T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İSKEMİK PRİAPİZMDE HİDROJEN SÜLFÜRÜN ROLÜ

Nilay KAYA
ORCID 0000-0002-7292-8284

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
Farmakoloji Yüksek Lisans Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İZMİR
HAZİRAN 2023

TEZ KODU: DEU.HSI.MSc-2019970182

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İSKEMİK PRİAPİZMDE HİDROJEN SÜLFÜRÜN ROLÜ

Nilay KAYA
ORCID 0000-0002-7292-8284

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

Farmakoloji Yüksek Lisans Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nergiz DURMUŞ SÜTPİDELER
ORCID 0000-0003-4739-9154

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından TYL-2022-2575 proje numarası ile desteklenmiştir.

İZMİR
HAZİRAN 2023
TEZ KODU: DEU.HSI.MSc-2019970182

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

ETİK BEYAN

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğum "İskemik Priapizmde Hidrojen Sülfürün Rolü" başlıklı yüksek lisans tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Nilay KAYA

Tarih: 23.05.2023

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince her türlü konuda yol gösterici olan, akademik ve bilimsel bilgi birikimiyle çalışmama katkı sağlayan, bana akademik yolda yürüme şevki kazandıran, beraber çalışmaktan ve her zaman öğrencisi olmaktan gurur duyduğum değerli danışman hocam Prof. Dr. Nergiz DURMUŞ SÜTPİDELER'e,

Yüksek lisans eğitimimi en iyi şekilde almamı sağlayan, çalışmamda destek ve emeklerini esirgemeyen Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda bulunan tüm hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma,

Tez çalışmamın histolojik bölümünde bana yardımcı olan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndaki öğretim üyelerine,

Deneysel tez çalışmamın bir kısmını gerçekleştirdiğim laboratuvarının kapılarını bana açan, akademik bilgi ve bilimsel gelişimime önemli katkıları olan, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Günay YETİK ANACAK'a ve tez çalışmamın deneysel aşamalarında bana her türlü yardımı sağlayan ekip arkadaşım Arş. Gör. Ecz. Emine Nur ÖZBEK'e,

Tez çalışmamın tüm aşamalarında bana her zaman yardımcı ve destek olan, yol gösteren Arş. Gör. Dr. Selin ACAR ŞAHAN'a,

Her zaman benim yanımda olan, beni motive edip hep destekleyen ve bugünlere gelmemi sağlayan sevgili aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Biyokimyager Nilay KAYA

İÇİNDEKİLER

TABLOLAR DİZİNİ ..... **i**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ii**
GRAFİKLER DİZİNİ ..... **iii**
SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **iv**
ÖZET ..... **vii**
ABSTRACT ..... **ix**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **4**
2.1. Ereksiyon Fizyolojisi 4
2.2. Erektil Disfonksiyon 5
2.3. Priapizm 5
2.3.1. İskemik Priapizm 6
2.3.1. 1. Risk Faktörleri ve Etiyolojisi 6
2.3.1. 2. İskemik Priapizmin Patofizyolojisi 7
2.4. İskemi ve Reperfüzyon Hasarı 9
2.4.1. İskemi-Reperfüzyon Hasarında HIF-1α 12
2.5. Hidrojen Sülfür 13
2.5.1. Hidrojen Sülfürün Kimyasal Yapısı ve Sentezi 13
2.5.2 Hidrojen Sülfürün Sinyal Mekanizmaları 16
2.5.3. Hidrojen Sülfürün Metabolizması 16
2.5.4. Hidrojen Sülfürün Fizyolojik Etkileri 17
2.5.5. Hidrojen Sülfür ve İskemi/Reperfüzyon Hasarı 20
3. GEREÇ VE YÖNTEM **21**
3.1. Araştırmanın Tipi 21
3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı 21
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları 22
3.4. Çalışma Materyali 22
3.5. Araştırmanın Değişkenleri 22
3.6. Veri Toplama Araçları 22
3.6.1. Çalışmada Kullanılacak Olan Hayvanlar ve Çalışma Grupları 22
3.6.1.1. Priapizm Modelinin Oluşturulması 24
3.6.2. H_2S Ölçümü 26

3.6.3. Histopatolojik İncelemeler 27
3.6.3.1. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü ve Değerlendirilmesi 27
3.6.3.2. Masson Trikrom Boyama Protokolü ve Değerlendirilmesi 28
3.6.3.3. Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1 Ölçümü 28
3.6.4. Çalışmada Kullanılan Araç, Gereç ve Kimyasallar 30
3.7. Verilerin Değerlendirilmesi 32
3.8. Araştırmanın Sınırlılıkları 33
3.9. Etik Kurul Onayı 33
4. BULGULAR 34
4.1. Hayvan Ağırlıkları 34
4.2. Hidrojen Sülfür Düzeyleri 34
4.3. Histolojik Değerlendirmeler 35
4.4. Hipoksi ile İndüklenen Faktör -1 Alfa Düzeyleri 42
5. TARTIŞMA 44
6. SONUÇ ve ÖNERİLER 48
7. KAYNAKLAR 49
8. EKLER 58
EK 1. ETİK KURUL ONAYI **58**
KATKI 60
ÖZGEÇMİŞ 62

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Araştırmanın planı ve takvimi..... 21
Tablo 2. Çalışmada kullanılan cihazlar ve üretici firmaları 30
Tablo 3. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler ve kimyasallar..... 31

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Hidrojen sülfürün enzimatik ve enzimatik olmayan sentezi..... 15
Şekil 2. Hidrojen sülfürün fizyolojik etkileri..... 17
Şekil 3. Çalışma protokolü..... 23
Şekil 4. Ereksiyon ve priapizm modelinin oluşturulması..... 24
Şekil 5. Reperfüzyon öncesi NaHS intraperitoneal enjeksiyonu..... 25
Şekil 6. Reperfüzyon aşaması..... 25
Şekil 7. Gruplara ait penis dokusunun ışık mikroskobundaki görüntüsü..... 40
Şekil 8. Gruplara ait penis dokusunun Masson trikrom boyaması ışık mikroskobundaki görüntüsü..... 41
Şekil 9. Gruplara ait penis dokusunun HIF-1α immunohistokimyasal boyaması ışık mikroskobundaki görüntüsü..... 43

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. L-Sistein ile indüklenen gruplarda hidrojen sülfür düzeyleri 35
Grafik 2. Penil dokudaki vazokonjesyon düzeyleri 36
Grafik 3. Penil dokudaki inflamasyon düzeyleri 37
Grafik 4. Penil dokudaki ödem düzeyleri 38
Grafik 5. Penil dokudaki kolajen düzeyleri 39
Grafik 6. Penil dokudaki hipoksi ile indüklenen faktör-1 alfa düzeyleri 42

SİMGELER VE KISALTMALAR

3-MP	3-Merkaptopirüvat
3-MST	3-Merkaptopirüvat Sülfür Transferaz
α-KG	Alfa Ketoglutarat
ADT	Anetol Tritiyon
Akt	Protein Kinaz B
AMP	Adenozin Monofosfat
ARNT	Aril Hidrokarbon Reseptörü Nükleer Translokatör
ATP	Adenozin Trifosfat
BCA	Bikinkoninik Asit
CBS	Sistatyonin Beta Sentaz
cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
CO	Karbon Monoksit
CSE	Sistatyonin Gama Liyaz
DAS	Dialil Sülfür
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ED	Erektil Disfonksiyon
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ENT	Denge Nükleotit Taşıyıcısı
G6PD	Glukoz-6 Fosfat Dehidrogenaz
GLUT	Glukoz Taşıyıcı
GPCR	G-Protein Bağlı Reseptör
GSH	Glutatyon

GTP	Guanozin Trifosfat
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
H_2S	Hidrojen Sülfür
HIF-1α	Hipoksiyle İndüklenen Faktör-1 Alfa
HO	Hem Oksijenaz
I/R	İskemi/Reperfüzyon Hasarı
ICAM-1	Hücre İçi Adezyon Molekülü-1
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
i.p	İntraperitoneal
KK	Korpus Kavernozum
MAPK	Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinaz
MBA	Metilen Mavisi Deneyi
MIRI	Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı
Na_2S	Sodyum Sülfür
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NaHS	Sodyum Hidrosülfid
NF-kB	Nükleer Faktör Kappa B
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
NOX	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat Oksidaz
Nrf-1	Nükleer Solunum Faktörü

Nrf-2	Nükleer NFE2 İlişkili Faktör-2
PBS	Fosfat Tamponlu Salin
PDE-5	Fosfodiesteraz-5
PI3K	Fosfoinositid 3-Kinaz
PKB	Protein Kinaz B
PPB	Potasyum Fosfat Tamponu
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RTK	Reseptör Tirozin Kinaz
SCD	Orak Hücreli Anemi Hastalığı
sGC	Çözünür Guanilat Siklaz
TGF-β1	Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta-1
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

İSKEMİK PRİAPİZMDE HİDROJEN SÜLFÜRÜN ROLÜ

Yüksek Lisans Tezi

Nilay KAYA

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Cinsel uyarı olmaksızın dört saatten uzun süren kalıcı ve ağrılı bir ereksiyon olarak tanımlanan priapizmin dünyada görülme sıklığı giderek artmaktadır. Tedavi edilmezse önemli penil hasara ve kalıcı olarak erektil disfonksiyona (ED) neden olur. Hidrojen sülfürün (H_2S) birçok dokuda, serbest radikal kaynaklı stresi azaltarak, mitokondriyal işlevi teşvik ederek, vaskülarizasyon yollarını aktive ederek ve apoptozu azaltarak iskemi-reperfüzyon (I/R) hasarını önlediği bilinmekte, ancak penil dokudaki etkisi bilinmemektedir. Bu proje ile iskemik priapizmde H_2S'nin etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yetişkin Wistar erkek sıçanlarda anestezi altında vakum yöntemi ile iskemik priapizm modeli oluşturuldu. Sağlıklı, priapizm, reperfüzyon ve ardından priapizm grubundaki ve reperfüzyon öncesi H_2S donörü sodyum hidrosülfid (NaHS) (75 μmol/kg, intraperitoneal) uygulanan gruptaki sıçanların penil dokularında H_2S ve hipoksiyle indüklenen faktör 1-alfa (HIF-1α) ölçümleri ve histopatolojik değerlendirmeler yapıldı.

Elde edilen bulgulara göre, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, priapizm grubunda H_2S seviyeleri azalırken ($p=0.04$) HIF-1α düzeyi arttı ($p<0.0001$). Ayrıca priapizm grubunda penil dokuda ödem, inflamasyon, deskuamasyon, vazokonjesyon ve kolajen düzeyinde artış gözlendi. Bu bulgular priapizmi takiben reperfüzyon yapılan grupta da benzerdi. Reperfüzyon öncesi NaHS uygulanmasına bağlı olarak H_2S düzeyinde anlamlı bir artış görülürken ($p<0,001$), HIF-1α düzeyi azaldı ($p<0,0001$). NaHS koruyucu etki göstererek priapizm ve priapizm sonrası reperfüzyon gruplarında devam eden deskuamasyon, vazokonjesyon ve kolajen düzeyinde artışı önledi.

Bu bulgulara dayanarak, H_2S'nin priapizme bağlı hipoksi ve sonrasındaki reperfüzyon dönemlerinde terapötik rolü olabileceği gözlemlenmiştir. Bu çalışma ile H_2S-iskemik priapizm arasındaki ilişki ilk kez araştırılmıştır. H_2S'nin regülasyonunun iskemik priapizm hastalarında doku hasarını önleyici ve ED gelişiminde profilaktik etkisi olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: hidrojen sülfür, hipoksiyle indüklenen faktör 1 alfa, iskemik priapizm, penil doku
Tezin sayfa adedi: 80
Danışman: Prof. Dr. Nergiz DURMUŞ SÜTPİDELER

THE ROLE OF HYDROGEN SULFIDE IN ISCHEMIC PRIAPISM

Master Thesis

Nilay KAYA

DOKUZ EYLUL UNIVERSITY HEALTH SCIENCE INSTITUTE

Department of Medical Pharmacology

ABSTRACT

Priapism, which is defined as a persistent and painful erection lasting longer than four hours without sexual stimulation, is increasing in prevalence worldwide. If left untreated, it causes significant penile damage and permanent erectile dysfunction (ED). Hydrogen sulfide (H_2S) is known to prevent ischemia-reperfusion (I/R) injury in many tissues by reducing free radical-induced stress, promoting mitochondrial function, activating vascularization pathways, and reducing apoptosis, but its effect on penile tissue is unknown. With this project, it was aimed to evaluate the efficacy of H_2S in ischemic priapism.

An ischemic priapism model was created by vacuum method under anesthesia in adult Wistar male rats. H_2S and hypoxia-induced factor 1-alpha (HIF-1α) measurements and histopathological evaluations were made in the penile tissues of rats in the healthy, priapism, reperfusion and then priapism group, and in the rats in the group treated with H_2S donor sodium hydrosulfide (NaHS) (75 μmol/kg, intraperitoneally) before reperfusion.

According to the findings, H_2S levels decreased ($p=0.04$) while HIF-1α levels increased ($p<0.0001$) in the priapism group compared to the control group. In addition, penile edema, inflammation, desquamation, vasocongestion and increased collagen levels were observed in the priapism group. These findings were similar in the group that underwent reperfusion following priapism. While a significant increase was observed in H_2S level ($p <0.001$) due to NaHS administration before reperfusion, HIF-1α level decreased ($p<0.0001$). NaHS showed a protective effect and prevented desquamation, vasocongestion and increase in collagen levels in priapism and reperfusion following by priapism groups.

Based on these findings, it has been observed that H_2S may have a therapeutic role in hypoxia and subsequent reperfusion periods due to priapism. In this study, the relationship between H_2S-ischemic priapism was investigated for the first time. It is thought that the regulation of H_2S may prevent tissue damage in patients with ischemic priapism and have a prophylactic effect in the development of ED.

Keywords: hydrogen sulfide, hypoxia induced factor 1-alpha, ischemic priapism, penile tissue

Page number: 80

Advisor: Prof. Dr. Nergiz DURMUŞ SÜTPİDELER

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Priapizm, cinsel uyarı olmaksızın dört saatten uzun süren kalıcı ve ağrılı bir ereksiyon olarak tanımlanır ve genellikle acil müdahale gerektirir (1). Üç çeşit priapizm vardır: iskemik olmayan priapizm (arteriyel, yüksek akışlı), tekrarlayan priapizm (aralıklı) ve iskemik priapizm (veno-oklüsiv, düşük akışlı) (2). Arteriyel yüksek akımlı priapizmin en sık nedeni künt perineal veya penil travmadır. Tekrarlayan priapizm ile ilgili çok fazla epidemiyolojik çalışma bulunmamakla birlikte orak hücreli anemi (SCD) hastalığı olan erkeklerde tekrarlayan priapizm atakları yaygındır (%42-64). SCD hastalığının yanı sıra, nörolojik bir bozukluğa bağlı idiyopatik olarak da oluşabilmektedir. Ergenlerde ve genç erkeklerde priapizm insidansı %35 iken, bunların %72'si tekrarlayan priapizm öyküsüne sahiptir. Bunlara alternatif olarak son zamanlarda yapılan çeşitli çalışmalarda inflamasyon, hücresel adezyon, nitrik oksit (NO) metabolizması, vasküler reaktivite ve koagülasyon gibi alternatif mekanizmalarda bildirilmektedir. Tekrarlayan priapizm, düşük akışlı olması, iskemik olması ve tedavi edilmezse önemli penil hasara neden olması ve yaygın olarak SCD hastalığına bağlı oluşması nedeniyle iskemik priapizme benzer. İskemik priapizm, tüm priapizm ataklarının %95'inden fazlasını oluşturan en yaygın priapizm biçimidir (3). Patofizyolojik açıdan vakaların çoğunda spesifik bir neden belirlenememekle birlikte iskemik priapizm, SCD hastalığının yanı sıra hematolojik diskraziler, neoplastik sendromlar ve ilaç kullanımıyla ilişkilendirilmektedir (1). Genellikle ağrılıdır, klinik olarak intrakavernöz arteriyel girişin olmaması veya azalması ile karakterize sert bir ereksiyondur. Korporal fibroz doku oluşumu ve kalıcı erektil disfonksiyon (ED) gibi geri dönüşü olmayan sonuçları en aza indirmek için acil tıbbi müdahale gereklidir (4, 5). İskemi süresi önem taşımakta, dört-altı saati aşarsa, geri dönüşü olmayan vücut dokusu nekrozu ve fibrotik doku oluşumu meydana gelebilmektedir (5). SCD hastalarında, tekrarlayan iskemik priapizm sonrası %33.3'ü fosfodiesteraz 5 (PDE-5) inhibitörlerine yanıt vermeyecek şiddette olmak üzere, %46.6'sında ED meydana gelebilmektedir (6).

İskemik organın belli bir süre oksijensiz kalması, doku hasarına veya dokuda nekroza yol açar. Kan akışının yeniden sağlanmasına reperfüzyon denir ve iskeminin sebep olduğu hasarın artmasına yol açar. Bu durum genellikle I/R hasarı olarak adlandırılmaktadır. I/R hasarına aracılık eden mekanizmalar arasında kompleman sisteminin aktivasyonu ve endoplazmik retikulum stresi, aşırı kalsiyum yüklenmesi, oksidatif fosforilasyonun azalması, serbest radikal konsantrasyonunun artması, endotel disfonksiyonu ve apoptoz, nekroz veya otofaji sinyal yollarının aktivasyonu gibi birçok patofizyolojik mekanizma bulunmaktadır. Reperfüzyon döneminde NO, karbon monoksit (CO) ve H_2S gibi gazotransmitterlerin önemli rol oynadığı gösterilmiştir (7). H_2S'nin endojen modülasyonunun ve eksojen uygulamasının I/R'de, çeşitli sinyal mekanizmaları aracılığıyla kalp, beyin, karaciğer, böbrek ve akciğerler gibi organ sistemlerinde sitoprotektif olduğu gösterilmiştir. H_2S fizyolojik seviyelerde eksojen ve endojen olarak manipüle edildiğinde, vazodilatasyonu indükleyerek, apoptozu inhibe ederek, mitokondriyal solunumu modüle ederek sitoprotektif etki oluşturup I/R hasarını modüle etmektedir (8). İskemik koşullarda vasküler yapıda H_2S'nin sentezi artmaktadır (9). Diyabetik erkek farelerde oluşturulan iskemi modelinde gastroknemius kasında vasküler yapının incelendiği bir çalışmada H_2S'ün arttığı ve NO ile arasında bir etkileşim (crosstalk) olduğu ortaya konmuştur. Bu çalışmada H_2S'nin NO yıkımını önleyerek NO artışına neden olduğu, böylece NO'ya bağlı olarak iskemik vasküler yeniden şekillenmede rol oynayan HIF-1α ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ekspresyonunu ve aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (10).

Ereksiyon fizyolojisinde NO-siklik guanozin monofosfat (NO-cGMP) yolağı ana yolak olarak kabul edilmektedir. ED' ye neden olan birçok patofizyolojik durumda bu yolaktaki etkinliğin azalması söz konusudur. NO'nun yanı sıra penis dokusunda diğer bir gazotransmitter H_2S'nin endojen üretimi ve bunun korpus kavernozumun (KK) gevşemesindeki ve ED' deki rolü (11, 12) ve ayrıca penis dokularında H_2S üreten sistatyonin beta sentaz (CBS), sistatyonin gama liyaz (CSE) ve 3-merkaptopirüvat sülfür transferaz (3-MST) enzimlerinin tamamının kanıtlanmış lokalizasyonu (13-15) H_2S'yi ED'yi önlemede veya tedavi etmede terapötik bir hedef olarak ön plana çıkarmaktadır. Ayrıca penil dokuda NO yanıtlarının azaldığı durumlarda H_2S'nin kompensatuvar etkisi H_2S'nin önemini arttırmaktadır (16). ED'ye neden olduğu

bilinen tekrarlayan iskemik priapizm patofizyolojisinin moleküler mekanizmalarını inceleyen çalışmalara bakıldığında, NO/cGMP sinyal yolunun disfonksiyonu iskemik priapizmin birincil moleküler mekanizması olarak düşünülmektedir. Endotelyal NO üretimi ve biyoyararlanımındaki kronik azalma, cGMP üretiminde bir azalmaya ve dolayısıyla cGMP-bağımlı PDE-5 transkripsiyon, ekspresyon ve aktivitesinde bir azalmaya yol açar. Cinsel aktivite veya uyku ile ortaya çıkabilen nörolojik olarak başlatılan, erektojenik stimülasyon ile cGMP, kavernozal gevşemeyi desteklemek için birikir. Bununla birlikte, azalan bazal PDE-5 seviyeleri nedeniyle, ereksiyonun normal düzenleyici mekanizması yetersizdir ve bu da priapizme neden olur. NO'nun yanı sıra azalmış Rho/Rho kinaz aktivitesi, adenozinerjik etkinlik ve oksidatif stres artışı da sorumlu mekanizmalar arasında gösterilmektedir (17). Reperfüzyon döneminin ise penil dokuda reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışına neden olarak patofizyolojik bir süreç başlatabileceği çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (18). İskemik priapizmle ile ilgili yapılan birçok deneysel çalışma antioksidan tedavinin etkin olabileceğini bildirmektedir (19-21). Priapizmin en yaygın görüldüğü SCD'li hastalarda (22, 23) ve transgenik olarak SCD oluşturulmuş farelerde (24) ve suni olarak venooklüziv düşük akımlı priapizmde (25) CO sentezinden sorumlu hem oksijenaz-1 (HO-1) enzim ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (26). Artan CO'nun etkilediği bildirilen transmiterlerden biri de endotelindir. CO'nun potent vazokonstriktör, endotelin-1'in, aktivitesini engellediği bildirilmiştir (27). Tavşan korpus kavernozum dokusu ve insan penil doku hücre kültüründe in vitro yirmi dört saatlik hipoksi sonrası kavernozal dokuda endotelin B duyarlılığının yükseldiği ve Endotelin-1'e bağlı kontraktilitenin azaldığını bildirmişlerdir (28). Sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada, priapizme bağlı seçici olmayan endotelin reseptör blokeri olan bosentanın artan dozlarda, kavernozal düz kas kasılmasını arttırdığı bulunmuştur (29). SCD modeli oluşturulmuş farelerde yapılan bir çalışmada ise azalan PDE-5 gen ekspresyonunun değişen HIF-1 düzeyleriyle ilişkili olabileceği bildirilmektedir (30). Ayrıca yakın zamanda toksine bağlı gelişen priapizmde denervasyon yapıldığı halde devam eden priapizm mekanizmasında H_2S'nin rol alabileceği hipotez edilmiş ancak priapizm gelişen dokularda H_2S'nin düzeyi henüz araştırılmamıştır (31).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ereksiyon Fizyolojisi

Penil ereksiyon, hedef organdaki sinirlerin, sinüzoidlerin endotelindeki kan damarlarının ve düz kas hücrelerinin de dahil olduğu karmaşık bir nörovasküler sürecin sonucudur. Ereksiyona temel olarak, merkezi ve periferik nöral veya humoral mekanizmaları içeren bir spinal refleks aracılık eder. Birçok merkezi sinir ve periferik transmitterler bu sürece katılır. Bununla birlikte, kasıcı ve gevşetici faktörler arasındaki denge, penisteki damar sisteminin ve KK düz kasının tonus derecesini kontrol eder. Penil dokunun fizyolojik evreleri temel olarak: detümesans ve ereksiyon olmak üzere ikiye ayrılır (32).

Ereksiyon ve detümesans süreci birkaç farklı aşamaya bölünmüştür. Faz sıfırda penis normal yani flask halinde, sempatik sinir sisteminin baskın etkisi altındadır. Terminal arteriyoller ve kavernozal düz kaslar kasılıdır. Kavernöz arterden kan akışı minimum derecededir ve bu kan akışı beslenme amaçlıdır. Faz bir latent (doldurma) fazıdır. Faz birde sistemik kan basıncında herhangi bir değişiklik olmadan internal pudental ve kavernöz arterlerde kan akışında artış olur. Kavernozal ve helisin arterlerin dilatasyonu nedeniyle periferik direnç azalır. Penis uzar ancak intrakavernöz basınç değişmez. Bu fazda parasempatik sinir aktivitesi daha baskındır. Faz iki, şişme fazıdır. Bu aşamada intrakavernöz basınç hızla artar. Faz üç, tam ereksiyon aşamasıdır. Faz dört, rijid ereksiyon aşamasıdır. İntrakavernöz basınç, iskiyokarvernöz ve bulbokavernöz kaslarının istemli veya refleks olarak kasılmasının bir sonucu olarak sistolik basıncın oldukça üzerine çıkar. Bu rijid bir ereksiyon ile sonuçlanır. Bu aşamada kavernöz arterden akış yoktur. Faz beş geçiş aşamasıdır. Sempatik sinir sisteminde artan aktivite, helisin arterlerde tonusta artışa ve trabeküler düz kasın kasılmasına yol açar. Faz altı, ilk detümesans aşamasıdır. İntrakavernöz basınçta orta derecede bir düşüş vardır, bu da venöz çıkış kanallarının yeniden açıldığını ve arteriyel akışın azaldığını gösterir. Faz yedi, hızlı detümesans fazıdır. İntrakavernöz basınç hızla düşer, venoklüzif mekanizma inaktive olur (33).

2.2. Erektil Disfonksiyon

Erektil disfonksiyon, yaşam kalitesini etkileyen yaygın bir hastalıktır. ED, 60 yaş üstü erkeklerin yarısından fazlasında yaygındır ve tatmin edici bir cinsel performans sağlamak için yeterli penil ereksiyonun sağlanamaması ve sürdürülememesi (en az altı ay) olarak tanımlanır (34). ED olan erkek sayısı 2025 yılına kadar yaklaşık 322 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (35). Türkiye'de ED medyan prevalansı, 40 yaşından büyük erkeklerde %33 olarak hesaplanmıştır (36). ED, vasküler ve nöral süreçlerin karmaşık etkileşimine bağlıdır ve bu nedenle, ereksiyona katkıda bulunan nöral veya vasküler yolları bozan herhangi bir süreçten kaynaklanabilir (37).

Etiyoloji, organik nedenler, psikojenik nedenler veya her ikisi olarak gruplandırılabilir. Vasküler, endotelyal, miyojenik, nörolojik, iyatrojenik, lokal yapısal veya endokrin bozukluklar gibi organik nedenlerin tümü ED'ye neden olabilir. Vasküler nedenler, iktidarsızlığa neden olan vasküler bozukluklar (arteriyel ve venojenik iktidarsızlık), Peyronie hastalığı ve priapizm şeklinde gruplandırılabilir (38).

2.3. Priapizm

Priapizm, dört saatten uzun süren, cinsel ilgi veya uyarı ile ilişkili olmayan, uzun süreli ve kalıcı penil ereksiyon olarak tanımlanır (39). Priapizm, cinsel ilgi veya uyarılma ile ilgili olmayan bir penis ereksiyon bozukluğunu temsil eden patolojik bir durumdur. Priapizm her yaşta ortaya çıkabilir (3). Peniste yapısal hasar ve kalıcı ED riskleri ile ilişkili bir ereksiyon fizyolojisi bozukluğu oluşturur. Priapizm iskemik priapizm, iskemik olmayan priapizm ve tekrarlayan priapizm olmak üzere üç ana kategoriye ayrılmıştır (40).

2.3.1. İskemik Priapizm

İskemik priapizm (veno-okluzif, düşük akışlı), kavernöz kan akışının çok az olması veya hiç olmaması ve anormal kavernöz kan gazları (örn., hipoksik, hiperkarbik, asidotik) ile karakterize, cinsel olmayan, kalıcı bir ereksiyondur (41). İskemik priapizm, priapizmin en yaygın alt tipidir ve bildirilen tüm priapizm türlerinin %95'inden fazlasını oluşturur (3). İskemik priapizm tıbbi bir acil durumdur. Hızlı ve tam detümesansın sağlanamaması tipik olarak kavernöz tromboz ve düz kas nekrozu ile sonuçlanır. İskemi süresi önem taşımakta, dört-altı saati aşarsa, geri dönüşü olmayan vücut dokusu nekrozu ve fibrotik doku oluşumu meydana gelebilmektedir (5). İskemik priapizmin doğal seyrinde günler ya da haftalarca süren penil ereksiyon ED'ye sebep olabilir (42).

2.3.1.1. Risk Faktörleri ve Etiyolojisi

Reçeteli ve rekreasyonel (keyif verici) ilaçlar, iskemik priapizmlerin %30-40'ı ile ilişkilidir. ED tedavisi için intrakavernozal enjeksiyonlar ilaca bağlı priapizmin en yaygın nedeni haline gelmiştir. Çok nadiren, PDE-5 inhibitörleri iskemik priapizm vakalarıyla ilişkilendirilmiştir. Psikotrop ilaçlar da priapizme neden olabilmektedir. Trazodon, priapizm ile ilişkili en yaygın oral ilaçtır. Benign prostat hiperplazisi veya kan basıncı kontrolü için kullanılan alfa-blokerler, fizyolojik detümesansı önleyerek veya kavernöz düz kasın doğrudan gevşemesini sağlayarak priapizme neden olabilmektedirler. Androjen replasman tedavisi, kavernozal arteri ve düz kas gevşemesini artıran nitrik oksit sentazın (NOS) testosteron kaynaklı yukarı regülasyonu priapizme neden olabilmektedir. Metilfenidat ve atomoksetin, dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğunu tedavi etmek için kullanılır ve nadir olarak priapizme neden olabilmektedir. Mekanizması bilinmemekle birlikte dopaminerjik etkilerden kaynaklandığı öne sürülmektedir (43).

Hematolojik bozukluklar, özellikle hemoglobinopatiler, pediatrik priapizmin en yaygın nedenidir. SCD hastalığı kaynaklı priapizm prevalansının %14-48 olduğu tahmin edilmektedir. SCD kaynaklı priapizm olaylarının çoğu gece ereksiyonları sırasında başlar. Gece ereksiyonları sırasında düşük oksijen geriliminin ve azalan vücut pH'ının, venöz çıkışı ve detümesansı önleyen orak eritrositleri indüklediği öne

sürülmüştür. Ek olarak, azalan PDE-5'e yol açan NO sinyal yolunun SCD kaynaklı düzensizliği de dahil olmak üzere çok sayıda karmaşık moleküler mekanizma incelenmiştir. Talasemi, trombositoz ve lösemi gibi diğer hemoglobinopatiler ve hiperviskoz durumlar priapizm ile ilişkilendirilmiştir.

Nefrotik sendrom, sistemik lupus eritematozus, amiloidoz, glukoz-6-fosfatdehidrogenaz (G6PD) eksikliği ve Fabry hastalığı gibi metabolik bozukluklar nadiren priapizm ile ilişkilendirilmiştir. En olası mekanizma, venöz obstrüksiyon ve NO yolu düzensizliğidir. Malign priapizm, en yaygın olarak prostat (%33), mesane (%30), rektosigmoid kolon (%14), böbrek (%8), testis (%3) veya akciğerden (%2) kaynaklanan metastatik kanserle ilişkili nadir bir durumdur. Kötü huylu tümörlerin priapizme yol açabilme mekanizması, muhtemelen venöz drenajın tıkanması veya sinüzoidlerin kısmen yer değiştirmesi, staz ve trombozu teşvik etmesidir (43).

2.3.1.2. İskemik Priapizmin Patofizyolojisi

İskemik priapizm, hipoksi, hiperkapni ve asidoz ile karakterize edilen bir penil kompartman sendromuna yol açan vazokonstriktif ve vazorelaksan mekanizmaların dengesizliğinden kaynaklanır. Korporal düz kasın bu koşullara uzun süreli maruziyeti, erektil dokuda nekroz ve korporal fibroz şeklinde geri dönüşümsüz hasara neden olur (43). Hipoksi, endotel hücrelerini aktive ederek artan nötrofil adezyonu, azalan mitokondriyal solunum zinciri aktivitesi ve artan hücre içi kalsiyum ile karakterize edilen bir dizi reaksiyona yol açar (43).

Serbest oksijen radikallerinin endojen temizleyicileri iskemi sırasında azalır ve bu da antioksidan etkinin azalmasına neden olur. Azalmış mitokondriyal aerobik metabolizma, ROS üretimi ile sonuçlanır. Artan adenozin trifosfat (ATP) hidrolizi, başka bir ROS kaynağı olan ürik aside dönüştürülen hipoksantin birikimine neden olur. NO yolu, peroksinitrit ve hidroksil serbest radikalleri üretir. Lipid peroksidasyonu ve vaskülatürün nötrofillerle infiltrasyonu, I/R'ye yanıt olarak salınan oksijensiz radikaller (hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri, hipokloröz anyonlar) üretir (43).

Priapizmin hipoksi aşamasında ereksiyonda en önemli ve etkili mekanizma olan NO-cGMP yolağı etkilenmektedir. Ereksiyonda bu yolağın aktivasyonu asetilkolinin endotelyal hücreleri ve sinir hücrelerini, kavernöz düz kasın gevşemesini sağlayan NOS'u uyarması ile başlar. NOS üç biçimde bulunur: nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS), endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) ve bağışıklık hücreleri ve makrofajlar tarafından salınan indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS). KK'da NOS enziminin her üç tipi de mevcut olmasına rağmen, ereksiyonun başlatılmasından nNOS, sürdürülmesinden ise eNOS sorumludur. Sentezlenen NO düz kas hücrelerinin içine difüze olur ve çözünür guanilat siklazı (sGC) aktive eder. sGC, ereksiyon sırasında NO ve cGMP arasında bir bağlantı görevi görerek guanozin trifosfattan (GTP) cGMP oluşturur. Ortaya çıkan cGMP, bir yandan kalsiyumu endoplazmik retikulumda tutan ve diğer yandan voltaja bağlı kalsiyum kanallarını inhibe eden spesifik protein kinaz G ile bir kompleks oluşturur. Ayrıca cGMP, aracılı potasyum kanallarını açılması membran hiperpolarizasyonu oluşturur. Hücre içi kalsiyumun azalması, miyozin hafif zincir kinazın inhibe edilmesi, aktin üzerindeki miyozin köprülerini ayırır ve düz kas gevşemesiyle penil doku tümesans durumuna geçer (44).

Priapizmde etkilenen bir diğer gevşetici mekanizmada adenozin aracılı yanıttır. Adenozin, birçok metabolik olayda aktif olan ATP'den sentezlenen bir moleküldür. Özellikle oksijenin yetersiz olduğu hipoksi durumunda, artan oksijen ihtiyacına karşı bir savunma mekanizması olarak vasküler dokuyu kasarak ya da gevşeterek olumlu etkisini gösterir. Bu nedenle, adenozinin priapizmde de etkili olabileceği bildirilmiştir. Hipoksik ortamlarda, artan oksijen ihtiyacı nedeniyle hücre dışı ortamda ATP'den CD39 ve CD74 enzimleri ve adenozin üretilir. Ayrıca hücrelerde adenozin, sitokrom 5'-nükleotidazın katalizi altında adenozin monofosfattan (AMP) sentezlenir. Hücre içi ve hücre dışı adenozin seviyeleri, denge nükleotit taşıyıcısı (ENT) ile dengelenir. Adenozin sentezindeki artışın veya iskemiye bağlı yıkımındaki azalmanın priapizm patofizyolojisinde olası bir faktör olabileceği bildirilmiştir. İskemik priapizmde hipoksik ortamda uzun süreli ereksiyonun devamlılığını sağlayan lokal adenozin düzeylerinin arttığı saptanmıştır (44).

Priapizmde rol oynayan diğer bir yolak ise HO1-CO yolağıdır. Hem proteinleri, demir ve protoporfirin-IX komplekslerinden oluşan ve canlı hücrelerde çok önemli işlevlere sahip olan hem proteinlerinin yapısında yer alır. Başlıca hem proteinleri; oksijen taşınmasında rol oynayan hemoglobin, oksijen metabolizmasında rol oynayan oksidaz, peroksidaz, katalaz ve elektron transferinde rol oynayan sitokromlardır. Hem proteini, endotel ve düz kasta hemoksijenaz (HO) enzimi tarafından parçalanır. Hem oksijenazın HO1, HO2 ve HO3 olmak üzere üç alt tipi vardır ve HO1 insan vücudundaki en önemli alt tiptir. Hipoksi, stres ve ROS varlığında HO1 seviyeleri yükselir ve HO1 hem proteinini parçalayarak CO, demir 2 Fe (II) ve biliverdin oluşumuna neden olur. Oluşan CO, belirli hücresel fonksiyonları düzenleyen NO benzeri bir gaz formundaki taşıyıcı moleküldür. Ancak CO, NO'ya kıyasla çok kısa bir yarı ömre sahiptir (44).

2.4. İskemi ve Reperfüzyon Hasarı

Dokularda kanlanma olmaması sonucu hipoksi ve mitokondride elektron taşıma zincirinde işlev bozukluğu oluşur. Bunun sonucunda ATP üretiminin azalmasına bağlı olarak anaerobik metabolizmaya geçiş olur (45).

Anaerobik metabolizma, hücrelerde daha düşük seviyede ATP ve antioksidan maddeler üretimiyle sonuçlanır. ATP azalması laktik asidin artmasına ve metabolik asidoza yol açar. Ayrıca hücre yüzeyindeki iyon pompalarının (Na+-K+-ATPaz , Ca^{2+}-ATPaz pompaları) fonksiyonlarının bozulmasına neden olur. Na+-K+-ATPaz pompasının bozulması hücre içinde sodyumun ve hücre dışında potasyumun tutulmasına neden olur. Hücrelerde sodyumun seviyesi artınca, sodyum-hidrojen değiştirici pompaların ve endoplazmik retikulumdaki kalsiyum pompalarını işlevsiz hale gelir. Hücrelerde hidrojen, sodyum ve kalsiyum iyonlarının birikmesi hiperozmolariteye ve turgora neden olur. Hidrojenin tutulması, pH'ın düşmesine neden olarak enzim aktivitesinin bozulmasına yol açar. Ribozomların ayrılması sonucunda da protein sentezi azalır (45).

Reperfüzyon aşamasında iskemik dokuya yeniden kan akışının sağlanması, sonucu oksijen artar. Buna paralel olarak, iskemik hücrelerde daha düşük antioksidatif ajan konsantrasyonu nedeniyle ROS oluşumu artar. Reaktif oksijen türleri, endotel disfonksiyonunu, deoksiribonükleik asit (DNA) hasarını ve lokal inflamatuar yanıtları destekleyen oksidatif strese neden olur. Enflamatuvar kaskadlar ve oksidatif stres daha sonra bir sitokin fırtınasına neden olabilir ve bu da hücre ölümüyle sonuçlanır (45). Reperfüzyon aşaması dinamiktir ve birkaç gün devam edebilir.

Oksidatif stres, enzimatik kaynaklardan ve enzimatik olmayan kaynaklardan üretilebilir. Yaygın enzimatik kaynaklar arasında ksantin oksidaz sistemi, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz sistemi, mitokondriyal elektron taşıma zinciri ve bağlanmamış NOS sistemi bulunur. Ksantin oksidaz sistemi, NADPH oksidaz sistemi ve mitokondriyal elektron taşıma zinciri, bağırsak, akciğer, kalp, beyin, kas, karaciğer, pankreas, mide ve böbrek dahil olmak üzere çeşitli organlarda oksidatif stresle geniş ölçüde ilişkilidir. Nitrik oksit sentaz, karaciğer, kalp ve aort endotel hücrelerinde önemli bir oksidatif stres faktörüdür (45).

İskemik bir durumda, ksantin dehidrojenaz, daha düşük ATP seviyesi nedeniyle ksantin oksidoredüktaza kaydırılır. Kan akışı iskemik dokuya geri getirildiğinde, ksantin oksidaz oksijeni elektron alıcısı olarak kullanarak ksantin ve ürik asit oluşturmak üzere hipoksantini indüklemek için O_2 ile reaksiyona girer. Ksantin ve ürik asit oluşumu sırasında süperoksit ve hidrojen peroksit (H_2O_2) açığa çıkarak daha fazla oksidatif strese neden olur. Ksantin oksidoredüktaz tarafından üretilen ROS, P-selektin ve hücre içi adezyon molekülü-1 (ICAM-1) gibi adezyon proteinlerinin ekspresyonu yoluyla sitokin kaskadlarına ve patolojik durumlara yol açar (46). Ksantin oksidaz, NO üretimini artıran nitrat redüktaz aktivitesi dahil olmak üzere çeşitli işlevlere sahiptir (47-49). NO üretimi, vazodilatasyonu uyararak ve enflamatuvar tepkileri inhibe ederek I/R hasarını en aza indirebilir.

Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz enzimleri (NOX), aşırı ekspresyonları ve artan aktiviteleri ile iskemi-reperfüzyon hasarında ROS üretimine dahildir. NOX enzimleri hemen O_2 üretir, bu da enzimler aracılığıyla H_2O_2'ye aktarılır. Süperoksit, anyon kanallarının gözenekleri yoluyla zardan geçerek NO bozulmasına, peroksinitrit oluşumuna ve protein tirozin nitrasyonuna yol açar (50). Hipoksi ayrıca NOX enzimlerinin aktivasyonunu teşvik etmek için HIF-1α'yı indükler (51). İskemi sonrası dokuda NOX'tan türetilen ROS çeşitli organlarda reperfüzyon hasarına yol açan inflamatuar hücre birikimine neden olabilir (52).

İskemi reperfüzyonun neden olduğu toplam doku hasarı ikiye ayrılır: iskemi hasarı ve reperfüzyon hasarı. İskemik hasar başlangıçta hipoksiye ve hiponütrisyona sebep olabilir. Uzamış iskemiden sonra, oluşan metabolik ürünler metabolik asidoza neden olur. Reperfüzyonda, lokal inflamasyon ve ROS üretimi artarak ikincil hasara yol açar (53). Uzun süren I/R sonucunda hücrelerde apoptoz, otofaji, nekroz ve nekroptoz oluşur (54, 55). Orta düzeyde I/R hasarı, otofaji yoluyla hücrede fonksiyon bozukluğuna neden olabilir. Hasar daha şiddetliyse, hücrenin ölümü apoptotik ya da nekrotik yollarla indüklenebilir (56).

Daha kısa süreli I/R hasarı, ROS üretimini ve hücre hasarını kontrol etmek için hücre hayatta kalma programlarını etkinleştirebilir (57). I/R hasarının farklı patogenez yollarına dayalı olarak farklı hücre ölüm mekanizmaları indüklenebilir.

2.4.1. İskemi-Reperfüzyon Hasarında HIF-1α

Hipoksiyle indüklenebilir faktör 1 alfa, hipoksiye adaptif yanıtlara aracılık etmede çok önemli bir role hizmet eden heterodimerik bir transkripsiyon faktörüdür (58). Oksijene duyarlı bir HIF-α alt birimi ve bir HIF-β alt biriminden oluşur. Hipoksiyle indüklenebilir faktör 1 alfa, ilk olarak 1991'de Semenza ve arkadaşları (59) tarafından tanımlanan oksijen algılama yolunda kilit bir faktördür ve memeli hücrelerinde oksijen homeostazının sürdürülmesi için özellikle önemlidir (60). Kanserde, iskemik kalp hastalığında veya kronik obstrüktif akciğer hastalığında dokunun kısmi oksijen basıncı azalır, bu da HIF-1α'nın aktivasyonu ile sonuçlanır (61). Hipoksik koşullar altında HIF-1α proteini, oksijene bağımlı ubikuitin proteazom sistemi tarafından bozulmaya uğramaz ve kararlı bir şekilde eksprese edilir. HIF-1α sitoplazmada birikir ve çekirdeğe taşınır ve daha sonra hedef gen transkripsiyonunu düzenlemek için aril hidrokarbon reseptörü nükleer translokatör (ARNT) ile bir dimer oluşturur (62).

Hipoksiyle indüklenebilir faktör 1 alfanın aktivasyonu, enerji metabolizmasını, proliferasyonu, anjiyogenezi ve vasküler yeniden şekillenmeyi değiştirerek hipoksik bir ortamda hücre yaşamını iyileştirir. HIF-α, miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarına (MIRI) karşı kardiyak koruma için gereklidir (63). Vasküler endotelyal büyüme faktörü, eritropoietin, iNOS ve glikoz taşıyıcı (GLUT) gibi aşağı akışlı hedef genin transkripsiyonunun indüksiyonu, böylece hücresel ve sistemik seviyelerde hipoksiye yanıtı düzenler (58). HIF-α, hipoksiye ek olarak, büyüme faktörleri, asetilkolin ve anjiyotensin II gibi başka faktörler tarafından da aktive edilebilir (61).

2.5. Hidrojen Sülfür

2.5.1. Hidrojen Sülfürün Kimyasal Yapısı ve Sentezi

Hidrojen sülfür, karakteristik olarak çürük yumurta kokusuna sahip, yanıcı, renksiz bir gazdır. H_2S doğal olarak volkanik gazlarda, doğal gazda ve bazı kuyu sularında bulunur. Ayrıca bazı bakteriler oksijensiz ortamda organik maddeleri parçaladığında da H_2S üretilebilir. H_2S toksik bir gazdır ve H_2S'ye yüksek miktarlarda (>500 ppm) akut maruz kalma ölüme neden olabilir (64). Son yıllarda yapılan çalışmalarla H_2S'nin memelilerdeki varlığı tespit edilmiştir. NO ve CO'dan sonra H_2S'nin üçüncü bir gazotransmitter olduğu kabul edilmiştir (65). H_2S birçok biyolojik sürecin düzenlenmesinde görev alır. Bu süreçlere örnek olarak nörotransmisyon, inflamatuvar ve immün yanıt, gastrointestinal sistem fonksiyonu ve vasküler homeostaz verilebilir. Vasküler sistemde damar tonusu, anjiyogenez, düz kas hücresi büyümesi ve apoptoz, aterosklerotik plakta lipid birikiminin düzenlenmesi gibi birçok olayda H_2S rol alır. (66).

Hidrojen Sülfürün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

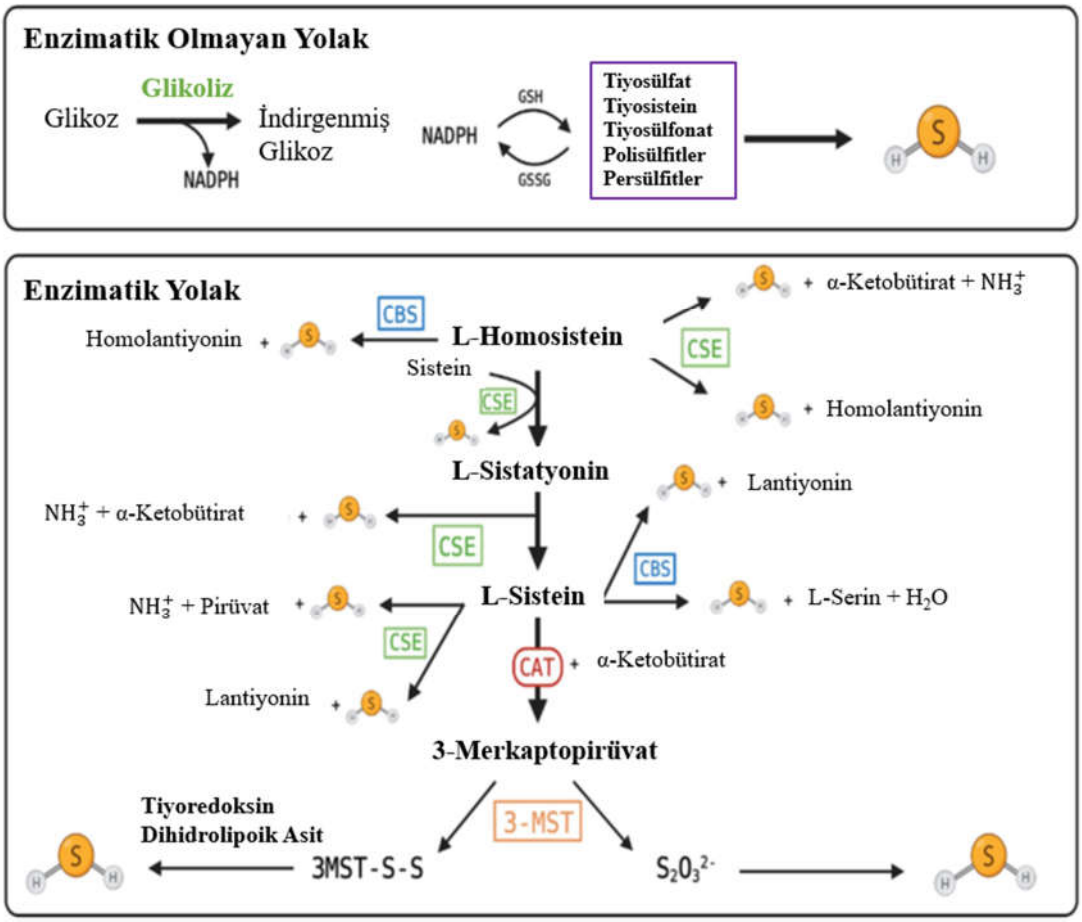
Hidrojen sülfür hem suda hem de yağlarda kolayca çözünür ve bu kolay çözünebilme yeteneği nedeniyle hücrelerde plazma zarlarını kolayca geçme özelliğine sahiptir (66). Fizyolojik koşullarda, H_2S'nin bir kısmı ayrışmamış formda bulunur. Geri kalan kısmı ise HS^- (hidrosülfit anyonu) ve H^+'ya (hidrojen katyonu) ayrışır, sülfit anyonu (S^{2-}) miktarı fizyolojik pH'ta çok düşüktür. H_2S her zaman gaz fazı ile sulu faz arasında dengededir. Zayıf bir asittir, sulu çözeltide HS^- ve S^{2-} anyonları ile dengelenir. H_2S'nin pKa_1 değerlerinin 25 °C'de 6,97 ila 7,06 ve pKa_2 değerlerinin 12,35 ila 15 arasında değiştiği bildirilmiştir (67).

Endojen Hidrojen Sülfürün Sentezi

Hidrojen sülfür üretimi, enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere iki yolla gerçekleşebilir. Enzimatik sentezi CBS, CSE ve 3-MST adı verilen bu üç enzimin aracılığıyla gerçekleşir. Bu enzimlerin, enzimin türüne bağlı olarak organa özgü olduğu bildirilmiştir. Sistatyonin beta sentaz enzimi ağırlıklı olarak beyinde, sinir sisteminde ve karaciğerde bulunur. CSE çoğunlukla damarlarda ve karaciğerde bulunur. 3-MST enzimi ise çoğunlukla beyinde ve damarlarda bulunur. Bununla birlikte, her üç enzim de birçok dokuya dağılmıştır ve sıklıkla karaciğer ve böbrekte en belirgin şekilde bulunan CBS ve CSE gibi birlikte bulunurlar. CSE ve CBS esas olarak sitozolde bulunan hem proteinler iken, 3-MST hem mitokondride hem de sitozolde bulunan çinkoya bağımlı bir proteindir (68).

Sistatyonin, serin ile homosisteinin yoğunlaşması yoluyla CBS tarafından oluşturulan, kükürt içeren birçok amino asitte yer alan kritik bir ara metabolittir. Sistatyonin gama liyaz ayrıca L-sistatiyonin ve sisteini L-sistein ve α-ketoglutarat (α-KG) oluşturmak üzere dönüştüren bir reaksiyonda yer alır. Sistatyonin gama liyaz ve CBS, sonuçta L-sistein, pirüvat ve amonyak oluşumunu içeren bir reaksiyon yoluyla H_2S üretir. 3-MST ise, 3-merkaptopirüvattan (3-MP) pirüvat oluşumunu içeren bir reaksiyon yoluyla H_2S üretir (68).

Enzimatik sentez yollarının yanı sıra, H_2S'nin endojen üretimi, enzimatik olmayan süreçler yoluyla da meydana gelebilir. H_2S'nin enzimatik olmayan üretimi glikoz, glutatyon, inorganik ve organik polisülfitler (sarımsakta bulunur) ve elementel kükürt yoluyla gerçekleşir. H_2S, glikoliz yoluyla glikozdan veya NADPH oksidaz aracılığıyla fosfoglukonattan üretilebilir. Glikoz, metiyonin, homosistein veya sistein ile reaksiyona girerek gaz halindeki kükürt bileşikleri ve H_2S üretir. H_2S ayrıca glutatyon ve elementel kükürdün doğrudan indirgenmesi yoluyla da üretilebilir. Elementel sülfürün H_2S'ye indirgenmesine, Nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) veya NADPH gibi glikoz oksidasyon yolunun eşdeğerlerinin indirgenmesi aracılık eder (68).



Şekil 1. Hidrojen sülfürün enzimatik ve enzimatik olmayan sentezi (69)

2.5.2 Hidrojen Sülfürün Sinyal Mekanizmaları

Hidrojen sülfür, birçok önemli sinyal molekülünü ve fonksiyonel proteini doğrudan hedefleme özelliğine sahiptir. Bunun sonucu olarak, birçok hücresel süreçte ve fonksiyonda anahtar rol oynar (70).

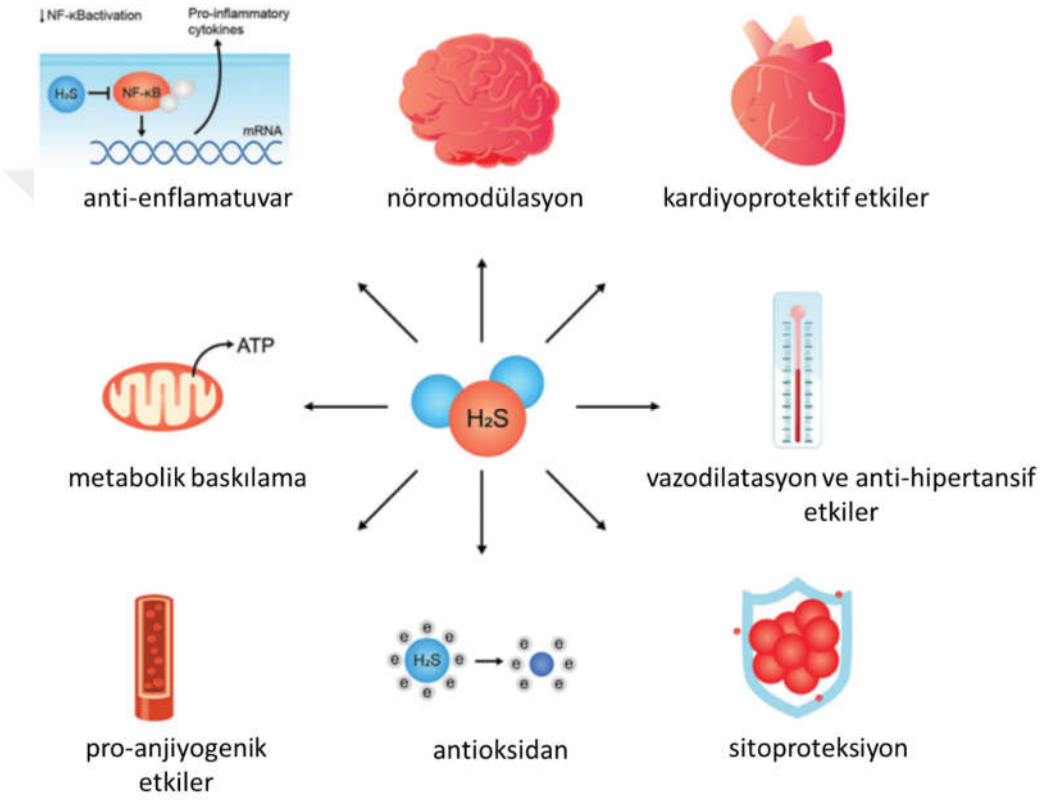
Birçok araştırma, H_2S'nin, hemen hemen tüm hücreler ve dokular arasında yüksek düzeyde korunan ve sıkı bir şekilde düzenlenen PI3K/Akt sinyal yolunu etkinleştirebileceğini göstermiştir. Fosfoinositid 3-kinaz (PI3K), bir G-protein-bağlı reseptör (GPCR) olan reseptör tirozin kinaz (RTK) gibi zara bağlı reseptörler yoluyla hücre dışı uyaranlar tarafından aktive edilir. Aktive edilmiş PI3K, fosfoinositidler PIP2'nin inositol grubunun 3' hidroksilini fosforile eder ve lipid ikinci haberci PIP3'ü üretir. Protein kinaz B (PKB) olarak da adlandırılan Akt, önemli bir serin/treonin kinazdır. Akt, PI3K'ya bağımlı ve bağımsız bir şekilde etkinleştirilebilir. Akt aktivitesi diğer proteinler tarafından da düzenlenebilir. Etkinleştirilmiş Akt, transkripsiyon faktörleri, protein kinazlar, hücre döngüsü düzenleyicileri vb. dahil olmak üzere birçok aşağı akış hedefini doğrudan fosforile edebilir. PI3K/Akt sinyal yolunun yanı sıra, nükleer faktör kappa B (NF-kB) ve mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) yollarının da H_2S tedavisinden etkilendiği gösterilmiştir (70).

2.5.3. Hidrojen Sülfürün Metabolizması

Hidrojen sülfür, öncelikle nötral moleküler formunda (H_2S) bulunur veya in vivo olarak NaHS'ye dönüştürülür. H_2S, yüksek konsantrasyonlarda vücutta büyük hasara neden olabilir. H_2S konsantrasyonunu fizyolojik seviyelerde tutabilmek için çeşitli yollarda katabolize edilir. H_2S katabolizmasının ana yolu, böbrek tarafından mitokondride sülfit oksidasyonuyla sülfat şeklinde atılmasını içerir. H_2S oksidasyonu tüm memeli hücrelerinde meydana gelebilse de bu oksidasyonun birincil bölgesinin karaciğerde olduğu varsayılmaktadır. H_2S oksidasyonundan farklı olarak, H_2S'nin metilasyonu esas olarak mitokondri yerine sitozolde meydana gelir. Bu işlem sırasında H_2S, tiyol S-metiltransferaz tarafından metantiyole metillenir. Sülfid oksidasyonu ile karşılaştırıldığında, sülfit metilasyonunun kolon mukozasında yaklaşık 10.000 kat daha yavaş meydana geldiği gösterilmiştir. Fizyolojik koşullar altında minimum miktarda H_2S bu yoldan atılır. Ayrıca H_2S farklı bir mekanizma ile hemoglobine bağlanarak sülfhemoglobin oluşumuna yol açabilir. Ek olarak, az miktarda serbest H_2S akciğerler tarafından uzaklaştırılabilir (71).

2.5.4. Hidrojen Sülfürün Fizyolojik Etkileri

Memeli sistemlerindeki çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik rolleri nedeniyle NO ve CO'ya ek olarak, H_2S'nin çok sayıda organ üzerindeki terapötik etkileri araştırılmıştır. Fizyolojik bir aracı olarak endojen H_2S, antiinflamatuvar, nöromodüle edici, kardiyoprotektif, metabolik baskılama, antioksidan savunma, vazodilatör ve antihipertansif, proanjiyogenik ve sitoprotektif özelliklere sahiptir (72).



Şekil 2. Hidrojen sülfürün fizyolojik etkileri (72)

Anti-inflamatuvar etki

Hidrojen sülfürün hem lenfositler ve makrofajlar aktive edildiği ve proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu takiben etkilenen bölgeye taşındığı enflamasyon öncesi dönemde, hem de antiinflamatuvar mediyatörlerin salgılandığı ve infiltre olan lenfositlerin apoptozunu indükleyerek etkilenen bölgelerin temizlenmesini sağladığı anti-inflamatuvar süreçlerde düzenleyici rolü bulunduğu çok sayıda çalışmada bildirilmektedir (72).

Kardiyoprotektif Etkileri

Hidrojen sülfür, kardiyoproteksiyona aracılık eden ön ve son şartlandırmada K_{ATP} kanallarını açarak I/R hasarına karşı kalbi korumaktadır (72). Ayrıca H_2S'nin, kardiyomiyositlerde oksidatif stresin azalmasıyla sonuçlanan nükleer solunum faktörü (Nrf1) ve nükleer NFE2 ilişkili faktör-2 (Nrf2) aracılı Akt fosforilasyonunu aktive ederek kalbi koruduğu gösterilmiştir (73). Endojen H_2S konsantrasyonunu azaldığında miyokardiyal enfarktüs boyutu artmakta, H_2S'nin eksojen uygulaması ise miyokardiyal iskemik hasarı ve ölüm oranını azaltmakta, sol ventrikül basınçlarını arttırıp lökosit infiltrasyonunu ve fibroblast hiperplazisini azaltmaktadır (74, 75).

Antioksidan Savunma Tepkisi

Hidrojen sülfür temel olarak hücre içi glutatyona (GSH) bağımlı veya bağımsız yollar aracılığıyla hücreleri oksidatif stresten koruyan birincil bir aracı görevi görür (72). H_2S'nin bir antioksidan enzim olan süperoksit dismutazın aktivitesini artırarak süperoksit temizleyicisi olduğu gösterilmiştir (76). H_2S'nin hücre içi antioksidanları düzenleyerek hepatositleri I/R hasarından koruyabildiği bildirilmiştir (77).

Vazodilatör Etkiler

Hidrojen sülfürün ayrıca damar sisteminde endotel kaynaklı gevşetici etki oluşturmaktadır. Bu etkisini ortaya koyan çalışmalardan birinde H_2S donörü olan GYY4137'nin sıçan aortik halkalarını gevşettiği gösterilmiştir (78). Damarlardaki gevşetici etkisini sitokrom c oksidazını inhibe ederek ATP seviyelerini azaltıp K_{ATP} kanallarını aktive ederek oluşturduğu bildirilmiştir (79). H_2S'nin vasküler etkisinin konsantrasyona bağlı olduğu ve bu etkinin kısmen endotel aracılı olduğu ve hücre dışı Ca^{2+} girişinin de aracılık ettiği gösterilmiştir (80). Bununla birlikte, cGMP yolunun H_2S'nin damar genişletici etkilerinde rol oynadığı bildirilmiştir (81).

Proanjiyogenik Etkiler

Hidrojen sülfür, in vitro olarak endotel hücre proliferasyonunu ve göçünü iyileştirerek anjiyogenez yanıtlarını etkilemektedir. Sodyum sülfür (Na_2S) veya NaHS gibi bazı H_2S donörleri ile elde edilen düşük mikromolar H_2S konsantrasyonları, endotel hücrelerinin büyümesine, göçüne ve tübüler oluşumuna etki etmektedir (10, 82, 83). H_2S'nin vasküler endotelyal hücrelerde HIF-1/VEGF/Akt-aracılı yolakları düzenleyerek iskemik dokularda belirgin bir şekilde anjiyogenezi desteklediğini ve bölgesel kan akışını arttırdığı gösterilmiştir (84). Ayrıca H_2S, NO aracılığıyla da anjiyogenezi uyarmaktadır (85).

Sitoproteksiyon

Hidrojen sülfür, çeşitli organlarda sitoprotektif etkiler gösterir, ancak çoğu çalışmada I/R hasarına odaklanılmıştır. H_2S, Nrf2 sinyali ile in vivo miyokardiyal I/R tarafından indüklenen kardiyomiyosit apoptozu azaltabilir (86). H_2S'nin antiapoptotik etkisini I/R'de kaspaz-9'un inaktivasyonu yoluyla uyguladığı da bildirilmiştir (87).

2.5.5. Hidrojen Sülfür ve İskemi/Reperfüzyon Hasarı

Hidrojen sülfürün var olan etkileri iskemi ve reperfüzyon döneminde gelişen inflamasyon ROS artışı anjiyogenez gibi olaylarda koruyucu rolü olabileceği kanıtını sunmaktadır. Farklı organlarda H_2S'nin etkisini destekleyen birçok çalışma bulunmaktadır (7).

Hidrojen sülfür kardiyovasküler sistemde önemli bir rol oynayan endojen bir sinyal molekülü olarak kabul edilmektedir (73, 88, 89). Biriken kanıtlar, eksojen veya endojen H_2S'nin kardiyak miyositlerde ve izole kalplerde MIRI'ye karşı kardiyo koruma sağlayabileceği gösterilmektedir (7). Karaciğerde ise I/R'ye bağlı hasarı enflamasyon, apoptoz, oksidasyon ve Akt aktivasyonu dahil olmak üzere çeşitli yollarla önemli ölçüde azaltabileceğini göstermiştir (90, 91).

Daha yakın zamanlarda, H_2S'nin esas olarak çeşitli antioksidan, antiapoptotik ve antiinflamatuvar etkiler yoluyla renal I/R hasarını iyileştirme üzerindeki yararlı etkilerine dair artan kanıtlar bulunmaktadır (92, 93).

Santral sinir sisteminde H_2S sadece bir nöromodülatör olarak değil, aynı zamanda bir nöroprotektan olarak da işlev görmektedir (94-97). Bir in vivo serebral I/R hasarı modelinde, düşük konsantrasyonda H_2S ile tedavi, enfarktüs boyutunu azaltmıştır ve antiapoptotik etki yoluyla nörolojik işlevi iyileştirmiştir (94, 97). H_2S donörü olan dialil sülfürün (DAS) antiapoptotik etkileri, başka bir H_2S donörü olan anetol tritiyonun (ADT) ise lokal enflamasyonu ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz dört türevli ROS oluşumunu baskılayarak enfarktüs boyutunu azalttıkları gösterilmiştir (95, 98). Bununla birlikte H_2S'nin yüksek dozda I/R'yi kötüleştirdiği de bildirilmektedir (94, 99).

Bağırsak ve midede antioksidan etkileri ile bağırsak I/R hasarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (100, 101). Bununla birlikte, gastrik I/R hasarının tedavisinde ayrıca donörü ve prekürsörü olan NaHS ve L-sisteinin, anti-enflamatuvar ve antiapoptotik etki ile I/R hasarına karşı gastroprotektif etkileri de gösterilmiştir (102).

Son zamanlarda yapılan bir çalışma, H_2S ile preperfüzyonun, akciğer oksidatif stresini azaltarak akciğer I/R hasarını azaltabileceğini göstermiştir (103). Bu da H_2S veya donörlerinin uygulanmasının, akciğer I/R hasarı için yeni bir önleyici ve terapötik strateji olabileceğini düşündürmektedir (7).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi

Bu araştırma deneysel hayvan çalışmasıdır.

3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Araştırma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında, ayrıca Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarında Güz 2022-Bahar 2023 dönemlerinde yapılmıştır.

Tablo 1. Araştırmanın planı ve takvimi

Eylül 2020-Mart 2021	Literatür Tarama
Nisan 2021	Etik Kurul Onayı Alma
Mayıs-Haziran 2021	Destek için projenin hazırlanması
Temmuz-Aralık 2021 Aralık 2021-Nisan 2022	Proje başvurusu (Başvuru sistemi değişikliği nedeniyle iki kez başvuru yapıldı) Proje başvurusu ve projenin kabulü
Mayıs-Aralık 2022	Projeden malzemelerin alınması
Ocak-Mart 2023	Deneylerin yapılması
Mart 2023	Sonuçların alınması, istatistiksel analiz
Mart-Mayıs 2023	Sonuçların yorumlanması ve tezin yazımı
Haziran 2023	Tez Savunma Sınavı

3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları

Çalışma deney hayvanları üzerinde yapılmıştır. Bu yüzden evren ve örneklem bulunmamaktadır.

3.4. Çalışma Materyali

Çalışma materyali deney protokolü sonrası eksize edilecek olan penis dokusudur.

3.5. Araştırmanın Değişkenleri

Penil dokulardaki H_2S düzeyleri çalışmanın bağımlı değişkenleridir. Çalışmadaki bağımsız değişken ise priapizmdir.

3.6. Veri Toplama Araçları

3.6.1. Çalışmada Kullanılacak Olan Hayvanlar ve Çalışma Grupları

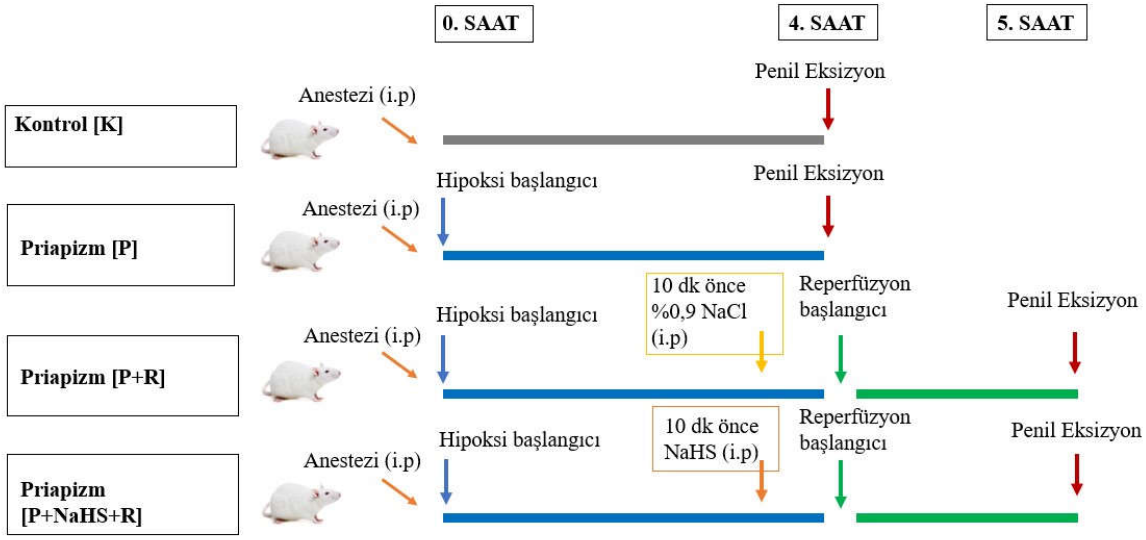
Deneysel araştırmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu onayı alındıktan sonra başlandı. Çalışmada 3 aylık 28 adet yetişkin Wistar erkek sıçan kullanıldı. Çalışmada kullanılan hayvanlar DEÜ Tıp Fakültesi Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı'ndan alındı ve çalışma gününe kadar burada barındırıldı. Sıçanlar standart sıçan yemi ile beslendi. Sıçanlara yemek sınırlaması uygulanmadı, çalışma gününden önceki 12 saat boyunca yemelerine izin verilmedi. Hayvanlar çalışma protokolünü oluşturmak üzere randomize olarak her grupta yedi hayvan olacak şekilde dört gruba ayrıldı (Şekil 3). Hayvanlar çalışma sabahı Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirildi. ve iskemik priapizm modeli burada oluşturuldu.

Kontrol Grubu (K): Sıçanlar anestezi altındayken dört saat hiçbir işlem yapılmadan beklenip dördüncü saatin sonunda penis eksize edildi. (n=7).

Priapizm Grubu (P): Sıçanlar anestezi altındayken vakum yöntemiyle ereksiyon oluşturulup, penisin proksimaline foley kateterden hazırlanan klemp yerleştirilip dört saat süren ereksiyon oluşturuldu (29). Penis proksimaline yerleştirilmiş olan klemp dört saatin sonunda çözülerek penis eksize edildi (Şekil 4). (n=7)

Reperfüzyon Yapılan Priapizm Grubu (P+R): Sıçanlar anestezi altındayken, vakum yöntemiyle ereksiyon oluşturulup, penis köküne lastik klemp yerleştirilip ereksiyonun dört saat devamlılığı sağlandı. Penis köküne yerleştirilmiş olan lastik klemp açılmadan 10 dakika önce intraperitoneal (i.p) olarak 0.9 % NaCl enjekte edildi. Dördüncü saat dolduğunda klemp açılarak bir saat boyunca reperfüzyon uygulandı. Beş saatin sonunda penis eksize edildi (Şekil 6). (n=7)

Reperfüzyon Öncesi NaHS Uygulanan Priapizm Grubu (P+NaHS+R): Dördüncü grup sıçanlar anestezi altındayken, vakum yöntemiyle ereksiyon oluşturulup, penis köküne lastik klemp yerleştirilip ereksiyonun dört saat devamlılığı sağlandı. Penis köküne yerleştirilmiş olan lastik klemp açılmadan 10 dk önce i.p olarak 75 µmol/kg, NaHS (104) enjekte edildi. Dördüncü saat dolduğunda klemp açılarak bir saat boyunca reperfüzyon uygulandı. Beş saatin sonunda penis eksize edildi. (n=7) (Şekil 5)



Şekil 3. Çalışma protokolü

3.6.1.1. Priapizm Modelinin Oluşturulması

Sıçanlar üretan ile (intraperitoneal) anestezi edildi (1200 mg/kg). Sıçanlarda ereksiyon vakum yöntemi ile oluşturuldu. Ereksiyon oluşturmak için çam uçlu enjektör penis prepisyum retrakte edilerek enjektör penis ucuna yerleştirilip, enjektörün pistonu 20cc çekilerek ereksiyon oluşturuldu. Daha sonra venöz geri dönüşün engellenmesi için penisin proksimaline foley kateterden hazırlanan klemp yerleştirilerek iskemik priapizm oluşturuldu. Deney sonunda hayvanlar anestezi altındayken penisleri eksize edildi ve penil dokunun yarısı H_2S düzeyleri ölçülmek üzere -80 derecede çalışma gününe kadar saklandı. Diğer yarısı ise HIF-1 ölçümü ve histopatolojik değerlendirmeler için parafinde saklandı. Daha sonra hayvanlar servikal dislokasyon yolu ile sakrifiye edildi.



Şekil 4. Ereksiyon ve priapizm modelinin oluşturulması



Şekil 5. Reperfüzyon öncesi NaHS intraperitoneal enjeksiyonu



Şekil 6. Reperfüzyon aşaması

3.6.2. H_2S Ölçümü

Kavernöz doku homojenizasyonu yapıldıktan sonra metilen mavisi deneyi (MBA) yöntemi ile spektrofotometrik analizle ölçüldü. Çalışma günü 75-80 mg yaş ağırlığındaki KK dokuları 200 µl hacimde 10^{-1} M potasyum fosfat tamponu (PPB) ile mini potter kullanılarak homojenize edildi. Tamamen toz haline gelen örnekler 40 dakika, +4˚C'de rotatörde döndürülüp ardından 10.000 rpm'de, yine +4˚C'de, 10 dakika boyunca santrifüj edilip ve ependorf tüplerden süpernatantlar protein miktar tayini için alındı ve bikinkoninik asit (BCA) yöntemi kullanılarak protein miktar tayini yapıldı. Örnekler bir sonraki gün MBA için kullanılmak üzere -20°C'de saklandı.

Homojenatlar, ependorf tüpte total hacim 200 µl hazırlanıp, L-sistein ile stimüle edilmiş H_2S üretimi incelendi. L-sisteinin H_2S'ye metabolizasyonu için örnekler 40 dakika, 37˚C'deki su banyosunda inkübasyona bırakıldı, inkübasyon süresince 0.1 M PPB dilüsyonu ile 250 µM 125 µM, 62,5 µM, 31,25 µM, 15,6 µM, 7,8 µM, 3,9 µM NaHS konsantrasyonları kullanılarak bir standart eğrisi hazırlandı. Kör olarak PPB kullanıldı.

Bütün gruplar 15 dakika karanlık ortamda oda sıcaklığında bekletilerek ardından 10.000 rpm, +4˚C sıcaklıkta beş dakika santrifüj edildi. Mikroplate'e örnekler, standartlar ve körden 200 µl duplike olarak konulup, 650 nm'de kalorimetrik spektrofotometrede (Thermo Sci., Varioscan flash Type: 3001) her beş dakikada bir ve son olarak 20. dakikada son ölçüm alındı. 10. dakikadaki sonuçlar en verimli sonucun alındığı zaman olduğu için 10. dakikaya göre Graph Pad Prism'de analiz edildi. Sonuçlar 10. dk'da mg protein başına dakikada üretilen nmol cinsinden H_2S miktarı olarak verildi (nmol[H_2S]/mg protein*dk-1).

3.6.3. Histopatolojik İncelemeler

Sakrifikasyondan sonra deneklerin penislerinin proksimal bölümü histolojik incelemeler için %10'luk formolde dört-beş gün bekletilerek fikse edildi. Dokular bir gece akarsu altında bekletilerek fiksatifin fazlası uzaklaştırıldı. Bu aşamadan sonraki tüm işlemler 60°C'lik etüvde %70, %80 ve %96'lık etil alkol serilerinde 20'şer dakika dehidratasyon amacıyla bekletildi. Daha sonra 20'şer dakika dört farklı aseton serilerinde tutuldu. İki farklı ksilende de 30'ar dakika şeffaflaştırma amacıyla tutuldu. Yumuşak parafin ile birer saat iki kez olmak üzere immersiyonu sağlandı. Son olarak dokular parafin bloklar içerisine gömüldü. Rotary mikrotom (RM 2255, Leica) aracılığı ile beş mikron (5µ) kalınlığında kesitler alındı.

3.6.3.1. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü ve Değerlendirilmesi

Parafin bloktan lamlara alınan doku kesitlerine boyama yapılmadan bir gece önce deparafinizasyon işlemi için 60˚C'lik etüvde bekletildi. Ardından ksilol içinde etüvde 20 dakika iki değişim tutuldu. Azalan alkol serilerinden (absolü-%70) geçirilip hidratasyon işlemi yapıldı. Kesitler distile su ile çalkalandı ve 10 dakika boyunca hematoksilen (05- 06002L, Bio-Optica, Milano, İtalya) ile nukleusların boyanması sağlandı. Hematoksilenin fazlasını dokudan uzaklaştırmak için beş dakika akarsuda yıkama yapıldı ve hücre sitoplazmasının boyanması için 30 saniye eozin (05-10003L, Bio-Optica, Milano, İtalya) boyası ile boyandı. Boyamadan sonra dehidratasyon işlemi için artan alkol serisinden (%70, %80, %96 ve absolü) geçirilen kesitler 20'şer dakika üç farklı ksilolde tutulup şeffaflaştırma yapıldı. Son olarak lam üzerindeki dokular entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

Hematoksilen Eozin boyaması ışık mikroskobunda değerlendirildi ve histolojik skorlama yapıldı. Vazokonjesyon, inflamasyon, deskuamasyon ve genel doku ödemi 0 ve 3 (0: normal, 1:az 2:orta, 3:şiddetli) arasında skorlandı (105).

3.6.3.2. Masson Trikrom Boyama Protokolü ve Değerlendirilmesi

Deparafinizasyon için bir gece 60˚C'lik etüvde bekletilen kesitler biri etüvde olmak üzere üç farklı ksilolde tutuldu. Daha sonra azalan alkol serilerinden geçirildi. Distile suda çalkalandıktan sonra Masson Trikrom boyama seti (5022, GBL, İstanbul, Türkiye) içerisinden dokular üzerine beş damla Weigert demirli hematoksilen A solüsyonu ile beş damla Weigert demirli hematoksilen B solüsyonu damlatılarak nukleusların boyanabilmesi için 10 dakika bekletildi. Yıkama işlemi yapılmadan preparatlar beş dakika kurutulduktan sonra Pikrik asit alkolik çözeltisi C solüsyondan 10 damla damlatılarak dört dakika bekletildi ve eritrositlerin boyanması sağlandı. Distile su ile hemen (üç-dört saniye) yıkandıktan sonra kesitlere uygulanan 10 damla Gelincik kızılı fuksin çözeltisi D solüsyonu dört dakika bekletilerek hücre sitoplazmalarının boyanması sağlandı. Sonra preparatlar distile su ile yıkandıktan sonra Fosfomolibdik asit çözeltisi E solüsyonundan 10 damla damlatılarak 10 dakika bekletildi. Yıkama yapılmadan preparatlar beş dakika kurutuldu. Masson anilin mavisi çözeltisi F solüsyonundan 10 damla damlatılıp distile su ile yıkanan kesitler artan alkol serilerinden geçirildi. Ksilol ile şeffaflaştırma yapıldıktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

Her preparattan rasgele dört alanda kolajen yoğunluğu semikantitatif olarak değerlendirildi. Skorlama penis KK bölgesinde + dan ++++ kadar değer verilerek yapıldı. Bu ölçekte +, %30 veya daha az kolajen, ++, %30-50, +++; %50-70, ++++ ,% 70 den fazla şeklinde skorlandı (106).

3.6.3.3. Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1 Ölçümü

İmmünohistokimyasal olarak anti-HIF-1α (BS-0737R Bioss-USA) primer antikoru kullanıldı. Alınan kesitler öncelikle 60 ºC'lik etüvde bir gece bekletildi sonrasında şeffaflaştırma amacıyla ilki etüvde diğer ikisi oda ısısında olmak üzere 30'ar dakika üç değişim ksilole tabi tutuldu. Azalan alkol serilerinden geçirilip distile suda çalkalandı. Daha sonra dokular %10'luk Sitrat tamponunda beş dakika mikrodalgada kaynatıldıktan sonra soğumaya bırakıldı. Soğuyan dokuların etrafı Pappen (Z672548-1EA Sigma Tokyo, Japonya) ile çizildi ve üzerlerine dokuların kurumaması amacı ile fosfat tamponlu salin (PBS) koyuldu. Ardından üç kez PBS ile yıkanan kesitler, 10 dakika oda ısısında H_2O_2 ile bekletilerek dokuda endojen

peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Tekrar PBS ile yıkama yapıldı ve 20 dakika bloklama (A) solüsyonu (İnvitrogen, LOT 1155338A) ile bekletildi. Yıkama yapılmadan primer antikor HIF-1 primer antikoru ile +4 ºC' de bir gece bekletildi. Ertesi gün PBS ile yapılan yıkamadan sonra biotin-streptavidin hidrojen peroksidaz sekonder antikor (B) solüsyonu (İnvitrogen, LOT 1155338A) ile 30 dakika bekletildi. Tekrar yıkama yapıldıktan sonra C solüsyonunda (İnvitrogen, LOT 1155338A) 20 dakika bekletildi. Yine PBS ile yıkanan kesitler oluşturulan immünohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla DAB (Roche, Germany) ile muamele edildi. Distile su ile yıkanan kesitlere Biooptica nın hematoksileni ile artalan boyaması sağlandıktan sonra akarsu ile yıkandı. Artan alkol ve ksilol serilerinden geçirildikten sonra entellan ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal skorlama

İmmünohistokimyasal analizler için pozitif hücre boyanma yoğunluğu (i değeri), 0 (boyanma yok), 1 (zayıf, ancak saptanabilir boyanma), 2 (orta düzeydeki boyanma) ve 3 (yoğun boyanma) şeklinde kategorize edildi. 40x büyütmede rasgele beş alan taranarak mikroskobik olarak değerlendirildi ve yüzdelerinin toplamı aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$H - score = \sum Pi(i + 1)$$

Formüle göre i, 1, 2 veya 3 değerinde (sırasıyla zayıf, orta veya güçlü) boyamanın yoğunluğudur ve Pi ise %0 ile %100 arasında değişen, her bir yoğunluk için boyanmış hücrelerin yüzdesidir (107).

3.6.4. Çalışmada Kullanılan Araç, Gereç ve Kimyasallar

Tablo 2. Çalışmada kullanılan cihazlar ve üretici firmaları

Kullanılan Gereçler	**Üretici Firma**
Tartı	Acculab ACL3100
Hassas Terazi	Precisa XB22OA
Analitik Terazi AS 220 R2 (220g/0.0001 g)	Radwag / Polonya
Sıvı Nitrojen Tankı	AirLiquid GT2
No-Frost Buzdolabı	Arçelik
Santrifüj	Universal 320R Hettich Lab Technology / USA
Soğutmalı Santrifüj Cihazı	Sigma Laboratory Centrifuges 3K30
Su Banyosu	Memmert / Almanya
pH metre	Thermo Orionstar A-211
Homojenizatör	Retsch CryoMill Retsch / Almanya
Vorteks	IKA Yellow-Line TTS-2
Spektrofotometre	Varioskan Flash Thermo Fischer Scientific / Finlandiya

Tablo 3. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler ve kimyasallar

Malzeme Adı	**Markası/Kod**	**Kullanım Amacı**
NaHS (Sodyum hidrosülfür)	Sigma	H_2S ölçümü
KH_2PO_4 (Potasyum dihidrojen fosfat)	Merck	H_2S ölçümü
K_2HPO_4 (Dipotasyum hidrojen fosfat)	Merck	H_2S ölçümü
L-Sistein hidroklorür mono hidrat	Sigma, C6852-25G	H_2S ölçümü
Piridoksal 5'-fosfat hidrat (PP)	Sigma, P9255-1G	H_2S ölçümü
BCA Protein Miktar Tayini Kiti	BioVision, K812-1000	Protein ölçümü
Steril enjektör 50 cc contalı beslenme	Beybi, 1009	Model oluşturma
Foley sonda Latex ithal (steril)	TKS, 5001	Model oluşturma
HIF-1 Alfa Poliklonal antikor, 100 µl	Bioss-USA, BS-0737R	HIF-1α ölçümü
Sodyum ortovanadat	Sigma, 4500243-10G	H_2S ölçümü
Aprotinin	Cayman	H_2S ölçümü
Pepstatin A	Bioshop	H_2S ölçümü
Leupeptin	Cayman	H_2S ölçümü
PMSF (Fenilmetilsülfonil florür)	Sigma	H_2S ölçümü
Na_3VO_4 (Sodyum ortovanadat)	Sigma	H_2S ölçümü

NaF (Sodyum florür)	Sigma	H_2S ölçümü
ZnAc (Çinko asetat)	Sigma	H_2S ölçümü
TCA (Trikloroasetik asit)	Sigma	H_2S ölçümü
DPD (N, N-Dietil-p-fenilendiamin)	Sigma	H_2S ölçümü
$FeCl_3$ (Demir (III) klorür)	Sigma	H_2S ölçümü

3.7. Verilerin Değerlendirilmesi

Veriler ortalama±SEM olarak hesaplandı. Hidrojen sülfüz düzeyi ölçümünde üçlü grup karşılaştırmalarında tek yönlü Anova ve posthoc Bonferroni testi kullanıldı. İkili grup karşılaştırmasında student t testi kullanıldı. Histolojik verilerin istatistiksel analizinde üçlü grup karşılaştırılmalarında Kruskal Wallis testi, ikili gruplar arasındaki farklılık ise Mann Whitney U post hoc testi ile değerlendirildi. (GraphPad Prism 9.3.1, San Diego, CA, USA). p değerleri $P<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.8. Araştırmanın Sınırlılıkları

İskemiye bağlı olarak kan akışının engellenmesi hipoksiye neden olur ve mitokondride ATP üretimi azalarak anaerobik metabolizma indüklenir. Bunun sonucunda ATP azalması, antioksidan maddelerin azalması, hücre içi iyon dengesinin değişmesi, hidrojen artışına bağlı pH artışı protein sentezinin bozulması söz konusudur ve dokunun buna karşı adaptif yanıtını HIF-1 regüle eder. Hipoksinin süresine bağlı olarak dokuda yapısal ve fonksiyonel değişiklikler meydana gelir. İskemik priapizmde başlangıçta kanla dolan penil dokuda venöz şant oluşması ve uzun süre arteriyel kan akışının olmaması iskemiye benzer olarak hipoksi, hiperkapni ve asidoz ile karakterize bir tablo oluşturur. Reperfüzyon ise dokularda reaktif oksijen türlerinde artışa neden olur. Çalışmamızda iskemik priapizmde etkinliğini ilk defa ortaya koymayı amaçladığımız H_2S'nin düzeyi ölçülüp, eksojen olarak uyguladığımız donörü NaHS'nin priapizme bağlı oluşan yapısal değişiklikler ve HIF-1 üzerine etkisini inceledik. Çalışmamızda yapısal değişikliklerdeki düzelmenin fonksiyonel yanıtlara yansımasının ortaya konmaması çalışmamızın en önemli sınırlılığıdır. Çalışmamızda doku hasarının en önemli etkenlerinden biri olan ROS düzeyi ölçülmedi. Bu da patolojik bulguları tartışmamız için önemli bir kısıtlılıktır.

Literatürde I/R'de H_2S'nin sentezinin arttırılması veya dışarıdan eksojen olarak verilmesi sonucunda oksidatif stresi azalttığı, anjiyogenezi sağladığı, apoptozisi ve inflamasyonu önlediği ve fonksiyonel olarak yanıtları düzelttiği gösterilmiş. Penil dokuda priapizme bağlı oluşan yapısal değişikliklerdeki H_2S aracılı düzelmeye neden olan mekanizmanın ortaya konulmaması da çalışmamızdaki bir diğer sınırlılıktır.

3.9. Etik Kurul Onayı

Araştırmamız 20-2021 protokol numarası ile Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 14/04/2021 tarihinde etik onayı alındıktan sonra başlatılmıştır.

4. BULGULAR

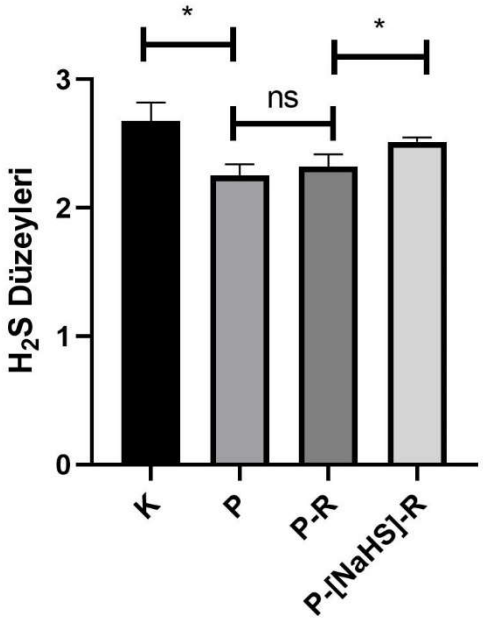
4.1. Hayvan Ağırlıkları

Çalışmada kullanılan sıçanların ortalama ağırlıkları kontrol grubunda 334.6 ± 7.04 g (n=7), priapizm grubunda 326.1 ± 7.42 g (n=7), priapizm sonrası reperfüzyon uygulanan grupta 334.0 ± 13.13 g (n=7) ve reperfüzyondan önce NaHS tedavisi uygulanan grupta 321.7 ± 7.50 (n=7) g'dı. İstatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı.

4.2. Hidrojen Sülfür Düzeyleri

Kontrol grubunda ölçülen bazal H_2S seviyesi 1.459 ± 0.05 idi. Kontrol grubunda L-sisteinle indüksiyon sonrası H_2S seviyesi bazal düzeye göre istatistiksel olarak anlamlı artışa neden oldu (sırasıyla 2.676 ± 0.146, 1.459 ± 0.05 $p<0.001$).

Priapizm grubunda L-sisteinle indüklenen H_2S düzeyi 2.250 ± 0.089 olarak saptanırken kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede bir azalma gösterirken (**P** 2.250 ± 0.089, **K** 2.676 ± 0.146, p=0.04), reperfüzyon grubu ile arasındaki fark anlamlı değildi (**P-R** 2.32 ± 0.094, **P** 2.250 ± 0.089, p>0.99). Reperfüzyon öncesi NaHS uygulanmasına bağlı olarak L-sisteinle indüklenen H_2S düzeyinde anlamlı bir artış görüldü (**P+[NaHS]+R** 2.513 ± 0.036, **P-R** 2.32 ± 0.094, p=0.0496) (Grafik 1).

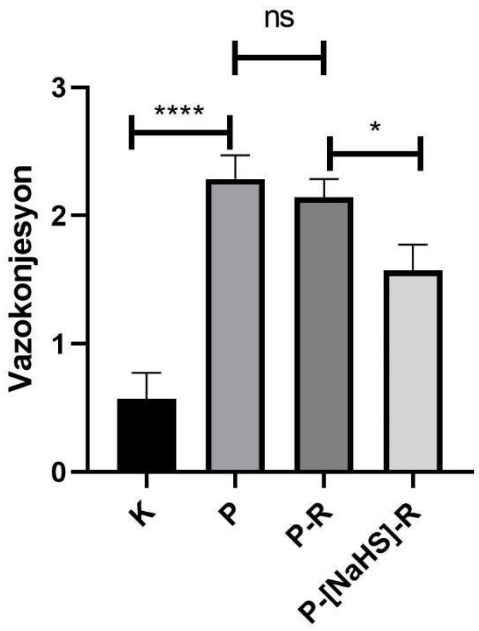


Grafik 1. L-Sistein ile indüklenen gruplarda hidrojen sülfür düzeyleri

4.3. Histolojik Değerlendirmeler

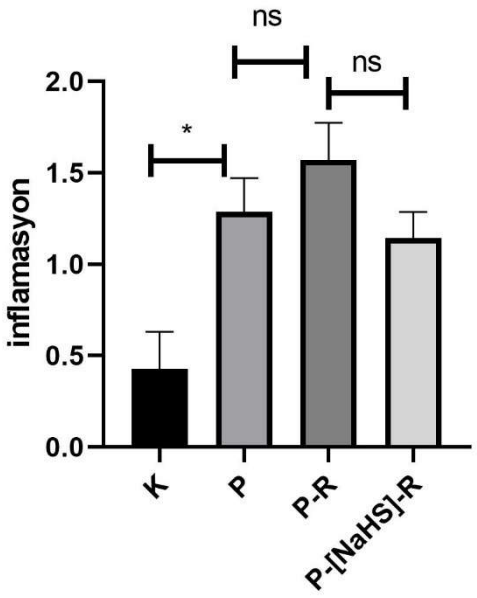
Çalışmada penil dokularda, priapizme bağlı oluşan değişiklikler, reperfüzyonun bu değişikliklere etkisi ve NaHS uygulamasının reperfüzyon dönemine etkisi dokudaki vazokonjesyon, inflamasyon, deskuamasyon, ödem ve kolajen miktarı ile değerlendirildi.

Priapizm grubunda, kontrol grubuna göre santral ve periferik kavernlerde vasküler konjesyonda artış gözlendi (**P** 2.286 ± 0.18, K 0.571 ± 0.20, $p<0.0001$). Bu artış priapizm sonrası reperfüzyon yapılan grupta hala devam etmekteydi (**P** 2.286 ± 0.18, **P+R** 2.143 ± 0.14 $P>0.05$). Reperfüzyon öncesi NaHS uygulanan grupta ise vasküler konjesyon sadece reperfüzyon uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldı (**P+R** 2.143 ± 0.14, **P+[NaHS]+R** 1.571 ± 0.20, $p<0.0001$) (Grafik 2)



Grafik 2. Penil dokudaki vazokonjesyon düzeyleri

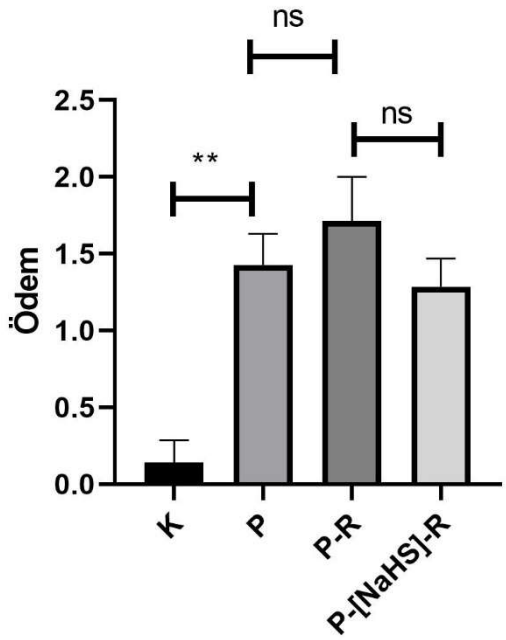
İnflamasyon verilerinin analizinde priapizm grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artış bulundu (**P** 1.286 ± 0.18, **K** 0.428 ± 0.20 p=0,0191). Reperfüzyon uygulanan grupta ise inflamasyon artış göstermesine rağmen, priapizm grubuna göre fark istatiksel olarak anlamlı bulunmadı (**P+R** 1.571 ± 0.20, **P** 1.286 ± 0.18 p=0,9513). Reperfüzyondan önce NaHS uygulaması, reperfüzyon dönemindeki inflamasyon düzeyinde değişikliğe neden olmadı (**P+R** 1.571 ± 0.20, **P+[NaHS]+R** 1.143±0.14, p=0,1089). (Grafik 3)



Grafik 3. Penil dokudaki inflamasyon düzeyleri

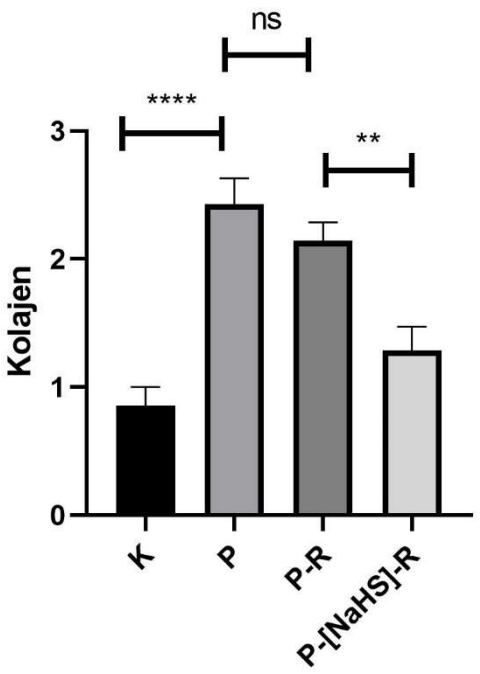
Priapizme bağlı olarak üretra epitelinde deskuamasyon gözlendi (**P** 1.857 ± 0.26, **K** 0.0± 0 p<0.0001) Reperfüzyon grubunda ise oluşan bu deskuamasyonda değişiklik gözlenmedi (**P+R** 1.571 ± 0.20, **P** 1.857 ± 0.26 p= 0,9086). Reperfüzyon öncesi NaHS uygulaması ise üretra epitelindeki deskuamasyonda anlamlı azalmaya neden oldu (**P+R** 1.571 ± 0.20, **P+[NaHS]+R** 0.571 ± 0.20 p= 0,0044).

Priapizme bağlı gelişen ödemin (**P** 1.429 ± 0.20, **K** 0.143± 0.14 p=0,0017) reperfüzyon döneminde de devam ettiği görüldü (**P+R** 1.714 ± 0.28, **P** 1.429 ± 0.20 p>0.05). Reperfüzyondan önce uygulanan NaHS tedavisi ise kavernöz dokudaki ödemde azalmaya neden olmakla birlikte priapizm sonrası reperfüzyon grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı değildi (**P+[NaHS]+R** 1.286 ±0.18, **P+R** 1.714 ± 0.28, p= 0,2315) (Grafik 4)

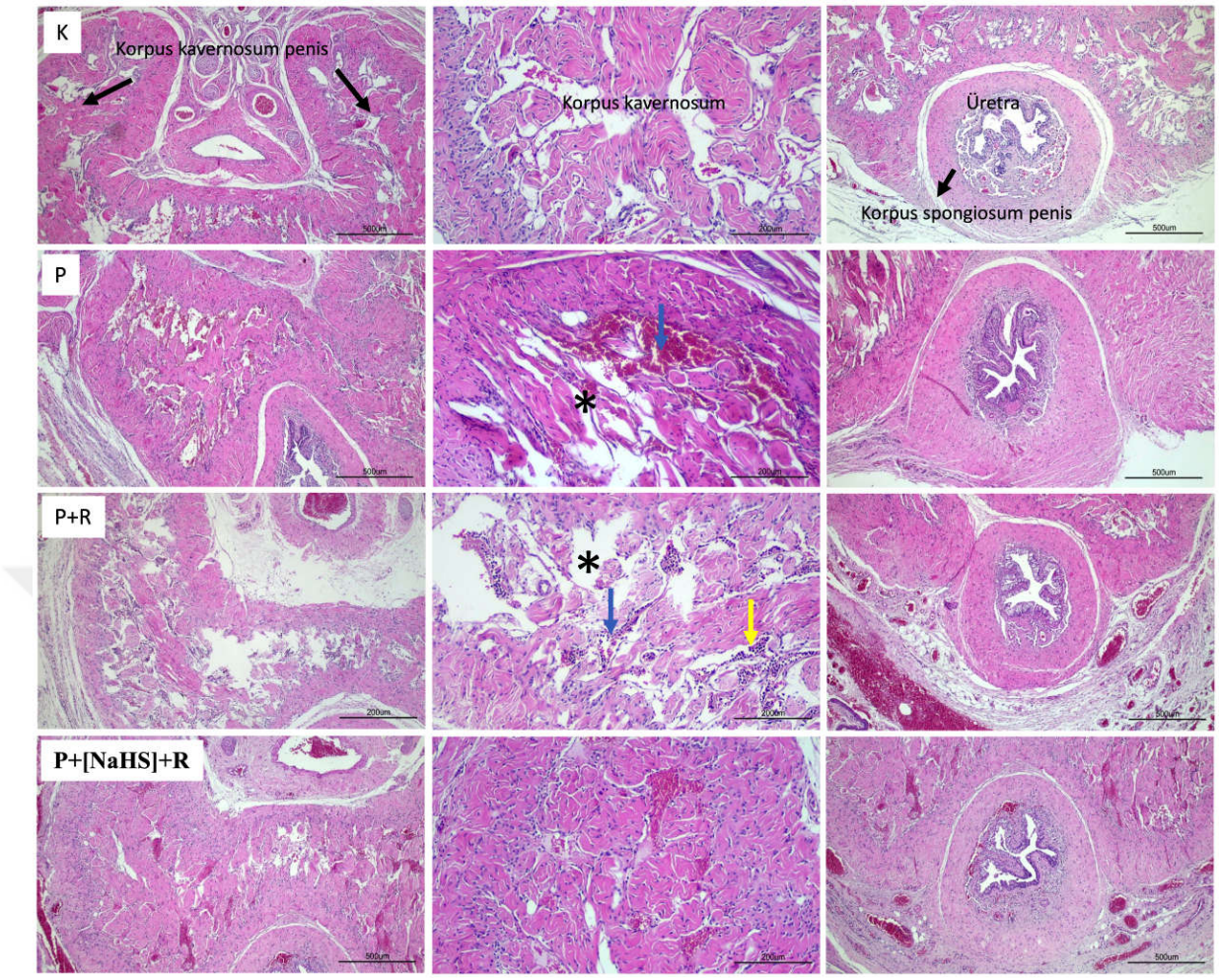


Grafik 4. Penil dokudaki ödem düzeyleri

Priapizme bağlı olarak kavernöz dokuda kolajende artış gözlendi (**P** 2.429 ± 0.20, **K** 0.857 ± 0.14). Reperfüzyon döneminde bu artış devam etti (**P+R** 2.143 ± 0.14, **P** 2.429 ± 0.20, p=0,7094). Reperfüzyon öncesi NaHS uygulanan grupta ise kolajen reperfüzyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda azaldı (**P+[NaHS]+R** 1.286 ±0.18, **P+R** 2.143 ± 0.14, p= 0,0032). (Grafik 5)

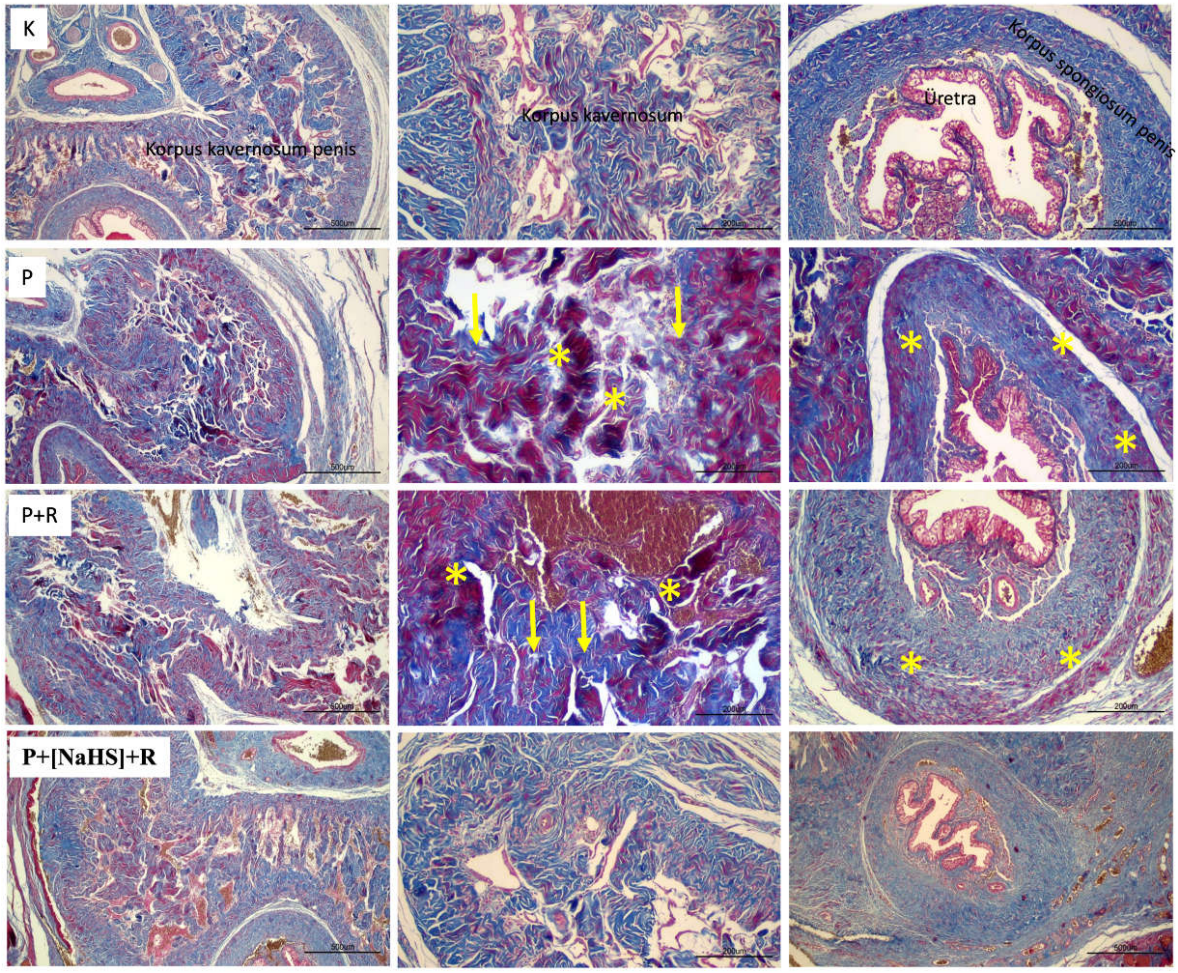


Grafik 5. Penil dokudaki kolajen düzeyleri



Şekil 7. Gruplara ait penis dokusunun ışık mikroskobundaki görüntüsü

Hematoksilen eozin boyalı kesitlerde kontrol grubunda peniste KK penis, üretra, korpus spongiosum yapıları normal görünümdeydi. P grubunda KK'ya ait santral ve periferik kavernlerde yaygın vasküler konjesyon (*), hemoraji (mavi ok), üretra epitelinde de yer yer dejenerasyon, P+R grubunda KK'ya ait santral ve periferik kavernlerde vasküler konjesyon (*), inflamasyon, hemoraji (mavi ok) ve inflamasyon (sarı ok) gözlendi. P+[NaHS]+R grubu ise kontrol grubuna benzer özellikteydi.



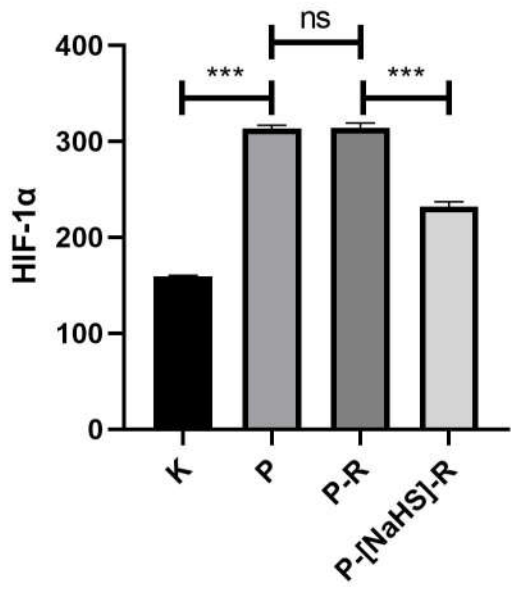
Şekil 8. Gruplara ait penis dokusunun Masson trikrom boyaması ışık mikroskobundaki görüntüsü

Kontrol grubunda penisin kavernöz dokularında bağ doku ve kas doku yapıları normal görünümdeydi. P grubunda kavernöz dokularda artmış kas kitleleri (*) ve kolajen depositleri (sarı ok) gözlendi. P+[NaHS]+R grubu ise kontrol grubuna benzer özellikteydi.

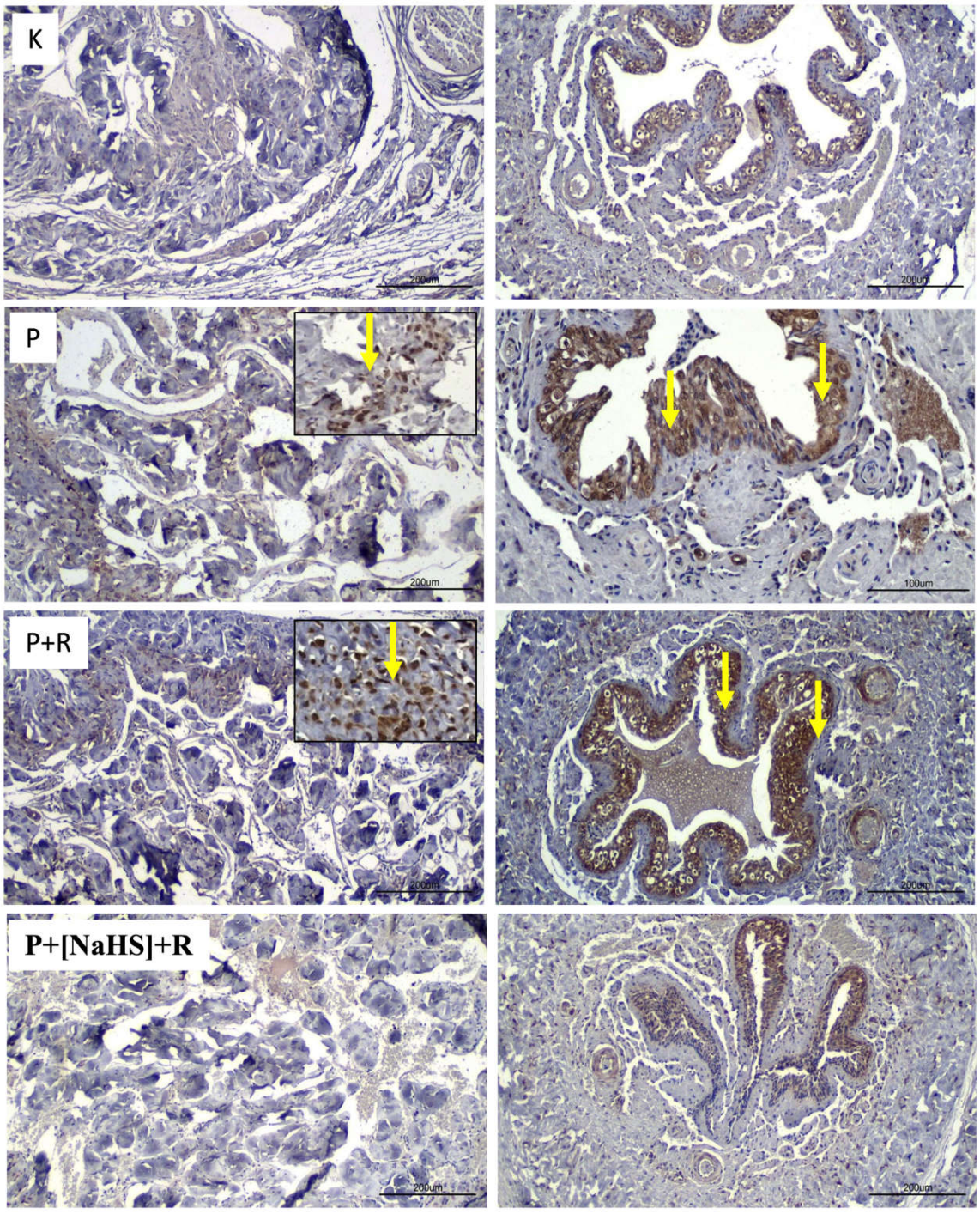
4.4. Hipoksi ile İndüklenen Faktör -1 Alfa Düzeyleri

Priapizm oluşturulan gruplarda HIF-1α düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış oldu (**P** 313.6 ± 1.21, **K** 159.1 ± 0.55, p<0.0001). Reperfüzyon grubunda ise HIF-1α düzeyleri priapizm grubundan farklı değildi (**P-R** 314.3 ± 1.86, **P** 313.6 ± 1.21, p>0.99).

NaHS tedavisi uygulanan grupta ise NaHS koruyucu etki oluşturarak reperfüzyonda devam eden HIF-1α artışını önledi (**P+[NaHS]+R** 232.1± 1.62, **P-R** 314.3 ± 1.86, p <0,0001). (Grafik 6)



Grafik 6. Penil dokudaki hipoksi ile indüklenen faktör-1 alfa düzeyleri



Şekil 9. Gruplara ait penis dokusunun HIF-1α immunohistokimyasal boyaması ışık mikroskobundaki görüntüsü

Sarı oklar immünpozitif hücreleri göstermekte. P ve P+R gruplarında hem kavernöz dokularda hem de üretra epitelinde artmış immünpozitiflik gözlenmekte. P+[NaHS]+R grubu ise kontrol grubuna benzer şekilde pozitif hücrelerde azalma olduğu gözlenmekte.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, iskemik priapizm modeli oluşturulan deney hayvanlarında H_2S'nin etkinliğinin değerlendirilmesi amacıyla penil dokuda, H_2S ve HIF-1α düzey ölçümleri ve histopatolojik değerlendirme yapıldı. Elde edilen bulgulara göre; priapizm grubunda vazokonjesyon, kolajen, deskuamasyon, ödem ve inflamasyonda artış görüldü. Bu bulgular priapizm sonrası reperfüzyon yapılan grupta da devam etmekteydi. Bu gruplarda L-sisteinle indüklenen H_2S düzeyi de azaldı. Reperfüzyon öncesi H_2S donörü NaHS uygulanması, vazokonjesyon, kolajen, deskuamasyonda anlamlı derecede azalmaya neden oldu. Ödem ve inflamasyonda azalma görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi. Priapizm ve priapizm sonrası reperfüzyon uygulanan gruplarda azalan H_2S düzeyi, reperfüzyon öncesi NaHS uygulanan grupta anlamlı derecede arttı. Ayrıca NaHS priapizme ve reperfüzyona bağlı olarak artan HIF-1α düzeyinde de azalmaya neden oldu.

İskemik priapizm, çok az kavernöz arter girişi olan veya hiç olmayan KK sertliği ile belirgin kalıcı bir ereksiyondur. İskeminin bir sonucu olarak, oksijenasyondan yoksun olan vücut ortamı hiperkarbik ve asidotik hale gelir; bu değişikliklerin ciddiyeti zamana bağlıdır (108). İskemik priapizme bağlı hipoksi ve asidik metabolik ürünlerin birikmesi, başlangıçtan dört saat sonra geliştiği bildirilmektedir (109). Bu nedenle dört saat süren priapizmi tercih ettiğimiz modelimizde, penil dokuda ortalama skoru iki ve üzeri olan vazokonjesyon ve kolajen artışı gözlendi. Bununla birlikte genel skoru bir civarında olan ılımlı derecede inflamasyon ve ödem gözlendi. Yine üretra epitelindeki deskuamasyon orta düzeye yakındı. Tüm bu parametrelerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış mevcuttu. Priapizm modellerinde ultrastrüktürel yapıyı veya fonksiyonel yanıtları farklı sürelerde değerlendiren çalışmalar bulunmaktadır. Kölükçü ve arkadaşlarının bir saatlik iskemik priapizm modeli oluşturdukları çalışmalarında, yüksek derecede vazokonjesyon, orta derecede deskuamasyonun yanı sıra ılımlı derecede inflamasyon ve ödemde artış, reperfüzyon döneminde ise ödemde ciddi artış rapor edilmektedir (105). Başka bir çalışmada bir saatlik hipoksiyi takiben 30 dakika reperfüzyon sonrası penil dokuda ılımlı inflamasyon ve deskuamasyon gözlenirken, ciddi oranda ödem ve vazokonjesyon gözlenmektedir (19). Bu çalışmalarda reperfüzyon sonrası ödemde ciddi artış olduğu görülmektedir. Bizim çalışmamızda da reperfüzyon sonrası ödem ve

inflamasyonda artış gözlenmesine rağmen, priapizm grubuyla arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yukarıda bahsi geçen çalışmalarda gruplardaki n sayısı çalışmamızdan fazladır. Fark çalışmamızdaki n sayısından kaynaklı olabilir. Bu çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda penil dokuda kolajen düzeyi de değerlendirildi. Bulgularımıza göre priapizm grubunda kolajen düzeyi kontrol grubuna göre anlam olarak arttı. Bu artış reperfüzyon sonrasında da devam etti. Bizim bulgumuza benzer olarak bir çalışmada altı saat süren priapizm modelinde, kolajen düzeylerinde artış olduğu ve düz kas hücrelerinin kolajen ile yer değiştirdiği, bu kolajen artışına da dönüştürücü büyüme faktörü beta 1 (TGF-β1) artışının neden olduğu bildirilmektedir (110).

Çeşitli dokularda H_2S'nin iskemiye bağlı oluşan hipokside etkisini araştıran çalışmalar bulunmakla birlikte (7, 9, 111) şu ana kadarki literatür araştırmalarımıza göre bilgimiz dahilinde iskemik priapizmde penil dokudaki etkilerini araştıran çalışma bulunmamaktadır. Hipoksinin H_2S sinyali üzerine etkisini araştıran çalışmalara bakıldığında, hipoksiye yanıt olarak H_2S seviyelerindeki değişimin farklılık gösterdiği görülmektedir. Tao ve ark. hipoksinin 3-MST protein seviyelerini önemli ölçüde artırdığını, CSE protein seviyelerini azalttığını ve CBS seviyelerini değiştirmediğini bildirerek, bu üç H_2S üreten enzimin hipoksik koşullara farklı tepki verdiğini ortaya koymuştur. Bu enzimlerin ekspresyon düzeylerinin de dokuya göre farklılık gösterdiği bilindiği için hipoksiye yanıt olarak farklı dokularda farklı etkiler görülebilmektedir (112). Hipoksi H_2S düzeylerinin beyinde artışına neden olurken, böbrek ve miyokardda azalmasına neden olduğu ve beyindeki artış düzeylerinin de iskemi reperfüzyon süresine bağlı olarak dinamik bir değişkenlik gösterdiği bulunmuştur (113). Tao ve ark.'nın diğer bir bulgusu ise hipoksi düzeyine bağlı olarak H_2S etkisinin değişken olduğudur. Bu bulguda düşük düzeyde hipokside (%10 oksijen) H_2S'nin vasküler endotel hücre göçünü önemli ölçüde arttığı, daha ileri hipoksi de ise (%8 oksijen) önemli ölçüde engellediği gösterilmiştir. Yani hipoksinin miktarına bağlı olarak da yanıt değişebilmektedir. Yine başka bir çalışmada hipoksiye bağlı pulmoner hipertansiyon modelinde, plazma ve akciğer dokusunda H_2S düzeylerinin düştüğü bildirilmiştir (114). Wu ve arkadaşları ise farelere intraperitoneal enjeksiyon yoluyla H_2S verilmesinin, farelerde kronik hipoksi kaynaklı pulmoner hipertansiyonu önlediği ve tersine çevirdiğini, pulmoner vasküler direnci, pulmoner arter yeniden

şekillenmesini ve sağ ventrikül hipertrofisini azalttığını ve sistemik hemodinamiği etkilemeden fonksiyonel kapasiteyi iyileştirdiğini bulmuşlardır (115). Wang ve arkadaşları hipoksinin farelerde dolaşımdaki H_2S seviyesini düşürdüğünü ve bunun GYY4137 tedavisi ile tersine çevrilebileceğini bildirmiştir (116). Biz de penil dokuda H_2S'nin hipoksik ortamda düzeyini araştırdığımız çalışmamızda, L-sisteinle indüklenen H_2S düzeylerinin priapizm grubunda azaldığını saptadık. Bu azalma reperfüzyon döneminde de devam etti.

Hipoksik koşullara yanıt olarak bazı adaptif mekanizmalar devreye girmekte ve HIF-1α gibi bazı homeostatik düzenleyici genler, vaskülarizasyonu ve doku büyümesini kontrol etmek için enzimler ve diğer transkripsiyon faktörleri ile etkileşime girmektedir. Hipoksiye bağlı artan HIF-1α düzeyleri anaerobik metabolizmaya geçişi sağlamakta, VEGF aracılığıyla anjiyogenezi arttırmakta, inflamasyona ve apoptoza neden olmaktadır (117). Çalışmamızda priapizm grubunda HIF-1α düzeyinin arttığını saptadık. Buna paralel olarak KK'da, inflamasyonda, kolajen miktarında artış saptadık. Bulgumuza benzer olarak KK düz kas hücre kültüründe yapılan bir çalışmada hipoksik ortamda HIF-1α ve kolajen düzeyinin arttığı bildirilmektedir (118). Başka bir çalışmada farede priapizm modelinde, artan HIF-1α düzeyinin PDE-5 gen ekspresyonunda azalmaya neden olduğu, intrakavernöz basıncın azalıp erektil yanıtların bozulduğu bildirilmektedir (30). Bu çalışmalar ve bulgumuz hipokside HIF-1α artışının hem fonksiyonel olarak hem de yapısal olarak KK'da değişikliğe neden olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızdaki bir diğer sınırlılık fonksiyonel yanıtların değerlendirilememesidir.

İskemi/reperfüzyonda hipoksinin H_2S düzeyini azalttığı dokularda, eksojen H_2S ile tedavinin koruyucu etki oluşturduğu birçok çalışmada ortaya konmuştur (7). Kalp, karaciğer, beyin, böbrek gibi çeşitli organlarda farklı konsantrasyonlarda uygulanan H_2S donörleri, oksidatif stres artışı, inflamasyon, apoptozu önleyerek iskemi reperfüzyonda koruyucu etki oluşturmuşlardır. Benzer olarak reperfüzyon öncesi NaHS uyguladığımız grupta, azalan H_2S düzeyinde artış, buna bağlı olarak da HIF-1α düzeyinde azalma görülmüştür. Ayrıca penil dokuda deskuamasyon, vazokonjesyon ve kolajen düzeylerinde azalma gözlemlenmiştir. H_2S'nin HIF-1 üzerindeki etkisinde zıt regülasyon paternleri bulunmaktadır. Bu zıt ektilerin NaHS konsantrasyonuna bağlı olabileceği veya tür farkına bağlı olabileceği bildirilmektedir

(111). Tür farkı varsayımın dayandırıldığı çalışmaların birinde H_2S'ün HIF-1 upregülasyonu yaptığı dolaşım sistemi olmayan bir solucan türünde gösterilmiştir (119). Memeliler gibi daha oksijen ihtiyacı fazla olan yüksek organizmalarda bu etki tam tersine olmakta ve hipoksik ortamda H_2S HIF-1 downregülasyonuna neden olmaktadır. Bunu destekleyen çalışma ise HEK293T, Hep3B, ve EA.hy926 hücre hatlarında yapılmış ve H_2S'ün hipoksik ve hipoksiyi taklit eden ortamlarda HIF-1 protein düzeyini azalttığı gösterilmiştir (120).

İskemik priapizmde etkili tedavide, korporal parsiyel oksijen basıncında artış için korporal venöz çıkışın ve arteriyel girişin yeniden sağlanması gereklidir (18). Birinci sıra tedavide, tanısal aspirasyon ve ardından terapötik aspirasyon, aspirasyon/irrigasyon veya sempatomimetik bir ilacın enjeksiyonu yapılır. Sempatomimetik ilaçlara (fenilefrin, efedrin, epinefrin, norepinefrin, metraminol ve etilefrin) cevaben etkili düz kas kasılması için vücut ortamının oksijenli kanla restorasyonu gereklidir (42). İskemik priapizm tedavisi sırasında vücut kan akışının yeniden sağlanması, iskemik dokuların reperfüzyonu ile ilişkilidir ve bu dönemde oksijendeki şiddetli artışın doku hasarına neden olabilen ROS ürettiği deneysel bir çalışma ile gösterilmiştir (18). Biz de çalışmamızda reperfüzyon grubunda doku hasarının hâlâ devam ettiğini gösterdik ancak bunun oksidatif stresle ilişkisini ortaya koyamadık. Bu çalışmamızdaki bir diğer kısıtlılıktır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma ile dört saat süren priapizm modelinde penil dokuda yapısal bozulmalar olduğunu, doku reperfüze edildiği dönemde de bu hasarın devam ettiğini ve H_2S'nin bu dönemlerde düzeyinin azaldığını ortaya koymuş olduk. Ayrıca hipoksik ortamlarda dokuda adaptif yanıtı düzenleyen HIF-1α'nın hem priapizm hem de reperfüzyon döneminde düzeyinin arttığını gösterdik. Reperfüzyon öncesi H_2S donörü NaHS uygulamasının penil dokuda H_2S düzeyini arttırdığını ve reperfüzyon döneminde devam eden dokun hasarını önlediğini gösterdik.

İskemik priapizm tedavisi sırasında penil dokunun reperfüze olmasının hipoksiye ek bir hasar oluşturduğu literatürde deneysel olarak ortaya konmuştur. Çalışmamızda H_2S düzeyinin regülasyonunun bu hasarı önlemesi, H_2S'nin bu koruyucu etkisini net olarak ortaya koymaya yönelik yapılacak araştırmalar için ön bulgu niteliğindedir. Bu sonucun erektil fonksiyona nasıl yansıdığı ve mekanizmaya yönelik yapılacak ileri çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Broderick GA, Kadioglu A, Bivalacqua TJ, Ghanem H, Nehra A, Shamloul R. Priapism: pathogenesis, epidemiology, and management. J Sex Med. 2010;7(1 Pt 2):476-500.

2. Montague DK, Jarow J, Broderick GA, Dmochowski RR, Heaton JP, Lue TF, ve ark. American Urological Association guideline on the management of priapism. J Urol. 2003;170(4 Pt 1):1318-24.

3. Salonia A, Eardley I, Giuliano F, Hatzichristou D, Moncada I, Vardi Y, ve ark. European Association of Urology guidelines on priapism. Eur Urol. 2014;65(2):480-9.

4. Spycher MA, Hauri D. The ultrastructure of the erectile tissue in priapism. J Urol. 1986;135(1):142-7.

5. Karaguzel E, Bayraktar C, Kutlu O, Yulug E, Mentese A, Okatan AE, ve ark. The possible protective effects of dipyridamole on ischemic reperfusion injury of priapism. Int Braz J Urol. 2016;42(1):146-53.

6. Ugwumba FO, Ekwedigwe HC, Echetabu KN, Okoh AD, Nnabugwu I, Ugwuidu ES. Ischemic priapism in South-East Nigeria: Presentation, management challenges, and aftermath issues. Nigerian journal of clinical practice. 2016;19(2):207-11.

7. Wu D, Wang J, Li H, Xue M, Ji A, Li Y. Role of Hydrogen Sulfide in Ischemia-Reperfusion Injury. Oxidative medicine and cellular longevity. 2015;2015:186908.

8. Wetzel MD, Wenke JC. Mechanisms by which hydrogen sulfide attenuates muscle function following ischemia-reperfusion injury: effects on Akt signaling, mitochondrial function, and apoptosis. J Transl Med. 2019;17(1):33.

9. Osmond JM, Kanagy NL. Modulation of hydrogen sulfide by vascular hypoxia. Hypoxia (Auckl). 2014;2:117-26.

10. Bir SC, Kolluru GK, McCarthy P, Shen X, Pardue S, Pattillo CB, ve ark. Hydrogen sulfide stimulates ischemic vascular remodeling through nitric oxide synthase and nitrite reduction activity regulating hypoxia-inducible factor-1α and vascular endothelial growth factor-dependent angiogenesis. J Am Heart Assoc. 2012;1(5):e004093.

11. Srilatha B, Adaikan PG, Moore PK. Possible role for the novel gasotransmitter hydrogen sulphide in erectile dysfunction--a pilot study. European journal of pharmacology. 2006;535(1-3):280-2.

12. Srilatha B, Adaikan PG, Li L, Moore PK. Hydrogen sulphide: a novel endogenous gasotransmitter facilitates erectile function. J Sex Med. 2007;4(5):1304-11.

13. d'Emmanuele di Villa Bianca R, Sorrentino R, Maffia P, Mirone V, Imbimbo C, Fusco F, ve ark. Hydrogen sulfide as a mediator of human corpus cavernosum smooth-muscle relaxation. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2009;106(11):4513-8.

14. Zhang Y, Yang J, Wang T, Wang SG, Liu JH, Yin CP, ve ark. Decreased Endogenous Hydrogen Sulfide Generation in Penile Tissues of Diabetic Rats with Erectile Dysfunction. J Sex Med. 2016;13(3):350-60.

15. di Villa Bianca R, Cirino G, Sorrentino R. Hydrogen Sulfide and Urogenital Tract. Handbook of experimental pharmacology. 2015;230:111-36.

16. Yetik-Anacak G, Dikmen A, Coletta C, Mitidieri E, Dereli M, Donnarumma E, ve ark. Hydrogen sulfide compensates nitric oxide deficiency in murine corpus cavernosum. Pharmacol Res. 2016;113(Pt A):38-43.

17. Anele UA, Morrison BF, Burnett AL. Molecular pathophysiology of priapism: emerging targets. Curr Drug Targets. 2015;16(5):474-83.

18. Munarriz R, Park K, Huang YH, Saenz de Tejada I, Moreland RB, Goldstein I, ve ark. Reperfusion of ischemic corporal tissue: physiologic and biochemical changes in an animal model of ischemic priapism. Urology. 2003;62(4):760-4.

19. Kölükçü E, Parlaktaş BS, Uluocak N, Deresoy F, Muzaffer K, Unsal V. Dapsone can be a new treatment option for reducing the detrimental effect of priapism. J Health Sci Med. 2021;4(6):800-8.

20. Uluocak N, Atılgan D, Erdemir F, Parlaktas BS, Yasar A, Erkorkmaz U, ve ark. An animal model of ischemic priapism and the effects of melatonin on antioxidant enzymes and oxidative injury parameters in rat penis. International urology and nephrology. 2010;42(4):889-95.

21. Kölükçü E, Parlaktaş BS, Kölükçü V, Firat F, Deresoy FA, Katar M, ve ark. Protective effects of dexmedetomidine on ischaemia-reperfusion injury in an experimental rat model of priapism. Andrologia. 2021;53(3):e13985.

22. Nath KA, Shah V, Haggard JJ, Croatt AJ, Smith LA, Hebbel RP, ve ark. Mechanisms of vascular instability in a transgenic mouse model of sickle cell disease. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2000;279(6):R1949-55.

23. Gladwin MT, Sachdev V, Jison ML, Shizukuda Y, Plehn JF, Minter K, ve ark. Pulmonary hypertension as a risk factor for death in patients with sickle cell disease. N Engl J Med. 2004;350(9):886-95.

24. Belcher JD, Mahaseth H, Welch TE, Otterbein LE, Hebbel RP, Vercellotti GM. Heme oxygenase-1 is a modulator of inflammation and vaso-occlusion in transgenic sickle mice. J Clin Invest. 2006;116(3):808-16.

25. Jin YC, Gam SC, Jung JH, Hyun JS, Chang KC, Hyun JS. Expression and activity of heme oxygenase-1 in artificially induced low-flow priapism in rat penile tissues. J Sex Med. 2008;5(8):1876-82.

26. Yetik-Anacak G, Sorrentino R, Linder AE, Murat N. Gas what: NO is not the only answer to sexual function. British journal of pharmacology. 2015;172(6):1434-54.

27. Morita T, Perrella MA, Lee ME, Kourembanas S. Smooth muscle cell-derived carbon monoxide is a regulator of vascular cGMP. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1995;92(5):1475-9.

28. Filippi S, Marini M, Vannelli GB, Crescioli C, Granchi S, Vignozzi L, ve ark. Effects of hypoxia on endothelin-1 sensitivity in the corpus cavernosum. Mol Hum Reprod. 2003;9(12):765-74.

29. Unus I, Karakeci A, Ozan T, Firdolas F, Orhan IJDTD. Use of Bosentan, Theophylline and Vardenafil in Treatment of Priapism. 2016;43(1):27-32.

30. Ning C, Wen J, Zhang Y, Dai Y, Wang W, Zhang W, ve ark. Excess adenosine A2B receptor signaling contributes to priapism through HIF-1α mediated reduction of PDE5 gene expression. FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. 2014;28(6):2725-35.

31. Ravelli KG, Ramos AT, Gonçalves LB, Magnoli FC, Troncone LR. Phoneutria nigriventer spider toxin Tx2-6 induces priapism in mice even after cavernosal denervation. Toxicon. 2017;130:29-34.

32. Andersson KE. Mechanisms of penile erection and basis for pharmacological treatment of erectile dysfunction. Pharmacol Rev. 2011;63(4):811-59.

33. Andersson KE, Wagner G. Physiology of penile erection. Physiol Rev. 1995;75(1):191-236.

34. NIH Consensus Conference. Impotence. NIH Consensus Development Panel on Impotence. Jama. 1993;270(1):83-90.

35. Ayta IA, McKinlay JB, Krane RJ. The likely worldwide increase in erectile dysfunction between 1995 and 2025 and some possible policy consequences. BJU Int. 1999;84(1):50-6.

36. Çayan S, Kendirci M, Yaman Ö, Aşçı R, Orhan İ, Usta MF, ve ark. Prevalence of erectile dysfunction in men over 40 years of age in Turkey: Results from the Turkish Society of Andrology Male Sexual Health Study Group. Turk J Urol. 2017;43(2):122-9.

37. Irwin GM. Erectile Dysfunction. Prim Care. 2019;46(2):249-55.

38. Mihmanli I, Kantarci F. Erectile dysfunction. Semin Ultrasound CT MR. 2007;28(4):274-86.

39. Hudnall M, Reed-Maldonado AB, Lue TF. Advances in the understanding of priapism. Translational andrology and urology. 2017;6(2):199-206.

40. Levey HR, Kutlu O, Bivalacqua TJ. Medical management of ischemic stuttering priapism: a contemporary review of the literature. Asian J Androl. 2012;14(1):156-63.

41. Bivalacqua TJ, Allen BK, Brock G, Broderick GA, Kohler TS, Mulhall JP, ve ark. Acute Ischemic Priapism: An AUA/SMSNA Guideline. J Urol. 2021;206(5):1114-21.

42. Ericson C, Baird B, Broderick GA. Management of Priapism: 2021 Update. Urol Clin North Am. 2021;48(4):565-76.

43. Biebel MG, Gross MS, Munarriz R. Review of Ischemic and Non-ischemic Priapism. Curr Urol Rep. 2022;23(7):143-53.

44. KARAKECİ AJFTD. Priapizm Patofizyolojisinde Alternatif Yolaklar. 2014;19(1):1-5.

45. Wu MY, Yiang GT, Liao WT, Tsai AP, Cheng YL, Cheng PW, ve ark. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. Cell Physiol Biochem. 2018;46(4):1650-67.

46. Lee MC, Velayutham M, Komatsu T, Hille R, Zweier JL. Measurement and characterization of superoxide generation from xanthine dehydrogenase: a redox-regulated pathway of radical generation in ischemic tissues. Biochemistry. 2014;53(41):6615-23.

47. Berry CE, Hare JM. Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. J Physiol. 2004;555(Pt 3):589-606.

48. Cantu-Medellin N, Kelley EE. Xanthine oxidoreductase-catalyzed reactive species generation: A process in critical need of reevaluation. Redox Biol. 2013;1(1):353-8.

49. Harrison R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? Free Radic Biol Med. 2002;33(6):774-97.

50. Bedard K, Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. Physiol Rev. 2007;87(1):245-313.

51. Nanduri J, Vaddi DR, Khan SA, Wang N, Makarenko V, Semenza GL, ve ark. HIF-1α activation by intermittent hypoxia requires NADPH oxidase stimulation by xanthine oxidase. PLoS One. 2015;10(3):e0119762.

52. Matsushima S, Sadoshima J. Yin and Yang of NADPH Oxidases in Myocardial Ischemia-Reperfusion. Antioxidants (Basel). 2022;11(6).

53. Gottlieb RA. Cell death pathways in acute ischemia/reperfusion injury. J Cardiovasc Pharmacol Ther. 2011;16(3-4):233-8.

54. Lopez-Neblina F, Toledo AH, Toledo-Pereyra LH. Molecular biology of apoptosis in ischemia and reperfusion. J Invest Surg. 2005;18(6):335-50.

55. Zhu J, Yao K, Wang Q, Guo J, Shi H, Ma L, ve ark. Ischemic Postconditioning-Regulated miR-499 Protects the Rat Heart Against Ischemia/Reperfusion Injury by Inhibiting Apoptosis through PDCD4. Cell Physiol Biochem. 2016;39(6):2364-80.

56. Eefting F, Rensing B, Wigman J, Pannekoek WJ, Liu WM, Cramer MJ, ve ark. Role of apoptosis in reperfusion injury. Cardiovascular research. 2004;61(3):414-26.

57. McCully JD, Wakiyama H, Hsieh YJ, Jones M, Levitsky S. Differential contribution of necrosis and apoptosis in myocardial ischemia-reperfusion injury. American journal of physiology Heart and circulatory physiology. 2004;286(5):H1923-35.

58. Choudhry H, Harris AL. Advances in Hypoxia-Inducible Factor Biology. Cell Metab. 2018;27(2):281-98.

59. Semenza GL, Nejfelt MK, Chi SM, Antonarakis SE. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1991;88(13):5680-4.

60. Chee NT, Lohse I, Brothers SP. mRNA-to-protein translation in hypoxia. Mol Cancer. 2019;18(1):49.

61. Masoud GN, Li W. HIF-1α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy. Acta Pharm Sin B. 2015;5(5):378-89.

62. Majmundar AJ, Wong WJ, Simon MC. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress. Mol Cell. 2010;40(2):294-309.

63. Eckle T, Köhler D, Lehmann R, El Kasmi K, Eltzschig HK. Hypoxia-inducible factor-1 is central to cardioprotection: a new paradigm for ischemic preconditioning. Circulation. 2008;118(2):166-75.

64. Reiffenstein RJ, Hulbert WC, Roth SH. Toxicology of hydrogen sulfide. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 1992;32:109-34.

65. Wang R. Two's company, three's a crowd: can H2S be the third endogenous gaseous transmitter? FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. 2002;16(13):1792-8.

66. Wang R. Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. Physiol Rev. 2012;92(2):791-896.

67. Li Q, Lancaster JR, Jr. Chemical foundations of hydrogen sulfide biology. Nitric Oxide. 2013;35:21-34.

68. Kolluru GK, Shen X, Bir SC, Kevil CG. Hydrogen sulfide chemical biology: pathophysiological roles and detection. Nitric Oxide. 2013;35:5-20.

69. Mantle D, Yang G. Hydrogen sulfide and metal interaction: the pathophysiological implications. Molecular and cellular biochemistry. 2022;477(9):2235-48.

70. Liu J, Mesfin FM, Hunter CE, Olson KR, Shelley WC, Brokaw JP, ve ark. Recent Development of the Molecular and Cellular Mechanisms of Hydrogen Sulfide Gasotransmitter. Antioxidants (Basel). 2022;11(9).

71. Zhang J, Shan H, Tao L, Zhang M. Biological Effects of Hydrogen Sulfide and Its Protective Role in Intracerebral Hemorrhage. Journal of molecular neuroscience : MN. 2020;70(12):2020-30.

72. Ding H, Chang J, He F, Gai S, Yang P. Hydrogen Sulfide: An Emerging Precision Strategy for Gas Therapy. Adv Healthc Mater. 2022;11(4):e2101984.

73. Calvert JW, Elston M, Nicholson CK, Gundewar S, Jha S, Elrod JW, ve ark. Genetic and pharmacologic hydrogen sulfide therapy attenuates ischemia-induced heart failure in mice. Circulation. 2010;122(1):11-9.

74. Geng B, Chang L, Pan C, Qi Y, Zhao J, Pang Y, ve ark. Endogenous hydrogen sulfide regulation of myocardial injury induced by isoproterenol. Biochemical and biophysical research communications. 2004;318(3):756-63.

75. Bian JS, Yong QC, Pan TT, Feng ZN, Ali MY, Zhou S, ve ark. Role of hydrogen sulfide in the cardioprotection caused by ischemic preconditioning in the rat heart and cardiac myocytes. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. 2006;316(2):670-8.

76. Searcy DG, Whitehead JP, Maroney MJ. Interaction of Cu,Zn superoxide dismutase with hydrogen sulfide. Archives of biochemistry and biophysics. 1995;318(2):251-63.

77. Jha S, Calvert JW, Duranski MR, Ramachandran A, Lefer DJ. Hydrogen sulfide attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury: role of antioxidant and antiapoptotic signaling. American journal of physiology Heart and circulatory physiology. 2008;295(2):H801-6.

78. Li L, Whiteman M, Guan YY, Neo KL, Cheng Y, Lee SW, ve ark. Characterization of a novel, water-soluble hydrogen sulfide-releasing molecule (GYY4137): new insights into the biology of hydrogen sulfide. Circulation. 2008;117(18):2351-60.

79. Holwerda KM, Burke SD, Faas MM, Zsengeller Z, Stillman IE, Kang PM, ve ark. Hydrogen sulfide attenuates sFlt1-induced hypertension and renal damage by upregulating vascular endothelial growth factor. Journal of the American Society of Nephrology : JASN. 2014;25(4):717-25.

80. Zhao W, Wang R. H(2)S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. American journal of physiology Heart and circulatory physiology. 2002;283(2):H474-80.

81. Bucci M, Papapetropoulos A, Vellecco V, Zhou Z, Pyriochou A, Roussos C, ve ark. Hydrogen sulfide is an endogenous inhibitor of phosphodiesterase activity. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 2010;30(10):1998-2004.

82. Cai WJ, Wang MJ, Moore PK, Jin HM, Yao T, Zhu YC. The novel proangiogenic effect of hydrogen sulfide is dependent on Akt phosphorylation. Cardiovascular research. 2007;76(1):29-40.

83. Papapetropoulos A, Pyriochou A, Altaany Z, Yang G, Marazioti A, Zhou Z, ve ark. Hydrogen sulfide is an endogenous stimulator of angiogenesis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2009;106(51):21972-7.

84. Wang MJ, Cai WJ, Li N, Ding YJ, Chen Y, Zhu YC. The hydrogen sulfide donor NaHS promotes angiogenesis in a rat model of hind limb ischemia. Antioxidants & redox signaling. 2010;12(9):1065-77.

85. Coletta C, Papapetropoulos A, Erdelyi K, Olah G, Módis K, Panopoulos P, ve ark. Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2012;109(23):9161-6.

86. Calvert JW, Jha S, Gundewar S, Elrod JW, Ramachandran A, Pattillo CB, ve ark. Hydrogen sulfide mediates cardioprotection through Nrf2 signaling. Circulation research. 2009;105(4):365-74.

87. Sodha NR, Clements RT, Feng J, Liu Y, Bianchi C, Horvath EM, ve ark. The effects of therapeutic sulfide on myocardial apoptosis in response to ischemia-reperfusion injury. European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery. 2008;33(5):906-13.

88. Andreadou I, Iliodromitis EK, Rassaf T, Schulz R, Papapetropoulos A, Ferdinandy P. The role of gasotransmitters NO, H2S and CO in myocardial ischaemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning and remote conditioning. British journal of pharmacology. 2015;172(6):1587-606.

89. Polhemus DJ, Lefer DJ. Emergence of hydrogen sulfide as an endogenous gaseous signaling molecule in cardiovascular disease. Circulation research. 2014;114(4):730-7.

90. Bos EM, Snijder PM, Jekel H, Weij M, Leemans JC, van Dijk MC, ve ark. Beneficial effects of gaseous hydrogen sulfide in hepatic ischemia/reperfusion injury. Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation. 2012;25(8):897-908.

91. Wang D, Ma Y, Li Z, Kang K, Sun X, Pan S, ve ark. The role of AKT1 and autophagy in the protective effect of hydrogen sulphide against hepatic ischemia/reperfusion injury in mice. Autophagy. 2012;8(6):954-62.

92. Tripatara P, Patel NS, Collino M, Gallicchio M, Kieswich J, Castiglia S, ve ark. Generation of endogenous hydrogen sulfide by cystathionine gamma-lyase limits renal ischemia/reperfusion injury and dysfunction. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology. 2008;88(10):1038-48.

93. Simon F, Scheuerle A, Gröger M, Stahl B, Wachter U, Vogt J, ve ark. Effects of intravenous sulfide during porcine aortic occlusion-induced kidney ischemia/reperfusion injury. Shock (Augusta, Ga). 2011;35(2):156-63.

94. Yin J, Tu C, Zhao J, Ou D, Chen G, Liu Y, ve ark. Exogenous hydrogen sulfide protects against global cerebral ischemia/reperfusion injury via its anti-oxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects in rats. Brain research. 2013;1491:188-96.

95. Wang Y, Jia J, Ao G, Hu L, Liu H, Xiao Y, ve ark. Hydrogen sulfide protects blood-brain barrier integrity following cerebral ischemia. Journal of neurochemistry. 2014;129(5):827-38.

96. Jang H, Oh MY, Kim YJ, Choi IY, Yang HS, Ryu WS, ve ark. Hydrogen sulfide treatment induces angiogenesis after cerebral ischemia. Journal of neuroscience research. 2014;92(11):1520-8.

97. Gheibi S, Aboutaleb N, Khaksari M, Kalalian-Moghaddam H, Vakili A, Asadi Y, ve ark. Hydrogen sulfide protects the brain against ischemic reperfusion injury in a transient model of focal cerebral ischemia. Journal of molecular neuroscience : MN. 2014;54(2):264-70.

98. Lin X, Yu S, Chen Y, Wu J, Zhao J, Zhao Y. Neuroprotective effects of diallyl sulfide against transient focal cerebral ischemia via anti-apoptosis in rats. Neurological research. 2012;34(1):32-7.

99. Ren C, Du A, Li D, Sui J, Mayhan WG, Zhao H. Dynamic change of hydrogen sulfide during global cerebral ischemia-reperfusion and its effect in rats. Brain research. 2010;1345:197-205.

100. Liu H, Bai XB, Shi S, Cao YX. Hydrogen sulfide protects from intestinal ischaemia-reperfusion injury in rats. The Journal of pharmacy and pharmacology. 2009;61(2):207-12.

101. Cui J, Liu L, Zou J, Qiao W, Liu H, Qi Y, ve ark. Protective effect of endogenous hydrogen sulfide against oxidative stress in gastric ischemia-reperfusion injury. Experimental and therapeutic medicine. 2013;5(3):689-94.

102. Guo C, Liang F, Shah Masood W, Yan X. Hydrogen sulfide protected gastric epithelial cell from ischemia/reperfusion injury by Keap1 s-sulfhydration, MAPK dependent anti-apoptosis and NF-κB dependent anti-inflammation pathway. European journal of pharmacology. 2014;725:70-8.

103. Fu Z, Liu X, Geng B, Fang L, Tang C. Hydrogen sulfide protects rat lung from ischemia-reperfusion injury. Life sciences. 2008;82(23-24):1196-202.

104. Azizi F, Seifi B, Kadkhodaee M, Ahghari P. Administration of hydrogen sulfide protects ischemia reperfusion-induced acute kidney injury by reducing the oxidative stress. Ir J Med Sci. 2016;185(3):649-54.

105. Kolukcu E, Kilic S, Parlaktas BS, Erdemir F, Unsal V, Atılgan D, ve ark. The effects of oxytocin on penile tissues in experimental priapism model in rats. International urology and nephrology. 2019;51(2):231-8.

106. Erdemir F, Firat F, Markoc F, Atilgan D, Parlaktas BS, Kuyucu YE, ve ark. The effect of pentoxifylline on penile cavernosal tissues in ischemic priapism-induced rat model. International urology and nephrology. 2014;46(10):1961-7.

107. Micili SC, Goker A, Kuscu K, Ergur BU, Fuso A. α-Lipoic Acid Vaginal Administration Contrasts Inflammation and Preterm Delivery in Rats. Reprod Sci. 2019;26(1):128-38.

108. Dekalo S, Stern N, Broderick GA, Brock G. Priapism or Prolonged Erection: Is 4 - 6 Hours of Cavernous Ischemia the Time Point of Irreversible Tissue Injury? Sexual medicine reviews. 2022;10(4):660-8.

109. Juenemann KP, Lue TF, Abozeid M, Hellstrom WJ, Tanagho EA. Blood gas analysis in drug-induced penile erection. Urologia internationalis. 1986;41(3):207-11.

110. Sanli O, Armagan A, Kandirali E, Ozerman B, Ahmedov I, Solakoglu S, ve ark. TGF-beta1 neutralizing antibodies decrease the fibrotic effects of ischemic priapism. International journal of impotence research. 2004;16(6):492-7.

111. Wu B, Teng H, Zhang L, Li H, Li J, Wang L, ve ark. Interaction of Hydrogen Sulfide with Oxygen Sensing under Hypoxia. Oxidative medicine and cellular longevity. 2015;2015:758678.

112. Tao B, Wang R, Sun C, Zhu Y. 3-Mercaptopyruvate Sulfurtransferase, Not Cystathionine β-Synthase Nor Cystathionine γ-Lyase, Mediates Hypoxia-Induced Migration of Vascular Endothelial Cells. Frontiers in pharmacology. 2017;8:657.

113. Omorou M, Liu N, Huang Y, Al-Ward H, Gao M, Mu C, ve ark. Cystathionine beta-Synthase in hypoxia and ischemia/reperfusion: A current overview. Archives of biochemistry and biophysics. 2022;718:109149.

114. Wei HL, Zhang CY, Jin HF, Tang CS, Du JB. Hydrogen sulfide regulates lung tissue-oxidized glutathione and total antioxidant capacity in hypoxic pulmonary hypertensive rats. Acta pharmacologica Sinica. 2008;29(6):670-9.

115. Wu J, Pan W, Wang C, Dong H, Xing L, Hou J, ve ark. H(2)S attenuates endoplasmic reticulum stress in hypoxia-induced pulmonary artery hypertension. Bioscience reports. 2019;39(7).

116. Wang G, Huang Y, Zhang N, Liu W, Wang C, Zhu X, ve ark. Hydrogen Sulfide Is a Regulator of Hemoglobin Oxygen-Carrying Capacity via Controlling 2,3-BPG Production in Erythrocytes. Oxidative medicine and cellular longevity. 2021;2021:8877691.

117. Ziello JE, Jovin IS, Huang Y. Hypoxia-Inducible Factor (HIF)-1 regulatory pathway and its potential for therapeutic intervention in malignancy and ischemia. The Yale journal of biology and medicine. 2007;80(2):51-60.

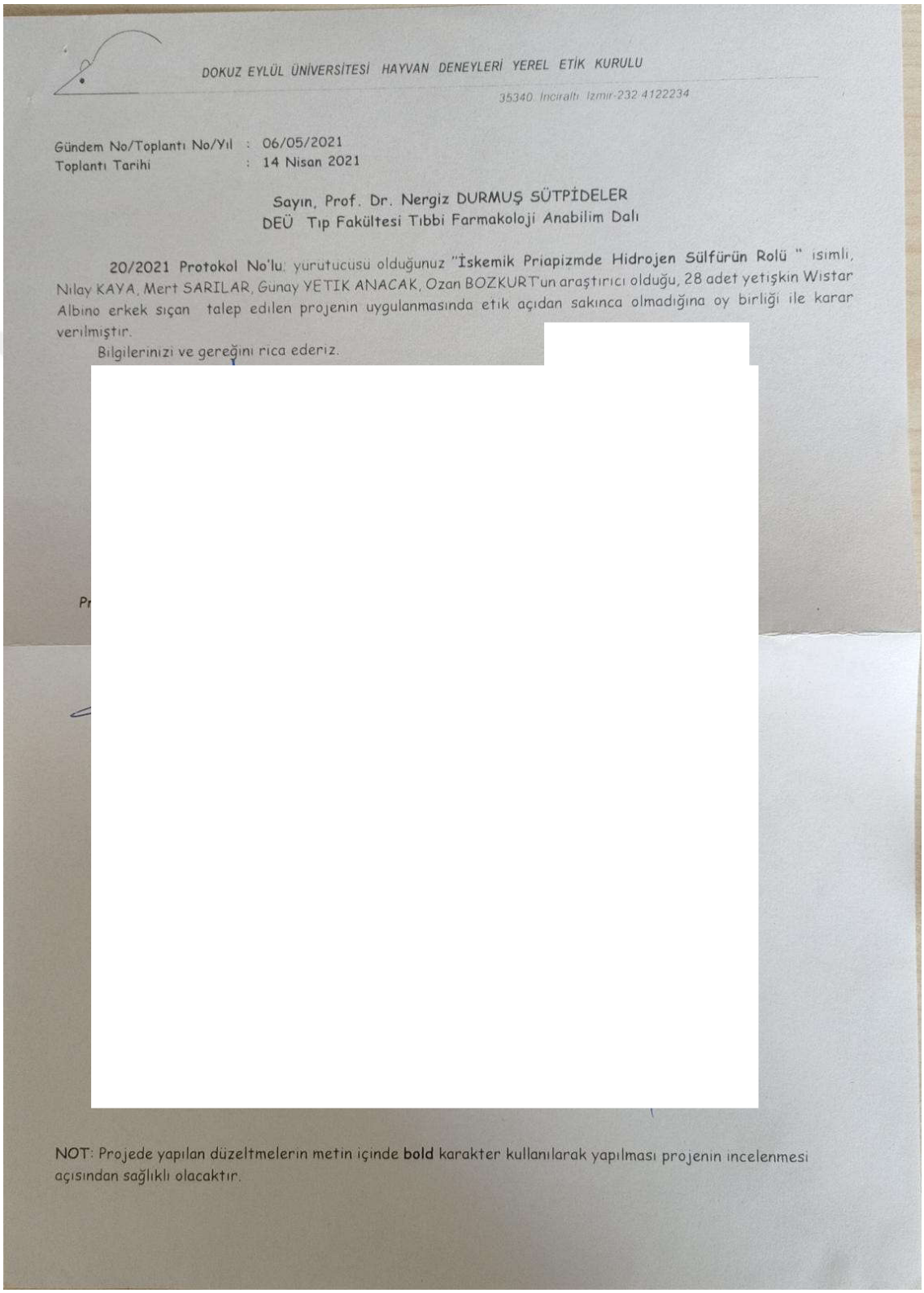
118. Chen S, Huang X, Kong X, Sun Z, Zhao F, Huang W, ve ark. Hypoxia-Induced Phenotypic Transformation of Corpus Cavernosum Smooth Muscle Cells After Cavernous Nerve Crush Injury by Down-Regulating P38 Mitogen-Activated Protein Kinase Expression. Sexual medicine. 2019;7(4):433-40.

119. Kai S, Tanaka T, Daijo H, Harada H, Kishimoto S, Suzuki K, ve ark. Hydrogen sulfide inhibits hypoxia- but not anoxia-induced hypoxia-inducible factor 1 activation in a von hippel-lindau- and mitochondria-dependent manner. Antioxidants & redox signaling. 2012;16(3):203-16.

120. Wu B, Teng H, Yang G, Wu L, Wang R. Hydrogen sulfide inhibits the translational expression of hypoxia-inducible factor-1α. British journal of pharmacology. 2012;167(7):1492-505.

8. EKLER

EK 1. ETİK KURUL ONAYI



DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

35340 İnciraltı İzmir-232 4122234

Gündem No/Toplantı No/Yıl : 06/05/2021
Toplantı Tarihi : 14 Nisan 2021

Sayın, Prof. Dr. Nergiz DURMUŞ SÜTPİDELER
DEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

20/2021 Protokol No'lu: yürütücüsü olduğunuz "**İskemik Priapizmde Hidrojen Sülfürün Rolü** " isimli, Nılay KAYA, Mert SARILAR, Günay YETİK ANACAK, Ozan BOZKURT'un araştırıcı olduğu, 28 adet yetişkin Wistar Albino erkek sıçan talep edilen projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin metin içinde **bold** karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

35340, İncirallı İzmir-232 4122234

Gündem No/Toplantı No/Yıl : 07/08/2021
Toplantı Tarihi : 02 Haziran 2021

Sayın, Prof. Dr. Nergiz DURMUŞ SÜTPİDELER
DEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

20/2021 Protokol No'lu; yürütücüsü olduğunuz "**İskemik Priapizmde Hidrojen Sülfürün Rolü** " isimli, Nilay KAYA, Ayberk SARAÇ, Ozan TARI, Günay YETIK ANACAK, Ozan BOZKURT'un araştırıcı olduğu, 28 adet yetişkin Wistar Albino erkek sıçan talep edilen projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilen projede; gönderilen belgeler incelenerek, Mert SARILAR'ın projeden ayrılması, Ayberk SARAÇ, Ozan TARI'nın projeye dahil olması ve projede penil dokuda ölçülecek parametrelere vasküler endotelyal büyüme faktörünün eklenmesi hususunda bilgi edinilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin metin içinde **bold** karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.

[redacted]

35340, İnciraltı, İzmir-232 4122234

Gönderen No/Toplantı No/Yıl : 04/13/2022
Toplantı Tarihi 05 Ekim 2022

Sayın, Prof. Dr. Nergiz DURMUŞ SÜTPİDELER
DEÜ Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

20/2021 Protokol No'lu; yürütücüsü olduğunuz "İskemik Priapismde Hidrojen Sülfürün Rolü" isimli pojeden Ayberk SARAÇIN ile Ozan TARI' nın ayrılması ve Emine Nur ÖZBEK ile Nevin ERSOY'un projeye eklenmesi hakkındaki talebiniz uygun görülmüştür.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

[redacted]

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin metin içinde bold karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.

KATKI

Bu tez projesi Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından “TYL-2022-2575” proje numarası ile desteklenmiştir.

ÖZGEÇMİŞ



NİLAY KAYA

Kişisel Bilgiler

İletişim Bilgileri

İletişim Adresi

Telefon

E-posta

İnternet Sayfası

Öğrenim Bilgileri

22 Ocak 2020 - Şu Anda (3 yıl 4 ay)
Yüksek Lisans, Tezli Program, DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, FARMAKOLOJİ (YL)
Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 3.02 / 4.0

02 Eylül 2014 - 03 Ocak 2019 (4 yıl 5 ay)
Lisans, Anadal/Normal Öğretim, EGE ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
FEN FAKÜLTESİ, BİYOKİMYA PR.
Diploma Numarası: 2018/04/0044
Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 2.66 / 4.0

Yabancı Dil Bilgileri

İNGİLİZCE (Okuma: İyi, Yazma: İyi, Konuşma: İyi)

ALMANCA (Okuma: İyi, Yazma: İyi, Konuşma: İyi)

Ar-Ge Yetkinlik

Projeler

BAP, ARAŞTIRMACI, İskemik Priapizmde Hidrojen Sülfürün Rolü, Yürütülen Kuruluş: DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, Destek Alınan Kuruluş: DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ (Yurt İçi) (Devam ediyor) .

TÜBİTAK Burs ve Destekleri

Panelistlik/İzleyicilik/Raportörlük Sayısı

Hakemlik/Panelistlik/Dış Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0
İzleyicilik/Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0
Raportörlük Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0