

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Kırıkkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Kütüphanesi

PENİL TURNİKE UYGULAMASININ YARA İYİLEŞMESİNE
ETKİSİNİN PENİL CİLT VE DOKUDAKİ VEGF/TGF-beta
DÜZEYLERİYLE DEĞERLENDİRİLMESİ

DR. MURAT KAYA

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Tutku SOYER

KIRIKKALE
2008

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kütüphanesi
Demirbaş/Kayıt no: T78
Tasnif no: TUCB/EC/78

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş
olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **UZMANLIK TEZİ** olarak kabul
edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20.05.2008

Prof. Dr. A. Murat ÇAKMAK
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Cerrahisi A.D. Başkanı
Jüri Başkanı

Yrd. Doç. Dr. Tutku Soyer
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Cerrahisi A. D.
Üye

Yrd. Doç. Dr. Şebnem K. AYVA
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji A. D.
Üye

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince engin bilgi, deneyim, içtenlik ve yardımlarıyla teorik ve pratik açıdan en iyi şekilde yetişmemi sağlayan, bilimsel açıdan yönlendirilmede çok büyük emek harcayan, asistanı olmaktan her zaman onur duyduğum ve daima onur duyacağım saygı değer hocam Kırıkkale Üniversitesi Rektörü Prof. Dr. A. Murat ÇAKMAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimimde bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, sabırla ve güleryüzü ile cerrahi olarak her türlü olumsuz davranışımı düzeltmeye çalışan, ilerde iyi bir çocuk cerrahi olarak yetişmemde emeğini esirgemeyen onur duyduğum ve daima onur duyacağım çok değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Tutku SOYER'e teşekkür ederim.

Asistanlığım boyunca bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, sabırla ve özveriyle yaklaşan, ilerde iyi bir çocuk cerrahi olarak yetişmemde emeğini esirgemeyen, her zaman pozitif enerji veren onur duyduğum ve daima onur duyacağım çok değerli hocam Doç. Dr. Salih SOMUNCU'ya teşekkür ederim.

Tezimin histopatolojik değerlendirilmesini yapan değerli hocam Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji A. D. Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr.Şebnem AYVA'ya teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarım Sevgi, Hülya, Öymen, Feyza ve Özkan'a teşekkür ederim. Ayrıca hemşire arkadaşlarıma ve tüm hastane personelimize de teşekkür ederim.

Tıp fakültesini kazanıp doktor olmamda ve iyi bir insan olarak yetişmemde emeklerini göz ardı edemeyeceğim aileme de teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan, bana çalışmam ve başarmam için güç veren, sevgi ve sabrını benden esirgemeyen daimi destekçim sevgili eşim Öznur'a da çok teşekkür ederim.

Dr. Murat KAYA

ÖZET

Kaya M, Penil turnike uygulamasının yara iyileşmesine etkisinin penil cilt ve dokulardaki VEGF/TGF-beta düzeyleriyle değerlendirilmesi. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Kırıkkale 2008

Hipospadias onarımı çocuk yaş grubunda sık uygulanan bir ürolojik operasyondur. Bu operasyonlar sırasında kanamayı azaltmak ve ereksiyon testi yapmak için penis köküne turnike uygulanmaktadır. Penil turnike süresince dokuda oluşan iskemi ve turnike sonrası sağlanan reperfüzyonun oluşturabileceği doku hasarı birçok biyokimyasal, farmakolojik ve histopatolojik çalışmayla irdelenmiştir. Ancak, penil turnikenin yara iyileşmesine olan etkisi araştırılmamıştır. Penil turnikenin neden olduğu iskemik değişikliklerin penil cilt ve kavernoöz dokulardaki yara iyileşme faktörlerine etkisi değerlendirmek amacıyla deneysel bir çalışma yapılmıştır. Çalışmaya 10'ar denekten oluşan dört grup dahil edilmiştir. İlk gruba Mathiu tipi insizyon ve 10 dakikalık turnike uygulamasından 24 saat sonra penektomi işlemi yapılmıştır (PT 10G). Aynı tipte insizyon sonrası 30 dakikalık turnike uygulanmış ve aynı sürede penektomi yapılarak PT 30G grubu elde edilmiştir. Turnike uygulaması yapılmadan Mathiu tipi insizyon yapıldıktan 24 saat sonra penektomi işlemi yapılarak sham grubu oluşturulmuştur (SG). Ayrıca kontrol grubunda turnike uygulaması ve insizyon işlemleri yapılmadan penektomi işlemi yapılmıştır (KG). Penil dokularda H&E ile akut inflamasyon değerlendirilmiştir. İmmünohistokimyasal incelemede; subepitelyal vasküler ağ (SVA), korpus kavernozum (KK) ve KK içinde düz kas yapısına benzer mezenkimal hücrelerde (MH) Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü (VEGFR) ve transforming büyüme faktörü beta (TGF β) düzeyleri incelenmiştir. Gruplarda elde edilen sonuçlar SPSS 15.0 ile karşılaştırılmıştır. Gruplar arası akut inflamasyon evreleri değerlendirildiğinde PT 10G ve PT 30G arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$). Ancak, diğer gruplar arasında belirgin fark bulunmaktadır. KG ile PT 10G arasında yalnız VEGFR'leri bakımından fark yoktur. PT 10G'de VEGF düzeyleri kontrol gruba göre azalmış ancak TGF β düzeyleri ise artmıştır. Aynı faktör düzeyleri ile gruplardaki akut inflamasyon evreleri karşılaştırıldığında akut inflamasyonda artma ile VEGF arasında ters korelasyon ($rs: -0.345$ ve $rs: -0.409$) ve TGF β ile doğru korelasyon ($rs: 0.324$ ve $rs: 0.504$) saptanmıştır (Spearman korelasyonu, $p < 0.005$). Sonuç olarak, Penil turnike uygulaması penis dokusunda süre ile artan oranda akut inflamatuvar yanıtı neden olmaktadır. Penil turnikenin penis dokularında TGF β düzeyini arttırdığı, buna karşın VEGF düzeylerini azalttığı izlenmiştir. Turnike sonrası ortaya çıkan TGF β artışı penil turnikenin yara iyileşmesine katkısından çok, akut inflamasyona oluşan bir yanıt olarak değerlendirilebilir. VEGF düzeylerinin turnike sonrası azalması penil turnikenin yara iyileşmesindeki anjiyogenezis safhasını olumsuz etkileyebileceğini düşündürmektedir.

ABSTRACT

Kaya M, Evaluation of the effect of penile tourniquet on wound healing of penile skin and tissues with VEGF/TGF-beta levels. Kırıkkale University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Surgery, Kırıkkale, 2008.

Hypospadias repair is a common urologic operation in childhood. During this operation in order to decrease the hemorrhage and to perform erection test, penile tourniquet is applied to penile root. The ischemic tissue damage that occurs during penile tourniquet and after reperfusion has been evaluated with many biochemical, pharmacological and histopathological studies. However, effect of penile tourniquet on wound healing has not been evaluated previously. An experimental study was performed to evaluate the effect of ischemia due to penile tourniquet on healing factors in penile and cavernous tissues. Four experimental groups consisting 10 subjects in each group were enrolled. In the first group, penectomy was performed 24 hours after a Mathiu type incision and 10 minutes penile tourniquet application (PT 10G). PT 30 G was obtained after performing a penectomy with same incision and 30 minutes tourniquet application. Sham group (SG) was assessed without tourniquet application but a Mathiu incision. Also penectomy was performed without tourniquet application and incision in control group (CG). Acute inflammation was evaluated in penile tissues with H&E staining. In immunohistochemical evaluations; Vascular endothelial growth factor (VEGF), Vascular endothelial growth factor receptors (VEGFR), and Transforming growth factor-beta (TGF β) levels were evaluated in penile subepithelial vascular plexus (SVP), corpus cavernosum (CC) and smooth muscle like mesenchymal tissues (MT). The data obtained from groups were analyzed with SPSS 15.0. When grades of acute inflammation were evaluated between groups, there was no difference between PT 10G and PT 30G ($p > 0.05$). However, there was a marked difference between other groups. There was a significant difference between CG and PT 10G except VEGFR levels. VEGF levels were decreased and TGF β levels were increased in PT 10G when compared to CG. When same factors correlated with acute inflammation grades, acute inflammation was inversely correlated with VEGF levels (r_s : - 0.345 ve r_s : - 0.409) and directly correlated with TGF β levels. (r_s : 0.324 ve r_s : 0.504). In conclusion, penile tourniquet application with increasing duration, cause an acute inflammatory response in penile tissues. Penile tourniquet increases TGF β levels and decreased VEGF levels in penile tissue. The increased TGF β levels after penile tourniquet can be considered as a response to acute inflammation rather than its contribution to wound healing. Decreased VEGF levels after tourniquet suggests that penile tourniquet can adversely effect the angiogenesis phase of wound healing.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	
TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
ETİK KURUL ONAYI	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER	vii
TABLolar	viii
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2
2.1. PENİS ANATOMİ VE FİZYOLOJİSİ	2
2.2. PENİSİN KANLANMASI	3
2.3. PENİS YAPILARININ HİSTOLOJİSİ	6
2.4. PENİL EREKSİYON FİZYOLOJİSİ	7
2.5. YARA İYİLEŞMESİ VE BÜYÜME FAKTÖRLERİ	9
GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. HAYVANLAR VE YEMLERİ	20
3.2. ÇALIŞMA GRUPLARI	20
3.3. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME METODU	21
3.4. İMMÜNHİSTOKİMYASAL İNCELEME METODU	21
3.5. DEĞERLENDİRME	21
3.6. İSTATİSTİKSEL ÇALIŞMA METODU	22
BULGULAR	23
TARTIŞMA	31
SONUÇ	34
KAYNAKLAR	35

EK-1 Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul kararı

KISALTMALAR

VEGF	Vasküler endotelial büyüme faktörü
TGF β	Transforme edici büyüme faktörü beta
EGF	Epidermal büyüme faktörü
EDRF	Endotel kaynaklı gevşetici faktör
VIP	Vazoaktif intestinal peptid
FGFs	Asidik ve bazik fibroblast büyüme faktörü
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
TGF α	Transforme edici büyüme faktörü alfa
IL 1	İnterlökin 1
IL 2	İnterlökin 2
TNF α	Tümör nekroz faktör alfa
PIGF	Plasenta büyüme faktörü
PG E2	Prostaglandin E2
PDWHF	Trombosit kaynaklı yara iyileşme faktörü
PT 10G	10 dakikalık penil turnike uygulanan grup
PT 30G	30 dakikalık penil turnike uygulanan grup
SG	Sham grubu
KG	Kontrol grubu
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
LabVision;1/50	CD105/ Endoglin/ Transforming growth faktör β 1/3 reseptör
VEGF -LabVision;1/100	Vasküler endotelial growth faktör
VEGFR-LabVision;1/100	Vasküler endotelial growth faktör reseptörü
DAB	Diamino benzidin
H&E	Hemotoksilen ve Eozin
SAV	Penil ciltteki subepitelyal vasküler ağ
KK	Korpus kavernozum
MH	Düz kas yapısındaki mezenşimal hücreler
HSCORE	İmmünohistokimyasal histolojik skor sistemi

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Penisin Frontal Görüntüsü	2
Şekil 2.2. Penisin Transvers Kesiti	4
Şekil 4.1. Penil turnike uygulaması sonrası elde edilen histopatolojik bulgular. (a) Normal epidermis, subepitelyal alanlar ve korpus kavernozumlar. (b) subepitelyal PMNL infiltrasyonu, (c) epidermisin ortadan kalktığı, ülser ve yoğun PMNL infiltrasyonu.	23
Şekil 4.2. VEGF ekspresyonlarının SVA (a), KK ve MH (b) 'de görünümü.	25
Şekil 4.3. VEGFR ekspresyonlarının SVA (a), KK ve MH (b) 'de görünümü.	25
Şekil 4.4. TGF β ekspresyonlarının SVA (a), KK ve MH (b) 'de görünümü.	26

TABLOLAR

Tablo 2.1. Yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörleri.	14
Tablo 3.1. Histopatolojik incelemede akut inflamasyonun evrenlenmesi.	22
Tablo 4.1. Deney gruplarında H&E ile yapılan histopatolojik incelemede akut inflamasyon evrelerine göre denek sayısının dağılımı.	24
Tablo 4.2. Gruplar arası akut inflamasyon evrelerinin karşılaştırılması.	24
Tablo 4.3. VEGF, VEGFR ve TGF β düzeylerinin penil ciltteki subepitelyal vasküler ağ (SVA), korpus kavernosum (KK) ve korpus kavernosum içinde yer alan düz kas yapısındaki mezenşimal hücrelerdeki (MH) HSCORE ortancaları	27
Tablo 4.4. Penil dokunun farklı bölgelerindeki VEGF, VEGF reseptör ve TGF β skorlarının gruplar arasında karşılaştırılması.	28
Tablo 4.5. VEGF, VEGF reseptör ve TGF β 'nin penil dokunun farklı bölgelerindeki dağılımı ve korelasyonu.	29

1. GİRİŞ

Hipospadias ve kordi düzeltilmesi çocuk yaş grubunda sık uygulanan ürolojik operasyonlardır. Bu operasyonlar sırasında kanamayı azaltmak için ve ereksiyon testi yapmak için penis köküne turnike uygulaması yine sıkça kullanılmaktadır.

Artifisiyel ereksiyon ilk defa 1974 yılında Gittes ve McLaughlin tarafından ortoplasti uygulamasında kullanılmıştır (1). Hipospadias cerrahisinde hemostaz amacı ile lastik bant ile turnike uygulaması ise 1980'li yıllara rutin uygulamaya girmiştir (2).

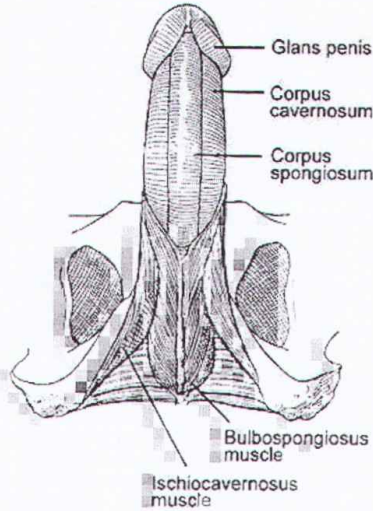
Penil turnike esnasında teorik olarak penis köküne sıkıca sarılan turnike ile turnikenin distalinde kalan tüm dokuların arteriyel ve venöz dolaşimleri engellenmektedir. Böylece kansız bir ortamda cerrahi işlem yapma olanağı sağlanmaktadır. Bununla birlikte, gerek turnike süresince dokuda oluşan iskemi ve gerekse turnike açıldıktan sonra sağlanan reperfüzyonun oluşturabileceği doku hasarı riski ortaya çıkmaktadır. Son yıllarda diğer dokularda, iskemi ve bunu takiben sağlanan reperfüzyonun, dokuda serbest oksijen radikallerinin artmasına ve sonuç olarak ciddi doku hasarı ve hücre ölümüne yol açtığı bir çok çalışmada ortaya konmuştur (3,4). Penil turnike uygulaması ile ilgili bilgiler daha çok klinik deneyimlere dayanmaktadır. Penis cerrahisi esnasında turnike süresini 9 dakika ile 50 dakika arasında tutan yazarlar mevcuttur (5,6). Ancak bu uygulamanın güvenilirlik sınırı açık değildir. Turnike uygulamasının penis derisi üzerine olan etkileri Çakmak ve arkadaşları tarafından deneysel bir hayvan modeli üzerinde araştırılmıştır (7).

Literatürde penil turnike uygulamasının biyokimyasal, farmakolojik ve histopatolojik etkileriyle ilgili çalışmalar vardır ama yara iyileşmesine etkisini irdeleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve transforming büyüme faktörü beta (TGF β) anjiyogenezis ve yara iyileşmesinde önemli rol oynarlar (8). El-Galley ve arkadaşlarının hipospadiaslı çocukların prepisiumlarında yaptıkları epidermal büyüme faktörü (EGF) reseptör ölçümleri bu hastalarda yara iyileşmesinde problem olabileceğini düşündürmektedir (9). Biz bu deneysel çalışmada rat penis dokusu ve cildinde yara iyileşme faktörlerinden VEGF ve TGF β düzeylerine penil turnike uygulamasının etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PENİS ANATOMİ ve FİZYOLOJİSİ

Penis radiks ve corpustan oluşan erektil bir organdır. Radiks ürogenital bölgede yerleşmiştir ve iki krus ve bir bulbus olmak üzere üç erektil yapıya sahiptir. Her iki krus kendi taraflarındaki iskiyonun altına tutunur ve iskiokavernöz kas tarafından sarılırlar. Daha sonra her iki krus yan yana birlikte seyredir. Bu noktadan itibaren kruslar "corpus cavernosum" olarak adlandırılır. "Corpus cavernosum penis"ler yapı olarak süngere benzerler. Her bir "corpus cavernosum penis"i ayrı ayrı dıştan saran ve "tunica albuginea corporum cavernosum" adı verilen zar çok sağlam bir bağ dokusundan yapılmıştır. Bu zarın kalınlığı penis istirahat halinde iken 2-3 mm kadardır. Fakat penis ereksiyon haline geldiği zaman kalınlığı 0.5 mm'ye kadar iner (10). Glans peniste her iki corpus cavernosum künt olarak sonlanırlar (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Penisin Frontal Görüntüsü. By Christopher Steidle, M.D. WebMD Medical Reference from "The Impotence Sourcebook"(Vivus, Inc.)

Penis bulbusu yüzeysel perineal bölgede her iki krusun arasında yer alır. Bulbusun üst kısımları ürogenital diaframın alt kenarlarına tutunur ve bulbokavernöz kas ile örtülür. Başlangıçta bulbusu üstten penetre eden üretra daha sonra merkezde yer alarak bulbus içinde öne doğru ilerler. Bulbusun, corpus cavernosumların proksimal ucu ile komşu olan kısmından itibaren adı "corpus spongiosum"

olur. Corpus spongiosum, corpus cavernosumlar arasındaki alt orta olukta yer alır. Penis uzunlamasına geçerken corpus spongiosum daralırsa da hemen sonra distal uça genişleyerek corpus cavernosumların künt uçlarını örten glansı oluşturur.

Glans, penis korpusundan fiziksel olarak "sulcus coronarius" ile ayrılır. "Glans penis"in yapısı diğer erektile dokulardan farklıdır. Burada bulunan kavernalar geniş ve kıvrık bir damara benzer. Bu kavernalar arasında bağ dokusu çoktur. Bununla birlikte kas lifleri de çok az bulunur ve tunika albuginea yoktur. Ereksiyon esnasında da kanın kavernalardan venlere akmasına engel olacak bir mekanizma bulunmamaktadır. Bu sebepten ereksiyon esnasında glans penis sıkıştırılır ise kavernaları dolduran kan venlere dökülür ve glans penis küçülür. Glansın ucunda üretranın sonlandığı meatus bulunur. Glans "prepisyum" adı verilen çift katlı penis cildi ile örtülüdür. Prepisyumun ön yüzünde bulunan "frenilum" cildin medial bir plasi olup meatusa tutunur.

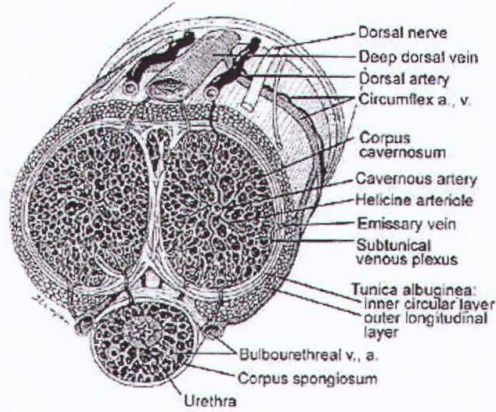
Penisin derin ve yüzeysel olarak iki fasyası vardır. Bunlar klasik fasya değildir. Yüzeysel olan fasya "colles fasya"sı adını alır. Bu fasya skrotumun dartos fasyası ve superfisial perineal fasya ile uzanır. "Buck fasya"sı olarak adlandırılan penisin derin fasyası corpus cavernosumları ve corpus spongiosumunu saran kuvvetli bir fasyadır ve derin perineal fasya ile uzanır. Buck fasyası corpus cavernosumların distal ucunda son bulur ve bu nedenle "glans penis"i örtmez. Buck fasyası distal uça daha incelik ve multipl delikler yardımı ile corpus cavernosumların birbirleri ile olan ilişkilerini sağlar. Corpus cavernosumların distal uçları birbirleri ile direkt ilişki içindedir (11).

"Corpus cavernosum penis" içinde tunika albuginea'nın trabeküller uzantıları ile birbirlerinden ayrılan kan dolu bir çok kaverno içerir. Bu trabeküller uzantılarda elastik lifler ve düz kas elemanları bulunur. Sinüsler arasındaki bağlantı bölgeleri corpus cavernosumlarda horizontal eksene corpus spongiosumda ise longitudinal eksene paraleldir. Ancak ana spongioz sinüsler arasındaki bağlantılar yine horizontal plandadır.

2.2. PENİSİN KANLANMASI

Penisin kanlanmasını a.pudendalis interna sağlar. Bu arter a.iliaca externa'nın hipogastrik dalının uzantısı olup her iki tarafta dallanarak bulber, kavernoöz ve dorsal arterleri verir. Buck fasyası altında uzanan dorsal arterler bir çift olup ikisi arasında "v.dorsalis penis profundus" bulunur. Arterlerin dış yanlarında da dorsal sinirler yer alır. Dorsal arter, corpus cavernosum ve corpus spongiosumun

erektil dokularını kanlandırmak için birçok küçük dal verir. Penisin kavernöz arteri "a.profundo penis" her iki corpus cavernosum; içerisinde ortada yerleşmiş durumda ve uzunlamasına olarak seyreder. Corpus cavernosumların kanının büyük kısmını temin eder. "A.bulboüretralis" de corpus spongiosum içinde ve uzunlamasına olarak üretranın önünde ilerler. Bu arterin "Helicine" damarlar adını alan küçük kapiller uzantıları vardır ve direkt olarak corpus cavernosumun kavernöz alanlarına boşalır. Kavernöz sahalarda arteriyel ve venöz karakterlerdeki kanlar değişik oranlarda karışık olarak bulunur (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Penisin Transvers Kesiti. By Christopher Steidle, M.D. WebMD Medical Reference from "The Impotence Sourcebook" (Vivus, Inc.)

Penisin venöz drenajı üç ayrı sistemden oluşur (11,12,13). İlk sistem, dartosun altındaki yüzeysel ven ağıdır. Bu birçok sayıda olan cilt altı damarlar birleşerek "v.dorsalis penis superfisialis"i oluşturur. Bu ven de genellikle sol "v.saphena magna"ya drene olur.

İkinci sistemi buck fasyası derininde, fakat corpus cavernosumların "tunica albuginea"sının üstünde bulunan ortada olan ven ağını oluşturur. Yaklaşık olarak 6-15 adet ven glans penisten çıkarlar. Bunlar "v.dorsalis profunda" adlı ana orta damara drene olur. "V.dorsalis profunda"ya ayrıca corpus cavernosumlardan çıkan lateral, inferior ve superior emisser venler ile çok sayıda circumfleks penil ven drene olur. V. dorsalis profunda her iki corpus cavernosum arasındaki olukta ilerleyerek, "ligamentum arcuatum" altından geçer ve pudendal venöz pleksusa drene olur.

Üçüncü sistem ise corpus cavernosumları ve corpus spongiosumu drene eden bir grup derin venden oluşur. Bu venlerin çapları değişkenlik gösterir. İnce venler sadece endotelden oluşurken daha büyük venlerde uzunlamasına düz kaslardan oluşmuş bir duvar mevcuttur (13).

Corpus cavernosumu drene eden derin venler pudendal pleksusa boşalır. Corpus spongiosum ise bulber ve üretral venlerden oluşan derin bir ven ağı aracılığı ile drene olur. Distal üretrayı ön ve arka üretral venler drene eder. Arka venler birleşerek ya direkt pudendal pleksusa veya bulber venlere boşalır. Üretral venlerin ön grubu sirkumfleks venöz sistemi oluşturmak üzere, sonradan posterior emisser venler ile birleşen birçok büyük dala ayrılır. Derin dorsal vende ve sirkumfleks venlerde bir seri valv ortaya konmuştur (14).

Anterior ve posterior emisser venler, intermedian ven grupları ile kavernöz sahaları birbirine bağlayan kısa venöz damarlardır.

Penisin lenfatik drenajı, yüzeysel ve derin olmak üzere iki yolla olur. Cilde ait lenfatik drenaj superfisial inguinal ganglionlara olurken, corpus cavernosuma ve corpus spongiosuma ait olanlar subinguinal, parailiak ve hipogastrik ganglionlara gider.

Penisin innervasyonu, hem somatik hem de otonom sinir sistemi tarafından yapılmaktadır. Penis cildi esas olarak n.pudendalis'in dalı olan bir çift dorsal sinir ile innerve olur. Penis kökü çevresindeki cilt innervasyonuna "n.ilioinguinalis" uzantıları da yardımcı olurlar. Erektile dokuların innervasyonu otonom sinir sisteminin kontrolü altındadır. Parasempatik lifler S2-S4 sakral pleksustan sempatik lifler ise T12-L3 torakolomber segmentlerden gelir (15). Genital organlarda, ama özellikle erektile dokularda, otonom sinir sistemine ait bir diğer önemli bölüm de peptiderjik innervasyondur. Bu sinirler immünoreaktif nöropeptidlere hassas olup, bir çok genital fonksiyonda, bilhassa ereksiyonda önemli rol oynamaktadırlar. Nörovasküler sinir demetinin üretral spongiosuma göre pozisyonu penis sırtında saat 11-13 arasındadır. Baskin'in fetüsler üzerinde yaptığı çalışmalarda penis dorsalinde saat 12 hizasında sinir H lifleri bulunmadığını ve bunların daha çok lateral yerleşimli olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada nörovasküler demetten ayrılan küçük dalların corpus spongiosumun içine girdiği de saptanmıştır (16).

2.3. PENİS HİSTOLOJİSİ

Corpus cavernosumun tunika albuginea, kalın kollajen fibriller ile birkaç adet elastik liften oluşmuştur. Kollajen fibriller interstisyel kollajenlerden (tip HI-II) ve tropokollajenden oluşur. Tip I kollajen fonksiyonel olan birimdir. Elastik fibriller sıklıkla iki anatomik bölgede bulunur. Bunlar, proksimal krus ve distal tunikadır. Penisin istirahati anında tunika çok gevşektir. Corpus spongiosum penis bol, düzensiz yapıda elastik fibriller içerir. Elastik ağ, glans penisin yapısında da bulunur ve düzensiz bir dağılım gösterir. Sinüzoidal yapıların içindeki elastik komponentlerde birbirine benzer yapıdadır fakat penil arterlerin duvarlarındaki elastik lameller daha düzenlidir (17).

İstirahat halindeki peniste kavernöz arterler kasılmış ve dalgalı bir yol izliyormuş şekilde görülürler. Kavernöz arterin dalları kontrakte durumdadır ve çapları ortalama 30µm seviyesindedir. Genellikle yay şeklinde halkalara benzerler. Terminal arterioller sinüzoidal boşluğun içine boşalırlar.

Corpus cavernosum bazı yazarlarca bağ dokusu ve düz kasla birbirinden ayrılmış laküner aralıklar olarak tanımlanmıştır (18,19). Diğer bazı yazarlar ise "longitudinal ve sirküler" düzenlenmiş fibromüsküler trabeküllerle ayrılmış parenkim olarak tanımlamışlardır (20).

Corpus cavernosum son yıllarda düz kasla parenkimin beraberliği olarak tanımlanmıştır. Bu beraberlik kavernöz vasküler boşlukların duvarlarında düz kas olan endotelle döşeli bir sinüzoidal sistem olmasını gerektirmektedir. Vasküler boşlukların tam olmayan fibromüsküler trabeküllerle ayrılmış olduğu tanımlaması yapılmıştır. Ancak bazı yazarlar bu durumun sadece penisin ereksiyonu durumunda olduğu görüşündedirler (21). Buna karşın korporal laküner aralıklar ve düz kaslar gevşek durumda düzensiz vasküler aralıkların içinde yatmakta olan düz kas kitleleri olarak tanımlanabilir. Corpus cavernosumların fibroz iskeleti tunika albuginea ve onun sütunlarından oluşmaktadır. Bu sütunlar arter ve sinirlerin etrafındaki kılıfları yapmakta ve kollajen liflerden oluşmaktadır. Tunika albuginea sütunları; tunikanın alt iç yüzeyine yapışmakta ve corpusun parenkiminin derinliklerine inmektedirler. İntrakavernöz arter ve sinir fibroz yapılar tarafından sarılmaktadır. Corpusun içini dolduran kollajen lif şebekesi tunika albugineanın iç tarafının sütunlarına, arter ve sinirlerin etrafındaki kılıflara yapışmaktadır. Korporal düz kasların önemi klinik ve deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur (22). Trabeküler düz kasların kasılması ve gevşemesi "tumescence" ve "detumescence"nin oluşmasında en önemli etkenlerden biridir.

2.4. PENİL EREKSİYON FİZYOLOJİSİ

Penil ereksiyon, 6 ayrı faza ayrılmaktadır:

- 1-Flaksid faz
- 2-Latent faz
- 3-Tümesans (Kalınlaşma) fazı
- 4-Tam ereksiyon fazı
- 5-Rijit ereksiyon fazı
- 6-Detümesans fazı

Kavernöz düz kas ve arterial düz kas ereksiyonun temel anahtarlarıdır. Flaksid durumda düz kasın kendi tonusu ve sempatik etki ile kan akımına karşı büyük bir engel oluşturur. Bu düz kaslarda gevşeme, nörotransmitterler aracılığı ile başlayınca:

- 1-Sinüzoidal ve arteriolar duvar kompliansı artıp kan akımına direnci azalır.
- 2-Arteriolar-arteriyel dilatasyon ile daha fazla kan gelir.
- 3-Gelen kanı genişlemiş sinüzoidler içinde tutar.
- 4-Kavernozal corpuslar uzar ve genişler.
- 5-Periferdeki subtunikal venüler ağ baskıya uğrar ve venöz dönüş azalır.
- 6-Tunika albugineanın gerilme kapasitesi bitince, venöz akım en alt seviyeye düşer.
- 7-Kavernöz içi basınç 100 mmHg'ya ulaşır ve erekte olur.
- 8-İskiokavernöz kas kasılır ve rijid ereksiyon fazı oluşur. Basınç bu durumda 200-300 mmHg olur.

Bu faz yalnızca seksüel ilişki veya mastürbasyonda değil nokturnal ereksiyonlarda da olmaktadır. Asetilkolin muskarinik reseptörleri etkileyerek düz kas gevşemesine neden olur. Kavernöz düz kas ve penil arter düz kasında sinirlerin ultrastrüktürel incelemelerinde kolinerjik veziküllerle sonlandığı görülmüştür. Kavernöz sinirler kesildiğinde asetilkolin transferaz üretiminin belirgin oranda azaldığı ve ereksiyonun olamadığı görülür. Maymun corpus cavernosumuna direkt asetilkolin enjekte edildiğinde geçici bir basınç artması gözlenmektedir (23). Bu çalışmalar asetil kolinin ereksiyondaki rolünün önemini belirtse de erekte penise atropin (antidot) yapılarak ereksiyon giderilememiştir. İnsan kavernöz düz kasının kısmen endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) tarafından da

gevşetildiği invitro olarak Saenz de Tajeda tarafından gösterilmiştir (24). Endotel hücreleri ayrıca güçlü vazodilatörler (prostasiklin) ve güçlü endotelin de sentezleyebilmektedirler. Kavernöz dokunun prostoglandin sentezleyebildiği de gösterilmiştir. cGMP' yi parçalayan enzim olan tip-5 fosfodiesteraz oral sildenafil -viagra- adıyla prepare edilmiştir.

Vazoaktif intestinal peptid (VIP) de ereksiyondan sorumlu bir nörotransmitter olarak kabul edilir. Pelvik sinir visseral afferentlerinde VIP gösterilmiştir (25). İntrakavernöz VIP ile birlikte asetilkolin de enjekte edilirse daha kaliteli ereksiyon oluşturmaktadır. Diğer nörotransmitterler kalsitonin-gen ilişkili peptid, histidin, methionin, hipofizer adenilat siklazı aktive eden polipeptid 32 ve prostoglandinlerdir.

Penil detümesans da bazı nörotransmitterler gerektirir. Trabeküller ve kavernöz arterlerde adrenerjik lifler ve reseptörler gösterilmiştir (26).

Nöropeptid Y'nin (vazokonstrüktif özelliktedir) penil erektil dokuda varlığı gösterilmiştir. Yine güçlü bir vazokonstrüktör olan endotelinin, endotel hücrelerince üretilmekte olduğu ve detümesansta transmitter olduğu ileri sürülmüştür.

Detümesans seks uyarımının kaybı ile (pasif) veya ejakülasyon sonrası (aktif) olarak meydana gelir. Teorik olarak; düz kasın intrinsik tonusu, sempatik sinir sisteminin tonik deşarjı ve/veya endotelin ya da nöropeptid Y'nin salınması pasif, yavaş detümesansa yol açar. Ejakülasyonda yüksek düzeylerde sempatik sistemden norepinefrin deşarjı aktif detümesansa neden olur.

Corpus cavernosumdaki oksijen tansiyonu da ereksiyon sırasında değişmektedir. Flaksid fazda oksijen basıncı 25-40 mmHg iken ereksiyon halinde basınç 90-100 mmHg'ye kadar çıkmaktadır (27,28). Şiddetli hipoksiye ($pO_2=0-10$ mmHg) asidoz eşlik eder ve trabeküler düz kasın kasılması inhibe olur. Şiddetli hipoksida oksidatif fosforilasyon en alt seviyeye iner. Oksidatif fosforilasyon düz kastaki kalsiyum dengesi ve kasın kasılması için gereklidir. Şiddetli hipoksi klinikte veno-oklüzif priapizmde görülür.

2.5. YARA İYİLEŞMESİ VE BÜYÜME FAKTÖRLERİ

Normal yara iyileşmesi, birçok hücreyel aktivitenin düzenli ve ard arda çalışması ile gerçekleşir. Bu aktiviteler arasında;

1. Fagositöz; Polimorf nüveli lökositler ve makrofajlar, primer fagositik hücrelerdir.

2. Kemotaksis; Kemotaksis hücrelerin bir engele karşı göçü olup inflamatuvar hücreler, fibroblast ve anjiogenezde rol oynayan hücreleri etkileyen kemotaktik ajanlar, iyileşme olayına katkıda bulunur.
3. Mitogenez; Mitogenezi uyaran ajanlar yara iyileşmesi için gerekli hücre bölünmesini sağlar.
4. Kollajen sentezi; Esas olarak fibroblastlarca sentezlenen protein ve glikoproteinler, kollajen ve ara maddeyi oluşturarak yara iyileşmesinde kritik bir noktanın tamamlanmasını sağlar.
5. Diğer matriks komponentlerinin sentezi; Yara kontraksiyonu ve skar remodeling yara iyileşmesinin son basamaklarını oluşturur.

Bu hücrel aktiviteler gelişigüzel değil, düzenli ve uyumlu bir şekilde sürer.

Yaralanmayı hemen takiben trombositler, hasarlanan dokuya yapışıp pıhtılaşma faktörleri ve granülleri içindeki büyüme faktörlerini salgırlar. Ortaya çıkan vazodilatasyonu, vazokonstrüksiyon takip eder. Fibrin olgunlaştıkça yaralanan bölge kurumuş pıhtı ile hem daha fazla sıvı ve elektrolit kaybını, hem de çevreden gelebilecek kontaminasyonu önler. Trombositlerce salgılanan büyüme faktörleri iyileşme olayını başlatır.

Kısa bir süre içinde polimorf nüveli lökositler çevredeki kan damarlarının endoteline yapışmaya (marjinasyon) ve damar duvarı içinden geçmeye (diapedez) başlarlar. Polimorf nüveli lökositleri yara bölgesine çeken; hasarlanan doku, bakteri ve inflamatuvar ürünlerin oluşturdukları kemotaktik sinyallerdir.

Polimorf nüveli lökositlerin ana görevi; yaralanan bölgeden bakteri ve yabancı cisimleri uzaklaştırıp enfeksiyon gelişimini engellemektir. Bu sürede epitelyal hücreler pıhtının altına doğru hareket eder ve çoğalarak epitel yüzeyini yeniden oluşturmaya başlarlar.

Doku iyileşmesinin bir sonraki aşaması, makrofajlar ile karakterizedir. Makrofajlar sadece debris, bakteri ve konağın dejenere hücrelerinin ortamdaki uzaklaştırılmasından sorumlu değil ayrıca zengin bir büyüme faktörü kaynağıdır. Makrofajlar yara iyileşmesi olayında hücrelerin, büyüme faktörlerinin ve matriks komponentlerinin düzenli bir şekilde davranmalarını sağlayan orkestra yönetmenleridir.

İyileşmenin bir sonraki basamağında, epitelyal köprüler tamamlanınca, epitel hücrelerden enzimler salınıp, oluşmuş kabuğun hareketlenmesini sağlar. Epitel hücreler çoğalmaya devam edip epitel katlarını oluştururlar.

Doku tamirinin son fazı örneklemedir (remodeling); yaralanma öncesi doku bütünlüğü sağlanıncaya dek, hatta yıllar boyunca sürebilir.

2.5.1. Büyüme Faktörleri:

Ağırlıkları 4000-60000 dalton arasında değişen, çok az miktarları bile hücresel aktiviteleri etkileyebilen proteinlerdir. Farklı faktörlerin görevleri ve etkileri ile ilgili yeni buluşlar sürmektedir. Büyüme faktörleri, hücresel fonksiyonları endokrin, parakrin, otokrin veya intrakrin mekanizmalarla sağlar.

- Endokrin yolla etkileyen faktörler hedef hücreye kan yoluyla gider ve uzaktaki hücreleri de etkiler.
- Parakrin yolla etki eden faktörler salgılandıkları bölgede etkilidirler.
- Otokrin faktörler, tarafından salgılandıkları hücrenin fonksiyonlarını etkiler.
- Bazı transforme fibroblastlar, hiç salgılanmamış faktörlere hücrenin kendi içinde, intrakrin mekanizma ile yanıt verirler.

Büyüme faktörlerinin herhangi bir hücreyi etkileyebilmesi, o hücrenin, o faktör için reseptöre sahip olup olmamasına bağlıdır. Reseptöre bağlanma sonucu hücre içinde özgün bir cevaba neden olan bir seri sinyal ortaya çıkar. Etki, çoğunlukla tirozin kinaz uyarılarak sağlanır. Her hücrenin farklı büyüme faktörleri için farklı sayıda reseptörü bulunur. Büyüme faktörlerinin o bölgedeki konsantrasyonu ve reseptöre bağlanan miktarı, elde edilecek sonucu belirler. Matriks de, büyüme faktörlerinin çözünebilirliğini değiştirerek, hücresel aktiviteleri düzenleyecek faktör konsantrasyonunun değişmesini sağlayabilir. Ayrıca matriks, büyüme faktörlerinin bağlanıp çözülmesini ayarlayarak, ortamdaki faktörler için rezervuar görevi görür. Yine matriks, herhangi bir hücrenin, herhangi bir büyüme faktörüne vereceği yanıtı belirleyebilir.

Yara iyileşmesinde etkili olan tanımlanmış büyüme faktörleri;

- Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)
- Asidik ve bazik Fibroblast Büyüme Faktörü (FGFs)
- Trombositlerce Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)
- Transforming Büyüme Faktörü alfa ve beta (TGF α ve TGF β)
- Interlökin 1 ve 2 (IL 1 ve IL 2)
- Tümör Nekroz Faktör alfa (TNF α)

- Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

1- Epidermal Büyüme Faktörü (Epidermal growth factor, EGF); Urogastron ile idantik olup 53 amino asitlik bir polipeptittir. Birçok dokuda bulunur ve trombosit degranülasyonu sırasında salınır. Hücrelerin çoğunda EGF'e ait reseptörler bulunur. En çok sayıda reseptör epitel hücrelerinde bulunur; ancak endotel hücreleri, fibroblast ve düz kas hücrelerinde de reseptörler vardır. Epitel hücreleri, endotel ve fibroblastlar için kemotaktik özelliği vardır. Anjiogenezi ve kollagenaz aktivitesini uyarıcı özelliğe sahiptir.

Farklı yara modellerinde EGF'lerin etkilerini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. EGF, her gün topikal uygulandığında, tavşan kulağı yara modeli, split-thickness epidermal yaralar ve parsiyel kalınlıktaki yanıkların epitelizasyonunu arttırmıştır (29). Kobaylarda, EGF ile desteklenen yaralarda, desteklenmeyenlere oranla, daha fazla kollajen ve glikozaminoglikan toplandığı, ayrıca selülaritenin arttığı gösterilmiştir (30). Diabetik kobaylarda, EGF desteği, kollajen birikimini hızlandırmıştır. EGF, sistemik uygulanan metilprednizolon'un yara iyileşmesini geciktirici etkisini azaltmıştır (31).

2- Fibroblast Büyüme Faktörü (Fibroblast growth factor, FGF); Mezenkimal hücreler için mitojen olarak ilk kez bulunan bu faktörün anjiogenezi uyardığı ve yara iyileşmesinde rolü olduğu gösterilmiştir. Asidik ve bazik olmak üzere iki tip FGF tanımlanmıştır. Bazik FGF'nin damarlanmayı uyarıcı özelliği yaklaşık 10 kat fazladır. Endotelial hücreler FGF'yi hem sentezler hem de ona yanıt verirler. Her iki tip FGF de endotel proliferasyonu ve motiliteyi artırarak neovaskülarizasyonu hızlandırır. Heparinin etkilerini güçlendirir. Bazik FGF, ayrıca kollajen sentezini de uyarır; yara kontraksiyonunu, epitelizasyonu, fibronektin ve proteoglikan sentezini uyarır.

FGF de çeşitli hayvan modellerinde incelenmiş; kobay kulağındaki yaraya topikal uygulanımı sonrası, bazik FGF'nin epitelizasyonu hızlandırdığı gösterilmiştir. Kobaylara subkütan enjeksiyon ile hücre sayısı ve kollajen içeriği artmıştır (32). Topikal bazik FGF, farelerde enfeksiyon ve diabetin neden olabileceği yara iyileşmesi sorunlarına olumlu etki eder.

3- Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (Platelet-derived growth factor, PDGF); Trombositlerin alfa granülleri içinde bulunur. 32000 dalton ağırlığında bir glikoprotein olan PDGF, 2 disülfid bağıyla bağlanmış iki bölümden oluşur. A ve B adını alan bu üniteler %56 oranında benzerlik gösterirler. AA, AB ve BB şekillerinde ifade edilen faktörün her üç formunun biyolojik aktiviteleri

temelde benzer olup B ünitesi mitogenezi biraz daha güçlü uyarabilir. Tümörler, endotel hücreler, makrofajlar, düz kas hücreleri ve trombositler PDGF benzeri büyüme faktörleri salgırlar.

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü; makrofajlar ve polimorf nüveli lökositlerin kemotaksisini uyarır. Fibroblast ve düz kas hücrelerinde hem kemotaksis hem mitogenezi uyarır. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, kollajen, hyalüran ve fibronektin sentezini uyarır; ayrıca kollajenaz aktivitesini artırır.

Trombosit kaynaklı büyüme faktörünün bir alandaki konsantrasyonu, hangi hücrelerin ona daha çok yanıt verme yeteneğinde olduğunu gösterir, çünkü farklı hücreler, farklı PDGF konsantrasyonları ile o ortama çekilirler.

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, hayvan modellerinde, etkili bir yara iyileşmesi destekleyicisi olarak gösterilmiştir. Tavşan kulağı modelinde epitelizasyon hızını arttırdığı saptanmıştır (33). Farelere yerleştirilen subkütan spançlara hergün PDGF beta enjekte edilmiş ve enjeksiyon yapılmayanlara oranla, yapılanlarda, tedavinin 7. gününde hücre miktarında ve kollajen içeriğinde artma saptanmıştır (34). Farelerdeki insizyonel yaralanmalara kollajen vezikül içinde PDGF-BB uygulandığında, 7 hafta sonunda, kontrollere oranla, yara iyileşmesi daha belirgin olarak saptanmıştır (35). Diabetik farelerde eksizyonel yaralar, PDGF'ün topikal uygulanımı ile desteklendiğinde daha hızlı kapanmıştır (36).

4- Somatomedinler (veya insülin benzeri büyüme faktörleri); Esas olarak hepatosit ve fibroblastlarca sentezlenir ve fibroblast proliferasyonunu uyarmada PDGF ile birlikte çalışır.

Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri ve FGF gibi maddeler, hücrelerin, hücre siklusuna erken girmelerini sağlar (G0 ve G1); kompetans faktörü olarak davranırlar. İnsülin, EGF ve somatomedinler de progresyon faktörü olarak davranır ve hücre siklusunun diğer basamaklarının ilerlemesini sağlar (S1, G2, M).

5- Transforme Edici Büyüme Faktörü-beta (Transforming growth factor-beta, TGF β);

Trombositler, makrofajlar, lenfositler, kemik, böbrek gibi farklı dokulardan izole edilmiştir.

Trombositlerin alfa granülleri içinde yoğun miktarda bulunur, hasarlanan bölgeye degranülasyonla salınır. Makrofajlar tarafından kendi üretimini otokrin yolla düzenler. Ayrıca monositleri uyararak

FGF, PDGF, TNF α , IL 1 gibi büyüme faktörlerinin salınımını sağlar. Hemen hemen tüm hücrelerin TGF β için reseptörü vardır ve en azından teorik olarak TGF β ile uyarılabilirler.

TGF β 'da, yara iyileşmesinde kullanılmaktadır. Tavşan kulağı modelinde epitelizasyonu hızlandırdığı kanıtlanmamıştır. Ancak kollajen sentezini uyarır (37). Farelerdeki insizyonel yaralara kollajen vezikül içinde TGF β uygulandığında, 3 ve 14. günler arasında, yaranın sağlamlığında, kontrollere oranla artma saptanmıştır (38). Gine domuzlarındaki yaralar açık bırakılmış ve TGF β içeren spançlarla muamele edilmiş, sonuçta, 8. günde, bu tedaviyi görmeyenlere oranla, daha fazla granülasyon dokusu içerdikleri saptanmıştır (39). Glukokortikoidlere bağlı yara iyileşmesi zaafını, kollajen vezikül içinde TGF β desteği, 7. günden itibaren ortadan kaldırmaktadır (40).

TGF β , makrofajlar için kemotaktiktir; fibroblast kemotaksisi ve proliferasyonunu uyarır. TGF β , kollajen sentezinin en güçlü uyarıcısı olarak bilinir. Ayrıca kollajenazı aktive eden diğer faktörlerin uyarıcı etkisini azaltır. TGF β fibroblastlarca fibronektin ve proteoglikan sentezini; keratinositlerce de fibronektin sentezini uyarır. Yara kontraksiyonunda da rol oynar. Matriksi organize edebilme özelliği nedeni ile remodeling olayında görev yapar.

TGF β tek başına, endotel hücre proliferasyonunu inhibe ederken, başka bir kofaktörle birlikte angiogenezi stimüle eder. Ayrıca epitelyal hücre proliferasyonunu uyarır.

6- Transforme Edici Faktör -alfa (Transforming growth factor-alpha, TGF α); Hem EGF hem de vaccinia büyüme faktörüne (VGF) benzer. Epidermal büyüme faktörü ile %30 yapısal benzerlik gösterir; EGF'nin daha otokrin çalışabilen bir varyantı olarak kabul edilebilir. Uyarılmış makrofajlar, trombositler ve keratinositler ve vücuttaki diğer bazı hücrelerce sentezlenir. Biyolojik etkilerini EGF reseptörlerine bağlanarak gösterir. Mezenkimal, epitelyal, endotelyal hücre büyümesini ve endotel hücre kemotaksisini uyarır. Endotelyal hücre proliferasyonunu sağlaması açısından EGF ile aynı güçte; ancak angiogenezi stimüle etmesi açısından 10 kat daha güçlüdür. Agar plakları içerisinde fibroblast uyarımı sağlarken, TGF β 'nın mutlaka olması gereken bir kofaktörüdür.

TABLO 2.1 : Yara İyileşmesinde Rol Oynayan Büyüme Faktörleri

Büyüme Faktörü	Kaynağı	Görevleri
Trombosit-kaynaklı büyüme faktörü (Platelet-derived growth factor, PDGF)	Trombositler, makrofajlar endotel hücreleri, düz kas hücreleri	Fibroblast proliferasyonu nötrofil ve makrofaj kemotaksisi ve proliferasyonu, anjiogenez
Transforme edici büyüme faktörü beta (Transforming growth factor β , TGF- β)	Trombosit, nötrofil, lenfosit, makrofaj, birçok doku ve hücre	Fibroblast proliferasyonu, kemotaksis indirekt anjiogenez, diğer büyüme faktörlerinin etkilerine yardım
Epidermal büyüme faktörü (Epidermal growth factor, EGF)	Trombositler(?), tükürük, idrar, anne sütü, plazma	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu ve granülasyon dokusu oluşumunun uyarılması
Transforme edici büyüme faktörü alfa (Transforming growth factor α , TGF- α)	Aktive makrofajlar(?), trombosit, keratinosit, bazı dokular	EGF'ye benzer
İnterlökinler (Interleukins 1-2, IL-1,2)	Makrofaj, lenfosit, birçok doku ve hücre	Fibroblast proliferasyonu, kollajenaz, nötrofil kemotaksisi
Tümör nekroz faktörü (Tumor necrosis factor, TNF)	Makrofaj, mast hücresi, T lenfositler	Fibroblast proliferasyonu
Lökosit kaynaklı büyüme faktörü (Leucocyte derived growth factor, LDGF)	Makrofaj, mast hücresi T lenfositleri	Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojen
Bağ dokusu büyüme faktörü (Connective tissue growth factor, CTGF)	Endotel hücreler, fibroblastlar	Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojen
Fibroblast büyüme faktörleri (Fibroblast growth factors, FGF)	Beyin, pitüiter bez, makrofaj diğer doku ve hücreler	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu, matriks depolanmasını uyarır, anjiogenez, yara kontraksiyonu
Keratinosit büyüme faktörleri (Keratinocyte growth factors, KGF)	Fibroblastlar	Epitel hücre proliferasyonu
İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 (Insulin-like growth factor-1, IGF-1)	Karaciğer, plazma, fibroblastlar	Sülfat proteoglikanlar ve kollajen sentezini, fibroblast proliferasyonunu uyarır
İnsan büyüme hormonu (Human growth hormone, HGH)	Pitüiter bez, plazma	Anabolizma, IGF-1'i uyarır
İnterferonlar (İnterferons, IFN)	Lenfositler, fibroblastlar	Fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezinin inhibisyonu

7- İnterlökin -1 (Interleukin- 1, IL 1); İlk olarak endojen bir pirojen ve lenfosit proliferasyon uyarıcısı olarak tanımlanmıştır. Makrofajlar tarafından olduğu gibi, bazı başka hücrelerce de, bakteriyel ürünler, C5a, immün kompleksler, gama interferon ve prostaglandinlerin uyarımı ile

salgılanır. Epitel hücreleri, polimorf nüveli lökositler, monosit ve lenfositler için kemotaktik; fibroblastlar için değildir. IL 1, fibroblast proliferasyonunu, araşidonik asit metabolizmasını, kollajen sentezini, kollajenaz ve hyalüronidaz aktivitesini uyarır. Vasküler endotel hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder.

8- İnterlökün -2 (Interleukin-2, IL 2); Esas görevi T hücre büyüme faktörü olarak davranmaksa da, yara iyileşmesinde rol oynayabilir.

9- Tümör Nekroz Faktörü -alfa (Tumor necrosis factor-alpha, TNF α); Adını ilk olarak, in vitro tümör hücreleri için sitostatik veya sitosidal bulunduğu için almıştır. Carswell tarafından yumuşak doku sarkomlarında nekroz oluşturabilmesi ile dikkatleri üzerine çekmiştir. Kanser kaşeksisi, endotoksik şokta da rol oynadığı düşünülmektedir. Sonraları, tümör hücrelerinin olduğu kadar, normal hücrelerin de TNF reseptörlerine sahip olduğu gösterilmiştir. Kaşeksiye neden olan kaşektin ile idantik olduğu ve ateş yükseltici özelliği olduğu gösterilmiştir.

Tümör nekroz faktörü-alfa; TNF β ile uyarılmış makrofajlar tarafından sentezlenen, 157 amino asitli bir polipeptittir. Fibroblastlar için mitojenik özellik taşır; kollajen ve kollajenaz biyosentezi ve prostaglandin E2 salınımını uyarır. In vitro, endotel proliferasyonunu inhibe etmesine rağmen anjiogenezi uyarıcı etkisini, ikinci bir mesajcı yoluyla yaptığı sanılmaktadır. Bir seri hücresel fonksiyonu düzenleyen değişik faktörlerin salınmasını uyarır.

10- Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (Vascular endothelial growth factor, VEGF); Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF), özellikle endotel hücreleri için özgül etkilere sahip olan multifonksiyonel bir büyüme faktörü ailesidir (41). Endotel hücresinin proliferasyonuna, migrasyonuna ve differensiasyonuna sebep olur (42). VEGF, hem gelişim sırasında, hem de yetişkinde vaskülogenez ve anjiogenez için önemli ve gereklidir (43). Bu büyüme faktörü, özellikle damar oluşumunda kritik rol oynarken, endotel hücrelerinin yaptığı bir çok fonksiyonda da gerekli olduğu görülmüştür. Bunlar embriyogenez, yara iyileşmesi, tümör büyümesi, miyokardial iskemi, oküler neovasküler hastalıklar ve romatoid artrit gibi kronik inflamatuvar hastalıkları da kapsayan fizyolojik ve fizyopatolojik olaylardır. Bu yüzden de son yıllarda ilgi odağı haline gelmekte ve birçok araştırmaya konu olmaktadır (44).

VEGF ailesi ilk keşfedildiğinde, kobay derisinde bir vasküler sızıntı başlattığı için Vasküler Permeabilite Faktörü olarak isimlendirilmiştir (45). 1980'lerin sonunda ise, bu aileden ilk özel anjiogenik büyüme faktörü ayrıştırıldı ve buna vaskülotropin veya vasküler endotelial büyüme faktörü adı verildi. Daha sonraları da diğerleri bu aileye eklendi (46).

Son yıllarda VEGF üzerine yapılan çalışmalar, bu ailenin Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörleri (PDGF) süper ailesinin önemli bir üyesi olduklarını ortaya koymuştur. Aynı zamanda VEGF ailesinin VEGF-A (Human-VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve Plasenta büyüme faktörü (Placenta growth factor; PlGF) adı verilen altı üyeden meydana geldiğini göstermiştir (47,48,49).

Endotel hücreleri için önemli bir mitojen olan ve migrasyon etkisine sahip bu faktör, fizyolojik olarak ovulasyondan hemen önce ovaryum folliküllerinden salgılanarak yeni damarların oluşumunu artırırken, ovulasyondan sonra bu salgılama görevini korpus luteum üstlenir. Erken implantasyon döneminde embriyo trofoblastlarınca salgılanır (50). Embriyolojik gelişimin ilk dönemlerinin sonuna doğru VEGF biraz azalırken, organogenez döneminde oldukça yükselir. Yine VEGF yetişkinde akciğer alveolar hücrelerde, böbrek glomerüllerinde, proksimal tübüllerde ve düşük seviyede de olsa karaciğer hepatositleri ve beyinde gösterilmiştir (51). Ayrıca, adrenal korteksin tüm hücrelerinde ve testiste testosteron üreten Leydig hücrelerinde VEGF yapımına ait mRNA'ların sentezlendiği gösterilmiştir. VEGF'ün demonstrasyonu için yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda aktive makrofajlarda, arterioller çevreleyen fibroblastlarda, akciğer bronşiyol epitelinde, koroid pleksus epitelinde ve renal glomerül visseral epitelinde varlığı gösterilmiştir (46).

VEGF mRNA'sının transkripsiyonu; trombosit kaynaklı büyüme faktörü-BB (PDGF-BB), keratinosit büyüme faktörü (FGF 7), epidermal büyüme faktörü (EGF), tümör nekroz faktörü-alfa (TNF α), transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF β), ve interlekin-1 (IL 1) gibi çeşitli faktörler tarafından başlatılır. Böylece bu maddelerin mitojenik olmadığı, VEGF salgılanmasına yol açarak mitojeniteyi arttırdıkları gösterilmiştir (46).

Ayrıca protein büyüme faktörlerinin haricinde, forbol esterleri ve prostaglandin E2 (PGE2) gibi bazı küçük mediatörlerin de VEGF ekspresyonunu düzenledikleri görülmüştür (52).

Hipoksi, belki de, VEGF ve reseptörlerinin yapımını indükleyerek anjiogenezi başlatan en etkili stimuluslardan biridir. Buna örnek olarak büyüyen tümörlerin hipoksik merkezleri oluşması ve bunu

engellemek için tümör hücrelerinden VEGF ekspresyonu ve yeni damar yapımı gösterilebilir. Yine tıkanmış kalp damarlarına bağlı gelişen hipoksi sonrasında da VEGF ekspresyonu artmaktadır. Hipoksinin VEGF'ü artırma mekanizmasının sadece bir kısmı çözülebilmiştir. VEGF yapımı hipoksi tarafından tetiklenirken, CO tarafından da inhibe edilmektedir (42,53). Hipoksinin yanında azalan pH ve sitokinler ile de VEGF ekspresyonu artmaktadır (42).

2.5.2. İnsan Çalışmaları

Büyüme faktörlerinin, birçok hayvan modelinde yara iyileşmesini hızlandırdığı açıkça gösterildiği için, insan çalışmalarına geçilmesi konusunda yapılacak araştırmalar desteklenmektedir. İlk araştırmalar, otolog trombosit ekstratlarının kollajen vezikül içinde uygulanması suretiyle yapılmıştır. Trombosit kaynaklı yara iyileştirme faktörü (Platelet derived wound healing factor, PDWHF), kronik yaraları olan bazı hastalarda hergün topikal olarak uygulanmış, kronik, iyileşmesi güç yaraların ortalama 10.6 haftada kapandığı görülmüştür (54). İleri araştırmalar için PDWHF ve plasebo, randomize, prospektif bir çalışmada, kronik deri ülserleri olan hastalara uygulanmıştır. PDWHF ile tedavi edilen hastaların %81'i 8 haftada iyileşirken, aynı süre içinde plasebo grubunda düzelme %15 oranında bulunmuştur. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (55). Üçüncü bir çalışmada, ülserasyonlar önce serum fizyolojik veya Silvadene krem ile 3 ay boyunca tedavi edildikten sonra, Silvadene taşıyıcısı içinde PDWHF ile tedaviye geçilmiştir. İlk 3 aylık sürede lezyonların sadece %11'inde iyileşme görülmüştür. PDWHF eklendikten sonra ortalama 9.67 hafta içinde %100 düzelme saptanmıştır (56).

Başka bir çalışmada, diabetik nöropatik ülserleri olan 13 hastaya, PDWHF veya plasebo, prospektif, çift-kör olarak uygulanmış; PDWHF ile tedavi edilen 7 hastanın 5'inde tam iyileşme saptanırken, plasebo uygulanan 6 hastadan sadece 1'inde düzelme görülmüştür. PDWHF ile tedavi edilen lezyonların küçülme miktarı $6.2 \text{ mm}^2/\text{gün}$ iken, plasebo grubunda aynı oran $1.8 \text{ mm}^2/\text{gün}$ olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (57). Prospektif randomize çift-kör bir başka çalışmada PDWHF topikal solüsyon içinde, 26 adet alt ekstremitte ülserasyonu olan 18 hastaya uygulanmış ancak bu çalışmada her iki grup arasında anlamlı olabilecek bir fark bulunmamıştır (58). Bazı ülserlerin tedavisinde, saflaştırılmış PDGF-BB topikal olarak sıvı taşıyıcı içinde denenmiştir. 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ gibi yüksek bir konsantrasyon ile tedavi edilen lezyonlar; çalışma öncesi boyutlarının

%4'üne ulaşırken, kontrol grubu çalışma öncesi alanının %21.8'ine ulaşmıştır. Pozitif bir etkiye işaret etmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (59).

Epidermal büyüme faktörünün, deri grefti donör bölgelerine, Silvadene taşıyıcı içinde, topikal uygulandığı çift-kör başka bir çalışmada, epitelizasyon ortalama 1.5 gün kısalmıştır (60). Başka bir çalışmada, iyileşmeyen ülserasyonları olan 9 hasta, Silvadene ile 3 hafta-6 ay tedavi görmüş ve çok az iyileşme elde edilmiştir. Silvadene içine EGF eklenip tedaviye geçildiğinde 9 hastanın 8'inde ortalama 34 gün içinde iyileşme saptanmıştır (61). Venöz staz ülserlerinin tedavisinde büyüme faktörlerinin kullanımını araştırmak için yapılmış çift kör bir çalışmada, sıvı taşıyıcı içinde EGF topikal olarak uygulanmış; 10 haftalık çalışma süresinin sonunda EGF ile tedavi olan grupta %35, kontrol grubunda %11'lik düzelme saptanmıştır. Ülserasyonların küçülmesi, çalışma grubunda haftada %7 oranında bulunurken; kontrol grubunda haftada %3 oranında bulunmuştur (62).

Bazik fibroblast büyüme faktörü, çok merkezli, çift kör bir çalışmada bası ülserlerinde kullanılmış; dört hafta süreyle yatan hastalarda, sıvı taşıyıcı içinde bFGF kullanılmış ve plaseboya oranla düzelme, anlamlı şekilde üstün bulunmuştur. Histolojik olarak da bFGF uygulanan hastaların yaralarında, fibroblast ve kollajen miktarında artma görülmüştür (63).

Büyüme faktörleri ile yapılan insan deneyleri, ne yazık ki hayvan deneyleri kadar başarılı bulunamamıştır. Tüm araştırmacılar, PDWHF ile olumlu sonuçlar elde etmiştir. PDGF insanlarda bası ülserlerinde belirgin bir etki sağlayamazken, bFGF dekübit ülserlerinde, plaseboya oranla, istatistiksel olarak anlamlı bir düzelme sağlayabilmiş, ancak çalışma sonunda yine bazı hastaların lezyonlarının devam etmesini engelleyememiştir. Staz ülserlerinde EGF kullanımı, tek olumlu sonuç veren çalışma olarak görünmektedir. Sonuç olarak büyüme faktörlerinin insanlarda kullanımının deneme aşamasında olduğu söylenebilir.

İnsan modelleri neden hayvan deneyleri kadar başarılı değil?

- İnsan modellerinin kontrolü daha güç (diabetes mellitus, kemoterapi, steroid, radyoterapi gibi tedaviyi güçleştirici faktörlerin varlığı),
- Hastanın yaşı, ülserasyonun tipi, lokalizasyonu ve yara iyileşmesini etkileyebilecek sekonder faktörler (beslenme vb),

- Kronik insan ülserasyonlarında bulunan bazı proteolitik enzimlerin, topikal olarak eklenen büyüme faktörlerini bozabilmesi gibi nedenleri öncelikle düşünmeliyiz.

Sonuçlar

- Normal yara iyileşmesinde görev yapan faktörlerin sırasıyla ve kombine olarak kullanılmasının, yara iyileşmesini olumlu etkileyeceği mantıklıdır.
- Yara iyileşmesinin bozulabildiği durumlarda, eksik olan faktörlerin yerine konması, iyileşmeyi hızlandırır.
- Deneysel modellerde, faktörlerin tek tek kullanımının, kombine şekilde kullanılmalarından daha az etkili olduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak, Büyüme faktörlerinin tedaviyi desteklemek amacıyla kullanılması klinik açıdan çok önemlidir ancak kullanım dozu formülasyonu ve zamanlaması gibi pratik bilgilerden yoksun olmamız, tedavinin standardizasyonunu engellemektedir.

3. GEREÇ - YÖNTEM

3.1. HAYVANLAR VE YEMLERİ

Çalışma ortalama ağırlıkları 300 ± 20 gr olan, erkek cinsteki 40 adet Wistar tipi albino ratla yapıldı. Ratlar uygun kafeslerde ve 23 ± 2 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsünde takip edildi. Ratlar için özel üretilmiş pelet yem ile beslenen ratların istedikleri kadar su içmelerine izin verildi. Ratların beslenmesi, bakımı ve deneysel çalışmalar Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinde gerçekleştirildi.

3.2. ÇALIŞMA GRUPLARI

Hayvanlar 10'ar denekten oluşan dört gruba ayrıldı. İlk gruba Mathiu tipi insizyon ve 10 dakikalık turnike uygulaması yapıldıktan 24 saat sonra penektomi işlemi yapıldı (PT 10G). İkinci gruba Mathiu tipi insizyon ve 30 dakikalık turnike uygulaması yapıldıktan 24 saat sonra penektomi işlemi yapıldı (PT 30G). Turnike uygulaması yapılmadan Mathiu tipi insizyon yapıldıktan 24 saat sonra penektomi işlemi yapılarak sham grubu oluşturuldu (SG). Ayrıca 10 denekten oluşan bir başka grup ise kontrol grubu amacıyla kullanıldı ve turnike uygulaması ve insizyon işlemleri yapılmadan penektomi işlemi yapıldı (KG).

Operasyonlar steril olmayan ancak temiz ve lokal asepsi-antisepsi koşullarının sağlandığı bir ortamda gerçekleştirildi. Tüm denekler işlem öncesi tartılıp ve ağırlıkları kaydedildi. Anestezide 10 mg/kg dozunda ketamin hidroklorid (Ketalar flk.,50 mg, Eczacıbaşı İlaç) intramüsküler olarak uygulandı. PT10G, PT 30G ve SG'de penis ortaya konduktan sonra bölge %10'luk povidin iyot ile temizlenip ve Mathiu tipi bir insizyon yapıldı. Sonrasında PT 10G ve PT 30G'de penis köküne 10 numara nazogastrik tüp içinden geçirilen 0.25 mm lastik ile turnike uygulandı. Turnike işlemi süresince anestezi altında takip edilen deneklerde planlanan turnike zamanı dolunca penis köküne konulan turnike açılarak, deneklerde (PT 10G ve PT 30G) reperfüzyon yapıp reperfüzyonu takiben 24 saat sonrasında penektomi yapıldı.

3.3. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME METODU

Çıkarılan penis dokusu ve penil cilt histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehid içerisinde konuldu. Materyaller %10' luk formaldehid solüsyonunda 24 saatlik tespitten sonra örneklenerek rutin histopatolojik takip işlemlerinden geçirilip parafine gömülerek bloklandı. Bu parafin bloklardan 4-6 µm'lik kesitler yapılarak adeziv lamalar üzerine alındı. Kesitlere rutin hematoksil-eozin (H&E) boyası uygulandı.

3.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME METODU

Parafin bloklardan mikrotom ile 6µ kalınlıkta kesitler hazırlanarak adezivli lam üzerine alındı. Kesitler etüvde 37°C de gece boyu ve 60°C de 30 dakika kurutuldu. Ksilen ve alkollerden geçirilerek deparafinize ve dehidrate edilen kesitler, endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için 5 dakika %3'lük H₂O₂ içinde bekletildi. Preparatlar, sitrat bazlı antijen açığa çıkarma solüsyonuna (pH=6) transfer edildi. Tüm kesitler iki kere 5'er dakika mikrodalga (750 watts) içinde tutuldu. Kesitlere daha sonra Shandon Sequenza TM standartize edilmiş manuel immunohistokimya boyama aracı (Shandon Scientific limited, Astmoor, UK) yardımıyla, klasik avidin-biotin peroksidaz yöntemi kullanılarak CD105/ Endoglin/ Transforming growth faktör β 1/3 reseptör (LabVision;1/50), Vasküler endotelial growth faktör (VEGF -LabVision;1/100), Vasküler endotelial growth faktör reseptörü (VEGFR-LabVision;1/100) uygulandı. İmmünohistokimyasal boyamalar streptavidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile (UltraVision Polyvalent (rabbit-mouse) HRP kit ile yapıldı. Kromojen olarak DAB (diamino benzin) uygulandı. Pozitif kontrol olarak CD105/ Endoglin/ Transforming growth faktör β 1/3 reseptör için tonsil, VEGF ve VEGFR için plasenta doku örnekleri kullanıldı. Negatif kontrol olarak primer antikor basamağı yerine PBS uygulanarak diğer basamakların aynen yapıldığı bir kesit kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyaların değerlendirilmesi sırasında kahverengi boyanma pozitif kabul edildi.

3.5. DEĞERLENDİRME

Dört gruba ait her bir penil doku örneği kör olarak değerlendirmeye alındı. H&E kesitlerde histopatolojik olarak akut inflamasyon hafif, orta ve ağır olarak değerlendirildi (Tablo 3.1). İmmünohistokimyasal belirleyicilerin ekspresyonları ise penil doku içindeki penil ciltteki subepitelial vasküler

ağ (SAV), korpus kavernozum (KK) ve korpus kavernozum içinde yer alan düz kas yapısındaki mezenkimal hücrelerde(MH) ayrı ayrı değerlendirildi. Bu belirleyiciler için saptanan immün boyanma sonuçları, immünohistokimyasal histolojik skor sistemi (HSCORE) kullanılarak semikantitatif olarak değerlendirildi. HSCORE ile özgül boyanmanın dağılımı ve yoğunluğu birleşik olarak bildirdi. HSCORE matematiksel olarak şöyle formüle edilmektedir: $HS = \sum (P_i \times i/100)$. Formülasyondaki P_i boyanan hücre sayısını, i ise 1-3 arası değişen oranlarda boyanma yoğunluğunu ifade etmektedir. HSCORE değerleri 0 ila 300 arasında değişmektedir.

Tablo 3.1. Histopatolojik incelemede akut inflamasyonun evrenlenmesi.

Evre	Akut İnflamasyon
0	İnflamasyon bulgusu yok
1	Hafif inflamasyon
2	Orta inflamasyon
3	Ağır inflamasyon, ülser varlığı

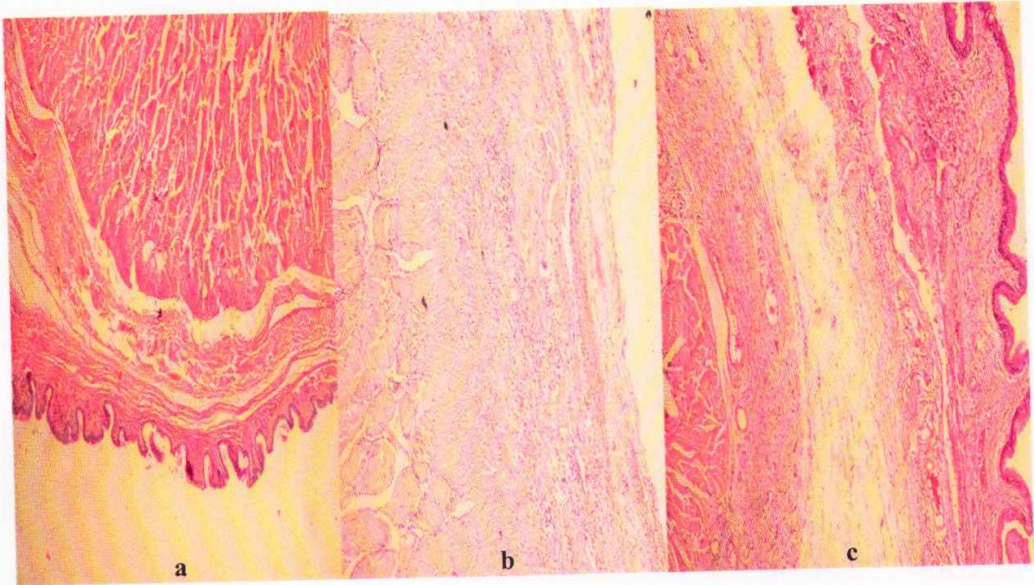
3.6. İSTATİSTİKSEL ÇALIŞMA METODU

İstatistiksel değerlendirme SPSS 15.0 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası dağılım değerlendirildikten sonra Kruskal-Wallis analiz yöntemi ile gruplar arası VEGF, VEGF reseptörleri (VEGFR) ve TBF β düzeyleri karşılaştırıldı. Kruskal Wallis test gruplar arasındaki farkın saptanmasında, Mann Whitney U testi ise 2 grup arasındaki farkın saptanmasında kullanıldı. VEGF, VEGFR ve TBF β düzeylerinin penil dokudaki dağılımları (penil cilt subepitelyal vasküler pleksus, korpus kavernozum ve korpus kavernozum içindeki düz kas içeren mezenkimal hücrelerde) Spearman testi ile korole edildi. Ayrıca bu faktörlerin inflamasyon ile ilişkisini koymak amacıyla Spearman korelasyon testinden faydalanıldı. ‘p’ değeri 0.05’den küçük değerlerde ise fark anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Penil turnike sonrası elde edilen dokularda farklı evrelerde akut inflamasyon bulguları saptanmıştır. Şekil 1a'da normal yapıdaki epidermis, subepitelyal alan ve korpus kavernozumlar, 1b'de epidermis altında hafif şiddette polimorfonükleer lökosit (PMNL) infiltrasyonu ve 1c'de evre 4 akut inflamasyonu gösteren epidermin ortadan kalktığı, ülserin izlendiği yoğun PMNL infiltrasyonunun görüldüğü histopatolojik bulgular görülmektedir.

Şekil 4.1. Penil turnike uygulaması sonrası elde edilen histopatolojik bulgular. (a) Normal epidermis, subepitelyal alanlar ve korpus kavernozumlar. (b) subepitelyal PMNL infiltrasyonu, (c) epidermin ortadan kalktığı, ülser ve yoğun PMNL infiltrasyonu. (H&E x100 büyütme)



H&E ile yapılan histopatolojik incelemede gruplardaki akut inflamasyon evrelerinin dağılımı Tablo 4.1'de özetlenmiştir.

Tablo 4.1. Deney gruplarında H&E ile yapılan histopatolojik incelemede akut inflamasyon evrelerine göre denek sayısının dağılımı

Gruplar	Evre 0	Evre 1	Evre 2	Evre 3
KG	7	2	-	1
SG	10	-	-	-
PT 10G	3	2	3	2
PT 30G	-	-	4	6

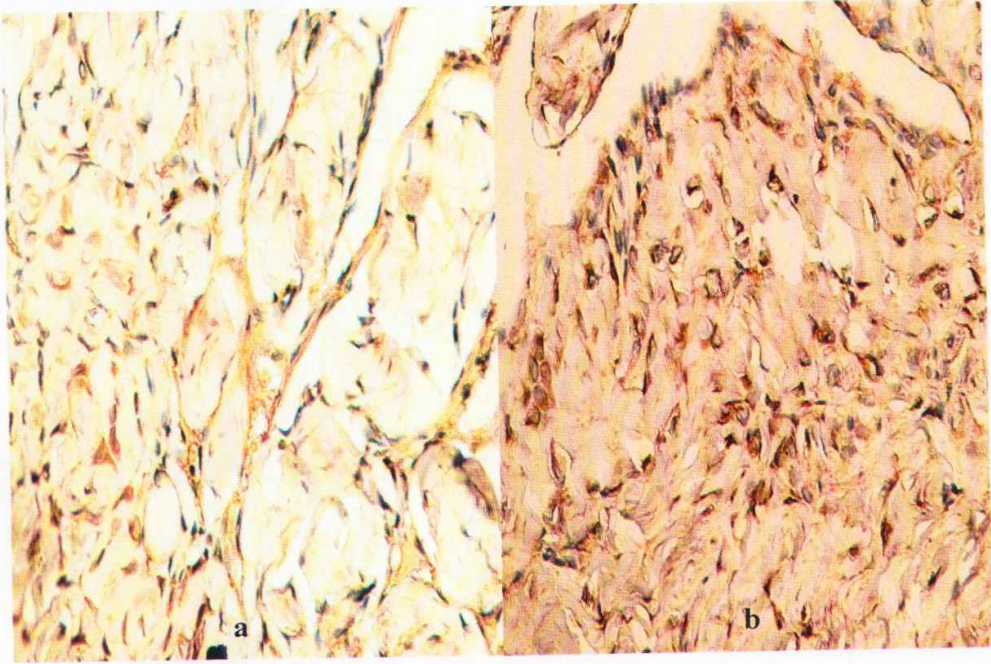
Gruplar arası akut inflamasyon evreleri değerlendirildiğinde PT 10G ve PT 30G arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$). Ancak, diğer gruplar arasında belirgin fark bulunmaktadır. Akut inflamasyon evreleri bakımından gruplar arasındaki fark Tablo 4.2’de görülmektedir. PT 10G ve PT 30G’deki akut inflamasyon kontrol grubu ve sham grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($p < 0.005$).

Tablo 4.2. Gruplar arası akut inflamasyon evrelerinin karşılaştırılması.

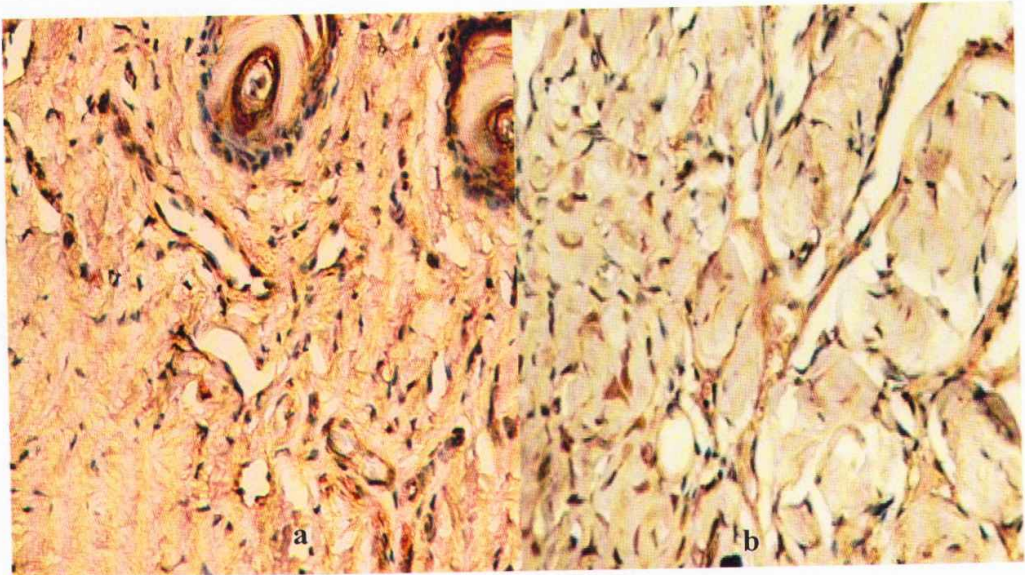
Gruplar	KG	SG	PT 10G	PT 30G
KG	-	$p < 0.005$	$p < 0.005$	$P < 0.005$
SG	$p < 0.005$	-	$p < 0.005$	$P < 0.005$
PT 10G	$p < 0.005$	$p < 0.005$	-	$P > 0.05$
PT 30G	$p < 0.005$	$p < 0.005$	$p > 0.05$	-

SVA (a), KK ve MH (b) ’deki VEGF ekspresyonları Şekil 4.2’de; SVA (a), KK ve MH (b) ’deki VEGFR ekspresyonları ise Şekil 4.3’de görülmektedir.

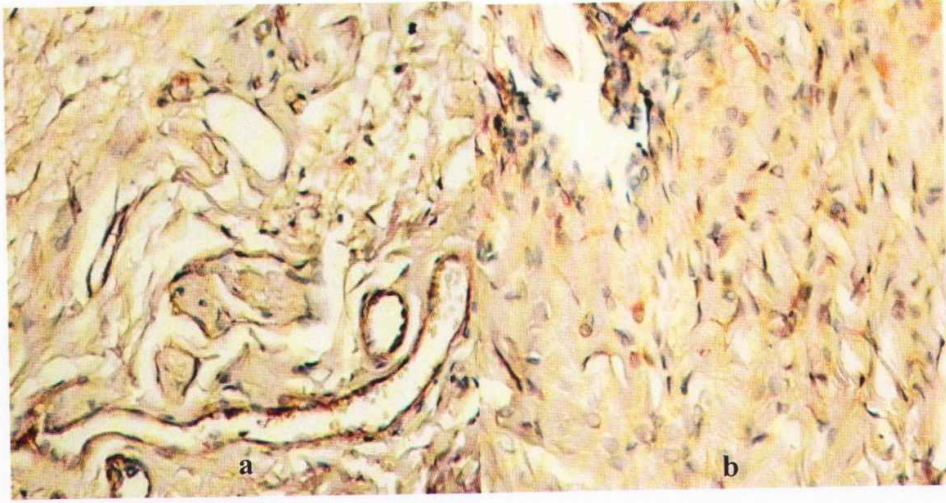
Şekil 4.2. VEGF ekspresyonlarının SVA (a), KK ve MH (b) 'de görünümü. (VEGF DAB x400 büyütme)



Şekil 4.3. VEGFR ekspresyonlarının SVA (a), KK ve MH (b) 'de görünümü. (VEGFR DAB x400 büyütme)



Şekil 4.4'de ise SVA (a), KK ve MH (b) 'deki TGF β ekspresyonları görülmektedir.



Şekil 4.4. TGF β ekspresyonlarının SVA (a), KK ve MH (b) 'de görünümü. (CD105 DAB x400 büyütme)

Gruplarda VEGF, VEGFR ve TGF β düzeylerinin penil ciltteki subepitelyal vasküler ağ (SVA), korpus kavernoza (KK) ve korpus kavernoza içinde yer alan düz kas yapısındaki mezenkimal hücrelerdeki (MH) HSCORE ortancaları Tablo 4.3 'de özetlenmektedir.

Tablo 4.3. VEGF, VEGFR ve TGF β düzeylerinin penil ciltteki subepitelyal vasküler ağ (SVA), korpus kavernozum (KK) ve korpus kavernozum içinde yer alan düz kas yapısındaki mezenkimal hücrelerdeki (MH) HSCORE ortancaları.

Faktörler	KG	SG	PT 10G	PT 30G
VEGF-SVA	201 (176,25 - 220.25)	120 (90.75 - 157)	101.5 (79 - 139)	76.5 (54.5 - 101.5)
VEGFR-SVA	98 (78 - 119.75)	74.5 (46.75 - 101,25)	72.5 (50.25 - 98.75)	65 (54 - 74.75)
TGF β -SVA	43 (33.75 - 50.5)	40 (31.25 - 48.5)	75.5 (55.25 - 79.5)	58.5 (45 - 65.25)
VEGF-KK	202.5 (176.5 - 218.75)	135 (106.75 - 175)	100 (90 - 129.75)	72 (35.5 - 92.5)
VEGFR-KK	101 (84 - 130.25)	56.5 (25.5 - 41.25)	79 (65.25 -94.75)	79 (69.25 - 92.75)
TGF β -KK	36 (29.5 - 41.25)	30.5 (25.5 - 41.5)	50 (43.75 - 55.5)	44 (31.25 - 57.5)
VEGF-MH	206 (190 - 239.25)	169.5 (115.5 - 215.25)	175.5 (153.5 - 189.5)	82 (51 - 117.75)
VEGFR-MH	146 (128.25 - 156.5)	107 (61.5 - 160.75)	145 (131.5 - 157.5)	91 (65.5 - 126.25)
TGF β -MH	15.5 (8 - 18.5)	19 (7.5 - 31)	27.5 (21.5 - 31.5)	31 (22.5 - 42)

Tüm gruplar incelendiğinde VEGF-MH dışında ($p > 0.05$) tüm gruplar arasında anlamlı fark bulunmaktadır. Penil dokunun üç farklı bölgesindeki VEGF, VEGFR ve TGF β skorları karşılaştırıldığında penil dokunun farklı kısımlarında bu faktörlerin dağılımında istatistiksel olarak

anlamli fark bulunmaktadır (Kruskal Wallis test). Grupların karşılaştırılması Tablo 4.4’de belirtilmiştir.

Tablo 4.4. Penil dokunun farklı bölgelerindeki VEGF, VEGFR ve TGF β skorlarının gruplar arasında karşılaştırılması (p değerleri verilmiştir).

Faktörler	KG – SG (p değeri)	KG - PT 10G (p değeri)	KG - PT 30G (p değeri)	SG – PT 10G (p değeri)	SG – PT 30G (p değeri)	PT 10G - PT 30G (p değeri)
VEGF-SVA	0.001*	0.001*	0.000*	0.344	0.034*	0.096
VEGFR-SVA	0.096*	0.089	0.005*	0.970	0.473	0.496
TGF β-SVA	0.570	0.002*	0.395	0.001*	0.009*	0.104
VEGF-KK	0.02*	0.000*	0.000*	0.053	0.002*	0.013*
VEGFR-KK	0.02*	0.015*	0.006*	0.059	0.082	0.880
TGF β-KK	0.364	0.009*	0.240	0.004*	0.063	0.240
VEGF-MH	0.016*	0.002*	0.001*	0.880	0.01*	0.005*
VEGFR-MH	0.344	0.970	0.028*	0.290	0.496	0.009*
TGF β-MH	0.211	0.002*	0.000*	0.185	0.019*	0.405

(* 0.005’den küçük p deęerlerini göstermektedir.)

Tabloyu incelediğimizde KG ile SG arasında VEGF ve VEGFR bakımından anlamli fark bulunmaktadır. SG’de KG’ye göre VEGF ve VEGFR’de belirgin azalma görülmektedir. İki grup arasında TGF β bakımından fark yoktur.

KG ile PT 10G arasında yalnız VEGFR’leri bakımından fark yoktur. PT 10G’de VEGF düzeyleri kontrol gruba göre azalmış ancak TGF β düzeyleri ise artmıştır. PT 10G’de rastlanan bu değişiklikler PT 30G’de de benzerlik göstermekte, 10 dakika penil turnike uygulanan gruptan farklı olarak VEGFR’lerinde de azalma görülmektedir.

SG'de elde edilen sonuçlar PT 10G sonuçları ile karşılaştırıldığında yalnız TGF β düzeylerinde değişiklik görülmektedir. Turnike uygulanan grupta TGF β düzeyleri artmaktadır. Daha uzun süre turnike uygulanan grupta ise SG'ye oranla TGF β 'da artmaya ek olarak VEGF düzeylerinde azalma da eşlik etmektedir.

PT 30G'de ise PT 10G'ye göre VEGF düzeylerinde azalma olmaktadır. Ancak bu azalma yalnız MH'de olmuştur.

Tüm gruplarda farklı penil doku bölümlerdeki VEGF, VEGFR ve TGF β ekspresyonları korele edildiğinde hem SAV'da, hem KK'da, hem de MH'deki VEGF ve TGF β düzeylerinde doğrusal bir korelasyon bulunmaktadır (Spearman korelasyonu). Benzer korelasyon VEGFR için yalnız SAV ile KK'da bulunmaktadır. Faktörlerin penil dokulardaki dağılımına göre korelasyonu Tablo 4.5'de görülmektedir.

Tablo 4.5. VEGF, VEGFR ve TGF β 'nin penil dokunun farklı bölgelerindeki dağılımı ve korelasyonu.

Föktörler	Korelasyon kat sayısı (r_s)	p değeri
VEGF (SVA- KK)	0.745	0.000*
VEGF (SVA-MH)	0.643	0.000*
VEGF (KK-MH)	0.887	0.000*
VEGFR (SVA –KK)	0.495	0.001*
VEGFR (SVA- MH)	-	> 00.5
VEGFR (KK- MH)	-	> 00.5
TGF β (SVA – KK)	0.479	0.002*
TGF β (SVA – MH)	0.461	0.003*
TGF β (KK - MH)	0.436	0.005*

Aynı faktör düzeyleri ile gruplardaki akut inflamasyon evreleri korele edildiğinde akut inflamasyonda artma ile VEGF arasında ters korleasyon (rs: - 0.345 ve rs: - 0.409) ve TGF β ile doğru korleasyon (rs: 0.324 ve rs: 0.504) saptanmıştır (Spearman korelasyonu, $p < 0.005$). Özetle bu sonuç akut inflamasyonun arttığı durumlarda VEGF'nin azaldığı buna karşın inflamasyonla birlikte TGF β 'nin arttığı anlamına gelmektedir.

Çalışmamızda sham grubunda VEGF ve VEGFR düzeylerinde KG'na göre belirgin azalma olmakta ancak TGF β bakımından fark bulunmamaktadır. KG ile PT 10G arasında yalnız VEGFR düzeyleri bakımından fark yoktur. PT 10G'de VEGF düzeyleri kontrol gruba göre azalmış ancak TGF β düzeyleri ise artmıştır. PT 10G'de rastlanan bu değişiklikler PT 30G'de de benzerlik göstermektedir. Bu sonuçlar göstermektedir ki TGF β düzeylerindeki değişiklikler iskemi oluşturulan gruplarda artmaktadır. Penil turnike sonrası TGF β 'nin artması oluşan iskemiyeye bir yanıt olarak değerlendirilebilir. TGF β , VEGF dahil birçok yara iyileşme faktörünün salınımını sağlamaktadır (37,38). Ancak penil turnike sonrası VEGF düzeyleri ve VEGFR sayısı azalmaktadır. VEGFR turnikenin daha uzun sürdüğü grupta (PT 30G) anlamlı olarak azalmıştır. VEGF salınımı hipoksi ve düşük pH ile tetiklenmekte, CO₂ ile ise inhibe edilmektedir (42,53). Bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre VEGF salınımı turnike sonrası belirgin olarak azalmıştır. Bu durumun açıklanması için penil turnike sırasında dokudaki oksijenasyonun ve pH'nın incelediği ileri çalışmalara gerek duyulmaktadır.

Turnike süresinin VEGF, VEGFR ve TGF β düzeylerine etkisi incelendiğinde yalnız VEGF ve VEGFR'de belirgin farklar ortaya çıkmıştır. Bu farklılık ise özellikle korpus kavernozumun içindeki düz kas benzeri mezenkimal hücrelerde izlenmektedir. PT 30G'da VEGF ve VEGFR'deki anlamlı azalma, mezenkimal hücrelerde turnike süresi uzadıkça anjiyogenezisin bozulabileceğini göstermektedir.

Turnikenin penil dokularda oluşturduğu değişikliklerin farklı penis kısımlarındaki korelasyonu incelendiğinde SVA'da ve KK'daki VEGF ve TGF β değişikliklerinin korele olduğu görülmektedir. Bu turnikeden penil cildin ve KK'nun benzer oranda etkilendiğini ortaya koymaktadır. Ancak, korpustaki mezenkimal hücreler VEGFR bakımından aynı oranda etkilenebilmektedir. Bu sonuçlar, turnike süresinin uzadığı durumlarda VEGFR'nin de etkilenebileceği şeklinde yorumlanabilir.

Akut inflamasyonla VEGF, VEGFR ve TGF β düzeyleri karşılaştırıldığında penil turnikenin neden olduğu akut inflamasyonun VEGF salınımını azalttığı buna karşın TGF salınımını arttırdığı ortaya çıkmaktadır. Ancak yara iyileşmesinde önemli rol oynayan TGF β 'nin artmış olması penil turnikenin yara iyileşmesine destek olduğu anlamından çok, penil turnikenin oluşturduğu iskemik hasara yanıt olarak artmış olabileceği gibi değerlendirmek mümkündür. Artan TGF β 'ya rağmen VEGF

düzeylelerinde azalma olması ve ilerleyen sürelerde VEGFR'nin de azalması, penil turnikenin yara iyileşmesinin anjiyogenezis safhasını olumsuz etkileyebileceğini ortaya koymaktadır. Bu durum cilt fleplerinin kullanıldığı hipospadias onarımları için olumsuz bir sonuç olarak değerlendirilebilir.

6. SONUÇ

1. Penil turnike uygulaması penil dokularda süre ile artan oranda akut inflamatuvar yanıtı neden olmaktadır.
2. Penil turnikenin penis dokularında TGF β düzeyini arttırdığı, buna karşın VEGF ve VEGFR düzeylerini azalttığı izlenmiştir.
3. Turnike sonrası ortaya çıkan TGF β artışı penil turnikenin yara iyileşmesine katkısından çok, akut inflamasyona oluşan bir yanıt olarak değerlendirilebilir.
4. VEGF düzeylerinin turnike sonrası azalması penil turnikenin yara iyileşmesindeki anjiogenezis safhasını olumsuz etkileyebileceğini düşündürmektedir.
5. Penil turnike uygulaması sırasında oluşan bu değişiklikler penil cildin subepitelyal vasküler ağı ile korpus kavernozumda aynı oranda olmaktadır. Ancak korpustaki erektil fonksiyondan sorumlu olan mezenkimal hüclerede penil turnikeye bağlı akut inflamasyon penisin diğer kısımlarıyla aynı oranda gözlenmektedir.

7. KAYNAKLAR

- 1- Gittes RF, McLaughlin AP. Injection technique to induce penile erection, *Urology* 4:473,1974.
- 2- Redman JF. Tourniquet as hemostatic aid in repair of hypospadias, *Urology* 28:241,1986.
- 3- Grishman MB, Ganger MD. Free radicals; reactive metabolites of oxygen as mediators of postischemic reperfusion injury. In Martson A, Buckley GB, Fiddian-Green RG, Haglund U (eds): *Splanchnic ischemia and multiple organ failure*. St Louis, Mosby, 1989, p 135.
- 4- Kilgore KS, Lucchesi BR. Free radicals and the inflammatory response. In Rice-Evans CA, Bruckdorfer KR (eds): *Oxidative stress, lipoproteins and cardiovascular dysfunction*, London, Portland Pres., 1995, p 161.
- 5- Pathak KA. Penile tourniquet: An invaluable technique, *Scand. J Urol. Nephrol.* 31:457,1997.
- 6- Rabinovitch HH. Experience with a modification of the cloutier technique for hypospadias repair, *J Urol.* 139:1017,1988.
- 7- Cakmak M, Caglayan F, Kisa U, Bozdogan O, Saray A, Caglayan O. Tourniquet application and epinephrine injection to penile skin: is it safe? *Urol. Res.* 30:268,2002.
- 8- Grazul-Bilska AT, Johnson ML, Bilski JJ, Redmer DA, Reynolds LP, Abdullah A, Abdullah KM. Wound healing: the role of growth factors. *Drugs Today (Barc)*. 2003 Oct;39(10):787-800
- 9- El Galley RES, Smith E, Cohen C, Petros JA, Woodard J, Galloway NTM. Epidermal growth factor(EGF) and EGF receptor in hypospadias, *British J Urol.* 79:116-119,1997.
- 10- Goldstein AMB, Meehan JP, Morrow JW, Buckley PA, Rogers FA. The fibrous skeleton of the corpora cavernosa and its probable function in the mechanism of erection, *British J Urol.* 57:574,1985.
- 11- Lierse W. Blood vessels and nerves of the human penis, *Urol. Int.* 37:145,1982.
- 12- Newman HF, Northrup JD. Mechanizm of human penile erection: An overview, *J Urol.* 17:399,1981.
- 13- Sherif RA, Tom FL. Hemodynamics of penile erection, *Urol. Clinics of North Am.* 15:1,1988.
- 14- Fitzpatrick TJ. Venography of the deep dorsal venous and valvular system, *J Urol.* 111:518,1974.
- 15- Moore KL, Dalley AF. Male perineum. In Moore KL, Dalley AF (eds): *Clinically oriented anatomy*. 4 th Edition, Canada, Lippincott Williams &Wilkins, 1999, p 406.

- 16- Baskin SL, Erol A, Li WY, Liu WH. Anatomy of the neurovascular bundle: is safe mobilization possible? *J Urol.* 164:977,2000.
- 17- Hsu GL, Brock G, Martinez-Pineiro L, von Heyden B, Lue TF, Tanagho E. Anatomy and strength of the tunica albuginea: its relevance to penile prosthesis extrusion, *J Urol.* 73:566,1994.
- 18- Cormack DH. The male reproductive system. In Cormack, D.H. *Ham's Histology.* 9th edition, Philadelphia, WB, Saunders Co, 1985, p 516.
- 19- Junquera LC, Carneiro J, Kelley RO. The male reproductive system. In Junquera LC, Carneiro J, Kelley RO (eds): *Basic Histology.* 6th ed. Philadelphia, WB, Saunders Co, 1985, p 516.
- 20- Kelly DE, Wood RL, Enders AC. *Bailey's Textbook of Microscopic anatomy.* Baltimore, Williams&Wilkins. 1984, p 716.
- 21- Goldstein ABM, Padma-Nathan H. The microarchitecture of the intracavernosal smooth muscle and the cavernosal fibrous skeleton, *J Urol.* 144:1144,1990.
- 22- Padma-Nathan H, Goldstein I, Azadzoi K, Blanco R, Saenz de Tejada I, Krane RJ. In vivo and in vitro studies on the physiology of penile erection, *Sem. Urol.* 4:209,1986.
- 23- Stief C, Benard F, Bosch R, Aboseif S, Nunes L, Lue TF, Tanagho EA. Acetylcholine as a possible neurotransmitter in penile erection, *J Urol.* 141:1444,1989.
- 24- Saenz de Tejada I, Goldstein I, Krane RJ. Local control of penile erection: nerves, smooth muscle, and endothelium, *Urol. Clinics of North Am.* 15:9,1988.
- 25- Ottesen B, Wagner G, Virag R, Fahrenkrug J. Penile erection: possible role for vasoactive intestinal polypeptide as a neurotransmitter, *British Med. J* 288: 9,1984.
- 26- Hedlund H, Andersson KE. Contraction and relaxation induced by some prostanoids in isolated human penile erectile tissue and cavernous artery, *J Urol.* 134:1245,1985.
- 27- Kim N, Vardi Y, Padma-Nathan H, Daley J, Goldstein I, Saenz do Tejada I. Oxygen tension regulates the nitric oxide pathway: Physiological role in penile erection, *J Clin. Invest.* 91:437,1993.
- 28- Tarhan F, Kuyumcuoglu U, Kolsuz A, Ozgul A, Cangiiven 6. Cavernous oxygen tension in patients with erectile dysfunction, *Int. J Impotence Res.* 9:149,1997.
- 29- Laato M, Heino J, Kahari VM et al. Epidermal growth factor prevents methylprednisolone induced inhibition of wound healing, *J Surg. Res.* 17:354-359,1989.

- 30- Brown GI, Nanney LB, Griffith J et al. Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor, *N. Engl. J Med.* 321:76-79,1989.
- 31- Brown GL, Curtsinger L, Jurkiewicz MJ et al. Stimulation of healing of chronic wounds by epidermal growth factor, *Plast. Reconst. Surg.* 88:189-196,1991.
- 32- McGee GS, Davidson JM, Buckley A et al. Recombinant basic fibroblast growth factor accelerates wound healing, *J Surg. Res.* 45:145-153,1988.
- 33- Hosgood G. Wound healing: The role of platelet-derived growth factor and transforming growth factor beta, *Vet. Surg. Review*, 22(6):490-5,1993.
- 34- Sprugel KH, Greenhalgh DG, Murray MJ, Ross. Platelet-derived growth factor and impaired wound healing, *Prog. Clin. Biol. Res.* 365:327-40,1991.
- 35- McPherson JM. The utility of collagen-based vehicles in delivery of growth factors for hard and soft tissue wound repair, *Clin. Mater. Review*, 9(3-4):225-34,1992.
- 36- Sun TZ, Fu XB, Zhao ZL, Chen W, Sun XQ, Zhou G, Shen ZY. Experimental study on recombinant human platelet-derived growth factor gel in a diabetic rat model of cutaneous incisional wound healing, *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu YiXue.* 15(10):596-9, 2003 Oct; Chinese.
- 37- Wu L.Xia YP., Roth S. I., Gruskin E., Mustoe T.A. Animal Model, Transforming growth factor β 1 fails to stimulate wound healing and impairs its signal transduction in an aged ischemic ulcer model: Importance of oxygen and age, *American Journal of Pathology*, 154: 301-309,1999.
- 38- McGee GS, Broadley KN, Buckley A, Aquino A, Woodward SC, Demetriou AA, Davidson JM. Recombinant transforming growth factor beta accelerates incisional wound healing, *Curr. Surg.* 46(2):103-6,1989.
- 39- Wright TE, Hill DP, Ko F, Soler PM, Smith PD, Franz M, Nichols EH, Robson MC. The effect of TGF-beta2 in various vehicles on incisional wound healing, *Int. J Surg. Investig.* 2(2):133-43,2000.
- 40- Pierce GF, Mustoe TA, Lingelbach J, Masakowski VR, Gramates P, Deuel TF. Transforming growth factor beta reverses the glucocorticoid-induced wound healing deficit in rats: possible regulation in macrophages by platelet-derived growth factor, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 86(7):2229-33,1989.

- 41- Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation, 407:242-8, Nature 2000.
- 42- Bikfalvi A. Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor-4 and the VEGF/VEGFR system, *Biochemical Pharmacology*, 68:1017-21,2004.
- 43- Shalaby R, Rossant J, Yamaguchi TP, Gertsenstein M, Wu X, Breitman ML, et al. Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1 deficient mice, 376:62, Nature 1995.
- 44- Zachary I. Molecules in focus VEGF, *Int. J Biochem. Cell Biol.* 30:1169-74,1998.
- 45- Ferrara N. Role of VEGF in regulation of physiological angiogenesis, *Am. J Physiol. Cell*, 280: C1358-1366,2001.
- 46- Thomas KA. VEGF: a potent and selective angiogenic agent, *J Biol. Chemistry*, 271:603-6,1996.
- 47- Kleespies A, Guba M, Jauch KW, Bruns CJ. Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer, *J Surg. Oncol.* 87:95-104,2004.
- 48- Ferrara N, Gerber HP, Le Couter J. The biology of VEGF and its receptors, *Nat. Med.* 9:669-76,2003.
- 49- Ortega N, L'faqihi F-E, Plouet J. Control of VEGF angiogenic activity by the extracellular matrix, *Biol. Cell*, 90:381-390,1998.
- 50- Tamanini C, De Ambrogi M. Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum. *Reprod. Domest. Anim.* 39:206-16, 2004.
- 51- Monacchi WT, Merrill MJ, Oldfield EF. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in normal rat tissues, *Am. J Physiol. Cell*, 264:C995-1002,1993.
- 52- Harada S, Nagy JA, Sullivan KA, Thomas KA, Endo N, Rodan GA, et al. Induction of vascular endothelial growth factor expression by prostaglandin E2 and E1 in osteoblasts, *J Clin. Invest.* 93:2490-6,1994.
- 53- Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis, 359:843-5, Nature 1992.
- 54- Krishnamoorthy L, Morris HL, Harding KG. Specific growth factors and the healing of chronic wounds, *J Wound Care, Review*, 10(5):173-8,2001.

- 55- Aminian, B. Shams, M., Soveyd, M.D., Omrani, M.D. Topical autologous Platelet Derived Growth Factors in the treatment of chronic diabetic ulcers, ShirazUniversity of Medical Sciences. Grant No. 73131,2005.
- 56- Robinson JH. Healing chronic wounds with epidermal growth factor, *Plast. Reconstr. Surg.* 89(4):771,1992
- 57- Embil JM, Papp K, Sibbald G, Tousignant J, Smiell JM, Wong B, Lau CY. Recombinant human platelet-derived growth factor-BB (becaplermin) for healing chronic lower extremity diabetic ulcers: an open-label clinical evaluation of efficacy, *Wound Repair Regen.* 8(3):162-8,2000.
- 58- Agren MS, Steenfos HH, Dabelsteen S, Hansen JB, Dabelsteen E. Proliferation and mitogenic response to PDGF-BB of fibroblasts isolated from chronic venous leg ulcers is ulcer-age dependent, *J Invest. Dermatol.* 112(4):463-9,1999.
- 59- Pierce GF, Tarpley JE, Tseng J, Bready J, Chang D, Kenney WC, Rudolph R, Robson MC, Vande Berg J, Reid P, et al. Detection of platelet-derived growth factor (PDGF)-AA in actively healing human wounds treated with recombinant PDGF-BB and absence of PDGF in chronic nonhealing wounds, *J Clin. Invest.* 96(3):1336-50,1995.
- 60- Wang HJ, Wan HL, Yang TS, Wang DS, Chen TM, Chang DM. Acceleration of skin graft healing by growth factors, *Burns*, 22(1):10-4,1996.
- 61- Cho Lee AR, Leem H, Lee J, Park KC. Reversal of silver sulfadiazine-impaired wound healing by epidermal growth factor, *Biomaterials*, 26(22):4670-6,2005
- 62- Bennett SP, Griffiths GD, Schor AM, Leese GP, Schor SL. Growth factors in the treatment of diabetic foot ulcers, *British J Surg. Review.* 90(2):133-46,2003.
- 63- Robson MC, Phillips LG, Lawrence WT et al. The safety and effect of topically applied recombinant basic fibroblast growth factor on the healing of chronic pressure sores, *Ann. Surg.* 216:401-406,1992.

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi: 18.04.2008

Toplantı Sayısı: 08/02

Karar No: 08-12 / 22

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 18.04.2008 saat 12:00'de Doç. Dr. Serdar GÜNAYDIN başkanlığında toplanarak gündemdeki konuları görüştü.

12: Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi A.D. Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Tutku Soyer başkanlığında yürütülecek olan "Penil turnike uygulamasının yara iyileşmesine etkisinin penil cilt ve dokudaki VEGF/TGF-beta düzeyleriyle değerlendirilmesi" isimli proje incelenerek Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesinde belirtilmiş olan etik ilkelere uygun olduğuna katılanların oybirliğiyle karar verildi.

Doç. Dr. Serdar GÜNAYDIN
Başkan

Yrd. Doç. Dr. Siyami KARAHAN
Başkan Vekili

Doç. Dr. Z. Aytül ÇAKMAK
Üye

Doç. Dr. Saadet ATŞÜ
Üye

Doç. Dr. Hakan KALENDER
Üye

Yrd. Doç. Dr. Nahit PAMUKOĞLU
Üye

Doç. Dr. Aydın YAĞMURLU
Üye

Mustafa AKIN
Üye