

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

İSKEMİK PRİAPİZM PATOFİZYOLOJİSİNDE İKİNCİ
YOLAKLAR VE TEDAVİ ALTERNATİFLERİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Ahmet KARAKEÇİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İrfan ORHAN

ELAZIĞ
2011

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr.

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....

Üroloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

..... **Danışman**

Uzmanlık Sınavı Juri Üyeleri

.....
.....
.....
.....
.....
.....

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması aşamasında yardım ve desteklerinden dolayı değerli hocam Prof. Dr. İrfan ORHAN'a teşekkür ederim. Tıpta uzmanlık eğitimim süresince her türlü destek ve yardımlarından dolayı değerli hocalarım Doç.Dr. Rahmi ONUR'a, Doç.Dr. Enver ÖZDEMİR'e ve Yrd. Doç.Dr. Fatih FIRDOLAŞ'a teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanması aşamasında bana yardımcı olan Prof. Dr. Kazım Şahin'e, Yrd. Doç.Dr. Mehmet Tuzcu'ya, Uzman Dr. Tuncay Kuloğlu'na, Dr. Cemal Orhan'a teşekkür ederim.

Her zaman yardımını esirgemeyen, uyum içerisinde çalıştığım ve tezimin hazırlanmasında azımsanmayacak derecede katkısı olan Dr. İhsan Ünüş'e teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte uyum içerisinde çalıştığım tüm uzman doktor ve araştırma görevlilerine, Üroloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

Son olarak geçmişten bugüne kadar her türlü zorlukta ve sıkıntıda her zaman yanımda olan, hiçbir zaman yardım ve desteklerini benden esirgemeyen aileme sonsuz şükranlarımı sunarım. Ve hayatıma anlam katan, yaşantımı ve sahip olduğum her şeyi güzelleştiren biricik eşime ve oğluma teşekkür ederim.

ÖZET

Priapizm, cinsel uyarı olmaksızın uzamış istenmeyen ereksiyon halidir. Priapizmin penil arter kan akımına bağlı olarak iskemik, non iskemik ve tekrarlayan olmak üzere üç tipi vardır. İskemik priapizm hızlı ve doğru yaklaşım gerektiren gerçek ürolojik bir acildir. Hastaları erektil disfonksiyondan korumak için ürolog böyle bir acil durumda nasıl davranacağını bilmelidir. Bu çalışmada iskemik priapizmin erken tedavisi için uygulanacak tedavi yöntemlerini araştırmayı hedefledik ve endotelin reseptör blokleri olan Bosentan, adenozin reseptör blokleri ve nonselektif fosfodiesteraz enzim inhibitörü olan Teofilin ve Hem oksijenaz- 1 inhibitörü olan Zn Protoporfirin'i priapizm tedavisinde sıçan modellerinde değerlendirdik.

Çalışmaya dahil edilen 24 adet erişkin Sprague-Dawley sıçan 4 eşit gruba ayrıldı. Bütün sıçanlarda vakum yöntemi ile ereksiyon oluşturuldu ve bütün gruplarda 4 saat boyunca ereksiyon devamlılığı sağlanarak priapizm geliştirildi. Daha sonra ikinci gruba Bosentan, üçüncü gruba Teofilin, Dördüncü gruba ise Zn Protoporfirin verilip 6 saat sonra tüm gruplar dekapite edildi. Tüm gruplardaki kavernoöz doku örneklerinde Western Blot yöntemi ile ET-1, ADA, HO-1 düzeyleri değerlendirildi. Yine tüm gruplardaki kavernoöz doku örneklerinde Tunel yöntemi ile apoptozis indeksi değerlendirildi.

Bu çalışmamızda sonuç olarak ikinci grupta ET-1 düzeyi ve apoptozis indeksi, üçüncü grupta ADA düzeyi ve apoptozis indeksi, dördüncü grupta ise HO-1 düzeyi ve apoptozis indeksi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalmış olarak saptandı.

Priapizmde gelişen apoptozisin; Bosentan, Teofilin, Zn Protoporfirin ile engellenmesi erektil fonksiyonun korunması konusunda gelecek vaad etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bosentan, İskemik priapizm, Teofilin, Zn protoporfirin

ABSTRACT

**SECOND PATHWAYS IN THE PATHOPHYSIOLOGY OF ISCHEMIC
PRIAPISM AND TREATMENT ALTERNATIVES**

Priapism is described as the extended unpreferred erection status without any sexual stimulus. There are three types of priapism which are classified as ischemic, non ischemic and recurrent priapism depending on the blood flow of the penile artery. Ischemic priapism is a real urological emergency which require urgent and appropriate approach. In order to prevent any erectile dysfunction, the urologist should know how to manage such an urgent case. In this study, we aimed to evaluate the early therapeutic alternatives such as Bosentan an endothelin receptor blocker, theophylline an adenosin receptor blocker and a non-selective phosphodiesterase enzyme inhibitor and Zn Protoporphyrin a heme oxygenase-1 inhibitor for the therapy of ischemic priapism in the rat models.

Twentyfour Sprague-Dawley rats were included into the study and they are divided into 4 equal groups. Erection was provided by vacuum constriction method and it was maintained for 4 hours for achieving the priapism in all groups. Then, Group 1 included controls, group 2 received Bosentan i.p. , group 3 received Theophylline i.p. , group 4 received zinc Protoporphyrin i.p. . Six rats from each group were killed after 6 hour of drug administration. Then ET-1, ADA, HO-1 enzymatic activity and apoptosis index in the cavernous tissues were estimated.

Cavernous tissue ET-1, ADA, HO-1 levels and apoptosis index decreased significantly in Bosentan, Theophylline, zinc Protoporphyrin treated rats compared to the controls.

Inhibition of priapism induced apoptosis with Bosentan, Theophylline, zinc Protoporphyrin seems promising on preserving erectile function.

Key Words: Bosentan, Ischemic priapism, Theophylline, Zn Protoporphyrin

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.2. Genel Bilgiler	1
1.2.1. Tarihçe	1
1.2.2. Anatomi	3
1.2.2.1. Korpus Kavernozum	3
1.2.2.2. Korpus Spongiozum	4
1.2.2.3. Arterler	5
1.2.2.4. Venöz Drenaj	6
1.2.2.5. Penisin İnnervasyonu	7
1.2.3. Fizyoloji	7
1.2.4. Priapizm	11
1.2.4.1. Epidemiyoloji ve Etiyoloji	11
1.2.4.2. Priapizm Patofizyolojisi	12
1.2.4.3. Tanı	14
1.2.4.4. Tedavi	14
1.2.5. Endotelin reseptör blokleri (Bosentan)	17
1.2.6. Teofilin (adenozin reseptör antagonisti)	18
1.2.7. Hemoksijenaz-1 enzim inhibitörü (Zn protoporfirin)	19
1.2.8. Apoptozis	21
1.2.8.1. Apoptozisin saptanması	23
1.2.9. Priapizm ve Apoptozis	23

2. GEREÇ ve YÖNTEM	24
2.1. Deney Hayvanları	24
2.2. Deney Sırasında Kullanılan Anestezi	25
2.3. Ereksiyon ve Priapizmin Oluşturulması	26
2.4. İlaçlar	27
2.5. TUNEL Metodu	27
2.6. Western Blot Analizleri	30
2.7. İstatistiksel Analiz	32
3. BULGULAR	33
3.1. TUNEL Bulgular	33
3.2. Western Blot Bulgular	35
3.2.1. Bosentan	35
3.2.2. Teofilin	36
3.2.3. Zn protoporfirin	37
4. TARTIŞMA	39
5. KAYNAKLAR	46
6. ÖZGEÇMİŞ	53

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1. Priapizme neden olan etiyolojik faktörler	11
Tablo 1.2. Düşük ve yüksek akımlı priapizmin ayırıcı tanısında ölçütler.	14
Tablo 1.3. Priapizm tedavisinde kullanılabilecek çeşitli ilaçlar, dozları ve uygulama yöntemleri.	16
Tablo 2.1. TUNEL boyanma yaygınlığının derecesi	30
Tablo 3.1. Tüm gruplarda elde edilen Tunel boyanma indeks değerleri	35
Tablo 3.2. Bosentan uygulamasının priapizm sonrası ET-1 enzim düzeyi üzerine etkisi (ort±SS).	36
Tablo 3.3. Teofilin uygulamasının priapizm sonrası ADA enzim düzeyi üzerine etkisi (ort±SS).	37
Tablo 3.4. Zn protoporfirin uygulamasının priapizm sonrası HO-1 enzim düzeyi üzerine etkisi (ort±SS).	38

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1. Toprağın bereket tanrısı Priapus	2
Şekil 1.2. A, B Penisin aksiyel kesit anatomisi	4
Şekil 1.3. B. Penisin kesitsel anatomisi	5
Şekil 1.4. Penisin arter ağı	6
Şekil 1.5. Penisin venöz drenajı	6
Şekil 1.6. Penisin innervasyonu	7
Şekil 1.7. Flask durumda korpus kavernozum ve damarlar	8
Şekil 1.8. Ereksiyon sırasında korpus kavernozum ve damarlar	9
Şekil 1.9. NO ve türevlerinin oluşumu	10
Şekil 1.10. Düşük akımlı priapizmde patofizyolojik değişiklikler	13
Şekil 1.11. Priapizmin tedavi algoritması.	15
Şekil 1.12. Endotelin reseptörü çalışma mekanizması	18
Şekil 1.14. Heme protein yıkımı ve metabolitlerinin etkileri	20
Şekil 1.15. NO ve CO karşılıklı etkileşimleri	20
Şekil 1.16. Apoptozis ve nekrozun morfolojik farklılıkları.	22
Şekil 2.1. Rat penis anatomisi grafik.	25
Şekil 2.2. Mikrocerrahi diseksiyon sonrası rat penis anatomisi	25
Şekil 2.3. Vakum ile ereksiyon oluşturulması	26
Şekil 2.4. Priapizm oluşturulması	26
Şekil 3.1.1. Kontrol grubunun TUNEL ile boyanması	33
Şekil 3.1.2. Bosentan grubunun TUNEL ile boyanması	34
Şekil 3.1.3. Zn protoporfirin grubunun TUNEL ile boyanması	34
Şekil 3.1.4. Teofilin grubunun TUNEL ile boyanması	34
Şekil 3.1.5. Pozitif kontrol için kullanılan meme dokusu	35
Şekil 3.1.6. Negatif kontrol için kullanılan meme dokusu	35
Şekil 3.2.1. Bosentan uygulaması sonrası ET-1 düzeyinin kontrol grubu ile karşılaştırılması	36
Şekil 3.2.2. Teofilin uygulaması sonrası ADA düzeyinin kontrol grubu ile karşılaştırılması	37
Şekil 3.2.3. Zn protoporfirin uygulaması sonrası HO-1 düzeyinin kontrol grubu ile karşılaştırılması	38

KISALTMALAR LİSTESİ

AC	: Adenilat siklaz
ADA	: Adenozin deaminaz
AR	: Adenozin reseptörü
ATP	: Adenozin trifosfat
AUA	: American Urological Association (Amerikan Üroloji Birliği)
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
CGRP	: Kalsitonin gen related peptid
CO	: Karbonmonoksit
DAB	: Diaminobenzodin
DAG	: Diaçil gliserol
DDV	: Derin dorsal ven
DNA	: Deoksiribonükleikasit
DPA	: Dorsal penil arter
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
ENT	: Equilibrative Nükleotit Transporter
ET	: Endotelin
ETA/B	: EndotelinA/B reseptörü
GPCR	: G protein coupled reseptör
GTP	: Guanozin trifosfat
HO-1	: Hem Oksijenaz
IP.	: İtraperitoneal
IP3	: İnositol trifosfat
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
L-Arg	: L-Arjinin
mNOS	: Mitokondriyal nitrik oksit sentaz
NANK	: Nonadrenerjik-nonkolinerjik
nNOS	: Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	: Nitrik oksit

NOS	: Nitrik oksit sentaz
ort±SS	: ortalama±standart sapma
PDE5	: Fosfodiesteraz tip 5
PEG-ADA	: Polyethylene glycol-modified Adenozin deaminaz
pGC	: Partiküler guanilat siklaz
PGI2	: Prostoglandin I2
PIP2	: Fosfotidil inositol bifosfat
PKC	: Proteinkinaz C
PMSF	: Fenil Metil Sülfonil Florid
sGC	: Solubl guanilat siklaz
TBS	: Tris Buffer Saline
TUNEL	: Terminal deoxytransferase mediated bio-dUTP Nick and Labeling
VIP	: Vazoaktif intestinal polipeptid

1. GİRİŞ

Priapizm, cinsel uyarı olmaksızın uzamış, istenmeyen ereksiyon halidir. İnsidansı erkeklerde sık olmamakla beraber (1.5/100.000), kadınlarda da çok ender olarak görülebilmektedir. Priapizm klinikte üç farklı şekilde karşımıza çıkmaktadır. İskemik priapizm en sık görülen şeklidir ve tedavi edilmediğinde kavernoza dokular nekroza gitmekte, sonuçta kavernoza fibrozis ve erektil disfonksiyon gelişmektedir. Bu durum kompartman sendromunun bir örneğidir ve acil tedavi gerektirmektedir. Non iskemik priapizm ise sıklıkla kavernoza arter yaralanmasının eşlik ettiği , penil veya perineal yaralanmalarda görülür. Bu durum idiyopatik olarak ta görülebilir. Tekrarlayan priapizm ise genellikle orak hücre anemisi gibi bazı kan hastalıklarında görülmektedir. Tekrarlayan priapizmde genellikle non iskemik priapizm görülse de düşük akımlı ve anoksik hale dönüşebilmektedir (1).

İskemik priapizm kavernoza dokuda azalan pO₂, pH ve artan pCO₂ değerlerine neden olmaktadır (2). Metabolik değerlerdeki bozulma kavernoza dokuda oksidatif fosforilasyonu bozmakta ve sonuçta hücre içi adenozin trifosfat (ATP) miktarı hücrenin yaşamını devam ettirebileceği seviyenin altına düşmekte ve apoptotik süreç başlamaktadır (3). Kavernoza düz kastaki ultrastrüktürel değişimler, priapizmi takip eden 12 saat içinde görülmektedir (4).

Çalışmamızda sıçan düşük akımlı priapizm modelinde, kavernoza düz kas dokusunda Endotelin-1, Adenozin Deminaz ve Hem Oksijenaz-1 enzimlerine bağlı olarak meydana gelen yapısal değişimlerin tanımlanması ve Endotelin reseptör blokeri olan Bosentan, Adenozin reseptör blokeri ve nonselektif fosfodiesteraz enzim inhibitörü olan Teofilin ve Hem Oksijenaz-1 inhibitörü olan Zn-protoporfirin ile bu değişimlerin önlenebilirliğinin araştırılması amaçlandı.

1.2. Genel Bilgiler

1.2.1. Tarihçe

Priapizm çok eski zamanlardan beri bilinmekle birlikte, Yunan mitolojisi ve eski Mısır yazıtlarında adı geçmektedir. Priapizm adını antik Yunan kültüründen bilinen erkeklik ve fertilitenin sembolü olan Priapus tanrısından almıştır (Şekil 1.1). Anadolu'da geçen efsaneye göre, Zeus'un Afrodit'ten olan gayr-i meşru çocuğuna, Zeus'un eşi Hera kem gözlerini göndermiş ve çocuk (priapus) penisi kendi boyu kadar ve sürekli ereksiyon halinde doğmuş. Afrodit çocuğundan utanmış ve onu

bugün Lapseki olarak bilinen yerde bir tarlada terk etmiştir. Tarlada büyüyen priapus, tıpkı kendisi gibi toprakla büyüyen ve yetişen her şeye güç ve bereket vermiştir. Bu onu “Bereket Tanrısı” yapmış ve çok büyük olan penisi de güç sembolü haline gelmiştir (5, 6).



Şekil 1.1. Toprağın bereket tanrısı Priapus (7)

Eski Mısır Ebers papirüslerinde priapizmle ilgili bilgiler ve tedavi için reçeteler bulunmaktadır (8).

Priapizm tanımına ilk kez 1616’da Petraens tarafından yayınlanan “Gonorrhoea, Satyriasis et Priapisme” başlıklı bir makalede rastlanmıştır (9). Priapizm’in ilk tanımlandığı İngilizce literatür ise 1845 ‘te Tripe tarafından yayınlanmıştır (10).

Priapizm patofizyolojisi ile ilgili modern literatürde yayınlanmış ilk makale Hinman’a ait 1914 yılında yayınlanan araştırmadır (11). Hinman priapizmi mekanik (%80) ve nörojenik (%20) olarak iki kategoriye ayırmıştır. Mekanik nedenler arasında hematolojik hastalıklar, pelvik abse, genital travma ve penil tümör,

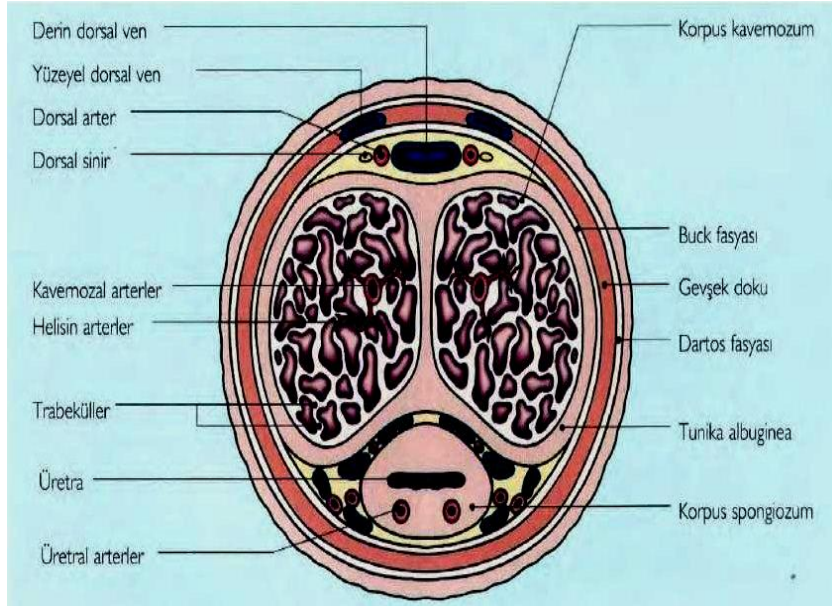
nörojenik sebepler olarak ta sifiliz, beyin tümörü, epilepsi, beyin travması ve entoksikasyonlar bildirilmiştir (11). Daha sonra 1960 yılında Frank Hinman Jr. ışık mikroskopu kullanarak, korporal dokunun günler içerisinde kalınlaşarak, ödematoz ve fibrotik hale geldiğini göstermiştir (12).

1.2.2. Anatomi

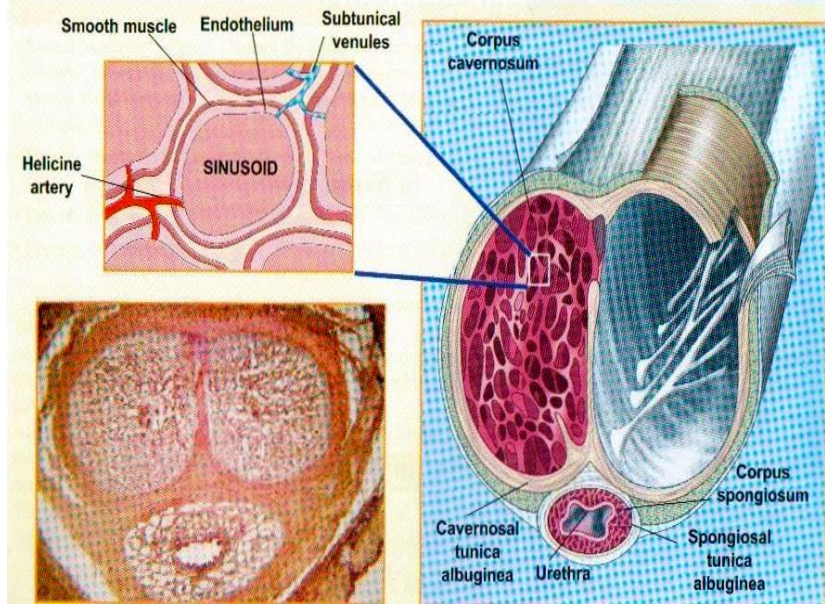
İnsan penisi iki adet kavernöz, bir adet spongioz cisimden ve bu yapıları çevreleyen fasial yapılarından meydana gelmiş kompleks bir yapıdır (13).

1.2.2.1. Korpus Kavernozum

İki tane olup, distalde birbirine yapışık olan kavernöz cisimler simfizis pubis altında birbirlerinden ayrılarak iki krus oluştururlar. Her bir krus, iskiyon pubis kemiğinin altındaki tuberositas iskiye yapışır. Simfizis pubis ile kavernöz cisimler arasındaki ligamentum suspensoryum, kruslardan sonra ikinci fiksasyon noktasını oluşturur. Tümesans ve rijidite sırasında korpus kavernozumdaki çok sayıda sinüzoid kanla dolar. Korpus kavernozumları ayıran septumdaki fenestrasyonlar iki taraftaki sinüzoidler arasında geçişi sağlar (Şekil 1.2 A, B) (14).



A



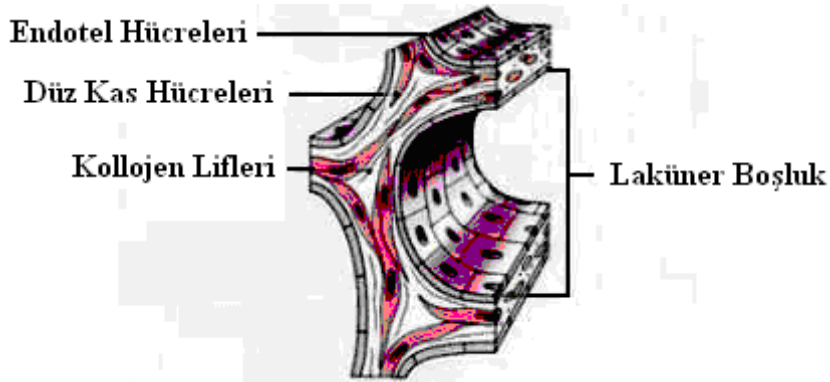
B

Şekil 1.2. A, B Penisin aksiyel kesit anatomisi (15)

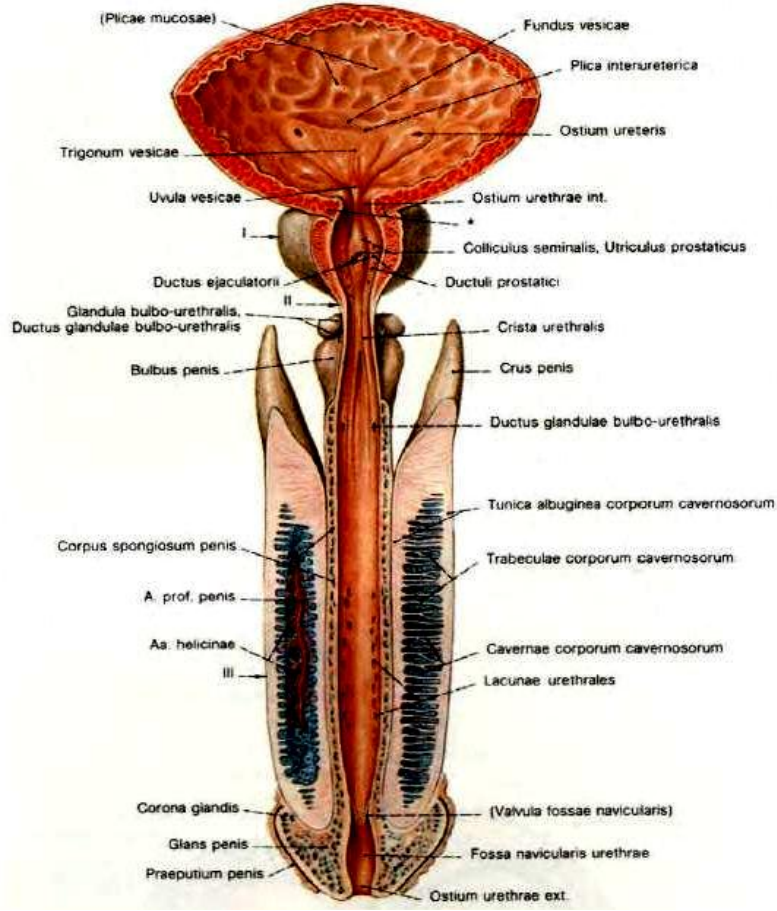
1.2.2.2. Korpus Spongiozum

Penisin ventralinde bulunan yapıdır. Üçte ikilik distal üretrayı içerir. Distalde glans penisi oluşturur. Penisin ereksiyonuna önemli katkısı yoktur (13).

Buck fasyası, korpus kavernozumlarla, korpus spongiozumu sarar. Bu fasyadan oluşan fibröz bir septum kavernöz cisimleri spongiöz cisimden ayırır. Her korpus kavernozum Buck fasyasının altında, tunika albuginea olarak adlandırılan kalın fibröz bir kapsülle sarılıdır. Penis, Buck fasyasının üzerinde içten dışa doğru; ince bir faysa (Colles fasyası), gevşek cilt altı dokusu ve cilt ile çevrilidir. Sinüzoidler endotel ile döşeli boşluklardır. Bunlar gevşek bağ dokusu ve düz kas trabekülleri ile çevrili, nörojenik uyarılara hassas aktif kontraktıl birimlerdir (Şekil 1.3A, B) (13).



Şekil 1.3. A. Endotel hücreler (15)

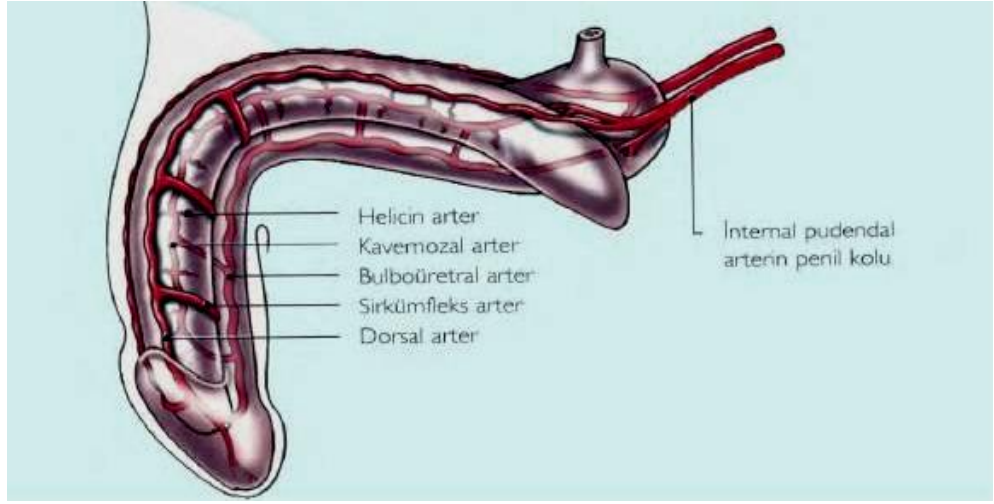


Şekil 1.3. B. Penisin kesitsel anatomisi (16)

1.2.2.3. Arterler

Eretil dokunun ana arteri, internal iliak arterin terminal dalı olan internal pudendal arterdir. Her iki tarafta internal pudendal arterler penis köküne girmeden önce birer perineal, bulber ve küçük üretral dal verirler ve penil arter olarak devam ederler. Penil arterler, penis kökünde dorsal penil arter (DPA) ve kavernöz arter olmak üzere ikiye ayrılır. DPA'ler primer olarak glans ve penis derisini kanlandırırlar. DPA'ler ile kavernöz arterler arasında sık anastomozlar bulunur. DPA penisin dorsal yüzünde glansa doğru uzanır ve glansta kısa helisin arterler halinde son bulur. Normal durumlarda her kavernöz cisim kendi kavernozaal arteri ile beslenir. Kavernozaal arterler her bir kavernöz cismin ortasında ya da mediale doğru hafifçe ekzantrik yerleşim gösterirler ve sinüzoidal boşluklara küçük dallar verirler. Eretil doku kan akımının asıl kaynağı kavernozaal arterlerdir (Şekil 1.4) (13). Bununla birlikte penil arteryel anatomide anlamlı varyasyonlar bulunabilir. Bookstein ve Leng, erektil disfonksiyonlu 25 hastada yaptıkları bir araştırmada,

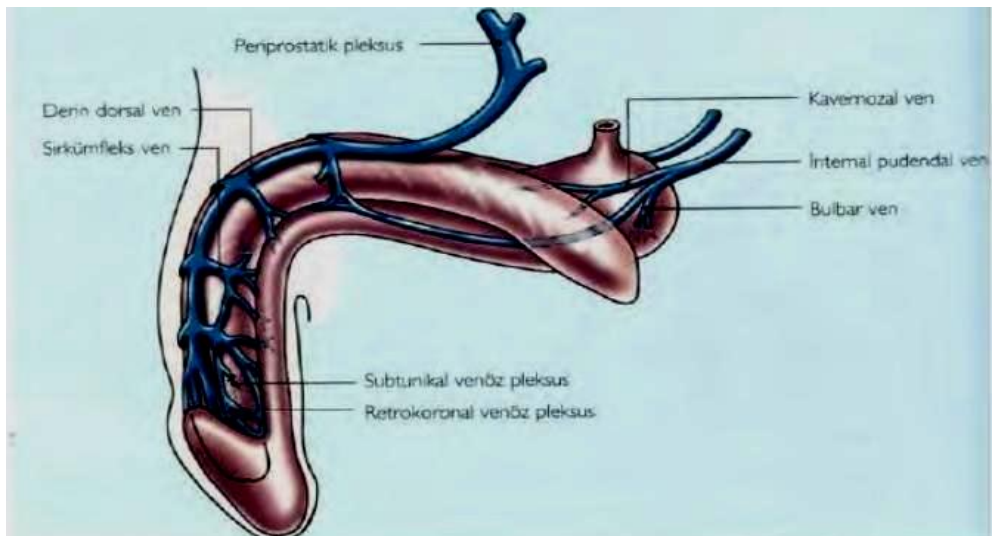
olguların %80'inden fazlasında klasik anatomiden farklı önemli varyasyonlar saptamışlardır (14).



Şekil 1.4. Penisin arter ağı (16)

1.2.2.4. Venöz Drenaj

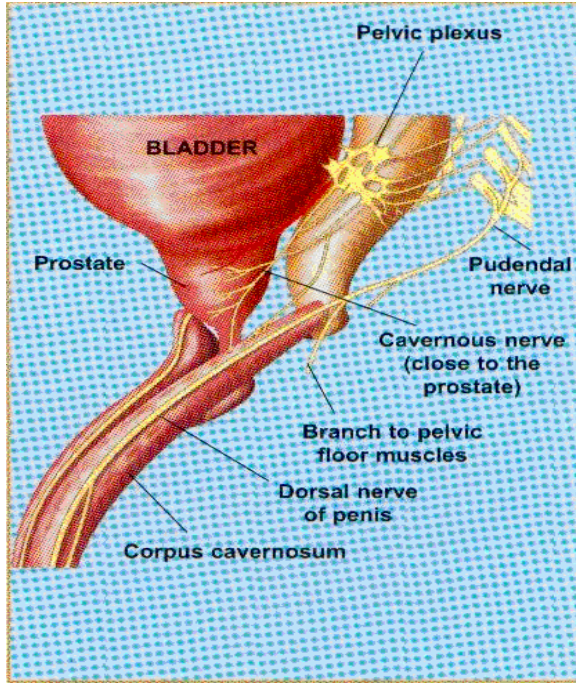
Kavernöz cisimlerin venöz drenajı emisser ya da sirkümfleks venler aracılığı ile derin dorsal vene (DDV) olur. DDV retropubik venöz pleksusa dökülür. Kavernöz cisimlerin proksimal kısmının drenajını sağlayan kavernöz venler, deri ve deri altı dokusunu drene eden üretral venlerle birleşerek internal pudendal vene; deri ve derialtı dokusunu drene eden süperfisyal dorsal ven ise eksternal pudendal vene dökülür. Kavernöz cisimlerin venöz drenajı retropubik pleksus ve internal venler aracılığı ile internal iliak vene olurken, penisin süperfisyal venöz drenajı eksternal pudendal venler aracılığı ile eksternal iliak vene olmaktadır (Şekil 1.5) (13).



Şekil 1.5. Penisin venöz drenajı (16)

1.2.2.5. Penisin İnnervasyonu

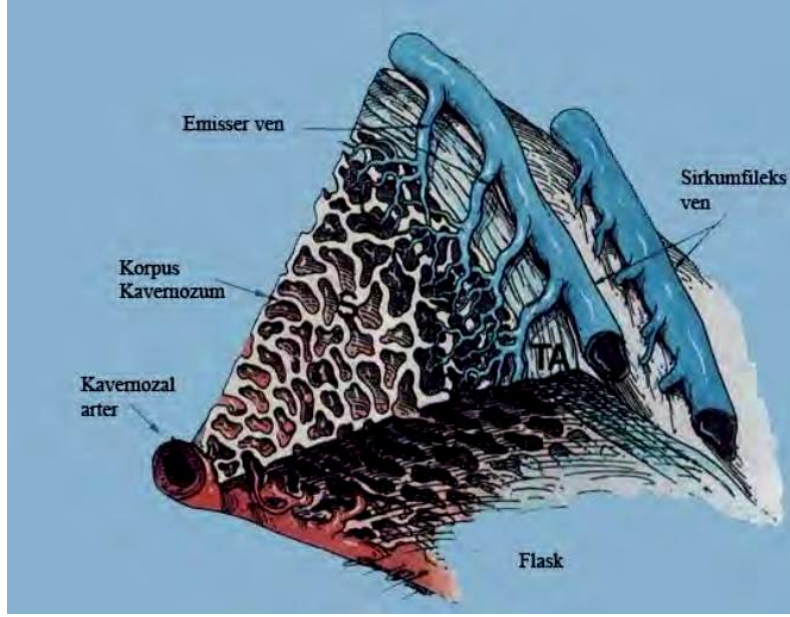
Penis derisi ve glans penisin gelen duyuyu ileten sinir lifleri dorsal penil sinir yolu ile pudental sinire katılırlar. Penisin somatik innervasyonu pudental sinir kanalı ile primer olarak S2, S3 ve S4 spinal sinirlerden kaynaklanır. Glans penisin parasempatik innervasyonunu sağlayan liflerin kökeni S2-4'tür ve nervus erigentes (nervus splanchnici pelvici) aracılığı ile pelvik pleksusa ulaşırlar. Ejakülasyonu sağlayan sempatik liflerin çıkış merkezi ise T11-L2 spinal segmentleridir (Şekil 1.6) (13).



Şekil 1.6. Penisin innervasyonu (15)

1.2.3. Fizyoloji

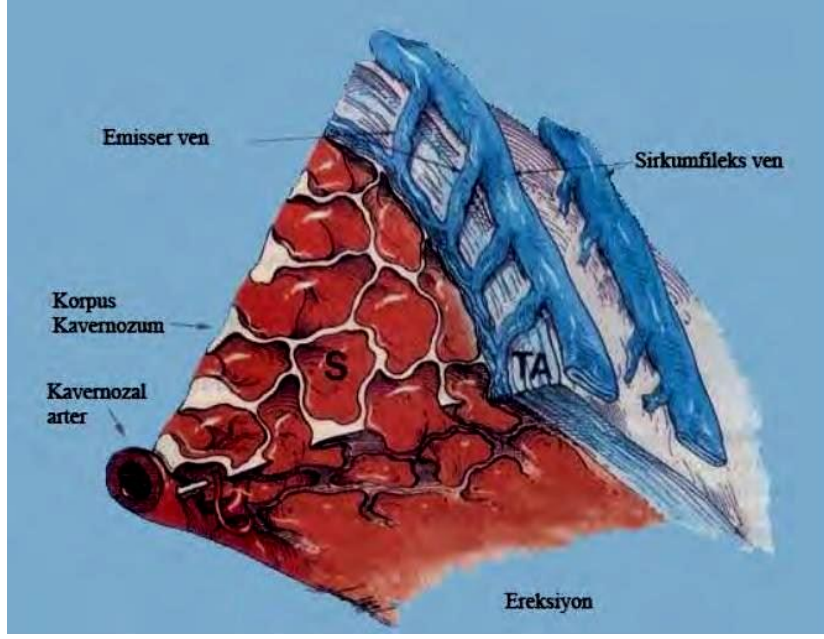
Ereksiyon, kavernöz arteriyoller, venüller ve sinüzoidlerdeki düz kasların tonusu ile düzenlenen kompleks bir hemodinamik olaydır. Flask bir peniste, bazal alfa-adrenerjik stimülasyon, kavernoza arterioller ve korporal sinüzoidlerin düz kaslarını kontrakte durumda tutar. Bu evrede kavernöz cisimlere sadece metabolik faaliyetlere yetecek kadar kan akımı olmaktadır. Sinüzoidler kontrakte durumda iken tunika albuginea ile sinüzoid duvarları arasında seyreden venüller açık olup venöz drenaj serbestçe olmaktadır (Şekil 1.7) (17).



Şekil 1.7. Flask durumunda korpus kavernozum ve damarlar (15)

Penil ereksiyon;

- Seksüel uyarı ile kavernozaal sinirlerden düz kas gevşemesini sağlayacak nörotransmitter salınımı
- Hem sistolik, hem de diastolik fazda artmış kan akımı için arteriyol ve arterlerde dilatasyon
- Genişleyen sinüzoidlere kanın depolanması
- Subtunikaal venlerin, tunika albuginea ve periferik sinüzoidler arasında kompresyonu ile venöz geri dönüşte azalma (Tümesans fazı)
- Tunikanın gerilmesiyle, içteki sirküler ve dıştaki longitudinal tabakalar arasındaki emisser venlerin kapanması ile venöz geri dönüşümün en aza inmesi
- Kavernoza içi basıncın artması (yaklaşık 100 mmHg) ile penisin ereksiyon konumunu alması (Tam ereksiyon fazı)
- İskiyokavernozaal kasların kasılması ile kavernozaal basıncın daha da artması (birkaç yüz mmHg) (rijid ereksiyon fazı) ile gerçekleşir (Şekil 1.8) (17).

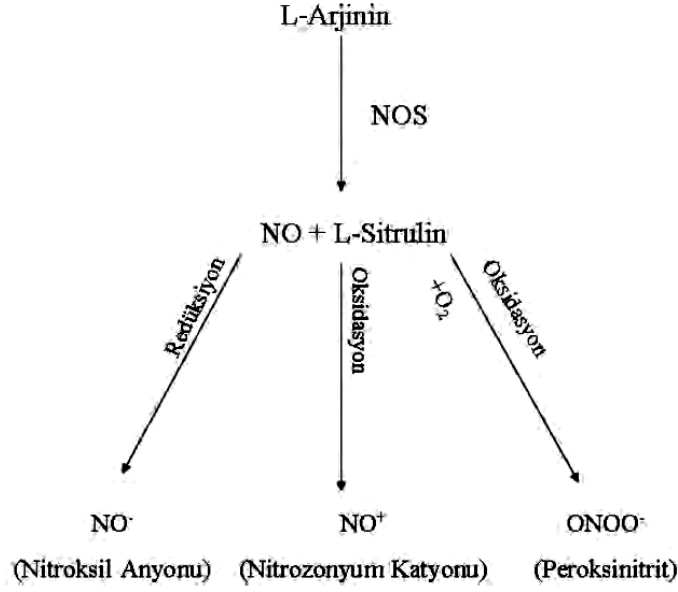


Şekil 1.8. Ereksiyon sırasında korpus kavernozum ve damarlar (15)

Penil ereksiyonu başlatan ve yöneten nöromediyatör nitrik oksittir. Nitrik oksit (NO), nitrik oksit sentetaz (NOS) enziminin katalizörlüğünde L-Arjininin (L-Arg), L-Sitruiline dönüşmesi sırasında meydana gelmektedir (Şekil 1.9). Bu tepkimeden meydana gelen NO, çözünebilir guanilat siklaz enzimini aktive ederek, siklin guanozin monofosfat (cGMP) üretimini arttırmakta ve sonuçta arteriyel ve kavernozaal düz kasta gevşeme meydana gelmektedir (18). NOS'un başlıca 3 farklı izoformu tanımlanmıştır. Bunlar;

- NOS Tip 1 (nöronal NOS veya nNOS)
- NOS Tip 2 (indüklenebilir NOS veya iNOS)
- NOS Tip 3 (endotelyal NOS veya eNOS)

NOS Tip1 ve NOS Tip3, temel NOS (constitutive NOS veya cNOS) olarak adlandırılır. Ayrıca yakın zamanda tanımlanan ve mitokondriyal NOS (mNOS) olarak isimlendirilen yeni formda bulunmaktadır. Tanımlanan NOS izoformları arasında penil ereksiyon mekanizmasında en önemli rolü arteriyel vazodilatasyon oluşturması nedeniyle eNOS oynamaktadır.



Şekil 1.9. NO ve türevlerinin oluşumu (18).

Kavernöz arterdeki basınç ve akım, ereksiyon sürecinin arteryel yeterliliğini belirler. Arteryel akım azalırsa veya kanın geri dönüşümü artarsa detümesans oluşur.

Pudental ve kavernöz arteryel akımların ve intrakorporal basınçların gözlenmesi sonucu ereksiyonun;

- Flask/Latent
- Tümesans
- Tam Ereksiyon
- Rijid Ereksiyon
- Detümesans

olmak üzere 5 faza bölünebileceği gösterilmiştir (19).

Detümesans, penil ereksiyonun sonlanmasını ve tekrar flask duruma geçişi tanımlamaktadır. Detümesans sırasında sırasıyla aşağıdaki olaylar gerçekleşir;

- Kavernöz düz kasın kasılması
- Arteryel akımda azalma
- Venöz geri dönüşün tam olarak ya pasif (intrensek düz kas tonusu ile) ya da aktif (artmış sempatik aktivite ile) veya her ikisi ile sağlanması sonucunda gerçekleşir.

İnsanda ereksiyon sırasında kavernöz düz kastaki elektriksel aktivite azalmakta, detümesans ile normale dönmektedir (20, 21).

1.2.4. Priapizm

Priapizm, cinsel uyarı olmaksızın uzamış istenmeyen ereksiyon halidir (22).

1.2.4.1. Epidemiyoloji ve Etiyoloji

Priapizm, insidansı bütün yaş guruplarında 1.5/100.000'dir. Tipik olarak insidans 5-10 yaş arasında ve 20-50 yaş arasında iki kez pik yapar. Çocukluk çağında en sık neden olarak hücre anemisi iken, erişkinlerde sıklıkla farmakolojik ajanlar nedeni ile priapizm gelişmektedir (8). Ancak priapizm uzamış noktürnal ereksiyonun sonucu olarak veya seksüel ilişki sonrasında da başlayabilmektedir. Etiyolojik faktörlerin ortak noktası ereksiyonun devamlılığında seksüel uyarının veya uyarının mevcut olmamasıdır (23). Priapizme neden olan faktörler Tablo 1.1' de özetlenmiştir.

Priapizmin sınıflandırılması patofizyolojisine göre; Düşük akımlı (iskemik), yüksek akımlı (iskemik olmayan), etyolojiye göre; primer, sekonder, idyopatik veya tekrarlamaya sıklığına göre; tekrarlayan, tekrarlamayan şeklinde yapılmaktadır. Günümüzde kabul edilen sınıflama ile priapizm 3 grupta incelenmektedir.

- 1- İskemik(düşük akımlı) priapizm,
- 2- Non-iskemik (yüksek akımlı) priapizm,
- 3- Tekrarlayan (rekürren) priapizm.

Tablo 1.1. Priapizme neden olan etiyolojik faktörler (23).

İdyopatik

İlaçlar

Antikoagülanlar

- Heparin
- Varfarin

Antihipertansifler

- Dihidralazin
- Guanetidin
- Labetolol
- Nifedipin
- Fenoksibenzamin

Antidepresanlar

- Fenelzin
- Trazodon
- Hipnotikler
- Klozapin
- Diazepam

Alfa adrenerjik reseptör blokerleri

Tamsulosin (24)

Doksazosin (25)

Terazosin (26)
Prazosin (27)
Bağımlılık yapıcı maddeler
Kokain
Etanol
Marihuana
İntrakavernozal enjekte edilebilen ilaçlar
Papaverin
Prostoglandin E1
Sildenafil sitrat (28)
Testosteron (29)

Hematolojik bozukluklar

Orak hücreli anemi
Lösemi
Multiple myelom
Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri
Talasemi
Trombositopeni
Henoch-Schonlein purpurası

Metabolik bozukluklar

Amiloidozis
Fabry Hastalığı
Gut
Diyabet
Nefrotik sendrom
Böbrek yetmezliği
Hemodiyaliz sendromu
Hiperlipidemik total parenteral beslenme sendromu

Travma

Tümörler (primer veya metastatik)

Nörolojik bozukluklar

1.2.4.2. Priapizm Patofizyolojisi

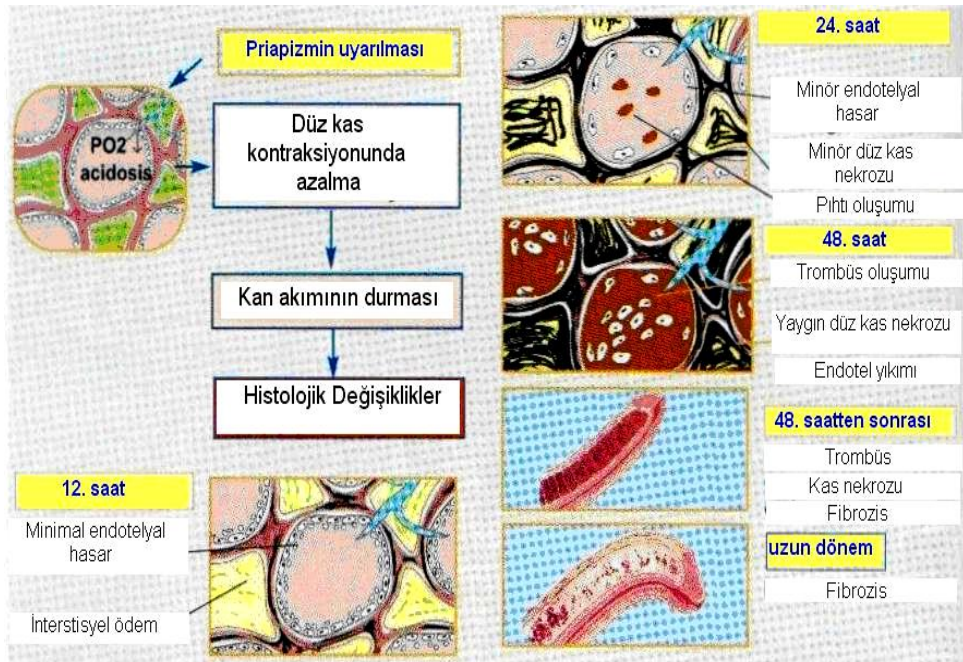
Arteriyel veya veno-oklüzif mekanizmayı etkileyen, penil hemodinamideki uyumsuzluk priapizm ile sonuçlanmaktadır (8). Bu mekanizma her iki tip priapizmi de (düşük ve yüksek akımlı) açıklamaktadır.

Kavernozal dokuların iskemik hasarı erektil disfonksiyona neden olacağından dolayı iskemik priapizmin erken değerlendirilmesi ve tedavisi önemlidir. Bu nedenden dolayı priapizmin tipinin belirlenmesi hayati önem taşımaktadır.

İskemik (veno-oklüzif, düşük akımlı) priapizm en sık görülen tiptir. İskemik priapizmi tanımlamada ereksiyon süresi tartışmalıdır. Bununla birlikte, deneysel ve klinik çalışmalar göstermiştir ki, hipoksi ve asidoz 4 saat sonra kavernoza fibrozise neden olmaktadır ve bu süreden önce priapizmin tedavi edilmesi kavernoza fibrozisi

önleyebilmektedir (30, 31, 32). İskemik priapizm rijid ve ağrılı ereksiyon ile karakterizedir. Kavernoza kan gazı analizlerinde sıklıkla hipoksi, hiperkapni ve asidoz ile bulunmaktadır. İskemik priapizmde, kavernoza düz kasta ultrastrüktürel değişiklikler 12 saat sonra, fokal nekroz 24 saat sonra, son olarak geniş nekroz ve fibroblast benzeri hücrelerin transformasyonu ise 48 saat sonra görülmektedir (33). Tedavi edilmezse veya tedavide geç kalırsa (>24 saat) kavernoza düz kaslarda nekroz, irreversibl korporal fibrozis ve erektil disfonksiyon meydana gelmektedir (Şekil 1.10) (25).

Non-iskemik (arteriyel, yüksek akımlı) tip, priapizmin daha az görülen tipidir ve düzensiz kavernoza kan akımı nedeniyle oluşmaktadır. Bu tip sıklıkla kavernoza arter veya dallarından birinin korpus kavernoza içine rüptürü sonucu meydana gelmektedir (34). Ayrıca intrakavernoza tedavi sırasında kavernoza arterin iğne ile laserasyonunun da yüksek akımlı priapizme neden olduğu rapor edilmiştir (35). Travma sonrası, düzensiz arterial akım, direkt olarak lakunar alanlara girmektedir. Bunun sonucu kavernoza sinüslerde kan göllenmekte ancak subtunika venüllerin kompresyonu tümensanı tamamiyla önlemek için yeterli düzeyde olmamaktadır (36). Bu nedenden dolayı ereksiyon genellikle ağrısızdır ve korpus kavernoza rijit değildir. Kavernoza kan analizi normal arterial oksijen basıncını gösterir; asidoz ve hipoksi yoktur. Aspirasyon kan rengi açık kırmızıdır ve acil tedavi gerekli değildir.



Şekil 1.10. Düşük akımlı priapizmde patofizyolojik değişiklikler (15).

Üçüncü tip olan tekrarlayan priapizm oldukça ender görülmektedir ve istenmeyen ağrılı ereksiyon epizodları arasında detümesans periyotları ile seyretmektedir. Sıklıkla idiopatik olmakla beraber daha fazla iskemik olma eğilimindedir. Özellikle çocuklarda orak hücre anemisi ile ilişkili olabilir (37).

1.2.4.3. Tanı

Priapizm tanısı sıklıkla klinik olarak kolaylıkla konur. Anamnez, fizik muayene ve gerektiğinde yapılacak laboratuvar incelemeler ile etyolojinin saptanması mümkündür. Anamnez sırasında sorgulanması gereken en önemli parametrelerden birisi priapizmin süresidir. Dört saatten daha uzun süren priapizm olgularında kavernoza fibrozis daha sık gelişmekte ve erektil disfonksiyon sıklığı artmaktadır. Sıra dışı vakalarda ise penil nekroz görülebilmektedir (4). Ağrının varlığı düşük akımlı ve yüksek akımlı priapizmin ayırıcı tanısında faydalı olabilir. Yüksek akımlı priapizm sıklıkla ağrısız olmaktadır.

İdiyopatik priapizm ile başvuran hastalarda, mutlaka hematolojik diskrazi, malignensi, yüksek doz antidepressan, psikoaktif ilaç kullanımı araştırılmalıdır.

Düşük akımlı priapizm ile yüksek akımlı priapizmin ayırımı sağlayacak en önemli inceleme intrakorporeal kan gazı analizidir. Düşük akımlı ve yüksek akımlı priapizm ayırımı tablo 1.2'de özetlenmiştir (1, 8, 23).

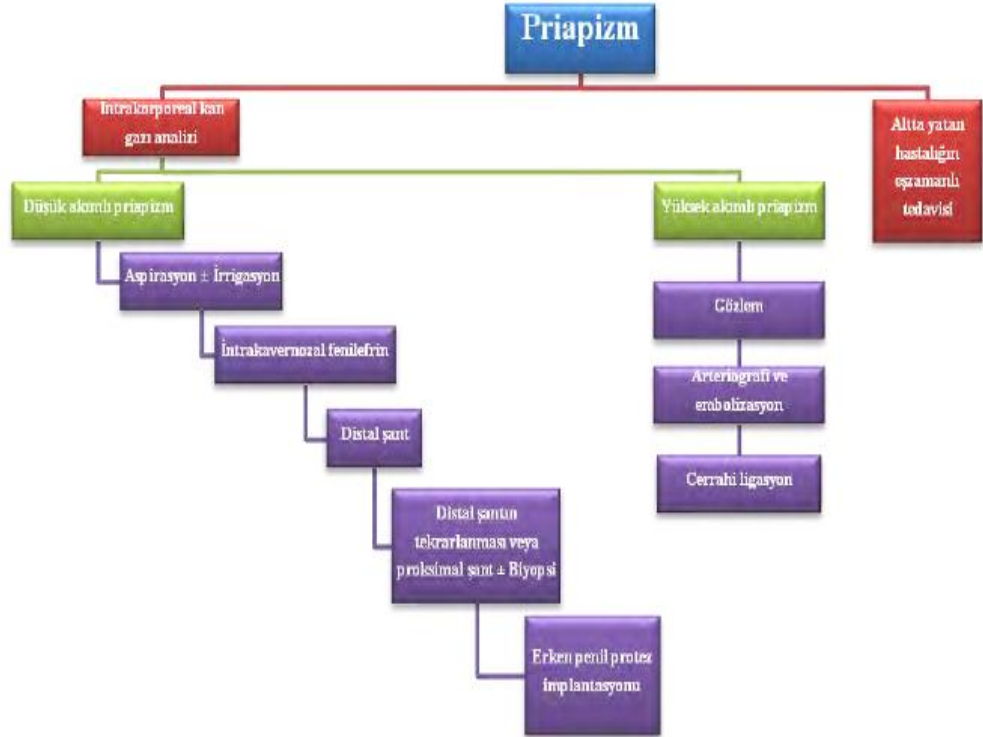
Tablo 1.2. Düşük ve yüksek akımlı priapizmin ayırıcı tanısında ölçütler (1, 8, 23).

	Yüksek akımlı priapizm	Düşük akımlı priapizm
pO₂	>30 mmHg	<30 mmHg
pCO₂	<60 mmHg	>60 mmHg
pH	>7.25	≤7.25
Ağrı	-	++
Pulsasyon	++	-
Palpasyon	Elastik	Rijid
Arteriyel akım	Yüksek	Düşük
Venöz akım	Var	Yok
Viskozite	Düşük	Yüksek

1.2.4.4. Tedavi

Düşük ve yüksek akımlı priapizm ayırımı yapıldıktan sonra tedavi seçeneği belirlenmektedir (Şekil 1.11).

Düşük akımlı priapizm kavernoza dokuda iskemi ve buna bağlı erektil disfonksiyona neden olabileceğinden acil müdahale gerektirmektedir. Düşük akımlı priapizm tanısı konar konmaz 19 G kelebek iğne ile korpus kavernoza aspirasyonuna başlanmalıdır. Aspirasyon ile irrigasyon uygulanabilir. Aspirasyon ile ağrı azalır, intrakavernoza basınç düşer ve kavernoza düz kasların yeniden oksijenlenmesi sağlanmış olur. Bu tedavinin yaklaşık %30'luk bir başarı oranı vardır. On dakikalık bir detümesanstan sonra başarılı olunamazsa alfa-adrenerjik bir ajan intrakavernoza olarak uygulanmalıdır. Uygulanabilecek alfa-adrenoreseptör agonistleri ve diğer ilaçların dozları Tablo 1. 3' te özetlenmiştir. Bu tedavi, cerrahi yöntemlere geçmeden önce detümesansı sağlamak için 1 saat boyunca tekrarlanmalıdır (1, 38).



Şekil 1.11. Priapizmin tedavi algoritması (39).

Tablo 1.3. Priapizm tedavisinde kullanılabilecek çeşitli ilaçlar, dozları ve uygulama yöntemleri (1, 38).

İlaç	Doz
İntrakavernozal uygulama	
Alfa-adrenoseptör agonistleri	
Epinefrin	0.03-0.05 mg
Etilnefrin	2-20 mg
Fenilefrin	0.1-1 mg
Norepinefrin	0.01-0.02 mg
Metilen mavisi	50 mg
İntravenöz/oral uygulama	
Dopamin	2-4µg/kg i.v.
Terbütalin sülfat	5 mg oral
Ketamin hidroklorür	1 mg/kg i.v. veya i.m.

Konservatif tedavi ile detümesans sağlanamaz ise cerrahi tedavi uygulanmalıdır. Cerrahi tedavide amaç korpus kavernozum ile glans penis (korpus spongiozum) arasında veya korpus kavernozum ile venöz dolaşım arasında bir şant oluşturmaktır (8). Korpus kavernozum ile glans penis arasında şant oluşturmanın en kolay yöntemi Winter prosedürüdür. Bu uygulamada bir biyopsi iğnesi glans penisten korpus kavernozumuna kadar ilerletilir (40, 41, 42, 43, 44). Başarısız olunan vakalarda daha kesin bir şant oluşturmak gereklidir. Grayhack'ın tanımladığı kavernosafenoz şant veya Quackles tarafından tanımlanan kavernospongioz şantlar uygulanabilir (45, 46). Son olarak 2009 yılında Tom Lue ve arkadaşları tarafından oluşturulan ve diğer tüm distal ve proksimal şantların yerini alma potansiyeli olan T şantları tanımlanmıştır. Bu prosedürde on numara bistüri, glans penisten aynı taraftaki korpus kavernozumuna kadar ilerletilir ve daha sonra üretranın aksi yönüne 90 derece çevrilir (47). Cerrahi dekompresyon tekniklerinin başarı oranları yaklaşık %75'tir (38).

Rees ve arkadaşları, konvansiyonel tedaviye yanıtız priapizm vakalarına acil penil protez implantasyonu uygulamasını önermişlerdir. Hastalarda, erken komplikasyon gözlenmediği, hastaların tamamının sonuçtan memnun olduğu ve

büyük çoğunluğunun seksüel olarak aktif olduğu, penil uzunluğun korunabildiği bildirilmiştir (48).

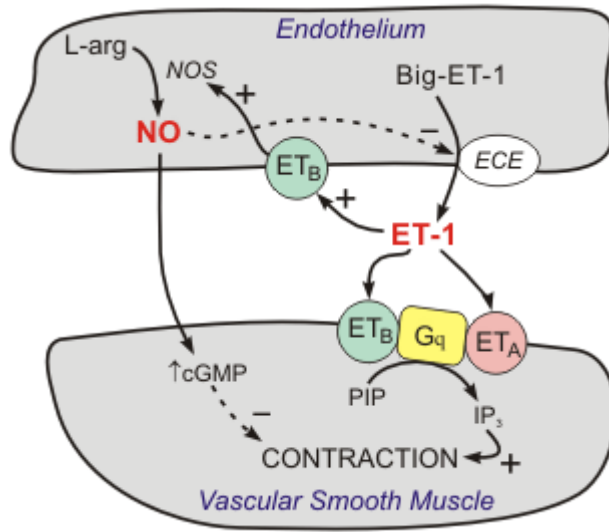
1.2.5. Endotelin reseptör blokeri (Bosentan)

Endotelin, endotel hücrelerinden salınan vücudun en güçlü vazokonstriktör maddelerinden biridir. Endotelin-1 (ET-1), endotelin dönüştürücü enzim tarafından prepro ET-1'den sentezlenen 21 amino asitli bir peptiddir ve upregülasyonu, düz kas vazokonstriksiyonuna ve hipertrofisine ayrıca fibrozis ve inflamasyona katkıda bulunur (49, 50). ETA ve ETB olmak üzere iki farklı guanin nükleotid bağlayıcı (G) proteine bağlanan reseptörü vardır. Bu iki reseptörün yerleşim yerleri ve endotelin peptidleri bağlama affiniteleri değişiktir (50, 51, 52). ETA reseptörleri esasen damar düz kas hücrelerinde bulunur ve vazokonstriksiyonu uyarır. 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 (49, 51, 53, 54). ETB reseptörleri ise esasen endotelial hücrelerde bulunur ve NO ve PGI₂ üretimini artırmak yoluyla vazodilatasyona ve antiproliferatif etkilere yol açar (50, 54). Fizyolojik koşullar altında ETB reseptörü vazodilatatör cevaba aracılık etmektedir.

Hipoksi gibi patolojik şartlarda ET-1 salınımı artar ve ET-1, ETB reseptörleri üzerinden düz kas relaksasyonu yapar (55) (Şekil 1.12).

Ro 47-0203 veya 4-tert-butyl-N-[6-(2-hidroxy-ethoxy)-5-(2-methoxy-phenoxy)-2, 2-brimidin-4-yl]-benzenesulfonamide olarak da adlandırılan bosentan, her iki endotelin reseptörünü de (ETA, ETB) bloke eder, endotelin için son derece spesifiktir ve oral olarak aktiftir. Bosentan endotelin reseptörlerinin mikst ve kompetitif bir antagonistidir.

Bosentan insan düz kas hücreleri ve rat mezenşiyal hücrelerindeki ETA reseptörlerine bağlanmak için I125- işaretli E1 ile eşit güçte yarışır. %90'dan fazla ETB reseptörü içeren insan plasenta membranları gibi dokularda bosentan, ETA reseptörü taşıyan hücrelerdekinden 20-30 kat daha düşük potens gösterir (49, 50, 51, 52).



Şekil 1.12. Endotelin reseptörü çalışma mekanizması (55).

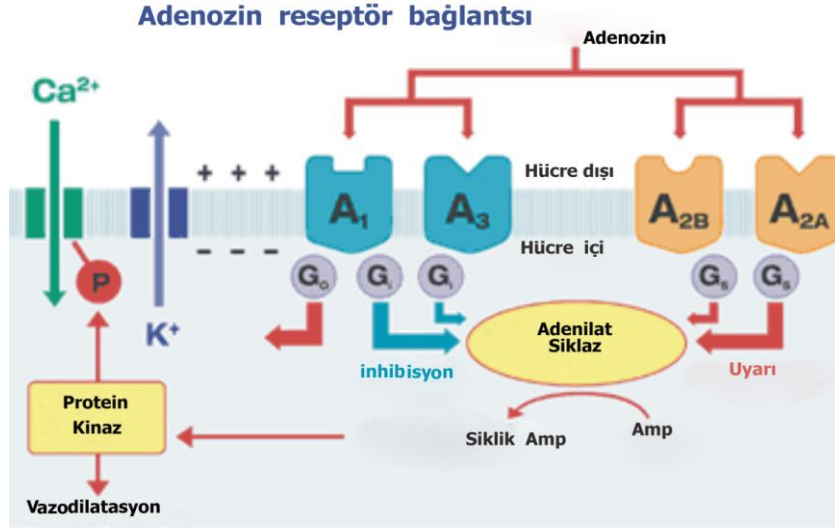
1.2.6. Teofilin (adenozin reseptör antagonisti)

Adenozin, ATP'den sentezlenen ve pek çok metabolik olayda etkin olan bir moleküldür. Özellikle hipoksi durumunda, artan oksijen ihtiyacına karşılık bir savunma mekanizması olarak vasküler dokularda kontraksiyon ya da relaksasyon yaparak etkin rol oynamaktadır. Dolayısıyla iskemik bir kompartman sendromu olan priapizmde, adenozinin de etkin olabileceği bildirilmiştir (56). Hipoksik ortamda, artan oksijen ihtiyacına bağlı olarak ekstrasellüler ortamda ATP'den CD39 ve CD74 enzimleri ile adenozin ortaya çıkmaktadır.

Yine hücre içinde de sitokrom 5'-nükleotidaz enzim katalizörlüğünde AMP'den adenozin sentezlenmektedir. İntrasellüler ve ekstrasellüler adenozin seviyesi equilibrative nükleotit transporter (ENT) ile dengelenmektedir (56).

Adenozin fizyolojik etkilerini A_1 , A_2 , A_3 reseptörleri üzerinden yapmaktadır. A_2 reseptörü G5 proteinine bağlanarak adenilat siklazı (AC) aktive etmektedir. Sonuç olarak aktive adenilat siklaz ATP'nin cAMP'ye dönüşümünü sağlayarak, A_2 reseptörü aracılığı ile düz kasta relaksasyon yapmaktadır. A_1 reseptörü G1 ve G0, A_3 reseptörü ise G1 ve Gq proteinlerine bağlanarak, ATP'den cAMP oluşumunu aktive eden adenilat siklazı inhibe etmekte ve azalan cAMP düz kasta kontraksiyona eğilimi arttırmaktadır. Teofilin, hücre içindeki siklik nükleotidlerin parçalanarak hücre içi siklik adenozin monofosfat (cAMP) ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeyi artışına neden olan fosfodiesteraz enziminin (PDE) nonselektif inhibitörüdür (57). Bu yolla cAMP artışı olur ve düz kasta dilatasyon meydana gelir. Teofilin aynı

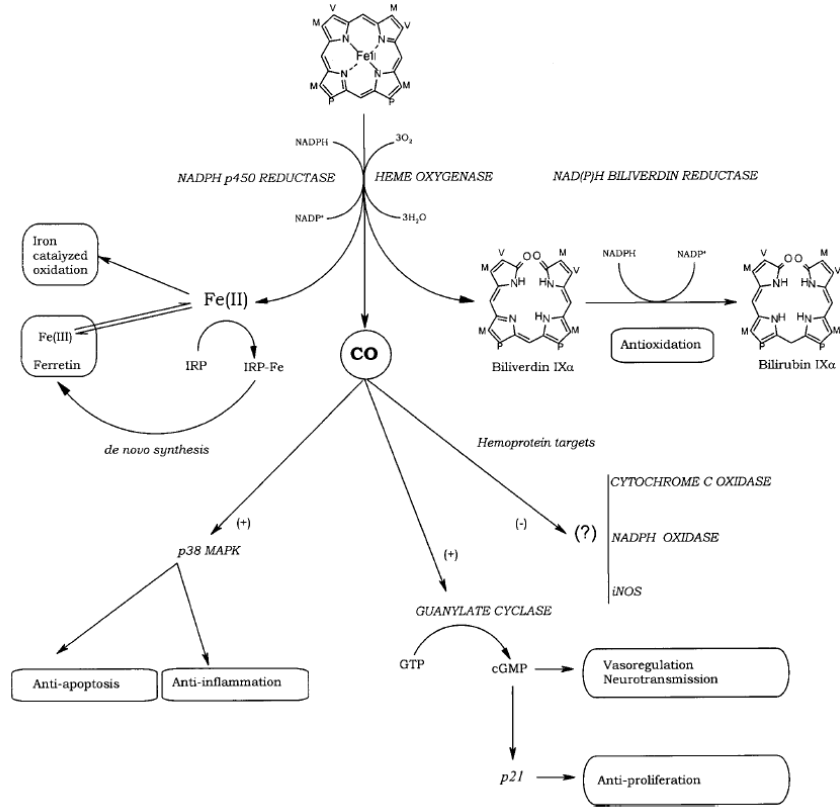
zamanda adenozin reseptör antagonistedir. Adenozin düz kas hücrelerinde Adenozin₂ reseptörü aracılığı ile cAMP düzeyini artırır bu da gevşemeye neden olur (Şekil 1.13) (57). Teofilin Adenozin₁ ve Adenozin₂ reseptörlerine, A₃ reseptörlerinden daha fazla etki göstermektedir.



Şekil 1.13. Adenozinin, adenozin reseptörleri üzerinden etkinliği, (A₁: Adenozin A₁ reseptörü, A_{2A}: Adenozin A_{2A} reseptörü, A_{2B}: Adenozin A_{2B} reseptörü, A₃: Adenozin A₃ reseptörü) (56)

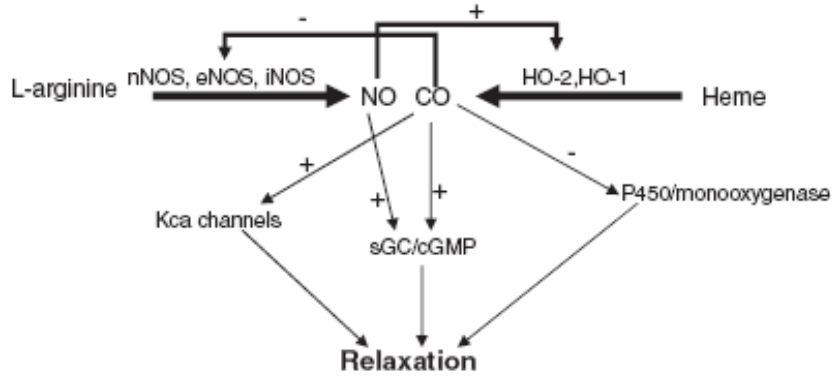
1.2.7. Hemoksijenaz-1 enzim inhibitörü (Zn protoporfirin)

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 (59). Heme proteini, endotel ve düz kasta bulunan hemoksijenaz (HO) enzimi aracılığı ile yıkılmaktadır. Hemoksijenaz enziminin HO₁, HO₂ ve HO₃ olmak üzere 3 izoformu bulunup, insanlardaki en önemli izoform HO₁'dir. Hipoksi, stres ve reaktif oksijen ürünlerinin varlığında HO₁ düzeyi artmakta ve HO₁ heme proteinini yıkarak CO, Fe(II) ve biliverdinin açığa çıkmasına neden olmaktadır (59) (Şekil 1.14).



Şekil 1.14. Heme protein yıkımı ve metabolitlerinin etkileri (59).

Oluşan CO, NO benzeri bir gazotransmitter olup bazı hücrel fonksiyonları regüle etmektedir. Ancak CO yarı ömrü NO'ye oranla oldukça kısadır. İskemi sonucu artan HO1 aktivitesi ile ortaya çıkan CO, guanilat siklazı aktive ederek c-GMP artışına yol açıp, K kanal aktivitesini artırarak ya da sitokrom p450 monoooksijenaz yolunu inhibe ederek düz kas relaksasyonuna neden olmaktadır (60). Ayrıca CO ile NO arasında da çeşitli feedback mekanizmalarıyla karşılıklı etkileşim söz konusudur (59) (Şekil 1.15.).



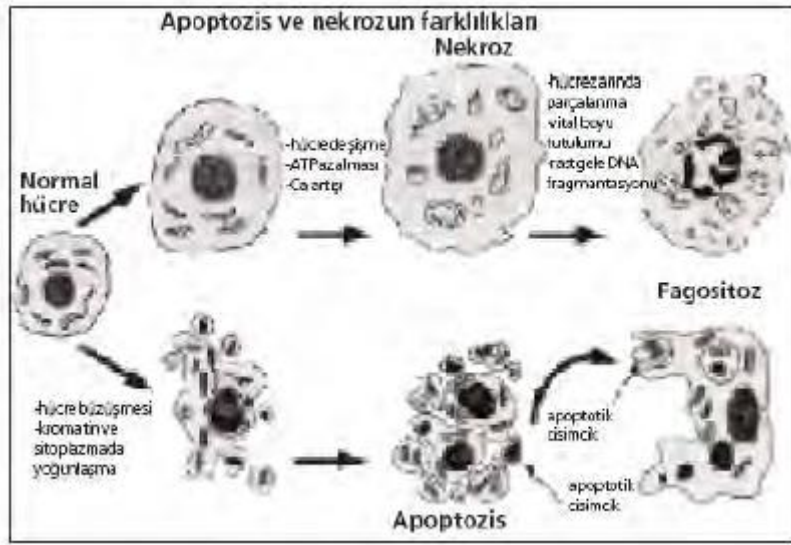
Şekil 1.15. NO ve CO karşılıklı etkileşimleri (59).

Deneysel priapizm modellerinde artmış HO1-CO etkinliğinin geç dönem priapizmde rol oynayabileceği bildirilmiştir (59). Jin YC ve arkadaşları özellikle ratlarda oluşturulan deneysel priapizm modellerinin 24 saatlik geç dönemlerinde kavernoza dokuda HO1 aktivitesini kontrol grubuna göre altı kat yüksek oranlarda belirlemişlerdir (60). Artmış olan bu HO1 aktivitesinin de, kavernoza dokuda yüksek oranlarda ortaya çıkarttığı CO'in, priapizmin geç dönemlerinde etkin olabileceğini bildirmişlerdir (60). Bu deneysel çalışmalar esas teşkil etmek üzere geç dönem priapizmde, bir savunma mekanizması olarak ortaya çıkmış olan HO1-CO yolağının bloke edilmesinin tedavide kullanılabileceği gündeme gelmiştir. Özellikle HO1'in, tin-protoporfirin ve Zn-protoporfirin gibi klasik metalloporfirinlerle non-selektif olarak, imidazol-dioksolonaz gibi yeni grup kimyasal bileşiklerle selektif olarak inhibe edildiği ve bunların priapizmde koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir (58). Ünüş ve arkadaşları deneysel priapizm modellerinde, Zn-protoporfirin'in kavernoza düz kas kontraksiyonunu arttırdığını belirlemişlerdir (61). Dolayısıyla bu geç dönem priapizm tedavisinde HO1 inhibitörlerinin kullanılması açısından umut vericidir.

1.2.8. Apoptozis

Apoptozis; Wyllie, Kerr ve Currie tarafından hücre büzülmesi ve nükleer kondensasyonla seyreden hücre ölümünü tanımlamak için yunanca "dökülen yaprak" anlamına gelen kelimedenden türetilmiştir (62). Apoptozis ya da programlı hücre ölümü bütün çok hücreli canlılarda organ boyutunun sabit kalması için durmadan yenilenen dokularda hücre proliferasyonunun kontrolünü tanımlamaktadır (63). Programlı hücre ölümü sadece apoptozis terimini içermemektedir. Programlı hücre ölümü apoptozis, apoptozis benzeri programlanmış hücre ölümü ve nekroz benzeri programlanmış hücre ölümü olmak üzere 3 başlıkta incelenmektedir.

Apoptozis, nekrozdan oldukça farklıdır (64) (şekil 1.16). Nekrozda akut hücre hasarını takiben hücre ve organellerinin şişip lizise uğradığı pasif ve patolojik bir hücre ölümü söz konusudur.



Şekil 1.16. Apoptozis ve nekrozun morfolojik farklılıkları (64).

Nekroz sırasında hücrenin su ile şişerek patlaması sonucunda hücre içeriğindeki moleküllerin ortama çıkması ile inflamatuvar yanıt oluşur. Apoptozis ise nekroza farklı olarak aktif işlev gerektiren genetik kontrollü bir süreçtir. Apoptozis sırasında hücre büzülür ve 1 saatten kısa bir sürede hacminin %30'unu kaybeder. Mitokondriyum morfolojik olarak sağlamdır, ancak burada hasarlanan asıl hedef organel hücre çekirdeğidir. Nükleusta kromatin yoğunlaşır ve deoksiribonükleik asit (DNA) parçalanır. Bu DNA parçaları hücre zarı ile kaplıdır (apoptotik cisimcikler) ve çevredeki hücreler tarafından fagositoz ile uzaklaştırılır. Apoptozis sırasında hücre içeriği membranla kaplı olduğundan inflamatuvar yanıt gelişmez. Apoptozun aşırı olduğu durumlarda ortamdaki makrofajlar apoptotik cisimcikleri yeterli fagositozla temizleyemezlerse bunlar degrade olarak ikincil nekroza uğrayabilirler ve inflamasyona yol açabilirler (65). Programlanmış hücre ölümü, embriyogenezis, organ involüsyonu (örneğin, timus), immünolojik reaksiyonlar ve diferansiye hücrelerin yaşam sürelerinin sonlanması gibi birçok fizyolojik olayda yer almaktadır (66). Ayrıca değişik hücre tiplerinde farklı çevresel uyarılar apoptozisi başlatabilir. Hemen tüm hücrelerde iyonizan radyasyon, inflamatuvar sitokinler, oksidatif stres, redoks potansiyelinde değişiklikler, büyüme faktörleri veya trofik faktörlerin ortamdaki kaybolması, mekanik stres apoptozisi başlatabilir (65, 66, 67). Apoptozis reaktif oksijen radikalleri ile uyarılabilir. Antioksidan enzimlerin azalması, apoptozisin uyarılmasından sorumlu hücre içi reaktif oksijen radikallerinin artışına neden olabilir (65).

1.2.8.1. Apoptozisin saptanması

Apoptozis ile ilgili çalışmalar hızla artmasına karşın apoptozisi saptamak ve değerlendirmek pek kolay olmamaktadır (67). Özellikle tek bir hücrede apoptozis olayı saatler içerisinde geliştiğinden, apoptotik süreçteki hücreyi morfolojik olarak tanımak ve kantifiye etmek zordur (68). Apoptotik hücredeki morfolojik değişiklikleri saptamak için ışık mikroskobu, elektron mikroskobu ve akım sitometrisi (flowcytometry) kullanılmaktadır. Yine çeşitli sitoplazmik değişikliklerin saptanması (örneğin kaspaz aktivitesinin, hücreye kalsiyum akışının veya mitokondri disfonksiyonun ölçülmesi) membran değişikliklerinin belirlenmesi (örneğin, membran geçirgenliğinin değişmesi) apoptozis sürecinde veya regülasyonunda görevli çeşitli proteinlerin kandaki veya dokudaki düzeyinin ölçülmesi (örneğin, Bcl2/Bax oranı), DNA parçalanmasının çeşitli özel immünohistokimyasal boyalarla saptanması bu yöntemler arasında sayılabilir. Bütün bu yöntemler içinde en sık rastlanan yöntemler DNA'daki değişikliklere dayalı olan DNA agarose gel electrophoresis ve terminal deoxytransferase mediated bio-dUTP Nick and Labeling (TUNEL) boyası ile formalinde veya Bouine solüsyonunda fikse edilmiş materyalde yapılan mikroskobik incelemedir (69).

1.2.9. Priapizm ve Apoptozis

Düşük akımlı priapizm sırasında kavernoza dokuda iskemi gelişmektedir. İskemiye bağlı olarak kavernoza dokularda hasar oluşmakta ve bu da fibrozise neden olarak erektil fonksiyonu bozmaktadır. Öte yandan konservatif tedavi veya cerrahi ile tedavi edilen olgularda da kavernoza fibrozis gelişmektedir (70). Düşük akımlı priapizmde uygulanan aspirasyon/ α -adrenerjik ajan veya cerrahi girişim ile göreceli yüksek basınçlı oksijen kavernoza dokuya ulaşarak süperoksit radikallerinin oluşmasına neden olmaktadır. Süperoksit radikalleri oksidatif stres oluşumuna neden olmakta ve yaygın apoptozis gelişimine yol açmaktadır. Yaygın apoptozis, inflamatuvar yanıt ve fibrozis ile sonuçlanmaktadır (65, 70).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanları

Ratlarda deneysel düşük akımlı priapizm modeli oluşturmak için Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan onay alındı. Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, ortalama ağırlığı 271.25 ± 26.9 g olan 24 adet yetişkin (3, 5 aylık) Sprague Dawley sıçanlar kullanıldı. Bütün deney hayvanları vivaryumda 12 saatlik gece/gündüz düzeninde, $20 \pm 2^\circ\text{C}$ oda sıcaklığında ve $\%50 \pm 10$ nemli ortamda barındırıldı. Sıçanlar standart sıçan yemi ile beslendi. Deney hayvanlarına yem ve su kısıtlaması uygulanmadı, ancak deney günlerinde anestezi uygulamasından önce 2 saat süreyle yem ve su verilmedi.

Sıçanlar rastgele aşağıdaki 4 gruba ayrıldı.

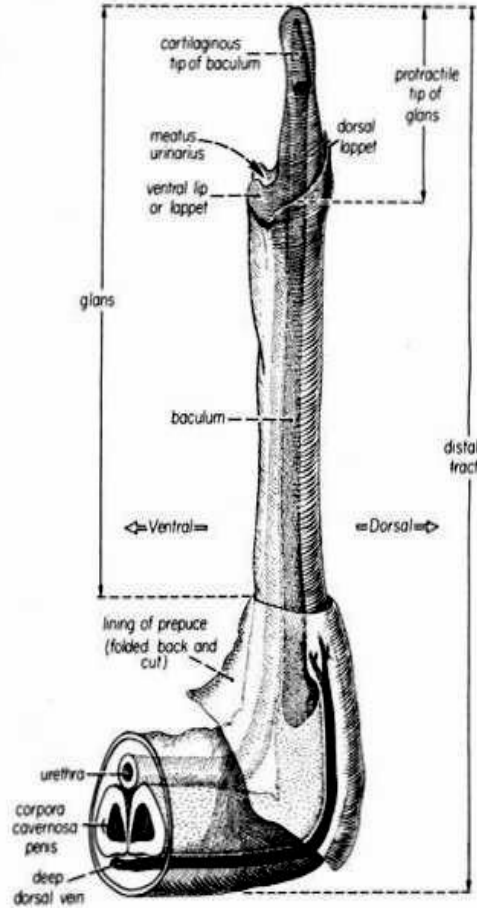
Grup I: Priapizm Kontrol Grubu

Grup II: Bosentan verilen Priapizm Grubu

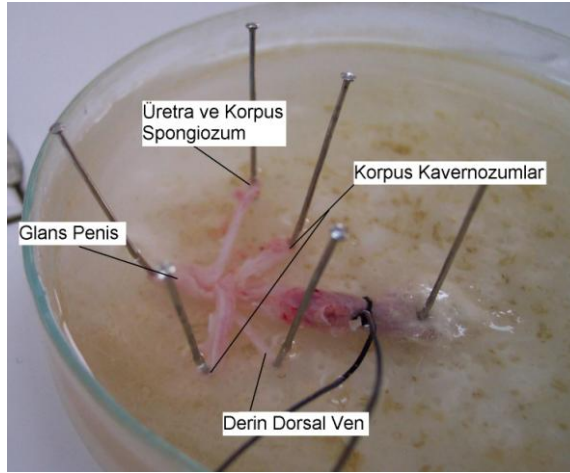
Grup III: Teofilin verilen Priapizm Grubu

Grup IV: Zn-protoporfirin verilen Priapizm Grubu

Bütün gruptaki sıçanlarda anestezi altında vakum yöntemi ile ereksiyon oluşturuldu ve penis köküne lastik klemp yerleştirilerek ereksiyonun 4 saat devamlılığı sağlandı. Tüm gruptaki sıçanların penis köküne yerleştirilmiş olan lastik klemp 4. saatin sonunda çözüldü. Birinci gruptaki sıçanlara herhangi bir ilaç veya kimyasal madde verilmedi ve 6 saat sonra penis rezeke edildi. İkinci grup sıçanlara ise 0.25 mg/kg bosentan (i.p.) verildi ve 6 saat sonra penis rezeke edildi. Üçüncü grup sıçanlara ise 100 mg/kg teofilin (i.p.) verildi ve 6 saat sonra penis rezeke edildi. Dördüncü grup sıçanlara ise 25 mg/kg Zn-protoporfirin (i.p.) verildi ve 6 saat sonra penis rezeke edildi. Diseksiyon plağına alınan penis tesbit edilerek diseksiyon mikroskobu yardımı ile proksimalden üretra tanımlandı. Üretra, korpus spongiosum, glans penis ve derin dorsal ven diseke edilerek korpus kavernozumlar izole edildi (Şekil 2. 1, 2. 2).



Şekil 2.1. Rat penis anatomisi grafik (71).



Şekil 2.2. Mikrocerrahi diseksiyon sonrası rat penis anatomisi

Alınan dokuların yarısı histopatolojik değerlendirme için, diğer yarısı da Western blot değerlendirme için ayrıştırıldı.

2.2. Deney Sırasında Kullanılan Anestezi

Deneyler sırasında her türlü cerrahi girişim anestezi altında uygulandı. Bu amaçla deney hayvanlarının cerrahi anestezi derinliğine ulaşması beklendi. Sedatif

ve düz kas gevşetici olarak ksilazin hidroklorid (Rompun %2, Bayer, Türkiye) 10 mg/kg (i.p.) dozunda uygulandı. Dissosiyatif anestezik olan ketamin hidroklorür (Alfamine %10, Ege Vet, Türkiye) 50-60 mg/kg (i.p.) dozunda uygulandı.

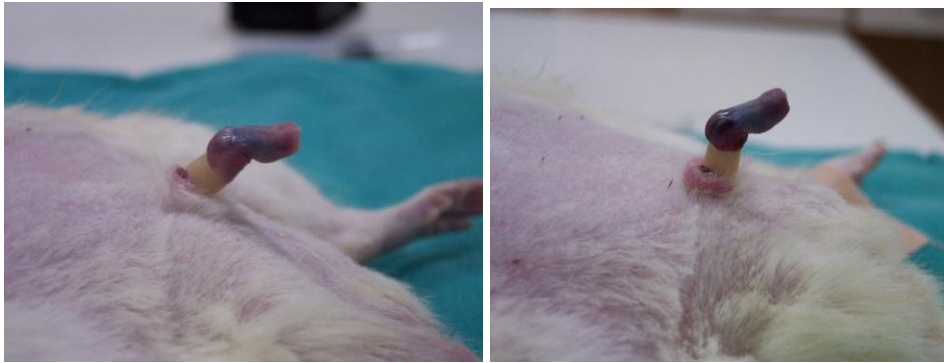
2.3. Ereksiyon ve Priapizmin Oluşturulması

Deney hayvanlarında ereksiyon oluşturma için vakum yöntemi kullanıldı. Vakum oluşturmak için ucu genişletilmiş çam uçlu enjektör kullanıldı. Deney hayvanlarına anestezi uygulandıktan sonra, penis tanımlanarak prepişyum retrakte edildi ve çam uçlu enjektör ucuna yerleştirilip vakum oluşturmak için enjektörün pistonu 20cc çekildi (Şekil 2. 3).



Şekil 2.3. Vakum ile ereksiyon oluşturulması

Ereksiyon oluşturulduktan sonra venöz geri dönüşün engellenmesi ve priapizm gelişmesi için penis proksimaline lastik klemp yerleştirildi. Şekil 2.4'de ereksiyon oluşturulduğunda ve 4 saat sonrası görülmektedir.



A

B

A: Priapizm oluşturulduktan hemen sonra,

B: Priapizm oluşturulduktan 4 saat sonra

Şekil 2.4. Priapizm oluşturulması

2.4. İlaçlar

Endotelin Resptör Blokeri (Bosentan) (Sigma, USA), Adenozin reseptör blokeri (Teofilin) (Sigma, Türkiye), HO-1 inhibitörü (Zn-protoporfirin) (Sigma , Germany).

İlaçlardan bosentan distile suda, teofilin ve Zn-protoporfirin dimetilsülfoksit'e çözünerek hazırlandı.

2.5. TUNEL Metodu

Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi.

TUNEL boyama metodu:

Lamlar, gece boyu (12saat) 37°C'lik etüvde bekletildikten sonra deparafinizasyona alındı. Bu amaç ile;

Deparafinizasyon ve rehidratasyon:

1. Oda ısısında 15 dakika ksilene daldırıldı. Taze ksilen kullanarak 2. kez 15 dakika inkübe edildi.

2. Oda ısısında 5 dakika %100 etanole daldırıldı. Taze etanol kullanarak 2. kez 5 dakika inkübe edildi.

3. Oda ısısında 5 dakika %90 etanole daldırıldı.

4. Oda ısısında 5 dakika %80 etanole daldırıldı.

5. Oda ısısında 5 dakika %70 etanole daldırıldı.

6. Kısaca 1XTBS(Tris buffer saline) ile durulandı ve spesimenin etrafı dikkatle kurulandı.

Spesimenin geçirgenliğini arttırmak amacıyla:

1. 2 mg/ml proteinaz K 10 mM Tris PH8 içinde 1:100 dilüe edildi.(Lam başına 2mg/ml Protenaz K'nın 1 mikroL 'si 10mM Tris'in 99mikroL'sine eklenerek karıştırıldı.)

2. Spesimenin tamamı 20 mikrog/ml proteinaz K'nın 100mikroL ile kaplandı. Oda ısısında 20 dakika inkübe edildi. İnkübasyon süresinin aşılmasına dikkat edildi. Kurumasına izin verilmedi.

3. 1X TBS (Tris buffer saline) ile durulandı.

Endojen Peroksidaz inaktivasyonu aşamasına geçildi;

1. %30 luk H₂O₂ metanol içinde 1:10 dilüe edildi.(Lam başına 10 mikrol %30 H₂O₂ ile 90 mikrol metanol karıştırıldı.)

2. 100mikrol %3 H₂O₂ ile spesimen kaplandı. 5 dakika oda ısısında inkübe edildi. Bu aşamada da inkübasyon süresine uyuma özen gösterildi.

3. 1X TBS (Tris buffer saline) ile durulandı.

4. Dikkatlice fazla olan sıvı alındı ve spesimen etrafı kurulandı.

Dengeleme ve İşaretleme reaksiyonu için;

1. 5X TdT dengeleyici tampon 1:5 oranında dH₂O ile dilüe edildi. (Lam başına 20mikroL 5X tampon ile 80 mikroL dH₂O karıştırıldı.)

100mikroL 1X TdT dengeleyici tampon ile spesimen kaplandı. 10-30 dakika oda ısısında inkübe edildi.

Bu esnada işaretleme reaksiyonu karışımı hazırlandı (Lam başına 57.0mikroL TdT işaretleme reaksiyon karışımı ve 3.0 mikroL TdT enzimi buzdaki mikrofütj tübüne transfer edildi ve hafifçe karıştırıldı.)

Lamların kurumamasına dikkat edildi.

2. Dikkatle spesimendeki 1X TdT dengeleyeci tampon kurutma kağıdı ile alındı. Spesimene dokunmamaya dikkat edildi.

3. Hemen 60mikroL TdT işaretleme reaksiyon karışımı (daha önce hazırlanmış olan) spesimene uygulandı.

4. Lamdan daha geniş hazırlanmış olan parafin film ile spesimen kaplandı. Parafin filmin bir köşesi uzun bırakılarak daha sonra kaldırma ve yapıştırma esnasında kolaylık sağlandı.

5. Lamlar nemli ortama alınarak 37°C de 1, 5 saat inkübe edildi.

İşaretleme Reaksiyonunun sonlandırılması için;

2. Parafin film kaldırıldı, slide 1X TBS ile durulandı.

3. Spesimen 100mikroL stop solüsyonu ile kaplandı. Oda ısısında 5 dakika inkübe edildi.

4. 1X TBS (Tris buffer saline) ile durulandı.

5. Dikkatlice fazla olan sıvı alındı ve spesimenin etrafı kurulandı.

Tespit aşamasına geçildi;

1. Spesimen 100 mikroL bloklayıcı tampon ile kaplandı. Oda ısısında 10 dakika inkübe edildi.
2. 50X konjugat bloklayıcı tampon içinde 1:50 oranında dilüe edildi (Lam başına 2 mikroL 50X konjugat ile 98 mikroL bloklayıcı tampon karıştırıldı).
3. Bloklayıcı tampon kurutma kağıdı ile spesimene dokunmadan dikkatle alındı. Hemen 100mikroL dilue 1X konjugat spesimene uygulandı.
4. Lamlar nemli ortama alınarak oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.
5. İnkubasyonun bitmesine 5 dakika kala DAB solüsyonu hazırlandı.
(Her 10 lam için 1 tablet DAB ve 1 tablet H2O2/üre, 1ml TAP/FAUCET H2O içinde çözdürüldü.)
6. 1X TBS (Tris buffer saline) ile durulandı.
7. Fazla olan sıvı alındı ve spesimen etrafı kurulandı.
8. 100 mikroL DAB solüsyonu ile spesimen kaplandı. Oda ısısında 10- 15 dakika inkübe edildi.

9. Lamlar dH2O ile durulandı.

Zıt boyama için;

1. Hemen spesimen 100 mikroL metil green counterstain solüsyonu ile kaplandı.
2. Oda ısısında 3 dakika inkübe edildi.
3. Lamlar kenarından emici havluya değdirildi ve solüsyon emdirildi. Lam tutucu ile coplin kabına yerleştirildi.
4. Lamlar 2-4 defa %100 etanole daldırıldı.
5. Emici havlu ile kısa süre kurulandı.
6. Tekrar taze %100 etanole 2-4 kez daldırıldı.
7. Emici havlu ile kısa süre kurulandı.
8. Lamlar 2-4 defa %100 ksilene daldırıldı.
9. Lamların arkasında ve spesimenin etrafındaki ksilen temizlendi.
Spesimenlerin üstü entalan ve lamel ile kapatıldı.

Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskobunda (Olympus BH-2) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Metil green ile yeşile boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi.

TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde boyanmanın yaygınlığı esas alındı. TUNEL boyamanın yaygınlığı 0'dan +4'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (Tablo 2.2).

Tablo 2.1. TUNEL boyanma yaygınlığının derecesi

Derece	Anlamı
0	Yok
+1	Çok az
+2	Az
+3	Orta
+4	Şiddetli

2.6. Western Blot Analizleri

Sıçan korpüs kavernozum dokusu örneklerinin hazırlanmasında homojenizasyon yöntemi kullanıldı. Dokular 1:10 (w/v) oranında homojenizasyon solusyonunda {10mM Tris- HCl (pH=7.4), 0.1 mM NaCl, 0.1mM fenil metil sülfonil florid (PMSF), 5µM soybean (bir tripsin inhibitörü olarak)} mekanik homojenizatör (Ultraturax, IKA, Almanya) yardımıyla soğuk ortamda homojenize edildi. Homojenatlar soğutmalı santrifüjde (Hettich, Almanya) +4 °C'de 60 dakika süreyle 60.000 x g'de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar mikrosantrifüj tüplerine alınarak Western blot analizleri için -70 °C'de saklandı.

Western blot prosedürü; elektroforez işlemiyle poliakrilamid jelde göç ettirilen proteinlerin, nitroselüloz membrana transferi ve membrandaki proteinlerin immünolojik metotlarla gösterilmesini kapsar. Blotlama yapılmadan önce çalışılan örneklerdeki proteinler elektriksel ortamda poliakrilamid jel üzerinde göç ettirilmektedir. Proteinlerin elektroforezleri SDS-PAGE'de gerçekleştirilmektedir. Bu amaçla, elde edilen Sıçan korpüs kavernozum dokusu homojenatlarındaki protein konsantrasyonu; kit kullanılarak (Abcam, Cambridge, UK) daha önce bildirilen prosedüre göre saptandı (72). Homojenatların Western blot analizi bildirilen metodlara göre yapıldı (73, 74, 75).

Jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana (Schleicher and Schuell, Inc., USA), aktarımı (blotlama): SDS-PAGE tamamlandıktan sonra poliakrilamid jel blotlanmak üzere alındı. Nitroselüloz membrana transferin gerçekleştirilmesi için poliakrilamid jel ile nitroselüloz membran yüzeyleri arasında boşluk kalmayacak

biçimde karşı karşıya getirildi ve bunlar filtre kâğıtlarıyla sarılmış bir şekilde blotlama düzeneğine yerleştirilerek tampon solusyonuyla doyuruldu. Soğutulmuş tampon solusyonuyla doldurulmuş tanka yerleştirilen düzenek için 60 dakika boyunca 150 mA elektrik akımı uygulandı. Bu şekilde proteinlerin transferi sağlanmış oldu.

Spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama): Blotlama işlemi bittikten sonra petri kutularına alınan nitroselüloz membranlar tampon solusyonla [$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.025 M), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0.075 M), NaCl (1.45 M)], çalkalayıcı üzerinde 3 kez 5 dakika olacak şekilde yıkandı. Spesifik olmayan bağlanmalar, 100 mM NaCl, 20 mM Na_2HPO_4 , 20 mM NaH_2PO_4 (pH: 7.2) tamponunda % 1'lik taze sığır serum albumini (BSA) ile 37 °C'de 90 dakikalık inkübasyonla bloklandı.

Primer antikor olarak Hem Oksijenaz-1 , ADA, endotelin-1 kullanıldı. Primer antikorlar % 0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1:1000 oranında hazırlanarak kullanıldı. Nitroselüloz membranlar primer olarak Heme Oksijenaz-1, ADA, endotelin-1 antikorları ile +4 °C'de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Daha sonraki safhada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solüsyonuyla yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra nitroselüloz membranlar % 0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1:1000 oranında hazırlanan, peroksidazla konjuge edilmiş goat-anti-rabbit immünoglobulinle 37 °C'de 90 dakika süreyle inkübasyona bırakıldı. Sonraki aşamada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solusyonuyla yıkandı.

Bantların görüntülenmesi için 1 M Tris (pH: 7.4) tamponunda % 0.03-0.05 oranında hazırlanmış diaminobenzidin (DAB) solusyonu kullanıldı. DAB'la reaksiyon sonucu nitroselüloz membranlar üzerindeki bantlar kısa bir süre sonra görünür hale geldi. 5-10 dakikalık bir reaksiyon süresi sonunda DAB'la renklendirilen bantlar net olarak görüldükten sonra nitroselüloz membranlar iyice yıkandı. Nitroselüloz membranlar iyice kurutulduktan sonra, bantların rölatif yoğunlukları analiz edilmek üzere alındı. Bantların rölatif yoğunlukları Image Analyses System (Image J; National Institute of Health, Bethesda, USA) yazılım programı kullanılarak analiz edildi.

2.7. İstatistiksel Analiz

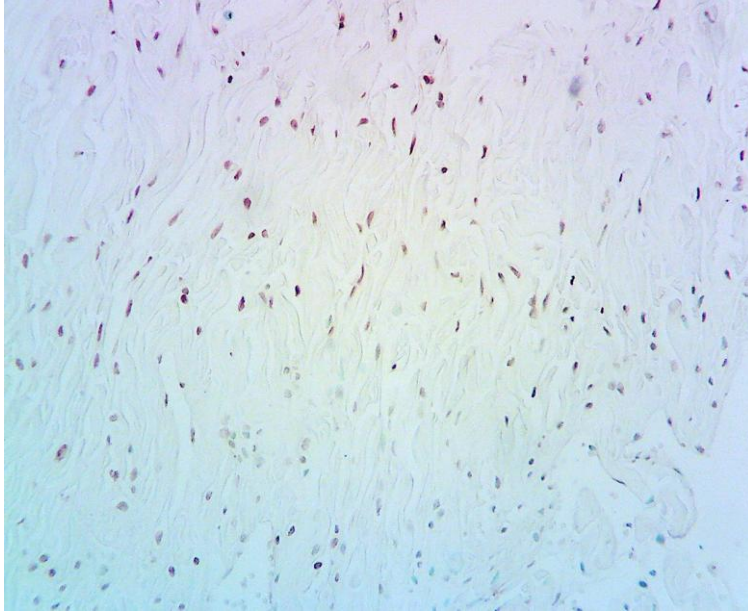
Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analiz için SAS (Statistical Analysis System) programı kullanıldı. Bütün değerler; ortalama standart hata ($AO \pm SH$) olarak belirlendi. Kontrol grubu ile değerlendirmede Fisher's post hoc testi kullanıldı. Sonuçlar, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

3. BULGULAR

3.1. TUNEL Bulgular

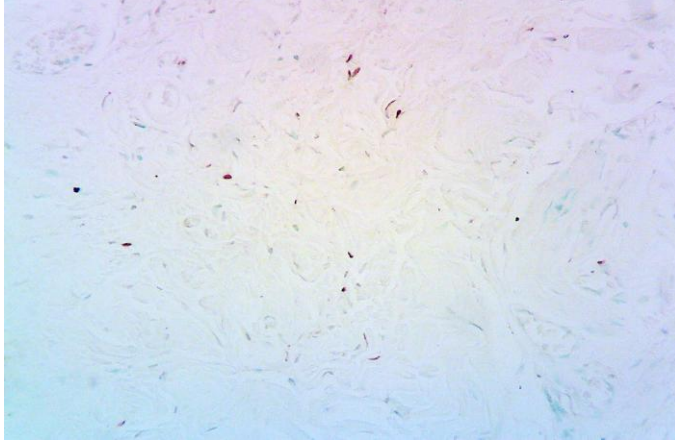
Apoptozis rutin histolojik teknikler ile gösterilebilir. HE boyama yöntemi son zamanlarda apoptozisi tespit etmede daha hassas yöntemlerle birleştirilmiştir. Bu yöntemlerin başında TUNEL yöntemi gelmektedir. DNA kırıklarının *in situ* olarak tanınmasını sağlar. Parafin bloklar, donmuş kesitler, kültürü apılmış solüsyon halindeki veya "plate"lere ekilmiş, ya da lameller üzerinde büyütülmüş hücrelerde apoptozisin varlığı bu metodla saptanabilir.

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği kontrol grubunda +4 yaygınlığında gözlemlendi (Şekil 3.1.1.).

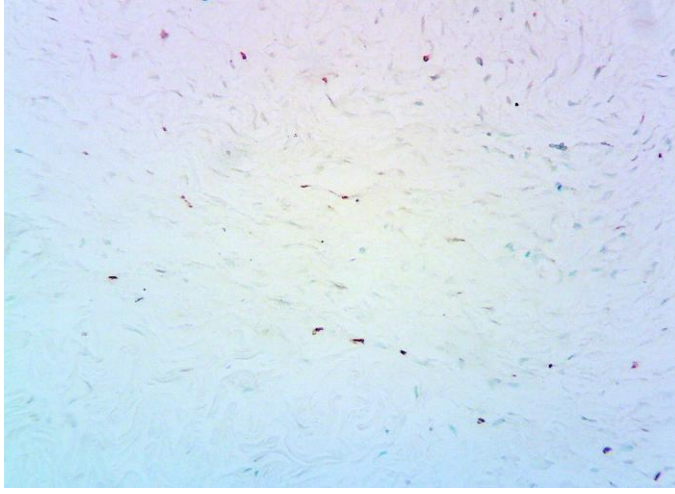


Şekil 3.1.1. Kontrol grubunun TUNEL ile boyanması

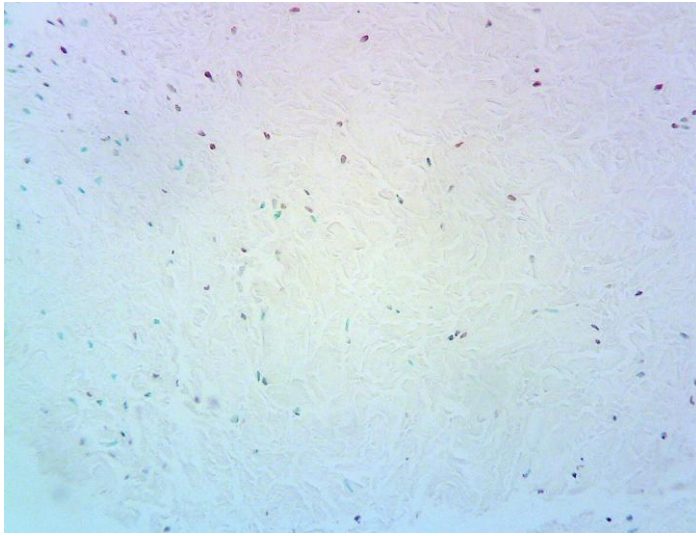
Kontrol grubu ile kıyaslandığında tedavi gruplarında (Bosentan ve Zn Protoporfirin) belirgin olarak azalmış TUNEL pozitifliği dikkati çekti ve +1 olarak değerlendirildi (Şekil 3.1.2, 3.1.3).



Şekil 3.1.2. Bosentan grubunun TUNEL ile boyanması

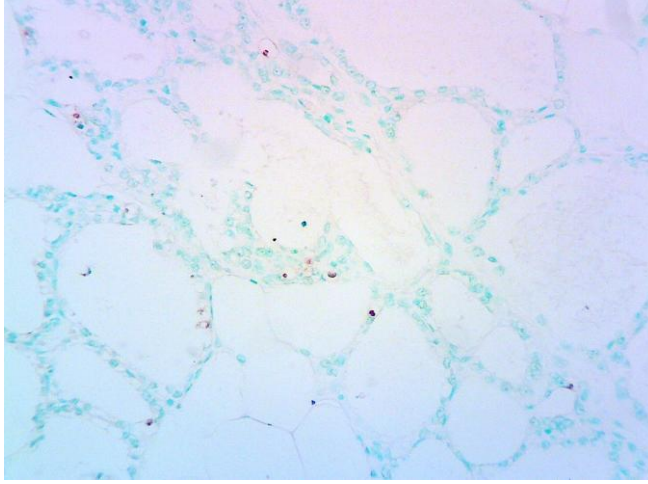


Şekil 3.1.3. Zn protoporfirin gurubunun TUNEL ile boyanması
Teofilin grubu ise +2 yaygınlığında izlendi (şekil 3.1.4).



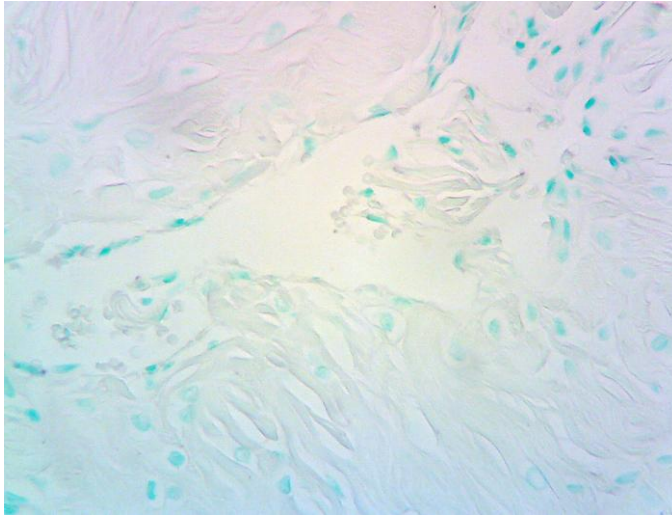
Şekil 3.1.4. Teofilin grubunun TUNEL ile boyanması

Pozitif kontrol için meme dokusu (şekil 3.1.5) kullanıldı.



Şekil 3.1.5. Pozitif kontrol için kullanılan meme dokusu

Negatif kontrolde TUNEL pozitifliği saptanmadı (şekil 3.1.6).



Şekil 3.1.6. Negatif kontrol için kullanılan meme dokusu

Tablo 3.1. Tüm gruplarda elde edilen TUNEL boyanma indeks değerleri

Variables	Groups			
	Kontrol	Bosentan	Teofilin	Zn-Protoporfirin
Apoptosis indeksi	+4	+1	+2	+1

3.2. Western Blot Bulgular

3.2.1. Bosentan

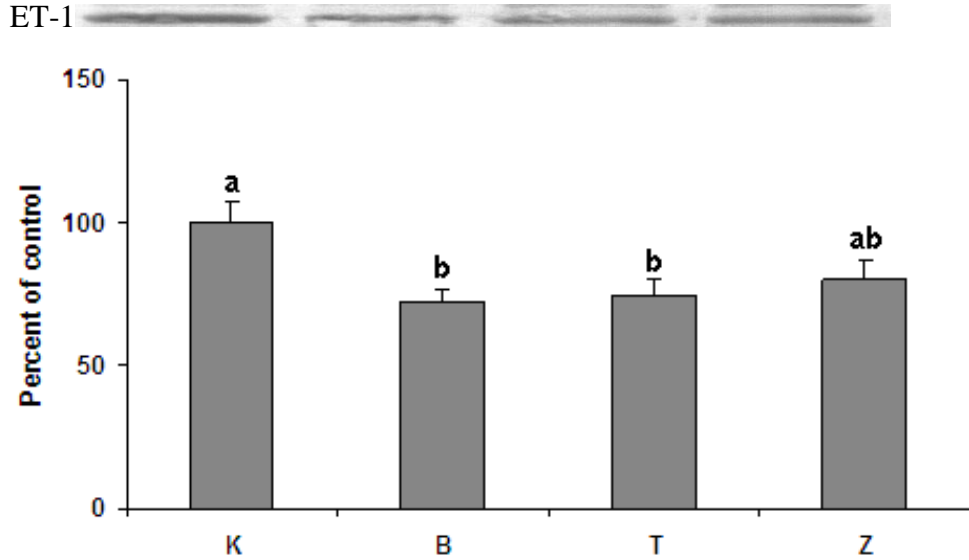
Vücuttaki en etkin düz kas kontraktör regülatörlerinden biri olan endotelin endotelin-A ve endotelin-B reseptörleri üzerinden fonksiyon göstermektedir.

Özellikle Endotelin-1 endotelin A reseptörü üzerinden vazokonstriktör, endotelin B reseptörü üzerinden vazodilatör olarak etki etmektedir. Çalışmamızda Bosentan, Teofilin uygulanan deneysel iskemik priapizm modelinde, korpus kavernozumlardaki ET-1 düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olarak saptandı. Zn-protoporfirin uygulanan grupta ise ET-1 düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi. **Tablo 3.2.** Bosentan uygulamasının priapizm sonrası ET-1 enzim düzeyi üzerine etkisi (ort±SS).

Variables	Groups				P<
	Kontrol	Bosentan	Teofilin	Zn-Protoporfirin	
ET-1	100, 00±7, 68 ^a	72, 60±3, 84 ^b	74, 37±5, 93 ^b	80, 38±6, 84 ^{ab}	0.05

Fisher x2, p<0, 05

a-d: aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.



Şekil 3.2.1. Bosentan uygulaması sonrası ET-1 düzeyinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

3.2.2. Teofilin

Pek çok organ sistemde çeşitli mekanizmalar ile etkinlik gösteren teofilin, düz kas tonus regülasyonunda da kompleks bir etkinliğe sahiptir. Çalışmamızda non selektif PDE inhibitör etkisi ve adenosin 2 reseptör blokör etkinliğinin priapizm patofizyolojisindeki rolü araştırılan teofilin uygulanan deneysel iskemik priapizm

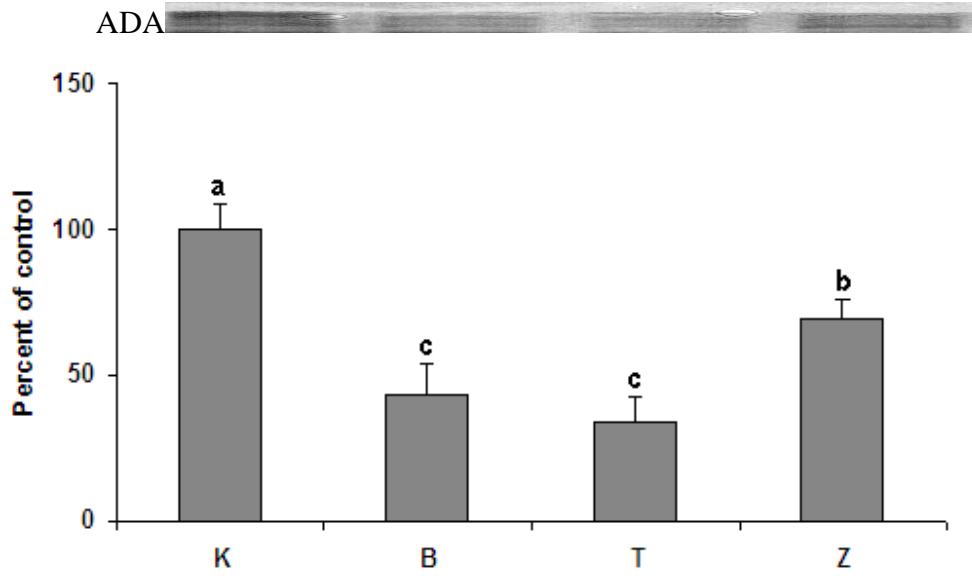
modelinde, korpus kavernozumundaki ADA düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olarak saptandı. Yine çalışmamızda Bosentan ve Zn-protoporfirin uygulanan deneysel iskemik priapizm modelinde, korpus kavernozumlardaki ADA düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olarak saptandı.

Tablo 3.3. Teofilin uygulamasının priapizm sonrası ADA enzim düzeyi üzerine etkisi (ort±SS).

Variables	Groups				P<
	Kontrol	Bosentan	Teofilin	Zn-Protoporfirin	
ADA	100, 00±8, 29 ^a	43, 21±11, 35 ^c	33, 48±8, 68 ^c	63, 34±6, 87 ^b	0.05

Fisher x2, p<0, 05

a-d: aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark istatistiki olarak anlamlıdır.



Şekil 3.2.2. Teofilin uygulaması sonrası ADA düzeyinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

3.2.3. Zn protoporfirin

HO1'in, tin-protoporfirin ve Zn-protoporfirin gibi klasik metalloporfirinlerle non-selektif olarak, imidazol-dioksolonaz gibi yeni grup kimyasal bileşiklerle selektif olarak inhibe edildiği ve bunların priapizmde koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir. Zn protoporfirin, Bosentan, Teofilin uygulanan deneysel iskemik

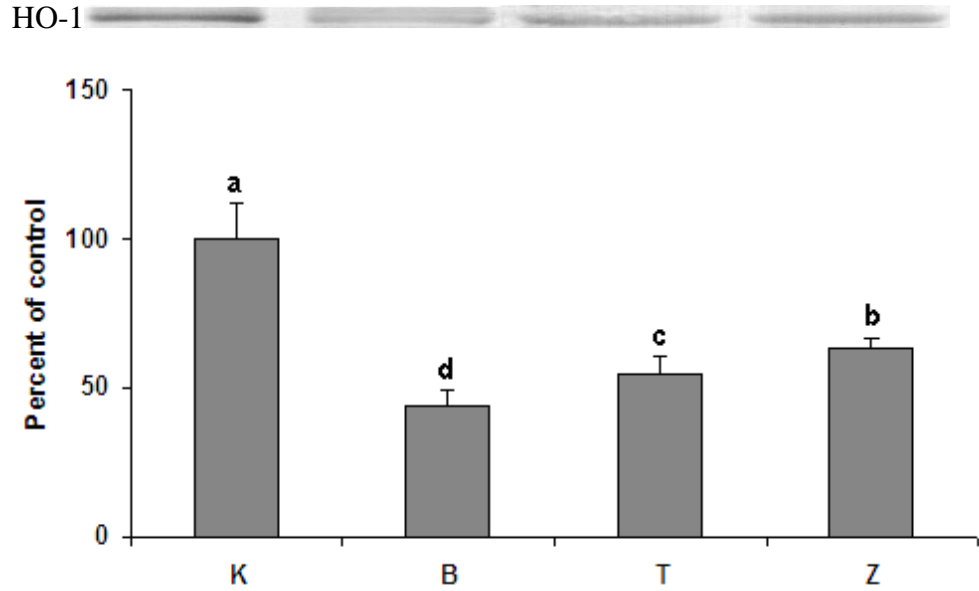
priapizm modelimizde, korpuz kavernozumlardaki HO-1 düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olarak saptandı.

Tablo 3.4. Zn protoporfirin uygulamasının priapizm sonrası HO-1 enzim düzeyi üzerine etkisi (ort±SS).

Variables	Groups				P<
	Kontrol	Bosentan	Teofilin	Zn-Protoporfirin	
HO-1	100, 00±12, 12 ^a	43, 86±5, 34 ^d	54, 74±5, 63 ^c	63, 60±3, 34 ^b	0.05

Fisher x2, p<0, 05

a-d: aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark istatistiki olarak anlamlıdır.



Şekil 3.2.3. Zn protoporfirin uygulaması sonrası HO-1 düzeyinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

4. TARTIŞMA

Priapizm, cinsel uyarı olmaksızın uzamış istenmeyen ereksiyon halidir (22). Genel kabul olarak priapizm etyoloji ve klinik gidişine göre iskemik (düşük akımlı) priapizm, non-iskemik (yüksek akımlı) priapizm ve tekrarlayan (rekürren) priapizm olmak üzere 3 grupta incelenmektedir.

Özellikle düşük akımlı priapizm olarak tanımlanan iskemik priapizm, kavernozaal arterlerdeki kan akımının hemen hemen tamamen durması sonucu ağırlı bir ereksiyonla karakterizedir. Penil kan akımının özellikle kavernozaal dokunun bazal ihtiyacını karşılayacak seviyenin altında olması nedeniyle iskemik priapizm, kavernozaal dokularda nekroz ile sonuçlanabilmektedir. Kompartman sendromu olarak da tanımlanabilecek iskemik priapizmde, tedavinin 12 saat içinde yapılmaması sonucu peniste histolojik değişiklikler ortaya çıkabilecektir (8, 22). Ayrıca iskemi süresi uzadıkça ereksiyon kaybı da artan oranlarda saptanmakta ve 36 saat iskemi sonrası hastaların hemen hemen tamamında erektil disfonksiyon belirlenebilmektedir (8). Bundan dolayı iskemik priapizmde penil kan akımının optimal şekilde sağlanması, acil tedavinin ana prensibi olmalıdır. Bu amaçla uygulanacak güncel medikal ve cerrahi tedaviler yanında, priapizm patofizyolojisinde etkin olan ikincil yolaklar üzerinden yeni tedavi modelleri güncel araştırma konularıdır (8, 30).

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 tūmesans, gerekse detūmesans oluşmasında penis düz kas fonksiyonu etkin rol oynamaktadır. Pek çok mekanizmalarla regüle edilen penil düz kas tonusunda, kontraksiyona eğilimin artması erektil disfonksiyonla, relaksasyona eğilimin artması priapizmle sonuçlanabilmektedir.

Kavernozaal düz kaslarda relaksasyon sağlayan başlıca yolaklar; nitrik oksit-siklik guanozinmonofosfat (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. Penisin anatomik yapısı ve fonksiyonel özelliklerinin optimum olarak korunması için, düz kas tonusunun regülasyonunda etkili olan bu mekanizmaların dengeli bir şekilde fonksiyon göstermesi gerekmektedir. Dolayısıyla priapizm etyopatogenezinde penis düz kas dokusunda kontraksiyonda etkin olan mekanizmalar azalmış, relaksasyonda etkin olan mekanizmalarda ise artmış bir fonksiyon beklenmektedir (8, 31, 32).

Ürolojik acil bir patoloji olan ve tedavi edilmediğinde irreversibl ereksiyon kaybına sebep olan priapizmde tūmesans ve detūmesans üzerindeki çeşitli yollaklarla etkili olan Bosentan, Teofilin ve Zn Protoporfirin'in priapizm tedavisinde etkinliği araştırıldı.

Endotelin-1 (ET-1), endotelin dönüştürücü enzim tarafından prepro ET-1'den sentezlenen 21 amino asitli bir peptiddir. Upregülasyonu, düz kas vazokonstriksiyonuna ve hipertrofisine ve ayrıca fibrozis ve inflamasyona katkıda bulunur (49, 50). ETA ve ETB olmak üzere iki farklı guanin nükleotid bağlayıcı (G) proteine bağlanan reseptörü vardır. Bu iki reseptörün yerleşim yerleri ve endotelin peptidleri bağlama affiniteleri değişiktir (50, 51, 52). ETA reseptörleri esasen damar düz kas hücrelerinde bulunur ve vazokonstriksiyonu uyarır (49, 51, 53, 54). ETB reseptörleri ise esasen endotelial hücrelerde bulunur ve NO ve PGI2 üretimini artırmak yoluyla vazodilatasyona ve antiproliferatif etkilere yol açar (50, 54). Normal organ sistemlerde ET1, 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 kavernozaal düz kaslarda oluşan iskemi neticesinde ET-1'in ETB reseptörleri üzerinden düz kas relaksasyonu yapması, ereksiyonun uzamasında etkin olmaktadır (55).

Penil düz kas tonus regülasyonunda aktif rol oynayan endotelinin özellikle hipoksik korpus kavernozaal düz kaslarında dilatasyona neden olduğu bildirilmiştir (76). Flippi ve arkadaşları 24 saatlik hipoksi sonrası kavernozaal dokuda endotelin B sensitivitesinin arttığını ve Endotelin-1'in kontraktilite etkisinin azaldığını bildirmişlerdir (76). Endotelin B'nin özellikle NO üzerinden bu relaksasyonu sağladığını belirlemişlerdir. Dolayısıyla priapizmin ortaya çıkmasında penil

kavernozal düz kasların en güçlü vazokonstriktörlerinden olan endotelinin, endotelin B üzerinden vazodilatasyon yaparak etkin olduğu düşünülmektedir (76).

Bosentan, endotelin reseptörlerini bloke edip vazodilatasyon ve antiproliferatif etki gösteren nonselektif bir endotelin reseptör blokörüdür (77). Penil kavernoöz cisimlerdeki tubüler endotel hücrelerinde ETB reseptörü bulunduğundan, nonselektif ETA/B reseptör inhibitörü olan Bosentan kullanıp, ETB reseptörlerini bloke ederek kontraksiyonların arttırılması, kavernoözal düz kas hücrelerinde apoptozisin engellenmesi hedeflendi. Bosentan uygulanan deneysel iskemik priapizm modelimizde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kavernoözal düz kas hücrelerinde ET-1 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olarak saptandı ve yine kavernoözal düz kas hücrelerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında apoptozisin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olduğu belirlendi. Priapik kavernoözal dokuda Bosentan'ın artan konsantrasyonlarda kavernoözal düz kas tonusunu arttırdığı belirlendi. Normalde Bosentan'ın özellikle kavernoözal dokudaki Endotelin A reseptörünü bloke ederek düz kas relaksasyonu yapması beklenmektedir. Çalışmamızda saptanan Bosentan'a artmış kontraksiyon cevabının hipoksik kavernoözal dokuda upregüle olmuş olan endotelin B reseptörlerinin bloke edilmesi yolu ile ortaya çıktığı düşünülmektedir. Dolayısıyla geç dönem priapizm tedavisinde Bosentan yanında selektif endotelin B reseptör blokörlerinin kullanımı priapizm tedavisinde yeni tedavi modellerinin gelişimini sağlayacaktır

Adenozin, ATP'den sentezlenen ve pek çok metabolik olayda etkin olan bir moleküldür. Özellikle hipoksi durumunda, artan oksijen ihtiyacına karşılık bir savunma mekanizması olarak vasküler dokularda kontraksiyon ya da relaksasyon yaparak etkin rol oynamaktadır. Dolayısıyla iskemik bir kompartman sendromu olan priapizmde, adenozinin de etkin olabileceği bildirilmiştir (56). Hipoksik ortamda, artan oksijen ihtiyacına bağlı olarak ekstrasellüler ortamda ATP'den CD39 ve CD74 enzimleri ile adenozin ortaya çıkmaktadır.

Yine hücre içinde de sitokrom 5'-nükleotidaz enzim katalizörlüğünde AMP'den adenozin sentezlenmektedir. İntrasellüler ve ekstrasellüler adenozin seviyesi equilibrative nükleotit transporter (ENT) ile dengelenmektedir (56).

Adenozin fizyolojik etkilerini A₁, A₂, A₃ reseptörleri üzerinden yapmaktadır. A₂ reseptörü G_s proteinine bağlanarak adenilat siklazı (AC) aktive etmektedir. Sonuç

olarak aktive adenilat siklaz ATP'nin cAMP'ye dönüşümünü sağlayarak, A₂ reseptörü aracılığı ile düz kasta relaksasyon yapmaktadır. A₁ reseptörü G₁ ve G₀, A₃ reseptörü ise G₁ ve G_q proteinlerine bağlanarak, ATP'den cAMP oluşumunu aktive eden adenilat siklazı inhibe etmekte ve azalan cAMP düz kasta kontraksiyona eğilimi arttırmaktadır (78, 79).

Adenozin fonksiyonunu tamamladıktan sonra hem ekstrasellüler hem de intrasellüler ortamda adenozin deaminaz (ADA) enzimi aracılığıyla inosine, ayrıca intrasellüler adenozin kinaz (ADK) enzim aracılığıyla AMP'ye ve s-adenozin-homosistein hidrolaz (SAHH) aracılığıyla da adenozin-homosisteine metabolize olmaktadır (56).

Priapizm patofizyolojisinde iskemiye bağlı olarak adenozin sentezinde artış ve/veya yıkımında azalmanın olası etkenlerden biri olabileceği bildirilmektedir. İskemik priapizmde hipoksik kavernoza dokuda uzamış penil ereksiyon devamlılığını sağlayan lokal adenozin düzeyinde artış olduğu tesbit edilmiştir (80). Ratlar ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda intrakavernoza adenozin enjeksiyonunun peniste tümesansa neden olduğu gözlenmiştir (81- 87). Phatarpekar ve arkadaşları deneysel priapizm modellerinde adenozin deaminaz (ADA) enzim defektine bağlı olarak, adenozin seviyesinde artış olduğunu ve artan adenozin seviyesine bağlı olarak ta, A_{2B} reseptörlerinin uyarılmasıyla priapizm ortaya çıktığını belirlemişlerdir. ADA enzim defekti olan orak hücre anemili ratlara, polyethylene glycol-modified adenozin deaminaz (PEG-ADA) uygulanması sonucunda, adenozin seviyesinin azalmasına bağlı olarak priapizm ataklarının engellenebileceği saptanmıştır (56). Orak hücre anemili sıçanlarda, ADA enzim bozukluğuna bağlı olarak adenozin seviyesi artmaktadır. Yükselen adenozin seviyesine bağlı olarak A_{2B} reseptör aktivitesinde ve priapik aktivitede artış gözlenmiştir (88). Dai ve arkadaşları kavernoza dokularda artan oranlardaki Adenozin'in A_{2B} reseptörü yolu ile ereksiyonu uzattığını bildirmişlerdir. Yine bu çalışmada Adenozin'i yıkan ADA enziminin modifiye şekli PEG-ADA (polyethylene glycol-modified) tedavisi ile ereksiyonun sonlandığını bildirmişlerdir. Bu etkinin kavernoza dokularda Adenozin'in deaminaz enzimi tarafından yıkılmasıyla ortaya çıktığı saptanmıştır (89). Bu deneysel veriler, kavernoza dokudaki artmış adenozin seviyesinin priapizmde etkili olabileceğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda nonselektif Adenozin reseptör blokeri olarak teofilin kullanılmıştır. Nonselektif Adenozin reseptör blokeri olan Teofilinin aynı zamanda PDE inhibisyonu, katekolamin salınımının stimülasyonu, mediyatör inhibisyonu (Prostaglandinler, TNF-alfa), intraselüler kalsiyum salınımının inhibisyonu, histon deasetilaz aktivitesinin arttırılması (kortikosteroidlerin etkinliğini arttırıcı etki) gibi mekanizmalar yoluyla etki ettiği düşünülmektedir. Adenozine bağlı tümesans oluşturulan bir çalışmada adenozin reseptör antagonisti olan teofilin, adenozine bağlı penil tümesansı inhibe etmiştir (88). Teofilin tedavisinin, adenozin bağımlı kavernozaal düz kastaki gevşemeyi dozdan bağımsız olarak inhibe ettiği gözlenmiştir (79).

Teofilin uygulanan deneysel iskemik priapizm modelimizde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kavernozaal düz kas hücrelerinde ADA düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olarak saptandı ve yine kavernozaal düz kas hücrelerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında adenozine bağlı apoptozisin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olduğu saptandı. Bundan dolayı adenozin deaminaz enzim aktivitesini arttıran veya adenozin seviyesini azaltacak manipülasyonlar, priapizm tedavisinde yeni araştırma konuları olacaktır.

Heme proteini, demir ve protoporfirin-IX kompleksinden oluşan ve canlı hücrelerde çok önemli fonksiyonları olan hemoproteinlerin yapısında yer almaktadır. Başlıca hemoproteinler; oksijen taşınmasında rol alan hemoglobin, oksijen metabolizmasında rol oynayan oksidaz, peroksidaz, katalaz, elektron transportunda rol oynayan sitokromdur. Heme proteini, endotel ve düz kasta bulunan hemoksijenaz (HO) enzimi aracılığı ile yıkılmaktadır. Hemoksijenaz enziminin HO1, HO2 ve HO3 olmak üzere 3 izoformu bulunup, insanlardaki en önemli izoform HO1'dir. Hipoksi, stres ve reaktif oksijen ürünlerinin varlığında HO1 düzeyi artmakta ve HO1 heme proteinini yıkarak CO, Fe(II) ve biliverdinin açığa çıkmasına neden olmaktadır (59). Oluşan CO, NO benzeri bir gazotransmitter olup bazı hücrel fonksiyonları regüle etmektedir. Ancak CO yarı ömrü NO'e oranla oldukça kısadır. İskemi sonucu artan HO1 aktivitesi ile ortaya çıkan CO, guanilat siklazı aktive ederek c-GMP artışına yol açıp, K kanal aktivitesini arttırarak ya da sitokrom p450 monooksijenaz yolunu inhibe ederek düz kas relaksasyonuna neden olmaktadır (60). Ayrıca CO ile NO

arasında da çeşitli feedback mekanizmalarıyla karşılıklı etkileşim söz konusudur (59).

Deneysel priapizm modellerinde artmış HO1-CO etkinliğinin geç dönem priapizmde rol oynayabileceği bildirilmiştir (59). Jin YC ve arkadaşları özellikle ratlarda oluşturulan deneysel priapizm modellerinin 24 saatlik geç dönemlerinde kavernoza dokuda HO1 aktivitesini kontrol grubuna göre altı kat yüksek oranlarda belirlemişlerdir. Artmış olan bu HO1 aktivitesinde, kavernoza dokuda yüksek oranlarda ortaya çıkarttığı CO'in, priapizmin geç dönemlerinde etkin olabileceğini bildirmişlerdir (60). Bu deneysel çalışmalar esas teşkil etmek üzere geç dönem priapizmde, bir savunma mekanizması olarak ortaya çıkmış olan HO1-CO yolağının bloke edilmesinin tedavide kullanılabileceği gündeme gelmiştir. Özellikle HO1'in, tin-protoporfirin ve Zn-protoporfirin gibi klasik metalloporfirinlerle non-selektif olarak, imidazol-dioksolonaz gibi yeni grup kimyasal bileşiklerle selektif olarak inhibe edildiği ve bunların priapizmde koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir (60). Ma ve Qin'in 2009 yılında yaptıkları çalışmada 45 micromol/kg/gün Zn-protoporfirin verilen ratlarda 7.gün sonunda penil dokudaki CO ve cGMP seviyelerinin azalmış olduğu gösterilmiştir (90). Aziz ve Mostafa'nın 2006 yılında yaptıkları çalışmada sadece sildenafil ve sildenafil ile birlikte Zn-protoporfirin verilen ratlarda HO-1 ve cGMP aktivitesi karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada sildenafil verilen ratlarda HO-1 ve cGMP düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artarken, buna karşılık sildenafil ile birlikte Zn-protoporfirin verilen ratlarda HO-1 ve cGMP düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olduğu görülmüştür (91). Bu sonuç HO-1 ile cGMP arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda kullanılan Zn-protoporfirin non selektif HO- 1 inhibitörüdür ve cGMP hidrolizini artırır. Zn-protoporfirin uygulanan deneysel iskemik priapizm modelimizde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kavernoza düz kas hücrelerinde HO-1 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olarak saptandı ve yine kavernoza düz kas hücrelerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HO-1'e bağlı apoptozisin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olduğu saptandı. Dolayısıyla geç dönem priapizm tedavisinde Zn-protoporfirin yanında selektif HO-1 reseptör blokörlerinin kullanımı priapizm tedavisinde yeni tedavi modellerinin gelişimini sağlayacaktır.

Sonuç olarak; penil hemodinamideki uyumsuzluk sonucu oluşan ve tedavi edilmediğinde irreversibl ereksiyon kaybına sebep olan priapizm, ürolojik acil bir hastalıktır. Çalışmamızda priapizm patofizyolojisindeki ikincil yollardan faydalanıp yeni tedavi seçeneklerinin bulunması hedeflendi. Bu amaçla endotelin reseptör blokeri olan Bosentan, adenozin reseptör blokeri olan Teofilin ve HO-1 enzim inhibitörü olan Zn-protoporfirin kullanıldı. Çalışma sonucunda uzamış priapizme ve dolayısıyla penil dokularda apoptozis ve fibrozise neden olan ET-1, ADA, HO-1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı oranda azalmalar kaydedildi. Yine deneysel iskemik priapizm oluşturulan rat korpus kavernozumundaki düz kas hücrelerinde uygulanan ilaçlara bağlı apoptozis indekslerinde kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı oranda azalmalar kaydedildi. Çalışmamızda alınan olumlu sonuçlar, yeni araştırmalar doğrultusunda Bosentanın, Zn-protoporfirinin ve teofilinin insanlarda da priapizm tedavisinde kullanılabilmesi yönünde umut vericidir. Bosentan, Zn-protoporfirin ve teofilin kullanılmasıyla ilgili çalışmalar olası yeni medikal tedavi modellerinin gelişmesini sağlayacaktır.

5. KAYNAKLAR

1. Pryor J, Akkus E, Alter G, Jordan G, Lebret T, Levine L, Mulhall J, Perovic S, Ralph D, Stackl W. Priapism. *J Sex Med* 2004;1:116-120.
2. Broderick GA, Harkaway R. Pharmacologic erection: time-dependent changes in the corporal environment. *Int J Impot Res* 1994;6:9-16.
3. Muneer A, Celtek S, Doğan A, Kell PD, Ralph DJ, Minhas S. Investigation of cavernosal smooth muscle dysfunction in low flow priapism using an in vitro model. *Int J Import Res* 2005;17:10-18.
4. Spycher MA, Hauri D. The ultrastructure of the erectile tissue in priapism. *J Urol* 1986;135:142-147.
5. Acar O: Anatolia: The land of the father god. In: Kendir-ci M, Kadioğlu A, Miroğlu C, editors. The history of ma-le-female sexuality and fertility in Asia minor (today's Turkey). Istanbul: Turkish Society of Andrology, 2003;89-125.
6. Can Ş. Klasik Yunan Mitolojisi. 1. baskı. İstanbul, Remzi Kitabevi, 1970.
7. Papadopoulos I, Kelami A. Priapus and priapism: from mythology to medicine. *Urology* 1988;32:385.
8. Cherian J, rao AR, Thwaini A, Kapasi F, Shergill IS, Saman R. Medical and surgical management of priapism. *Postgrad Med J* 2006;82:89-94.
9. Hinman F. Priapism: report of cases in a clinical study of the literature with reference to its pathogenesis and surgical treatments. *Ann Surg* 1914;1:689-692.
10. Bochinski Dj, Deng DY, Lue TF. The treatment of priapism—when and how?. *Int J Impot Res* 2003;15 suppl 86-90.
11. Hinman F. Priapism: report of cases in a clinical study of literature with reference to its pathogenesis and surgical treatments. *Ann Surg.* 1914;60:689.
12. Hinman Jr. Priapsim: reasons for failue of therapy. *J Urol* 1960;83:420.
13. Mundy AR HJC. Muscles and fasciae of the perineum: true pelvis, pelvic flor and perineum. *Gray's Anatomy (Standring, S. Ed.)* 39th ed. Philadelphia, 2005;1365-1371.
14. Bookstein JJ, Lang EV. Penile magnification Phamaco-arteriography: Details of intrapenile arterial anatomy. *AJR* 1985;148:883-884.
15. *Clinical Manual of Sexual Medicine: Sexual Dysfunctions in Men.* 2003.

16. From Devine CJ Jr, Angermeier KW: Anatomy of the penis and male perineum. AUA Update Series 1994.
17. Tom F.Lue. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction and priapism. Campell's Urology (Patrick C.walsh, ed.). 2002;8th ed. Vol.2, 1589-1618.
18. Burnet A, Tillman SL, Chang TS, Epstein JI, Lowenstein CJ, Bredt DS, Synder SH, Walsh PC. Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the autonomic innervation of the human penis. J Urol 1993;150:73-76.
19. Ralph DJ. Normal erectile function. Clin Cornerstone 2005;7:13-18.
20. Wagner G, Gerstenberg T, Levin R. Electrical activity of corpus cavernosum during flaccidity and erection of the human penis: a new diagnostic method? J Urol 1989;3:723-725.
21. Bosch RJ, Benard F, Aboseif SR, Stief CG, Lue TF, Tanagho EA. Penile detumescence: characterization of three phases. J Urol 1991;146:867-871.
22. Pryor J, Akkus E, Alter G, Jordan G, Leuret T, Levi-ne L, Mulhall J, Perovic S, Ralph D, Stackl W: Pria-pism, Peyronie's disease, penile reconstructive surgery. In Lue TF, Basson R, Rosen R, Giliano F, Khoury S, Montorsi F, editors. Sexual Medicine, Sexual dysfuncti-ons in men and women, Health publications, Paris, 2004;383-409.
23. Van der HC, Stuebinger H, Seif C, Melchior D, Martinez-Portillo FJ, Juanemann KP. Priapism – etiology, pathophysiology and management. Int Braz J Urol 2003;29:391-400.
24. Dodds PR, Batter SJ, Serels SR. Priapism following ingestion of tamsulosin. J Urol 2003;169:2302.
25. Avisrrior MU, Fernandez IA, Sanchez AS, Garcia-Pando AC, Arias LM, del Pozo JG. Doxazosin and priapism. J Urol 2000;163:238.
26. Vaidyanathan S, Soni BM, Singh G, Sett P, Krishnan KR. Prolonged penile erection association with terazosin in a cervical spinal cord injury patient. Spinal Cord 1998;36:805.
27. Banos JE, Bosch F. Prazosin-induced priapism. Br J Urol 1989;64:205-206.
28. Sur RL, kane CJ. Sildenafil citrate-associated priapism. Urology 2000;55:950.
29. Shergill IS, Pranesh N, Haid R, Arya M, Anjum I, Testosterone induced priapism in Kallmann's syndrome. J Urol 2003;169:1089.

30. Berger R, Billups K, Brock G, Broderick GA, Dhabu-wala CB, Goldstein I, et al: Report of the AFUD Thought Leader Panel for evaluation and treatment of priapism. *Int J Impot Res*, 2001;(suppl 5):39-43.
31. Ul-Hassan M, 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;160:2263-2266.
32. Sanli O, Armagan A, Kandirali E, Ozerman B, Ahmedov I, Solakoglu S, Nurten A, Tunc M, Uysal V, Kadi-oglu A: TGF-β1 neutralizing antibodies decrease the fibrotic effects of ischemic priapism. *Int J Impot Res* 2004;16:492-97.
33. Spycher MA, Hauri D: The ultrastructure of the erectile tissue in priapism. *J Urol* 1986;135:142-147.
34. Hatzichristou D, Salpiggidis G, Hatzimouratidis K, Apostolidis A, Tzortzis V, Bekos A, Saripoulos D: Management strategy for arterial priapism: Therapeutic dilemmas. *J Urol* 2002;168:2074-2077.
35. McMahon CG: High flow priapism due to an arterial-lacunar fistula complicating initial veno-occlusive priapism. *Int J Impot Res* 2002;14:195-6.
36. Witt MA, Goldstein I, Saenz deTejada I, Greenfield A, Krane R: Traumatic laceration of intrakavernozal arteries: The pathophysiology of nonischemic, high flow, arterial priapism. *J Urol* 1990;143:129-32.
37. Rogers ZR: Priapism in sickle cell disease. *Hematol Oncol Clin North Am* 2005;19:917-28.
38. Montague DK, Jarow J, Broderick GA, et al: American Urological Association Guideline on the management of priapism. *J Urol* 2003;170:1318-24.
39. AUA; 2003, Rees RW ve ark. 2002.
40. Winter CC. Priapism treated by modification of creation of fistulas between glans penis and corpora cavernosa. *J Urol* 1979;121:743-744.
41. Winter CC. Priapism cured by creation of fistulas between glans penis and corpora cavernosa. *J Urol* 1978;119:227-228.
42. Winter CC. Priapism treated by modification of creation of fistulas between glans penis and corpora cavernosa. *Trans Am Assoc Genitourin Surg* 1978;70:88-89.

43. Winter CC. Priapism cured by creation of fistulas between glans penis and corpora cavernosa. *Trans Am Assoc Genitourin Surg* 1977;69:31-32.
44. Winter CC. Cure of idiopathic priapism: new procedure for creating fistula between glans penis and corpora cavernosa. *Urology* 1976;8:389-391.
45. Grayhack JT, Mccullough W, O'conor Vj, Jr, Trippel O. Venous bypass to control priapism. *Invest Urol* 1964;1:509-513.
46. Qackels R. Treatment of a case of priapism by cavernospongious anastomosis. *Acta Urol Belg* 1964;32:5-13.
47. Brant WO, Garcia MM, Bella AJ, Chi T, Lue TF. T-Shaped Shunt and intracavernous Tunneling for Prolonged Ischemic Priapism. *J Urol*. 2009;181:1699–1705.
48. Rees RW, Kalsi J, Minhas S, Peters J, Kell P, Ralph DJ. The management of low-flow priapism with the immediate insertion of a penile prosthesis. *BJU Int* 2002;90:893-897.
49. Raja SG, Dreyfus GD. Current status of bosentan for treatment of pulmonary hypertension. *Ann Card Anaesth*. 2008 Jan-Jun;11(1):6-14.
50. Gabbay E, Fraser J, McNeil K. Review of bosentan in the management of pulmonary arterial hypertension. *sc Health Risk Manag*. 2007;3(6): 887-900.
51. Chan SY, Loscalzo J. Pathogenic mechanisms of pulmonary arterial hypertension. *J Mol Cell Cardiol*. 2008 January; 44(1):14-30.
52. Masaki T. The discovery of endothelins. *Cardiovasc Res*. 1998 Sep;39(3): 530-3.
53. Jeffery TK, Morrell NW. Molecular and cellular basis of pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension. *Prog Cardiovasc Dis*. 2002 Nov-Dec; 45(3): 173-202.
54. Benigni A, Remuzzi G. Endothelin antagonists. *Lancet*. 1999 Jan 9;353(9147):133-8.
55. Yuan J, Desouza R, Westney OL, Wang R. Insights of priapism mechanism and rationale treatment for recurrent priapism. *Asian J Androl*. 2008 Jan;10(1):88-101.
56. Phatarpekar PV, Wen J, Xia Y. Role of adenosine signaling in penile erection and erectile disorders. *J Sex Med*. 2010;7(11):3553-3564.
57. Umut S, Yıldırım N. Kronik Obstrüktif Akciger Hastalığı. Turgut Yayıncılık, İstanbul, 2005.

58. Patole S, Lee J, Buettner P, Whitehall J. Improved oxygenation following adenosine infusion in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Biol Neonate*. 1998 Nov;74(5):345-50.
59. Shamloul R. The potential role of the heme oxygenase/carbon monoxide system in male sexual dysfunctions. *J Sex Med*. 2009 Feb;6(2):324-33.
60. Jin YC, Gam SC, Jung JH, Hyun JS, Chang KC, Hyun JS. Expression and activity of heme oxygenase-1 in artificially induced low-flow priapism in rat penile tissues. *J Sex Med*. 2008 Aug;5(8):1876-82.
61. Ünüş İ, Firdolaş F, Özcan M, Karakeçi A, Onur R, Orhan İ. Bosentan, Teofilin ve Vardenafil'in priapizm tedavisinde kullanımı. 9.Ulusal Androloji Kongresi.1-4 Haziran 2011;92.
62. Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell Death:the significance of apoptozis. *Int Rev cytol* 1980;68:251-306
63. Gottlieb AR. Apoptozis. *Williams Hematology*. (Lichtman MA, Beutler E, Kipps T, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal , ed.), 7th ed., Newyork 2005, 125-130.
64. Cotran RS, Kumar V, Collins T, editors. *Robbins pathology of disease*. Philadelphia: Saunders; 1999.p.18.
65. Searle J, Kerr JF, Bishop CJ. Necrosis and apoptosis: distinct modes of cell death with fundamentally different significance. *Pathol Annu* 1982;17:229-259.
66. Alles A, Alley K, Barrett JC, Buttyan R, Columbano A, Cope FO, Copelan EA, duke RC, Farel PB, Gershenson LE. Apoptosis: a general comment. *FASEB J* 1991;5:2127-2128.
67. Saikumar P, Dong Z, Mikhailov V, Denton M, Weinberg JM, Venkatachalam MA. Apoptozis: definition, mechanisms, and relevance to disease. *Am J Med* 1999;107:489-506.
68. McCarthy NJ, Evan GI. Methods for Detecting and and quantifying apoptosis. *Curr Top Biol Dev Biol*.1998;36:259-278.
69. Charriaut-Marlangue C, Ben-Ari Y. A Cautionary note on the use of TUNEL stain to determine apoptosis. *Neuroreport* 1995;7:61-64

70. Munnariz R, Park K, Huang YH, Saenz dT, Moreland RB, Goldstein I, Traish AM. Reperfusion of ischemic corporal tissue: physiologic and biochemical changes in an animal model of ischemic priapism. *Urology* 2003;62:760-764.
71. Xueling Bai, Li. Yu, Jie Zhang, Anan Li, Dao Han, Qingming Luo. A high-resolution anatomical rat atlas. *J Anat.* 2006;209(5):707-708.
72. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randoll RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951;193:165-175.
73. Dogukan A, Tuzcu M, Agca CA, Gencoğlu H, Sahin N, Onderci M, et al. A tomato lycopene complex protects the kidney from cisplatin-induced injury via affecting oxidative stress as well as Bax, Bcl-2 and HSPs expression. *Nutr Cancer.* 2011;63(3):427-434.
74. Tuzcu M, Sahin N, Orhan C, Agca CA, Akdemir F, Tuzcu Z et al. Impact of chromium histidinate on high fat diet induced obesity in rats. *Nutr Metab (lond).* 2011 May3;8:28.
75. Zhao YJ, Zhang WH, Xu CQ, Li HZ, Wang LN, Li H et al. Involvement of the ornithine decarboxylase/polyamine system in precondition-induced cardioprotection through an interaction with PKC in rat hearts. *Mol Cell Biochem.* 2009 Dec;332(1-2):135-144.Epub 2009 jun 25.
76. Filippi S, Marini M, Vannelli G.B, Crescioli C, Granchi S, Vignozzi L, Luconi M, Ferruzzi P, Morelli A, Forti G, Ledda F, Maggi M. Effects of hypoxia on Endothelin-1 sensitivity in the Corpus cavernosum. *Molecular Human Reproduction* 2003;Vol.9, No.12 pp. 765-774.
77. Hall SM, Davie N, Klein N, Haworth SG. Endothelin receptor expression in IPAH: effect of bosentan and epoprostenol treatment. *Eur Respir J.* 2011 Mar 15.
78. Patole S, Lee J, Buettner P, Whitehall J. Improved oxygenation following adenosine infusion in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Biol Neonate.* 1998;74(5):345-350.
79. Tiejuan Mi, Shahrzad Abbasi, Hong Zhang, Karen Uray, Janci L. Chunn, Ling Wei Xia, Jose G. Molina, Norman W. Weisbrodt, Rodney E. Kellems, Michael R. Blackburn, and Yang Xia. Excess adenosine in murine penile erectile tissues contributes to priapism via A2B adenosine receptor signaling. *J Clin Invest.* 2008;118(4):1491-1501.
80. Hall SM, Davie N, Klein N, Haworth SG. Endothelin receptor expression in IPAH: effect of bosentan and epoprostenol treatment. *Eur Respir J.* 2011 Mar 15.

81. Lin CS, Lin G, and Lue TF. Cyclic nucleotide signaling in cavernous smooth muscle. *J. Sex Med.* 2005;2:478–491.
82. Yonezawa A, Sakurada S, Furukawa K, and Kimura Y. Adenosine and adenosine triphosphate [In Japanese.]. *Nippon Rinsho.* 2002;60(Suppl. 6):52–56.
83. Noto T, Inoue H, Mochida H, and Kikkawa K. Role of adenosine and P2 receptors in the penile tumescence in anesthetized dogs. *Eur. J. Pharmacol.* 2001;425:51–55.
84. Filippi S, et al. Functional adenosine receptors in human corpora cavernosa. *Int. J. Androl.* 2000;23:210–217.
85. Shalev M, Staerman F, Allain H, Lobel B, and Saiag B. Stimulation of P2y purinoceptors induces, via nitric oxide production, endotheliumdependent relaxation of human isolated corpus cavernosum. *J. Urol.* 1999;161:955–959.
86. Sharifzadeh M, Zarrindast MR, and Samini M. Effects of adenosine analogues on apomorphine-induced penile erection in rats. *Gen. Pharmacol.* 1995;26:1785–1790.
87. Kilic S, Salih M, Anafarta K, Baltaci S, and Kosar A. Adenosine: a new agent in the diagnosis of impotence. *Int. J. Impot. Res.* 1994;6:191–198.
88. Chiang PH, et al. Adenosine modulation of neurotransmission in penile erection. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1994;38:357–362.
89. Yingbo Dai, Yujin Zhang, Phatarpekar MS, Tiejuan Mi, Hong Zhang, Michael R.Blackburn, Yang Xia. Adenosine Signaling, Priapism and Novel Therapies. *J Sex Med.* 2009;6(suppl 3):292–301.
90. Ma HB, Qin WB, Gui SL. ZnPP IX andL-NAME reduce the cGMP content in the penile tissue of rats. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2009 jun;15(6):523-525.
91. M. Talaat Abdel Aziz, M. Farid Al-Asmar, Taymour Mostafa, Hazem Atta, Laila Rashed, Dina Sabry, Shedeed Ashour, Ahmed T. Abdel Aziz. Assessment of heme oxygenase-1 (HO-1) activity in the cavernous tissues of sildenafil citrate-treated rats. *Asian J Androl* 2007;9(3):377-381.

6. ÖZGEÇMİŞ

01.01.1980 tarihinde Diyarbakır'da doğdum. İlköğrenimimi Mehmetcik İlköğretim Okulu'nda, orta ve lise öğrenimimi Diyarbakır Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 1999 yılında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesinde Eğitime başladım. 2005 yılında tıp doktoru olarak mezun olduktan sonra aynı yıl Diyarbakır'da Eğil Meşeler sağlık ocağında pratisyen hekim olarak göreve başladım. 2006 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Halen bu görevi sürdürmekteyim.