

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

**AKUT İSKEMİK PRIAPİZM MODELİNDE QUERCETİNİN İSKEMİ
REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ.**

**ASSESSMENT OF POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF QUERCETIN ON
ISCHEMIC REPERFUSION INJURY IN AN ACUTE ISCHEMIC PRIAPISM
MODEL.**

Uzmanlık Tezi

Dr.Abuzer KARAAYDIN

Trabzon – 2020

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

**AKUT İSKEMİK PRİAPİZM MODELİNDE QUERCETİNİN İSKEMİ
REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ.**

**ASSESSMENT OF POSSIBLE PROTECTİVE EFFECTS OF QUERCETİN ON
İSCHEMİC REPERFUSİON İNJURY İN AN ACUTE İSCHEMİC PRİAPİZM
MODEL.**

Uzmanlık Tezi

Dr.Abuzer KARAAYDIN

Tez Danışmanı: Prof.Dr.Ersagun KARAGÜZEL

Trabzon – 2020

TEŞEKKÜR

Karadeniz Teknik Üniversitesi Üroloji Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan sayın hocam Prof. Dr. Ersagun KARAGÜZEL'e; Üroloji Anabilim Dalındaki eğitimim süresince her türlü destek ve yardımlarından dolayı değerli hocalarım Prof. Dr. Rasin ÖZYAVUZ'a, Dr. Öğr. Üyesi Abdullah SİVRİKAYA'ya, Dr. Öğr. Üyesi İlke Onur KAZAZ'a, Dr. Öğr. Üyesi Fatih ÇOLAK'a; eğitimim boyunca birlikte uyum içerisinde çalıştığım tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve Üroloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim. Ayrıca tezimin hazırlanmasında katkıları olan Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. S. Caner KARAHAN'a, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Esin YULUĞ'a ve istatistiklerin hazırlanmasında bana yardımcı olan Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Gamze ÇAN'a yardımları için teşekkür ederim

ÖZET

AKUT İSKEMİK PRIAPİZM MODELİNDE QUERCETİNİN İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Giriş: Priapizm tanım olarak cinsel istek, orgazm ve uyarıdan bağımsız yaklaşık 4 saati aşkın devam eden kısmi ya da tam ereksiyon halidir. İskemik priapizmde kavernoza kan akımının az veya hiç olmaması sebebiyle ilerleyici hipoksi, hiperkarbi ve asidoz izlenmektedir. Tedavi edilmezse veya tedavide geç kalınırsa (>24 saat) kavernoza düz kaslarda nekroz, irreversibl korporal fibrozis ve erektil disfonksiyon meydana gelir.

Priapizmin sonlanması ile oluşan reperfüzyon iskemik dokunun korunması için gerekli olmasına rağmen, reperfüzyonun kendisi iskemi reperfüzyon (İR) hasarını meydana getiren patofizyolojik süreci başlatmaktadır. İR hasarı ile birlikte serbest oksijen radikalleri (süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH^-), nitrik oksit (NO), peroksil radikali (ROO) ve radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşmaktadır. Oluşan bu radikaller başta hücre membranında lipid peroksidasyonu olmak üzere hücresel yapılarda hasara sebep olmaktadır.

İR hasarına karşı etkili eksojen antioksidanlardan birisi olan quercetin flavonoid sınıfının bir üyesidir. Çeşitli kanserlerde, diyabette, alerjik hastalıklarda pek çok özelliği tespit edilmiş olup en iyi tanımlanmış özelliği antioksidan özelliğidir. Sebze, meyve, tohum, çay, kahve vb. besin ürünlerinde bulunmaktadır.

Amaç: Çalışmamızda quercetin antioksidan etki mekanizması ile akut priapizmde İR açısından fayda sağlayabileceği hipotezini kurduk. Sıçanlarda oluşturduğumuz penil iskemi-reperfüzyon modelinde uyguladığımız quercetin, İR hasarı üzerine olası olumlu etkilerini histolojik ve biyokimyasal açıdan değerlendirdik.

Gereç ve Yöntem: Bu deneysel çalışmada Sprague Dawley tipi, 350-400 gr ağırlığında toplam 24 adet erişkin erkek rat, randomizasyon yapıldıktan sonra her grup 6 rattan ($n=6$) oluşacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Grup 1 (Kontrol grubu), grup 2 (Priapizm / Reperfüzyon(P/R)), grup 3 (P/R + Dimetil sülfoksit) ve grup 4 (P/R + Quercetin) olarak belirlendi. İskemik priapizm Şanlı modeli (Şanlı ve ark.) esas

alınarak standart 50 cc lik çam uçlu irrigasyon enjektörü ile oluşturulan vakum ereksiyon cihazı ile elde edildi.

Kontrol grubu (grup 1) hariç diğer gruplarda 2 saatlik priapizm devamında yarım saatlik reperfüzyon sonrası penektomi uygulandı. Grup 3’de reperfüzyondan yarım saat önce dimetil sülfoksit, grup 4’de ise reperfüzyondan yarım saat önce 20 mg/kg dozunda quercetin 0.5 cc hacimde olacak şekilde transperitoneal olarak verildi. Abdominal aortadan 3 ml kan alınarak serum ve doku MDA, 4-HNE, GSH, 8-OHdG, MPO, TAS, TOS, OSI ve serum IMA seviyelerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen ratların alınan penis dokusunun histolojik özellikleri (üretra epitel dejenerasyonu, kas dokusu apoptoik indeks (MAI), bağ dokusu apoptoik indeks (CAI), üretra epitel hücrelerinde apoptoik indeks (EAI), sinüzoidal alan, tunika albuginea açılması değerlendirildi

Bulgular: Çalışmamızda histolojik veriler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Biyokimyasal verilerden doku MDA ve Serum 4-HNE, serum IMA, doku TAS, doku TOS, doku MPO ve serum MPO, doku OSI, doku 8-OHdG seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Bu bulgular quercetin’in antioksidan özelliğini göstermektedir. Doku 4-HNE ve doku GSH seviyelerinde anlamlı fark bulunamaması çalışma modelinin akut dönemi kapsamı nedeniyle açıklanabilir ($p>0,05$). Serum TAS ve serum TOS, serum OSI, serum 8-OHdG, serum MDA, serum GSH seviyelerinde de istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamaması, sistemik bir etki oluşması için çalışmada kullanılan 30 dakikalık reperfüzyon süresinin kısa olmasıyla açıklanabilir ($p>0,05$).

Sonuç: Priapizm modelinde, reperfüzyon öncesi quercetin uygulaması sonucu elde edilen veriler literatürde yapılmış olan deneysel çalışma sonuçlarıyla uyumlu bulundu. Çalışılan biyokimyasal parametrelerin önemli bir bölümü quercetin’in antioksidan etkisini gösterdi. Anlamlı bulunmayan parametrelerin çalışmanın akut olması ve reperfüzyon süresinin kısa olmasıyla ilişkili olduğu düşünüldü. Histolojik değişiklik saptanamaması, literatürdeki 4 saatten kısa süreli priapizm modellerinde histolojik değişikliklerin ortaya çıkmaması bulgusuyla uyumludur.

Anahtar Kelimeler: Akut iskemik priapizm, İskemi reperfüzyon hasarı, Quercetin,

SUMMARY

ASSESSMENT OF POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF QUERCETIN ON ISCHEMIC REPERFUSION INJURY IN AN ACUTE ISCHEMIC PRIAPISM MODEL

Introduction: Priapism definition is partial or complete erection which lasts around four or more hours without sexual desire, orgasm or sexual stimuli. In ischemic priapism, there is none or few blood flow, which results progressive hypoxia, hypercarbia and acidosis. If priapism is not treated or treatment is postponed like 24 hours or more, smooth muscle necrosis, irreversible corporal fibrosis, erectile dysfunction occur.

Reperfusion which occurs with termination of priapism, is needed for protecting the ischemic tissue although reperfusion itself initiates a pathophysiological process that leads to ischemia-reperfusion (I/R) injury. With I/R injury free oxygen radicals, hydroxyl radicals (OH⁻), Nitric Oxide (NO), peroxide radicals (ROO) and non-radical hydrogen peroxide develop. These radicals damage the cell membrane especially the membrane lipids.

Quercetin which is effective against ischemia-reperfusion (I/R) injury, is a flavonoid and also an exogenous antioxidant. Quercetin has some effect on various cancer, diabet and allergic disease but being antioxidant is its best known feature. It is found in many fruits, vegetables, leaves, seeds, tea, coffee.

Aim: In our study, we formed a hypothesis which say Quercetin can be beneficial to ischemia reperfusion injury in acute priapism. We assessed histologically and biochemically Quercetin's possible positive effects against ischemia reperfusion injury in a model of induced priapism in rats.

Materials and Methots: Twenty-four male Sprague-Dawley type, 350-400 gr weight rats were divided after randomization into four groups which all group has six rat, group 1 (Control), group 2 (Priapism/Reperfusion), group 3 (Priapism/Reperfusion + Dimethyl sulfoxide) and group 4 (Priapism/Reperfusion + Quercetin). Ischemic

priapism model was induced by pine tipped injector vacuum erection device, based on Şanlı model.

Priapism was induced in all three groups except control group. After 2h, priapism was concluded and 30 min reperfusion was performed. Then penectomy was performed in all groups. In group 3, DMSO (dimethyl sulfoxide) was administered intraperitoneally 30 min before reperfusion, while in group 4, 20mg/kg (0.5 cc) Quercetin was administered intraperitoneally 30 min before reperfusion. 3 ml blood specimens were collected from abdominal aorta in order to determine serum and tissue MDA, 4-HNE, GSH, 8-OHdG, MPO, IMA, TAS, TOS and OSI values, and penile tissue was taken for histopathological examination (urethral epithelium degeneration, muscular apoptosis index, connective tissue apoptosis index, urethral epithelium apoptosis index, sinusoidal space, tears in tunica albuginea).

Results: In our study, no statistically significant difference was found in terms of histological data. A statistically significant difference was found in biochemical data in tissue MDA and Serum 4-HNE, serum IMA, tissue TAS, tissue TOS, tissue MPO and serum MPO, tissue OSI, tissue 8-OHdG levels ($p<0,05$). These findings show the antioxidant properties of quercetin. The absence of a significant difference in tissue 4-HNE and tissue GSH levels can be explained due to the acute period of the study model ($p>0,05$). Serum TAS and serum TOS, serum OSI, serum 8-OHdG, serum MDA, serum GSH levels could not be found to be statistically significant and can be explained by the short 30-minute reperfusion period used in the study for a systemic effect ($p>0,05$).

Conclusions: In the priapism model, the result obtained by the application of quercetin before reperfusion was found compatible with the results of the experimental studies conducted in the literature. Biochemical parameters showed Quercetin's antioxidant feature. It was thought that the parameters that were not significant were related to the fact that the study was acute and the reperfusion time was short. The absence of histological changes is consistent with the finding that histological changes do not occur in priapism models shorter than 4 hours in the literature.

Key Words: Acute ischemia priapism, Ischemia reperfusion injury, Quercetin

KISALTMALAR

AC	Adenilat siklaz
ADA	Adenozin deaminaz
ADK	Adenozin kinaz
AMP	Adenozin monofosfat
ATP	Adenozin trifosfat
C	Kompleman
Ca⁺⁺	Kalsiyum
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
cGMP	Siklik guanilil monofosfat
CGRP	Kalsitonin gen ilişkili peptit
CO	Karbonmonoksit
DNA	Deoksiribo Nükleik asit
eNOS	Endotelial nitrik oksit sentetaz
ENT	Equilibrative nükleotit transporter
ET	Endotelin
ETA	Endotelin A
ETB	Endotelin B
ETZ	Elektron transport zincir
Fe	Demir
GM-CSF	Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör
GMP	Guanilil monofosfat
GSH	Glutasyon S-Transferaz
GSH Px	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutasyon S-Transferaz
GTP	Guanozin trifosfat
H⁺	Hidrojen
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HNE	Hidroksinonenal
HO	Hemoksijenaz

HO1-CO	Hemoksijenaz 1-karbonmonoksit
IFNγ	İnterferon gama
IL	İnterlökin
IMA	İskemik modifiye albümin
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
İR	İskemi reperfüzyon
KAT	Katalaz
KDH	Ksantin dehidrojenaz
KO	Ksantin oksidaz
MCP	Monosit kemoatraktan protein
MDA	Malondialdehitin
MIP	Makrofaj inflamatuvar protein
MPO	Myeloperoksidaz
Na⁺	Sodyum
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NE	Norepinefrin
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentetaz
NO	Nitrik oksit
NO₃⁻	Nitrat
NO-cGMP	Nitrik oksit siklik guanozin mono-fosfat
NOS	Nitrik oksit sentetaz
O₂⁻	Süperoksit
OH⁻	Hidroksil
OSI	Oksidatif stres indeksi
PAF	Platelet Aktive Eden Faktör
pCO₂	Parsiyel karbondioksit basıncı
PDE	Fosfodiesteraz enzimi
PDE5	Fosfodiesteraz tip 5
PDE5İ	Fosfodiesteraz tip 5 inhibitörü
PEG-ADA	Polyethylene glycol–modified adenozin deaminaz

PGD2	Prostaglandin D2
PGE2	Prostaglandin E2
PGF2 α	Prostaglandin F2 alfa
PGI2	Prostaglandin I2
Ph	Power of Hydrogen
PKG	Protein kinaz G
PNL	Polimorf nüveli lökositler
PO2	Parsiyel oksijen basıncı
PP1	Protein fosfataz 1
ROS	Reaktif oksijen türleri
SAHH	S-adenozin-homosistein hidrolaz
sGC	Solubl guanilat siklaz
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikali
TAS	Toplam antioksidan kapasite
TGF-β	Transforming growth factor beta
TNF-α	Tümör nekroz faktör alfa
TOS	Toplam oksidan kapasitesi
TXA2	Tromboksan A2
VIP	Vazoaktif intestinal peptid
8-OhdG	8- hidroksi-2'-deoksiguanozin

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 2.1. Penisin enine kesiti	10
Şekil 2.2. Penisin yüzeyel arter ve venleri	11
Şekil 2.3. Penisin arteriyel dolaşımı	12
Şekil 2.4. Penisin venöz drenaj sistemi (Yüzeyel, orta ve derin venler)	13
Şekil 2.5. Penisin somatik innervasyonu	14
Şekil 2.6. Penisin otonom innervasyonu	14
Şekil 2.7. Pudental sinir seyri	15
Şekil 2.8. NO-cGMP Yolağı	19
Şekil 2.9. cAMP Yolağı	21
Şekil 2.10. Quercetin'in kimyasal yapısı	38

GRAFİKLER

	Sayfa
Grafik 3.1. Doku MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği	49
Grafik 3.2. Serum MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği	51
Grafik 3.3. 4-HNE ölçümünde kullanılan standart grafiği	52
Grafik 3.4. GSH ölçümünde kullanılan standart grafiği	52
Grafik 3.5. 8-OHdG ölçümünde kullanılan standart grafiği	53
Grafik 3.6. MPO ölçümünde kullanılan standart grafiği	54

RESİMLER

	Sayfa
Resim 3.1. Konstriktör bant kullanılarak oluşturulan ereksiyon modeli	44
Resim 3.2. Penis diseksiyonu	46
Resim 4.1. Penisin histolojik kesitinin fotomikrografı (kontrol grubu)	58
Resim 4.2. K. kavernozum penise ait santral ve periferik kavernler (kontrol g.)	59
Resim 4.3. Korpus spongiyozum penise ait kavernler (kontrol g.)	59
Resim 4.4. Penisin histolojik kesitinin fotomikrografı(pri/rep grubu)	60
Resim 4.5. K. kavernozum penise ait santral ve periferik kavernler (pri/rep grubu)	60
Resim 4.6. Korpus spongiyozum penise ait kavernler (pri/rep grubu)	61
Resim 4.7. Penisin histolojik kesitinin fotomikrografı (pri/rep-DMSO grubu)	61
Resim 4.8. K.kavernozum penise ait santral ve periferik kavernler(pri/repDMSO)	62
Resim 4.9. Korpus spongiyozum penise ait kavernler (pri/rep-DMSO grubu)	62
Resim 4.10. Penisin histolojik kesitinin fotomikrografı (pri/rep-Quercetin grubu)	63
Resim 4.11. K. kavernozum penise ait santral ve periferik kavernler (pri/rep-Quercetin grubu)	63
Resim 4.12. K. spongiyozum penise ait kavernler (pri/rep-Quercetin grubu)	64
Resim 4.13. Kontrol grubu korpus kavernozum kas ve bağ dokuda normal, apoptotik hc.	65
Resim 4.14. Kontrol grubuna ait üretra epitel normal,apoptotik hc.	65
Resim 4.15. Pri/Rep grubu korpus kavernozum kas ve bağ dokuda normal, apoptotik hc.	66
Resim 4.16. Pri/Repe grubu üretra epitel normal,apoptotik hc.	67
Resim 4.17. Pri/Rep + DMSO grubu k. kavernozum kas ve bağ dokuda normal,apoptotik hc.	68
Resim 4.18. Pri/Rep + DMSO grubu üretra epitel normal,apoptotik hc.	68
Resim 4.19. Pri/Rep + Quercetin grubu k. kavernozum kas ve bağ dokuda normal,apoptotik hc.	69
Resim 4.20. Pri/Rep + Quercetin grubu üretra epitel normal,apoptotik hc.	69

TABLÖLAR

	Sayfa
Tablo 2.1. Bazı besin maddelerindeki quercetin içeriği	39
Tablo 3.1. Çalışma grupları	45
Tablo 4.1. Kontrol grubu histolojik verileri	64
Tablo 4.2. Priapizm/Reperfüzyon grubu histolojik verileri	66
Tablo 4.3. Pri/Rep+ DMSO grubu histopatolojik değerlendirme sonuçları	67
Tablo 4.4. Pri/Rep + Quercetin grubu histopatolojik değerlendirme sonuçları	69
Tablo 4.5. Kontrol grubu biyokimyasal Analiz Sonuçları	70
Tablo 4.6. Priapizm/Reper. grubuna ait biyokimyasal veriler	71
Tablo 4.7. Priapizm/Reper. + DMSO grubuna ait biyokimyasal veriler	72
Tablo 4.8. Priapizm/Reper. + Quercetin grubuna ait biyokimyasal veriler	73
Tablo 4.9. Quercetin'in etkinliği görülen biyokimyasal parametrik veriler	74

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ.....	4
2. GENEL BİLGİLER	9
2.1. Penis Anatomisi.....	9
2.1.1. Penisin Arteryal Dolaşımı	10
2.1.2. Penisin Venöz Dolaşımı	12
2.1.3. Penisin Lenfatik Drenajı.....	13
2.1.4. Penisin İnervasyonu	13
2.2. Penisin Histolojisi	15
2.3. Ereksiyon Fizyolojisi.....	16
2.4. Priapizmin Fizyopatolojisi.....	17
2.4.1. Kavernozaal Düz Kas Relaksasyonunda Artışa Yol Açan Mekanizmalar....	18
2.4.2. Kavernozaal Düz Kas Kontraksiyonunda Azalmaya Yol Açan Mekanizmalar	23
2.5. İskemi ve Reperfüzyon	25
2.5.1. Mekanizmalar.....	25
2.5.2. Antioksidanların Rolü	33
2.6. Quercetin	38
2.6.1. Quercetin'in Yapısı ve Kaynakları	38
2.6.2. Quercetin'in Farmakokinetik Özellikleri.....	39
2.6.3. Quercetin'in Yan Etkileri	40
2.6.4. Quercetin'in Etki Mekanizması	40
2.6.5. Quercetin Preparatları ve Dozajı	42
3. MATERYAL VE METOD.....	43
3.1. Çalışma Grupları	43

3.2. Biyokimyasal İnceleme	47
3.2.1. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Belirlenmesi	48
3.2.2. Serum MDA Düzeylerinin Belirlenmesi	49
3.2.3 Serum ve Doku 4-Hidroksinonenal (4-HNE) Seviyelerinin Belirlenmesi...	51
3.2.4. Serum ve Doku Glutasyon (GSH) Seviyelerinin Belirlenmesi.....	52
3.2.5. Serum ve Doku 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) Seviyelerinin Belirlenmesi	53
3.2.6. Serum ve Doku Miyeloperoksidaz (MPO) Seviyelerinin Belirlenmesi.....	53
3.2.7. Serum İskemi Modifiye Albümin (İMA) Seviyelerinin Belirlenmesi	54
3.2.8. Toplam Oksidan Durumun (TOS) Belirlenmesi.....	54
3.2.9. Toplam Antioksidan Durumun (TAS) Belirlenmesi	55
3.2.10. Oksidatif Stres İndeksinin (OSI) Hesaplanması.....	55
3.3. Histopatolojik İnceleme Yöntemi	55
3.4. İstatistiksel İnceleme Yöntemi	57
4.BULGULAR	58
4.1. Histopatolojik Bulgular:.....	58
4.1.1. Kontrol Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;	58
4.1.2. Priapizm/Reperfüzyon Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;	59
4.1.3. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;	61
4.1.4. Priapizm/Reperfüzyon + Quercetin Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;	62
4.1.5. Kontrol Grubu Apoptozis Değerlendirmesi	64
4.1.6. Priapizm/Reperfüzyon Grubu Apoptozis Değerlendirmesi	66
4.1.7. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO Grubu Apoptozis Değerlendirmesi.....	67
4.1.8. Priapizm/Reperfüzyon + Quercetin Grubu Apoptozis Değerlendirmesi .	68
4.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları	70
4.3. İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları	74

5. TARTIŞMA.....	76
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	83
7. KAYNAKLAR	84



1. GİRİŞ

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

Priapizm tanım olarak cinsel istek, orgazm ve uyarıdan bağımsız yaklaşık 4 saati aşkın devam eden kısmi ya da tam ereksiyon halidir. Priapizm, patofizyolojik olarak 3 grupta incelenmektedir: 1. Düşük akımlı, iskemik, anoksik veya veno-oklüziv priapizm; 2. Yüksek akımlı, non-iskemik, iyi oksijenizasyonlu veya arteriyel priapizm; 3. Tekrarlayan, açılıp kapanan veya "stuttering" priapizm. Hematolojik diskretiler, iskemik priapizm için başlıca risk faktörüdür. İatrojenik olarak intrakavernozal enjeksiyonlar, oral fosfodiesteraz tip 5 (PDE 5) inhibitörleri de priapizme neden olabilir. Penisin mesane ve prostat kanserine sekonder metastatik infiltrasyonu da priapizme neden olur.

İntermittant priapizm tekrar paterni ile karakterizedir. Orak hücre anemili erkek hastalarda tekrarlayan, istenmeyen ve ağrılı ereksiyon olarak tanımlanmıştır [2]. Priapizm atakları çocukluk çağında başlayabilir. İskemik priapizm sürecine dönüşebilir.

Noniskemik priapizm arteriyel yüksek akımın neden olduğu kalıcı ereksiyon halidir. Tipik olarak korpus kavernozumlar erekte ama sert değil ve penis ağrısızdır. Bu hastalarda penis travma hikayesi yaygındır. Travmaya sekonder kavernozal arteriyel anatominin bozulması sonucu bir arteryo-sinozoidal fistül oluşur. Kavernozal alanda iskemi olmaz, kavernozal kan gazında hipoksi, hiperkarbi ya da asidoz gözlenmez. Priapizmin bu türünde teşhis sonrası acil tedavi gerekmemektedir.

Düşük akımlı priapizm tipi daha yaygın olarak görülmektedir. İskemik priapizm kavernozal kan akımının az veya hiç olmaması ile karakterize kalıcı bir ereksiyondur. İskemik priapizmde ilerleyici hipoksi, hiperkarbi ve asidozun olduğu

korporal metabolik çevrenin zamana bağımlı değişimleri vardır. Kavernoza kan koyu renklidir ve kan gazı analizleri sıklıkla hipoksi ($PO_2 < 30$ mmHg), hiperkapni ($PCO_2 > 60$ mmHg) ve asidoz ($pH < 7.25$) ile karakterizedir [3]. İskemik priapizm ürolojik acil bir durumdur. İskemik priapizm de oluşan hipoksi ve asidoz 4 saat sonra kavernoza fibrozise neden olmaktadır. Tedavi edilmezse veya tedavide geç kalınırsa (> 24 saat) kavernoza düz kaslarda nekroz, irreversibl korporal fibrozis ve erektil disfonksiyon meydana gelir [3]. Uzun anoksi korporal düz kas kasılmasında anlamlı azalma, düz kas ölümüne ve korpus kavernoza fibrozise neden olmaktadır. İskemik priapizmin deneysel hayvan modellerinde lipid peroksidasyonunun reaktif oksijen radikalleri tarafından verilen zararın belirleyicisi olduğu, iskemik priapizm süresince ve daha sonrasında hemooksijenaz üretimini arttırdığı gösterilmiştir [4], [5].

Yapılan farklı çalışmalarda akut iskemik olaylar sırasında, albuminin metal bağlanma kapasitesinin azalarak, iskemik modifiye albumin (IMA) adıyla bilinen metabolik bir varyanta dönüştüğü ve serum düzeyinin arttığı ortaya konmuştur [6].

Priapizmin sonlanması ile birlikte iskemi reperfüzyon (İR) hasarı meydana gelmektedir [4]. Reperfüzyon iskemik dokunun korunması için gerekli olmasına rağmen, reperfüzyonun kendisi İR hasarını meydana getiren patofizyolojik süreci başlatmaktadır. Oksidatif stres hücre membranında tahribat oluşturup kalıcı hücre hasarına yol açarak dokularda yıkıcı etkilere neden olur.

TGF- β (Transforming growth factor beta) doku onarımında hayati önem taşıyan bir sitokindir. TGF- β 'nin upregülasyonu hipoksi sırasında oksidatif strese yanıt olarak ortaya çıkmaktadır [9]. Aşırı miktarda TGF- $\beta 1$ iskemik priapizmde fibrozise neden olan araçlardan birisidir. TGF- $\beta 1$ nötralize edici antikorlar kısa süreli priapizm durumlarında TGF- $\beta 1$ 'in fibrotik etkilerini azaltmıştır [10].

Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin hücre membranında bulunan poliansatüre yağ asitlerini etkilemesi sonucu meydana gelen zincirleme bir reaksiyondur. Bu nedenle oksidatif hasar lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan malondialdehitin (MDA), 4-Hidroksinonenal (4-HNE) ve hegzanal isimli aldehitlerin doku düzeylerinde artmasına neden olur [11], [12], [13].

Antioksidanların plazma konsantrasyonları ayrı ayrı ölçülebilmektedir, ancak bu durum zaman alıcı, yoğun emek gerektiren ve yüksek maliyetli bir iştir. Bu sebeple biyolojik örneklerin antioksidan kapasitesini belirlemek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Plazma antioksidan bileşenlerinin antioksidatif etkisi olduğu için toplam antioksidan kapasite ölçümü (TAS) plazma antioksidan durumu yansıtır. Bu nedenle oksidatif metabolizma ve önerilen hastalıklar arasında belirli bir ilişki ararken toplam oksidan kapasitesi (TOS) ve toplam antioksidan kapasitesi (TAS) değerlendirilmesi esastır [14].

Bu çalışmada toplam antioksidan kapasite düzeyleri için toplam oksidan seviye düzeyi yüzde oranı oksidatif stres indeksi (OSI) olarak değerlendirilecektir [15]. OSI değeri ise aşağıdaki gibi hesaplanacaktır.

$$\text{OSI} = [(\text{TOS}, \mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{equivalent/L}) / (\text{TAS}, \mu\text{mol Trolox equivalent/L}) \times 100]$$

Nonenzimatik antioksidan olan Glutasyon bir antioksidan olarak hareket eder ve ayrıca hücrenin redoks durumunu korumada, detoksifikasyon sisteminin çalışmasında, eikosonoidlerin sentezlenmesinde, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptozisde de antioksidan olarak faaliyet gösterir.

Glutasyon, glutasyon peroksidaz (GSHPx)'in katalitik etkisiyle lipid peroksitleri ve hidrojen peroksit (H_2O_2)'i detoksifiye eder ya da süperoksit (O_2^-) ve hidroksil (OH^-)'i temizler. Ayrıca Glutasyon S-Transferaz (GSH) plazma membranından aminoasit transportunu sağlar, bazı önemli antioksidanları yeniden oluşturur. Vitamin E ve vitamin C GSH tarafından düzenlenir.

Guanin, Deoksiribonükleik asit (DNA) bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olan ve oksidasyona en yatkın olan bazdır. Modifiye bir baz olan 8- hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), reaktif oksijen türlerinin DNA'da yaptığı 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününden biri olup, guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları sonucu oluşan oksidatif DNA hasarının duyarlı bir göstergesidir. Bu nedenle 8-OHdG ölçümü, DNA'daki oksidatif hasarın

doğrudan göstergesi olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarını belirlemede en sık kullanılan yöntem olarak uygulanmaktadır [16].

Myeloperoksidaz (MPO), memeli nötrofillerinin granüllerinde yer alan bir enzim olup, fagosite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde hidrojen peroksit ile birlikte önemli rol oynamaktadır.

İskemi-reperfüzyon hasarında başta nötrofiller olmak üzere inflamatuvar hücreler kemotaksisi oluşmakta, inflamatuvar mediyatörlere yanıt olarak süperoksit iyonu gibi oksidan mediyatörler üretirler. Süperoksit iyonu, süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile önce hidrojen peroksit ve sonrasında mieloperoksidaz (MPO) etkisi ile de hipoklorik asite veya fenton reaksiyonu ile OH⁻ radikaline dönüştür ve ortama salınır.

Çeşitli antioksidan ajanlar, birçok organ sisteminde İR hasarındaki antioksidatif etkilerinin belirlemesi için daha önce kullanılmıştır. Quercetin, flavonoid bileşiklerinin altı alt sınıfından birisi olan bir flavonol olarak kategorize edilmektedir. Quercetin'in belki de en iyi tanımlanmış olan etkisi antioksidan özelliğidir. Serbest radikallerin hücresel fonksiyonları etkilemesi açısından en önemli olay, sonuçta hücre ölümüne yol açan lipid peroksidasyonudur. Canlı organizmalar bu hücresel ölümün gerçekleşmesini engellemek için bazı enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemlerine sahiptir. Bu savunmada yer alan enzimlerden en önemlileri de SOD, katalaz (KAT) ve GSH Px'dır. Ayrıca diğer bir savunma sistemi de vitamin C, vitamin A ve oksidasyon zincirini kıran quercetin gibi fitokimyasallardır. Serbest radikalleri süpürücü etkisi olduğu gösterilmiş olan quercetin bu tür hastalıklarda ve iskemi-reperfüzyona bağlı doku hasarında koruyucu bir etkisi olduğu gösterilmiştir [17].

Quercetin, indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) aktivitesini etkileyerek İR hasarının azalmasına neden olmaktadır. iNOS tarafından makrofajlardan salıverilen nitrik oksidin, yüksek konsantrasyonlarda serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturması oksidatif hasara yol açar. Quercetin ise bu serbest radikalleri

ortamdan süpürdüğü için nitrik oksitle reaksiyona giremezler ve daha az hasar oluşur [18],[19].

Ksantin dehidrogenaz ve ksantin oksidaz, ksantinin ürik aside metabolize edilmesinde önemli enzimlerdir. Fizyolojik koşullar altında mevcut olan enzim ksantin dehidrogenaz iken, oksidatif stres ve iskemik koşullar altında ksantin oksidaza dönüşür. Quercetin ise ksantin oksidaz aktivitesini inhibe ederek oksidatif hasarı azaltır [20],[21].

İskemi ve inflamasyon durumunda ortama salıverilen oksidan ve inflamatuvar mediyatörler doku hasarına yol açar. Quercetin ve diğer flavonoidlerin ise reperfüzyon sırasında immobilize lökosit sayısını azaltarak koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir [21].

Biz bu çalışmada ratlarda deneysel olarak oluşturulan akut iskemik priapizm modelinde serum ve doku MDA, 4-HNE, GSH, 8-OHdG, MPO, TAS, TOS, OSI ve serum ischemia modified albümin (IMA) seviyeleri değerindeki değişiklikler ve uygulanacak olan quercetin'in iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olası koruyucu etkilerinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesini amaçlıyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Penis Anatomisi

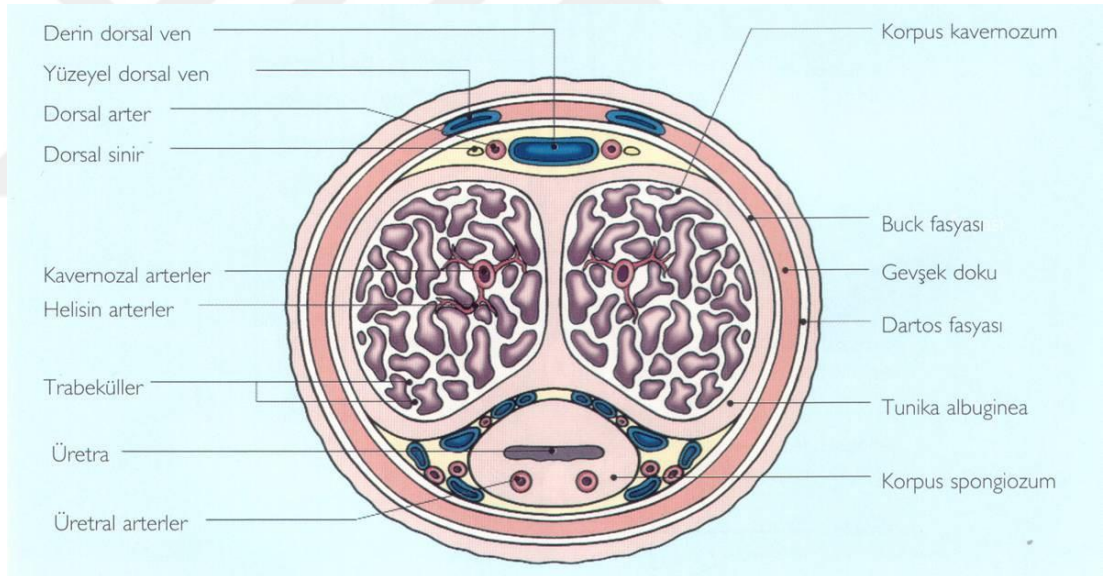
Penis; erkeklerde anatomik ve fizyolojik olarak genitoüriner sistemin son parçasıdır. Flask haldeki uzunluğu erektil düz kasın kontraksiyonuyla kontrol edilir ve sıcaklık ve emosyonel duruma bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik gösterir. Penis boyu flask halde ortalama 8-10 cm, erekte halde 12-14 cm civarlarındadır. Penis üç kolumnar yapı tarafından oluşturulmaktadır. Bunlar bir çift korpus kavernozum ve korpus spongiozumdur. Korpus kavernozumlar pubisin ötesinde penisin yapısına katılırlar, bir septum vasıtası ile ayrılmışlardır ve kollajenöz yapıdaki sert, sağlam bir fibröz kılıf olan tunika albuginea ile sarılıdır. Bu tunika penise büyük bir esneklik, rijidite ve güç verir. Korpus spongiozum adını alan üçüncü kısım ise üretrayı sarar ve distal ucu glans penisini oluşturan yuvarlak yapıdadır [22].

Korpus kavernozumların tunikal örtüsü çok sayıda alt tabakadan oluşan iki yapraklı bir yapıdır. İç yaprağın demetleri kavernöz dokuyu sararak destekler ve sirküler düzenlenmiştir. İç yapraktan septuma uzanan intrakavernozal bantlar erektil dokuya asıl desteği sağlayan septumu güçlendirir. Dış yaprağın demetleri longitudinal seyrederek glans penisten proksimal kruraya doğru uzanır ve inferior ramus pubise yapışırlar. Ancak saat 5 ve 7 hizasında yoktur. Korpus sponsiozumda korpus kavernozumdaki gibi dış tabaka veya intrakorporeal kolonların bulunmamasından dolayı, erekte haldeki basınç spongioz cisimde düşük kalır [23]. Bulbusun distalinde korpus spongiozum incelik ve korpus kavernozum önünde seyreder ve daha sonra glans penisini oluşturur (Şekil 2.1).

Penis derisi koyu renkli ve incedir. Deri altında yağ dokusu bulunmaz. Penisin fascia penis superficialis ve profundus olmak üzere iki fasciası vardır. Superficial fascia scrotumdaki yüzeysel fascia ile devamlıdır. Fascia penis profunda (Buck fasciası) tunica albuginea ile superficial fascia arasında bulunur ve corpus penisini bir kılıf şeklinde sarar ve önde glans penisine kadar devam eder. Buck fasyası dorsalde her iki kavernöz yapıyı çevreler ve önde spongiosumu çevrelemek için ayrılır. Rectus shaftından gelen elastik ve kollajen lifler Buck fasyası ile karışarak, penisin fundiform ligamenti olarak devam

ederler. Pubisten gelen derin lifler penisin suspensuar ligamentini oluşturur. Perinede buck fasyası tunika albigunea ile distalde ise koronada glansın tabanı ile birleşir [23]. Temel fonksiyonu tunika albuginea'yı pubise tutturmak ve penisin hareketli kısmını desteklemektir.

Glans penisin yapısı diğer erektile dokulardan farklıdır. Burada bulunan kavernalar geniş ve kıvrık damara benzer. Bu kavernalar arasında bağ dokusu çoktur. Bununla birlikte kas lifleri de çok az bulunur ve tunika albuginea yoktur. Glansın ucunda üretranın sonlandığı meatus bulunur. Glans "prepusyum" adı verilen çift katlı penis cildi ile örtülüdür. Prepusyumun ön yüzünde bulunan "frenulum" cildin medial bir plisi olup meatusa tutunur.



Şekil 2.1. Penisin enine kesiti

2.1.1. Penisin Arteryal Dolaşımı

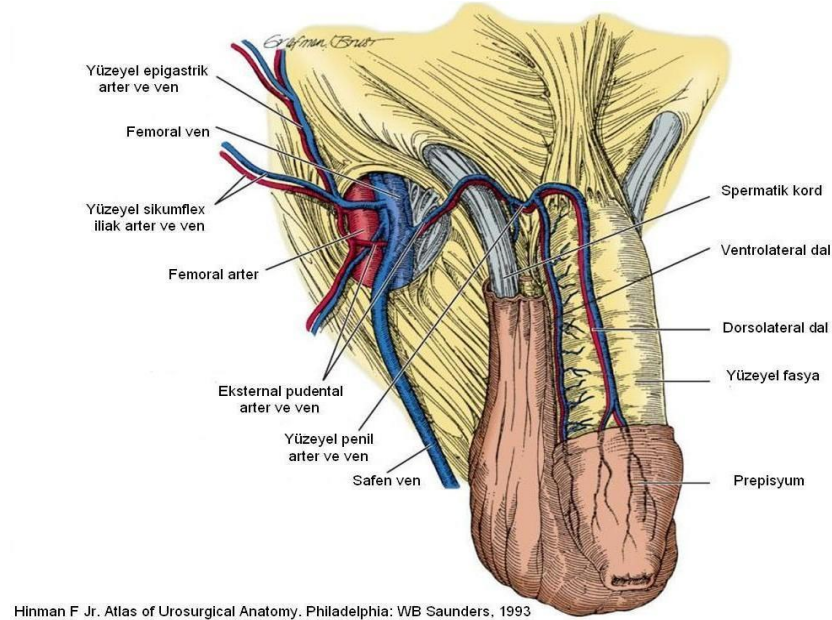
Erektile dokunun ana arteri, internal iliak arterin terminal dalı olan internal pudental arterdir. Eksternal iliak, obturator, vezikal ve femoral arterlerden gelen

aksesuar arterler de bulunabilir. İnternal pudantel arter perineal ve penil arter olarak iki dala ayrılır. Penil arter Alcock kanalında devam eder ve erektıl yapıları beslemek için üç dal halinde sonlanır.

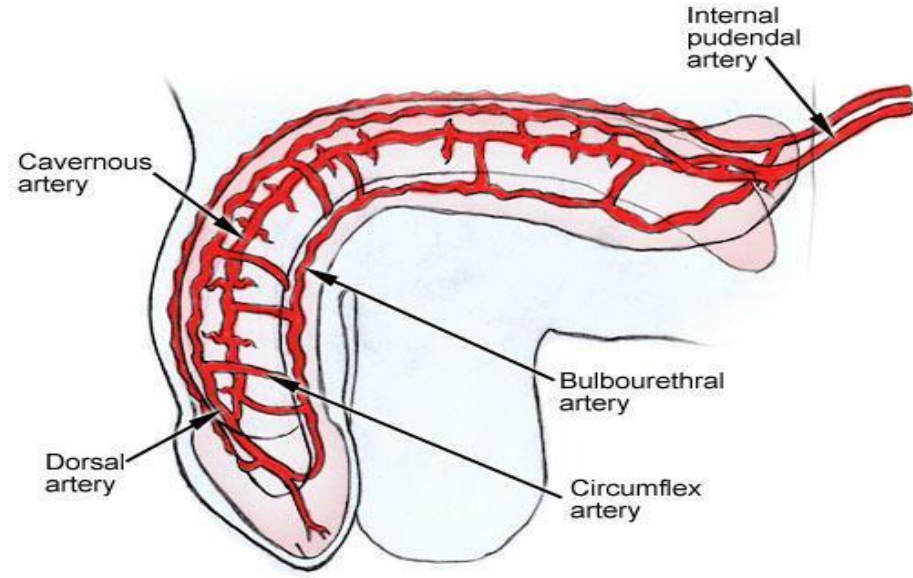
1. Bulboüretal arter: Korpus spongiosumun posterolateral kenarından girmek için perineal membranı penetre eder. Bu arter, üretra, spongiosum ve glansı besler.

2. Kavernosol arter: Kavernöz arter, iki kruranın birleştigi hilus penisden korpus kavernoza girer ve kavernoza tñmesansı sağlar. Seyri boyunca trabeküler erektıl dokuyu ve sinüzoidleri besleyen çok sayıda helisin arterleri verir. Helisin arterler, flask halde kontrakte ve tortioz iken ereksiyonda dilate ve doğrusal şekil alır.

3. Dorsal arter: Dorsal arter, dorsal ven ile dorsal penil sinir arasında seyreder ve Buck fasyasının altında yer alır. Ayrıca glansa doğru giderken spongioz yapıya ve üretraya kavernöz dalları ve sirkumferensiyel dalları verir. Dorsal arter ereksiyonda glansın dolgunluğundan sorumludur [23] (Şekil 2.2 ve Şekil 2.3).



Şekil 2.2. Penisin yüzeyel arter ve venleri

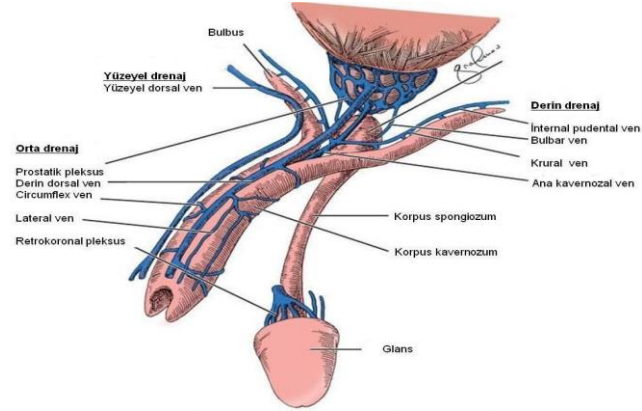


Şekil 2.3. Penisin arteriyel dolaşımı

2.1.2. Penisin Venöz Dolaşımı

Kavernoz cisimlerin venöz drenajı emissery yada sirkumfleks venler aracılığı ile derin dorsal vene olur. Derin dorsal ven retropubik venoz pleksus'a dokulur. Kavernoz cisimlerin proximal kısmının drenajını sağlayan kavernoz venler, spongioz cismi drene eden uretral venlerle birleşerek internal pudendal vene; deri ve derialtı dokusunu drene eden superfisyal dorsal ven ise eksternal pudendal vene dökülür (Şekil 2.4).

Kavernoz cisimlerin venöz drenajı retropubik pleksus ve internal venler aracılığı ile internal iliak vene olurken, penisin superfisyal venöz drenajı eksternal pudendal venler aracılığı ile eksternal iliak vene olmaktadır.



Şekil 2.4. Penisin venöz drenaj sistemi (Yüzeyel, orta ve derin venler)

2.1.3. Penisin Lenfatik Drenajı

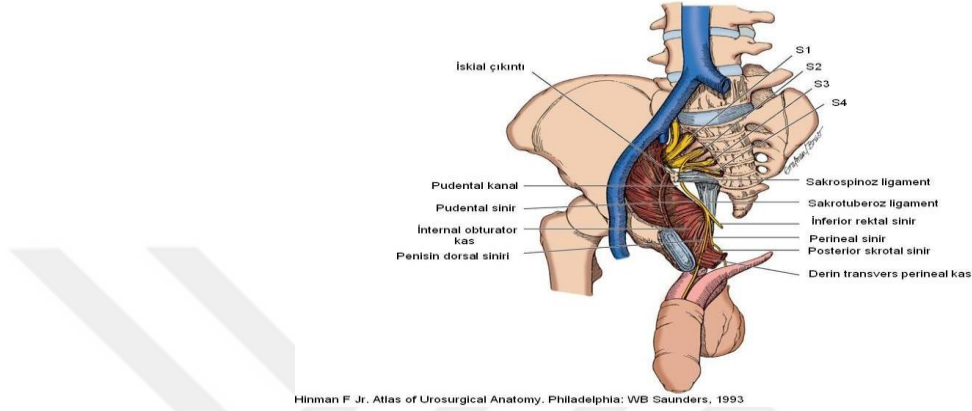
Penil cildin lenfatik drenajı superfisiyal inguinal ve subinguinal lenf nodlarına, glans ve distal üretranın lenfatik drenajı subinguinal ve eksternal iliak lenf nodlarına, derin lenfatikler ise hipogastrik ve ana iliak lenf nodlarına drene olur [22].

2.1.4. Penisin İnnervasyonu

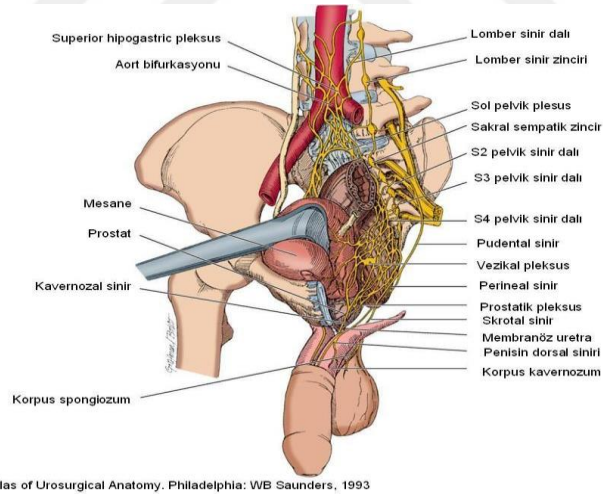
Penisin innervasyonu iki önemli sinir grubu aracılığı ile olmaktadır. Bunlardan ilki plexus pudendalis'in dalı olan n.pudendus'tur. S1, S2, S3, S4 medulla spinalis segmentlerinden çıkar. N.pudendus pelvis taban kaslarına motor dallar verdikten sonra penisin sulcus dorsalisinde a.dorsalis penisle birlikte n.dorsalis penis olarak uzanır. N.dorsalis penis, glans penis ve penis derisinden duyu alır (Şekil 2.5 , Şekil 2.7).

İnnervasyondan sorumlu diğer sinir n.corporis cavernosi penis major ve minor'dur. Abdominal sempatik zincirden çıkan lifler sırayla plexus mesentericus inferior (plexus submesentericus), plexus hypogastricus superior (Laterjet siniri veya n.presacralis), n.hypogastricus yoluyla plexus hypogastricus inferior'a (plexus pelvicus veya plexus pelvinus) ulaşırlar. Bu lifler medulla spinalisin torakal 10-11-12 (T10, T 11, T12), ve lumbal 1-2 (L 1, L2) kaynaklı sempatik lifleridir (Şekil 2.6).

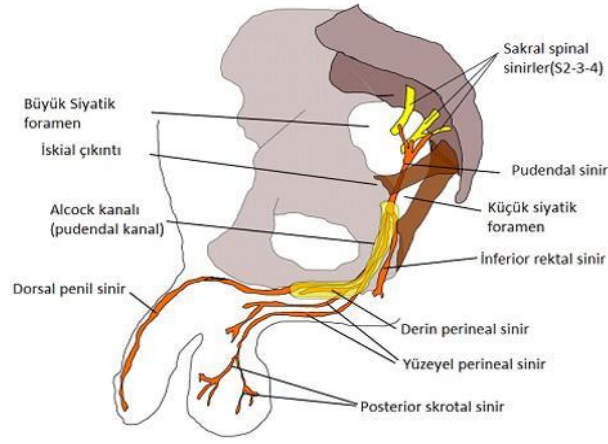
Bu plexusa gelen parasempatik lifler ise medulla spinalisin sakral 2-3-4 (S2, S3, S4)'den çıkan nervus splanchniei pelvici (n. crigentes veya Eckhardt siniri) aracılığı ile gelir. Bu liflerin bir kısmı plexus hypogastricus superior'a kadar çıkarak, flexura coli sinistra'nın distalindeki ve pelvis içi organların bir kısmını innerve etmektedir [24].



Şekil 2.5. Penisin somatik innervasyonu



Şekil 2.6. Penisin otonom innervasyonu



Şekil 2.7. Pudental sinir seyri

2.2. Penisin Histolojisi

Penis; bir çift korpus kavernosum, orta hatta bunları birbirinden ayıran bütünlük göstermeyen bir septum ve ortasında penil üretrayı barındıran ventrale yerleşmiş bir korpus spongiosum olmak üzere silindir şeklinde üç yapıdan oluşur. Kavernöz cisimleri tunika albuginea sarar.

Her üç silindirik yapı da ince bir deriyle örtülüdür. Bu erektile dokular labirent yapılı trabekül kütleleri oluşturan fibroelastik bağ dokusundan oluşur ve ereksiyon sırasında kanla dolan boşluklu venöz sinüslerin oluşturduğu bir damar ağı ile birbirinden ayrılmış düz kas yapılarından ibarettir. Sinüsleri tipik olarak endotel döşer. Penis damardan zengin bir yapı olmasının yanında çok yaygın bir sinir ağına sahiptir. Penil üretra korpus spongiosumun ortasında yer alır. Penil üretra epiteli büyük ölçüde çok katlı prizmatik epitel yapısında olup, üretranın ucuna doğru çok katlı yassı epitele dönüşür. Mukozanın altında bağ dokusu, elastik doku ve düz kastan ibaret submukoza bulunur. Submukozada üretra lümenine açılan çok sayıda litre bezi bulunur. Bu bezler ejakülasyon öncesi salgılanan mukusu oluşturur. Litre bezleri penil üretra boyunca devam eder ve epiteli idrara karşı koruduğu düşünülmektedir [25]. (Şekil 2.1)

2.3. Ereksiyon Fizyolojisi

Erkeklerde seksüel aktiviteyi başlatan duysal uyarıların en önemli kaynağı glans penisidir. Penil ereksiyonda özellikle kavernöz düz kaslarla, arteriol ve arter duvarlarının düz kasları rol oynar. Seksüel duyumlar pudental sinir yoluyla sakral pleksusa gider, oradan omirilikten üst bölgelere iletilir. Omuriliğin sakral bölgesinden kaynaklanan pelvik sinirlerle penise ulaşan parasempatik uyarılarla ereksiyon oluşur. Ereksiyon seksüel uyarı sonucu ortaya çıkan ilk etkidir. Bu parasempatik sinir liflerinden diğer parasempatik sinir liflerinin aksine, asetilkolin yerine nitrik oksit salgılanmaktadır. Ereksiyonun derecesi, psikik ya da fiziksel uyarılmanın şiddetine bağlıdır. Flak durumda düz kaslar kontrakte ve beslenme amacı ile sadece az miktarda arteriyel akıma izin verir. Flak penis orta derecede kontrakte durumdadır [23].

Seksüel uyarı kavernöz sinir terminallerinden nörotransmitterlerin salınımını uyarır ve bu da hem diastolik hem de sistolik fazlarda artmış kan akımıyla arteriyol ve arterlerde genişleme meydana getirir. Gelen kanın genişleyen sinüzoidlere dolması sayesinde, subtunikal venüler plesksusların tunika albuginea ve periferik sinüzoidler arasına sıkışması venöz dönüşte azalmaya neden olur. Tunikanın genişleme kapasitesine kadar iç sirküler ve dış longitudinal tabakalar arasındaki emisser venlerde dolaşım daha da azalarak venöz dönüşüm minimuma iner. İntrakavernozal basınçta yükselme (100 mmHg civarında devam ettirilir) sonucu penis erekte duruma geçer. İskiokavernoz adalelerin kasılması ile basınçta daha da yükselme meydana gelir.

Parasempatik uyarılar ereksiyon oluşturma yanında, üretral ve bulboüretral bezlerin mukus sekresyonuna neden olurlar. Bu mukus sıvısı cinsel birleşme sırasında lubrikasyon ile koitusu yardımcı olur.

Ereksiyon böylece sinüzoidal gevşeme, arteriyel genişleme ve venöz sıkışmayı içerir. Fakat korpus spongiosum ve glans penisteki hemodinamik olaylar, korpus kavernozumlarda meydana gelenlerden biraz daha farklıdır. Ereksiyonda, arteriyel kan akımı aynı şekilde artar; bununla birlikte korpus spongiosum ve glanstaki ereksiyon tunikanın özelliği (korpus spongiosum üzerinde ince ve glansta ise hiç yok) ve venöz

tıkanmanın minimal olması nedeniyle korpus kavernosumlardakinin sadece üçte biri ile yarısı arasındadır [23].

Seksüel uyarıların yoğunlaşması sonucu, omurilikteki refleks merkezlerinden sempatik uyarılar doğmaya başlar. T12 ve L2 düzeyinde omurilikten çıkan uyarılar hipogastrik ve pelvik sempatik pleksuslar yoluyla genital organlara ulaşır. Emisyonu başlatır ve ejakülasyonu haber verirler. Emisyon olayı, spermin internal üretraya atılmasını sağlamak için vas deferens ve ampullanın kasılmasıyla başlar. Daha sonra prostat bezinin kaslı kılıfı kasılır ve bu olayı seminal veziküllerin kasılması izler. Bu şekilde prostat sıvısı ve seminal vezikül içeriğinin boşalması ile spermin ileri doğru itilmesi sağlanır. Bütün bu sıvılar, bulboüretal bezlerden gelen mukus sıvısı ile karışarak semeni oluşturur. İnternal üretranın dolması ile, pudental sinirler yoluyla omuriliğin sakral bölgesine duyuşsal impulşlar ulaşmaya başlar. Bu impulşlar genital organlarda ani bir dolgunluk duygusu yaratır. Genital kanal ve üretrada basınç artışı sonucunda ortaya çıkan ritmik ve dalga şeklindeki kasılmalar ejakülatın üretradan dışarıya atılmasını sağlar. Pelvis kasları ve hatta bazı gövde kaslarının ritmik kasılmalarıyla pelvis ve peniste itici hareketler olur. Bunun sonucunda erkeğin seksüel uyarısı 1-2 dakika içerisinde tamamen kaybolur, ereksiyon sona erer ve rezolüsyon gerçekleşir.

2.4. Priapizmin Fizyopatolojisi

Priapizm, seksüel uyarı ve orgazm olmadan 4 saati aşkın devam eden kısmi ya da tam ereksiyon halidir. Priapizm etyolojisi çoğunlukla idiyopatik olarak bulunmuştur. Vücuttaki tüm düz kaslar istirahatte relaksasyon, fonksiyonel durumda kontraksiyon halinde bulunurlar. Bu durumun tek istisnası penistir. Penil düz kaslar istirahat halinde yani günün yaklaşık 23 saatinde kontrakte şekilde bulunurlar. Ancak penisin fonksiyonel olarak aktif hali olan ereksiyonda, düz kaslar relaksasyona uğramaktadırlar. Dolayısıyla peniste gerek tümesans, gerekse detümesans 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 [26].

Kavernozal düz kaslarda relaksasyon sağlayan başlıca yollar; nitrik oksit siklik guanozin mono-fosfat (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-1) ve Rho-kinaz cevabıdır. Priapizm etyopatogeneğinde penis düz kas dokusunda kontraksiyonda etkin olan mekanizmalarda azalma, relaksasyonda etkin olan mekanizmalarda ise artış beklenmektedir [27],[28].

2.4.1. Kavernozal Düz Kas Relaksasyonunda Artışa Yol Açan Mekanizmalar

İki majör ikincil haberci olan, siklik adenozin monofosfat (cAMP) ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) üzerinden düz kas gevşeme mekanizması vardır. Bunların cGMP ve cAMP bağımlı protein kinazları aktive etmesi yoluyla bazı protein ve iyon kanalları fosforile olur, potasyum kanalları açılır ve hiperpolarizasyon oluşur. Endoplazmik retikulumda hücre içi kalsiyum biriktirilir ve voltaj bağımlı kalsiyum kanalları inhibisyonu ile kalsiyum influksu önlenir. Sonuçta sitoplazmadaki serbest Ca^{++} düzeyi düşerek düz kasta gevşeme olur.

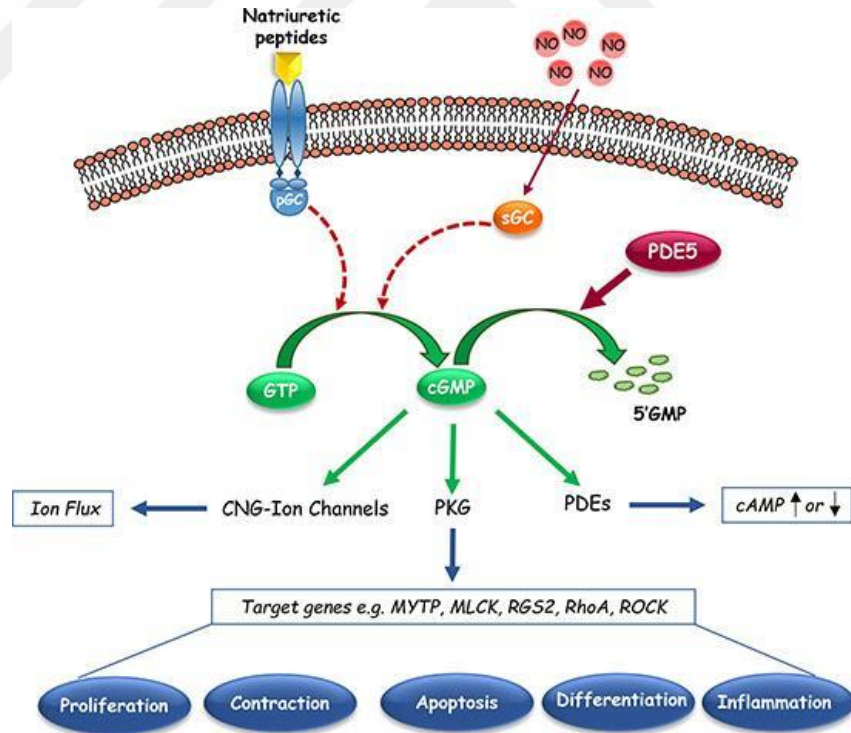
NO-cGMP Yolağı:

Ereksiyonda etkin olan en önemli mekanizma non-adrenerjik, non-kolinerjik NO-cGMP yolağıdır. Kavernozal düz kasın gevşemesi (tümesans) için asetilkolin, endotel ve sinir hücrelerinden nitrik oksit sentetaz (NOS) salınımını uyarır. NOS nöronal nitrik oksit sentetaz (nNOS), endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) ve immün hücreler ve makrofajlardan salınan indüklenabilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) olmak üzere üç formda bulunmaktadır. Korpus kavernozumda her üç tip de mevcut olmakla birlikte, nNOS ereksiyonun başlamasından, eNOS ise sürdürülmesinden sorumludur [29].

Sentezlenen nitrik oksit (NO), düz kas hücresi içine diffüze olarak soluble guanilat siklaza (sGC) bağlanır. Fizyolojik ereksiyonda ekstrasellüler NO ve

intraseküller GMP molekülleri arasında bağlantıyı sağlayan solüble guanil siklaz izoform sGC, erektil fonksiyonda temel rol oynar [30].

sGC-NO ereksiyon sırasında cGMP ile bağlanarak sGC-NO-cGMP yolağı yaparak, guanozin trifosfattan (GTP) cGMP oluşumunu sağlamaktadır. İntraselüler artan cGMP, spesifik protein kinaz G ile bir kompleks oluşturarak bir taraftan endoplazmik retikuluma kalsiyum sekestre ederken, diğer taraftan voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını inhibe eder. İntraselüler Ca^{++} düzeyi düşer [31]. Aynı zamanda potasyum kanallarını açarak membran hiperpolarizasyonunu sağlar. Sonuç olarak hücre içi kalsiyumun düşmesiyle miyozin hafif zincir kinaz enziminin inhibisyonu aktin üzerindeki miyozin köprülerini ayrıştırır, düz kas gevşeyerek tımesans ortaya çıkar (Şekil 2.8). Uzamış istemsiz ereksiyon olarak tanımlanan priapizm patofizyolojisinde, ereksiyondaki normal düz kas fonksiyonunu sağlayan NO-cGMP yolağının değışen etkinliğinin rol oynayabileceğı bildirilmiştir [32]



Şekil 2.8. NO-cGMP Yolağı (Asetilkolin, endotel ve sinir hücrelerinden nitrik oksit sentetaz (NOS) salınımını uyarır. Sentezlenen NO, düz kas hücresi içine diffüze olarak solüble guanilat siklaza (sGC) bağlanır ve GTP'den cGMP oluşumunu sağlar. cGMP ise PKG (protein kinaz G) üzerinden intraseküller Ca^{++} düzeyini düşürür. Sonuçta korpus kavernozumdaki düz kas gevşeyerek tımesans ortaya çıkar.)

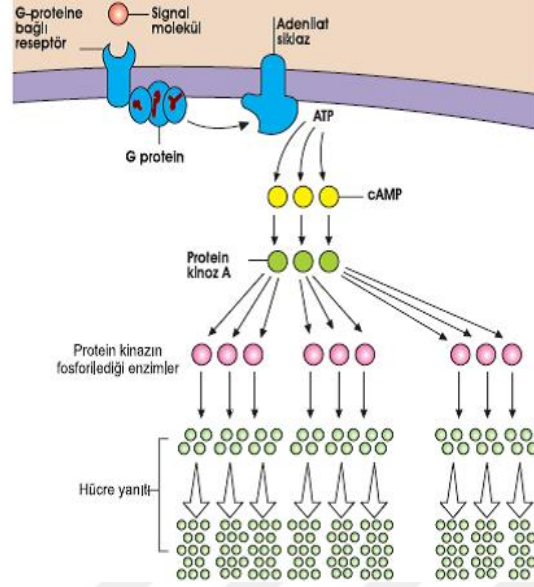
cAMP Yolağı:

Bu yolağın molekülleri adenosin, kalsitonin gen ilişkin peptitler (CGRP), prostoglandinler ve vazoaaktif intestinal peptiddir (VIP).

Adenosin, adenosin trifosfat (ATP)'dan 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 oynamaktır [33]. Dolayısıyla iskemik bir kompartman sendromu olan priapizmde, adenosinin de etkin olabileceği bildirilmiştir [34].

Ayrıca hücre içinde adenosin monofosfat (AMP)'dan da adenosin sentenlenmektedir. Bunu sağlayan da sitokrom 5'-nükleotidaz enzimidir. İntrasellüler ve ekstrasellüler adenosin seviyesi equilibrative nükleotit transporter (ENT) ile dengelenmektedir [34].

Adenosin fizyolojik etkilerini üç farklı reseptör üzerinden gerçekleştirir. Bunlar A1, A2A, A2B ve A3 reseptörleridir [35]. A2 reseptörü G5 proteinine bağlanarak adenilat siklazı (AC) aktive eder. Aktive olan AC sayesinde ATP'den cAMP dönüşümü sağlanır ve sonrasında A2 reseptörü aracılığı ile düz kasta relaksasyon meydana gelir. A1 reseptörü G1 ve G0, A3 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 [35],[36] (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. cAMP Yolağı (Adenozin, G proteinine bağlanarak adenilat siklazı (AC) aktive eder. Aktive AC ise ATP’den cAMP dönüşümünü sağlar, protein kinaz A üzerinden korpus kavernozum düz kasında relaksasyon oluşturur.)

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. Priapizm patofizyolojisinde iskemiye bağlı olarak adenozin sentezinde artış ve/veya yıkımında azalmanın olası etkenlerden biri olabileceği bildirilmektedir. Wen ve arkadaşları deneysel priapizm modellerinde ADA enzim defektine bağlı olarak, adenozin seviyesinde artış olduğunu ve artan adenozin seviyesine bağlı olarak da, A2B 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 [34].

Kalsitonin gen ilişkin peptit (CGRP) ailesi calcitonin gene-related peptide, amylin ve adrenomedullin’den oluşmaktadır. İntrakavernozal CGRP verilmesiyle doza bağlı olarak arteryal kan akımı artışı ve ereksiyon oluşur [37]. Yaşlı ratlarda CGRP gen transferi ile ereksiyon yanıtın artması muhtemelen cAMP düzeyinin yükselmesinden kaynaklanmaktadır [38].

Prostaglandinler birçok biyolojik fonksiyonu başlatabilme özelliği olan eikozanoid ailesine mensupturlar. İnsanlarda 9 alt tipi tespit edilmiştir [39]. Bunlar prostaglandin E2 (PGE2), prostaglandin D2 (PGD2), tromboksan A2 (TXA2) ve prostaglandin F2 alfa (PGF2 α) reseptörlerine bağlanmaktadır. İnsan ve hayvan kavernoza cisimlerinde PGF2 α , PGE2, prostaglandin I2 (PGI2), TXA2 prostoglandinleri üretilir [40].

PGF2 α , PGI2 ve TXA2 korpus kavernoza düz kaslarında kasılma yaparken; PGE1 ve PGE2 ise korpus kavernoza ve spongiozunda prostanoid EP2 ve/veya EP4 reseptörleri aracılığıyla düz kaslarda gevşeme oluşturur. PGE1 transüretal uygulanarak erektojenik etkisi kanıtlanmıştır [41].

İnsan ve hayvan penisindeki sinirler VIP bakımından zengindir [30]. Köpeklerde intrakavernoza VIP enjeksiyonu ereksiyon oluşturmuştur. İnsanda rijid ereksiyon oluşmamıştır ancak papaverin ve fentolamin ile kombinasyonları başarılı sonuçlar vermiştir [42]. İnsan korpus kavernozaunda VIP salınımı nörolojik gevşeme oluşturmamaktadır ve cAMP stimülasyonu oluşturmamaktadır [43].

HO1-CO Yolağı:

Heme proteini, demir ve protoporfirin-IX kompleksinden oluşan ve canlı hücrelerde çok önemli fonksiyonları olan hemoproteinlerin yapısında yer almaktadır. Başlıca hemoproteinler; oksijen taşınmasında rol alan hemoglobin, oksijen metabolizmasında rol oynayan oksidaz, peroksidaz, katalaz, elektron transportunda rol oynayan sitokromdur. Heme proteini, endotel ve düz kasta bulunan hemoksijenaz (HO) enzimi aracılığı ile yıkılmaktadır. Hemoksijenaz enzimi HO1, HO2 ve HO3 olmak üzere 3 izoformu da bulunmakla birlikte insanlardaki en önemli izoform HO1'dir. Oksidatif streste HO1 invivo ve invitro hücre koruyucudur. Hipoksi, stres ve reaktif oksijen ürünlerinin varlığında HO1 düzeyi artmakta ve HO1 heme proteinini yıkarak karbonmonoksit (CO), demir (Fe) II ve biliverdinin açığa çıkmasına neden olmaktadır [44].

Deneyisel priapizm modellerinde artmış HO1-CO etkinliğinin geç dönem priapizmde rol oynayabileceği bildirilmiştir. Jin YC ve arkadaşları özellikle ratlarda oluşturulan deneyisel priapizm modellerinin 24 saatlik geç dönemlerinde kavernoza dokuda HO1 aktivitesini, kontrol grubuna göre altı kat yüksek oranlarda belirlemişlerdir. Artmış olan HO1 aktivitesi sonucu kavernoza dokuda geç dönemlerde ortaya çıkan yüksek orandaki CO'nun priapizmde etkin olabileceğini bildirmişlerdir [44].

2.4.2. Kavernoza Düz Kas Kontraksiyonunda Azalmaya Yol Açan Mekanizmalar

Konvansiyonel PDE5 Yolunda Disregülasyon:

Penil düz kas relaksasyonu ve dolayısıyla ereksiyonda en etkin rol oynayan cGMP, fosfodiesteraz enzimi (PDE) tarafından hidrolize edilerek inaktif form olan GMP'ye yıkılmaktadır. Vücuttaki pek çok organ doku sisteminde toplam 11 PDE izoenzimi (PDE1-PDE11) bulunmaktadır [45]. Bunlardan PDE5, PDE6 ve PDE9 cGMP için spesifiklerdir.

Peniste PDE6 dışında tüm PDE'ler tesbit edilmiştir ancak daha etkin olan izoenzim PDE5'tir [46]. Dolayısıyla penil düz kas relaksasyon ve kontraksiyon regülasyonunda cGMP kadar PDE5 enzimi de etkin rol oynamaktadır. PDE5 sentez veya fonksiyonel disregülasyonlarının erektil disfonksiyon veya priapizmde etkin olabileceği bildirilmiştir [47].

PDE5 enziminin fonksiyonel aktivasyonunda, PDE5 enziminin fosforilasyonu önemli rol oynamaktadır. Ayrıca cGMP'nin allosterik bölgeye bağlanmasının, PDE5 katalitik etkinliğini on kat arttırdığı bildirilmiştir. Bunun yanında PDE5 enziminin deaktivasyonu, protein fosfat 1 (PP1) enzimi tarafından defosforile edilerek ya da caspase 3 enzimi tarafından hidrolize edilerek gerçekleştirilmektedir [47].

Bazal cGMP oluşumu normal sınırlarda olmayan orak hücre anemili hastalarda, orantısız cGMP sentezine bağımlı olarak PDE5'te bir disregülasyon ortaya

çıkılmaktadır. Dolayısıyla bazal seviyenin üzerinde cGMP salınımına sebep olabilecek noktürnal penil tñmesans gibi fizyolojik süreçlerde, kavernoza dokularda disregñle halde bulunan PDE5 tam etkinlik gösterememekte ve artmış bir vazodilatasyon sonucu uzamış ereksiyon ortaya çıkmaktadır [48].

Azalmış Norepinefrin (NE) Cevabı:

Penil arteriyel ve sinüzoidal düz kaslarda kontraksiyon yaparak tñmesansı sonlandıran en önemli mediatör norepinefrindir. Penil arteriyel düz kaslarda hem alfa hem de beta adrenerjik lifler ve reseptörler bulunmakla birlikte alfa reseptörlerinin beta reseptörlerinden on kat daha yüksek oranda bulunduğu belirlenmiştir [49]. Norepinefrin, düz kas hücre zarındaki alfa 1 ve alfa 2 reseptörlerine bağlanarak etkinlik göstermektedir. Alfa 1 reseptörlerin uyarılması ile G-proteine bağı fosfolipaz C aktivasyonu sağlanmakta ve bu da 1,4,5-inositol trifosfat oluşumunu uyararak hücre içi depolardan kalsiyum iyonu salınması sonucu vazokonstriksiyona sebep olmaktadır. Ayrıca alfa 2 reseptör uyarımı adenilat siklaz enzimini inhibe ederek, siklik adenosin monofosfat (cAMP) oluşumunu azaltmakta ve penil detñmesans oluşumuna katkıda bulunmaktadır [50].

Priapizm patogeneğinde uzamış ereksiyona sebep olacak artmış düz kas relaksasyonu yanında, detñmesansı sağlayacak kontraksiyon mekanizmalarındaki azalmanın da etkin olabileceğı bildirilmektedir. Muneer ve arkadaşları özellikle penil kavernoza düz kas hücrelerinin uzamış priapizm süresi ile orantılı olarak, NE'ye azalan oranlarda cevap verdiğini belirlemişlerdir [51].

Endotelin Etkinliğı:

Endotelin, endotel hücrelerince üretilen detñmesans mediatörü olan güçlü bir vazokonstriktördür. Sinüzoidal epitelde üretilen ve endotelin dönüştürücü enzim tarafından endotelin 1 (ET-1)'den sentezlenen 21 amino asitli bir peptittir [52].

Artmış endotelin seviyesi, düz kas vazokonstriksiyonuna, hipertrofisine ayrıca fibrozis ve inflamasyona neden olmaktadır. Endotelin guanin nükleotid bağılayıcı G-

proteine bağlanan endotelin A (ETA) ve endotelin B (ETB) olmak üzere iki farklı reseptör üzerinden etkinlik göstermektedir. Bu iki reseptörün yerleşim yerleri ve endotelin peptidleri bağlama affiniteleri farklıdır. ETA reseptörleri esasen damar düz kas hücrelerinde bulunup vazokonstriksiyonu G-proteine bağlı fosfolipaz C aktivasyonu aracılığıyla 1,4,5-inositol trifosfat oluşumu ve ardından hücre içi depolardan kalsiyum iyonu serbestleşmesi ile uyarmakta iken, ETB reseptörleri ise endotelial hücrelerde bulunur ve NO, PGI2 üretimini artırmak yoluyla vazodilatasyona ve antiproliferatif etkilere yol açar [53],[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. Priapizmde kavernoza düz kaslarda oluşan iskemi neticesinde ET1'in ETB reseptörler üzerinden düz kas relaksasyonu yapması, ereksiyonun uzamasında etkin olmaktadır [55].

2.5. İskemi ve Reperfüzyon

2.5.1. Mekanizmalar

Organ veya dokulara giden kanın herhangi bir nedene bağlı olarak belirgin şekilde azalması veya tamamen kesilmesi sonucunda perfüzyonunun bozulmasına iskemi denir. İskemiye uğrayan dokunun belirli bir süre oksijenden yoksun kalması, doku hasarı veya doku nekrozu ile sonuçlanır. Kan akımının iskemi sonrasında yeniden sağlanması ise reperfüzyon olarak adlandırılır ve iskeminin neden olduğu hasarın genişlemesine yol açar. Bu durum genel olarak İR hasarı olarak adlandırılır. “Oksijen paradoksu” olarak da bilinen İR hasarının biyokimyasal mekanizmalarının anlaşılması klinikte doku hasarını azaltacak yeni tedavi seçeneklerinin ve prosedürlerinin geliştirilebilmesi açısından oldukça önemli bir role sahiptir [56]. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücresel yapılar, zar lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir [57],[58].

İskemi-reperfüzyonda ortaya çıkan hasardan başlıca sorumlu olan serbest oksijen radikal (SOR) oluşumu genel olarak I) Ksantin oksidaz aracılı, II) Mitokondriyal elektron transport zinciri (ETZ), III) Nitrik oksit sentaz ve IV) Fagositik hücre aracılı olmak üzere birbiri ile ilişkili 4 ana biyokimyasal mekanizma ile açıklanmaktadır [59],[60].

İskemik dönemde dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve adenosin 5'-trifosfat ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır [61]. Hem mitokondriyal üretimin durması hem de hücre içerisindeki ATP yıkımına bağlı oluşan enerji kaybı, membrandaki enerji bağımlı iyon pompalarında fonksiyon bozukluğuna ve hücre içi metabolizmanın anaerobik faza yönelmesine yol açar. Laktat ve hidrojen birikimi ile hücre içi pH düşer ve asidoz oluşur. Hücre içi artan hidrojen yükünü dengelemek için Na^+ -H⁺ pompası ile artan hidrojen hücre dışına atılır ve Na^+ - Ca^{2+} pompası ile de kalsiyum hücre içine yer değiştirir [62]. Hasarlanan endoplazmik retikulum da hücre içine kalsiyum salınımına yol açarak kalsiyum artışına katkıda bulunur [63]. Sonuçta hücre içinde Na^+ ve Ca^{2+} iyon konsantrasyonları artar. Hücre içinde Ca^{2+} iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir [64].

İntraselüler kalsiyum artışı, kalsiyum bağımlı sitozolik proteazları aktive eder [65]. Aktivasyonu artan proteazlar, hücre içi hipoksantin dehidrogenaz enzimini ksantin oksidaza dönüştürür [66]. Ksantin oksidaz ise reperfüzyonla gelen oksijeni oksidan olarak kullanır ve hipoksantini önce ksantine ve sonra da ürik aside dönüştürür. Son iki basamakta ürün olarak reaktif oksijen türlerinden O_2^- oluşur. Normal fizyolojik koşullarda oluşan O_2^- , SOD ile önce hidrojen peroksit, sonra da katalaz etkisi ile suya dönüşür. Ancak İR'de ksantin oksidaz etkisine bağlı olarak artan süperoksit radikali O_2^- ve H_2O_2 , antioksidan kapasiteyi aşar ve ortamdan etkin bir şekilde temizlenemez. Hidrojen peroksit daha sonra Fe^{2+} gibi geçiş metalleri veya süperoksit radikalleri ile (Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları) reaksiyona girer ve en güçlü radikal olarak bilinen OH⁻ oluşturur [67]. Reaktif oksijen türleri miktarındaki bu artış sonuçta hücre membranlarındaki lipid yapılarında hasar, hücre içi proteinlerin yapı ve fonksiyonlarında bozulma ve DNA'da yapısal hasar meydana getirerek hücre zedelenmesine yol açar [68].

Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar. İskemi döneminde ATP üretimi durduğu halde kullanımı devam ettiği için ATP'den AMP ve adenozin oluşur. Adenozin, hızla hücre dışına difüze olur ve inozin ve hipoksantine parçalanır. Dolayısıyla, iskemi sonucu yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin (ATP) yıkımı, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne yol açar. Normal şartlarda hipoksantin ürik aside metabolize olur ve bu reaksiyonda elektron alıcı NAD⁺ (nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu) dir. Ancak hipoksi ya da iskemi nedeniyle KDH, KO'a dönüştüğünden hipoksantin ürik aside dönüşümü KO tarafından gerçekleşir ve bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır [57],[69].

Normal şartlarda:

KDH (NAD⁺ yi kullanarak)

Hipoksantin —————> Ksantin ve ürik asit

İskemide:

ATP —————> parçalanır —————> AMP ve ADENOZIN

ADENOZIN hücre dışına geçer —————> inozin ve hipoksantin

AMP —————> Hipoksantin

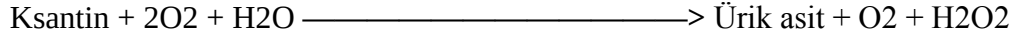
KDH —————> KO

Reperfüzyon ile:

KO (O₂'i kullanarak)

Hipoksantin —————> Ksantin + O₂

KO



İskemi-reperfüzyon (İR) hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık olan hücrel ve humoral olaylar serisidir. Özellikle; serbest oksijen radikalleri, polimorf nüveli lökositler (PNL), kompleman sistemi, endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasındadır [56],[57],[70].

Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest radikal, eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküldür. Genelde elektronlar atom veya molekülde eşlenik olarak bulunmaları nedeniyle molekül stabildir ve reaktif değildir. Ancak, moleküle bir elektron ilavesi ya da bir elektron kaybı onu reaktif hale getirir.

Biyolojik serbest radikaller oldukça dayanıksız ve aynı zamanda reaktif moleküller olup, elektronları hücredeki diğer moleküllerle etkileşime girerek oksidatif stres (hasar) meydana getirirler. Serbest radikaller normal hücrel katabolizma sırasında oluşabildiği gibi, çeşitli dış etkenler aracılığı ile de meydana gelebilir. Oksidatif stres, organizmadaki pro-oksidan ve anti-oksidan dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır [71].

Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikallerin endojen kaynakları genel olarak I) Ksantin oksidaz aracılı, II) Mitokondriyal elektron transport zinciri (ETZ) , III) Nitrik oksit sentaz ve IV) Fagositik hücre aracılı olmak üzere birbiri ile ilişkili 4 ana biyokimyasal mekanizma ile açıklanmaktadır [59],[60].

Normal fizyolojik koşullarda mitokondri hücre içi oluşan süperoksit anyonu (O_2^-) 'nın başlıca kaynağıdır. Hücelere giren oksijenin %90'ı elektron transport zincirinde suya indirgenirken %1-2'lik bir kısım ETZ den (başlıca kompleks I ve III)

elektron kaçağına bağılı olarak süperoksite dönüşür. Normalde oluşan bu süperoksitler, SOD enzimi tarafından hızlıca dismutasyona uğrattılır. İskemi durumunda ETZ’inde moleküler oksijen yokluğuna bağılı olarak elektron akışı durduğundan bu kompleksler (özellikle kompleks I) indirgenmiş düzeyde kalır. ETZ’den sızan elektronlar rezidüel oksijenle reaksiyona girerek süperoksit anyonu (O_2^-) üretimine yol açarlar. Reperfüzyonda ise moleküler oksijenin gelişi ile ETZ’den elektron sızıntısı artar ve patolojik süreç süperoksit anyonu (O_2^-) üretiminin artışı ile devam eder [72]. Ayrıca serbest radikallerin mitokondriyal membran yapılarında oluşturduğu hasar sonucunda mitokondrilerden ortama daha fazla serbest radikal salınır.

Solunan oksijenin %95’inden fazlası mitokondrilerde ATP şeklinde enerji oluşumunda kullanılırken, yaklaşık %5’i de son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron içeren ve bu özellikleri nedeniyle de toksik olan serbest radikallere dönüşmektedir [73]. Serbest radikaller; pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar [74],[75]. Her ne kadar serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır [75],[76].

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve de yapılarının bozulmalarına neden olurlar. Biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen türleri (ROS), süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH^-), nitrik oksit (NO), peroksil radikali (ROO) ve radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi serbest radikaller oksidatif stresin en önemli nedenleri arasında yer almaktadır [77].

Süperoksit radikali, oksijen molekülüne bir elektron ilavesi ile oluşur ve serbest radikal hasarına karşı koruyucu antioksidan bir enzim olan ve oksidan hasar oluşumu ile birlikte artan SOD aracılığı ile H_2O_2 ’e indirgenir. Hidrojen peroksit eşlenmemiş elektron içermediği için tek başına radikal değildir [78]. Hidrojen peroksitin hücre içinde metabolizması birkaç şekilde olabilir. H_2O_2 , KAT veya GPx tarafından toksik olmayan ürünlere dönüşür veya Fe^{+2} gibi geçiş metallerinin varlığında toksik OH^- dönüşür (Fenton reaksiyonu). Hidroksil radikali oldukça reaktif ve toksik bir

radikaldır; herhangi bir OH- süpürücüsünün etkili olabilmesi için mevcut hedef moleküllerin önemli bir bölümünü kapsayacak kadar yüksek konsantrasyonda bulunması gerekir. Bu nedenle OH- radikalının oluşumunun önlenmesi, bu radikalın süpürülmesinden daha etkilidir [79].

Serbest radikal zincir reaksiyonları genellikle, moleküllerden hidrojenin uzaklaştırılmasıyla başlar. Lipid peroksidasyonunda, doymamış yağ asitlerinin hücre membranlarında ve lipoproteinlerdeki oksidasyonu serbest radikal zincir reaksiyonu için iyi bir örnektir [75],[80]. Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin hücre membranında bulunan poliansatüre yağ asitlerini etkilemesi sonucu meydana gelen zincirleme bir reaksiyondur. Bu nedenle oksidatif hasar lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan MDA, 4-HNE ve hegzanal isimli aldehytlerin doku düzeylerinde artmasına neden olur [11],[12],[13]. Ayrıca yapılan farklı çalışmalarda akut iskemik olaylar sırasında albuminin metal bağlama kapasitesinin azalarak, iskemi modifiye albumin (IMA) adıyla bilinen metabolik bir varyanta dönüştüğü ve serum düzeyinin arttığı ortaya konmuştur [6].

Polimorf Nüveli Lökositler (PNL)

İskemi-reperfüzyon hasarında ROS oluşumdan sorumlu bir diğer neden ise endotel hücreler ve reperfüzyonla bölgeye gelen başta nötrofiller olmak üzere inflamatuvar hücreler arasındaki etkileşimlerdir. İskemi sonrası oluşan reperfüzyonda mikrovasküler permeabiledaki artıştan başlıca nötrofillerin sorumlu olduğu gösterilmiştir [81].

İR hasarı ile lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu meydana gelir [82]. Diğer taraftan, PNL yüksek miktarda SOR üretme kapasitesine de sahiptir. İskemi reperfüzyon hasarında PNL'nin rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür [83]. Bunlar: 1) Mikrovasküler oklüzyon, 2) SOR salınması, 3) Sitotoksik enzim salınması, 4) Vasküler permeabilite artışı ve 5) Sitokindir. Aktif nötrofiller salıverdikleri maddelerle yol açtıkları hasarın yanı sıra,

damar içinde oluşturdıkları hücre toplulukları (agregatlar) ve aktif trombositlerle birlikte damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya da neden olurlar.

İskemik dokunun reperfüzyonu; arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşmasına ve sıvı filtrasyonunun artmasına, post-kapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur. Reperfüzyonun başlangıç döneminde, mikrosirkülasyonun tüm segmentlerinde aktive edilmiş endotel hücrelerinden fazla miktarda O_2^- oluşurken, NO oluşumu ise azalır. Süperoksit radikali ile NO arasındaki dengenin bozulması; endotel hücrelerinden platelet aktive eden faktör (PAF), tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) gibi inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına ve lökosit-endotel hücre adhezyonuna aracılık eden adhezyon moleküllerinin biyosentezinin artmasına neden olur [57],[84],[85].

Normal fizyolojik şartlarda fagositik lökositler (makrofaj, nötrofil v.b) ROS'un tetiklediği inflamatuvar mediyatörlere yanıt olarak aktive olurlar ve solunumsal patlama adı verilen mekanizmayla oksidan mediyatörler üretirler. Fagositik hücrelerde solunumsal patlamada ROS üretiminden sorumlu başlıca enzim Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz olup aktivasyon sırasında oksidan üretimi yaklaşık 50-100 kata kadar artabilir [86]. İskemi sonrası reperfüzyonun başlaması ile birlikte, dokuya sunulan oksijenin yaklaşık %70'i NADPH-bağımlı oksidaz ile süperoksit iyonlarına oksitlenmektedir. Süperoksit iyonu SOD aracılığı ile önce hidrojen peroksit ve sonrasında miyeloperoksidaz etkisi ile de hipoklorik asite veya Fenton reaksiyonu ile OH^- dönüşür ve ortama salınır [87]. Polimorf çekirdekli lökosit kaynaklı bu artmış ROS üretimi reperfüzyon hasarında başlıca rolü oynar.

PNL'den bunun dışında interlökin IL-1, IL-6, IL-12, interferon gama ($IFN\gamma$) ve TNF α gibi sitokin ve kemokinler ile elastaz ve kollejenaz gibi proteazlar salınarak bölgeye daha fazla inflamatuvar hücre toplanmasına, daha fazla ROS üretimine ve damar endotelinde hasara yol açar. Proteinazların etkisi ile damar duvarında yapının değişimi ve duvar yapısının gevşemesi ile nötrofillerin dokuya göçü kolaylaşır [88],[89].

Komplemanın Rolü

Kompleman (C) sisteminin aktivasyonu sonunda proinflamatuvar komponentler oluşur. Bunlar C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anaflatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. Lökosit aktivasyonu ve kemotaksisin uyarılmasına ek olarak C5a, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2, MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein (MCP)-1, TNF-a, IL-1 ve IL-6 üretimini uyararak inflamatuvar yanıtı amplifiye eder [90]. C5b-9 endotelde IL-1, IL-8 ve MCP-1 salgısını uyararak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi artırır. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek vasküler tonusu bozar [91],[92].

Endotel Hücresinin Rolü

Oksidatif stres endotel hücrelerinin aktivasyonuna ve işlevlerinin bozulmasına neden olur. Endotel hücreleri SOR için potansiyel hedef konumundayken diğer taraftan da SOR üretim kaynağıdır. Endotel, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan ET'i ve NO'yu üretir. NO arteriyel dolaşımda ET'in vazokonstriktör etkisini tersine çevirme eğilimindedir. Venlerde ise bunun tersi söz konusudur. İR hasarında endotelin/NO oranı endotelin lehine bozulur. Sonuçta arteriyel vazokonstriksiyon ve venlerde vazodilatasyon olur [93].

Nitrik oksitlerin radikal olarak reaktivitesi düşüktür, ancak metal içeren bileşikler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girerler. Özellikle lipit radikallerle tepkimeye girmesi NO'ya antioksidan bir etki kazandırır. Fizyolojik derişimde üretilen NO, esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO₃-) oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksidi ortamdan temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz enziminin indüksiyonu sırasında NO derişiminin artması ile oksidasyonu da hızlanır ve çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bu reaktif türler NO'nun dolaylı etkilerinden sorumludur ve hücrel moleküllerin nitrozilasyonuna, nitrasyonuna, nitrozasyonuna yol açarak, proteinlerin ve enzimlerin aktivitelerinin sonlanmasına neden olabilirler [94].

Endotel hücrelerinin oksidatif stresi sonucu kompleman aktive edilir ve lökosit adhezyon moleküllerinin üretimi artar. SOR etkisi ile endotel hücreleri hasara yanıt olarak IL-1, PAF, prostaglandinler (PGI₂, PGE₂), granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), büyüme faktörleri, endotelin, NO ve TxA₂ salgırlar. Aktive olan endotel hücreleri ek olarak kendi bazal membranlarını sindiren kollajenazlar salgılama yeteneğindedir [84].

2.5.2. Antioksidanların Rolü

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemek, bu maddelerin meydana getirdiğı hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” adı verilir [55]. Antioksidan savunma sistemi dört yolla etki göstermektedir.

1. Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma, yok etme, “süpürücü etki”. Antioksidan enzimler, küçük moleküller bu yolla etki gösterirler [73],[95].
2. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya “inaktif şekle dönüştürücü etki”. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler [96].
3. Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller “zincir kırıcı etki” gösterirler [97].
4. Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklinde “onarıcı etki” gösterirler [98].

Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirilirler. Hücre dışı savunma; albümin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içermektedir. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler SOD, glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom

oksidazdır. Bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir [75],[99].

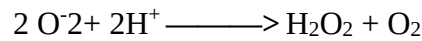
Endojen Antioksidanlar

Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olarak iki alt grupta sınıflandırılır [100],[101].

Enzim Olan Endojen Antioksidanlar: SOD, GSHPx, Glutasyon S-transferaz (GST), Katalaz, Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, Hidroperoksidaz [102].

- i) **Süperoksit dismutaz (SOD):** Reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunma hattını oluşturur [103],[104]. Süperoksit serbest radikalinin H₂O₂ ve moleküler oksijene (O₂) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir.

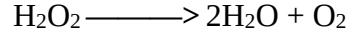
SOD



Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit anyonu üretilmesine rağmen hücre içi düzeyi SOD tarafında düşük tutulur. Ancak, H₂O₂ geçiş metalleri varlığında Fenton ve Haber Weiss reaksiyonu ile son derece aktif OH⁻ radikaline dönüşmektedir. Bu durumda CAT ve GSH-Px enzimlerinin aktivitesi artarak H₂O₂ düzeylerini kontrol altına almaktadır [102],[105].

ii) **Katalaz:** Katalaz esas olarak peroksizomlarda, daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. H₂O₂'yi oksijen ve suya parçalar. Böylece H₂O₂'den hidroksil (OH⁻) oluşumunu önlemek için ortadan kalkmasını sağlar [102].

Katalaz

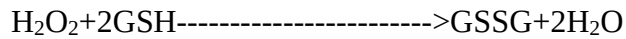


iii) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutasyon redüktaz (GSH-R):

Glutasyon peroksidaz, hücrelerin sitoplazmasında bulunup H_2O_2 'den kaynaklanan oksidatif hasara karşı hücreleri korur. Böylece H_2O_2 'den $\text{OH}^\cdot$ 'in oluşmasını engeller. Glutasyon peroksidaz, dört protein alt biriminden oluşur. Her bir alt birim bir selenyum atomu içerir [104].

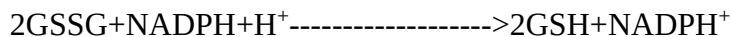
Selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz, H_2O_2 ve organik hiperoksitlere karşı etkilidir. Bu metabolize etme reaksiyonları sırasında GSH, hidrojen verici olarak hareket ettiğinden dolayı H_2O_2 ve hidroperoksitler indirgenirken GSH okside olur. Okside glutasyon, glutasyon disülfittir (GSSG). Glutasyon redüktaz enzimi varlığında okside glutasyon redükte glutasyon haline geri indirgenir. Bu indirgenme reaksiyonu esnasında GSH-R elektron vericisi olarak NADPH'yi kullanır [104],[106].

GSH Px



iv) Glutasyon redüktaz: Glutasyon redüktaz, flavin adenin dinükleotid (FAD) içeren flavoprotein bir enzimdir. Glutasyon redüktaz, NADPH'nin bir elektronunu okside glutasyonun disülfid bağlarına aktararak yeniden GSH'ye dönüştürülür.

GSH-R



Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar: Enzim olmayan antioksidanlar arasında glutatyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q10, selenyum, α -lipoik asit, seruloplazmin ve transferrin sayılabilir [100],[103],[104],[107],[108].

Glutatyon bir antioksidan olarak hareket eder ve ayrıca hücrenin redoks durumunu korumada, detoksifikasyon sisteminin çalışmasında, eikosanoidlerin sentezlenmesinde, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptozisde de antioksidan olarak faaliyet gösterir [109].

Glutatyon, GPx'in katalitik etkisiyle lipid peroksitleri ve H_2O_2 'yi detoksifiye eder ya da O_2^- ve OH^- 'i temizler. Ayrıca GSH plazma membranından aminoasit transportunu sağlar ve bazı önemli antioksidanları yeniden oluşturur. Vitamin E ve vitamin C GSH tarafından düzenlenir.

Melatonin (N-asetil-5-metoksi-triptamin), temel olarak pineal bezden endojen olarak üretilir ve dolaşıma salgılanır. Ayrıca diğer birçok yerde de sentezlenir. Karanlık sırasında triptofandan sentezlenir [110]. Melatonin, serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltır. Bütün hücre içi bölümlerde makromolekülleri oksidatif hasardan korur. Melatonin, doğrudan bir serbest radikal süpürücüsü ve dolaylı bir antioksidan olarak her yerde faaliyet göstermesi sayesinde çok geniş çaplı bir koruma sağlar. Ek olarak, SOD, CAT, GSH Px ve GR içeren antioksidan enzimlerin bazılarını uyarır. Melatonin hücrel membranları sağlamlaştırır ve böylece oksidatif hasara karşı direnmede hücre membranına yardımcı olabilir. En son olarak melatonin elektron taşıma sisteminin etkinliğini artırarak serbest radikal üretilmesini ve elektron kaçaklarını azaltır [79].

Koenzim Q10 bir antioksidan olarak serbest radikalleri süpürür, lipid ve protein peroksidasyonunu baskılar. İndirgenmiş formu ubiquinol ($CoQH_2$), bir lipofilik antioksidan olarak hareket eder ve elektron taşıma sisteminde elektron ve proton taşınmasına katılır. Ubiquinol, oksidanları nötralize etmek için elektron verir ve çok güçlü bir antioksidan aktivitesi gösterir. Böylece koenzim Q10, H_2O_2 ve O_2^- gibi toksik ROS'lara karşı etkin bir koruma sağlar [57].

Eksojen Antioksidanlar

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

Vitamin E, yüksek antioksidan potansiyeli olan yağda çözünen bir vitamindir. İnsanlarda en biyoaktif formu α -tokoferoldür. α -tokoferol, serbest radikallerin hasarlarından hücre membranlarını korur. α -tokoferolün antioksidan olarak temel fonksiyonu lipid peroksidasyonuna karşı korumada bulunmaktır. Vitamin E serbest radikalleri sabit hale getirerek peroksidasyon zincirini kırar ve bu olgu O_2 'nin çoğunlukla hidroksile ya da süperoksite indirgenmesi ile gerçekleştirilir. Vitamin E, radikallerin yok edilmesi, zincirin kırılması, baskılama, bozulan yapıların onarılması ve endojen savunma sistemlerinin güçlendirilmesi gibi mekanizmaların tamamını kullanarak antioksidan görevini yerine getirdiğinden antioksidan kapasitesi çok geniş ve yüksektir. Vitamin E'nin hücre zarında gösterdiği antioksidan etkiyi, hücre içerisinde genelde GSH Px üzerine alır [111]. Glutasyon peroksidaz ve α -tokoferol birbirlerini tamamlayıcı bir antioksidan etki gösterirler. Alfa-tokoferol peroksitlerin oluşumunu engellerken, GSHPx oluşmuş olan peroksitleri ortadan kaldırır.

Askorbik asit olarak da bilinen vitamin C, suda çözünebilen bir vitamindir. Kollajen, karnitin ve nörotransmitter biyosentezi için gereklidir [112]. Vitamin C süperoksit, hidroperoksil, ozon, peroksinitrit, nitrojen dioksit ve hipokloröz asit gibi reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türlerini kolaylıkla temizler ve dolayısıyla oksidatif hasara karşı etkin bir şekilde koruma sağlar. Vitamin C lipidlerde çözünen radikallerin temizlenmesi yoluyla üretilen α -tokoferoksil radikallerinden α -tokoferolü yeniden oluşturarak bir koantioksidan olarak hareket edebilir [113].

ii) İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar

Ksantin oksidaz inhibitörleri: Allopürinol, Oksipürinol, Pterin aldehit, Tungsten

NADPH oksidaz inhibitörleri: Adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, Rekombinant süperoksit dismutaz, Trolox-C (Vitamin E analogu)

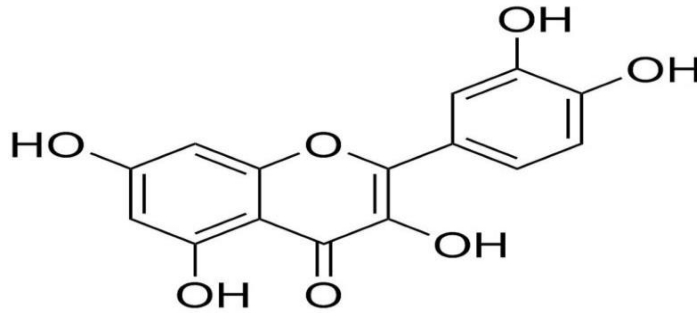
Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar: (GSHPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)

Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar: Mannitol, albümin, Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin), Nötrofil adezyon inhibitörleri, Sitokinler (TNF ve IL-1), Barbitüratlar, Demir şelatörleri

2.6. Quercetin

2.6.1. Quercetin'in Yapısı ve Kaynakları

Quercetin, sarı renkte, acı bir tadı olan kristalize katı bir maddedir. Quercetin 3 halka ve 5 hidroksil grubundan oluşur ve doğada kendiliğinden oluşan flavonoidlerin en yaygın bulunanıdır (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Quercetin'in kimyasal yapısı

Quercetin; flavonol adı verilen flavonoid sınıfının bir üyesidir ve rutin, hesperidin, naringenin ve tangeritin gibi diğer birçok flavonoidin temel omurgasını oluşturur. Suda çözünmemekle birlikte alkolde kısmen çözünür, asetik asit ve sulu alkali solüsyonlarda tam çözünür. Quercetin'in kendisi bir aglikon veya aglukondur

Yapısında bir karbonhidrat içermez ve aslında rutinın şekersiz formu olarak da adlandırılmaktadır [114]. Quercetin glikozidin hidrolizi ile elde edilse de kimyasal sentezi de mümkündür [115],[116].

Flavonoidler bitkilerde yaygın şekilde bulunmaktadır. Quercetin, özellikle de soğanda yüksek oranda olmak üzer meyveler, tohumlar, sebzeler, çay, kahve, eğreltiotu ve doğal boyalar gibi birçok bitki ve besin ürünüde bulunmaktadır (Tablo 2.1). Flavonoidle gibi fitokimyasalların biyosentezinin bitkilerin kendi ortamlarına karşı bir savunma cevabı olduğu bilinmektedir. Flavonoidler genelde UV güneş ışığından ve lipid peroksidasyonundan koruyucudur [117].

Tablo 2.1. Bazı besin maddelerindeki quercetin içeriği [118].

Besin Maddesi	Quercetin içeriği (mg/100g)
Siyah/ Yeşil çay	2
Kırmızı elma	4
Kuzukulağı	86
Dereotu	55
Kırmızı soğan	32
Yaban mersini	15

2.6.2. Quercetin'in Farmakokinetik Özellikleri

Quercetin, ince barsaktan ve nispeten zayıf olarak absorbe edilir. Barsaktaki mikroflora flavonid glikozidi quercetin ve şekere hidrolize eder ve sonrasında

quercetin enterohepatik sistem içerisine absorbe edilir. Enjekte edilmiş olan quercetin yaklaşık %25'inin ince barsaktan absorbe edildiği görülmüştür [119]. Absorbe edilen quercetin portal dolaşım ile karaciğere taşınır ve burada ilk geçiş metabolizmasına uğrar. Quercetin ve metabolitleri vücuttaki neredeyse tüm dokulara dağılır ve plazmada albumine sıkıca bağlanır.

Quercetin oral alımından sonra pik plazma düzeyine 0,7 ile 7,0 saat içerisinde ulaşılırken, eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 25 saattir [120]. Quercetin yağlı bir diyet içerisinde tüketildiğinde eliminasyonun önemli ölçüde geciktiği bildirilmiştir [121].

2.6.3. Quercetin Yan Etkileri

Quercetin oral uygulaması sonrasında en sık bildirilen istenmeyen yan etkiler bulantı gibi gastrointestinal etkiler, baş ağrısı ve ekstremitelerde hafif karıncalanma hissi olmakla birlikte; oral yolla genelde iyi tolere edilmektedir. İntravenöz quercetin uygulaması ise bulantı, kusma, diaforez ve dispneye yol açabilir. Ayrıca quercetin'in toksik ve hatta mutajenik olabileceğine dair çelişkili sonuçlar bulunmaktadır, ancak bunun aksini savunan çalışmalar da bulunmaktadır [122],[123].

Quercetin, çeşitli ilaçlarla etkileşime girerek onların etkilerini değiştirebilir. Quercetin içeren greyfurt suyunun ve quercetin kendisinin yapılan çeşitli çalışmalarda kanda estradiol [124], siklosporin [125] ve digoksin [126] düzeylerini arttırdığı tespit edilmiştir. İn vitro olarak bakterilerdeki DNA giraz bölgesine bağlanarak teorik olarak kinolonlarla bu bölgeye bağlanmak için yarışmaya girerek, kinolonların etkisini inhibe edebileceği gösterilmiştir [127].

2.6.4. Quercetin Etki Mekanizması

Quercetin belki de en iyi tanımlanmış olan etkisi antioksidan özelliğidir. Serbest radikallerin hücresel fonksiyonları etkilemesi açısından en önemli olay, sonuçta hücre ölümüne yol açan lipid peroksidasyonudur. Canlı organizmalar bu hücresel ölümün gerçekleşmesini engellemek için bazı enzimatik veya enzimatik

olmayan antioksidan savunma sistemlerine sahiptir. Bu savunmada yer alan enzimlerden en önemlileri de SOD, KAT ve GSHPx' dir. Ayrıca diğer bir savunma sistemi de vitamin C, vitamin A ve oksidasyon zincirini kıran quercetin gibi fitokimyasallardır. Serbest radikalleri süpürücü etkisi olduğu gösterilmiş olan quercetin bu tür hastalıklarda ve iskemi-reperfüzyona bağlı doku hasarında koruyucu bir etkisi olduğu gösterilmiştir [17],[128].

Quercetin, iNOS aktivitesini etkileyerek iskemi-reperfüzyon hasarının azalmasına neden olmaktadır. iNOS tarafından makrofajlardan salıverilen nitrik oksidin, yüksek konsantrasyonlarda serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturması oksidatif hasara yol açar. Quercetin ise bu serbest radikalleri ortamdan süpürdüğü için nitrik oksitle reaksiyona giremezler ve daha az hasar oluşur [18], [19].

Ksantin dehidrogenaz ve ksantin oksidaz, ksantinün ürik aside metabolize edilmesinde önemli enzimlerdir. Fizyolojik koşullar altında mevcut olan enzim ksantin dehidrogenaz iken, oksidatif stres ve iskemik koşullar altında ksantin oksidaza dönüşür. Quercetin ise ksantin oksidaz aktivitesini inhibe ederek oksidatif hasarı azaltır [20],[21]. İskemi ve inflamasyon durumunda ortama salıverilen oksidan ve inflamatuvar mediyatörler doku hasarına yol açar. Quercetin ve diğer flavonoidlerin ise reperfüzyon sırasında immobilize lökosit sayısını azaltarak koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir [21].

Quercetin kronik inflamatuvar hastalıklar patogeneğinde ve oksidatif strese rol alan ve antiviral ve antimikrobiyal etkiye de sahip olan TNF- α üretimini ve gen ekspresyonunu doza-bağımlı şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir [129]. Quercetin aynı zamanda kalsiyum düzenleyici bir enzim olan kalmodulini antagonize ederek, kalmodulin bağımlı ATPazlar veya fosfolipazlar gibi enzimleri inhibe eder. Böylece membran permeabilitesini etkilemenin yanı sıra mast hücrelerinden histamin sekresyonunu da azaltır [130]. Quercetin, muhtemelen mast hücre membranlarını stabilize etmek suretiyle histamin ve diğer allerjik/inflamatuvar maddelerin üretimini inhibe ettiğinden bazı allerjik hastalıklarda fayda sağlayabilir [131],[132].

Quercetin'in meme, kolon, prostat ve akciğer kanseri gibi durumlarda kanser hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir [133]. Yapılan çalışmalarda flavonoid tüketiminin yaşlı erkeklerde koroner kalp hastalıklarına bağlı ölüm riskini azalttığı gösterilmiştir [134]. Glukozun diyabetik komplikasyonlarından (retinopati, nöropati, nefropati, katarakt vb.) sorumlu olan sorbitole dönüşmesini sağlayan aldoz redüktaz enzimini inhibe etmek suretiyle diyabetik hastalarda faydalı olabileceği görülmüştür [135].

2.6.5. Quercetin Preparatları ve Dozajı

Normal bir diyetle sebze ve meyve tüketimi ile günde 15-40 mg quercetin alınabilir. Quercetin'in öne sürülen olumlu etkilerinden faydalanabilmek için daha çok sebze ve meyve tüketilerek, diyetteki toplam bioflavonoid miktarı artırılabilir veya quercetin besin desteği olarak dışarıdan alınabilir. Ancak terapötik amaçla quercetin kullanımı için genelde yüksek dozlar (250-500 mg günde 3 kez) gerektirmektedir. Quercetin piyasada kapsül veya tablet formunda bulunmaktadır ve tedavi edici günlük doz hastalığa göre değişmekle birlikte erişkinlerde genelde günlük 250-500 mg civarındadır.

Tüm bu bilgilerin ışığı altında, quercetin'in antioksidan etki mekanizması ile akut priapizm de iskemi-reperfüzyonu açısından fayda sağlayabileceği hipotezini kurduk ve sıçanlarda oluşturduğumuz penil iskemi-reperfüzyon modelinde uyguladığımız quercetin'in bu hayvanlarda IR hasarı üzerine olası olumlu etkilerini histolojik ve/veya biyokimyasal açıdan değerlendirdik.

3. MATERYAL VE METOD

Priapizm modelinde quercetinin iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olası koruyucu etkilerinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesi amaçlanan bu deneysel çalışma öncesinde Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınmış olup (07.03.2018 tarihli ve 53488718-246 sayılı etik kurul kararı ile) deney Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Bu deneysel çalışma ile 24.01.2018 tarihli ve 53488718-53 sayılı etik kurul kararı ile onay almış olan “Priapizmde resveratrolün iskemi/reperfüzyon hasarı üzerine olası koruyucu etkilerinin araştırılması” adlı her iki çalışmanın deney gruplarında 3 grup [1) Kontrol grubu (n:6), 2) Priapizm/Reperfüzyon grubu (n:6), 3) Priapizm/Reperfüzyon + Dimetil sülfoksit (Taşıyıcı Kontrol) grubu (n:6)] Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan alınan onay ile (53488718-520 sayılı etik kurul kararı) hayvan refahı ilkesi doğrultusunda ortak gerçekleştirilmiştir. Kullanılacak olan deney hayvanı sayısını azaltmak amacıyla ortak olan bu üç gruptaki rat sayısı her iki çalışma için bir defa ortak kullanılmak üzere 6'şar deney hayvanı içerecek şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.1. Çalışma Grupları

Bu deneysel çalışmada Spraque Dawley tipi, 350-400 gr ağırlığında, toplam 24 adet erişkin erkek rat kullanıldı. Ratlar kendi aralarında numaralandırıldıktan sonra kura çekilerek randomizasyon yapıldı. Randomizasyon yapıldıktan sonra çalışma, 6 rattan (n=6) oluşacak şekilde 4 rat grubu şeklinde oluşturuldu (Tablo 3.1).

Tüm gruplar deney süresince standart oda sıcaklığı ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$), ışılandırma (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık) ve nem ($50 \pm 10\%$) koşullarında tutuldu. Ratlar normal standart yem ve musluk suyu ile beslendi.

Tüm cerrahi işlemlerde anestezi, 80 mg/kg Ketamin ile birlikte 10 mg/kg Xylazin intraperitoneal verilerek yapıldı. İskemik priapizm Şanlı modeli (Şanlı ve ark.) esas alınarak standart 50 cc lik çam uçlu irigasyon enjektörü ile oluşturulan vakum ereksiyon cihazı ile elde edildi. Enjektör ucu flask penis taban çapına uygun hale getirildikten sonra, konstriktör band enjektör ucuna yerleştirildi. Anestezi altındaki ratların flask penis tabanına enjektör yerleştirildikten sonra piston yavaşça geri çekildi ve ereksiyon oluşana kadar 20 cc'lik negatif basınç oluşturularak ereksiyon sağlandı. Yeterli ereksiyon elde edildiğinde lastik konstriktör bant penis köküne enjektörden itilerek yerleştirilip priapizmle uyumlu klinik oluşturuldu (Resim 3.1).



Resim 3.1. Konstriktör bant kullanılarak oluşturulan ereksiyon modeli

Tablo 3.1. Çalışma grupları

Deney ve kontrol grupları	Grup başına hayvan adedi
Grup 1 (Kontrol grubu)	6
Grup 2 (Priapizm / Reperfüzyon)	6
Grup 3 (Priapizm / Reperfüzyon + Dimetil sülfoksit)	6
Grup 4 (Priapizm / Reperfüzyon + Quercetin)	6
Kullanılan toplam hayvan sayısı	24

24 Sprague Dawley rat; her bir grupta 6 olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Grup 1 (Kontrol) (n:6): Kontrol grubu yalnızca penektomi uygulanan ratlarda abdominal aortadan 3 ml kan alınarak bazal serum ve doku MDA, 4-HNE, GSH, 8-OhdG, MPO, TAS, TOS, OSİ ve serum IMA seviyeleri değerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen penis dokusunun histolojik özellikleri değerlendirildi (Resim 3.2).

Grup 2 (Priapizm / Reperfüzyon) (n:6): 2 saatlik priapizm sonrası yarım saatlik reperfüzyon sağlanan gruba penektomi uygulandı, abdominal aortadan 3 ml kan alınarak serum ve doku MDA, 4-HNE, GSH, 8-OhdG, MPO, TAS, TOS, OSİ ve serum IMA seviyeleri değerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen penis dokusunun histolojik özellikleri değerlendirildi.

Grup 3 (Priapizm / Reperfüzyon + Dimetil sülfoksit) (Vehicle) (n:6): 2 saatlik priapizm oluşturulan ratlarda, reperfüzyondan yarım saat önce quercetin taşıyıcısı olan saf Dimetil sülfoksit (DMSO), 20 mg/kg quercetin dozu ile aynı hacimde olacak şekilde transperitoneal olarak verildi ve yarım saatlik reperfüzyon

sağlanan gruba penektomi uygulandı, abdominal aortadan 3 ml kan alınarak serum ve doku MDA, 4-HNE, GSH, 8-OhdG, MPO, TAS, TOS, OSI ve serum IMA seviyeleri değerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen penis dokusunun histolojik özellikleri değerlendirildi.

Grup 4 (Priapizm / Reperfüzyon + Quercetin) (n:6): 2 saatlik priapizm sonrası, reperfüzyondan yarım saat önce 20 mg/kg dozunda quercetin 0.5 cc hacimde olacak şekilde transperitoneal olarak verildi ve yarım saatlik reperfüzyon sağlanan gruba penektomi uygulandı, abdominal aortadan 3 ml kan alınarak serum ve doku MDA, 4-HNE, GSH, 8-OhdG, MPO, TAS, TOS, OSI ve serum IMA seviyeleri değerindeki değişiklikler ile sakrifiye edilen penis dokusunun histolojik özellikleri değerlendirildi. Bu gruptaki ratlara verilecek olan quercetin dozu, daha önce yapılmış iskemi-reperfüzyon çalışması baz alınarak belirlenmiştir.

Tüm gruplardaki ratlara penektomi ve kan alımı sonrası eksanguinasyon yöntemi ile ötenazi uygulandı.



Resim 3.2. Penis diseksiyonu

3.2. Biyokimyasal İnceleme

Biyokimyasal incelemeler K.T.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapıldı. Çıkarılan penis dokusu iki parçaya bölündü ve bir parça histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehid içine kondu. Diğer parça malondialdehit ölçümü için serum fizyolojik (%0,9 NaCl) ile yıkandıktan sonra -80 °C de saklandı.

Kan Örneklerinin Alınması

Ratlardan seperatör jelli biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri pıhtılaşmaya kadar oda sıcaklığında bekletildi. Pıhtılaşan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Elde edilen serum örnekleri mikro hacimli kapaklı tüplere bölünerek çalışılincaya kadar -80°C'de saklandı.

Serum Örneklerinin Hazırlanışı

-80°C'de saklanan serum örnekleri oda sıcaklığına getirilerek çözülmeleri sağlandı. Örnekler vortekslenerek ilgili parametrelerin ölçümü gerçekleştirildi.

Doku Örneklerinin Hazırlanışı

Alınan dokuların her birinden yaklaşık 30'ar mg'lık kesimler yapıldı. Sonrasında bu dokular homejenizatör (IKA Ultra-Turrax T-25, Staufen im Breisgau, Almanya) yardımıyla 1.5 mL fosfat tamponu (PBS, pH:7.4) içerisinde 9500 rpm'de homojenize edildi. Homojenatlar 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Santrifüj sonucu elde edilen süpernatantlarda ilgili parametrelerin ölçümü gerçekleştirildi.

Doku Örneklerindeki Protein Miktarlarının Belirlenmesi

Doku örneklerindeki protein miktarları üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ticari kit (Thermo Scientific Pierce BCA Protein Assay Kit, Cat No: 23227, Rockford, IL, ABD) kullanılarak belirlendi ve sonuçlar mg/mL cinsinden

hesaplandı. Dokularda enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kitleri kullanılarak ölçülen tüm biyokimyasal parametrelerin seviyeleri standardize olması açısından hesaplanan örnek protein miktarlarına oranlanarak mg protein başına olacak şekilde verildi.

3.2.1. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Belirlenmesi

MDA ölçümü, Mihara ve Uchiyama yöntemi [136] modifiye edilerek gerçekleştirildi. Bu metodun esası, MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu molekülün renginin 532 nm'deki absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Doku MDA Ölçümünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1) Doku homojenizasyon tamponu (0.01 M Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS), pH 7.4): 10 adet PBS tableti (Medicago, Uppsala, Sweden) içerisinde yaklaşık 900 mL saf su bulunan beherde çözüldü ve çözeltinin pH'sı, pH metrede (Hanna Instrument, HI 9321, USA) 7.4'e ayarlandı. pH'sı ayarlanan çözeltinin son hacmi 1 L'ye tamamlandı.

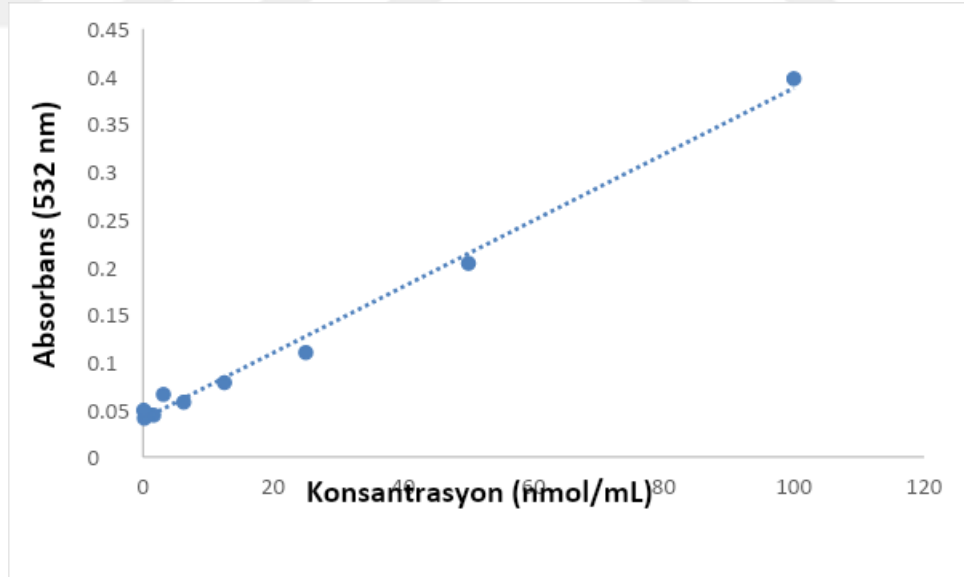
2) %1'lik H_3PO_4 çözeltisi: Bir miktar saf su üzerine 2.94 mL %85'lik H_3PO_4 (Sigma, St. Louis, MO, USA) alındı ve son hacim saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

3) TBA çözeltisi: 0.67 g TBA (Sigma, St. Louis, MO, USA) tartıldı, 50 mL saf su ve 50 mL asetik asit (Sigma, St. Louis, MO, USA) ilave edilerek magnetik bar yardımıyla karıştırılıp çözüldü.

4) Standart çözeltiler: 82.5 μ L 1,1,3,3 tetrametoksipropan (Sigma, St. Louis, MO, USA) 0.01 M 50 mL HCl (Sigma, St. Louis, MO, USA) çözeltisine ilave edildi. Çözelti 50°C'de 1 saat inkübe edildi. Bu şekilde hazırlanan ana stok çözeltisinden çeşitli oranlarda dilüsyonlar yapılarak 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.078 ve 0.039 nmol/mL'lik standart çözeltiler ve kör hazırlandı.

Doku MDA Ölçümü:

1. 500 µL homojenata 3 mL %1'lik fosforik asit (H_3PO_4) eklenerek karıştırıldı.
2. Karışıma 1 mL %0.672'lik TBA eklenip karıştırıldıktan sonra 60 dakika kaynar su banyosunda inkübe edildi.
3. Süre sonunda tüpler oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı ve sonrasında 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
4. Santrifüj sonucu süpernatant kısımlardan 200'er µL alınıp 96 kuyucuklu pleyte yüklenerek mikropleyt okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, USA) 532 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı. Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek MDA standart grafiği çizildi (Grafik 3.1). Bu grafikten yararlanılarak doku MDA miktarı nmol MDA/mg protein olarak hesaplandı.



Grafik 3.1. Doku MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.2. Serum MDA Düzeylerinin Belirlenmesi

Serum örneklerindeki MDA düzeyleri Yagi tarafından geliştirilen Tiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) metodu kullanılarak tayin edildi [137].

Serum MDA Ölçümünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1) 0.084 N Sülfürik Asit (H_2SO_4): 577 μL %97'lik H_2SO_4 (Sigma, St. Louis, MO, USA)'den alınıp, hacim deiyonize su ile 250 mL'ye tamamlandı.

2) %10'luk Fosfotungstik Asit ($H_3(W_3O_{10}) \cdot 4H_2O$): 5.55 g fosfotungstik asit (Sigma, St. Louis, MO, USA) 50 mL deiyonize suda çözüldü.

3) Tiobarbitürik asit (TBA) çözeltisi: 0.67 g TBA (Sigma, St. Louis, MO, USA) tartıldı, 50 mL saf su ve 50 mL asetik asit (Sigma, St. Louis, MO, USA) ilave edilerek magnetik bar yardımıyla karıştırılıp çözüldü.

4) Standart çözeltiler: 82.5 μL 1,1,3,3 tetrametoksipropan (Sigma, St. Louis, MO, USA) 0.01 M 50 mL HCl (Sigma, St. Louis, MO, USA) çözeltisine ilave edildi. Çözelti 50°C'de 1 saat inkübe edildi. Bu şekilde hazırlanan ana stok çözeltisinden çeşitli oranlarda dilüsyonlar yapılarak 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 ve 0.3125 nmol/mL'lik standart çözeltiler ve kör hazırlandı.

Serum MDA Ölçümü:

1. Deney tüplerine 150'şer μL serum, 1200'er μL H_2SO_4 ve 150'şer μL fosfotungstik asit eklendi, tüpler iyice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi.

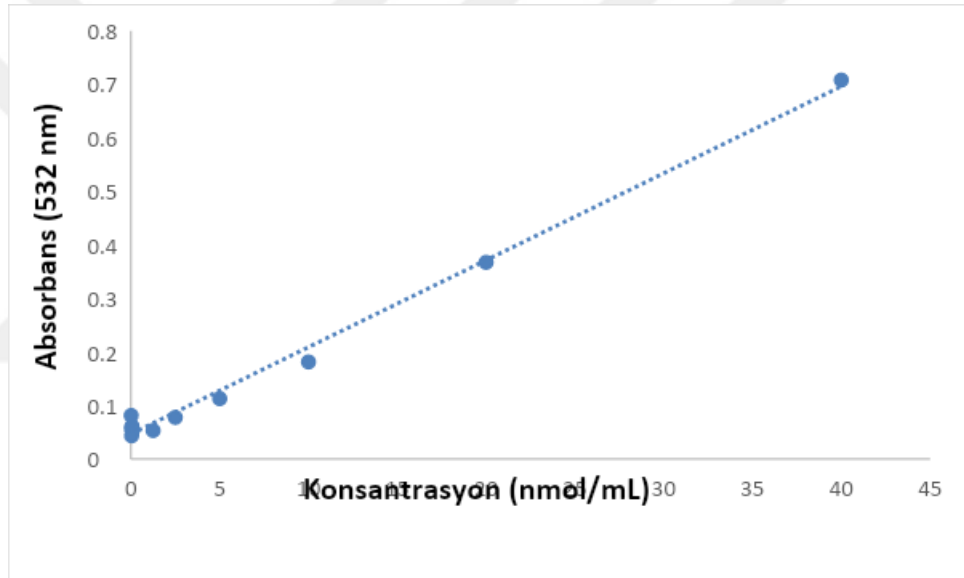
2. Karışımlar 1500 g'de 10 dakika santrifüj edildi ve üst fazlar atıldı.

3. Geriye kalan çökelek kısımları üzerine 2'şer mL saf su eklendi ve yeniden çözününceye kadar vortekslendi.

4. Tüplere 500'er µL TBA eklendi ve 1 saat 100°C'de inkübe edildi.

5. İnkübasyonun ardından tüpler 1000 g'de 10 dakika santrifüjlendi.

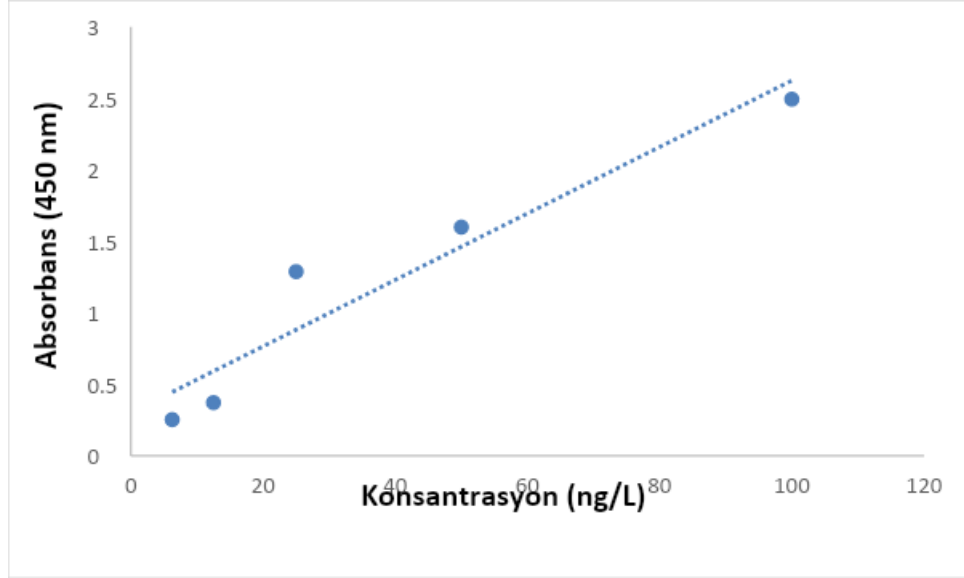
6. Üstteki berrak kısımlardan 200'er µL alınarak 96 kuyucuklu pleyte yüklenerek mikropleyt okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, USA) 532 nm dalga boyunda absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek MDA standart grafiği çizildi (Grafik 3.2). Bu grafikten yararlanılarak serum MDA miktarı nmol/mL olarak hesaplandı.



Grafik 3.2. Serum MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.3 Serum ve Doku 4-Hidroksinonenal (4-HNE) Seviyelerinin Belirlenmesi

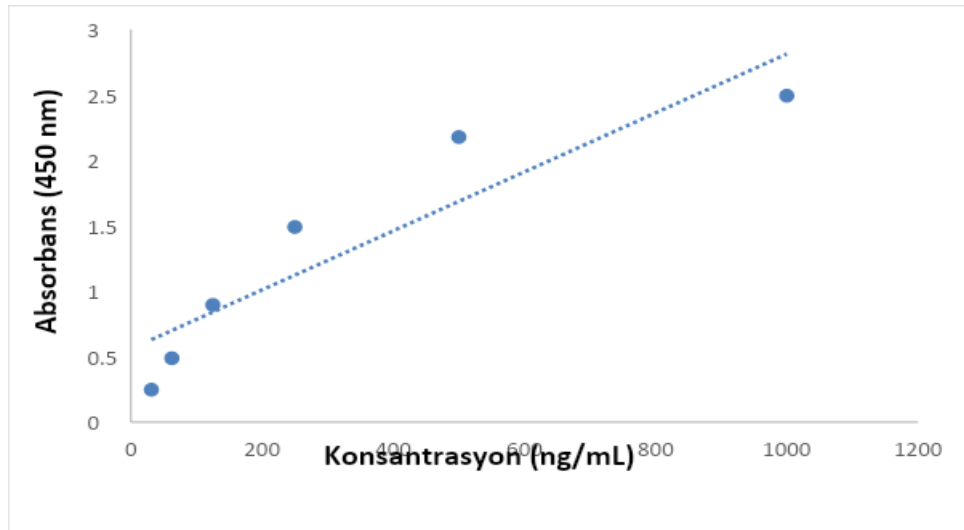
Serum ve doku örneklerindeki 4-HNE seviyeleri ticari ELISA kit (YL Biont, Cat No: YLA0152RA, Shanghai, Çin) kullanılarak üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda belirlendi. Serum 4-HNE seviyeleri ng/L, doku 4-HNE seviyeleri ise ng/mg protein birimiyle verildi. 4-HNE ölçümünde kullanılan standart grafiği Grafik 3.3'de gösterildi.



Grafik 3.3. 4-HNE ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.4. Serum ve Doku Glutasyon (GSH) Seviyelerinin Belirlenmesi

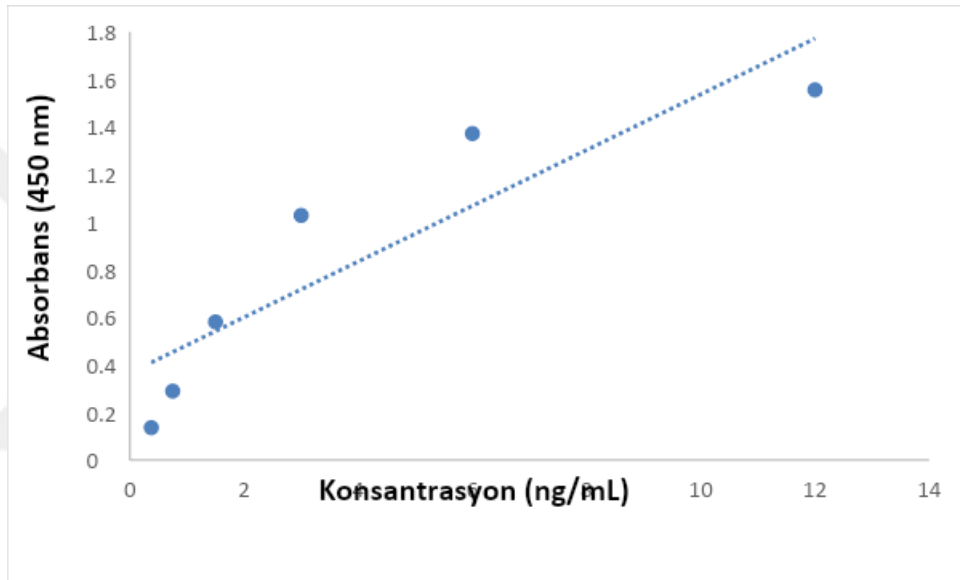
Serum ve doku örneklerindeki GSH seviyeleri, ticari ELISA kit (YL Biont, Cat No: YLA0121RA, Shanghai, Çin) kullanılarak üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda belirlendi. Serum GSH seviyeleri ng/mL, doku GSH seviyeleri ise ng/mg protein birimiyle verildi. GSH ölçümünde kullanılan standart grafiği Grafik 3.4’de gösterildi.



Grafik 3.4. GSH ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.5. Serum ve Doku 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) Seviyelerinin Belirlenmesi

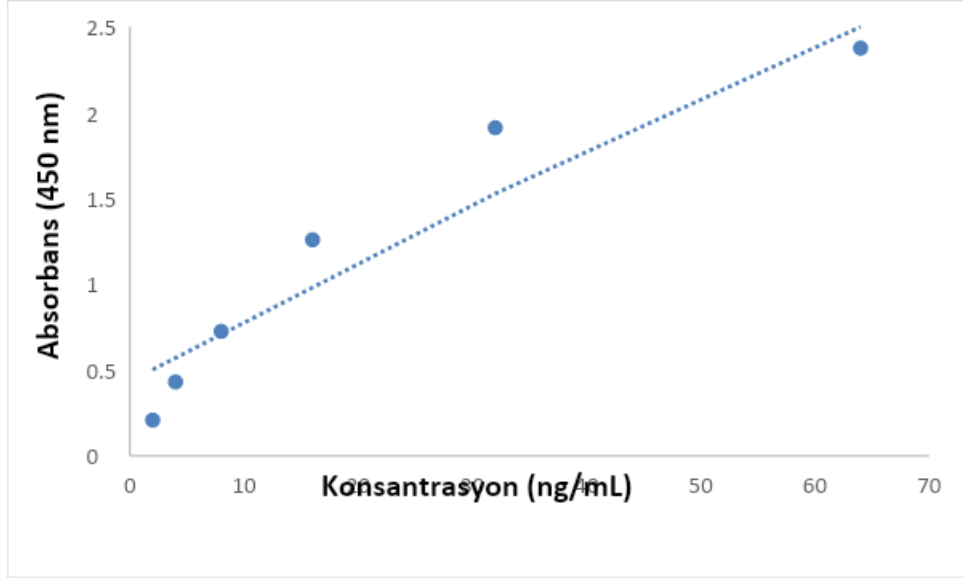
Serum ve doku örneklerindeki 8-OHdG seviyeleri ticari ELISA kit (YL Biont, Cat No: YLA0061RA, Shanghai, Çin) kullanılarak üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda belirlendi. Serum 8-OHdG seviyeleri ng/mL, doku 8-OHdG seviyeleri ise ng/mg protein birimiyle verildi. 8-OHdG ölçümünde kullanılan standart grafiği Grafik 3.5'de gösterildi.



Grafik 3.5. 8-OHdG ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.6. Serum ve Doku Miyeloperoksidaz (MPO) Seviyelerinin Belirlenmesi

Serum ve doku örneklerindeki MPO seviyeleri ticari ELISA kit (YL Biont, Cat No: YLA0046RA, Shanghai, Çin) kullanılarak üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda belirlendi. Serum MPO seviyeleri ng/mL, doku MPO seviyeleri ise ng/mg protein birimiyle verildi. MPO ölçümünde kullanılan standart grafiği Grafik 3.6'da gösterildi.



Grafik 3.6. MPO ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.2.7. Serum İskemi Modifiye Albümin (İMA) Seviyelerinin Belirlenmesi

Serum İMA seviyeleri Bar-Or ve arkadaşları tarafından geliştirilen albümin kobalt bağlama testine göre belirlendi [138].

200'er μL serum örneği plastik spektrofotometre küvetlerine eklendi. Üzerlerine %0.1'lik kobalt (II) klorür heksahidrat ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) çözeltisinden (Sigma, St. Louis, ABD) 50'şer μL yavaşça eklendikten sonra yeterli kobalt-albümin bağlanmasının sağlanması amacıyla 10 dakika beklendi. Süre sonunda küvetlere renklendirici ajan olarak 1.5 mg/mL'lik ditiyotritol (DTT) (Sigma, St. Louis, ABD) çözeltisinden 50'şer μL eklendi ve 2 dakika beklendi. Süre sonunda küvetlere %0.9'luk sodyum klorür çözeltisinden 1'er mL (kobalt ve albumin arasında meydana gelen bağlanmayı durdurmak amacıyla) eklenerek reaksiyon durduruldu. Her bir numune için numune körü yapıldı ve kör numunelerine DTT yerine aynı miktar distile su konuldu. Numune absorbansları spektrofotometrede (Shimadzu UV1601, Tokyo, Japan) 470 nm'de ölçüldü. Numune ve kör absorbans farkları alınarak İMA sonuçları absorbans ünitesi (ABSU) cinsinden rapor edildi.

3.2.8. Toplam Oksidan Durumun (TOS) Belirlenmesi

Doku ve serum örneklerindeki TOS seviyeleri ticari kolorimetrik kit (Rel Assay Diagnostics, Cat No: RL0024, Gaziantep, Turkey) kullanılarak üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda belirlendi ve sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L birimiyle verildi.

3.2.9. Toplam Antioksidan Durumun (TAS) Belirlenmesi

Doku ve serum örneklerindeki TAS seviyeleri ticari kolorimetrik kit (Rel Assay Diagnostics, Cat No: RL0017, Gaziantep, Turkey) kullanılarak üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda belirlendi ve sonuçlar mmol troloks eşdeğeri/L birimiyle verildi.

3.2.10. Oksidatif Stres İndeksinin (OSI) Hesaplanması

Serum ve doku örneklerindeki OSI seviyeleri;

$$\text{OSI} = [(\text{TOS}, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eşdeğeri/L}) / (\text{TAS}, \mu\text{mol troloks eşdeğeri/L}) \times 100]$$

formülü kullanılarak hesaplandı [139].

3.3. Histopatolojik İnceleme Yöntemi

Histopatolojik incelemeler Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirildi. Çalışma sonunda tüm gruplara ait ratların penisleri çıkarıldı. Penis organlarının orta parçalarına denk gelen kısımlarından alınan doku örnekleri histopatolojik değerlendirme yapılması için %10'luk formaldehit solüsyonu içinde 72 saat tespit edildi. Tespit edilen doku parçaları %70, %90, %96 ve %100'lük dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Daha sonra ksilen solüsyonundan geçirilerek şeffaflaştırıldı. Dokuların parafin blokları hazırlanarak, bloklardan tam otomatik mikrotom (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) ile 5 μm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler deparafinizasyon işleminden sonra hematoksilin-eozin (H&E) ve genel histolojik yapının detaylı olarak değerlendirilmesi

ve kavernöz yapının daha iyi incelenebilmesi için trikrom–Masson boyası ile boyandı [140].

Trikrom- Masson Boyama Yöntemi:

Dokuların trikrom-Masson boyamasının yapılmasında Masson Trichrome With Aniline Blue (BES LAB-Histomed, Ankara-Türkiye) Kit kullanıldı. Deparafinizasyon işleminden sonra preparatlar Bouin solüsyonunda 56°C de 1 saat etüvde tutuldu. Ardından preparatlar dokuların sarı rengi beyaza dönene kadar suda tutuldu. Mayer'in hematoksileninde 2 dakika tutulduktan sonra tekrar suda yıkandı. Trikrom kombine boyada 5 dakika bekletildi ve tekrar suda yıkandı. Son olarak alkolden geçirildikten sonra kurutulup kapatıldı.

TUNEL Yöntemi:

Gruplara ait rat penislerinin korpus kavernozumlarındaki kollajen lifler, düz kas hücrelerindeki ve üretra epitel hücrelerindeki apoptozisi tespitinde terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) deoxyuridine triphosphate nick end labeling assay (TUNEL) yöntemi kullanıldı. Hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Deparafinize edildi. Dokulara ait kesitlerde apoptozis tespitinde “in situ cell death detection kit AP” (Roche, Mannheim, Germany) kullanıldı. Apoptotik hücre nükleuslarının boyanmasında 3,3'-diaminobenzidine içeren kit (DAB, Sigma, St Louis, MO, USA) kullanıldı. Kahverengi nükleuslu hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Korpus kavernozumda kollajen lif, düz kas hücrelerinde ve üretra epitel hücrelerinde ayrı ayrı 200X büyütmede 5 farklı alanda apoptotik hücreler sayıldı. Total hücre sayısına göre apoptotik hücre yüzdesi, apoptotik indeks (AI) olarak hesaplandı [141],[142],[143]. Hücrelerin sayımında Analysis 5 Research program (Olympus Soft Imaging Solutions, Münster, Germany) kullanıldı.

Preparatlar bu konuda deneyimli ve gruplardan habersiz bir histolog (E.Y.) tarafından değerlendirildi. Değerlendirmede ışık mikroskop (Olympus BX-51; Olympus Optical Co., Tokyo, Japan) kullanıldı. Genel yapı histopatolojik açıdan değerlendirildi. Üretra yapısı tunika albuginea açılması ve üretra epitel dejenerasyonu

açısından yarı kantitatif olarak 0-3 arasında skorlandı. Buna göre 0: Hiç yok, 1: Hafif, 2: Orta, 3: Şiddetli olarak değerlendirildi [144].

Korpus kavernozumda sinüzoidal alan ölçümü ışık mikroskop altında 200X büyütmede ölçüldü. Ölçümde Analysis 5 Research program (Olympus Soft Imaging Solutions, Germany) kullanıldı. Ölçümde her bir gruba ait penis preparatlarında korpus kavernozumda rastgele 5 sinüzoidal alan ölçüldü ve ortalamaları alınarak ortalama sinüzoidal alan olarak kayıt edildi.

3.4. İstatistiksel İnceleme Yöntemi

Grupların karşılaştırılmaları normal dağılıma uyan parametrik veriler için tek yönlü ANOVA (post hoc olarak Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi) ile; normal dağılıma uymayan parametrik veriler için Kruskal Wallis varyans analizi (Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi) ile yapıldı. Parametrik olmayan veriler için Ki Kare testi yapıldı. Yanılma olasılığı (P değeri) $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

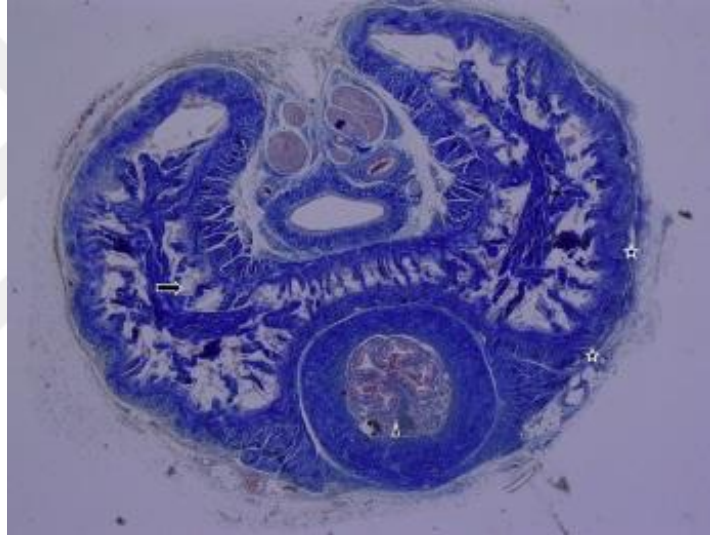
4.BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular:

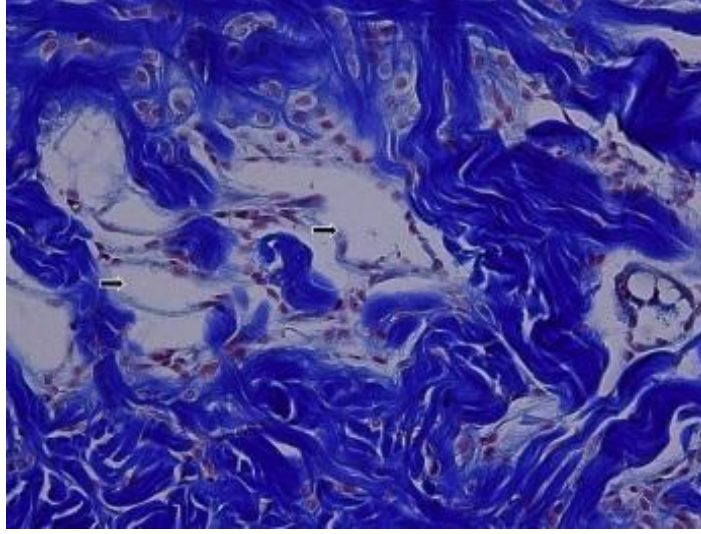
Gruplara ait penis dokusunun ışık mikroskopik değerlendirmesinde;

4.1.1. Kontrol Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;

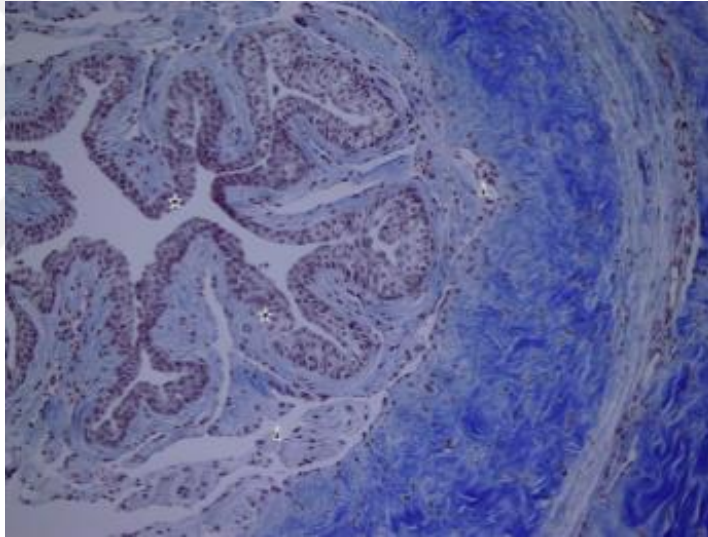
Kontrol grubunda normal penis korpus kavernozum ve korpus spongiozum yapısı izlendi (Resim 4.1, 4.2, 4.3).



Resim 4.1. Penisin histolojik kesitinin fotomikrografı. Korpus kavernozum penise ait santral ve periferik kavemler (ok), korpus spongiyozum penise ait kavemler (ok başı), tunika albuginea (yıldız). (Trikróm Masson; X40).



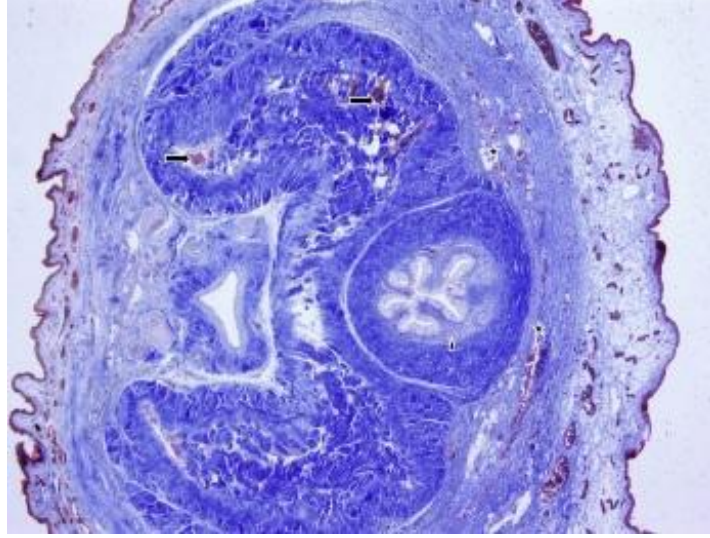
Resim 4.2. Korpus kavernozum penise ait santral ve periferik kavernler (ok). (Trikrom Masson; X200).



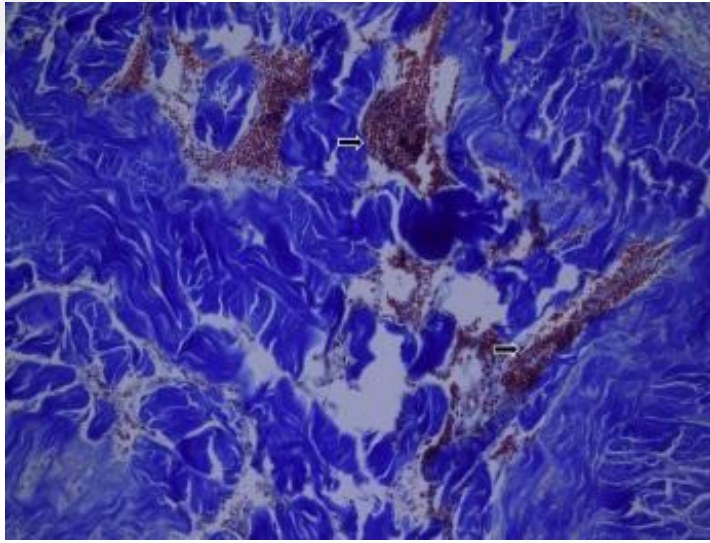
Resim 4.3. Korpus spongiyozum penise ait kavernler (ok başı), üretra epiteli (yıldız). (Trikrom Masson; X200).

4.1.2. Priapizm/Reperfüzyon Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;

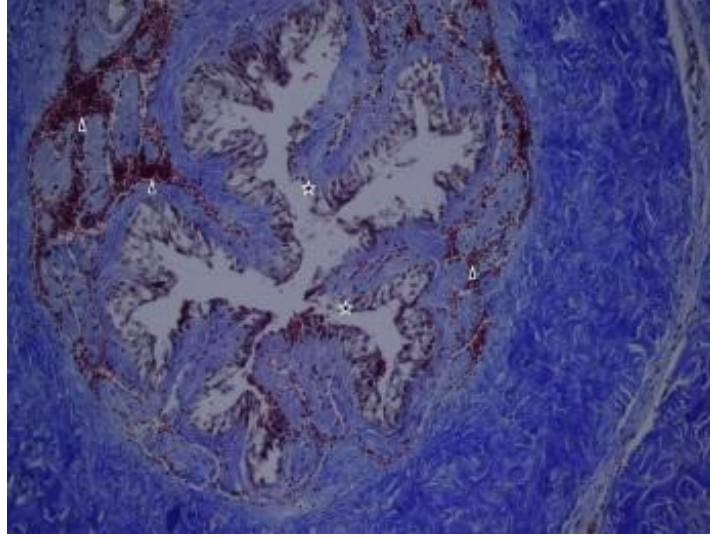
Priapizm/Reperfüzyon grubunda korpus kavernoza ait santral ve periferik kavernlerde yaygın vasküler konjesyon izlendi. Üretranın korpus spongiyozum bölümündeki kavernlerde yaygın vasküler konjesyon ve üretra epitel hücrelerinde yer yer dejenerasyon izlendi (Resim 4.4, 4.5, 4.6).



Resim 4.4. Penisin histolojik kesitinin fotomikrografı. Korpus kavernozum penise ait santral ve periferik kavernler (ok), korpus spongiyozum penise ait kavernler (ok başı), tunika albuginea (yıldız). (Trikrom Masson; X40).



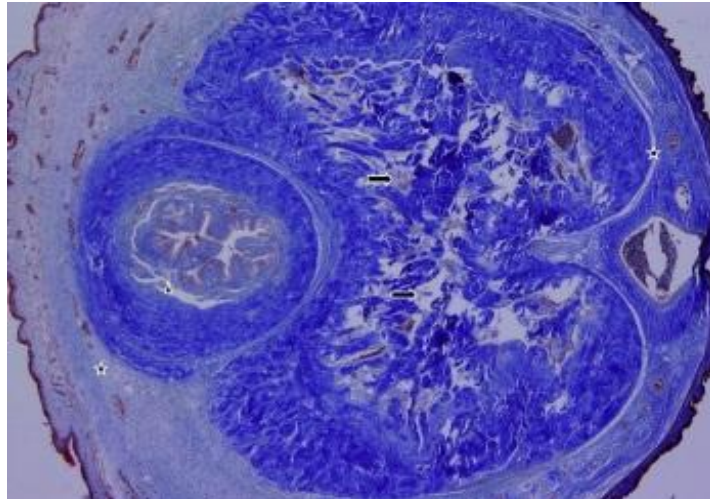
Resim 4.5. Korpus kavernozum penise ait santral ve periferik kavernler (ok). (Trikrom Masson; X200).



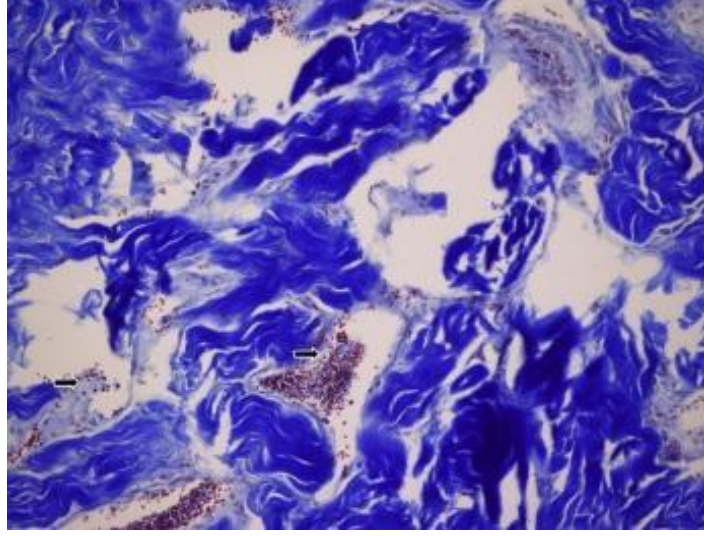
Resim 4.6. Korpus spongiosum penise ait kavernler (ok başı), üretra epiteli (yıldız). (Trikrom Masson; X200).

4.1.3. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;

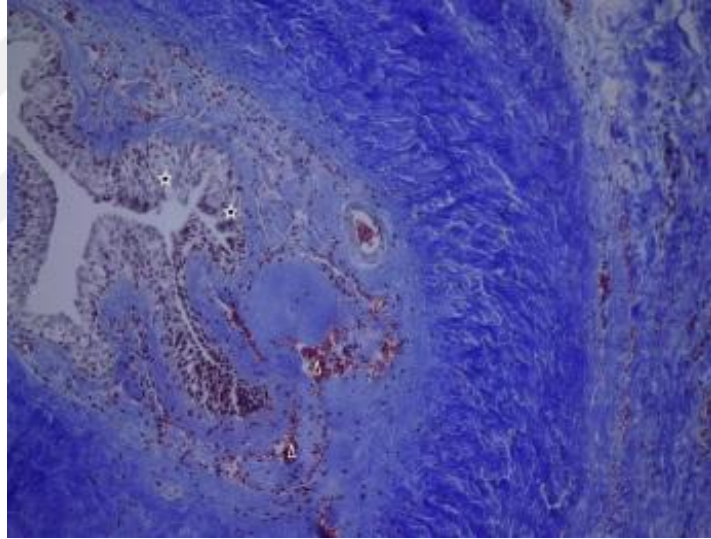
Priapizm/Reperfüzyon + DMSO grubunda korpus kavernoza ait santral ve periferik kavernlerde Priapizm/Reperfüzyon grubuna göre daha az vasküler konjesyon izlendi. Üretranın korpus spongiosum bölümündeki kavernlerde vasküler konjesyon ve üretra epitel hücrelerinde yer yer dejenerasyon izlendi (Resim 4.7, 4.8, 4.9).



Resim 4.7. Penisin histolojik kesitinin fotomikrografı. Korpus kavernoza ait santral ve periferik kavernler (ok), korpus spongiosum penise ait kavernler (ok başı), tunika albuginea (yıldız). (Trikrom Masson; X40).



Resim 4.8. Korpus kavernozum penise ait santral ve periferik kavernler (ok). (Trikrom Masson; X200).

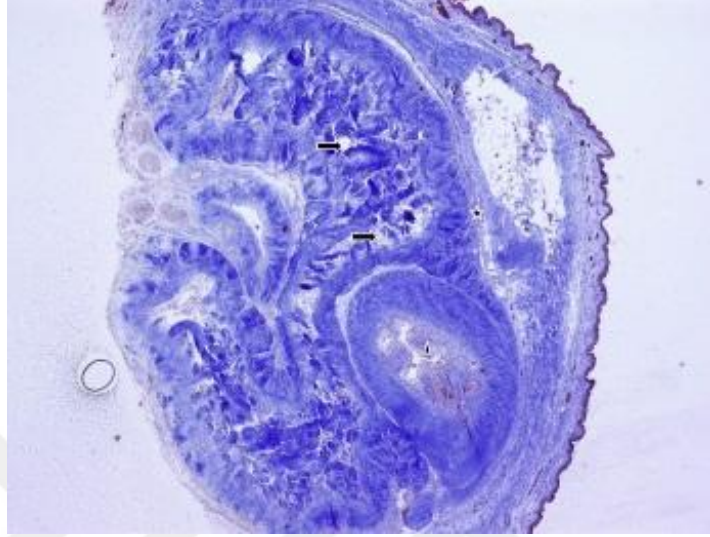


Resim 4.9. Korpus spongiyozum penise ait kavernler (ok başı), üretra epiteli (yıldız). (Trikrom Masson; X200).

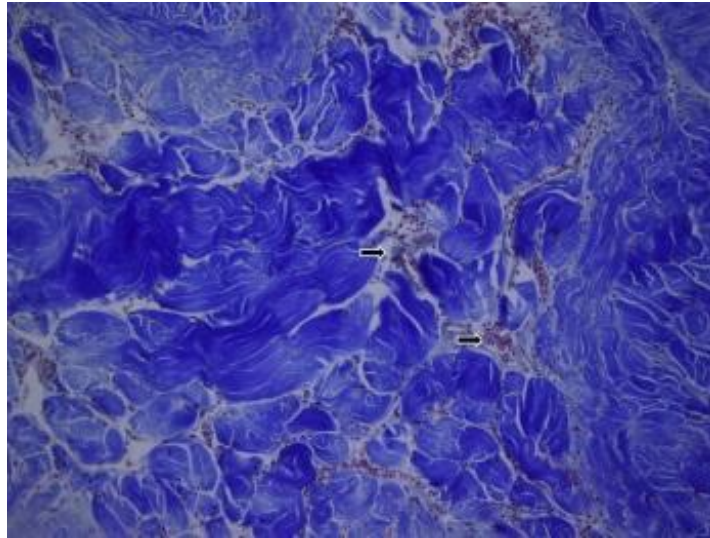
4.1.4. Priapizm/Reperfüzyon + Quercetin Grubu Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları;

Priapizm/Reperfüzyon + Quercetin grubunda korpus kavernozumuna ait santral ve periferik kavernlerde yasküler konjesyon Priapizm/Reperfüzyon ve Priapizm/Reperfüzyon + DMSO gruplarına göre daha az izlendi. Üretranın korpus

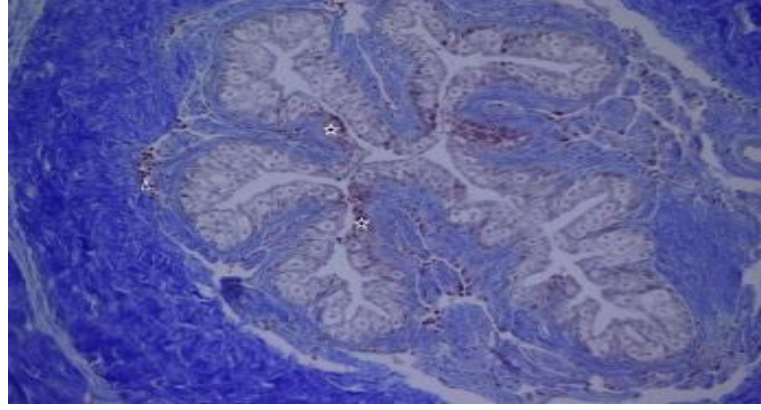
spongiyozum bölümündeki kavernlerde yaygın vasküler konjesyon az miktarda izlendi. Üretra epitel hücrelerinde nadir olarak dejenerasyon olmakla birlikte normale yakın morfolojide izlendi (Resim 4.10, 4.11, 4.12).



Resim 4.10. Penisin histolojik kesitinin fotomikrografı. Korpus kavernozum penise ait santral ve periferik kavernler (ok), korpus spongiyozum penise ait kavernler (ok başı), tunika albuginea (yıldız). (Trikrom Masson; X40).



Resim 4.11. Korpus kavernozum penise ait santral ve periferik kavernler (ok). (Trikrom Masson; X200).



Resim 4.12. Korpus spongiyozum penise ait kavernler (ok başı), üretra epiteli (yıldız). (Trikrom Masson; X200).

Tüm gruplarda korpus kavernozumda santral ve periferik kavernleri çevreleyen kas dokusu normal idi. Gruplar arasında kas dokusu miktarı açısından farklılık izlenmedi.

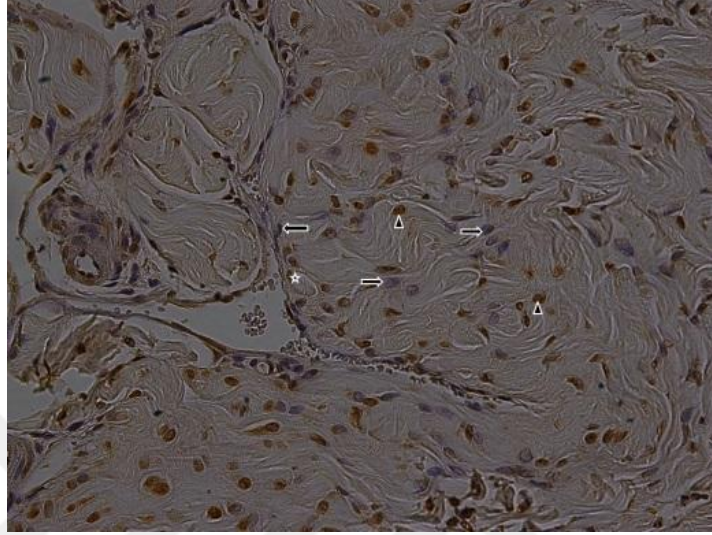
Apoptozis Değerlendirmesi:

Gruplara ait preparatlarda korpus kavernozumdaki kavernleri çevreleyen kas dokusu, bağ dokusu hücrelerinde (Resim 4.13, 4.15, 4.17, 4.19) ve korpus spongiyozumun merkezinde bulunan üretra epitel hücrelerinde (Resim 4.14, 4.16, 4.18, 4.20) apoptozis TUNEL tekniği ile tespit edilerek apoptotik indeks hesaplandı. Buna göre;

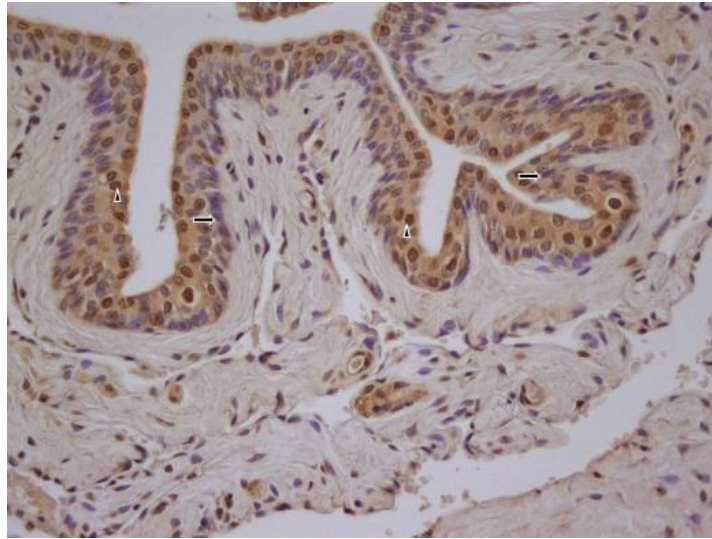
4.1.5. Kontrol Grubu Apoptozis Değerlendirmesi

Tablo 4.1. Kontrol grubu histolojik verileri

Gruplar	Sinüzoidal alan (μm^2)	Tunika albuginea açılması	Üretra epitel dejenerasyonu	Kas dokusu apoptoik index (MAI)	Bağ dokusu apoptoik index (CAI)	Üretra epitel hücrelerinde apoptoik index (EAI)
Kontrol 1	3500	0	0	29	50	65
Kontrol 2	3100	0	0	30	51	59
Kontrol 3	2900	0	0	35	55	67
Kontrol 4	4300	1	1	40	53	60
Kontrol 5	4500	0	0	37	50	62
Kontrol 6	4250	0	0	35	49	75



Resim 4.13. Kontrol grubuna ait korpus kavernozumdaki kavernleri çevreleyen kas dokusu hücrelerinde normal hücre (sağ ok), apoptotik hücre (yıldız). Korpus kavernozumdaki kavernleri çevreleyen bağ dokusu hücrelerinde normal hücre (sol ok), apoptotik hücre (ok başı) (TUNEL; X 400).

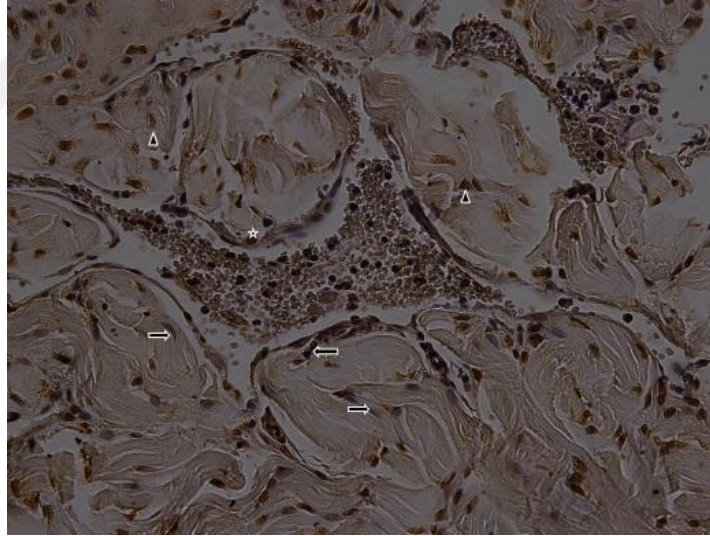


Resim 4.14. Kontrol grubuna ait üretra epitel hücrelerinde normal hücre (ok), apoptotik hücre (ok başı) (TUNEL; X 400).

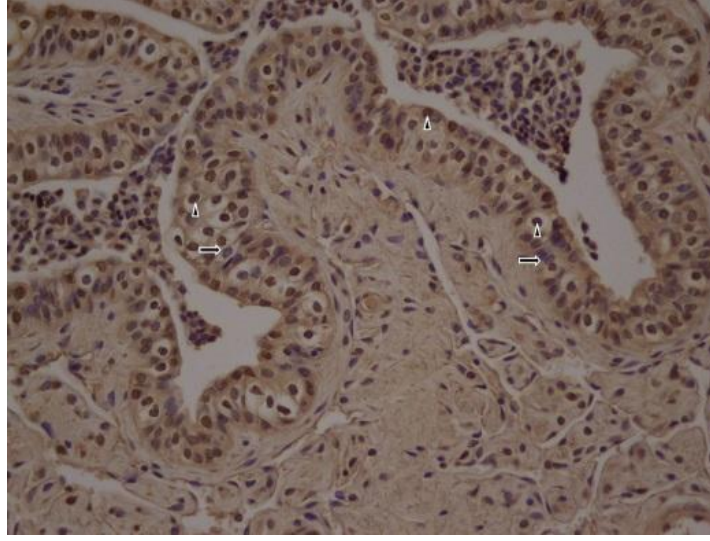
4.1.6. Priapizm/Reperfüzyon Grubu Apoptozis Değerlendirmesi

Tablo 4.2. Priapizm/Reperfüzyon grubu histolojik verileri (Pri:priapizm, Rep:reperfüzyon)

Gruplar	Sinüzoidal alan (μm^2)	Tunika albuginea açılması	Üretra epitel dejenerasyonu	Kas dokusu apoptoik index (MAI)	Bağ dokusu apoptoik index (CAI)	Üretra epitel hücrelerinde apoptoik index (EAI)
Pri/Rep 1	4200	1	1	39	65	72
Pri/Rep 2	4126	1	1	41	62	73
Pri/Rep 3	3700	1	1	33	59	69
Pri/Rep 4	3790	2	1	41	55	78
Pri/Rep 5	4210	1	0	42	61	69
Pri/Rep 6	3900	2	1	39	63	75



Resim 4.15. Priapizm/Reperfüzyon grubuna ait korpus kavernozumdaki kavernleri çevreleyen kas dokusu hücrelerinde normal hücre (sağ ok), apoptotik hücre (yıldız). Korpus kavernozumdaki kavernleri çevreleyen bağ dokusu hücrelerinde normal hücre (sol ok), apoptotik hücre (ok başı) (TUNEL; X 400).

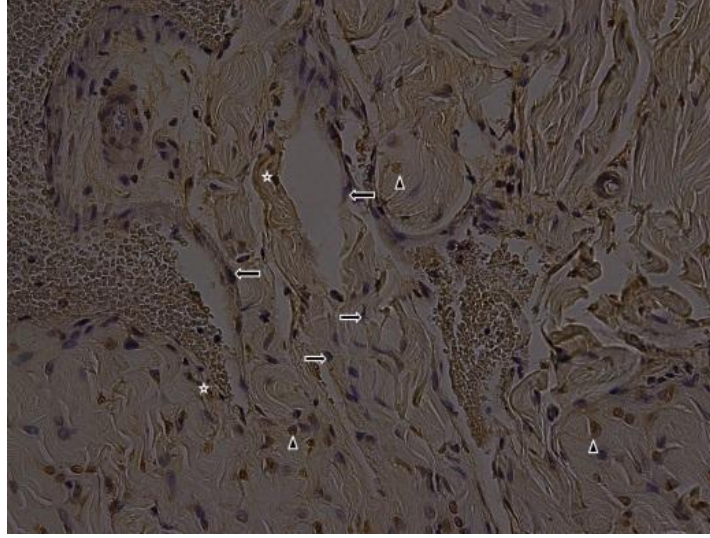


Resim 4.16. Priapizm/Reperfüzyon grubuna ait üretra epitel hücrelerinde normal hücre (ok), apoptotik hücre (ok başı) (TUNEL; X 400).

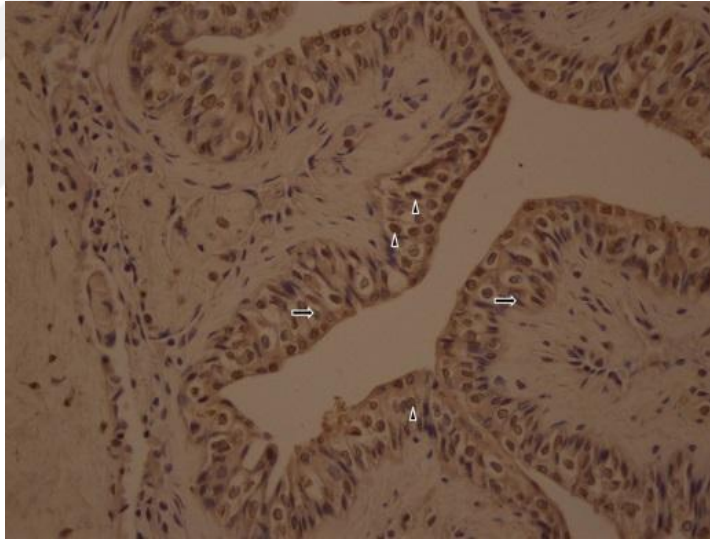
4.1.7. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO Grubu Apoptozis Değerlendirmesi

Tablo 4.3. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO grubu histopatolojik değerlendirme sonuçları (Pri:priapizm, Rep:reperfüzyon)

Gruplar	Sinüzoidal alan (μm^2)	Tunika albuginea açılması	Üretra epitel dejenerasyonu	Kas dokusu apoptoik index (MAI)	Bağ dokusu apoptoik index (CAI)	Üretra epitel hücrelerinde apoptoik index (EAI)
Pri/Rep+DMSO 1	4100	1	1	33	60	76
Pri/Rep+DMSO 2	4050	1	1	35	56	71
Pri/Rep+DMSO 3	3800	1	0	34	58	78
Pri/Rep+DMSO 4	4150	1	0	32	59	77
Pri/Rep+DMSO 5	4100	2	1	33	56	79
Pri/Rep+DMSO 6	3950	1	1	37	50	78



Resim 4.17. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO grubuna ait korpus kavernozumdaki kavernleri çevreleyen kas dokusu hücrelerinde normal hücre (sağ ok), apoptotik hücre (yıldız). Korpus kavernozumdaki kavernleri çevreleyen bağ dokusu hücrelerinde normal hücre (sol ok), apoptotik hücre (ok başı) (TUNEL; X 400).

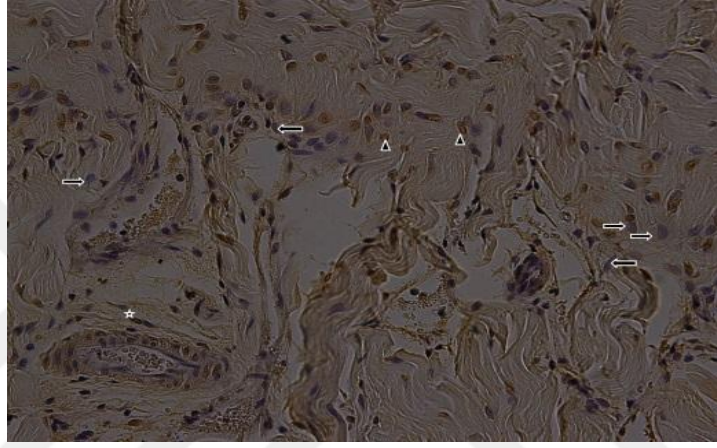


Resim 4.18. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO grubuna ait üretra epitel hücrelerinde normal hücre (ok), apoptotik hücre (ok başı) (TUNEL; X 400).

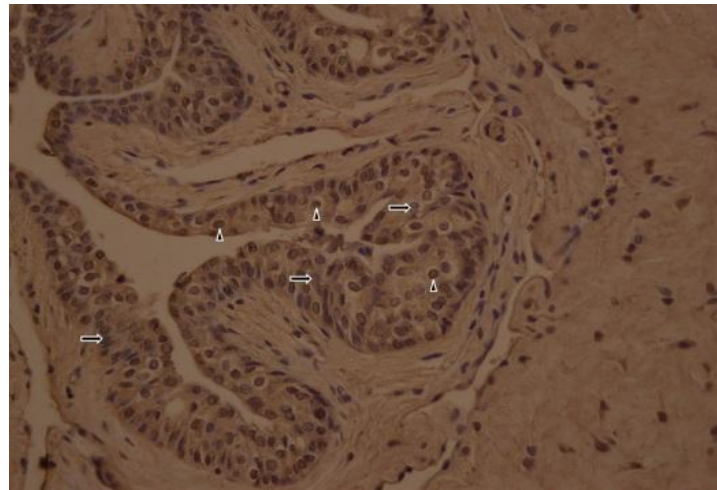
4.1.8. Priapizm/Reperfüzyon + Quercetin Grubu Apoptozis Değerlendirmesi

Tablo 4.4. Priapizm/Reperfüzyon + Quercetin grubu histopatolojik değerlendirme sonuçları (Pri:priapizm, Rep:reperfüzyon).

Gruplar	Sinüzoidal alan (μm^2)	Tunika albuginea açılması	Üretra epitel dejenerasyonu	Kas dokusu apoptoik index (MAI)	Bağ dokusu apoptoik index (CAI)	Üretra epitel hücrelerinde apoptoik index (EAI)
Pri/Rep+Quer 1	3800	1	0	39	55	69
Pri/Rep+Quer 2	3900	1	1	38	56	65
Pri/Rep+Quer 3	3850	1	0	30	60	70
Pri/Rep+Quer 4	4050	1	1	41	59	73
Pri/Rep+Quer 5	3780	1	0	40	45	72
Pri/Rep+Quer 6	3900	1	1	37	58	65



Resim 4.19. Priapizm/Reperfüzyon + Quercetin grubuna ait korpus kavernozumdaki kavernleri çevreleyen kas dokusu hücrelerinde normal hücre (sağ ok), apoptotik hücre (yıldız). Korpus kavernozumdaki kavernleri çevreleyen bağ dokusu hücrelerinde normal hücre (sol ok), apoptotik hücre (ok başı) (TUNEL; X 400).



Resim 4.20. Priapizm/Reperfüzyon + Quercetin grubuna ait üretra epitel hücrelerinde normal hücre (ok), apoptotik hücre (ok başı) (TUNEL; X 400).

4.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Kontrol grubuna ait biyokimyasal veriler Tablo 4.5’de gösterilmektedir.

Tablo 4.5. Kontrol grubu biyokimyasal Analiz Sonuçları

GRUPLAR						
	Kontrol 1	Kontrol 2	Kontrol 3	Kontrol 4	Kontrol 5	Kontrol 6
Doku MDA (nmol/mg protein)	11,6	11,3	16,2	11,1	14	15
Doku 4-HNE (ng/mg protein)	2,25	2,02	4,28	2,94	3,76	2,58
Doku GSH (ng/mg protein)	22,5	27	29,6	19,1	20,6	29,3
Doku 8-OHdG (ng/mg protein)	1,1	0,99	1,36	1,47	1,47	1,23
Doku MPO (ng/mg protein)	1,63	1,88	1,41	1,74	1,84	1,42
Doku TOS ($\mathcal{M}$ mol H ₂ O ₂ eşdeğeri/L)	10,9	27,6	14	12,1	16,7	25,2
Doku TAS (mmol trolöks/L)	2,61	2,68	1,67	2,09	2,82	1,95
DOKU OSI	0,42	1,03	0,84	0,58	0,59	1,29
Serum MDA (nmol/mL)	1,4	1,4	1,1	1,8	0,9	1
Serum 4-HNE (ng/L)	8,96	8,91	8,53	9,91	8,7	9,36
Serum GSH (ng/mL)	187,3	162,6	144,2	197,2	208	145,2
Serum 8-OHdG (ng/mL)	3,44	3,41	3,75	3,24	3,44	3,42
Serum MPO (ng/mL)	3,9	4,9	4,7	4,4	5,7	4,8
Serum IMA (ABSU)	0,705	0,669	0,707	0,588	0,67	0,53
Serum TOS ($\mathcal{M}$ mol H ₂ O ₂ eşdeğeri/L)	13,6	14,5	10,6	16,7	16,2	16,7
Serum TAS (mmol trolöks/L)	2,28	1,49	1,47	2,22	2,63	2,6
Serum OSI	0,6	0,97	0,72	0,75	0,61	0,64

Priapizm/Reperfüzyon grubuna ait biyokimyasal veriler Tablo 4.6’da gösterilmektedir.

Tablo 4.6. Priapizm/Reperfüzyon grubuna ait biyokimyasal veriler (Pri:priapizm, Rep:reperfüzyon).

GRUPLAR						
	Pri/Rep 1	Pri/Rep 2	Pri/Rep3	Pri/Rep 4	Pri/Rep 5	Pri/Rep 6
Doku MDA (nmol/mg protein)	23,2	18,9	24,2	16,8	31,7	27,1
Doku 4-HNE (ng/mg protein)	8,51	4,55	6,09	8,39	13,8	9,25
Doku GSH (ng/mg protein)	16,8	16,6	17,7	17,1	16,7	14,8
Doku 8-OHdG (ng/mg protein)	1,87	1,41	1,23	1,43	2,33	2,22
Doku MPO (ng/mg protein)	2,3	2,8	2,43	2,61	2,93	3,4
Doku TOS ($\mathcal{M}$ mol H ₂ O ₂ eşdeğeri/L)	27,8	28,6	34,3	20,4	26,6	32,8
Doku TAS (mmol troluks/L)	1,03	1,25	1,04	1,12	1,01	0,99
DOKU OSI	2,69	2,29	3,3	1,82	2,63	3,31
Serum MDA (nmol/mL)	5,2	10,1	3,1	7	2,8	6,4
Serum 4-HNE (ng/L)	34,25	16,44	8,53	31,42	17,55	13,93
Serum GSH (ng/mL)	94,1	89,9	130,7	105,2	70,1	70,3
Serum 8-OHdG (ng/mL)	20,41	23,23	3,56	3,17	3,13	3,88
Serum MPO (ng/mL)	4,8	10,8	6,2	5,1	15,7	12,6
Serum IMA (ABSU)	0,795	0,922	0,793	0,783	0,731	0,729
Serum TOS ($\mathcal{M}$ mol H ₂ O ₂ eşdeğeri/L)	19,8	37,9	29,8	23,4	19,3	30,7
Serum TAS (mmol troluks/L)	1,62	1,26	2,03	2,17	2	0,86
Serum OSI	1,22	3,01	1,47	1,08	0,96	3,56

Priapizm/Reperfüzyon + DMSO grubuna ait biyokimyasal veriler Tablo 4.7’de gösterilmektedir.

Tablo 4.7. Priapizm/Reperfüzyon + DMSO grubuna ait biyokimyasal veriler (P:priapizm, R:reperfüzyon)

GRUPLAR						
	P/R+ DMSO 1	P/R+ DMSO 2	P/R+ DMSO 3	P/R+ DMSO 4	P/R+ DMSO 5	P/R+ DMSO 6
Doku MDA (nmol/mg protein)	22,5	23,9	20	16,9	22	22,3
Doku 4-HNE (ng/mg protein)	5,28	6,36	4,14	6,82	7,72	9,26
Doku GSH (ng/mg protein)	19,4	14,4	12,5	20,7	32,6	13,4
Doku 8-OHdG (ng/mg protein)	2,41	1,39	1,38	1,25	1,23	1,6
Doku MPO (ng/mg protein)	1,76	1,95	2,62	1,88	3,4	3,26
Doku TOS ($\mathcal{M}$ mol H ₂ O ₂ eşdeğeri/L)	25,8	19,3	22,6	18	22,2	27,9
Doku TAS (mmol troloks/L)	0,72	1,16	1,72	1,36	1,22	1,11
DOKU OSI	3,6	1,66	1,32	1,32	1,81	2,5
Serum MDA (nmol/mL)	8,5	4,3	3	7,4	8,1	4,1
Serum 4-HNE (ng/L)	22,46	9,78	20,18	22,96	22,49	29,44
Serum GSH (ng/mL)	154,5	83,9	45,2	153,2	78,2	82,4
Serum 8-OHdG (ng/mL)	15,27	8,99	3,56	3,95	4,16	12,65
Serum MPO (ng/mL)	7,8	5,9	6,5	7,4	8	9,5
Serum IMA (ABSU)	0,764	0,722	0,687	0,806	0,8	0,835
Serum TOS ($\mathcal{M}$ mol H ₂ O ₂ eşdeğeri/L)	18,7	36,6	27,6	16,1	25,1	24,4
Serum TAS (mmol troloks/L)	1,63	2,23	0,85	2,2	1,61	1,5
Serum OSI	1,15	1,64	3,23	0,73	1,56	1,63

Priapizm/Reperfüzyon + Quercetin grubuna ait biyokimyasal veriler Tablo 4.8’de gösterilmektedir.

Tablo 4.8. Priapizm/Reperfüzyon + Quercetin grubuna ait biyokimyasal veriler (P:priapizm, R:reperfüzyon, Quer:Quercetin)

GRUPLAR						
	P/R+Quer 1	P/R+Quer 2	P/R+Quer 3	P/R+Quer 4	P/R+Quer 5	P/R+Quer 6
Doku MDA (nmol/mg protein)	14,6	7	7,6	14,6	12,7	6,4
Doku 4-HNE (ng/mg protein)	5,98	1,85	2,98	6,54	8,04	2,57
Doku GSH (ng/mg protein)	25,1	25,1	19,6	22,5	23,5	27,3
Doku 8-OHdG (ng/mg protein)	1,4	0,91	0,9	1,36	1,24	0,91
Doku MPO (ng/mg protein)	2,14	1,13	1,26	2,36	2,56	1,21
Doku TOS ($\mathcal{M}$ mol H ₂ O ₂ eşdeğeri/L)	16,4	28,4	15,8	16,2	18,5	28,6
Doku TAS (mmol troloks/L)	1,94	1,73	2,19	1,68	1,27	1,5
DOKU OSI	0,84	1,64	0,72	0,97	1,45	1,91
Serum MDA (nmol/mL)	2,4	2,4	3,5	3,7	2,3	2,7
Serum 4-HNE (ng/L)	11,15	8,59	6,7	9,35	6,69	14,18
Serum GSH (ng/mL)	141,7	90,7	170	102,3	201,4	186
Serum 8-OHdG (ng/mL)	6,48	3,14	0,81	3,16	0,84	3,11
Serum MPO (ng/mL)	3,7	4,3	4,1	5,3	3,6	3,7
Serum IMA (ABSU)	0,626	0,642	0,657	0,644	0,719	0,674
Serum TOS ($\mathcal{M}$ mol H ₂ O ₂ eşdeğeri/L)	21	21,7	19,2	13,7	16	24,4
Serum TAS (mmol troloks/L)	1,97	2	2,12	2,17	2,27	2,11
Serum OSI	1,07	1,09	0,91	0,63	0,71	1,16

4.3. İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları

Biyokimyasal ve histopatolojik parametrik verilerin normal dağılıma uyup uymadığı incelendi. Normal dağılıma uyan parametrik veriler tek yönlü ANOVA ile incelendi. İnceleme sonrası gruplar arasında anlamlı fark bulunanlar: Doku MDA, Doku 4-HNE, Doku GSH, Doku MPO, Doku TAS, Doku OSI, Serum MDA, Serum 4-HNE, Serum GSH, Serum 8-OHdG, Serum MPO, Serum IMA, Serum TOS, Serum OSI bunlardır. Fark bulunmayanlar ise Serum TAS ve sinüzoidal alandır.

Parametrik verilerden iki tanesi normal dağılıma uymadığı için nonparametrik testlerle değerlendirmeye alındı. Bunlar Doku 8-OHdG ve Doku TOS dur.

Tek yönlü ANOVA ile gruplar arası fark olanların ileri incelemesinde quercetinin etkinliğinin ortaya konduğu gruplar aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Quercetinin etkinliği görülen biyokimyasal parametrik veriler (P/R: Priapizm/Reperfüzyon)

Gruplar	Kontrol	P/R	P/R + DMSO	P/R + Quercetin
Doku MDA (nmol/mg protein)	13,2±0,9	23,7±2,2	21,3±1,0	10,5±1,6
Doku MPO (ng/mg protein)	1,65±0,08	2,75±0,16	2,48±0,30	1,78±0,26
Doku TAS (mmol troluks/L)	2,30±0,19	1,07±0,04	1,22±0,13	1,72±0,13
DOKU OSI	0,79±0,13	2,67±0,24	2,04±0,36	1,26±0,20
Serum 4-HNE (ng/L)	9,06±0,20	20,35±4,16	21,22±2,62	9,44±1,17
Serum MPO	4,7±0,2	9,2±1,8	7,5±0,5	4,1±0,3

(ng/mL)				
Serum IMA (ABSU)	0,645±0,029	0,792±0,029	0,769±0,023	0,660±0,013

Nonparametrik testle (Kruskal Wallis varyans analizi -post hoc olarak Bonferroni düzeltmeli) incelenmesi gereken parametrik verili gruplardan Doku 8-OHdG ve Doku TOS'un her ikisi de quercetinin etkinliğini ortaya koydu.

Nonparametrik veriler (Tunika albuginea açılması, üretra epitel dejenerasyonu, kas dokusu apoptotik indeks (MAI), bağ dokusu apoptotik indeks (CAI), üretra epitel hücrelerinde apoptotik indeks (EAI) Ki Kare testi ile incelendiğinde yalnızca tunika albuginea açılması için gruplar arasında fark yönünden veri varken, ileri incelemesin de anlamlı sonuç ortaya konulamadı ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

İskemik olan priapizmin sonlanması ile birlikte İR hasarı meydana gelmektedir [4]. Oluşabilecek hasarın önlenmesinde en önemli faktör iskemi süresi olup, reperfüzyon hasarı ile aralarında doğru orantı vardır [145]. Reperfüzyon iskemik dokunun korunması için gerekli olmasına rağmen, reperfüzyonun kendisi İR hasarını meydana getiren patofizyolojik süreci başlatmaktadır. İR hasarında, reperfüzyon sonucunda serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır [7],[8]. Oluşan serbest oksijen radikalleri biyolojik membranlarda ve serumda bulunan lipidler ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna yol açmakta, bu da iyon kanallarına ve DNA'ya zarar vererek hücrel ve metabolik süreçleri sekteye uğratmaktadır [146].

Lipid peroksidasyonuna karşı canlı organizmalarda enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır. Bu savunmada yer alan enzimlerden en önemlileri de SOD, katalaz ve GSH Px'dır. Ayrıca diğer bir savunma sistemi de vitamin C, vitamin A ve oksidasyon zincirini kıran quercetin gibi fitokimyasallardır.

Serbest radikalleri süpürücü etkisi olduğu gösterilmiş olan quercetin güçlü bir antioksidandır, İR'ye bağlı doku hasarında koruyucu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [17]. Ayrıca Fe ve Cu gibi geçiş metallerini şelatlayarak bu iyonların fenton reaksiyonu yolu ile H₂O₂'den OH⁻ radikali oluşumunu engellemekte ve lipid peroksidasyonunu önlemektedir [147],[148].

İskemik priapizmde 12 saat sonra kavernoza düz kasta ultrastrüktürel değişiklikler, 24 saat sonra fokal nekroz, 48 saat sonra ise geniş nekroz ve fibroblast benzeri hücrelerin transformasyonu görülmektedir. Tedavi edilmezse veya tedavide geç kalınırsa (>24 saat) kavernoza düz kaslarda nekroz, geri dönüşsüz korporal fibrozis ve kalıcı erektil disfonksiyon meydana gelir [3].

Biz yaptığımız bu çalışma ile ratlarda deneysel olarak oluşturulan akut iskemik priapizm modelinde, 2 saatlik akut iskemik priapizm ve yarım saatlik reperfüzyon sonrası geri dönüşümsüz hasar oluşmadan önce dokulardaki erken histopatolojik değişiklikleri (Üretra epitel dejenerasyonu, kas dokusu apoptoik indeks (MAI), bağ dokusu apoptoik indeks (CAI), üretra epitel hücrelerinde apoptoik indeks (EAI), sinüzoidal alan , tunika albuginea açılması) ve biyokimyasal verileri (serum ve doku MDA, 4-HNE, GSH, 8-OhdG, MPO, TAS, TOS, OSI ve serum IMA) inceledik. Serum ve doku seviyelerindeki değişiklikler ve uygulanacak olan quercetin'in İR hasarı üzerine olası koruyucu etkisinin oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirilmesini amaçladık.

Çalışmamızda histopatolojik olarak değerlendirdiğimiz sinüzoidal alan için hem kontrol grubu ile pri/rep grubu arasında; hem de pri/rep grubu ile pri/rep+quer grubu arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Çalışma grupları arasından tunika albugineadaki açılma açısından yapılan değerlendirme de ise gruplar arasında fark yönünden veri varken, istatistik incelemesinde anlamlı sonuç ortaya konulamadı ($p>0,05$). Yine üretra epitel dejenerasyonu açısından değerlendirmede; pri/rep grubunda kontrol grubuna göre üretra epitel dejenerasyonunda artış izlenmesine rağmen, pri/rep+quer grubunda üretra epitel dejenerasyonunun nadir görülmesine rağmen istatistik inceleme de anlamlı sonuç ortaya konulamadı ($p>0,05$).

Gruplara ait rat penislerinin korpus kavernozumlarındaki kollajen lifler, düz kas hücrelerindeki ve üretra epitel hücrelerindeki apoptozisi tespit için TUNEL yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde korpus kavernozumda kollajen lif, düz kas hücrelerinde ve üretra epitel hücrelerinde apoptotik hücreler sayılarak, total hücre sayısına göre apoptotik hücre yüzdesi, apoptotik indeks (AI) olarak hesaplandı. Kas dokusu apoptoik indeks (MAI), bağ dokusu apoptotik indeks (CAI), üretra epitel hücrelerinde apoptoik indeks (EAI) için yapılan histopatolojik değerlendirmede gruplar arasında anlamlı istatistiksel fark bulunamadı ($p>0,05$).

Çalışmamızda histolojik veriler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamış olması; iskemik priapizmde ancak 12 saatten sonra kavernozaal düz kasta ultrastrüktürel değişikliklerin, nekroz ve fibrozisin meydana gelmesiyle açıklanabilir.

Çalışmamızda İR hasarında biyokimyasal değişikliklerin saptanması ve quercetin koruyucu etkilerinin saptanması amacıyla serum ve doku MDA, 4-HNE, GSH, 8-OHdG, MPO, TAS, TOS, OSİ ve serum IMA seviyeleri çalışıldı.

İskemi reperfüzyon sonrası serbest oksijen radikallerine bağlı lipid peroksidasyonu meydana gelir. Bunun sonucu olarak son ürünler olan malondialdehitin (MDA), 4-Hidroksinonenal (HNE) ve hegzanal isimli aldehytlerin doku düzeyleri artar [11],[12],[13]. Flavonoidlerin (quercetin vb) lipid peroksidasyonu üzerindeki etkileri birçok araştırmacı tarafından çalışılmış olup MDA ve 4-HNE düzeylerini anlamlı olarak düşürdükleri gösterilmiştir [147],[149][150].

Çalışmamızda doku MDA, doku 4-HNE, serum MDA ve serum 4-HNE parametrelerinden, sadece doku MDA ve serum 4-HNE değerlerinde pri/rep grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterilmiştir. Pri/rep+quer grubundaki doku MDA ve Serum 4-HNE değerlerinde ise pri/rep grubuna göre anlamlı bir düşüş olduğu izlendi ($p<0,05$). Doku MDA ve Serum 4-HNE değerlerinin düşmesi quercetin antioksidan özelliğini gösteren bir bulgudur.

Duarte ve ark. 5 hafta quercetin uygulamasından sonra ratlarda doku MDA seviyelerinin düştüğünü gözlemlemişlerdir [151]. Singh ve ark. farelere 6 gün boyunca uyguladıkları quercetin doku MDA üretimini azalttığını bulmuşlardır [152]. Sriraksa ve ark. yaptıkları çalışmada 2 hafta uygulanan quercetin ratlarda doku MDA seviyelerinde azalmaya sebep olduğunu tespit etmişlerdir [153]. Bütün bu çalışmalarda akut dönemde Doku 4-HNE ve serum MDA seviyeleri değerlendirilmemiş. Yaptığımız çalışmada bu veriler arasında fark bulunmuştur fakat istatistiksel olarak anlam ortaya konulamamıştır. Bu durum bizim çalışma modelinin akut dönemi kapsamaması nedeniyle açıklanabilir.

Yapılan farklı çalışmalarda akut iskemik olaylar sırasında albuminin metal bağlanma kapasitesinin azalarak, iskemik modifiye albumin (IMA) adıyla bilinen metabolik bir varyanta dönüştüğü ve serum düzeyinin arttığı ortaya konmuştur [6]. Kutlu ve arkadaşlarının yapmış oldukları testis torsiyonu çalışmasında iskemi sonrası IMA'nın torsiyone gruplarda belirgin artış gösterdiği, hatta bunun gereksiz

operasyonları önlemek için bir marker olarak kullanılabileceğini vurgulanmıştır. Fakat IMA'nın akut skrotal ağrı, akut epididimit, akut orşit gibi daha bilinmeyen birçok sebeple de artabileceğinin unutulmaması gerektiğini belirtmişlerdir [154]. Yaptığımız çalışmada serum IMA düzeylerinde kontrol grubuna göre pri/rep grubunda anlamlı bir artış olmuştur. Pri/rep +quer grubundaki serum IMA düzeyleri pri/rep grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ($p<0,05$). Bu bulgu yine quercetin'in antioksidan özelliğini göstermektedir.

Antioksidanların plazma konsantrasyonları ayrı ayrı ölçülebilmektedir, ancak bu durum zaman alıcı, yoğun emek gerektiren ve yüksek maliyetli bir iştir. Bu sebeple biyolojik örneklerin antioksidan kapasitesini belirlemek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Plazma antioksidan bileşenlerinin antioksidatif etkisi olduğu için, toplam antioksidan kapasite ölçümü (TAS) plazma antioksidan durumu yansıtır. TAS vücut sıvılarındaki ve plazmadaki bütün antioksidanların etkisini yansıtırken, TOS bütün oksidanların toplam etkisini yansıtır [155]. Bu nedenle oksidatif metabolizma ve önerilen hastalıklar arasında belirli bir ilişki ararken, toplam oksidan kapasitesi (TOS) ve toplam antioksidan kapasitesi (TAS) değerlendirilmesi esastır. Oksidatif stres DNA mutasyonları, hücre ölümleri ve hastalıkları gibi hasarlara neden olur. Moleküler, hücresel ve doku düzeyindeki oksidatif hasarın en aza indirilebilmesi için oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir denge sağlanmalıdır [156]. Kısaoğlu ve arkadaşları yayınladıkları derlemelerinde, oksidan/antioksidan dengenin oksidanlar lehine bozulmasının, antioksidan sistemlerin aşırı harcanmasına bağlı olarak geliştiğini rapor etmişlerdir [157].

Yaptığımız çalışmada parametrik veriler içerisinde değerlendirilen doku TAS seviyeleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında pri/rep grubunda anlamlı olarak azalmıştır. Pri/rep+quer grubu ile pri/rep grubu karşılaştırıldığında ise doku TAS düzeylerinde pri/rep+quer grubunda yükselme olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Normal dağılıma uymadığı için nonparametrik testlerle değerlendirilen doku TOS seviyelerinde pri/rep grubunda kontrol grubuna göre yükselme görülmüş; pri/rep+quer grubunda ise pri/rep grubuna göre doku TOS düzeylerinde düşüş görülmüştür ($p<0,05$). Mevcut bulgularımız literatür verileri ile uyumaktadır. Bu bulgular quercetin'in antioksidan özelliğini göstermektedir.

Serum TAS verileri açısından gruplar arasında bir fark gözlenmedi. Serum TOS seviyelerinde ise gruplar arasında fark gözlenirse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Serum TAS ve serum TOS seviyelerinde anlamlı bir fark bulunamamasının nedeni, İR’de iskemik doku ürünlerinin sistemik dolaşıma geçmesi ve sistemik bir etki oluşturması için çalışmada kullanılan 30 dakikalık reperfüzyon süresinin kısa olması olabilir.

Myeloperoksidaz (MPO) memeli nötrofillerinin granüllerinde yer alan bir enzim olup, fagosite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde hidrojen peroksit ile birlikte önemli rol oynamaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarında başta nötrofiller olmak üzere inflamatuvar hücrelerin kemotaksisi oluşmaktadır. İnflamatuvar mediatörlere yanıt olarak süperoksit iyonu gibi oksidan mediatörler üretilirler. Süperoksit iyonu, süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile önce hidrojen peroksit ve sonrasında mieloperoksidaz etkisi ile de hipoklorik asite veya fenton reaksiyonu ile OH-radikaline dönüşür ve ortama salınır. İskemi ve inflamasyon durumunda ortama salıverilen oksidan ve inflamatuvar mediatörler doku hasarına yol açar. Quercetin ve diğer flavonoidlerin ise reperfüzyon sırasında immobilize lökosit sayısını azaltarak koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir [21].

Çalışmamızda doku MPO ve serum MPO düzeylerinde pri/rep grubunda kontrol grubuna göre artış olduğu; pri/rep+quer grubunda ise pri/rep grubuna göre doku MPO ve serum MPO düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu belirlendi ($p<0,05$). Bu bulgular quercetin’in antioksidan özelliğini göstermektedir.

Çalışmamızda, toplam antioksidan kapasite düzeyleri için, toplam oksidan seviye düzeyi yüzde oranı oksidatif stres indeksi (OSI) olarak değerlendirildi [15]. Doku ve serum OSI değerleri ise: $OSI = [(TOS, \mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{equivalent/L}) / (TAS, \mu\text{mol Trolox equivalent/L}) \times 100]$ formülü ile hesaplandı. Doku OSI seviyelerinde pri/rep grubunda kontrol grubuna göre artış belirlendi, pri/rep+quer grubunda ise pri/rep grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş izlendi ($p<0,05$). Serum OSI düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamaması, iskemik doku ürünlerinin sistemik dolaşıma geçip sistemik etki oluşturması için çalışmada kullanılan 30 dakikalık reperfüzyon süresinin kısa olmasına bağlandı.

Guanin, Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olan ve oksidasyona en yatkın olan bazdır. Modifiye bir baz olan 8- hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) reaktif oksijen türlerinin DNA'da yaptığı 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününden birisidir. 8-OHdG, guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları sonucu oluşan oksidatif DNA hasarının duyarlı bir göstergesidir. Bu nedenle 8-OHdG ölçümü, DNA'daki oksidatif hasarın doğrudan göstergesi olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarını belirlemede en sık kullanılan yöntem olarak uygulanmaktadır [16]. İnsan DNA'sında oluşan lezyonların yarı ömrü 8-60 dakika olup pirimidin lezyonlarının tamir süresi daha kısadır. Deneysel hayvan modellerinde, antioksidan uygulamaları ile 8-OHdG düzeylerinde azalma görüldüğü saptanmıştır. Bunlardan bazıları; koenzim Q10, vitamin-E, vitamin-C, selenyum, beta karoten ve quercetin gibi bazı diyetel flavonoidlerdir [158],[159].

Doku 8-OHdG değerleri pri/rep grubunda kontrol grubuna göre artış, pri/rep+quer grubunda ise pri/rep grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düşüş tespit edilmiştir ($p<0,05$). Serum 8-OHdG düzeylerinde ise pri/rep grubu ile pri/rep+quer grubu arasında fark tespit edilmesine rağmen istatistiksel anlamlı fark bulunamadı. İskemik doku ürünlerinin sistemik dolaşıma geçip etki oluşturabilmesi için çalışmada kullanılan 30 dakikalık reperfüzyon süresinin yeterli olmaması bir neden olabilir.

Nonenzimatik antioksidan olan glutatyon (GSH) bir antioksidan olarak hareket eder ve ayrıca hücrenin redoks durumunu korumada, detoksifikasyon sisteminin çalışmasında, eikosonoidlerin sentezlenmesinde, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptozisde de antioksidan olarak faaliyet gösterir. Glutatyon, glutatyon peroksidaz (GSHPx)'in katalitik etkisiyle lipid peroksitleri ve hidrojen peroksit H_2O_2 'i detoksifiye eder ya da O_2^- ve OH^- 'i temizler. Ayrıca glutatyon S-transferaz plazma membranından aminoasit transportunu sağlar, bazı önemli antioksidanları yeniden oluşturur. Vitamin E ve vitamin C GSH tarafından düzenlenir.

Tripeptit yapıda olan glutatyon, tüm memeli canlı hücrelerinde bulunan, hücreleri serbest radikal ve toksik metabolitlerine karşı koruyan bir tiol bileşiğidir. Amalia ve ark 2007’de yaptıkları CCl₄ toksikasyonunun oluşturulduğu deneysel bir araştırmada, çalışmanın son 3 haftasında quercetin uygulamışlardır. Yapılan deneyler sonucunda quercetin uygulanmasıyla doku MDA ve GSH düzeylerinde iyileştirici sonuçlar alındığı bildirilmiştir [160].

Çalışmamızda serum GSH ve doku GSH düzeylerinde, pri/rep grubunda oluşturulan oksidatif stres sebebiyle kontrol grubuna karşı düşüş belirlendi. Pri/rep+quer grubunda ise pri/rep grubuna göre serum GSH ve doku GSH düzeylerinde quercetin antioksidan etkisi sebebiyle artış belirlendi ancak ileri istatistik incelemede anlamlı bulgular elde edilemedi ($p>0,05$). Bu durum yapılan çalışmanın akut bir çalışma olmasına bağlandı.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak bu deneysel çalışmada akut iskemik priapizmde uygulanan quercetin'in İR hasarı üzerine oksidan-antioksidan denge açısından koruyucu etkilerini araştırdık. Priapizm modelinde reperfüzyon öncesi quercetin uygulanması, literatürde yapılmış olan farklı deneysel çalışma modellerinin sonuçlarıyla uyumlu bulundu. Araştırılmış olan biyokimyasal parametrelerin önemli bir bölümü quercetin'in antioksidan etkisini gösterdi. Anlamlı bulunmayan parametrelerin çalışmanın akut olması ve reperfüzyon süresinin kısa olmasıyla ilişkili olduğu düşünüldü. Reperfüzyon süresinin uzatılması ile daha fazla biyokimyasal ve histolojik parametrede anlamlı fark bulunabileceği sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda histolojik değişiklik saptanamaması, literatürde 4 saatten kısa süreli priapizm modellerinde histolojik değişikliklerin ortaya çıkmadığı bulgusuyla uyumludur.

7. KAYNAKLAR

- [1] A. C. M. Kendirci M., A. Kadioğlu, *The History Of Male-Female Sexuality And Fertility In Asia Minor:(Today's Turkey)*. İstanbul: Turkish Society Of Andrology., 2003.
- [2] G. R. Serjeant, K. De Ceulaer, and G. H. Maude, "STILBOESTROL AND STUTTERING PRIAPISM IN HOMOZYGOUS SICKLE-CELL DISEASE," *Lancet*, vol. 2, pp. 1274–1276, 1985.
- [3] S. R. Broderick GA, Kadioglu A, Bivalacqua TJ, Ghanem H, Nehra A, "Priapism: pathogenesis, epidemiology, and management.," *J. Sex. Med.*, vol. 7(1 Pt 2), pp. 476–500, 2010.
- [4] R. Munarriz *et al.*, "Reperfusion of ischemic corporal tissue: Physiologic and biochemical changes in an animal model of ischemic priapism," *Urology*, vol. 62, no. 4, pp. 760–764, 2003.
- [5] Y. C. Jin, S. C. Gam, J. H. Jung, J. S. Hyun, K. C. Chang, and J. S. Hyun, "Expression and activity of heme oxygenase-1 in artificially induced low-flow priapism in rat penile tissues," *J. Sex. Med.*, vol. 5, 2008.
- [6] A. Dominguez-Rodriguez, P. Abreu-Gonzalez, M. J. Garcia-Gonzalez, S. Samimi-Fard, R. J. Reiter, and J. C. Kaski, "Association of ischemia-modified albumin and melatonin in patients with ST-elevation myocardial infarction," *Atherosclerosis*, pp. 73–78, 2008.
- [7] S. D. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, "Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury.," *Pharmacol. Rev.*, vol. 53, no. 1, pp. 135–159, 2001.

- [8] J. J. Lysiak, Q. A. T. Nguyen, J. L. Kirby, and T. T. Turner, "Ischemia-Reperfusion of the Murine Testis Stimulates the Expression of Proinflammatory Cytokines and Activation of c-jun N-Terminal Kinase in a Pathway to E-Selectin Expression¹," *Biol. Reprod.*, vol. 69, no. 1, pp. 202–210, 2003.
- [9] R. B. Moreland, A. Traish, M. A. McMillin, B. Smith, I. Goldstein, and I. Saenz de Tejada, "PGE1 suppresses the induction of collagen synthesis by transforming growth factor-beta 1 in human corpus cavernosum smooth muscle," *J Urol*, pp. 826–834, 1995.
- [10] O. Sanli *et al.*, "TGF- β 1 neutralizing antibodies decrease the fibrotic effects of ischemic priapism," *Int. J. Impot. Res.*, vol. 16, pp. 492–497, 2004.
- [11] N. Uluocak *et al.*, "An animal model of ischemic priapism and the effects of melatonin on antioxidant enzymes and oxidative injury parameters in rat penis," *Int. Urol. Nephrol.*, vol. 42, no. 4, pp. 889–895, 2010.
- [12] Ç. A. Güneş Ö., ERBAYCU A.E., "The diagnostic value of malondialdehyde level in pleural effusions," *Eurasian J Pulmonol*, vol. 5, no. 4, pp. 213–219, 2003.
- [13] H. Esterbauer, R. J. Schaur, and H. Zollner, "Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes," *Free Radical Biology and Medicine*. pp. 81–128, 1991.
- [14] M. Aydın *et al.*, "Relationship between total antioxidant capacity and the severity of coronary artery disease," *J. Clin. Exp. Investig.*, 2012.
- [15] M. Harma, M. Harma, and O. Erel, "Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole," *Swiss Med. Wkly.*, 2003.

- [16] H. J. Helbock, K. B. Beckman, and B. N. Ames, "8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage," *Methods Enzymol.*, vol. 300, pp. 156–166, 1999.
- [17] B. Halliwell, "Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?," *Lancet*, vol. 344, no. 8924, pp. 721–724, 1994.
- [18] D. A. Shoskes, "Effect of bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal injury: A new class of renoprotective agents," *Transplantation*, vol. 66, no. 2, pp. 147–152, 1998.
- [19] I. Huk *et al.*, "Bioflavonoid quercetin scavenges superoxide and increases nitric oxide concentration in ischaemia-reperfusion injury: An experimental study," *Br. J. Surg.*, vol. 58, no. 8, pp. 1080–1085, 1998.
- [20] W. S. Chang, Y. J. Lee, F. J. Lu, and H. C. Chiang, "Inhibitory effects of flavonoids on xanthine oxidase," *Anticancer Res.*, vol. 13, no. 6A, pp. 2165–2170, 1993.
- [21] B. Friesenecker, A. G. Tsai, C. Allegra, and M. Intaglietta, "Oral administration of purified micronized flavonoid fraction suppresses leukocyte adhesion in ischemia-reperfusion injury: In vivo observations in the hamster skin fold," *Int. J. Microcirc. Exp.*, vol. 14, no. 1–2, pp. 50–55, 1994.
- [22] T. . K. S.D Graham, *Glenn's urologic surgery(Penil And Scrotum's Anatomy)*, 8th ed. 2016.
- [23] P. A. . Wein A.J.,Kavoussi L.R., *Camupbell's Urology. 10th Ed. Physiology Of Penile Erection And Pathophysiology Of Erectile Dysfunction*, 10th ed. Philadelphia, 2012.

- [24] K. Arıncı and S. T. Karahan, “Penis’in Damar Sistemi Ve İnnervasyonu,” *Türkiye Klin. J. Med. Sci.*, vol. 11, no. 2, pp. 81–86, 1991.
- [25] N. P. Ovalle W., *Netter’s Essential Histology(Male Reproductive System)*, 2nd ed. 2013.
- [26] O. Tunç, F. Firdolaş, and O. İ., “Deneyisel Çalışmalarda Priapizm: Kliniğe Yansımalar,” *Türk Urol Sem*, vol. 2, pp. 281–287, 2011.
- [27] T. F. Lue, “Expression of TGF- β -1 mRNA and ultrastructural alterations in pharmacologically induced prolonged penile erection in a canine model,” *J. Urol.*, vol. 160, pp. 2263–6, 1998.
- [28] B. G. Montague DK, Jarow J, “American Urological Association guideline on the management of priapism,” vol. 170, no. 4 Pt 1, pp. 1318–24, 2003.
- [29] K. J. Hurt *et al.*, “Akt-dependent phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase mediates penile erection,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 99, pp. 4061–4066, 2002.
- [30] Andersson KE., “Neurophysiology/pharmacology of erection,” *International J. Impot. Res.*, vol. 13, pp. 8–17, 2001.
- [31] T. M. Lincoln, N. Dey, and H. Sellak, “Invited review: cGMP-dependent protein kinase signaling mechanisms in smooth muscle: From the regulation of tone to gene expression,” *Journal of Applied Physiology*. pp. 1421–1430, 2001.
- [32] A. L. Burnett *et al.*, “Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the autonomic innervation of the human penis,” *J. Urol.*, vol. 150, pp. 73–76, 1993.

- [33] R. Tabrizchi and S. Bedi, "Pharmacology of adenosine receptors in the vasculature," *Pharmacology and Therapeutics*. pp. 133–147, 2001.
- [34] P. V. Phatarpekar, J. Wen, and Y. Xia, "Role of adenosine signaling in penile erection and erectile disorders," *J. Sex. Med.*, vol. 7, pp. 3553–64, 2010.
- [35] S. Patole, J. Lee, P. Buettner, and J. Whitehall, "Improved oxygenation following adenosine infusion in persistent pulmonary hypertension of the newborn," *Biol. Neonate*, vol. 74, no. 5, pp. 345–350, 1998.
- [36] T. Mi *et al.*, "Excess adenosine in murine penile erectile tissues contributes to priapism via A2B adenosine receptor signaling," *J. Clin. Invest.*, vol. 118, no. 4, pp. 1491–1501, 2008.
- [37] C. G. Stief, U. Wetterauer, F. H. Schaebsdau, and U. Jonas, "Calcitonin-gene-related peptide: A possible role in human penile erection and its therapeutic application in impotent patients," *J. Urol.*, vol. 146, pp. 1010–1014, 1991.
- [38] T. J. Bivalacqua, H. C. Champion, A. B. Abdel-Mageed, P. J. Kadowitz, and W. J. G. Hellstrom, "Gene Transfer of Prepro-Calcitonin Gene-Related Peptide Restores Erectile Function in the Aged Rat1," *Biol. Reprod.*, vol. 65, pp. 1371–1377, 2001.
- [39] S. Narumiya and G. A. FitzGerald, "Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function," *Journal of Clinical Investigation*. pp. 25–30, 2001.
- [40] R. B. Moreland *et al.*, "O₂-dependent prostanoid synthesis activates functional PGE receptors on corpus cavernosum smooth muscle," *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.*, vol. 281, no. 2, pp. 552–558, 2001.

- [41] W. Stackl, R. Hasun, and M. Marberger, "Intracavernous injection of prostaglandin E1 in impotent men," *J. Urol.*, vol. 140, no. 1, pp. 66–68, 1988.
- [42] E. A. KIELY, S. R. BLOOM, and G. WILLIAMS, "Penile Response to Intracavernosal Vasoactive Intestinal Polypeptide Alone and in Combination with Other Vasoactive Agents," *Br. J. Urol.*, vol. 64, pp. 191–194, 1989.
- [43] L. S. Palmer, M. Valcic, A. Melman, A. Giraldi, G. Wagner, and G. J. Christ, "Characterization of cyclic AMP accumulation in cultured human corpus cavernosum smooth muscle cells," *J. Urol.*, vol. 152, pp. 1308–1314, 1994.
- [44] Shamloul R., "The potential role of the heme oxygenase/carbon monoxide system in male sexual dysfunctions.," *J. Sex. Med.*, vol. 6, no. 2, pp. 324–33, 2009.
- [45] F. Montorsi, A. Briganti, A. Salonia, P. Montorsi, and P. Rigatti, "The use of phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction," *Current Opinion in Urology*, pp. 357–359, 2004.
- [46] A. Kütke *et al.*, "Expression of different phosphodiesterase genes in human cavernous smooth muscle," *J. Urol.*, vol. 165, pp. 280–283, 2001.
- [47] C. S. Lin, "Phosphodiesterase type 5 regulation in the penile corpora cavernosa," in *Journal of Sexual Medicine*, 2009, pp. 203–209.
- [48] E. S. Bialecki and K. R. Bridges, "Sildenafil relieves priapism in patients with sickle cell disease [1]," *American Journal of Medicine*. 2002.
- [49] C. S. Lin, G. Lin, and T. F. Lue, "Cyclic nucleotide signaling in cavernous smooth muscle," *J. Sex. Med.*, vol. 2, no. 4, pp. 478–491, 2005.

- [50] G. A. Broderick, D. Gordon, J. Hypolite, and R. M. Levin, "Anoxia and corporal smooth muscle dysfunction: A model for ischemic priapism," *J. Urol.*, vol. 151, no. 1, pp. 259–262, 1994.
- [51] A. Muneer, S. Minhas, A. Freeman, P. Kumar, and D. J. Ralph, "Investigating the effects of high-dose phenylephrine in the management of prolonged ischaemic priapism," *J. Sex. Med.*, vol. 5, no. 9, pp. 2152–2159, 2008.
- [52] I. Saenz de Tejada, M. P. Carson, A. De Las Morenas, I. Goldstein, and A. M. Traish, "Endothelin: Localization, synthesis, activity, and receptor types in human penile corpus cavernosum," *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.*, vol. 261, pp. 1078–1085, 1991.
- [53] S. G. Raja and G. D. Dreyfus, "Current status of bosentan for treatment of pulmonary hypertension.," *Annals of cardiac anaesthesia*. pp. 6–14, 2008.
- [54] A. Benigni and G. Remuzzi, "Endothelin antagonists," *Lancet*. pp. 133–138, 1999.
- [55] J. Yuan, R. Desouza, O. L. Westney, and R. Wang, "Insights of priapism mechanism and rationale treatment for recurrent priapism," *Asian Journal of Andrology*. pp. 88–101, 2008.
- [56] S. Homer-Vanniasinkam, J. N. Crinnion, and M. J. Gough, "Post-ischaemic organ dysfunction: A review," *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. pp. 195–203, 1997.
- [57] G. Şener and B. Ç. Yeğen, "İskemi Reperfüzyon Hasarı," *Klin. Gelişim*, vol. 22, no. 3, pp. 5–13, 2009.
- [58] J. Wilhelm, "Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation.," *Acta*

Universitatis Carolinae. Medica. Monographia. pp. 1–53, 1990.

- [59] R. K. Gupta *et al.*, “Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: A review,” *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. pp. 4405–4409, 2014.
- [60] R. Dokuyucu *et al.*, “Antioxidant effect of erdosteine and lipoic acid in ovarian ischemia-reperfusion injury,” *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, vol. 183, pp. 23–27, 2014.
- [61] R. Jennings, “The Cell Biology Of Acute Myocardial Ischemia,” *Annu. Rev. Med.*, vol. 42, no. 1, pp. 225–246, 1991.
- [62] C. P. Baines, “The mitochondrial permeability transition pore and ischemia-reperfusion injury,” *Basic Research in Cardiology*. pp. 181–188, 2009.
- [63] S. Sanada, I. Komuro, and M. Kitakaze, “Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: Preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures,” *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. pp. 1723– 41, 2011.
- [64] S. Orrenius, M. J. Burkitt, G. E. N. Kass, J. M. Dyrbukt, and P. Nicotera, “Calcium ions and oxidative cell injury,” *Ann. Neurol.*, vol. 32, pp. 33–42, 1992.
- [65] G. N. De Martino, “Calcium-dependent proteolytic activity in rat liver: Identification of two proteases with different calcium requirements,” *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 211, pp. 253–7, 1981.
- [66] S. W. Schaffer, R. S. Roy, and J. M. McCormord, “Possible role for calmodulin in calcium paradox-induced heart failure,” *Eur. Heart J.*, vol. 4, pp. 81–7, 1983.

- [67] M. Valko, H. Morris, and M. Cronin, "Metals, Toxicity and Oxidative Stress," *Curr. Med. Chem.*, vol. 12, pp. 1161–1208, 2005.
- [68] A. Catalá, "An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay," *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. pp. 1482–1495, 2006.
- [69] D. A. Parks, T. K. Williams, and J. S. Beckman, "Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: A reevaluation," *Am. J. Physiol. - Gastrointest. Liver Physiol.*, vol. 254, no. 5, 1988.
- [70] T. Monsinjon, W. Richard, and F. Fontaine, "Complement and its implications in cardiac ischemia/reperfusion: strategies to inhibit complement," *Fundam. Clin. Pharmacol.*, vol. 15, no. 5, pp. 293–306, 2001.
- [71] M. Kopáni, P. Celec, L. Danišovič, P. Michalka, and C. Biró, "Oxidative stress and electron spin resonance," *Clinica Chimica Acta*. pp. 61–66, 2006.
- [72] G. Solaini and D. A. Harris, "Biochemical dysfunction in heart mitochondria exposed to ischaemia and reperfusion," *Biochemical Journal*. pp. 377–394, 2005.
- [73] R. J. Reiter, "Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain," *FASEB Journal*. pp. 526–533, 1995.
- [74] İ. Akkuş, *Serbest Radikaller Ve Fizyopatolojik Etkileri*. KONYA: MİMOZA YAYINLARI, 1996.
- [75] N. Altan, A. Sepici Dinçel, and C. Koca, "Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres," *Türk Biyokim. Derg.*, vol. 31, no. 2, pp. 51–56, 2006.

- [76] B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge, and C. E. Cross, "Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now?," *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. p. 598, 1992.
- [77] B. M. Babior, "Phagocytes and oxidative stress," *Am. J. Med.*, vol. 109, no. 1, pp. 33–44, 2000.
- [78] S. J. Davies, S. Y. Reichardt-Pascal, D. Vaughan, and G. I. Russell, "Differential effect of ischaemia-reperfusion injury on anti oxidant enzyme activity in the rat kidney," *Exp. Nephrol.*, vol. 3, pp. 348–354, 1995.
- [79] R. J. Reiter, D. Acuña-Castroviejo, D. X. Tan, and S. Burkhardt, "Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system.," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 939, pp. 200–215, 2001.
- [80] J. P. Kuyvenhoven and A. E. Meinders, "Oxidative stress and diabetes mellitus Pathogenesis of long-term complications," *European Journal of Internal Medicine*. pp. 9–19, 1999.
- [81] F. López-Neblina, A. J. Páez-Rollys, and L. H. Toledo-Pereyra, "Mechanism of protection of verapamil by preventing neutrophil infiltration in the ischemic rat kidney," *J. Surg. Res.*, vol. 61, pp. 469–472, 1996.
- [82] N. G. Frangogiannis, "Chemokines in ischemia and reperfusion," *Thrombosis and Haemostasis*. p. 738, 2007.
- [83] H. K. Eltzschig and C. D. Collard, "Vascular ischaemia and reperfusion injury," *British Medical Bulletin*. pp. 71–86, 2004.
- [84] S. C. Weight, P. R. F. Bell, and M. L. Nicholson, "Renal ischaemia-reperfusion

- injury,” *British Journal of Surgery*. pp. 162–170, 1996.
- [85] P. K. Chatterjee, “Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: A comprehensive review,” *Naunyn-Schmiedeberg’s Archives of Pharmacology*. pp. 1–43, 2007.
 - [86] F. Serracino-Inglott, N. A. Habib, and R. T. Mathie, “Hepatic ischemia-reperfusion injury,” *Am. J. Surg.*, vol. 181, pp. 160–166, 2001.
 - [87] D. A. Parks and D. N. Granger, “Xanthine oxidase: Biochemistry, distribution and physiology,” *Acta Physiol. Scand.*, vol. 548, pp. 87–99, 1986.
 - [88] T. Kalogeris, C. Baines, and M. Krenz, “Cell biology of ischemia/reperfusion injury,” *Int. Rev. Cell Mol. Biol.*, vol. 298, pp. 229–317, 2012.
 - [89] R. J. Korthuis and D. N. Granger, “Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion,” *Clin. Cardiol.*, vol. 16, p. :19-26, 1993.
 - [90] A. S. Thrane, J. D. Skehan, and P. S. Thrane, “A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease,” *Med. Hypotheses*, vol. 68, no. 6, pp. 1363–1370, 2007.
 - [91] M. Suzuki, H. Asako, P. Kubes, S. Jennings, M. B. Grisham, and D. N. Granger, “Neutrophil-derived oxidants promote leukocyte adherence in postcapillary venules,” *Microvasc. Res.*, vol. 42, pp. 125–138, 1991.
 - [92] W. Zhang, C. Smith, A. Shapiro, R. Monette, J. Hutchison, and D. Stanimirovic, “Increased expression of bioactive chemokines in human cerebromicrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro,” *J.*

Neuroimmunol., vol. 101, pp. 148–160, 1999.

- [93] A. L. García-Villalón, Y. M. Amezquita, L. Monge, N. Fernández, A. Salcedo, and G. Diéguez, “Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion,” *Vascul. Pharmacol.*, vol. 48, no. 2, pp. 109–114, 2008.
- [94] L. Phillips, A. H. Toledo, F. Lopez-Neblina, R. Anaya-Prado, and L. H. Toledo-Pereyra, “Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury,” *Journal of Investigative Surgery*. pp. 46–55, 2009.
- [95] P. Karihtala and Y. Soini, “Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies,” *APMIS*. p. . 81-103, 2007.
- [96] A. Cherubini *et al.*, “Dietary Antioxidants as Potential Pharmacological Agents for Ischemic Stroke,” *Curr. Med. Chem.*, vol. 15, no. 12, pp. 1236–1248, 2008.
- [97] D. A. Mickle and R. D. Weisel, “Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury,” *Can. J. Cardiol.*, vol. 9, no. 1, pp. 89–93, 1993.
- [98] L. Virág and C. Szabó, “The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors,” *Pharmacological Reviews*. pp. 375–429, 2002.
- [99] B. Halliwell, “Antioxidant characterization. Methodology and mechanism,” *Biochem. Pharmacol.*, vol. 49, no. 10, pp. 1341–1348, 1995.
- [100] L. A. Pham-Huy, H. He, and C. Pham-Huy, “Free radicals, antioxidants in disease and health,” *International Journal of Biomedical Science*. pp. 89–96, 2008.

- [101] B. AYDEMİR and E. K. SARI, “Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile ilişkisi,” *Kocatepe Vet. Derg.*, vol. 2, no. 2, pp. 56–60, 2009.
- [102] C. Rodriguez *et al.*, “Regulation of antioxidant enzymes: A significant role for melatonin,” *Journal of Pineal Research*. pp. 1–9, 2004.
- [103] S. Sen, R. Chakraborty, C. Sridhar, Y. S. R. Reddy, and B. De, “Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect,” *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, vol. 3, no. 1, pp. 91–100, 2010.
- [104] S. Sen and R. Chakraborty, *The Role of Antioxidants in Human Health. Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy*, 2011.
- [105] I. S. Young and J. V Woodside, “Antioxidants in health and disease Antioxidants in health and disease,” *J. Clin. Pathol.*, vol. 54, no. 3, pp. 176–186, 2001.
- [106] R. J. Reiter *et al.*, “A review of the evidence supporting melatonin’s role as an antioxidant,” *J. Pineal Res.*, vol. 18, no. 1, pp. 1–11, 1995.
- [107] W. Dröge, “Free radicals in the physiological control of cell function,” *Physiological Reviews*. pp. 47–95, 2002.
- [108] J. K. Willcox, S. L. Ash, and G. L. Catignani, “Antioxidants and prevention of chronic disease,” *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 44, no. 4, pp. 275–295, 2004.
- [109] D. M. Townsend, K. D. Tew, and H. Tapiero, “The importance of glutathione in human disease,” *Biomedicine and Pharmacotherapy*. pp. 145–155, 2003.
- [110] D. Hevia, J. C. Mayo, D. X. Tan, A. Rodriguez-Garcia, and R. M. Sainz, “Melatonin enhances photo-oxidation of 29, 79-dichlorodihydrofluorescein by

an antioxidant reaction that renders N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK),” *PLoS One*, vol. 9, no. 10, pp. 1–10, 2014.

- [111] Y. Dündar and R. Aslan, “Oksidan–antioksidan Denge ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü,” *Hayvancılık Araştırma Derg.*, vol. 9, no. 1–2, pp. 32–39, 1999.
- [112] Y. Li and H. E. Schellhorn, “New Developments and Novel Therapeutic Perspectives for Vitamin C,” *J. Nutr.*, vol. 137, no. 10, pp. 2171–2184, 2007.
- [113] A. C. Carr and B. Frei, “Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans,” *American Journal of Clinical Nutrition*, pp. 1086–1107, 1999.
- [114] J. Ø. Moskaug, H. Carlsen, M. Myhrstad, and R. Blomhoff, “Molecular imaging of the biological effects of quercetin and quercetin-rich foods,” in *Mechanisms of Ageing and Development*, 2004, pp. 315–24.
- [115] J. Kühnau, “The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition.,” *World review of nutrition and dietetics*, pp. 117–191, 1976.
- [116] H. G. Krishnamurty, K. J. Cheng, G. A. Jones, F. J. Simpson, and J. E. Watkin, “Identification of products produced by the anaerobic degradation of rutin and related flavonoids by *Butyrivibrio* sp. C3.,” *Can. J. Microbiol.*, vol. 16, no. 8, pp. 759–767, 1970.
- [117] C. Mariani, A. Braca, S. Vitalini, N. De Tommasi, F. Visioli, and G. Fico, “Flavonoid characterization and in vitro antioxidant activity of *Aconitum anthora* L. (Ranunculaceae),” *Phytochemistry*, vol. 69, no. 5, pp. 1220–6, 2008.

- [118] S. Bhagwat, D. B. Haytowitz, and J. M. Holden, “USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods Release 3 Prepared by USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods Release 3 Prepared by,” *U.S. Dep. Agriculture*, 2011.
- [119] V. D. Bokkenheuser, C. H. L. Shackleton, and J. Winter, “Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal Bacteroides from humans,” *Biochem. J.*, vol. 248, no. 3, pp. 953–956, 1987.
- [120] J. F. Young *et al.*, “Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status,” *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 69, no. 1, pp. 87–94, 1999.
- [121] S. Lesser, R. Cermak, and S. Wolffram, “Bioavailability of Quercetin in Pigs Is Influenced by the Dietary Fat Content,” *J. Nutr.*, vol. 134, no. 6, pp. 1508–11, 2004.
- [122] A. Trzeciak, “[Quercetin: significance in mutagenesis and carcinogenesis],” *Postepy Biochem.*, vol. 47, no. 4, pp. 299–306, 2001.
- [123] K. Kato *et al.*, “Lack of promotive effect of quercetin on methylazoxymethanol acetate carcinogenesis in rats,” *J. Toxicol. Sci.*, vol. 9, no. 4, pp. 319–25, 1984.
- [124] A. Weber *et al.*, “Can grapefruit juice influence ethinylestradiol bioavailability?,” *Contraception*, vol. 53, no. 1, pp. 41–47, 1996.
- [125] F. M. Amatori, V. Meucci, M. Giusiani, G. Soldani, M. Corazza, and M. Giorgi, “Effect of grapefruit juice on the pharmacokinetics of cyclosporine in dogs,” *Vet. Rec.*, vol. 154, no. 6, pp. 180–1, 2004.
- [126] S. H. Häkkinen, S. O. Kärenlampi, I. M. Heinonen, H. M. Mykkänen, and A. R.

Törrönen, "Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 47, no. 6, pp. 2274–2279, 1999.

- [127] J. J. Hilliard *et al.*, "A comparison of active site binding of 4-quinolones and novel flavone gyrase inhibitors to DNA gyrase," *Advances in Experimental Medicine and Biology*. pp. 59–69, 1996.
- [128] B. Halliwell, "How to characterize an antioxidant: an update.," *Biochemical Society symposium*. pp. 73–101, 1995.
- [129] B. B. Aggarwal, "Tumour necrosis factors receptor associated signalling molecules and their role in activation of apoptosis, JNK and NF-kappa B," in *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2000.
- [130] B. Havsteen, "Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency," *Biochem. Pharmacol.*, vol. 32, no. 7, pp. 1141–1148, 1983.
- [131] J. M. Harnly *et al.*, "Flavonoid content of U.S. fruits, vegetables, and nuts," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, no. 26, pp. 9966–9977, 2006.
- [132] S. M. Thornhill and A. M. Kelly, "Natural treatment of perennial allergic rhinitis," *Alternative Medicine Review*. pp. 448–454, 2000.
- [133] S. M. Plakas, T. C. Lee, and R. E. Wolke, "Absence of overt toxicity from feeding the flavonol, quercetin, to rainbow trout (*Salmo gairdneri*)," *Food Chem. Toxicol.*, vol. 23, no. 12, pp. 1077–1080, 1985.
- [134] M. G. L. Hertog *et al.*, "Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study," *Lancet*, vol. 342, pp. 1007–1011, 1993.

- [135] L. Costantino *et al.*, “1-Benzopyran-4-one antioxidants as aldose reductase inhibitors,” *J. Med. Chem.*, vol. 42, no. 11, pp. 1881–93, 1999.
- [136] M. Uchiyama and M. Mihara, “Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test,” *Anal. Biochem.*, vol. 86, pp. 271–278, 1978.
- [137] K. Yagi, “Assay for Blood Plasma or Serum,” *Methods Enzymol.*, vol. 109, pp. 328–331, 1984.
- [138] D. Bar-Or, E. Lau, and J. V. Winkler, “A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia - A preliminary report,” *J. Emerg. Med.*, vol. 19, no. 4, pp. 311–315, 2000.
- [139] M. Tusat, A. Mentese, S. Demir, A. Alver, and M. Imamoglu, “Medical ozone therapy reduces oxidative stress and testicular damage in an experimental model of testicular torsion in rats,” *Int. Braz J Urol*, vol. 43, no. 6, pp. 1160–1166, 2017.
- [140] M. L. Jones, J. D. Bancroft, and M. Gamble, “Connective Tissues and Stains,” in *Theory and Practice of Histological Techniques*, 2008.
- [141] O. Kutlu *et al.*, “Dipyridamole reduces penile apoptosis in a rat model of post-prostatectomy erectile dysfunction,” *Int. Braz J Urol*, vol. 43, pp. 966–973, 2017.
- [142] J. P. Mulhall *et al.*, “The functional and structural consequences of cavernous nerve injury are ameliorated by sildenafil citrate,” *J. Sex. Med.*, vol. 5, pp. 1126–1136, 2008.
- [143] C. W. Bond, N. L. Angeloni, D. A. Harrington, S. I. Stupp, K. E. McKenna, and C. A. Podlasek, “Peptide Amphiphile Nanofiber Delivery of Sonic Hedgehog

Protein to Reduce Smooth Muscle Apoptosis in the Penis after Cavernous Nerve Resection,” *J. Sex. Med.*, vol. 8, pp. 78–89, 2011.

- [144] E. Karagüzel *et al.*, “The possible protective effects of dipyridamole on ischemic reperfusion injury of priapism,” *Int. Braz J Urol*, vol. 42, pp. 146–153, 2016.
- [145] M. J. Concannon, C. G. Kester, C. F. Welsh, and C. L. Puckett, “Patterns of free-radical production after tourniquet ischemia: Implications for the hand surgeon,” *Plast. Reconstr. Surg.*, vol. 89, no. 5, pp. 846–852, 1992.
- [146] S. Devinder and V. Chander, “The effect of quercetin, a bioflavonoid on ischemia/reperfusion induced renal injury in rats.,” *Arch. Med. Res.*, vol. 35, no. 6, pp. 484–494, 2004.
- [147] A. Kahraman, N. Erkasap, and M. Serteser, “Protective effect of quercetin on renal ischemia/reperfusion injury in rats.,” *J. Nephrol.*, vol. 16, no. 2, pp. 219–924, 2003.
- [148] R. G. Cutler and H. Rodriguez, *Critical Reviews of Oxidative Stress and Aging*. Kronos Longevity Research Institute, Arizona, USA, 2002.
- [149] R. J. Nijveldt, E. Van Nood, D. E. C. Van Hoorn, P. G. Boelens, K. Van Norren, and P. A. M. Van Leeuwen, “Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications,” *American Journal of Clinical Nutrition*. 2001.
- [150] P. S. Devi and D. C. . Shyamala, “Protective effect of quercetin in cisplatin-induced cell injury in the rat kidney,” *Indian J. Pharmacol.*, vol. 31, pp. 422–426, 1999.

- [151] J. Duarte *et al.*, “Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats,” *Br. J. Pharmacol.*, vol. 133, no. 1, pp. 117–124, 2001.
- [152] S. Singh, S. K. Singh, M. Kumar, K. Chandra, and R. Singh, “Ameliorative potential of quercetin against paracetamol-induced oxidative stress in mice blood,” *Toxicol. Int.*, vol. 18, no. 2, pp. 140–145, 2011.
- [153] J. Wattanathorn, N. Sriraksa, S. Muchimapura, S. Tiamkao, K. Brown, and K. Chaisiwamongkol, “Cognitive-enhancing effect of quercetin in a rat model of Parkinson’s disease induced by 6-hydroxydopamine,” *Evidence-based Complement. Altern. Med.*, 2012.
- [154] O. Kutlu *et al.*, “Investigation of the possibility of using ischemia-modified albumin in testicular torsion: An experimental study,” *Fertil. Steril.*, vol. 95, no. 4, pp. 1333–1337, 2011.
- [155] R. Aslan, R. Kutlu, S. Civi, and E. Tasyurek, “The correlation of the total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and paraoxonase activity (PON1) with smoking,” *Clin. Biochem.*, vol. 47, no. 6, pp. 393–397, 2014.
- [156] B. Aydın, R. Yağcı, and H. Özyurt, “Behçet Hastalığında Toplam Antioksidan Kapasite, Toplam Oksidan Durum ve Dehidroepiandrosteron Sülfat Düzeyleri,” *J. Retin.*, vol. 15, no. 4, pp. 263–266, 2007.
- [157] A. Kısaoğlu, B. Borekci, H. Bilen, and H. Suleyman, “Tissue Damage and Oxidant/Antioxidant Balance,” *Euroasian J. Med.*, vol. 45, no. 1, pp. 47–49, 2013.
- [158] M. Kunitomo, Y. Yamaguchi, S. Kagota, and K. Otsubo, “Beneficial effect of coenzyme Q10 on increased oxidative and nitrative stress and inflammation and individual metabolic components developing in a rat model of metabolic

syndrome,” *J. Pharmacol. Sci.*, vol. 107, no. 2, pp. 128–137, 2008.

[159] R. J. Bloomer, A. H. Goldfarb, and M. J. McKenzie, “Oxidative stress response to aerobic exercise: Comparison of antioxidant supplements,” *Med. Sci. Sports Exerc.*, vol. 38, no. 6, pp. 1098–1105, 2006.

[160] P. M. Amália, M. N. Possa, M. C. Augusto, and L. S. Francisca, “Quercetin prevents oxidative stress in cirrhotic rats,” *Dig. Dis. Sci.*, vol. 52, pp. 2616–2621, 2007.

