oynayabilir. Trombositlerin adenilat siklazını aktive eden prostasiklinin antiagregan etkisini potansiyelize eder. Dipiridamol trombositlerin özellikle yabancı yüzeylere yapışmasını önler ve zedelenmiş damar çeperinde yapışmayı önleme bakımından etkilidir. Aspirinle sinerjistik etki gösterir [74].



Şekil 4. Dipiridamolün kimyasal yapısı

Dipiridamol cGMP bağımlı fosfodiesteraz ve adenozin taşıyıcısı inhibitörü olup, endotelial hücrelerde ve trombositlerde reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu engelleyen antioksidan özelliklere sahiptir [17] (Şekil 5).



Şekil 5. Dipiridamolün etki mekanizmasının şematik görünümü

3. MATERYAL VE METOD

Priapizmde, peniste meydana gelen iskemi reperfüzyon hasarında dipiridamolün olası koruyucu etkilerinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesi amaçlanan bu deneysel çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Deney Hayvanları

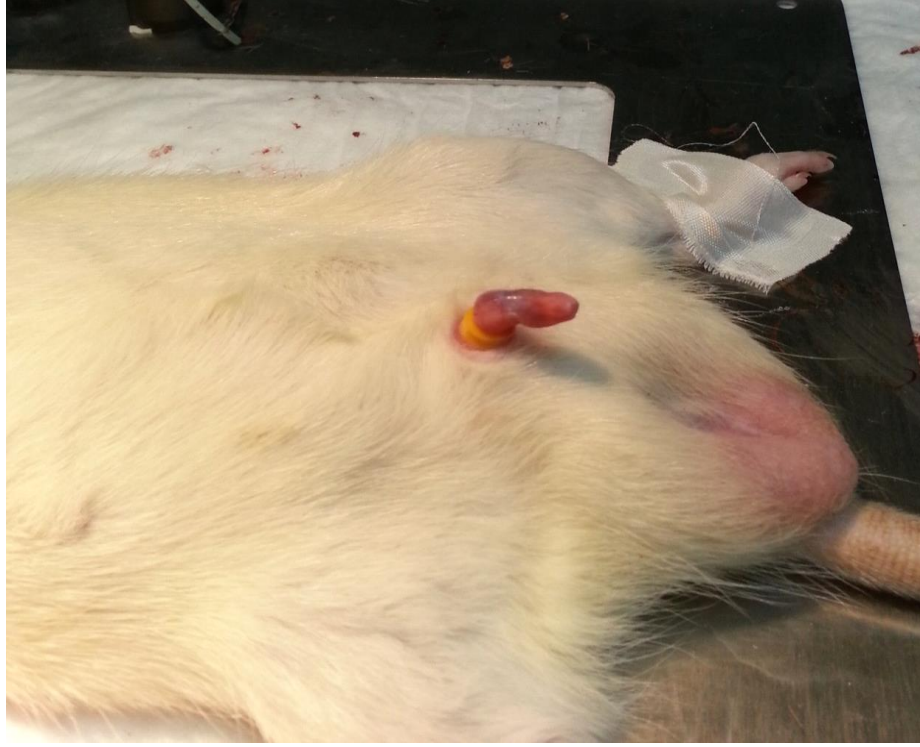
Çalışmada kullanılan Spraque Dawley tipi, ortalama 400-450 gr ağırlığında, toplam 24 adet erişkin erkek rat, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi tarafından temin edilmiştir. Ratlar adaptasyon süreci için bir hafta önce kafeslerine alınarak standart yem ve musluk suyu ile beslenmiştir. Ratlar kendi aralarında numaralandırıldıktan sonra kura çekilerek randomizasyon yapıldı. Randomizasyon yapıldıktan sonra tüm ratlar, 4 rat grubuna (n=6) ayrıldı (Tablo 1).

Tüm gruplar deney süresince standart oda sıcaklığı ($23 \pm 2^\circ\text{C}$), ışıklandırma (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık) ve nem ($50 \pm 10\%$) koşullarında tutuldu.

3.2. Çalışma Grupları

Tüm cerrahi işlemlerde anestezi, 80 mg/kg Ketamin ile birlikte 10 mg/kg Xylazin intraperitoneal verilerek yapıldı. Priapizm modeli daha önce literatürde kullanılmış olan vakum ve konstrüktör bant yöntemi esas alınarak oluşturuldu [2].

Anestezi altındaki ratların flask penis tabanına uygun 50 cc'lik irrigasyon ejektörü yerleştirilip, 20 cc'lik negatif basınç oluşturularak ereksiyon sağlandı ve sonrasında penis proksimaline konstrüktör band yerleştirilerek priapizmle uyumlu klinik oluşturuldu (Şekil 6).



Şekil 6. Rat penisine konstrüktör bant konularak oluşturulmuş olan priapizm modeli

Deneyde kullanılan toz formundaki dipiridamol, 10 mg/ml olacak şekilde DMSO (dimethyl sulfoxide)'da çözülerek elde edildi. Ortalama ağırlıkları 400-450 gr olan ratlara 10 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulandı.

Tablo 1. Çalışma grupları

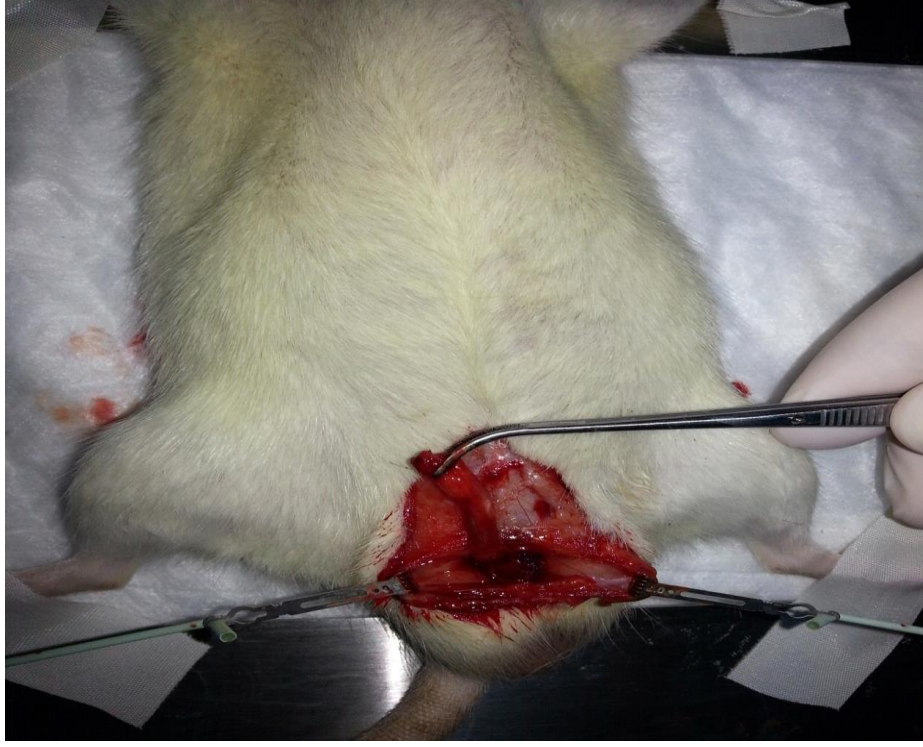
Deney ve kontrol grupları	Hayvan sayısı
Grup 1 (Kontrol grubu)	6
Grup 2 (Priapizm/Reperfüzyon)	6
Grup 3 (Priapizm/Reperfüzyon) + Dipiridamol	6
Grup 4 (Priapizm/Reperfüzyon) + DMSO	6
Toplam	24

Grup 1 (Kontrol grubu): Serum MDA ve serum IMA, TAS, TOS seviyeleri ve OSI değeri tespit edilmek üzere vena kava inferiordan (VCI)' dan 3 ml kan örneği alındı. Takiben penektomi yapılarak penis dokuları histopatolojik inceleme yapılması amacıyla %10'luk formaldehit solüsyonuna konuldu.

Grup 2 (Priapizm/Reperfüzyon): 1 saatlik priapizm sonrası penisteki konstrüktör bant çıkarılarak, penisin yarım saat reperfüzyonu sağlanan grubun serum MDA ve serum IMA, TAS, TOS seviyeleri ve OSI değeri tespit edilmek üzere VCI'dan 3 ml kan örneği alındı. Takiben penektomi yapılarak penis dokuları histopatolojik inceleme yapılması amacıyla %10'luk formaldehit solüsyonuna konuldu.

Grup 3 (Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol): 1 saat süre ile priapizm oluşturulan gruba, reperfüzyon yapılmadan 30 dk önce 10 mg/kg dipiridamol intraperitoneal olarak verildi ve priapizm devam ettirildi. Dipiridamol 10 mg/ml olacak şekilde DMSO içerisinde çözüldü. 1 saatlik priapizm süresi sonrası 30 dk süreyle reperfüzyon sağlanıp hayvanlardan serum MDA, serum IMA, TAS, TOS, seviyeleri ve OSI değeri tespit edilmek üzere VCI'dan 3 ml kan örneği alındı. Takiben penektomi yapılarak penis dokuları histopatolojik inceleme yapılması amacıyla %10'luk formaldehit solüsyonuna konuldu.

Grup 4 (Priapizm/Reperfüzyon + DMSO): 1 saat süre ile priapizm kliniği oluşturulan gruba, reperfüzyon yapılmadan 30 dk önce 1 ml/kg dozunda DMSO intraperitoneal olarak verildi ve priapizm kliniği devam ettirildi. 1 saatlik priapizm süresi sonrası 30 dk süreyle reperfüzyon sağlanıp hayvanlardan serum MDA, serum IMA, TAS, TOS, seviyeleri ve OSI değeri tespit edilmek üzere VCI'dan 3 ml kan örneği alındı. Takiben penektomi yapılarak penis dokuları histopatolojik inceleme yapılması amacıyla %10'luk formaldehit solüsyonuna konuldu (Şekil 7).



Şekil 7 Rat penisinin diseke edilmiş görünümü

3.3. Histopatolojik İnceleme Yöntemi

Histopatolojik incelemeler Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirildi.

Çalışma sonunda tüm gruplara ait ratların penis dokusu çıkarıldı. Penis dokularının yaklaşık aynı kısımlarından alınan doku örnekleri histopatolojik değerlendirme yapılması için %10 luk formaldehit solüsyonu içinde 72 saat tespit edildi. Tespit edilen doku parçaları %70, %90, %96 ve %100'lük dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Daha sonra ksilen solüsyonundan geçirilerek şeffaflaştırıldı. Dokuların parafin blokları hazırlanarak, bloklardan tam otomatik mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler deparafinizasyon işleminden sonra genel histolojik yapının detaylı olarak değerlendirilmesi ve kavernöz yapının daha iyi incelenebilmesi için Trikrom–Masson ile boyandı [75].

Preparatlar bu konuda deneyimli ve gruplardan habersiz bir histolog tarafından değerlendirildi. Değerlendirmede ışık mikroskop (Olympus BX-51; Olympus Optical Co.,Tokyo, Japan) kullanıldı. Genel histolojik yapı değerlendirildi.

Elde edilen patolojik bulgular (Tunika Albuginea açılması, Endotel harabiyeti) yarı kantitatif olarak 0-3 arasında derecelendirildi (0: Hiç yok, 1: Hafif, 2: Orta, 3: Şiddetli). Ayrıca gruplara ait kavernoöz doku sinüzoidal alan ölçümünde ışık mikroskop altında 200X büyütmede Analysis 5 Research program (Olympus Soft Imaging Solutions, Münster, Germany) kullanıldı. Her bir grupta 5 farklı alanda sinüzoidal alan ölçümü yapılarak ortalamaları alındı.

Trikrom- Masson Boyama yöntemi:

Deparafinizasyon işleminden sonra preparatlar Bovin solüsyonunda 56°C de 1 saat etüvde tutuldu. Ardından preparatlar dokuların sarı rengi beyaza dönene kadar suda tutuldu. MAYER Hematoksilende 2 dakika tutulduktan sonra tekrar suda yıkandı. Trikróm kombine boyada 5 dakika bekletildi. Tekrar suda yıkandı ve son olarak alkolden geçirildikten sonra kurutulup kapatıldı.

3.4. Biyokimyasal İnceleme Yöntemi

Biyokimyasal incelemeler Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirildi.

3.4.1. Serum Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Belirlenmesi

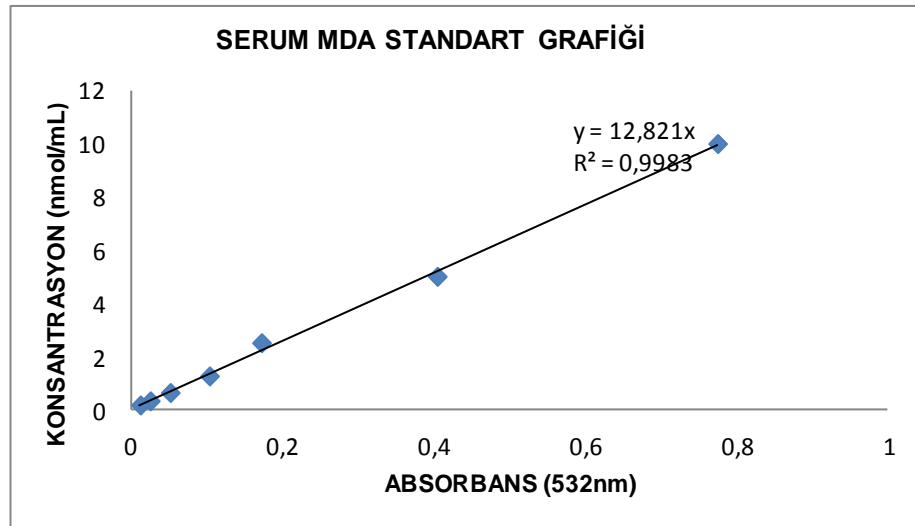
Ratlardan elde edilen serum örnekleri biyokimyasal analizler yapılana kadar -80 C⁰ de saklandı. Serum örneklerinde malondialdehit miktarı Yagi (1984) tarafından geliştirilen TBARS (Tiobarbituric Acid Reactive Substance) metodu kullanılarak tayin edildi [76]. Lipid peroksidasyon ürünü (MDA) ile tiobarbitürik asit (TBA) arasındaki reaksiyon sonucu oluşan kırmızı renk spektrofotometrik olarak ölçüldü. Tiobarbitürik asit ile reaksiyona girerek aynı rengi veren suda çözünür maddeleri uzaklaştırmak için, serum lipidleri proteinle birlikte fosfotungistik asit/sülfirik asit sistemiyle çöktürüldü.

Deneyin yapılışı:

1. Bir deney tüpüne 150 µL serum, 1.2 mL H₂SO₄ ve 150 mL fosfotungistik asit eklendi, iyice karıştırıldıktan sonra 5 dakika bekletildi.
2. Karışım 1500 g'da 10 dk. santrifüj edildi ve üst faz atıldı.

3. Geriye kalan çökelek üzerine 2 mL saf su eklendi ve yeniden çözününceye kadar vortekslendi.
4. Tüpe 500 µL TBA eklendi ve 1 saat 100°C' de inkübe edildi.
5. İnkübasyonun ardından tüpler 1000 g'da 10 dk. santrifüjlendi.
6. Üstteki berrak kısım alınarak 532 nm dalga boyunda absorbanslar okundu.

1 mmol 1,1,3,3-tetrametoksipropan 100 mL 0.01 M HCl içinde 50°C'de 1 saat inkübe edildi ve bu bileşiğin hidrolizi sonucu oluşan MDA çözeltisinden 10, 5, 3, 2,1, 0.5 nmol/mL çalışma standartları hazırlandı. Elde edilen sonuçlarla standart grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanarak serum MDA miktarı nmol MDA/mL olarak belirlendi (Şekil 8).



Şekil 8. Serum MDA standart grafiği

3.4.2. IMA Ölçümü

IMA seviyelerini belirlemek için albumin kobalt bağlama testinden faydalanıldı. Albumine kobaltın azalan bağlanma kapasitesi, Bar-Or ve arkadaşları tarafından geliştirilen hızlı ve kolometrik tayin metoduyla değerlendirildi [77]. 200 L serum numuneleri cam tüplere eklendi ve üzerlerine % 0.1'lik 50 L CoCl₂.6H₂O (Sigma) eklenerek yavaşça karıştırıldıktan sonra yeterli kobalt albumin bağlanması sağlanması amacıyla 10 dakika beklendi. Renklendirici ajan olarak 50 L 1.5

mg/mL'lik dithiothreitol (DTT) (Sigma) eklendi. 2 dakika beklendikten sonra % 0.9'luk NaCl'den 1 mL kobalt ve albumin arasında meydana gelen bağlanmayı durdurmak amacıyla eklenerek reaksiyon durduruldu. Her bir numune için numune körü yapıldı. DTT eklenen aşamada 50 L 1.5 mg/mL'lik DTT yerine 50 L distile su konarak DTT'siz serum kobalt körü hazırlandı. Numune absorbanları spektrofotometrede (Shimadzu, UV1601) 470 nm ölçüldü. DTT'li örneklerdeki renk oluşumu kör tüplerindeki renk oluşumuyla karşılaştırılarak sonuçlar ABSU absorban ünitesi cinsinden rapor edildi.

3.4.3. Toplam Oksidan Kapasitenin Belirlenmesi (TOS)

TOS'u belirleyebilmek için Erel Ö'nün oluşturduğu kolorimetrik metod uygulandı. Bu metodun prensibi, asidik ortamda farklı oksidan türleriyle Fe⁺²'nin Fe⁺³'e yükseltgenmesi ve Fe⁺³'ün ksilenol oranj ile meydana getirdiği renk değişiminin 560 nm' de ölçülmesi esasına dayanır [78].

Kullanılan Çözeltiler:

1. Reaktif I (pH 1,75)

25 mM H₂SO₄ (% 95-97);

138 µL H₂SO₄ alınıp, hacim deiyonize su ile 100 mL ye tamamlandı.

Son konsantrasyonu 150 µM ksilenol oranj, 140 mM NaCl, 1,35 M gliserol olacak şekilde reaktif hazırlandı. 0,0057 g ksilenol oranj, 0,4095 g NaCl 40 ml 25 mM H₂SO₄ de çözüldü, 4,945ml gliserol (gliserin) ile hacim 50 mL'ye tamamlandı.

2. Reaktif II

Son konsantrasyonu 5mM (NH₄)₂Fe(SO₄)₂, 10mM o-dianizidin dihidroklorür olacak şekilde, 0,098g (NH₄)₂Fe(SO₄)₂, 0,1586g o-dianizidin dihidroklorür 25 mM H₂SO₄ ile çözüldü, hacim 50 ml'ye tamamlandı.

3. Standartların hazırlanması

Standartlar 200, 150, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, 1,56 ve 0 µmol H₂O₂ Eq/L olacak şekilde hazırlandı, deiyonize su ile seri dilüsyonlar yapıldı.

Std Hazırlığı: Stok H₂O₂ 17.6 M'dan 100 µL alınıp, son hacim 100 mL'ye tamamlanır. Ara stok: 17.6 mM

17600 µM. x = 100 mL. 200 µM x = 1136µL alınıp 100 mL'ye tamamlanır.

200 µM stok.

150 µM:200 µM . x = 4 mL . 150 µM x = 3 mL 200µM'dan alıp üzerine 1mL dw = 4mL

100 µM :4 mL 200 µM'den alıp 4 mL dw ekle =100 µM

50 µM:4mL 100 µM'den alıp 4 mL dw ekle =50 µM

25 µM 4mL 50 µM'den alıp 4 mL dw ekle =25 µM

12.5 µM 4mL 25 µM'den alıp 4 mL dw ekle =12.5 µM

6.25 µM 4mL 12.5 µM'den alıp 4 mL dw ekle =6.25 µM

3.125 µM 4mL 6.25 µM'den alıp 4 mL dw ekle =3.125 µM

0 4 mL dw

Deneyin yapılışı:

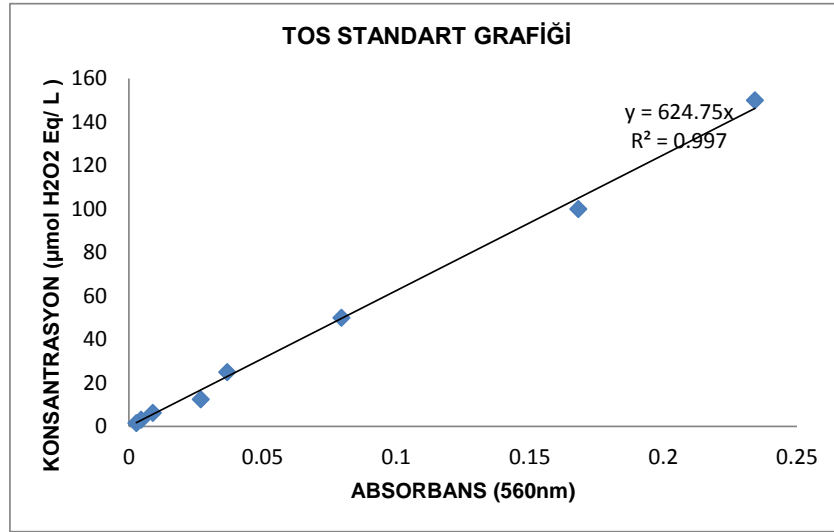
Aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıp 560 nm'de absorbansları okundu. A1 değerleri A2 değerlerinden çıkarılarak bu absorbans değerlerine karşılık gelen konsantrasyon miktarı elde edildi, standart grafik yardımıyla sonuçlar bulundu (Tablo2).

Tablo 2. A2- A1 hesaplaması (TOS)

Reaktifler	Kör (µl)	Standart (µl)	Numune (µl)
Deiyonize su	35	-	-
Standart	-	35	-
Numune	-	-	35
Reaktif I	225	225	225

A1: 560 nm de ilk okuma yapıldı.

Reaktif II	11	11	11
A2: 560 nm de 3. ve 4. dakikalarda ikinci okuma yapıldı.			



Şekil 9. Serum TOS standart grafiği

3.4.4. Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi (TAS)

Bu metodun prensibi fenton reaksiyonu sonucu OH· radikalının üretimi ile başlatılan etkili serbest radikal reaksiyonlarında oluşan renkli dianizidil radikalının 444 nm’de ölçülmesi esasına dayanır [79].

Kullanılan Çözeltiler

1. Reaktif I:

75 mM HCl;

641 µL HCl alınıp hacim deiyonize su ile 100mL ye tamamlandı.

75 mM KCl;

1,1182 g KCl tartılıp, 200 mL deiyonize suda çözüldü.

160 ml KCl ile 40 ml HCl pH 1,8 olacak şekilde karışım elde edildi.

1. Reaktif I: 10 mM o-dianizidin

0,317 g o- dianizidin dihidroklorür 100 ml (HCL-KCL) karışımında çözüldü.

45 µM Fe(NH₄)₂(SO₄)₂. 6 H₂O

0,0017g(1.764mg) Fe(NH₄)₂(SO₄)₂.6H₂O tartıldı, o-dianizidin dihidroklorürlü karışıma eklendi.

2. Reaktif II: 7,5 mM H₂O₂ taze hazırlanacak

64,1µl H₂O₂ alınıp hacim HCl/KCl (1/4) karışımıyla 100 ml'ye tamamlandı.

3. Standartların hazırlanması

2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125, 0.0156 mmol/L konsantrasyonlara sahip troloks standartları hazırlandı.

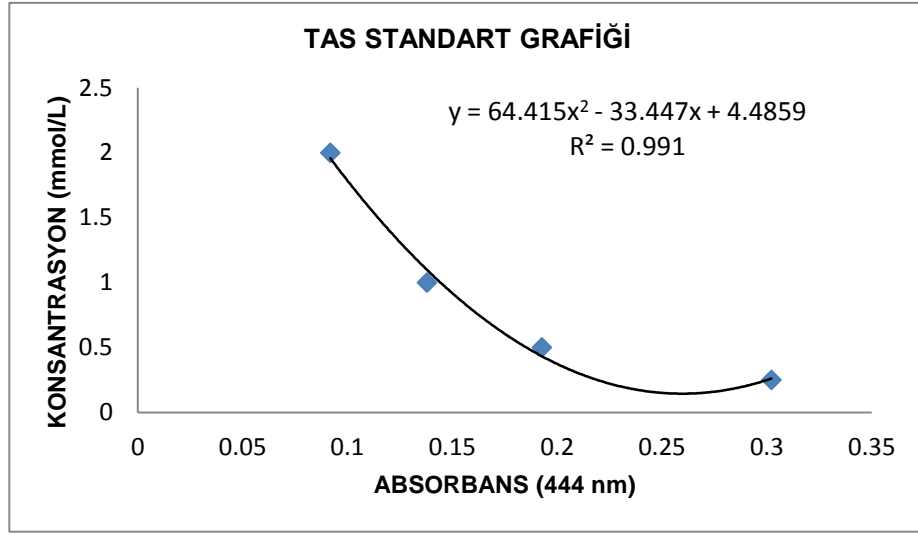
0,012 g troloks 5 ml etanolde çözüldü, hazırlanan stok standarttan pH'sı 7,4 olan fosfat tamponu ile seri dilüsyonlar yapıldı.

Deneyin yapılışı:

Aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıp 444 nm'de absorbansları okundu. A1 değerleri A2 değerlerinden çıkarılarak bu absorbans değerlerine karşılık gelen konsantrasyon miktarı, elde edilen standart grafik yardımıyla hesaplandı.

Tablo 3. A2- A1 hesaplaması (TAS)

Reaktifler	Kör (µl)	Standart (µl)	Numune (µl)	
Deiyonize su	5	-	-	
Standart	-	5	-	
Numune	-	-	5	
Reaktif I	200	200	200	
A1: 444 nm de ilk okuma yapıldı.				A2- A1 hesapl ama
Reaktif II	10	10	10	
A2: 444 nm de 3. ve 4. dakikalarda ikinci okuma yapıldı.				



Şekil 10. Serum TAS standart grafiği

Bu çalışmada TAS düzeyleri için TOS düzeyi yüzde oranı oksidatif stres indeksi (OSI) olarak değerlendirilecektir [80].

3.5. İstatistiksel İnceleme Yöntemi

Grupların karşılaştırılmaları Kruskal Wallis varyans analizi (Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi) ile yapıldı. $P < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmada toplam 24 adet genç erişkin Sprague – Dawley cinsi erkek rat kullanıldı. Deneklerin ağırlıkları ortalama 400 – 450 gr arasında değişmekteydi.

4.1. Histopatolojik İnceleme Sonuçları

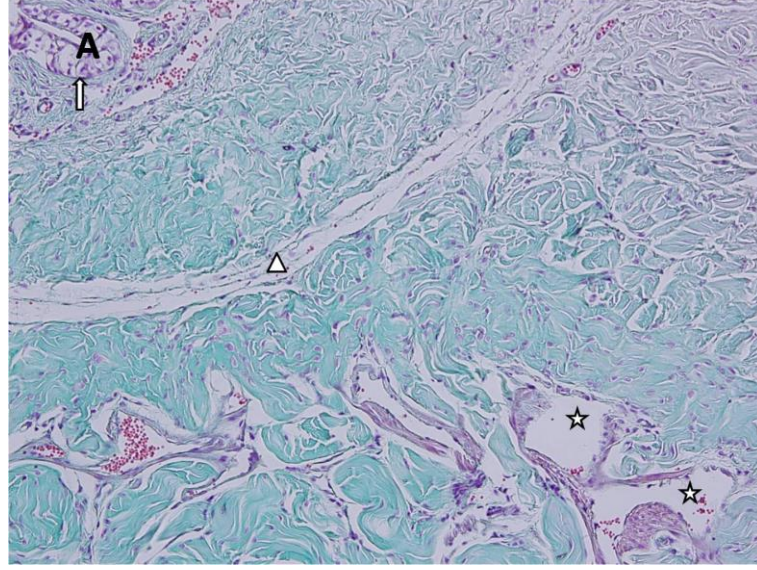
Tüm dokularda değerlendirilen ortak parametreler sinüzoidal alan (μm^2), tunika albugineadaki açılmalar ve sinüzoidal endoteldeki hasar olarak belirlendi. Değerlendirme semikantitatif olarak yapıldı ve bulgular 0-3 arasında derecelendirildi (0: Hiç yok, 1: Hafif, 2: Orta, 3: Şiddetli).

I. Kontrol Grubu:

Kontrol grubunda korpus kavernozum ve korpus spongiozum yapısı normal olarak izlendi. Bu yapıları çevreleyen tunika albuginea ve en dıştan çevreleyen süperfisiyal fasya normal morfolojide izlendi. Vasküler boşluklar ve bunları çevreleyen düz kas tabakası histolojik verileri normal olarak izlendi (Tablo 4, Şekil 11).

Tablo 4. Kontrol grubu histolojik verileri

Gruplar	Sinüzoidal alan (μm^2)	Tunika albugineada açılmalar	Sinüzoid endotelinde harabiyet
Kontrol 1	7088,87	0	0
Kontrol 2	6008,97	1	0
Kontrol 3	5732,38	0	0
Kontrol 4	4597,96	0	0
Kontrol 5	4098,86	1	1
Kontrol 6	6188,33	0	0



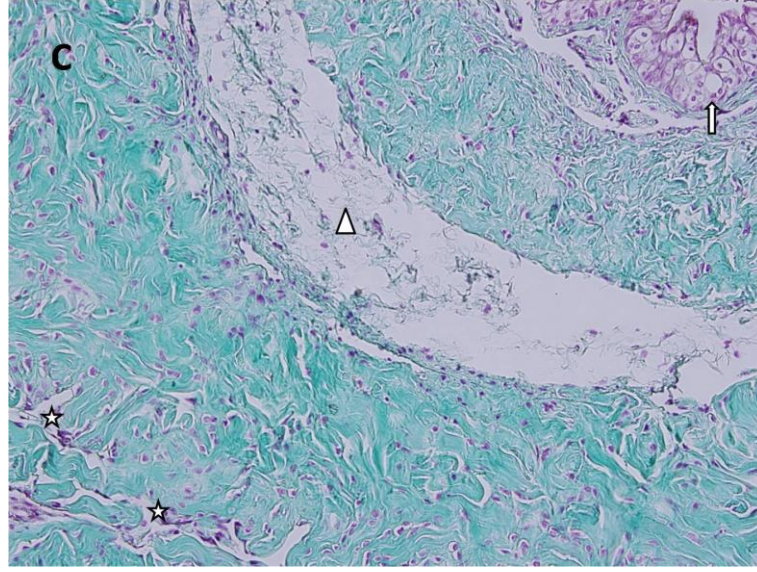
Şekil 11. Kontrol grubu histolojik görünümü

II. Priapizm/Reperfüzyon Grubu:

Priapizm/Reperfüzyon grubunda korpus spongiosumu çevreleyen tunika albugineada açılmalar ve bağ dokusu yapısında düzensizlikler izlendi. Üretra epiteli normal izlendi. Korpus kavernozumda vasküler boşlukları döşeyen endotel hücrelerinde harabiyet izlendi. Sinüzoidal alanlar daralmıştı (Tablo 5, Şekil 12).

Tablo 5. Priapizm/Reperfüzyon grubu histolojik verileri

Gruplar	Sinüzoidal alan (μm^2)	Tunika albugineada açılmalar	Sinüzoid endotelinde harabiyet
Priapizm/Reperfüzyon 1	5029,67	2	2
Priapizm/Reperfüzyon 2	3013,57	3	2
Priapizm/Reperfüzyon 3	3351,39	2	3
Priapizm/Reperfüzyon 4	1992,15	3	3
Priapizm/Reperfüzyon 5	4898,76	3	2
Priapizm/Reperfüzyon 6	3013,57	2	2



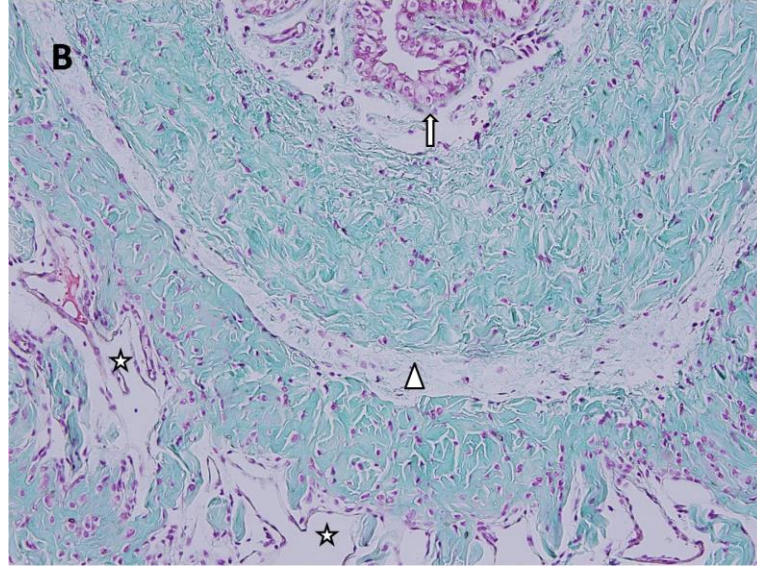
Şekil 12. Priapizm/Reperfüzyon grubu histolojik görünümü

III. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO Grubu:

Priapizm/Reperfüzyon + DMSO grubunda üretra yapısı korpus spongiosum ve kavernoza çevreleyen tunika albuginea normal olarak izlendi. Korpus kavernoza çevreleyen vasküler endotel yapısı normal morfolojideydi (Tablo 6, Şekil 13).

Tablo 6. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO grubu histopatolojik değerlendirme sonuçları

Gruplar	Sinüzoidal alan (μm^2)	Tunika albugineada açılmalar	Sinüzoid endotelinde harabiyet
Priapizm/Reperfüzyon + DMSO 1	4868,37	1	1
Priapizm/Reperfüzyon + DMSO 2	5089,17	1	0
Priapizm/Reperfüzyon + DMSO 3	4798,88	0	0
Priapizm/Reperfüzyon + DMSO 4	5066,19	1	0
Priapizm/Reperfüzyon + DMSO 5	4032,33	1	1
Priapizm/Reperfüzyon + DMSO 6	5898,45	1	1



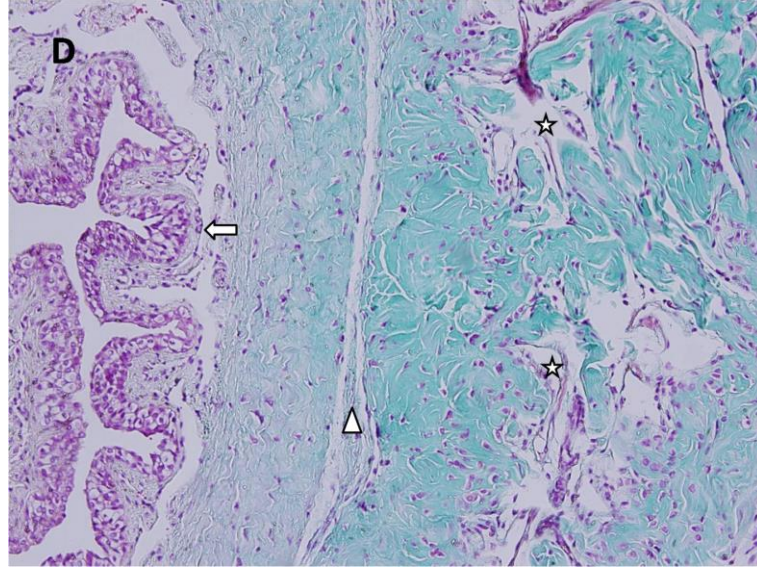
Şekil 13. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO grubu histolojik görünümü

IV. Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol grubu:

Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol grubunda korpus spongiosumu çevreleyen tunika albuginea ve üretra epiteli normal olarak izlendi. Korpus spongiosumda vasküler boşlukları çevreleyen çevreleyen endotel hücrelerinde yer yer harabiyet görülmesine rağmen çoğu alanda normale yakın morfolojide izlendi. (Tablo 7, Şekil 14)

Tablo 7. Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol grubu histopatolojik değerlendirme sonuçları

Gruplar	Sinüzoidal alan (μm^2)	Tunika albugineada açılmalar	Sinüzoid endotelinde harabiyet
Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol 1	4568,97	1	1
Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol 2	4532,10	1	2
Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol 3	3789,21	1	1
Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol 4	4205,12	2	2
Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol 5	4103,23	1	1
Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol 6	4896,33	1	2



Şekil 14. Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol grubu histolojik görünümü

4.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Kontrol grubuna ait biyokimyasal veriler Tablo 8’de gösterilmektedir.

Tablo 8. Kontrol grubu biyokimyasal analiz sonuçları

Gruplar	TAS (mmol/L)	TOS ($\mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{Eq/L}$)	OSI	Serum MDA (nmol/L)	IMA (ABSU/gr)
Kontrol 1	2,537	11,001	0,434	0,366	0,798
Kontrol 2	2,123	11,354	0,536	0,319	0,767
Kontrol 3	2,634	11,245	0,427	0,276	0,688
Kontrol 4	2,364	11,463	0,485	0,240	0,790
Kontrol 5	2,375	14,106	0,594	0,328	0,682
Kontrol 6	2,395	7,166	0,299	0,323	0,714

Priapizm/Reperfüzyon grubuna ait biyokimyasal veriler Tablo 9’da gösterilmektedir.

Tablo 9. Priapizm/Reperfüzyon grubuna ait biyokimyasal veriler

Gruplar	TAS (mmol/L)	TOS ($\mu\text{molH}_2\text{O}_2$ Eq/L)	OSI	Serum MDA (nmol/L)	IMA (ABSU/gr)
Priapizm/Reperfüzyon 1	2,817	14,942	0,530	0,38	0,75
Priapizm/Reperfüzyon 2	3,012	10,755	0,357	0,293	0,748
Priapizm/Reperfüzyon 3	2,862	10,001	0,349	0,5	0,767
Priapizm/Reperfüzyon 4	2,857	9,243	0,324	0,276	0,756
Priapizm/Reperfüzyon 5	2,622	10,051	0,383	0,449	0,75
Priapizm/Reperfüzyon 6	2,678	5,488	0,205	0,421	0,776

Priapizm/Reperfüzyon + DMSO grubuna ait biyokimyasal veriler Tablo 10'da gösterilmektedir.

Tablo 10. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO grubuna ait biyokimyasal veriler

Gruplar	TAS (mmol/L)	TOS ($\mu\text{molH}_2\text{O}_2$Eq/ L)	OSI	Serum MDA (nmol/L)	IMA (ABSU/gr)
Priapizm/Reperfüzyon + DMSO 1	2,509	16,176	0,645	0,333	0,824
Priapizm/Reperfüzyon + DMSO 2	2,841	32,517	1,145	0,36	0,762
Priapizm/Reperfüzyon + DMSO 3	2,69	17,646	0,656	0,33	0,822
Priapizm/Reperfüzyon + DMSO 4	2,897	28,883	0,997	0,201	0,794
Priapizm/Reperfüzyon + DMSO 5	2,639	15,11	0,572	0,455	0,848
Priapizm/Reperfüzyon + DMSO 6	2,913	22	0,755	0,43	0,759

Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol grubuna ait biyokimyasal veriler Tablo 11'de gösterilmektedir.

Tablo 11. Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol grubuna ait biyokimyasal veriler

Gruplar	TAS (mmol/L)	TOS ($\mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{Eq/L}$)	OSI	Serum MDA (nmol/L)	IMA (ABSU/gr)
Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol 1	2,387	19,646	0,823	0,383	0,779
Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol 2	2,755	19	0,69	0,435	0,751
Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol 3	2,433	17,703	0,727	0,47	0,729
Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol 4	2,344	27,265	1,163	0,311	0,648
Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol 5	2,288	20,337	0,889	0,33	0,730
Priapizm/Reperfüzyon + Dipiridamol 6	2,76	12,668	0,459	0,353	0,752

4.3. İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları

Histopatolojik İnceleme Sonuçlarının Karşılaştırılması:

Histopatolojik inceleme sonuçların istatistik karşılaştırılabilmesi için değerlendirilen parametreler (Sinüzoidal alan, Tunika albugineada açılmalar, Sinüzoid endotelinde harabiyet) 0 – 3 arasında skorlandırıldı.

Değerlendirme skorları: 0: normal, 1: Hafif (+), 2: Orta (++), 3: Ağır (+++)

Tablo 12. Denek gruplarına ait histolojik veriler

Gruplar	Kontrol	I/R	DMSO	D	p
Sinüzoidal alan (μm^2)	3550 \pm 1096	4959 \pm 1187	4349 \pm 600,6	3550 \pm 393,9	0,0312
T.albuginea açılması	0,3333 \pm 0,5164	2,5 \pm 0,5477	0,8333 \pm 0,4082	1,167 \pm 0,4082	0,0005
Endotel harabiyeti	0,1667 \pm 0,4082	2,333 \pm 0,5164	0,5 \pm 0,5477	1,5 \pm 0,5477	0,0005

Yapılan çalışmada sinüzoidal alan üzerindeki değişikliklerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Tunika albuginea açılmasının kontrol grubu ve priapizm/reperfüzyon grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiş olup, priapizm/reperfüzyon + dipiridamol ve priapizm/reperfüzyon

grupları arasındaki karşılaştırmada dipiridamolün, tunika albugineadaki açılmayı istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü ($p>0.005$).

Çalışmamızda endotel harabiyeti açısından yapılan değerlendirmede ise kontrol grubu ile priapizm/reperfüzyon grubu arasında anlamlı fark gözlenmiş olup ($p>0.05$), dipiridamol grubu ile priapizm/reperfüzyon grubu arasında değersel olarak fark olsa da bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (Tablo 12).

Biyokimya İnceleme Sonuçlarının Karşılaştırılması:

Yapılan istatistiksel analizlerde serum MDA değeri açısından gruplar arasında iskemi/reperfüzyon grubunda bir artış olduğu tespit edilse de anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Serum IMA düzeyleri dipiridamol verilen grupta priapizm/reperfüzyon grubuna göre azalmış olmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo13).

Tablo 13. Denek gruplarına ait biyokimyasal veriler

Gruplar	Kontrol	I/R	DMSO	Dipiridamol	P
TOS ($\mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{E}$ q/L)	11,06 \pm 2,224	10,08 \pm 3,029	22,06 \pm 7,188	19,44 \pm 4,715	0,0008
TAS (mmol/L)	2,404 \pm 0,1754	2,808 \pm 0,140	2,748 \pm 0,161	2,495 \pm 0,209	0,0075
OSI	0,4625 \pm 0,102	0,358 \pm 0,104	0,795 \pm 0,226	0,7918 \pm 0,233	0,0012
Serum MDA (nmol/L)	0,3087 \pm 0,044	0,3865 \pm 0,088	0,3515 \pm 0,089	0,3803 \pm 0,061	0,2245
IMA (ABSU/gr)	0,7398 \pm 0,051	0,7578 \pm 0,011	0,8015 \pm 0,036	0,7315 \pm 0,044	0,0452

Yapılan istatistiksel analizlerde serum MDA değeri açısından gruplar arasında iskemi/reperfüzyon grubunda bir artış olduğu tespit edilse de anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Serum IMA düzeyleri dipiridamol verilen grupta priapizm/reperfüzyon grubuna göre azalmış olmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı. ($p>0.05$) (Tablo13) .

İR grubunda serum İMA düzeyinde kontrol grubuna göre değersel bir artış izlenmesine rağmen TOS değeri kontrole yakın seviyede izlendi. Dipiridamol verilen grupta, İR grubuna oranla TOS değeri açısından anlamlı bir artış izlendi ($p<0.05$). Kontrol grubu ile İR grubu TAS açısından karşılaştırıldığında İR lehine bir artış olduğu gözlenirken ($p<0.05$), İR grubuna göre dipiridamol grubunda düşüş izlendi ($p>0.05$). OSI değerinde ise kontrol grubu ile İR grubu arasında yakın değerler bulunurken ($p>0.05$), dipiridamol grubunda İR grubuna göre bir artış gözlemlendi ($p<0.05$).

5. TARTIŞMA

İskemik priapizm kas kompartman sendromunun bir analogudur. Tedavi edilmezse veya geç kalınırsa kavernozaal düz kaslarda nekroz, geri dönüşümsüz korporal fibrozis meydana gelir [81].

İskemik priapizm sonrası dokularda olaşabilecek hasarın önlenmesinde en önemli belirleyici faktör iskemi süresi olup, reperfüzyon hasarı ile aralarında doğru orantı vardır [82]. Çeşitli dokularda iskemi reperfüzyonun yol açtığı hasarı inceleyen birçok çalışma mevcuttur [5, 6, 83].

Çalışmamızda, ratlarda deneysel olarak oluşturulan iskemik priapizm modelinde 1 saatlik akut iskemik priapizm tablosu sonrası geri dönüşümsüz hasar oluşmadan önce, dokulardaki erken histolojik ve biyokimyasal değişiklikler ile uygulanacak olan dipiridamolün iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olan olası koruyucu etkilerinin belirlenmesi amaçlandı. Literatür incelendiğinde ratlarda uzamış iskemik priapizm modelinde gelişen fibrozisi engellemek amacıyla kullanılmış ve etkili bulunmuş benzer ilaç çalışması mevcuttur [84].

İskemik priapizmde kavernozaal düz kastaki ultrastrüktürel değişiklikler 12 saat sonra, fokal nekroz 24 saat sonra, son olarak geniş nekroz ve fibroblast benzeri hücrelerin transformasyonu ise 48 saat sonra görülmektedir. Tedavi edilmezse veya tedavide geç kalınırsa (>24 saat) kavernozaal düz kaslarda nekroz, geri dönüşsüz korporal fibrozis ve kalıcı erektil disfonksiyon meydana gelir [85]. Çalışmamızda sinüzoidal alan açısından bakıldığında hem kontrol ile priapizm/reperfüzyon grubu arasında hem de priapizm/reperfüzyon ile dipiridamol grubu arasındaki fark anlamlı bulunmadı. Dolayısıyla çalışmamızda akut evrede sinüzoidal alan değişikliklerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamış olması bu bilgi ışığında açıklanabilir.

Tunika albugineada meydana gelen açılma açısından değerlendirildiğinde kontrol ve priapizm/reperfüzyon grupları arasındaki ve priapizm/reperfüzyon ve dipiridamol grupları arasındaki fark anlamlıydı ($p<0.05$). Bu bulgular, dipiridamolün dokular üzerinde antioksidan etkisinin gösterildiği daha önce yapılmış çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Karagüzel ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada testiküler reperfüzyon öncesi dipiridamol kullanımının, testis iskemi reperfüzyon hasarında uzun

vadeli yaralanmalara karşı potansiyel koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir [86]. İskemi/reperfüzyon hasarını önlemek amacıyla yapılan deneysel çalışmalarda farklı dokularda birçok antioksidan madde kullanılmıştır [87-90]. Taniguchi ve arkadaşları yaptıkları çalışmada dipiridamolün, köpek karaciğerinde iskemi sonrası gelişen reperfüzyon hasarına karşı belirgin hepatoprotektif etki gösterdiğini bildirmişlerdir [91].

Çalışmamızda endotel harabiyeti açısından yapılan değerlendirmede kontrol grubu ile priapizm/reperfüzyon grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi ($p < 0.05$). Dipiridamol grubu ile priapizm/reperfüzyon grubu arasında değerler açısından fark olsa da, bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p > 0.05$). Dolayısıyla priapizmde dipiridamolün reperfüzyon öncesi uygulanmasının endotel harabiyetinin önlenmesi konusunda etkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

Çalışmada iskemi/reperfüzyon hasarında biyokimyasal değişikliklerin saptanması amacıyla serum IMA, MDA, TAS, TOS, OSI düzeyleri araştırılmıştır.

Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin hücre membranında bulunan poliansatüre yağ asitlerini etkilemesi sonucu meydana gelen zincirleme bir reaksiyondur. Bu nedenle oksidatif hasar lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan malondialdehitin (MDA) doku düzeylerinin artmasına neden olur [8, 9]. Benzer şekilde akut iskemik olaylar sırasında albuminin metal bağlama kapasitesinin azalarak, iskemik modifiye albumin (IMA) adıyla bilinen metabolik bir varyanta dönüştüğü ve serum düzeyinin arttığı ortaya konmuştur [4].

Çalışmamızda serum MDA düzeyleri priapizm/reperfüzyon grubunda kontrol grubuna göre artış göstermiş olup ($p > 0.05$), dipiridamol uygulanan gruptaki serum MDA değerinde priapizm/reperfüzyon grubuna göre bir düşüş izlendi. Fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). Serum IMA düzeylerinde ise kontrol grubuna göre priapizm/reperfüzyon grubunda artış ve dipiridamol verilen grupta priapizm/reperfüzyon grubuna göre düşüş izlenmiş olmakla birlikte, bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). Kutlu ve arkadaşlarının yapmış oldukları testis torsiyonu çalışmasında IMA'nın torsiyone gruplarda belirgin artış gösterdiği, hatta bunun gereksiz operasyonları önlemek için bir marker olarak kullanılabileceğini vurgulanmıştır. Fakat IMA'nın akut skrotal ağrı, akut epididimit, akut orşit gibi daha bilinmeyen birçok sebeple de artabileceğinin unutulmaması gerektiğini belirtmişlerdir [92].

Munnarriz ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada, tavşan penisinde deneysel priapizm oluşturularak, kavernöz dokularda meydana gelen histopatolojik ve biyokimyasal değişiklikler araştırılmıştır. Bu çalışmada meydana getirilen 3 saatlik hipoksik dönemi takiben uygulanan reperfüzyon süresi ile orantılı olarak lipid peroksidasyonu ve myeloperoksidaz seviyelerinin arttığı gösterilmiştir [5]. Yulug ve arkadaşlarının çalışmasında rat testisleri 4 saatlik torsiyon sonrası detorsiyone edilmiş ve ratlar 24 saat sonra sakrifiye edilmişlerdir. Serum MDA ve IMA düzeylerinde ise anlamlı artış bildirmişlerdir [93].

Plazma antioksidan bileşenlerinin antioksidatif etkisi olduğu için, TAS plazma antioksidan durumunu yansıtır. Bu nedenle oksidatif metabolizma ve önerilen hastalıklar arasında belirli bir ilişki ararken TOS ve TAS değerlendirilmesi esastır [10]. Sonuçta, oksidatif stres DNA mutasyonları, hücre ölümleri ve hastalıkları gibi hasarlara neden olur. Moleküler, hücresel ve doku düzeyindeki oksidatif hasarın en aza indirilebilmesi için oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir denge sağlanmalıdır [94]. Kısaoğlu ve arkadaşları yayınladıkları derlemelerinde, oksidan/antioksidan dengenin oksidanlar lehine bozulmasının antioksidan sistemlerin aşırı harcanmasına bağlı olarak geliştiğini rapor etmişlerdir [95].

Çalışmamızda tunika albuginea ve endotel harabiyeti parametreleri değerlendirildiğinde iskemik değişiklikler görülmesine rağmen, serum IMA ve MDA ve diğer biyokimyasal parametrelerin (TAS, TOS, OSI) düzeylerinde anlamlı fark bulunamadı. Bir kompartman sendromu analogu olarak kabul edilebilecek olan iskemik priapizmde, yeniden kanlanma ve iskemik doku ürünlerinin sistemik dolaşıma geçip sistemik etki oluşturması için çalışmada kullanılan 30 dakikalık reperfüzyon süresinin kısa bir süre olabileceği fikri ileri sürülebilir.

Çalışmanın sınırlılıkları arasında gerçekleştirilen reperfüzyon süresinin kısa olmuş olması ve oluşturulan iskeminin penil dokudaki etkilerinin histolojik olarak izlenirken biyokimyasal parametreler açısından bu etkinin ortaya konulamamış olması sayılabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışma ile iskemik priapizm modelinde reperfüzyon öncesi dipiridamol uygulamasının; peniste histolojik olarak tunika albuginea üzerinde oluşabilecek hasarı azalttığı ancak ortadan kaldırmadığı, endotelial hasarı önleme konusunda ise etkili olmadığı gösterilmiştir.

Penis korpus kavernosumunda histolojik değişiklikler bulunamaması (sinüzoidal alanda), literatürde 4 saatten kısa süreli priapizm tablolarında sinüzoidal alanda histolojik değişikliklerin ortaya çıkmadığı bulgusuyla uyumludur. 24 ile 48 saatlik süreyi geçen olgularda kavernöz cisimde beslenme bozukluğuna bağlı nekroz ve geri dönüşümsüz fibrozis bulguları görülmektedir [96].

Deneyel olarak oluşturulmuş priapizm bir kompartman sendromu analogu olarak kabul edilebilir. 30 dakika reperfüzyon ile yeniden kanlanma sağlandıktan sonra penil iskemik ürünlerin sistemik etki göstermemesi ve serumda iskemik parametrelerde anlamlı değişiklikler gözlenmemesi, reperfüzyon işleminin süresindeki kısalığa bağlanabilir. Çalışılan biyokimyasal parametrelerde anlamlı değişiklik iskemik penil dokunun daha uzun süre reperfüze edilmesi ile saptanabilir.

İskemik priapizmde meydana gelen iskemi reperfüzyon hasarını engellemek amacıyla yapılacak ileri ve daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Kendirci M, Kadiođlu A and Mirođlu C. The history of male-female sexuality and fertility in Asia Minor:(today's Turkey). 2005: Turkish Society of Andrology. 2005; 173 (6): 1879-188
2. Sanli O et al. TGF- β 1 neutralizing antibodies decrease the fibrotic effects of ischemic priapism. International journal of impotence research. 2004; 16(6): 492-497.
3. Melman A. and Serels S. Priapism. International journal of impotence research, 2000; 12: 133-9.
4. Dominguez-Rodriguez A et al. Association of ischemia-modified albumin and melatonin in patients with ST-elevation myocardial infarction. Atherosclerosis, 2008; 199(1): 73-78.
5. Munarriz R et al. Reperfusion of ischemic corporal tissue: physiologic and biochemical changes in an animal model of ischemic priapism. Urology. 2003; 62(4): 760-764.
6. Cuzzocrea S et al. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. Pharmacological reviews. 2001; 53(1): 135-159.
7. Lysiak J J et al. Ischemia-reperfusion of the murine testis stimulates the expression of proinflammatory cytokines and activation of c-jun N-terminal kinase in a pathway to E-selectin expression. Biology of reproduction. 2003; 69(1): 202-210.
8. Uluocak N et al. An animal model of ischemic priapism and the effects of melatonin on antioxidant enzymes and oxidative injury parameters in rat penis. International urology and nephrology. 2010; 42(4): 889-895.
9. G \ddot{u} neş, \ddot{O} et al. Plevra sıvılarında malondialdehit d \ddot{u} zeyinin tanısal değeri Solunum. 2003; Vol- 5 : 213-219.
10. Aydın M et al. Relationship between total antioxidant capacity and the severity of coronary artery disease. Journal of Clinical & Experimental Investigations/Klinik ve Deneysel Arastirmalar Dergisi. 2012; 3(1).
11. \ddot{U} st \ddot{u} n H et al. Effect of phosphodiesterase 5 inhibitors on apoptosis and nitric oxide synthases in testis torsion: an experimental study. Pediatric surgery international. 2008; 24(2): 205-211.
12. Başıay Ss et al. Verapamil ve alfa-tokoferol \ddot{u} n rat b \ddot{o} breğindeki deneysel reperfüzyon hasarı \ddot{u} zerine karşılaştırmalı etkileri Türk \ddot{U} roloji Dergisi. 2003; 29 (1): 11-15
13. Aksoy H et al. Dehydroepiandrosterone treatment attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion in rats. Journal of pediatric surgery. 2007; 42(10): 1740-1744.
14. Dokmeci D et al. Protective effects of ibuprofen on testicular torsion/detorsion-induced ischemia/reperfusion injury in rats. Archives of toxicology. 2007; 81(9): 655-663.
15. Koc A et al. The protective role of erdosteine on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. Molecular and cellular biochemistry. 2005; 280(1-2): 193-199.

16. Akgül T et al. Ginkgo biloba (EGb 761) usage attenuates testicular injury induced by testicular ischemia/reperfusion in rats. *International urology and nephrology*, 2008. 40(3): 685-690.
17. Chakrabarti S et al. Redox state of dipyrindamole is a critical determinant for its beneficial antioxidant and antiinflammatory effects. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2007; 50(4): 449-457.
18. Graham S D, Thomas E, Glenn, James F. Glenn's Ürolojik Cerrahi, 7th Edition. 7. Baskı ed. Penis ve Skrotumun Anatomisi, ed. S.D.G. Jr. Lippincott Williams & Wilkins. 2011; 465-466
19. Walsh PC, R.B., Vaughan Jr ED, Wein AJ (eds). Campbell's Urology. 8 th. ed. Penil Ereksiyon Fizyolojisi, Erektile Disfonksiyon ve Priapizmin patofizyolojisi, ed. M. Tom F. Lue. Güneş Kitabevi. 2005; 1592-1594
20. Walsh PC, R.B., Vaughan Jr ED, Wein AJ (eds), Campbell Urology. 8 th. ed. Alt üriner sistem ve erkekgenital sistem anatomisi, ed. M. James D. Brooks. 2005; Güneş Kitabevi.72-74
21. Benson G S. The penis: Sexual function and dysfunction. Adult and Pediatric Urology. Lippincott Williams&Wilkins. Philadelphia, ed. Gillenwater G.J., Howards SS, Mitchell ME. 2002.
22. ARINCI K and KARAHAN S.T. Penis' in Damar Sistemi Ve İnnervasyonu. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*.1991; 11(2): 81-86.
23. Luis Carlos Junqueira, J.C., *Temek Histoloji Text & Atlas*. 2006: Nobel Tıp Kitabevi.446
24. Ozan T, Orhan İ. Deneysel Çalışmalarda Priapizm: Kliniğe Yansımalar, Deneysel Çalışmalarda Priapizm: Kliniğe Yansımalar. *Türk Urol Sem*. 2011; 2: 281-7.
25. Ul-Hasan M, Lee C et al. Expression of TGF-beta 1 m-RNA and ultrastructural alterations in pharmacologically induced prolonged penile erection in a canine model. *J Urol* 1998; 160: 2263-6.
26. Montague D K, Broderick GA et al.American Urological Association guideline on the management of priapism. *J Urol*. 2003; 170: 1318-24.
27. Burnet A, Chang T S, Epstein JI, Lowenstein CJ, and e.a. Bredt DS, Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the autonomic innervation of the human penis. *J Urol*, 1993. 150: 73-6.
28. Phatarpekar PV, Xia Y. Role of adenosine signaling in penile erection and erectile disorders. *J Sex Med*. 2010; 7: 3553-64.
29. Patole S et al. Improved oxygenation following adenosine infusion in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Neonatology*. 1998; 74(5): 345-350.
30. Mi T et al. Excess adenosine in murine penile erectile tissues contributes to priapism via A_{2B} adenosine receptor signaling. *The Journal of clinical investigation*. 2008; 118(4): 1491-1501.
31. Shamloul R. *REVIEWS: The Potential Role of the Heme Oxygenase/Carbon Monoxide System in Male Sexual Dysfunctions*. The journal of sexual medicine, 2009. 6(2): 324-333.
32. Jin Y C et al. Expression and Activity of Heme Oxygenase-1 in Artificially Induced Low-Flow Priapism in Rat Penile Tissues. *The journal of sexual medicine*. 2008; 5(8):1876-1882.

33. Hellstrom W J et al. Sustained efficacy and tolerability of vardenafil, a highly potent selective phosphodiesterase type 5 inhibitor, in men with erectile dysfunction: results of a randomized, double-blind, 26-week placebo-controlled pivotal trial. *Urology*. 2003; 61(4): 8-14.
34. Lin C S. *Original research*. Phosphodiesterase Type 5 Regulation in the Penile Corpora Cavernosa. *The journal of sexual medicine*. 2009; 6(S3): 203-209.
35. Bialecki E S and Bridges K R. Sildenafil relieves priapism in patients with sickle cell disease. *The American journal of medicine*. 2002; 113(3): 252.
36. Lin C, Lin G and Lue T. Cyclic nucleotide signaling in cavernous smooth muscle. *The journal of sexual medicine*. 2005; 2(4): 478-491.
37. Broderick G et al. Anoxia and corporal smooth muscle dysfunction: a model for ischemic priapism. *The Journal of urology*. 1994; 151(1): 259-262.
38. Muneer A et al. Investigating the Effects of High-Dose Phenylephrine in the Management of Prolonged Ischaemic Priapism. *The journal of sexual medicine*. 2008; 5(9): 2152-2159.
39. Raja S G and Dreyfus G.D. Current status of bosentan for treatment of pulmonary hypertension. *Annals of cardiac anaesthesia*. 2008; 11(1): 6.
40. Gabbay E, Fraser J and McNeil K. Review of bosentan in the management of pulmonary arterial hypertension. *Vascular health and risk management*. 2007; 3(6): 887.
41. Benigni A and Remuzzi G. Endothelin antagonists. *The Lancet*. 1999; 353(9147): 133-138.
42. Yuan J et al. Insights of priapism mechanism and rationale treatment for recurrent priapism. *Asian journal of andrology*. 2008; 10(1): 88-101.
43. Şener G and Yeğen B Ç. Iskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim*. 2009; 22(3): 5-13.
44. Zimmerman B and Granger D. Reperfusion injury. *The Surgical clinics of North America*. 1992; 72(1): 65-83.
45. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Universitatis Carolinae. Medica. Monographia*. 1989; 137: 1-53.
46. Jennings R B and Reimer K.A. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annual review of medicine*. 1991; 42(1): 225-246.
47. Orrenius S et al. Calcium ions and oxidative cell injury. *Annals of neurology*. 1992; 32(S1): 33-42.
48. Parks D A, Williams T K and Beckman J S. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol*. 1988; 254(5 Pt 1): G768-74.
49. Homer-Vanniasinkam S, Crinnion J and Gough M. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *European journal of vascular and endovascular surgery*. 1997; 14(3): 195-203.
50. Monsinjon T, Richard V and Fontaine M. Complement and its implications in cardiac ischemia/reperfusion: strategies to inhibit complement. *Fundamental & clinical pharmacology*. 2001; 15(5): 293-306.
51. Staroverov V N and Davidson E R. Distribution of effectively unpaired electrons. *Chemical Physics Letters*. 2000; 330(1): 161-168.
52. Çakatay U and Kayalı R. Serbest Radikal Biyokimyasının Tarihsel Süreçteki Gelişimi. *Cerrahpaşa tıp Dergisi*; 2006: 37 (4) 162-167

53. Kopáni M et al. Oxidative stress and electron spin resonance. *Clinica chimica acta*. 2006; 364(1): 61-66.
54. Reiter R J. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. *The FASEB journal*. 1995; 9(7): 526-533.
55. Konukoğlu D. Serbest Radikaller ve Önemleri. *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi*. 2007; 1(4): 197-200.
56. Altan N, Cemile K. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry-Turk J Biochem]*. 2006; 31(2): 51-56.
57. Halliwell B, Gutteridge J and Cross C. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1992; 119(6): 598.
58. Babior B M. Phagocytes and oxidative stress. *The American journal of medicine*. 2000; 109(1): 33-44.
59. Kuyvenhoven J and Meinders A. Oxidative stress and diabetes mellitus: pathogenesis of long-term complications. *European Journal of Internal Medicine*. 1999; 10(1): 9-19.
60. Frangogiannis N G. Chemokines in ischemia and reperfusion. *thrombosis and haemostasis-stuttgart*. 2007; 97(5): 738.
61. Eltzschig H K and Collard C D. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *British medical bulletin*, 2004. 70(1): 71-86.
62. Weight S, Bell P and Nicholson M. Renal ischaemia-reperfusion injury. *British journal of surgery*. 1996; 83(2): 162-170.
63. Chatterjee P K. Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2007; 376(1-2): 1-43.
64. Korthuis R J and Granger D.N. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clinical cardiology*. 1993; 16(S1): 19-26.
65. Thrane A, Skehan J and Thrane P. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. *Medical hypotheses*. 2007; 68(6): 1363-1370.
66. García-Villalón A L et al. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascular pharmacology*. 2008; 48(2): 109-114.
67. Phillips L et al. Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. *Investigative Surgery*. 2009; 22(1): 46-55.
68. Karihtala P and Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *Apmis*. 2007; 115(2): 81-103.
69. Cherubini A et al. Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. *Current medicinal chemistry*. 2008; 15(12): 1236-1248.
70. Mickle D and Weisel R. Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury. *The Canadian journal of cardiology*. 1992; 9(1): 89-93.
71. Virág L and Szabó C. The therapeutic potential of poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacological reviews*. 2002; 54(3): 375-429.

72. Halliwell B. Antioxidant characterization: methodology and mechanism. *Biochemical Pharmacology*. 1995; 49(10): 1341-1348.
73. Rodriguez C et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of pineal research*. 2004; 36(1): 1-9.
74. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 10th. ed. 2002; Ankara Hacettepe T.A.Ş. 602-603
75. Bancroft J, Turner D (ed), *Theory and Practice of Histological Techniques* 4th edn. Churchill Livingstone Company. 1996; (Bradbury P, Rae K. Connective tissues and stains).
76. Yagi K.[39] Assay for blood plasma or serum. *Methods in enzymology*. 1984; 105: 328-331.
77. Bar-Or D, Lau E and. Winkler J.V. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia—a preliminary report. *The Journal of emergency medicine*. 200; 19(4): 311-315.
78. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*, 2005; 38(12): 1103-1111.
79. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical biochemistry*. 2004; 37(2): 112-119.
80. Harma M and Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. *Swiss medical weekly*. 2003; 133(41-42): 563-566.
81. Çalışkan, M.K. and S. Çayan, Priapizmin Patofizyolojisi. *Türk Urol. Sem*. 2011; 2: 276-280
82. Concannon M J et al. Patterns of free-radical production after tourniquet ischemia: implications for the hand surgeon. *Plastic and reconstructive surgery*. 1992; 89(5): 846-852.
83. Mark L A, Robinson A V and Schulak J.A. Inhibition of nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Journal of Surgical Research*. 2005; 129(2): 236-241.
84. Bulut B et al. *S143* Anti-fibrotic effects of losartan in the prolonged ischemic priapizm on rats. *European Urology Supplements*. 2013; 12(4). 1251
85. KADIOĞLU A et al. Priapizmin Pratik Tedavisi. *Türk Üroloji Dergisi*. 2006; 32 (2): 182
86. Karagüzel E et al. Comparison of the protective effect of dipyridamole and acetylsalicylic acid on long-term histologic damage in a rat model of testicular ischemia-reperfusion injury. *Journal of pediatric surgery*. 2012; 47(9): 1716-1723.
87. Makalesi A. Karaciğer iskemi/reperfüzyon hasarında α -lipoik asit ve L-karnitin'in koruyucu etkileri. *Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem]*. 2014; 39(2): p. 169-175.
88. Özdemir H H et al. Deneysel Serebral İskemi-Reperfüzyon Oluşturulmuş Ratlarda Memantin'in Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi. *Turkish Journal of Neurology/Türk Noroloji Dergisi*. 2013; 19(3).
89. Altuğ M E, Melek İ M and Erdoğan S. The Neuroprotective Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester on Global Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Brains. *Kafkas üniv. Veterinerlik Fak. Dergisi*. 2014; 20(6); 877-884.

90. Tsompos C et al. The effect of erythropoietin on serum uric acid levels during renal ischemia reperfusion injury in rats. *Turkish Journal of Urology*. 2014; 40(2): 110-4.
91. Taniguchi M et al. Dipyridamole protects the liver against warm ischemia and reperfusion injury. *Journal of the American College of Surgeons*. 2004; 198(5): 758-769.
92. Kutlu O et al. Investigation of the possibility of using ischemia-modified albumin in testicular torsion: an experimental study. *Fertility and sterility*. 2011; 95(4): p. 1333-1337.
93. Yuluğ E et al. The short term effects of resveratrol on ischemia–reperfusion injury in rat testis. *Journal of pediatric surgery*. 2014; 49(3): 484-489.
94. Yağci R et al. Behçet hastalığında toplam antioksidan kapasite, toplam oksidan durum ve dehidroepiandrosteron sülfat düzeyleri. *Journal of Retina-Vitreous*. 2007; 15(4): p. 263-266.
95. Kısaoğlu A, Yapca E O, Bilen H, Süleyman H. Tissue damage and oxidant/antioxidant balance. *J Physiol*. 1997. 272: p. 294-300.
96. Spycher M and Hauri D. The ultrastructure of the erectile tissue in priapism. *The Journal of urology*. 1986; 135(1): 142-147.