



T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**DİŞİ VE ERKEK RATLARDA KASTRASYONUN (ORŞİEKTOMİ VE
OVARİEKTOMİ) MESANE DUVARI, MESANE TRİGONU VE
PROKSİMAL ÜRETRADA ENDOTELYAL, İNDÜKLENEN VE
NÖRONAL NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİNE ETKİLERİ VE ÜRİNER
SİSTEM FONKSİYONLARI İLE İLİŞKİSİ**

Dr. Selim YAZAR

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Hakkı UZUN

UZMANLIK TEZİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

RİZE-2016

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**DİŞİ VE ERKEK RATLARDA KASTRASYONUN (ORŞİEKTOMİ VE
OVARİEKTOMİ) MESANE DUVARI, MESANE TRİGONU VE
PROKSİMAL ÜRETRADA ENDOTELYAL, İNDÜKLENEN VE
NÖRONAL NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİNE ETKİLERİ VE ÜRİNER
SİSTEM FONKSİYONLARI İLE İLİŞKİSİ**

Dr. Selim YAZAR

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Hakkı UZUN

Bu Tez, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Rektörlüğü bilimsel araştırma projeleri koordinasyon birimi tarafından 2015.530001.106.02.03 proje numarası ile desteklenmiştir

UZMANLIK TEZİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

RİZE-2016

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ

DİŞİ VE ERKEK RATLARDA KASTRASYONUN
(ORŞİEKTOMİ VE OVARİEKTOMİ) MESANE DUVARI,
MESANE TRİGONU VE PROKSİMAL ÜRETRADA
ENDOTELYAL, İNDÜKLENEN VE NÖRONAL NİTRİK
OKSİT DÜZEYLERİNE ETKİLERİ VE ÜRİNER SİSTEM
FONKSİYONLARI İLE İLİŞKİSİ

Doç Dr. Hakkı UZUN danışmanlığında, Dr. Selim YAZAR tarafından hazırlanan bu çalışma, Fakülte Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından .../.../... tarihinde Üroloji Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ekrem ALGÜN
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Hekimlik mesleğinin öğrenilmesinde ara kademelerden biri olan asistanlık eğitimimin sonuna gelmiş bulunuyorum. Mesleğimin ayrıntılarını öğrenmek ve hastalarımın zarar vermeden faydalı olmak için önümde aşmam gereken birçok engel olduğunun farkındayım.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen saygı değer hocalarım; Doç. Dr. Hakkı UZUN, Doç. Dr. Orhan Ünal ZORBA, Yrd. Doç. Dr. Nezh AKÇA, Yrd. Doç. Dr. Hasan Rıza AYDIN ve Yrd. Doç. Dr. Hüseyin EREN'e, tez çalışmamın her aşamasında ve uzmanlık eğitimim süresince tecrübe, bilgi ve desteğini esirgemeyen tez hocam sayın Doç. Dr. Hakkı UZUN'a, doku örneklerinin histolojik ve elektron mikroskopik değerlendirmelerini gerçekleştiren Histoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Yıldırım KALKAN'a, patolojik incelemelerini gerçekleştiren Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. İbrahim ŞEHİTOĞLU'na en derin minnet ve şükranlarımı sunar, teşekkür ederim.

Eğitimimin birçok safhasında birlikte çalıştığım araştırma görevlisi arkadaşım Dr. Görkem AKÇA'ya, saygıdeğer bölüm hemşirelerimize ve yardımcı sağlık personellerimize teşekkür ederim.

Desteğini her zaman hissettiğim sevgili eşim Emel YAZAR'a ve bugünlere gelmemi sağlayan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Selim YAZAR

RİZE

ÖZET

DİŞİ VE ERKEK RATLARDA KASTRASYONUN (ORŞİEKTOMİ VE OVARİEKTOMİ) MESANE DUVARI, MESANE TRİGONU VE PROKSİMAL ÜRETRADA ENDOTELYAL, İNDÜKLENEN VE NÖRONAL NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİNE ETKİLERİ VE ÜRİNER SİSTEM FONKSİYONLARI İLE İLİŞKİSİ

Dr. Selim YAZAR

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi

Üroloji AnaBilim Dalı

Uzmanlık Tezi

Doç. Dr. Hakkı UZUN

Amaç: Kastrasyonun alt üriner sistem dokuları (mesane, trigon ve üretra) üzerinde olan etkilerini nitrik oksit düzeyinde araştırmak ve daha sonra kastrasyon uygulanan hastalarda fosfodiesteraz inhibitörleri ile ilgili yapılacak klinik çalışmalara ışık tutmak ve alt üriner sistem semptomlarının gelişiminde belirgin rolü olan testosteron ve nitrik oksit arasındaki muhtemel ilişkilere kapı aralamaktır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada toplam 32 adet albino spraque dowley cinsi rat kullanıldı. Ovariektomi, orşiektomi yapılan ve kontrol grubutum hayvanlardan farklı dokular etiket kod numaraları ve grup adları verilerek içinde % 10'luk formaldehitbulunan ve ağzı sızdırmayan özel şişelere bırakıldı. Histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme için nitrik oksit antikorları ile boyama yapmak amacıyla alınan mesane ve üretra dokuları rutin takip işlemlerden geçirilip bloklandı. Bloklanan dokular 4-5 mikron kesitlerinde kesilip nitrik oksit antikorları ile boyanıp uygun görülen yerler fotoğraflandı.

Bulgular: Kontrol ve kastre rat grupları arasında eNOS ve nNOS aktivitesi açısından mesane gövde ve trigon bölümünde yapılan histolojik ve immünohistokimyasal boyamalarda anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. iNOS açısından anlamlı veriler bulunamamıştır. Kontrol ve orşiektomize rat gruplarında eNOS ve

nNOS aktivitesi için proksimal üretrada yapılan histolojik ve immünohistokimyasal boyamalarda anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Diş rat gruplarında üretra kısa olması nedeniyle net doku elde edilememiştir.

Sonuç: Yapılan çalışmada istatistiksel anlamlı sonuçlar elde edilmiş olup NO ve NOS enzim çeşitlerinin mesane ve üretrada kastrasyondan etkilendiği gözlenmiştir. Sonuç olarak aşırı aktif mesane veya alt üriner sistem semptomlarının tedavisinde yer alması için bu çalışmalar ürodinamik verilerle desteklenmeli ve sonrasında tedavi yolunda umut ışığı olmaya devam etmelidir. Klinik olarak NO bazındaki mekanizmalar normal miksiyonun korunmasında ve üriner inkontinansla önemli olabilir. Bu mekanizmaların pelvik cerrahi veya spinal yaralanmalar sonrası gelişen işeme disfonksiyonu ve inkontinansın kısmi sorumlusu olabilir. Bu sorumluluk ileri çalışmalar ile daha da desteklenirse bu alanlardaki tedavi seçeneği olarak NOS agonistleri veya NO donörleri tedavideki yerini bulabilir.

Anahtar kelimeler: Kastrasyon, nitrik oksit, alt üriner sistem fonksiyonları

ABSTRACT

RELATIONS BETWEEN CASTRATION AND MALE AND FEMALE RAT'S BLADDER WALL, TRIGON AND PROXIMAL URETHRA ON ENDOTHELIAL, INDUCIBLE AND NEURONAL NITRIC OXIDE LEVELS

Selim YAZAR, MD

Recep Tayyip Erdogan University

Faculty of Medicine

Department of Urology Thesis

Hakki UZUN, Associate Professor

Objective: To investigate the effects of castration to nitric oxide levels in lower urinary tract tissues (bladder, trigone and urethra), and then shedding light on clinical trials in patients undergoing castration to be associated with phosphodiesterase inhibitors. We aimed to illuminate testosterone significant role in the development of lower urinary tract symptoms and possible relationship between nitric oxide.

Material and Method: In this study, a total of 32 albino Sprague Dawley rats were used. The different tissues which taken from ovariectomy, orchietomy was performed and all the animals of the control group was left to special tube in which 10% formaldehyde found in label given code numbers and group names. Histopathological and immunohistochemical examination of the bladder and urethra taken to make tissue staining with nitric oxide antibodies were blocked after passed from routine procedures. Justified stained tissues were photographed and where appropriate nitric oxide antibodies cut in 4-5 micron sections.

Results: In control and castrated rat groups significant results in histological and immunohistochemical staining of trigone of the bladder and body section in terms of eNOS and nNOS activity were obtained. There are no significant data in terms of iNOS. In control and orchietomy rats groups made eNOS and nNOS activity in

the proximal urethra for histological and immunohistochemical staining were obtained significant results. In female rats group tissue could be obtained due to the shorter urethra.

Conclusion: In the study are statistically significant results were obtained in NO and NOS types of bladder and urethra were affected by castration. As a result, to take place in the treatment of overactive bladder or lower urinary tract symptoms, these studies should be supported by urodynamic data and then could continue to be a glimmer of hope on the way of treatment. NO mechanisms may be clinically important in maintaining normal urination and urinary incontinence. These mechanisms may be partly responsible for voiding dysfunction and urinary incontinence which developed after pelvic surgery or spinal injuries. Thus, in this cases if further studies supports these findings the treatment can be possible with NOS agonists or NO donors.

Key words: Castration, nitric oxide levels, lower urinary tract functions

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|------------|
| TEŞEKKÜR | II |
| ÖZET | III |
| ABSTRACT | V |
| İÇİNDEKİLER | VII |
| TABLolar DİZİNİ | IX |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | XII |
| KISALTMALAR DİZİNİ | XIV |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 2 |
| 2.1 Mesane Anatomisi..... | 2 |
| 2.1.1 Mukoza..... | 3 |
| 2.1.2 Submukoza..... | 3 |
| 2.1.3 Tunika muskularis..... | 3 |
| 2.1.4 Seroza..... | 4 |
| 2.1.5 Arteriyel sistem..... | 4 |
| 2.1.6 Venöz sistem..... | 4 |
| 2.1.7 Lenfatik sistem..... | 5 |
| 2.1.8 Mesane nöroanatomisi..... | 6 |
| 2.2 Mesane Histolojisi..... | 6 |
| 2.2.1 Muskularis propriya..... | 8 |
| 2.2.2 Muskularis Adventisya..... | 9 |
| 2.3 Mesanenin Embriyolojisi..... | 10 |
| 2.3.1 Primitif ürogenital sinüs..... | 10 |
| 2.4 Dolum ve İşeme Fizyolojisi..... | 11 |
| 2.4.1 Nörofizyoloji..... | 12 |
| 2.4.1.1 Adrenerjik yollar..... | 13 |
| 2.4.1.2 Kolinerjik yollar..... | 13 |
| 2.4.1.3 Non-adrenerjik non-kolinerjik yollar..... | 14 |
| 2.4.1.3.1 Purinerjik sistem ve ATP..... | 14 |
| 2.4.1.3.2 Histamin ve Serotonin..... | 15 |

| | |
|---|-----------|
| 2.4.1.3.3 Mesane afferent aktivitesi ve ürotelyum..... | 15 |
| 2.4.1.3.4 Diğerleri..... | 15 |
| 2.5 Nitrik Oksit..... | 16 |
| 2.5.1 Nitrik oksit sentezi..... | 16 |
| 2.5.2 NOS enziminin izoformları..... | 17 |
| 2.5.3 Nitrik oksidin etki mekanizması..... | 18 |
| 2.5.4 Nitrik oksidin fizyolojik etkileri..... | 19 |
| 2.5.4.1 Kardiovasküler sistem..... | 19 |
| 2.5.4.2 Santral sinir sistemi..... | 19 |
| 2.5.4.3 Solunum sistemi..... | 20 |
| 2.5.4.4 Gastrointestinal sistem..... | 20 |
| 2.5.4.5 Üriner sistem..... | 20 |
| 2.5.4.5.1 Üretra ve NO..... | 21 |
| 2.5.4.5.2 Mesane ve NO..... | 21 |
| 2.5.4.6 Genital sistem..... | 22 |
| 2.5.5 Fosfodiesteraz enzim inhibitörlerinin etki mekanizması ve klinik kullanımı..... | 24 |
| 2.6 Mesane ve Kastrasyon..... | 25 |
| 3. GEREÇ ve YÖNTEM..... | 26 |
| 3.1 Kullanılan deney hayvanları ve bakımı..... | 26 |
| 3.2 Hazırlık, Anestezi ve Cerrahi İşlemler..... | 27 |
| 3.3 Yöntem..... | 29 |
| 4. BULGULAR..... | 31 |
| 4.1 Mesane trigon bölümünün histopatolojik bulguları..... | 31 |
| 4.2 Mesanenin trigon bölümünün immünohistokimyasal bulguları..... | 35 |
| 4.3 Mesanenin gövde bölümünün histopatolojik bulguları..... | 39 |
| 4.4 Mesanenin gövde bölümünün immünohistokimyasal bulguları..... | 43 |
| 4.5 Penil üretranın proksimal bölümünün histopatolojik bulguları..... | 47 |
| 4.6 Penil üretranın proksimal bölümünün immünohistokimyasal bulguları..... | 50 |
| 5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR..... | 53 |
| 6. KAYNAKLAR..... | 58 |
| 7. ÖZGEÇMİŞ..... | 69 |

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. NOS enziminin izoformları ve özellikleri

Tablo 2. NO'nun alt üriner sistem yapıları üzerine etkileri

Tablo 3. Mesane dokusunun trigon bölümünün histopatolojik metodlarla hematoxilen eosin boyasıyla boyanması ve ışık mikroskopik kör gredeleme (blindly scoring) yöntemi ile değerlendirilmesi

Tablo 4. Mesane dokusunun trigon bölümünde yapılan histopatolojik incelemesi

Tablo 5. Mesane dokusunun trigon bölümünde yapılan histopatolojik incelemede epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, ödem ve dilatasyon, endotel hücre şişmesi ve karyolizis ve apoptotik hücreleri üzerinde yapılan Kruskal Wallis testi

Tablo 6. Mesane dokusunun trigon bölümünde yapılan histopatolojik incelemede epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, ödem ve dilatasyon, endotel hücre şişmesi ve karyolizis ve apoptotik hücreleri üzerinde yapılan Kruskal Wallis testi

Tablo 7. Mesane dokusunun trigon bölümünün immunhistokimyasal metodlarla boyanmasıyla ve ışık mikroskopik kör gredeleme (blindly scoring)metodu ile değerlendirilmesi

Tablo 8. Mesane dokusunun trigon bölümünde anti-nNOS, anti-eNOS ve anti iNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyama ile histopatolojik incelemesi

Tablo 9. Grup 1 ile grup 4 mesane dokusunun trigon bölümünde anti-nNOS, ve anti-eNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis testine göre değerlendirilmesi

Tablo 10. Grup 1 ile grup 4 mesane dokusunun Trigon bölümünde anti-nNOS ve anti-eNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis testine göre değerlendirilmesi

Tablo 11. Mesane dokusunun gövde bölümünün histopatolojik metodlarla hematoksilen eosin boyasıyla boyanması ve ışık mikroskopik kör gredleme (blindly scoring) yöntemi ile değerlendirilmesi

Tablo 12. Mesane dokusunun gövde bölümünde yapılan histopatolojik incelenmesi

Tablo 13. Mesane dokusunun gövde bölümünde yapılan histopatolojik incelemede epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, ödem ve dilatasyon, endotel hücre şişmesi ve karyolizis ve apoptotik hücreleri üzerinde yapılan Kruskal Wallis testine göre değerlendirilmesi

Tablo14. Mesane dokusunun gövde bölümünde yapılan histopatolojik incelemede epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, ödem ve dilatasyon, endotel hücre şişmesi ve karyolizis ve apoptotik hücreleri üzerinde yapılan Kruskal Wallis testine göre değerlendirilmesi

Tablo 15. Mesane dokusunun gövde bölümünün immunhistokimyasal metodlarla boyanmasıyla ve ışık mikroskopik kör gredleme (blindly scoring) metodu ile değerlendirilmesi

Tablo 16. Mesane dokusunun gövde bölümünde anti-nNOS, anti-eNOS ve anti-iNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesi

Tablo 17. Grup 1 ile grup 4 mesane dokusunun gövde bölümünde anti-nNOS ve anti-eNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesindeKruskal Wallis testine değerlendirilmesi

Tablo 18. Grup 2 ile grup 3 mesane dokusunun gövde bölümünde anti-nNOS ve anti-eNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis testine değerlendirilmesi

Tablo 19. Penil üretranın proksimal bölümünün histopatolojik metodlarla hematoksilen eosin boyasıyla boyanması ve ışık mikroskopik kör gredleme (blindly scoring) yöntemi ile değerlendirilmesi

Tablo 20. Penil üretranın proksimal bölümünün histopatolojik incelenmesi

Tablo 21. Penil üretranın proksimal bölümünün yapılan histopatolojik incelemede epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, ödem ve dilatasyon, endotel hücre şişmesi ve karyolizis ve apoptotik hücreleri üzerinde yapılan Kruskal Wallis testi

Tablo 22. Penil ¼retra proksimal b¼l¼m¼n¼n immunhistokimyasal metodlarla boyanmas¼yla ve ¼řık mikroskopik k¼r gredeleme (blindly scoring) ile değerlendirilmesi

Tablo 23. Penil ¼retra proksimal b¼l¼m¼n¼n anti-nNOS, anti-iNOS ve anti-eNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyaman¼n histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis testine değerlendirilmesi

Tablo 24. Grup 2 ile grup 3 penil ¼retra proksimal b¼l¼m¼n¼n anti-nNOS, anti-iNOS ve anti-eNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyaman¼n histopatolojik incelemesindeKruskal Wallis testine değerlendirilmesi



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Mesanenin uzunlamasına kesitle açılmış koronal görünümü ve trigon bölgesi

Şekil 2. Alt üriner sistemin innervasyonu

Şekil 3. Mesanenin katları

Şekil 4. L arjinin aminoasidinden NOS enzimi ile NO sentezi

Şekil 5. Operasyon öncesi hazırlık

Şekil 6. Skrotal insizyondan sağ testisin dışarı alınması ve kordun bağlanması

Şekil 7. İnsizyondan sağ overin dışarı alınması ve eksize edilmesi

Şekil 8. İnsizyonun kapatılması

Şekil 9. Mesane dokusunun trigon bölümünün Hematoksilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemesi

Şekil 10. Mesane dokusunun trigon bölümünün immunhistokimyasal metodlarla (nNOS) boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi

Şekil 11. Mesane dokusunun trigon bölümünün immunhistokimyasal metodlarla (eNOS) boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi

Şekil 12. Mesane dokusunun trigon bölümünün immunhistokimyasal metodlarla (iNOS) boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi

Şekil 13. Mesane dokusunun gövde bölümünün hematoksilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemesi

Şekil 14. Mesane dokusunun gövde bölümünün immunhistokimyasal metodlarla (eNOS) boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi

Şekil 15. Mesane dokusunun gövde bölümünün immunhistokimyasal metodlarla (nNOS) boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi

Şekil 16. Mesane dokusunun gövde bölümünün immunhistokimyasal metodlarla (iNOS) boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi

Şekil 17. Penil üretranın proksimal bölümünün hematoxilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemesi

Şekil 18.Penil üretra proksimal bölümünün immunhistokimyasal metodlarla (nNOS) boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi

Şekil 19. Penil üretranın dokusunun proksimal bölümünün immunhistokimyasal metodlarla (eNOS) boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi

Şekil 20.Penil üretranın proksimal bölümünün immunhistokimyasal metodlarla (iNOS) boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi

KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|---------------|--|
| cGMP | Siklik guanozin mono fosfat |
| cAMP | Siklik adenozin mono fosfat |
| NO | Nitrik oksit |
| NOS | Nitrik oksit sentaz |
| NADPH | İndirgenmiş nikotinamid dinükleotid fosfat |
| FAD | Flavin adenin dinükleotid |
| BH4 | Tetrahidrobiopterin |
| FMN | Flavin adenin mononükleotid |
| HEM | Demir protoporfirin IX |
| CaM | Kalmoduline |
| nNOS | Nöronal nitrik oksit sentaz |
| iNOS | İndüklenebilir nitrik oksit sentaz |
| eNOS | Endotelyalnitrik oksit sentaz |
| TNF- α | Tümör nekroz faktör- α |
| sGC | Çözülebilir guanilat siklaz |
| GTP | Guanosin-5'-trifosfat |
| cGMP | Guanosin-3', 5' siklik monofosfat |
| FDE | Fosfodiesteraz |
| NANK | Non-adrenerjik non-kolinerjik |
| DK | Dişi kontrol grubu |
| EK | Erkek kontrol grubu |
| EUYGORŞ | Erkek Uygulama Orşiektomi |
| DUYGOV | Dişi Uygulama Ovariektomi |

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alt üriner sistem semptomları toplumda en sık görülen semptomlar arasındadır. Bu şikayetlerin gelişiminde testosteron ve nitrik oksidin rol oynadığı ayrı ayrı kanıta dayalı delillerle gösterilmiştir. Klinik olarak NO bazındaki mekanizmalar normal miksiyonun korunmasında ve üriner inkontinansta önemli olabilir. Nitrik oksit ile alt üriner sistem fonksiyonları arasında son yıllarda kuvvetli ilişki saptanmıştır. Nitrik oksit - siklik guanozin mono fosfat (cGMP) kaskadında görev alan fosfodiesteraz enzimini inhibe eden ilaçlar (fosfodiesteraz inhibitörleri; tadalafil) alt üriner sistem semptomlarının tedavisinde klinik olarak uygulanmaktadır.

Klinik olarak NO bazındaki mekanizmalar normal miksiyonun korunmasında ve üriner inkontinansta önemli olabilir. Bu mekanizmaların pelvik cerrahi veya spinal yaralanmalar sonrası gelişen işeme disfonksiyonu ve inkontinansın kısmi sorumlusu olabilir. Bu sorumluluk ileri çalışmalar ile daha da desteklenirse bu alanlardaki tedavi seçeneği olarak NOS agonistleri veya NO donörleri tedavideki yerini bulabilir.

Kastrasyon (ovariektomi veya orşiektomi) klinik uygulamada sık yapılan bir ameliyattır. Ayrıca hipogonadizm (testosteron veya östrojen düşüklüğü) ileri yaş insanlarda metabolik sendroma bağlı olarak gelişmekte ve çok sık görülmektedir. Kastrasyonun hipogonadizmin alt üriner sistem dokuları (mesane, trigon ve üretra) üzerinde olan etkilerini nitrik oksit düzeyinde araştırmak ve daha sonra kastrasyon uygulanan hastalarda fosfodiesteraz inhibitörleri ile ilgili yapılacak klinik çalışmalara ışık tutmak ve alt üriner sistem semptomlarının gelişiminde belirgin rolü olan testosteron ve nitrik oksit arasındaki muhtemel ilişkilere kapı aralamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mesane Anatomisi

Mesane, idrar depolama ve boşaltılmasını sağlayan pelvik yerleşimli, içi boş musküler yapıda bir organ olup erişkinlerde boş mesane simfizis pubis'in arkasında yer alırken, çocuklarda ve yenidoğanlarda iniş tamamlanmadığından daha yukarı konumda bulunmaktadır (1). Mesane üçgen şeklinde bir organdır(şekil-1). Bu üçgenin tepesi önde, tabanı arkada bulunmaktadır. Üreterler arasında uzanan arka kenar, üst yüzeyi tabandan ayırırken yan kenarlar arkada üreterden başlayarak önde mesanenin tepesine kadar uzanırlar ve üst yüzeyi alt-yan yüzeylerden ayırırlar. Periton üst yüzeyi örter ve bu yan kenarlardan pelvisin yan duvarına geçerek mesane ile pelvis yan duvarları arasında fossa paravezikalileri, mesane ile karın ön duvarı arasında ise plika umblikalis mediananın her iki yanında sağ ve sol fossa supavezikalileri oluşturur. Mesanenin üst yüzeyi erkeklerde tamamen peritonla kaplı olup ince barsaklar ve sigmoid kolonla komşudur. Kadınlarda ise uterus ve ince barsaklarla komşudur. Peritonla örtülü olmayan mesanenin alt yan yüzeyleri simfizis pubis, levator ani ve internal obturator kaslarla komşudur. Simfizis pubisle aralarında "Retzius" aralığı denilen fasyal bir aralık vardır (2). Bu aralıkta bir ven plexusu (Santorini) ve gevşek bağ dokusu bulunur. Mesanenin hareketsiz bölümünü oluşturan mesane boynu ise prostatın tabanına oturur ve içinde üretranın başlangıcı olan internal sfinkter vardır. Mesane boş iken, tümü oblitere olan umblikal arter seviyesinin altında olmak üzere pelvis içerisinde yer alır. Mesane boynu bazı bağlarla komşu yapılara sıkıca tutunurken diğer bölümler subseröz bir fasya ile kaplıdır. Mesane boynu erkeklerde önde sağ ve sol puboprostatik bağlarla pubis alt kenarına, arka yanalarda ise rektovezikal bağlarla rektuma tutunmuştur. Ligamentum umblikale medianum mesanenin tepesinden başlayarak orta hatta karın ön duvarının arka yüzünden umblikusa uzanır ve mesaneyi göbeğe bağlar. Mesaneden karın ön duvarına doğru uzanan periton kıvrımlarından oluşan; önde tek, yanalarda ise ikişer adet olmak üzere periton plikaları vardır.

Mesanenin katları 1. Mukoza, 2. Submukoza, 3. Tunika muskularis (kas tabakası), 4. Seroza.

2.1.1. Mukoza

Mesanenin iç yüzünü örten mukoza, çok katlı değişici epitelden (tranzisyonel epitel) oluşmuştur (2). Değişici epitelin yüzeydeki hücreleri oval, derindeki hücreleri ise kübik şekilde sıralanır dört-sekiz kat hücreden oluşur. Mesane boş iken bu kübik ve oval hücreler mesane dolduğunda yassı hale gelir. Mukoza tabakası tunika muskularise gevşek bağ dokusundan yapılmış submukoza ile tutunur.

2.1.2. Submukoza

Mukoza altında yer alan submukoza tabakasında (lamina propria) her yöne uzanan elastik ve kollajen liflerden oluşan gevşek bağ dokusu ve kapiller damarlar yer alır (3). Mesane kas tabakasına gevşek submukoza tabakasıyla tutunan mesane mukozasında bu durum yalnızca submukoza tabakasının olmadığı trigonda görülmez. Bu nedenle boş mesanenin içyüzü plikalı ve buruşuk görünürken dolu mesanede duvarın gerilmesiyle bu kıvrımlar kaybolur ve mukoza düz olarak görünür. Submukozanın trigon bölgesinde bulunmaması ve mukozanın kas tabakasına sıkıca tutunması nedeniyle trigon her zaman düz olarak görünür. Mesane tabanında yer alan üçgen şeklindeki trigon üst köşelerine üreterler açılır. Her iki üreter orifisi arasında yer alan belirgin mukozal kıvrıntıya interüreterik bağ (Mercierebağı) denir (3).

2.1.3. Tunika Muskularis

1. Stratum longitudinale internum (İç longitudinal tabaka), 2. Stratum circulare (Sirküler tabaka), 3. Stratum longitudinale eksternum (Dış longitudinal tabaka) Bu kas yapısı belirli bir düzene bağlı olmaksızın her yöne doğru uzanır ve bir tabakadan diğerine doğru uzayarak mesane duvarını bir ağ gibi sarar. Detrusor olarak adlandırılan bu yapı ancak mesane boynunda gerçek anlamda üç tabaka oluşturur. Sirküler lifler korpus etrafında yoğunlaştıkları halde longitudinal lifler apekten fundusa kadar uzanırlar. Mesane uzun eksenine transvers ve oblik olarak uzanırlar. Dış longitudinal kas tabakası özellikle mesane anterior ve posteriorunda daha belirgin, lateral duvarlarda daha ince iken iç longitudinal kas tabakası gerçek

bir longitudinal kas tabakası olarak mesane boynunda yer alır. Eksternal longitudinal liflerin bir kısmı komşu oluşumlara atlayarak özel kasları oluştururlar (4). Örneğin rektumun önü ile mesane arasında uzananlar musculus rektovezikalis, mesane ile pubisin pelvik yüzü arasında uzananlar musculus pubovezikalis olarak adlandırılır.

Sirküler kas tabakasının mesane boynunda sona erdiği ve üretral yapıya katılmadığı bilinmektedir. Öte yandan iç longitudinal tabaka longitudinal olarak, dış longitudinal tabaka ise sirküler ve spiral şekle dönüşerek kadınlarda üretranın eksternal meatusuna, erkeklerde ise prostatik üretranın distaline kadar uzanır ve kısmen prostatın yapısına katılır (1-3).

2.1.4. Seroza

Mesane ile beraber diğer pelvis organlarının en dış tabakasını örten seroza (adventisya), kollajen ve birkaç elastik kas lifinden oluşur. İçerisinde kan damarları, küçük sinirler ve çok küçük ganglionlar bulunur. Bu gerçek bir seroza yapısında değildir.

2.1.5. Arteriyel Sistem

Mesane arteria iliaca interna'dan (hipogastrik arter) çıkan arterlerle beslenir. Mesanenin kanlanması büyük oranda a. iliaca interna'nın anteriorundan çıkan a. vezikalis superior ve inferior ile olur. Mesanenin üst ve orta bölümünün kanlanmasını a. vezikalis superior sağlarken, a. vezikalis inferior ise genellikle a. iliaca interna'dan tek dal olarak bazen a. rektalis media ile birlikte çıkar ve mesanenin tabanına, vezikula seminalislere, prostata dallar verir. Ayrıca obturator ve inferior gluteal arterlerden mesaneye küçük dallar gelir. Kadınlarda uterin ve vajinal arterler de bu bölgeye küçük dallar verir (1,3).

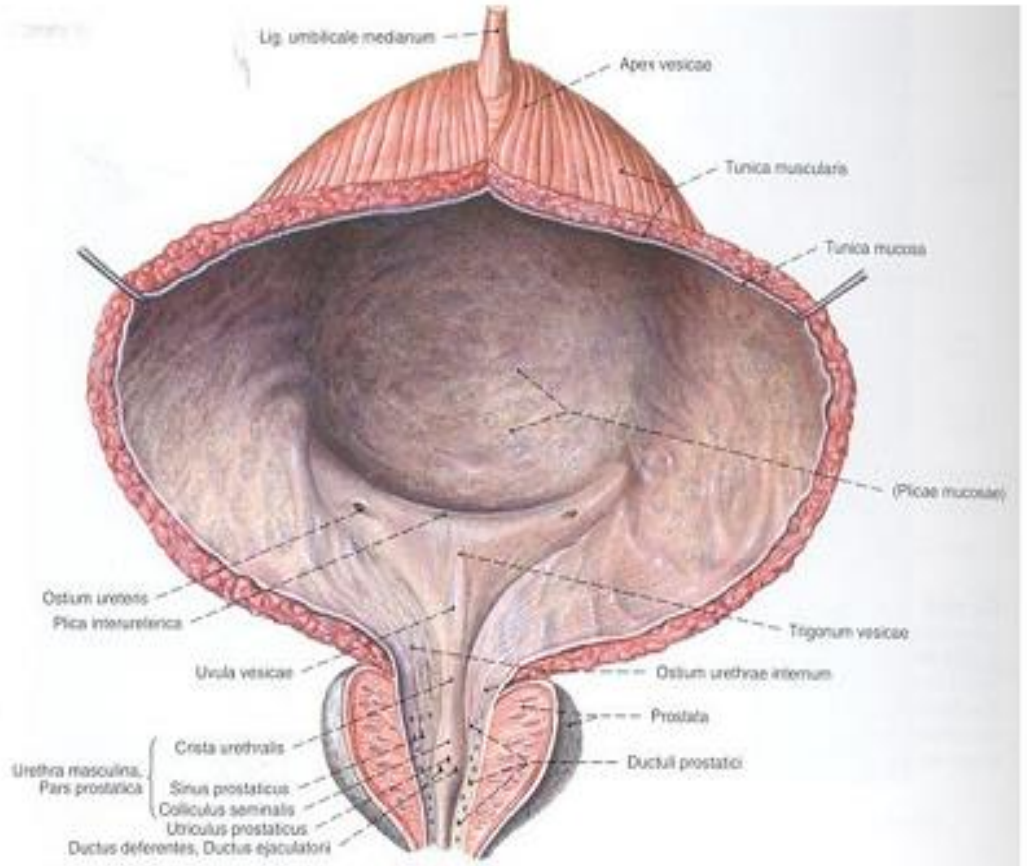
2.1.6. Venöz Sistem

Mesane çevresi ve adventisyası altında çok zengin ven pleksusları vardır. Bu pleksuslardan mesaneye gelen venöz kan, mesane ve prostatın ön, yan ve arka

yüzeylerini saran geniş vezikal ve prostatik venöz pleksuslara boşalır. Ön taraftan v. dorsalis penisi de içine alan bu pleksuslar (Santorini) daha sonra internal iliak ven'e açılırlar (1,3).

2.1.7. Lenfatik Sistem

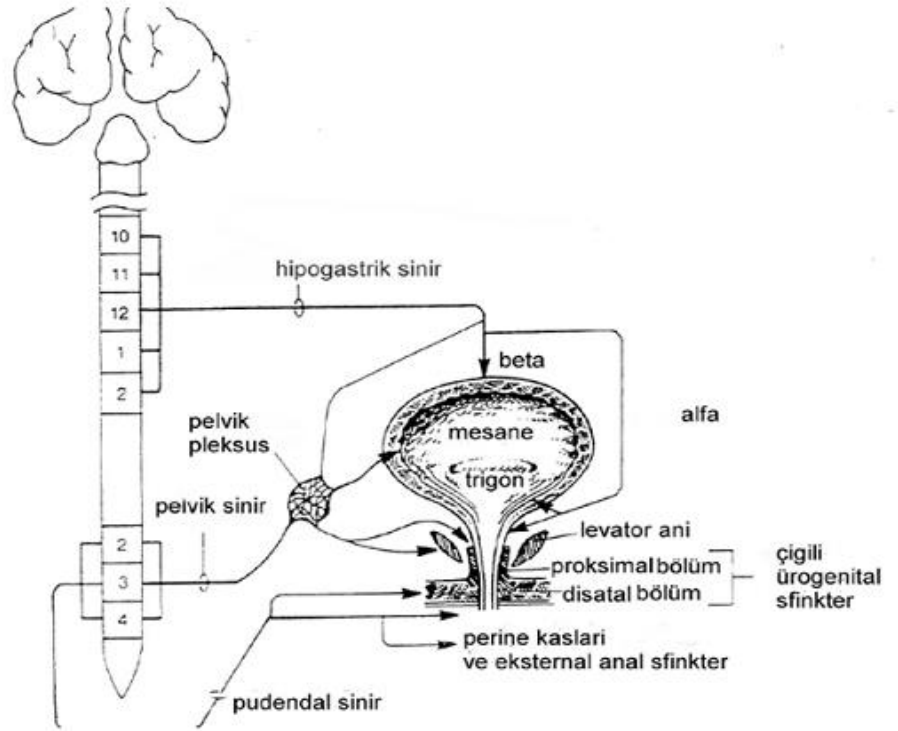
Mesanenin lenfatikleri kas tabakası arasında ve dışında olmak üzere iki pleksusta toplanır. Mesanenin üst kısmından çıkan lenf damarları eksternal iliak lenf bezlerine alt kısımdan çıkanlar ise internal iliak lenf bezlerine açılırlar. Mesane boynundan çıkan lenf yapıları da sakral veya ana iliak lenf bezlerine drene olurlar (1, 3).



Şekil 1. Mesanenin uzunlamasına kesitle açılmış koronal görünümü ve trigon bölgesi (5).

2.1.8. Mesane Nöroanatomisi

Mesane ve üretranın efferent parasempatik lifleri S2-S4 spinal kord segmentlerinde, sempatik lifleri ise T10-L2 spinal kord segmentlerinden çıkmaktadır (6). Bu segmentlerden çıkan üç periferik sinir demeti mesane ve üretrayı innerve etmektedir (Şekil 2). Bu sinir demetleri T10-L2 seviyesinden çıkan sempatik lifleri taşıyan hipogastrik sinir, S2-S4 seviyesinden çıkan parasempatik lifleri taşıyan pelvik sinir ve somatik lifleri taşıyan pudental sinirdir (7). Hipogastrik sempatik sinir lifleri detrusörü uyarır ve üretrayı gevşetir. Pelvik parasempatik sinir lifleri detrusörü inhibe eder ve mesane ile üretrayı uyarır. Pudental sinir ise dış sfinkterin ve pelvik taban kaslarının istemli kasılmasını sağlar. Mesanenin duyuşal sinir lifleri ise viseraldir ve aşırı distansiyon sonucu oluşan ağrıyı iletir (8).



Şekil 2. Alt üriner sistemin innervasyonu (8).

2.2. Mesane Histolojisi

Mesane ve üreterler benzer yapıya sahiptir. İçten dışa sırası ile döşeyici epitel, lamina propria, düz kas ve adventisya vardır. Mesane gevşek iken epiteli 5-6 sıra

hücreden oluşmakta olup, bunlar içinden yüzeydeki hücreler yuvarlak ve lümene doğru çıkıntı yapar. Mesane idrar ile dolu olduğu zaman (epitel gerildiğinde) epitelin kalınlığı 3-4 hücre sırasından oluşur ve yüzeydeki hücreler uzun eksende bazal membrana paralel olarak yassılaşırlar (9, 10). Değişici epitel bazal tabakadan yüzeye doğru belirgin progresif bir olgunlaşma gösterir (11).

Epitel, yüzeyel hücreler, ara hücreler ve bazal hücreler olmak üzere 3 bölgeye ayrılmaktadır (9). Yüzeyel hücreler üriner luminal boşluk ile ilişkidir. Bunlar büyük, oval hücrelerdir ve daha küçük ara hücrelerin üzerinde şemsiye gibi uzanırlar. Binukleuslu olabilirler ve bol eozinofilik sitoplazmalıdır. Gergin mesanede yassılaşımlardır ve rahatlıkla görünürler. Bu hücrelerin varlığı ürotelyumun normal olduğunun bir işareti olarak kabul edilse de, cerrahi materyallerde ya da biyopsilerin alınımı esnasında dökülebilirler. Tersine belirgin karsinomu döşeyen şemsiye hücrelerinin görülmesi de mümkündür (9). Şemsiye hücreleri displastik olarak yanlış değerlendirilmemesi gereken bir nükleer atipiye sahip olabilirler. Şemsiye hücrelerinin yüzeyi üroplakinler denen ve bir protein ailesinin oluşturduğu üç tabakalı rijit bir membrandan oluşur. Bu membran "asimetrik ünite membran" olarak bilinir (12). Membran tarak görünümü veren sık invajinasyonlar gösterir. Gerilme süresince bu invajinasyonlar yüzey membranına dâhil olurlar ve böylece yüzey alanı artar ve değişici epitelin yapısal bütünlüğü sürdürülmüş olur (9). Ara hücreler boş mesanede beş hücre kalınlığında olabilir ve bazal membranın üstünde uzun eksene dik olarak uzanmaktadır. Nükleusları ince granüler kromatinli olan ara hücreler geniş sitoplazmalıdır ve vakuolizasyon olabilir. Sitoplazmik membran belirgindir (9). Hücrelerin bazılarında longitudinal nükleer oluklar vardır. Bu hücreler şemsiye hücrelerini oluşturmak üzere matürleşirler (12). Gerilmiş durumdaki mesanede bu tabaka sadece tek hücre kalınlığında ve yassılaşımlıdır ya da gözle görülemez (9). Hem yüzeyel hem de ara hücrelerin üst yüzeyleri yuvarlak iken alt yüzleri de çöktür. Bu çökük yüzleri ile altlarındaki hücrelerin yuvarlak yüzleri üzerine oturarak bunlar arasına uzantılar gönderirler. Bu uzantılar aracılığı ile birbirlerine sıkıca bağlanmalarına ilave olarak hücreler arasındaki sınırlar düzgün değildir ve sık girinti ya da çıkıntılarla birbiri içine geçmiş durumdadır. Bu şekilde ileri derecede interdigitasyon gösteren intersellüler sınırlarda, yer yer hücrelerin birbirine daha sıkı bağlanmasını sağlayan

desmozomlar farklılaşmıştır. Yüzeyel epitel hücrelerinde desmozomlar daha sık bulunur. Derin hücreler şekil değiştirmekten çok yerlerini değiştirir ya da orta hücre tabakasının özel düzeni sayesinde epitelin bütünlüğünü bozmaksızın, birbiri üzerinden kayabilirler. Bütün diğer çok katlı epitellerde olduğu gibi değişici epitelin yüzeyel hücreleri mekanik ve kimyasal faktörlerin etkisiyle olumsuz olarak etkilenen idrar yolları lümeni içine düşer ve idrar incelemesinde görülürler. Bu yüzeyel hücre kaybı bazal doğurucu tabaka hücrelerinin çoğalmasıyla karşılanır (13). Bazal tabaka, sadece boş mesanede seçilir, kübik hücrelerden oluşmaktadır. Lamina densa, lamina lusida ve bağlayıcı fibrillerden oluşan bazal membran üzerinde ince bir tabaka halinde uzanırlar. Normal değişici epitel hücrelerinin hepsi glikojen içerirken, sadece yüzeyel hücreler muskarminofiliktir (9). Mukozal bazal membran ve muskularis propria arasında bulunan Lamina propria ise zengin vasküler ağ, lenfatik kanallar ve duyu sinir uçları ile az sayıda elastik lifler içeren yoğun bağ dokusundan meydana gelmiştir. Daha derinlerde bağ doku gevşektir (9). Lamina propria içinde yaygın lenfoid doku ve bazen küçük lenf follikülleri bulunabilir ve papillalar oluşturmaz. Mesanede yer yer kısa epitel çöküntüleri görünebilirse de, gerçek bez denilebilecek epitel kriptaları ancak trigonun lamina propriasında ve üretrada bulunur (10). Gerilme derecesi ile kalınlığı değişir ve genellikle mesane boynu ve trigon bölgesinde daha incedir. Üriner obstrüksiyonu olan olgularda mesane boynunda, lamina proprianın çoğu zaman seçilememesi nedeni ile muskularis propria hemen mukoza altında olabilir (9). Lamina proprianın orta kısmında orta çaplı arter ve venler uzanmaktadır. Küçük düz kas demetleri lamina propriada, özellikle de damarların çevresinde yaygın olarak bulunur. Bu düz kas demetlerinin muskularis propria ile bağlantısı yoktur ve izole demetler olarak görülürler (9).

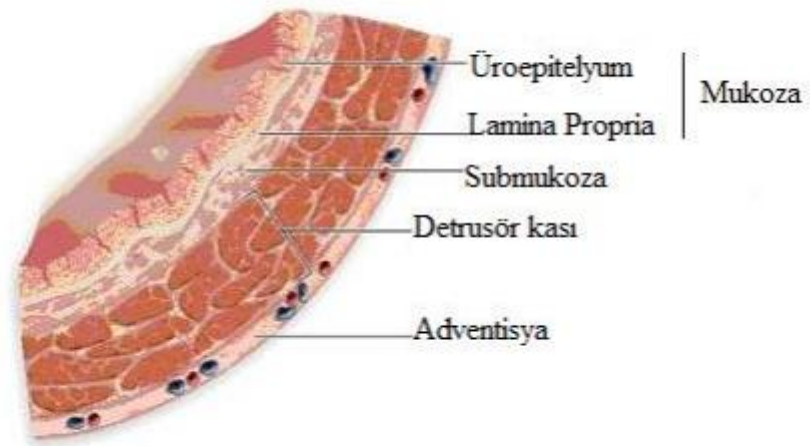
2.2.1. Muskularis Propriya

En iç ve en dışta longitudinal tabakalar ile ortada sirküler tabakanın olduğu üç kas tabakasından oluşur. Gerçekte bu tabakalar sadece mesane boynunda devamlı olarak ayrımlanabilir. Diğer bölgelerde longitudinal ve sirküler tabakalar serbestçe birbirine karışırlar ve uzanımları belirlenemez. Boş mesanede kas lifleri nispeten kalın demetlerde dizelenmişlerdir ve her biri diğerinden kan damarı,

lenfatik ve sinir içeren orta derecede ve yoğun bağ dokusu ile ayrılmıştır (11). Sık olmasa da sinir ve damar yapıları ile birlikte paraganglion adaları, muskularis propriyada görülebilmektedir. Bu hücreler göze çarpan kordon ya da ada tarzında düzenlenmişlerdir. Berrak ya da granüler sitoplazmalı, yuvarlak veziküler nükleusludurlar. Diğer tabakalara benzer olarak muskularis propriyanın kalınlığı kişiden kişiye, yaşa bağlı olarak ve gerilme derecesi ile değişmektedir (9). Mesane duvar kalınlığı boş olduğunda 2.76 mm dolu olduğunda 1.55 mm'dir (9). Evrelemede muskularis propriya, yüzeysel ve derin tabaka olmak üzere iki tabakada incelenir. Bu tabakaların ayrımlanmasında kullanılan belirli bir anatomik işaret yoktur ve kas tabakasının kalınlığının ölçümü ile gösterilebilir (9).

2.2.2.Adventisya

Birçok büyük damar ve sinir dallarının yayıldığı bağ dokusu olup kesin bir sınırı olmayıp çevre bağ dokusu ile devam ederek mesaneyi çevresine bağlar. Mesanenin üst yüzeyi periton ile temas halindedir ve bundan dolayı bir serozaya sahiptir (13).



Şekil 3. Mesanenin katları (14)

2.3. Mesanenin Embriyolojisi

Organizmada oluşan metabolizma artıklarının atılmasını sağlayan idrar (üriner sistem) ve genital organlar (genital sistem) ortak bir boşaltım yoluna (kloaka) sahiptir. Kloaka önceleri kör bir kese şeklindedir. Üst ve arka tarafından son barsak, önden embriyolojik gelişimin 16. günü civarında kloaka zarının gelişmesiyle eş zamanlı olarak vitellüs kesesi, arka duvarı da allantoenterik divertikül veya allantois adı verilen bir divertikül olarak adlandırılan bağlantı sapı, yanlarda ise Wolf kanalının açtığı deliklerle sınırlanmıştır (15, 16). Kloakanın alt ucu kuyruk barsakla uzarken ön duvarı ince olup, kuyruk tomurcuğundan allantoise kadar uzanan “membrana kloakalis”i yapar. Başlangıçta membrana kloakalis embriyonun arka bölümündedir. Sonradan baş bölgesinde olduğu gibi, son barsak ve kuyruk bölümünün aşağıya ve ön tarafa kıvrılmasıyla yön değiştirir ve öne geçer. Kloaka iki kata ayrılır. Ayrılma 4. ve 7. haftalar arasında kloakanın yan duvarlarında sağda ve solda iki plika ürorektalenin ortaya çıkması ile başlar. Daha sonra her iki plika birleşir ve septum ürorektale'yi oluşturur (17). Yedinci haftada membrana kloakalisin septum ürorektale ile birleştiği yerde primitif perine oluşurken, bu membran da üstte membrana ürogenitalis ve altta membrana analis olarak ikiye bölünür. Böylece kloaka boşluğu da ön ve arka olmak üzere iki parçaya ayrılır. Ventralden membrana ürogenitalis ve septum ürorektale ile sınırlanan kloakanın ön bölümünden primitif sinüs ürogenitalis ortaya çıkar. Bunun üstte kalan büyük bölümünden mesane ve altından da esas sinüs ürogenitalisin pars pelvina ve pars phallica (üretral) bölümleri gelişir. Önde anal membran ve septum ürorektale ile sınırlanan arka parçadan anal rektal kanal gelişir (18, 19).

2.3.1. Primitif Ürogenital Sinus

Bu yapının ventralinden mesane gelişirken, pelvik kısmından prostatik ve membranöz üretra gelişir. Fallik kısmından ise üretra ve genital parça gelişir. Kloakanın ikiye ayrılmasıyla önde ortaya çıkan primitif sinüs ürogenitalis'in üst bölümünden oluşan vezika urinaria başlangıçta allantoisle bağlantı halindedir. Üreter ve Wolf kanalları buraya açılırlar. Ancak daha sonra boşluğun genişlemesi ile her iki yapı birbirinden uzaklaşır. Böylece üreterlerin mesaneye açılma yerleri

üstte kalır. Kloakanın bölünmesi sırasında mezonefrik kanalların tomurcukları halindeki üreterler mesaneye ayrı ayrı girerler. Mezonefrik kanallar ve üreterlerin her ikisi birden mezodermal kaynaklı olduğundan bu kanalların birleşmesiyle oluşan mesane mukozası da (trigonum mesane) mezodermal kaynaklıdır ve her iki kanal çiftinin arkasında kalan bölüm bu kısmı oluşturur. Mesanenin geri kalan kısmı sinüs ürogenitalis'ten geliştiği için endodermal kaynaklıdır. Zamanla, trigondaki mezodermal epitel endodermal epitelle yer değiştirir ve sonuçta tüm mesane içi endodermal kaynaklı epitelle döşenmiş olur (20). Mesanenin üst kısmı önceleri allantoisle göbek bağı ucuna doğru devam ederken 2. aydan sonra allantois'in atrofiye olmasıyla geriye kalan parçası (urakus) mesane tepesinden göbeğe doğru uzayan chorda urachi veya ligamentum umblicale medianumu yapar. Mesanenin alt ucu ve sinüs ürogenitalis arasındaki membrana ürogenitalis'in kalınlaşması ile primer üretra oluşur (17).

2.4. Dolum ve İşeme Fizyolojisi

Mesane işlevleri, depolama ve boşaltma evresi olmak üzere iki evrede incelenebilir. Mesanenin somatik innervasyonu sakral 1-3 ön boynuz ventrolateral bölge lamina IX'da yerleşik Onufrowicz çekirdeği ve sakral 2-4 lamina VII'de yerleşik pudental çekirdekten başlar. Somatik efferent lifler pudental sinir içinde uzanarak pelvik taban kasları, perine ve dış sfinkteri kasar. Mesane ve proksimal üretradan gelen afferent yollar, başlıca pelvik visseral sinirler, az miktarda da sempatik lifler içeren hipogastrik sinirler tarafından merkezi sinir sistemine taşınır.

Distal üretra ve perineden kalkan afferent uyarılar ise pudental sinirler yoluyla iletilir. Pelvik sinirler içinde seyreden afferent lifler gerilmeye duyarlı olan ince miyelinli A-delta (A δ) lifleri ve miyelinsiz C liflerinden oluşur (21). Mesane idrarla dolduğu zaman miksiyon refleksi oluşur. Miksiyon refleksi tonomik medulla spinalis refleksi olmasına rağmen, serebral korteks ve beyin sapındaki merkezler tarafından da inhibe veya stimüle edilebilir (22). Depolama evresi boyunca giderek artan sempatik uyarı ve baskılanan parasempatik uyarı yolu ile mesane içi basınç düşük tutulur. Normal bir mesanede mesane içi basınç 0-6 cmH₂O olup, genellikle 15 cmH₂O'yu aşmaz. Mesane yaklaşık 30-50 cc idrarla dolduğu zaman, basınç yaklaşık 5-10 cmH₂O'ya yükselir. 20-300cc arası idrar

toplanması da küçük miktarlarda basınç değişikliklerine yol açar. Basıncın sabit bir değerde tutulabilmesi, mesane duvarının intrinsek tonusu nedeni ile olabilmektedir(21, 23). Mesane duvarındaki gerilme reseptörlerinden başlayan duyuşal sinyaller, pelvik sinirler aracılığı ile spinal kordun sakral segmentine iletilirler ve oradan da refleks olarak yine aynı sinirler içindeki parasempatik sinir lifleriyle tekrar mesaneye iletilirler. Mesane kısmen dolmaya başladığı zaman oluşan kontraksiyonlar, detrüözör kası tarafından kısa bir zaman içinde durdurulur. Dolmaya devam eden mesanede miksiyon refleksleri daha sık olmaya başlar detrüözörün daha fazla kasılmasına neden olurlar. Detrüözörün başlangıçtaki kontraksiyonu gerilim reseptörlerini aktive eder ve bunun sonucunda posterior üretradaki duyuşal uyarımlar artar ve bu da mesanede refleks kontraksiyonların devam etmesine neden olur. Sonuçta bu işlem mesane sağlam bir kontraksiyon seviyesine erişinceye kadar devam eder. Kısa bir zaman içinde (birkaç saniye ile bir dakikadan biraz fazla olabilir) kendi kendini uyarıcı refleks zayıflamaya başlar ve miksiyon refleksinin döngüsü sona ererek mesanenin gevşemesine yol açar. Miksiyon refleksi yeteri kadar güçlü oluşur ise, pudental sinir yolu ile eksternal sfinktere inhibe edici başka bir refleks gönderilir. Gönderilen bu inhibe edici uyarı, beyinde eksternal sfinktere giden istemli kasıcı uyarılardan daha kuvvetli ise işeme gerçekleşir. Ancak daha kuvvetli değilse mesane daha fazla doluncaya kadar ve miksiyon refleksi daha güçlü oluncaya kadar işeme olmaz (22).

Boşaltma evresinde mesaneden gelen uyarılar ve dorsolateral pons ve mamiller cisimlerde giderek artan aktivite işeme eşiğini düşürür. Üretral sfinkter EMG aktivitesi kesilir ve sfinkter basıncı düşer. Sfinkter mekanizmasının sakral işeme merkezine refleks inhibisyonu ortadan kalkar, sempatik aktivite inhibe olur, parasempatik yolaklar aktive olur ve sonuçta detrüözör kasılır (21, 23).

2.4.1. Nörofizyoloji

Mesane kontraksiyonları adrenerjik, kolinerjik ve nonadrenerjik ve nonkolinerjik (NANK) mekanizmalar tarafından yönetilir. Mesane boşaltımında parasempatik sistem esas sorumlu sistem, asetilkolin ana nörotransmitterdir. Adenozin trifosfat (ATP) sinirsel uyarıyla asetilkolinle birlikte salınır, purinerjik reseptörler aracılığı ile kontraksiyonu indükler (24).

2.4.1.1. Adrenerjik Yollar

α 1-adrenoreseptörlerin (α 1A ve α 1D) uyarılmasıyla normal insan mesanesinde küçük ve değişken kasılmalar elde edildiği rapor edilmiştir (24, 25). Bununla birlikte bazı araştırmacılar detrüöz aşırı aktivitesi olan hastaların mesanesinde α -adrenoreseptör yoğunluğunda artış olduğunu tespit etmişlerdir (24, 26). Öte yandan, bazı yazarlar, aşırı aktif ya da çıkım yolu tıkanmış mesanedeki α -adrenoreseptör fonksiyonlarındaki artışı kabul etmemektedirler (24, 27).

İnsan detrüöz kasında 3 tip β adrenoreseptör mRNA'larının ekprese edildiği gösterilmiştir; β 1, β 2 ve β 3. Bu reseptörler içinde en etkili gevşeme β 3 adrenoreseptör agonistleri sayesinde gerçekleşir (24, 28). Bundan ötürü β 3 adrenoreseptörlerin, insan mesanesindeki gevşemeden esas sorumlu reseptörler olduğu düşünölmektedir. Çünkü sempatik sinir sistemi detrüözün refleks aktivitesini engeller ve mesane dolumu sırasında idrarın depolanmasına katkıda bulunur. Mesane içindeki adrenerjik sinirlerden norepinefrin salgılandığında β adrenoreseptörler adenil siklazı aktive ederler ve cAMP artar. cAMP protein kinaz A'yı aktive eder ki bu da detrüöz kasında gevşemeye yol açar (25, 29).

2.4.1.2. Kolinerjik Yollar

Mesane kasılması esas olarak muskarinik reseptörler yoluyla parasempatik sinir sistemi tarafından sağlanır. 5 tip muskarinik reseptör bulunur; M1, M2, M3, M4, M5. En fazla M2 altgrup reseptör, daha sonra M3 alt grup reseptör sık görülür. İnsan mesanesinde M2:M3 oranı 3:1'dir (24, 29, 30). Her ne kadar M2 reseptör sayısı M3 reseptör sayısından fazla olsa da, M3 reseptörleri mesanenin kasılmasında daha önemlidir. Muskarinik reseptör yoğunluğu mesane kubbesinde en fazla, mesane boynunda en azdır, böylece muskarinik uyarı ile mesane kubbesi güçlüce kasılır (24, 31). Mesanedeki muskarinik reseptörler ürotelyumda, detrüöz kasında ve parasempatik/sempatik sinir uçlarında tespit edilmiştir.

Mesane ürotelyumunda muskarinik reseptörler olduğunun gösterilmesiyle ürotelyumun parasempatik innervasyona sahip olduğu kanıtlanmıştır (32, 33). McCloskey'nin yaptığı bir araştırmada; detrüöz lamina propriasında yerleşmiş olan interstisyel hücrelerinin (ICC) artışının, aşırı aktif mesanenin açıklanamayan

mekanizmalarından biri olabileceği belirtilmiştir. Bu hücreler bağırsakta yer alan Cajal hücrelerine benzerlik gösterirler. Bu çalışmada ICC, spontan elektriksel ve kalsiyum iyonları yoluyla, aynı zamanda ATP ve karbakol gibi nörotransmitterlerin salınmasına yol açarak detrüözör kasılmalarını sağladıkları gösterilmiştir (35).

Detrüözör düz kasındaki muskarinik reseptörler G proteinleri aracılığıyla ikincil mesajcı işlevi görürler. M2 ve M4 altgrup reseptörler Gi protein yoluyla adenilat siklazı inhibe ederler (35). M1, M3 ve M5 reseptör altgrupları ise Gq/11 proteinleri ile etkileşir ve fosfolipaz C'yi aktive ederek inositol fosfat döngüsünü indükler ve hücre içi kalsiyum dengesini sağlarlar (24). M3 reseptörlerinin uyarılmasıyla hücre içi kalsiyum seviyesi artar ve detrüözör kasında kasılmaya neden olur. M2 reseptörlerinin uyarılmasıyla da detrüözör kasılması oluşur. Ancak, bu kasılma dolaylı bir mekanizmayla, yani β -adrenoreseptörlerinin uyarılması sonucu siklik adenosin mono fosfat (cAMP) aracılı oluşan gevşemenin inhibisyonu yolu ile olmaktadır(36).

Muskarinik reseptörler presinaptik sinir uçlarında da tespit edilmiştir. Parasempatik sinir uçlarında asetilkolin salınmasıyla, sempatik sinir uçlarında ise noradrenalin salınmasıyla işlev görürler. M1 reseptörler asetilkolin salınımını arttırırken, M2 ve M4 reseptörler transmitter salınımını inhibe ederler (37).

2.4.1.3. Non-adrenerjik Non-kolinerjik Yollar

Yapılan araştırmalar sonucunda, detrüözör aşırı aktivitesi patofizyolojisinde %95'ten fazla atropin direnci görülmüştür. Elde edilen bulgular % 5 civarında başka mekanizmaların varlığına işaret etmektedir (24, 29). Bu mekanizmalar;

2.4.1.3.1. Purinerjik Sistem ve ATP

ATP purinerjik reseptörler (P2X ve P2Y) üzerinde etki eder ve non-adrenerjik non-kolinerjik yolların en önemlisidir (24, 31). ATP salınımı mekanik gerilme ve elektriksel uyarıyla olur ve detrüözör kasılmasının ve işemenin başlatılmasında önemli rol oynar. Kolinerjik sistem ise kasılmanın ve işemenin sürdürülmesini sağlar. İdiopatik aşırı aktif mesanesi olanlarda anormal purinerjik iletinin olduğu bildirilmiştir (24).

2.4.1.3.2. Histamin ve Serotonin

Histamin mesane düz kasında yerleşmiş H-1 reseptörleri vasıtasıyla mesane düz kasının kasılmasını sağlar (25). Serotonin mesane düz kasında yerleşmiş olan 5-HT₂ reseptörleri aracılığıyla etki eder. 5-HT₂ reseptörlerinin uyarılması ya direk olarak mesane düz kasına etki eder ya da mesanedeki otonomik innervasyon yoluyla indirekt etki göstererek kontraksiyona neden olur (25).

2.4.1.3.3. Mesane Afferent Aktivitesi ve Ürotelyum

Son dönemlerde yapılan çalışmalarda ürotelyal hücrelerin sadece bir bariyer görevi göstermediği bildirilmiştir. Aynı zamanda mesane aktivitesi üzerinde lokal kimyasal ve mekanik uyarılara yanıt verebilen ve afferent sinirlere kimyasal sinyaller gönderebilen duysal çeşitli moleküller sentezleyebilmektedir (25, 28). Buna göre ürotelyum, nöron gibi davranan, nörotransmitter salgılayan, gerilmeye karşı tepki verebilen ve büyüme faktörleri tarafından regüle edilebilen bir yapı olarak tanımlanmıştır (38).

2.4.1.3.4. Diğerleri

Vaniloidler, fizyolojik etkisi tam olarak bilinmeyen, miyelinize olmayan duysal sinir uçlarında ve az miktarda ürotelyumda bulunan reseptörlere ait mediatörlerdir. Bu maddeler kapsaisin ve resiniferatoksindir. Bu maddelerin intravezikal kullanımları özellikle antimuskariniklere dirençli detrüöz aşırı aktivitesi tedavisinde olumlu sonuçlar vermektedir (39).

Prostanoidler ve Lökotrienler, hem mesane mukozasında hem de detrüöz kasında siklooksijenaz tarafından sentezlenir. Detrüöz kasında gerilme, mukozal yaralanmalar, sinirsel uyarılar ve inflamatuvar mediyatörler sentezlenmesini artırır (40).

Nöropeptidler, vazoaktif intestinal peptitin spontan detrüöz kasılmalarında inhibitör bir etkisi olurken elektriksel uyarı ya da muskarinik reseptör uyarımlı kasılmalar üzerinde belirgin bir etkisi yoktur (41). Taşikininlerden substans P, nörokinin A ve nörokinin B de insan mesanesi afferent sinirlerinde saptanan

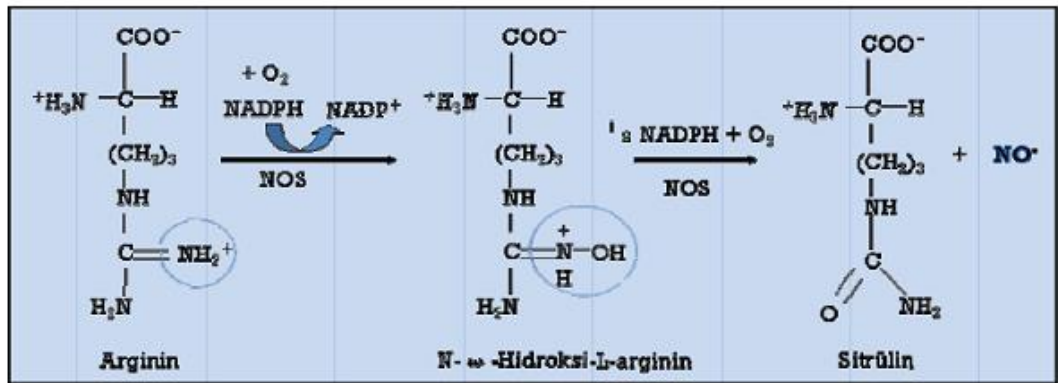
taşikinin türevleridir. Taşikininler NK1, NK2 ve NK3 reseptörleri üzerinden mesane kasılmasına katkıda bulunurlar (40).

2.5. Nitrik Oksit

Nitrik oksit(NO) ilk kez 1979 yılında periferel vasküler düz kaslarda güçlü bir gevşeticiler olarak gösterilmiştir (42). NO, başlıca endotel hücresi, makrofaj, nöron ve düz kas hücresinde L-arginin'den nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile sentez edilen ve molekül ağırlığı 30 olan, renksiz gaz yapısında biyolojik bir moleküldür. Bu molekül biyolojik membranlardan kolaylıkla geçebilen ve eşleşmemiş elektronu olan serbest bir radikaldir. Yarı ömrü 3-5 saniyedir. (43-47).

2.5.1. Nitrik Oksit Sentezi

L-arginin amino asidinden NOS enzimi aracılığı ile NO sentez edilmektedir (Şekil 4). Bu tepkimede substrat olarak NADPH (indirgenmiş nikotinamid dinükleotid fosfat) ve O₂ kullanılırken FAD (flavin adenin dinükleotid), BH₄ (tetrahidrobiopterin), FMN (flavin adenin mononükleotid) ve demir protoporfirin IX (HEM) kofaktör olarak kullanılmaktadır. Ayrıca tepkimede kalmoduline (CaM) ihtiyaç duyulmaktadır.



Şekil 4.L-arjinin aminoasidinden NOS enzimi ile NO sentezi

Bu sentez N-metil-L-arginin, N-nitro-L -arginin ve N-amino-L-arginin gibi L -argininin N –eklenmiş analoglarıyla inhibe edilebilir. NO hemoglobin tarafından inaktive edilir.

2.5.2. NOS Enziminin İzofomları

Üç ayrı NOS enzimi vardır; nöronal NOS (nNOS veya NOS I), indüklenebilir NOS (iNOS veya NOS II), endotelial NOS (eNOS veya NOS III)'tur (Tablo 1).

Nöronal NOS (nNOS veya NOS I), 12. kromozomda lokalize olarak bulunan ilk izoformdur. Esas olarak santral sinir sisteminde ve periferik sinirlerde bulunan, nörotransmitter/nöromodülatör olarak görev yapan, Ca^{2+} / kalmoduline bağımlı olarak aktivite gösteren ve çözünür formda bulunan sitozolik bir enzimdir (48, 49).

İndüklenebilir NOS (iNOS veya NOS II), 17. kromozomda lokalizedir. Makrofajlar, tip II alveolar epitel hücreleri, fibroblastlar, mast hücreleri, nötrofiller ve kondrositlerde yoğun olarak bulunan ve aktivitesi kalsiyuma bağımlı olmayan bir enzimdir (50). İndüklenebilir NOS tümör nekroz faktör- α (TNF- α), endotoksin, interferon- γ ve interlökin-1 β gibi proinflamatuvar sitokinler ile indüklenmektedir (51). Sitozolik bir enzim olan iNOS, indüklenmesinden birkaç saat sonra uzun süre (saatler, günler) devam edebilen nanomolar konsantrasyonlarda proinflamatuvar NO salınımı sağlamaktadır (52).

Endotelial NOS (eNOS veya NOS III), 7. kromozomda lokalizedir. İlk olarak vasküler endotelial hücrelerde tanımlanmıştır. Endotelial NOS kardiyovasküler sistemde vasküler düz kas gevşemesi, damar tonüsünün düzenlenmesi, trombosit agregasyonunun inhibe edilmesi gibi fizyolojik olaylarda görev almaktadır (49, 53). Diğer 2 NOS enzimlerinden farklı olarak hücrel membranda partiküler subselüler fraksiyonda özellikle de plazmalemmal kaveola'da bulunmaktadır (54). Nöronal NOS gibi Ca^{2+} ve CaM'e bağımlı aktivite gösteren bir enzim olup kısa süreli ve pikomolar konsantrasyonlarda NO sentezini katalizlemektedir. eNOS'un aktivasyonu sonucu oluşan NO, difüzyonla düz kas hücrelerine geçerek guanilat siklazı aktive etmektedir. Bunun sonucunda cGMP düzeyinde artma ve düz kaslarda gevşeme meydana gelmektedir (52, 55, 56).

Tablo 1. NOS enziminin izoformları ve özellikleri

| Tanım | eNOS(NOS III) | nNOS(NOS I) | iNOS(NOS II) |
|----------------------|--|---|--|
| Kromozom | 7 | 12 | 17 |
| Düzenleme | Ca/Kalmodulin | Ca/Kalmodulin | Gen transkripsiyonu |
| Kofaktörler | NADPH, FAD, FMN, BH ₄ , Hem | NADPH, FAD, FMN, BH ₄ , Hem | NADPH, FAD, FMN, BH ₄ , Hem |
| NO üretimi | Düşük | Düşük | Yüksek |
| Uyaran | Asetilkolin, bradikinin, ATP, proliferasyon, stres | Nöro-uyarıcı aminoasitler, östrojen | Tümör nekroz faktor-alfa(TNF- α), endotoksin, interferon- γ ve interlökin-1 β |
| Hücre tipleri | Endotel hücreleri | Merkez sinir sistemi, adrenal bez, periferik nöronlar | Makrofaj, monosit, nötrofil, tip 2 alveolar epitel |

Mevcut çalışmalar; moleküler oksijen, androjen, uzun süre L-arjinin kullanımı ve tekrarlayan intrakavernozal prostaglandin E1 enjeksiyonlarıyla NOS aktivitelerinin arttığını gösterirken, kastrasyon, denervasyon, hiperkolestolemi ve diabetes mellitusun NOS aktivitelerinde düşmeye neden olduğunu göstermişlerdir (52, 57, 58).

2.5.3. Nitrik Oksidin Etki Mekanizması

Klasik nörotransmitterlerden farklı olarak, NO hücre içerisinde spesifik bir reseptöre bağlı değildir. Gaz molekülü olan NO sitoplazmada bulunan, çözülebilir guanilat siklaz (sGC) hedefleyerek hücre membranından geçer. NO'nin sGC'ye bağlanması proteinde değişikliklere neden olur ve aktivitesi artar (59). Aktive olan sGC, guanosin-5'-trifosfatın (GTP), guanosin-3', 5' siklik monofosfata (cGMP) dönüşümünü katalize eder. cGMP ökaryotik hücrelerde iyon kanalları, fosfodiesterazlar ve protein kinazlar olmak üzere üç farklı yönde sinyal verir. Bu etkileşimlerle intrasellüler cGMP konsantrasyonlarının artması, intrasellüler

serbest Ca konsantrasyonunun düşmesiyle sonuçlanan ve kontraktıl tonus kaybının indüklenmesine neden olan olaylar zincirini başlatır. Bu olaylar, cGMP-bağımlı proteinkinazların aktivasyonu, hiperpolarizasyon, voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının kapanması, intrasellüler organellerde kalsiyum sekestrasyonu ve kontraktıl aperiüstada desentizasyonun engellenmesidir.

2.5.4. Nitrik Oksidin Fizyolojik Etkileri

2.5.4.1. Kardiovasküler Sistem

NO hedef hücrelerde çözünür sitoplazmik guanilat siklaza bağlanarak onu aktive etmektedir. Bu enzimin aktivasyonu GTP'den cGMP oluşumunun artmasına neden olmaktadır. Artan cGMP ise kalp kasının gevşemesine ve damarlarda vazodilatasyona neden olmaktadır. NO, ayrıca myositlerin mitokondriyel solunumunu inhibe ederek kalbin oksijen tüketimini azaltmaktadır (61-63). Trombositler endotel kaynaklı NO'dan etkilenebildikleri gibi, kendileri de NO tarafından uyarılabilen eNOS ve guanilat siklaz enzimini bulundurmaları nedeniyle de NO üretebilmektedirler (64). Trombosit içindeki cGMP konsantrasyonunun artması, trombositlerin adezyonunu ve agregasyonunu inhibe etmektedir.

2.5.4.2. Santral Sinir Sistemi

NO santral sinir sisteminde nöromodülatör olarak görev yapar. Presinaptik uçtan salınan glutamat postsinaptik uçtaki hücrenin NMDA reseptörlerine bağlanır ve NOS'u aktiveştirir. Bunun sonucunda oluşan NO sinapsların şekillenmesine yardımcı olmaktadır (65). Ayrıca NO koku alma, görme, ağrı algılanması ve hafıza oluşması gibi birçok fizyolojik olayda da rol oynamaktadır (65-67). Bunun dışında periferik sinirlerde nonadrenerjik nonkolinerjik sistem nöronlarında nörotransmitter olarak görev almaktadır (65-67).

2.5.4.3. Solunum Sistemi

Nöronal NOS'un trakeadan bronşlara doğru gidildikçe azalan yoğunlukta solunum yolları sinirlerinde, eNOS'un bronşiyal epitelde, pulmoner damar endotel hücrelerinde, Tip II alveolar epitel hücrelerinde; iNOS'un ise Tip II alveolar epitel hücreleri, fibroblastlar, solunum yolları epitel hücreleri, solunum yolları ve damar düz kas hücreleri, mast hücreleri, nötrofiller ve kondrositlerde yoğun olarak bulunduğu gösterilmiştir (50). NO, akciğerlerde bronkodilatasyon, arteriyel vazodilatasyon, mukosilyer klirensin düzenlenmesi, bakteri, virüs ve parazitlerin yok edilmesi gibi birçok fizyolojik olayda rol oynamaktadır (56).

2.5.4.4. Gastrointestinal Sistem

NO mukoza ülserlerini prostoglandin deriveleri ile birlikte koruduğu düşünülmektedir (69). NO mide mukozasının irritasyonlara karşı korunmasını, o bölgenin kanlanmasını artırarak ve mukozal bariyer oluşturarak yaptığı ileri sürülmektedir. Ayrıca NO'nun konstipasyon ve diyarede de rolünün olabileceği ileri sürülmektedir (52).

2.5.4.5. Üriner Sistem

NO, böbrek kan akımının ve glomerüler filtrasyonun düzenlenmesi, böbreğin otoregülasyonu, renin salgılanması ve tuz itrahi gibi böbrek fonksiyonlarının kontrol edilmesinde görev alan önemli bir moleküldür. NOS enzim sentezinin uyarılması böbrekte vazodilatasyona neden olurken sentezinin bloke edilmesi ise renal kan akımının ve sodyum itrahının azalmasına neden olmaktadır. Ayrıca NO anjiyotensin II'nin fizyolojik antagonisti olarak kabul edilmektedir (70).

NO'nun miksiyonda da etkisi olduğu gösterilmiştir. Üretrada nörotransmisyon inhibisyonu, mesanede afferent sinir ve spinal refleks modülasyonu ile etkili olduğu bulunmuştur. NO'nun aynı zamanda prostat düz kas tonusu, glandular sekretuar fonksiyon ve lokal kan akımı regülasyonunda görev aldığı kanıtlanmıştır (71).

2.5.4.5.1. Üretra ve NO

Üretra işeme fizyolojinin bütünü ile ilişkilidir. Mesane boynu ve üretral sfinkteri içerir ve depolama ve periyodik idrar boşaltımında mesane ile uyum içinde çalışır (72).

İdrar depolama ve boşaltımının düzenlenmesinde karmaşık nöronal kontrol sistemi olduğu varsayılmaktadır (73). Üretra düzeyinde efferent nörotransmisyon, kolinerjik ve adrenerjik komponentleri bulunan ve farklı türlerde çeşitli etkiler gösteren bileşenleri içerir. Üretra ve mesane boynunda adrenerjik iletim daha baskın olan mekanizmadır. Detrüsördeki rolünün tersine uyarıcı etkileri primer olarak alfa adreno reseptörler (özellikle alfa-1 alttipi) ve inhibitör etkiler beta adreno reseptörler tarafından organize edilir (74, 75). Bununla birlikte, in vitro olarak üretra gevşeme etkisi sürekli olarak geleneksel kolinerjik ve adrenerjik nörotransmitter etkilerden bağımsız birkaç tür gözlenmiştir (75-77). Bu bilgiler ışığında üretrada inhibitör iletim, penis ereksiyonuna benzer bir mekanizma ile non-adrenerjik non-kolinerjik (NANK) bileşenler olduğunu açıklar. Son çalışmalar NO biyosentezini ve mekanizmasını etkileyen olayların in vitro olarak tavşan, koyun, köpek, domuz, rat ve insanlardan izole edilen üretral düz kas şeritlerinin gevşemesini değiştirdiğini göstermektedir (58-87). NO aracılı gevşeme sadece düz kas yapıları sınırlı değildir. Benzer in vitro yanıtların üretral lamina propria ve eksternal üretral sfinkterde de ilişkili olduğu gösterilmiştir (87-89)

Biyokimyasal, immünohistokimyasal, enzim histokimyasal tekniklerle üretrada NOS bulunduğu doğrulanmıştır (58,89-95). Bu çalışmalarda NOS aktivitesi lokalizasyonları, arterler etrafındaki sinir liflerinde, ürotelyumun altında ve düz kas demetleri ve arteriyel endotelyum arasında gösterilmiştir.

2.5.4.5.2. Mesane ve NO

Mesane nin temel görevi idrarı periyodik olarak depolamak ve boşaltmaktır. Mesane esas olarak nöronal kontrol altında olmasına karşın, düz kaslar, bağ doku ve mesane nin epitelyal elementlerinin interaktif etkileri altındadır (96). Mesane kasılma ve gevşeme yanıtları için hem eksitatör, hem de inhibitör sinir iletimini içerir (74). Efferent parasempatik yollar büyük ölçüde uyarıcı kasılma etkileri ortaya çıkarır, ancak bu etkiler ancak kısmen kolinerjiktir (97). Ağırlıklı olarak

pürinerjik transmitter içeren bir NANK bileşen de uyarıcı olarak nörotransmisyonundan sorumlu olabilir (74).

İnhibitör nörotransmisyon mesane relaksasyonu ve dolayısıyla idrar depolamasından sorumludur. Bu mekanizma görünüşte kolinerjik sitümlasyon ile açıklanamayan gevşetici etkilerle oluşmaktadır. Aslında, in vitro muskarinik reseptör blokajı tam mesane relaksasyonu elde etmede başarısız olur (76). Bu fenomen için olası bir açıklama, doğrudan nöromüsküler iletim veya parasempatik uyarıcı etkilerin dolaylı modülasyonu yoluyla beta adrenerjik stimülasyon içeren sempatik inhibitör yollar yardımı çağırır (98, 99).

Üretral düz kas gevşemede bir arabulucu olarak NO tarafından oluşturulan son ilgi alanları, görünüşte mesane için olası bir NANK nörotransmitter inhibitör olarak bu maddenin rolü üzerinde daha fazla araştırmaya teşvik etmiştir. Gerçekten de birikmiş in vitro veriler NO'in trigonal ve üretral düz kaslar için gevşetici etkisini desteklemektedir. İnsan dahil çeşitli türlerin detrusor kasının izole şeritler içeren benzer deneyler ve bazı raporlar NO aracılı inhibitör sinir iletimine destek verirken (100, 101) bazıları vermemiştir (102).

NO için fizyolojik bir rol kurmak için in vivo ürodinamik girişim yapılmıştır. Ratlarda, NOS inhibitörleri veya metilen mavisinin sistemik infüzyonu, mesane hiperaktivitesi ve azalmış mesane kapasitesi ortaya çıkarmıştır (103, 104). Bir fetal kuzu modelinde benzer manipülasyonlar yapıldığında inhibe edilemeyen mesana kasılmalarının eşlik ettiği artmış mesane kapasitesi ve tam boşalmayan mesane tespit edilmiştir (105). Kuzu modeli ve diğer çalışmalarda mesane kapasitesi arasındaki farklar fetal kuzularda yetersiz üretral sfinkter ile bağdaştırılmış (105). Nitekim önceki veriler NO detrusor kasılma cevaplarını etkileyen bir inhibitör faktör olarak hizmet edebilmesine karşın, bu analiz NO'in üretrada daha baskın rol oynadığını işaret etmektedir. Bu belirsiz verilere rağmen, anatomik çalışmalar mesane içinde NOS varlığını göstermiştir.

2.5.4.6. Genital Sistem

NO penis ve klitoris gibi genital dokuların ereksiyonunda görev alan önemli bir mediyatördür. nNOS ve eNOS Ca/kalmodulin bağımlı aktivasyon ile hızlı ve kısa süreli NO üretimine neden olur. Bu Ca bağımlı mekanizma ile penil ereksiyon

başlarken, Ca'dan bağımsız üretilen endotelial NO ise tam ereksiyonun sağlanması ve devamlılığını korumaktadır. Seksüel stimulus sonrası aktive olan nNOS vazorelaksasyon yoluyla hızlı ve kısa süreli penil ereksiyonu başlatır. Artan penil kan akımı damar duvarında ekspansiyon yaparak endoteliumda PI3-K/Akt/eNOS aktivasyonu yaparak ereksiyonun devamını sağlar (106), (Tablo-2).

Tablo 2. Nitrik oksidin alt üriner sistem yapıları üzerine etkileri (107).

| Organ | Etkinin primer yeri | Lokal etki | Fizyolojik rol |
|----------------------------------|--|--|---------------------------------------|
| Penis | Kavernöz sinirler Vasküler/trabeküler endotelium | Vazodilatasyon | Penil ereksiyon |
| Üretra | Subüretral sinirler Lamin propria | Üretral düz kas/lamina propria/eksternal sfinkter relaksasyonu | İşeme |
| Mesane | Intramural sinirler | Detrüsor relaksasyonu | Kontinans |
| Erkek ejakülasyon sistemi | Vas deferense ait subepitelyal sinirler Epididimal epitelyum ve subepitelyal sinirler | Kontraktilitenin düzenlenmesi Sekresyon | Seminal sıvının işlenmesi ve atılması |
| Prostat | Intraprostatik sinirler Glandüler epitel | Düz kas relaksasyonu Sekresyon | İşeme Sekresyon |
| Lumbosakral spinal kord | Sakral parasempatik nukleus Dorsal kommisural nukleus | Preganglionik nörotransmisyon | Santral nöral düzenleme |

2.5.5. Fosfodiesteraz Enzim İnhibitörlerinin Etki Mekanizması ve Klinik Kullanımı

Fosfodiesteraz (FDE); 50 yıl önce, ikincil haberci cAMP'ın aktivitesini bloke etmek için hayvan modellerinde keşfedilen bir enzimdir. FDE üst familyası, 21 tek gen üzerindeki FDE1'den FDE1'e kadar olan 11 familyayı içerir. Bunlar; öncelikle vasküler, visseral ve pulmoner düz kas olmak üzere çeşitli dokulara dağılmışlardır ve birçok organ sisteminin fizyolojik fonksiyonlarını düzenlerler. cGMP yıkımını önlemeleri sayesinde, FDE5 inhibitörleri, cGMP'nin biyoyararlanımında artış yaratırlar. Her ikisi de, düz kasın stimülasyon ile NO aracılı relaksasyonunu kolaylaştırır ve potansiyelize eder. Kafein ve teofilin, FDE enzimini inhibe ettiği onlarca yıl önce bulunmuş ilk ilaçlardır. Geçen 30 yıl süresince, çeşitli FDE ailelerinin inhibitörleri bir grup hastalığın tedavisi için geliştirilmiştir. Bunlardan, FDE3 inhibitörü olan milrinon ve amrinon 1980'lerde kalp yetmezliği için, FDE4 inhibitörü olan silostazol klodikasyon için geliştirilmiştir; anti-platelet etkisi olan dipyridamole'de FDE8, FDE9 ve FDE5'i inhibe eder (108).

Başlangıçta anjina pektoris tedavisi için araştırılan ilk oral FDE5 inhibitörü sildenafilin, çalışmada yer alanlarda ereksiyona yol açtığı rastlantı eseri bulunmuştur. Sonrasında sildenafil 1998'de erektil disfonksiyonun ilk oral tedavisi olarak piyasaya çıkarılmış ve 2003'te yine FDE5 inhibitörü olan iki ilaç, vardenafil ve tadalafil, takip etmiştir (109).

Vasküler sistemdeki bir grup fizyolojik süreç NO/cGMP sinyal yolları ile kontrol edilir. Endotelde lokal olarak üretilen NO, cGMP sentezi ile sonuçlanacak olan sGC stimülasyonu ile vasküler tonusu düzenler. Sonuç olarak meydana gelen intraselüler cGMP konsantrasyonlarındaki artış; kalsiyum iyon kanal modülasyonu yapma ve vasküler düz kas kontraktıl proteinlerinin kalsiyum duyarlılıklarını azaltma yoluyla vazodilatasyon sağlayacak olan cGMP bağımlı protein kinazları aktive eder. İntraselüler cGMP, FDE aktivitesi ile hızla GMP'ye inaktive edilir. Bu nedenle, düz kas hücrendeki cGMP konsantrasyonu temel olarak; bu ikincil haberci için eşsiz bir yıkım yolağı olan; sGC tarafından yapılan üretim ile FDE'ler tarafından yapılan yıkım arasındaki dengeye bağlıdır. FDE5 selektif olarak; cAMP'i değil; cGMP'yi yıkar ve FDE5 aktivitesi vasküler tonus regülasyonu ile

güçlü biçimde ortaya çıkar. Bundan dolayı FDE5 aktivitesinin farmakolojik modülasyonu, bu kontrolü elde edebilmek için etkin bir araç olur (109).

2.6. Mesane ve Kastrasyon

Menapoz kadınlarda çeşitli fiziksel değişikliklere neden olmaktadır. Özellikle belirgin değişiklikler üriner inkontinans, urgency ve sık idrara çıkmayı içeren işeme semptomlarını içerir. Ayrıca menopoz boyunca kadınlara östrojen desteği verildiğinde üretranın iç basıncında artış, proksimal üretraya karın içi basıncın transferi, mesanenin duyuşal eşiğı üriner inkontinansı artıran mekanizmalardır (110).

Son çalışmalarda çeşitli memelilerde NO'in NANK sinir uçlarından salgılandığı gösterilmiştir (58, 80, 84). NOS aktivitesinin östrojen tarafından düzenlenerek, çeşitli dokularda NO ürettiğı kanıtlanmıştır (111). Mesane ve üretradaki NOS aktivitesinde östrojen etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada ovariektomize ratlarda eNOS ve nNOS aktivitesinin anlamlı arttığı gösterilmiştir. Yine bu çalışmada östrojen ile desteklenen ovariektomize ratlarda NOS aktivitelerinin azaldığı görülmüştür (112).

Androjenlerin prostat üzerine etkileri iyi tanımlanmış olmasına rağmen bazı semptomlar sadece prostat boyutu ve fonksiyon değışikliği ile açıklanamamaktadır. Bazı çalışmalar androjen ve mesane fonksiyonu arasındaki ilişkiyi araştırmış ve androjenler ile kan damarları arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Düşük testesteron düzeyine bağılı olarak kan damarı duvarlarında belirgin artmış kalsifikasyon ile birlikte vasküler endotelial büyüme faktörünün baskılandığı gösterilmiştir (113). Ayrıca kastrasyon sonrası mesanedeki histolojik ve fonksiyonel değışiklikler ve mesane kan akımı ratlarda araştırılmış ve kastre ratlarda kan akımında ve mesane fonksiyonunda anlamlı değışiklikler saptanmamasına karşın, kan damarlarında histolojik değışiklikler olduğu görülmüştür (114).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Deney Hayvanları ve Bakımı

Bu deneysel çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi hayvan deneyleri yerel etik kurulu başkanlığınca 12.12.2014 tarihli 2014/84 karar numarası ile onaylanmış olup, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarında yapılmıştır.

16 adet erkek ve 16 adet dişi olmak üzere toplam 32 adet 7-8 aylık albino Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratların ortalama ağırlıkları 200-275 g idi. Hayvanlar yaş, cinsiyet ve ağırlıklarına göre verilen ölçü aralığında teslim alındıktan sonra çalışma gruplarındaki hayvanlara orşiektomi/ovariektomi yapıldı. Kontrol grubundakilerle birlikte tüm hayvanlar 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık deney hayvanları ünitesi ortamında, % 55-60 nem oranı ve 22 ± 3 °C oda sıcaklığında bakım ve beslenmeye tabii tutuldu. Tüm gruptaki hayvanlara ad-libitum, sınırsız yem ve musluk suyu tüketme imkânı sağlandı. Hayvanlar 3 hafta boyunca bakımı yapıldıktan sonra, sakrifiye edilip mesane ve üretraları çıkarıldı. Deney sonunda çıkartılan dokuların histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeleri Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji ve Patoloji Anabilim Dalları tarafından gerçekleştirildi. Hayvan deneyleri için kullanılan yöntemler, materyal ve metodlar National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals protokollerine göre düzenlendi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan gerekli izinler alındı(Tarih:12.12.2014, Karar no: 2014/84). Giderler için Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında destek sağlandı(Proje No:2015.53001.106.02.03).

Bu çalışmada, kullanılan hayvanların yaşları, fizyolojik dağılımları ve bunlara göre oluşturulan gruplar aşağıda belirtilen şekildedir;

1. Uygulama yapılmayan dişi kontrol grubu 1. Grup (DK) olarak adlandırıldı. Bu hayvanlardan aynı gün alınan mesane ve proksimal üretra dokuları konvansiyonel ışık mikroskopik yöntemlerin yanı sıra immünohistokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirildi.

2. *Uygulama yapılmayan erkek kontrol grubu 2. Grup (EK)* olarak adlandırıldı. Bu hayvanlardan aynı gün alınan mesane ve proksimal üretra dokuları konvansiyonel ışık mikroskopik yöntemlerin yanı sıra immünohistokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirildi.

3. *Orşiektomi yapılan erkek hayvanlar 3. Grup (EUYGORŞ-Erkek Uygulama Orşiektomi)* olarak adlandırıldı. Bu hayvanlardan orşiektomiden 3 hafta sonra alınan mesaneve proksimal üretra dokuları konvansiyonel ışık mikroskopik yöntemlerin yanı sıra immünohistokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirildi.

4. *Ovariektomi yapılan dişi hayvanlar 4. Grup (DUYGOV-Dişi Uygulama Ovariektomi)* olarak adlandırıldı. Bu hayvanlardan ovariektomiden 3 hafta sonra alınan mesane dokuları konvansiyonel ışık mikroskopik yöntemlerin yanı sıra immünohistokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirildi.

3.2. Hazırlık, Anestezi ve Cerrahi İşlemler

Ratlar, operasyon öncesi 6 saat aç bırakıldı. %5'lik kokospropilendiamin-guanidin diasetat, fenoksipropanol, benzalkonyum klorür içeren solüsyon kullanılarak, operasyon için gerekli cerrahi aletler en az 30 dakika süre ile dezenfekte edildi. Ratlara yapılan işlemler sırasında, Ksilazin 1 mg/100 gr (Alfazyne %2'lik, Ege-Vet®) ve ketamin 8mg/100gr (Alfamine, Ege-Vet®) karışımının intraperitoneal olarak verilmesiyle anestezi ve analjezi sağlandı. Dezenfeksiyon solüsyonundan çıkarılan cerrahi aletler, distile steril su ile yıkandı. Bu işlemler yapılırken cerraha steril olmayan ikinci bir kişi yardım etti. Yukarıda tarif edildiği şekilde uygulanan anestezi sonrası, ratların abdominal tüyleri traş edildi(Şekil-5). %10'luk polivinil piroolidon iyot ile bölge temizliği yapıldıktan sonra, steril şartlar altında gerekli örtüm ve arıtım işlemleri yapıldı.



Şekil 5. Operasyon öncesi hazırlık

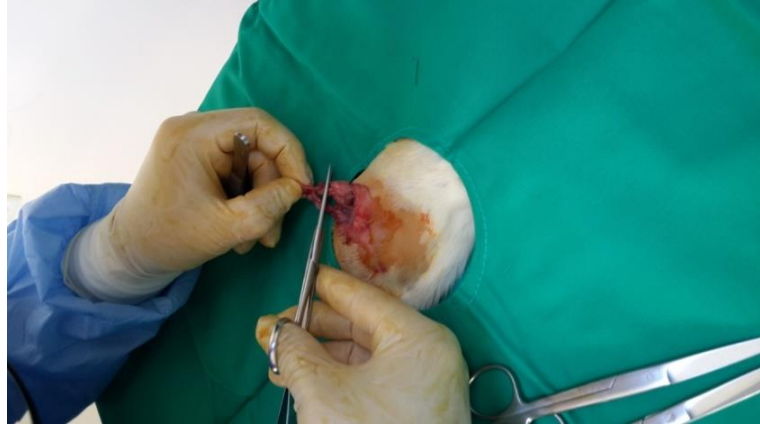
Hayvanlar supin pozisyonda yatırılarak skrotal orta hattan yapılan bir cm'lik vertikal insizyondan testisler künt ve keskin diseksiyonlar ile serbestlendi. Funikulusa (kord ve damarları içerecek şekilde) klemp konulup bilateral orşiektomi uygulandı ve pedikül 3/0 poliglaktin sütür ile bağlandı(Şekil-6).



Şekil 6. Skrotal insizyondan sağ testisin dışarı alınması ve kordun bağlanması

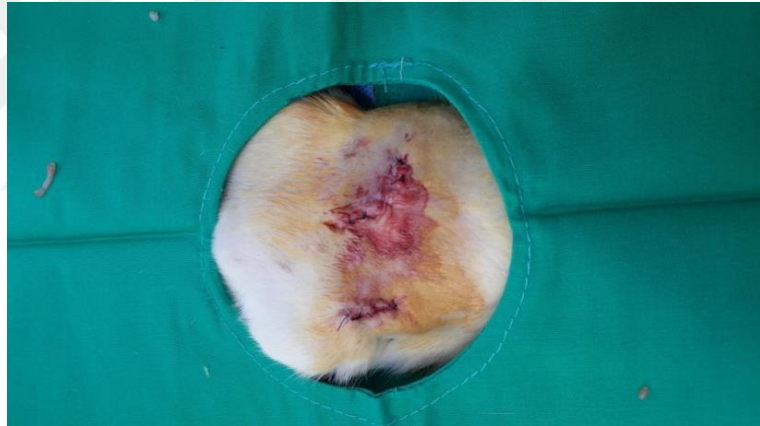
Skrotumda kanama kontrolünün ardından cilt 4/0 vicryl ile sütüre edilip povidon iyodür ile pansuman yapıldı (şekil-8). Operasyon sonrası her denek ait olduğu kutuya konulup anestezi etkisi geçene kadar gözlendi.

Ovariektomi işlemi için linea albanın sağ ve sol tarafında 2 cm' lik suprapubik insizyon hattından karın boşluğuna girilerek, her iki ovaryumun mezovaryum bölgesinden ve kornu uteriye bağlandığı bölgelerden insize edilerek her iki ovaryum kesilerek dışarı alındı (Şekil-7).



Şekil 7. İnsizyondan sağ overin dışarı alınması ve eksize edilmesi

Abdominal bölgede kanama kontrolünün ardından cilt ve periton 4/0 vicryl ile sütüre edilip povidon iyodür ile pansuman yapıldı(Şekil-8). Operasyon sonrası her denek ait olduğu kutuya konulup anestezi etkisi geçene kadar gözlemlendi.



Şekil 8. İnsizyonun kapatılması

3 haftanın sonunda tekrar ksilazin ve ketamin ile anestezi sağlanarak çalışma grubunların mesane ve proksimal üretra dokuları eksize edildi.

3.3. Yöntem

Tüm gruplardaki ratlardan alınan mesaneve üretra dokuları erkekli dişili kontrol ve uygulama grupları olmak üzere dört gruba ayrılarak etiket kod numaraları verildi ve % 10'luk nötral formaldehit solüsyonuna içine bırakıldı. Yirmi dört saat fiksatif içinde bekledikten sonra yaklaşık 6 saat arası akarsuda

yıkandı ve otomatik doku takibinde (Citadel 2000, Thermo Fisher Scientific Shandon, England) etanol (% 50-100) ve ksilen serilerinden geçilerek parafin içine gömüldüler. Hematoksilen-eozin boyama için dokulardan 4-6 µm kalınlığında kesitler alındı ve boyama öncesi etüvde bekletildi. Boyama sonrası ışık mikroskop altında incelendi ve uygun görülen yerler değişik büyütmelemlerde fotoğrafları çekildi.

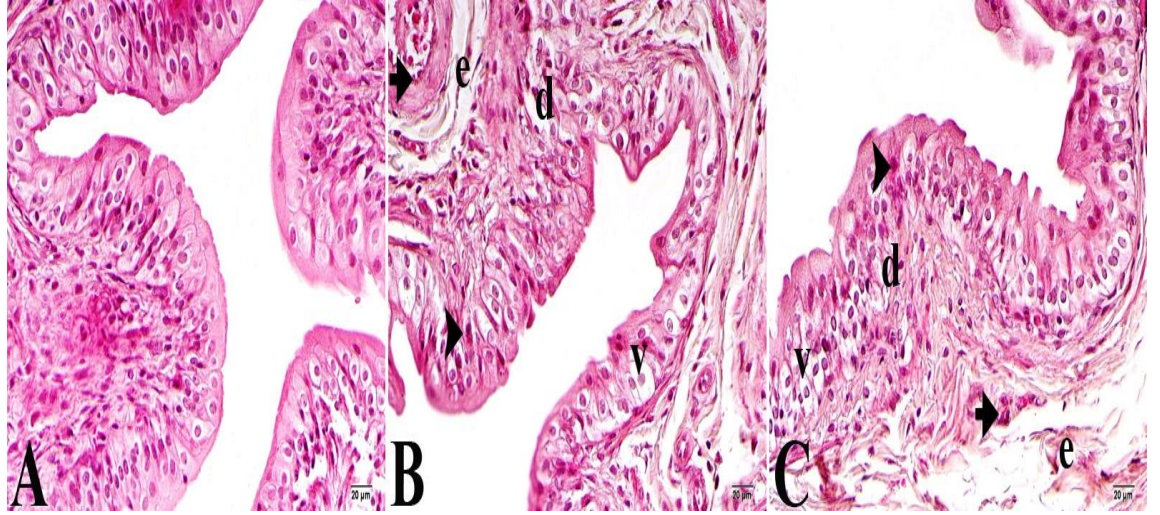
İmmunhistokimyasal boyama için 3-4 µm kalınlığında kesilmiş kesitler seçildi. 10'ar dakikadan iki kez ksilen içerisinde bekletilip alkol serilerinden (%50-100) geçirildikten sonra 30 dakika % 3 H₂O₂ solusyonunda tutuldu. PBS ile iki defa yıkandıktan sonra 700-800 Watt güçte 4 kez 5'er dakika olacak şekilde Antijen Retrieval-Sitrat buffer solusyonu içinde ısıtıldı ve sekonder bloklayıcı maddede ise 30 dakika bekletildi. Her bir preparat Anti- eNOS(kod: ab5589, Abcam plc, Cambridge CB4 0FL UK), Anti- nNOS(kod: ab3511, Abcam plc, Cambridge CB4 0FL UK) ve Anti- iNOS(kod: ab3523, Abcam plc, Cambridge CB4 0FL UK), ile boyanarak için primer antikorun değişik dilüsyonlarında [Anti- eNOS, Anti- nNOS ve Anti- iNOS'de; sırasıyla 1/100, 1/200 ve 1/200] 75 dakika bekletildi. Kromojen olarak Diaminobenzidine (DAB) solüsyonu kullanılıp zıt boyama için ise Mayers'in hematoksileni ile 3-5 dakika boyandı. Negatif kontroller olarak PBS kullanıldı. Preparatlar uygun kapatma maddeleri ile kapatılarak fotoğrafları çekildi. İmmunhistokimyasal boyamalar sonucunda dokulardaki immunopozitif reaksiyonların alana göre % değerlerine göre, çok az (negatiflik, -), hafif (1 pozitiflik,+), orta (2 pozitiflik,++), şiddetli (3 pozitiflik+++), ve çok şiddetli (4 pozitiflik,++++) olmak üzere 4 kategoriye ayrıldı. Her bir preparattaki kesitlerden ikisi randomize seçildi. Seçilen kesitlerin her birinde 15 alan belirlendi ve bir histolog ve bir patoloğ tarafından kör gredleme (blindly scoring) yöntemi ile histopatolojik ve immunhistokimyasal skorlamalar yukarıda belirtilen kategorilere uygun olarak yapılarak yüzdelik oranları belirlendi(Tablo-3,Tablo-7, Tablo-11,Tablo-15, Tablo-19, Tablo-22). Verilerin değerlendirilmesi aşamasında elde edilecek tüm bilgiler grup içi ve gruplar arası istatistiksel karşılaştırmaları Kruskal Wallis testi yapılarak sonuçlar değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Mesane Trigon Bölümünün Histopatolojik Bulguları

1. grup (DK) ve 2.grup (EK) hematoksilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadı. Musküler duvarın normal kalınlıkta olduğu, düz kas hücrelerinin ve bağ doku içerisindeki fibroblastların normal sayıda ve morfolojide olduğu, transisyonel epitelin en üst kısmındaki şemsiye hücrelerinin yassıdan poligona doğru değişen şekillerde bulunduğu, bazal laminaya doğru hücrelerin yerleşimlerinin düzensiz olmasına karşın hücre ve çekirdek sınırlarının kolaylıkla seçilebilecek morfolojide ve iki çekirdekli yapıda olduğu tespit edildi. Ayrıca erkek ve dişi kontrol grupları arasında histolojik olarak bir farklılığa rastlanmadı.

3.grup (EUYGORŞ) ve 4.grup (DUYGOV) ratlarda hematoksilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede bazal hücreler iki çekirdekli morfolojilerini yer yer kaybettiği ve hücrelerde dejenerasyonların şekillendiği görüldü. Düz kas hücrelerinde fokal dejenerasyonlar ve yaygın nekrozislere rastlandı. Hem orşiektomili hem de ovariektomili mesanedefusiform sitoplazmik vakuolizasyonlar epitel dokusunun her tarafında eşit olmamakla beraber yoğun miktarda bulunmaktaydı. İdrar kesesi duvarındaki kan damarlarının endotel hücrelerinde şişmeler meydana geldiği, özellikle kan kapillerlerin çevresindeki bazal laminanın kalınlaşmış, çok katlı şekilde ve eosinofilik boyanmış olduğu tespit edildi. Lamina propria ile kaslar arasındaki bağ dokuda yer yer ödemlere ve hafif dilatasyonlara rastlandı. Yüzeydeki şemsiye hücrelerinin lümeneye bakan apikal yüzeylerinde deformasyonlar meydana geldiği bundan dolayı hücrelerin yuvarlak veya yassı şekillerini yitirdikleri gözlemlendi(Şekil-9).



Şekil 9. Mesane dokusunun trigon bölümünün Hematoksilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemesi; *A: Erkek ve Dişi Kontrol grubu,* *B: Orşiektomili Erkek Mesane Grubu;* ok: şişmiş endotel hücresi, e: ödem, d: dejeneratif hücreler, ok başı: karyolizisli ve apoptotik hücreler, v: vakuolizasyon, *C: Ovariyektomili Dişi Mesane Grubu;* ok: şişmiş endotel hücresi, e: ödem, d: dejeneratif hücreler, ok başı: karyolizisli ve apoptotik hücreler, v: vakuolizasyon, Hematoksilen Eosin, X40

Mesane dokusunun trigon bölümünde yapılan histopatolojik incelemede epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, ödem ve dilatasyon, endotel hücre şişmesi ve karyolizis ve apoptotik hücreleri üzerinde yapılan Kruskal Wallis Testine göre Grup 1 ile Grup 4 ve Grup 2 ile 3 arasında istatistiksel anlamlı farklılıklar bulundu ($p < 0.05$, Tablo 5, Tablo 6).

Tablo 3. Mesane dokusunun trigon bölümünün histopatolojik metodlarla hematoksilen eosin boyasıyla boyanması ve ışık mikroskopik kör gredeleme (blindly scoring) yöntemi ile değerlendirilmesi

| Mesane dokusunun trigon bölümü histopatolojisi | Hayvan sayıları | Epitel hücre dejenerasyonu | Vakuolizasyon | Ödem | Endotelial hücre şişmesi | Karyolizis ve Apoptotik hücreler |
|--|-----------------|----------------------------|---------------|------|--------------------------|----------------------------------|
| | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1. GRUP | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DK | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 6 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | 7 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 8 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 |

| Mesane dokusunun trigon bölümü histopatolojisi | Hayvan sayıları | Epitel hücre dejenerasyonu | Vakuolizasyon | Ödem | Endotelial hücre şişmesi | Karyolizis ve Apoptotik hücreler |
|--|-----------------|----------------------------|---------------|------|--------------------------|----------------------------------|
| 2. GRUP EK | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | 4 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | 5 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 7 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | 8 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 3. GRUP EUYGORS | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 |
| | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| | 5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | 6 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | 7 | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 |
| | 8 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 4. GRUP DUYGOV | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 |
| | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | 5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | 6 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 |
| | 7 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | 8 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |

Tablo 4. Mesane dokusunun trigon bölümünde yapılan histopatolojik incelemesi

| Grup | Epitel hücre dejenerasyonu Median \pm Std. Dev. | Vakuolizasyon Median \pm Std. Dev. | Ödem dilatasyon Median \pm Std. Dev. | Endotel hücre şişmesi Median \pm Std. Dev. | Karyolisis ve apopitotik hücre Median \pm Std. Dev. |
|------|--|--|---|--|--|
| 1 | 0.00 \pm 0.46 | 0.00 \pm 0.52 | 0.00 \pm 0.35 | 0.00 \pm 0.00 | 0.50 \pm 0.74 |
| 2 | 0.00 \pm 0.52 | 0.00 \pm 0.46 | 0.50 \pm 0.53 | 0.50 \pm 0.53 | 1.00 \pm 0.71 |
| 3 | 2.50 \pm 1.06 | 2,50 \pm 1,06 | 3,00 \pm 0.92 | 3.00 \pm 0.64 | 3.00 \pm 0.83 |
| 4 | 3.00 \pm 0,83 | 3.00 \pm 0.71 | 3.00 \pm 1,12 | 3.00 \pm 0.99 | 3.00 \pm 0.83 |

Tablo 5. Dişi kontrol ve çalışma grubu mesane dokusunun trigon bölümünde yapılan histopatolojik incelemenin Kruskal Wallis testi ile karşılaştırılması ($p<0.05$)

| | Epitel hücre dejenerasyonu | Vakuolizasyon | Ödem ve dilatasyon | Endotel hücre şişmesi | Karyolisis ve apopitotik hücre |
|----------------|-------------------------------|---------------|-----------------------|-----------------------------|---|
| Chi-square | 23,323 | 24,312 | 23,505 | 25,395 | 22,155 |
| df | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Asymp. Sig. | ,000 | ,000 | ,000 | ,000 | ,000 |

Tablo 6. Erkek kontrol ve çalışma grubu mesane dokusunun trigon bölümünde yapılan histopatolojik incelemenin Kruskal Wallis testi ile karşılaştırılması ($p<0.05$)

| | Epitel hücre dejenerasyonu | Vakuolizasyon | Ödem ve dilatasyon | Endotel hücre şişmesi | Karyolisis ve apoptotik hücre |
|----------------|-------------------------------|---------------|-----------------------|-----------------------------|--|
| Chi-square | 9,933 | 11,350 | 10,563 | 12,019 | 10,717 |
| df | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Asymp. Sig. | ,002 | ,001 | ,001 | ,001 | ,001 |

4.2. Mesanenin Trigon Bölümünün İmmünohistokimyasal Bulguları

Mesane dokusunun trigon bölümünde anti-nNOS, anti-eNOS ve anti-iNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis Testine göre Grup 1 ile grup 4 arasında anti-nNOS ve anti-eNOS yönünden istatistiksel anlamlı farklılıklar saptanırken ($p<0,05$), anti-iNOS yönünden anlamlı farklılık bulunamadı ($p:0,336$, Tablo 9).

Mesane dokusunun trigon bölümünde anti-nNOS, anti-eNOS ve anti-iNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis Testine göre Grup 2 ile grup 3 arasında anti-Nnos ($p:0,001$) ve anti-eNOS ($p:0,003$) yönünden istatistiksel anlamlı farklılıklar saptanırken, anti-iNOS yönünden anlamlı farklılık bulunamadı ($p:0,148$, Tablo 10).

Tablo 7. Mesane dokusunun trigon bölümünün immunhistokimyasal metodlarla boyanmasıyla ve ışık mikroskopik kör gredeleme (blindly scoring) metodu ile değerlendirilmesi

| Mesane dokusunun trigon bölümü | Hayvan sayıları | Anti-nNOS antibody | Anti-eNOS antibody | Anti-iNOS antibody |
|-----------------------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1. GRUP | 1 | 0 | 2 | 0 |
| DK | 2 | 0 | 2 | 0 |

| Mesane dokusunun | | | | |
|---------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| trigon bölümü | Hayvan | Anti-nNOS | Anti-eNOS | Anti-iNOS |
| immünohistokimyasal | sayıları | antibody | antibody | antibody |
| patolojisi | | | | |
| | 3 | 0 | 2 | 0 |
| | 4 | 0 | 2 | 0 |
| | 5 | 0 | 3 | 1 |
| | 6 | 1 | 3 | 1 |
| | 7 | 1 | 3 | 2 |
| | 8 | 1 | 3 | 2 |
| | 1 | 0 | 2 | 0 |
| | 2 | 0 | 2 | 0 |
| | 3 | 0 | 2 | 0 |
| 2. GRUP | 4 | 0 | 2 | 0 |
| EK | 5 | 0 | 3 | 1 |
| | 6 | 1 | 3 | 1 |
| | 7 | 1 | 3 | 2 |
| | 8 | 1 | 3 | 2 |
| | 1 | 2 | 3 | 0 |
| | 2 | 2 | 3 | 1 |
| | 3 | 2 | 3 | 1 |
| 3. GRUP | 4 | 2 | 4 | 1 |
| EUYGORS | 5 | 3 | 4 | 2 |
| | 6 | 3 | 4 | 2 |
| | 7 | 3 | 4 | 2 |
| | 8 | 3 | 4 | 2 |
| | 1 | 2 | 3 | 0 |
| | 2 | 2 | 3 | 0 |
| | 3 | 2 | 4 | 1 |
| 4. GRUP | 4 | 2 | 4 | 1 |
| DUYGOV | 5 | 2 | 4 | 1 |
| | 6 | 2 | 4 | 2 |
| | 7 | 3 | 4 | 2 |
| | 8 | 3 | 4 | 2 |

Tablo 8. Mesane dokusunun trigon bölümünde anti-nNOS, anti-eNOS ve anti-iNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyama ile histopatolojik incelemesi

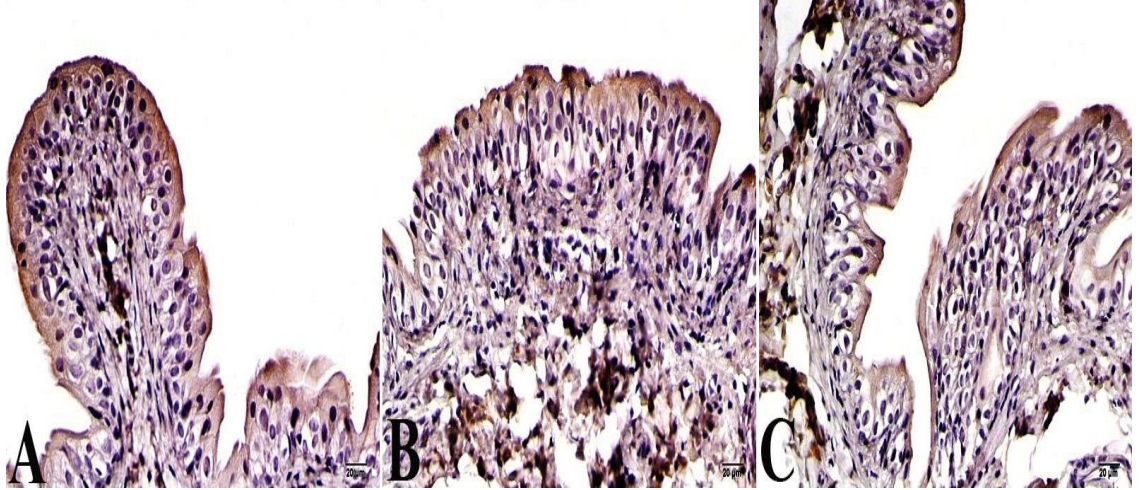
| Grup | Anti-nNOS | Anti-eNOS | Anti-iNOS |
|------|------------------------|------------------------|-------------------|
| | Median ±Std. Dev. | Median ±Std. Dev. | Median ±Std. Dev. |
| 1 | 0.00±0.52 | 2.50±0.53 | 0.50±0.89 |
| 2 | 0.00±0.52 | 2.50±0.53 | 0.50±0.89 |
| 3 | 2.50±0.53 ^b | 4.00±0.52 ^b | 1.50±0.74 |
| 4 | 2.00±0.46 ^a | 4.00±0.46 ^a | 1.00±0.83 |

Tablo 9. Dişi kontrol ve çalışma grubu mesane dokusunun trigon bölümünde anti-nNOS ve anti-eNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis Testi ile değerlendirilmesi

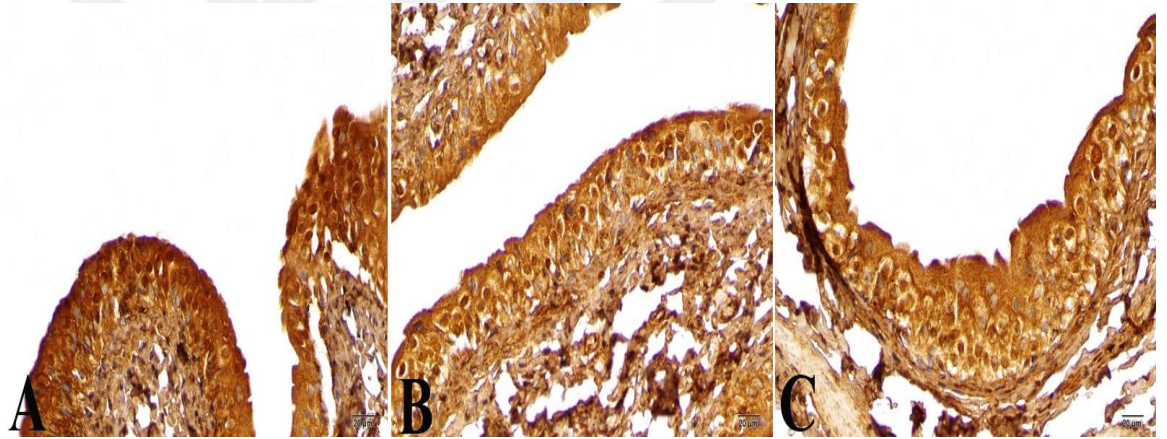
| | Anti-nNOS | Anti-eNOS | Anti-iNOS |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| Chi-square | 25.310 | 18.996 | 3.170 |
| df | 3 | 3 | 3 |
| Asymp. Sig. | 0.000 | 0.000 | 0.366 |

Tablo 10. Erkek kontrol ve çalışma grubu mesane dokusunun trigon bölümünde anti-nNOS, anti-eNOS ve anti-iNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis Testi ile değerlendirilmesi

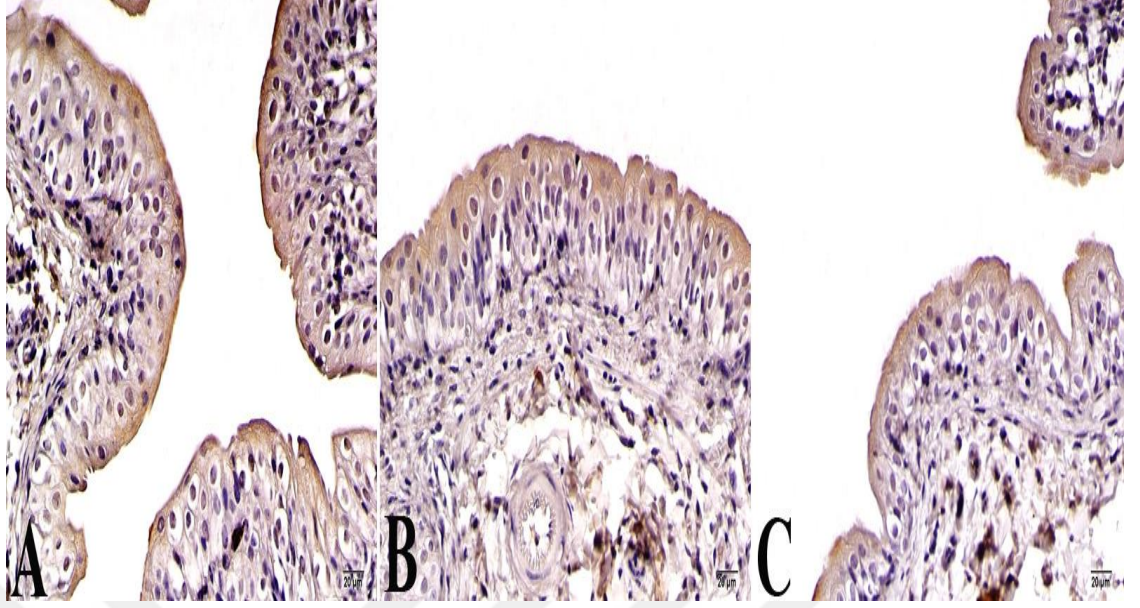
| | Anti-nNOS | Anti-eNOS | Anti-iNOS |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| Chi-square | 12.075 | 8.535 | 2.095 |
| df | 1 | 1 | 1 |
| Asymp. Sig. | 0.001 | 0.003 | 0.148 |



Şekil 10. Mesane dokusunun trigon bölümünün immunhistokimyasal metodlarla boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi; *A: Erkek ve Dişi Kontrol grubu, B: Orşiektomili Erkek Mesane Grubu, C: Ovariectomili Dişi Mesane Grubu, nNOS-antibody immunperoksidaz boyası, X40*



Şekil 11. Mesane dokusunun trigon bölümünün immunhistokimyasal metodlarla boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi; *A: Erkek ve Dişi Kontrol grubu, B: Orşiektomili Erkek Mesane Grubu, C: Ovariectomili Dişi Mesane Grubu, eNOS-antibody immunperoksidaz boyası, X40*



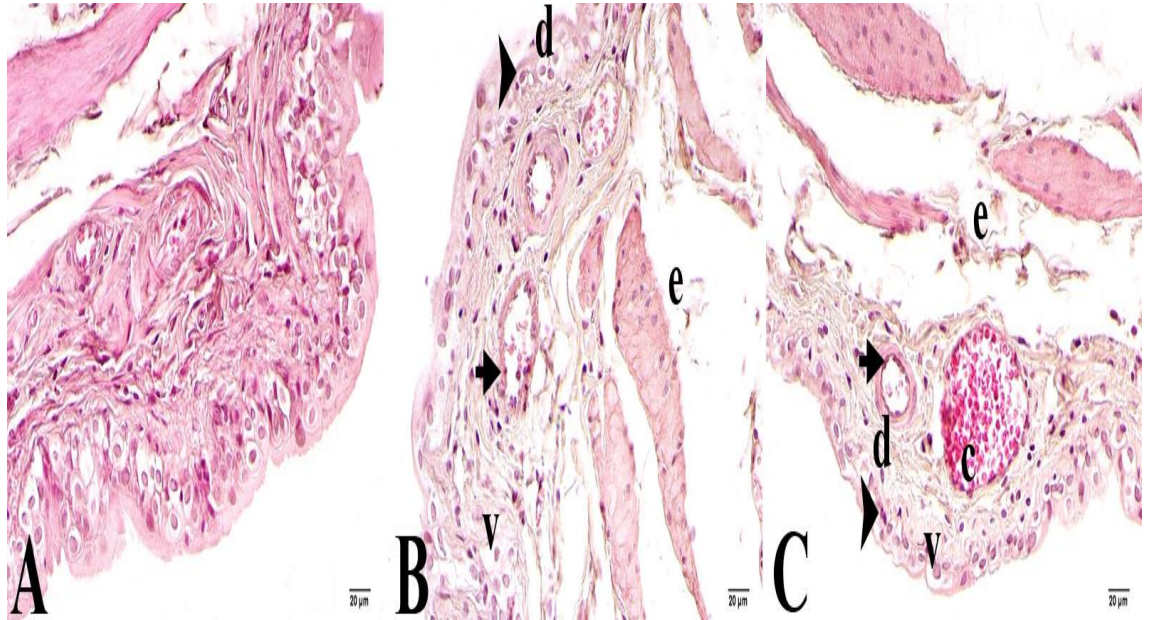
Şekil 12. Mesane dokusunun trigon bölümünün immunhistokimyasal metodlarla boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi; *A: Erkek ve Dişi Kontrol grubu, B: Orşiektomili Erkek Mesane Grubu, C: Ovariectomili Dişi Mesane Grubu, iNOS-antibody immunperoksidaz boyası, X40*

4.3. Mesanenin Gövde Bölümünün Histopatolojik Bulguları

1. grup(DK) ve 2. grup(EK) hematoxilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadı. Musküler duvarın normal kalınlıkta olmasına karşın trigon kısmından daha ince olduğu, düz kas hücrelerinin ve bağ doku içerisindeki fibroblastların sayısal yoğunluğunun normal oranda bulunduğu ve hücrelerin morfolojik görünümünde herhangi bir histopatolojik anormallik gözlenmedi. Transisyonel epitelin en üst kısmındaki şemsiye hücrelerinin yoğun olarak yassı şeklide gözlenmesine karşın poligonal şekilli hücrelerde epitelyum içinde bulunduğu belirlendi. Lamina propriyaya yakın alanlarda bazı hücrelerde vakuolizasyonlar olmasına karşın bazal lamina üstündeki hücrelerin yerleşimlerinin düzensiz olduğu yer yer bu alanlarda apoptotik hücrelere rastlandığı görüldü. Normal yerleşimli hücrelerin çekirdek sınırlarının ve membran yapılarının kolaylıkla seçilebilecek morfolojide bulunduğu, iki çekirdekli yapıda hücre yoğunluğunun korunduğu tespit edildi. Ayrıca erkek ve dişi kontrol grupları arasında histolojik olarak önemli bir farklılığa rastlanmadı.

3. grup (EUYGORŞ) ve 4.grup (DUYGOV) mesanenin gövde bölümünde hematoxilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopisinde tunika mükülarisin

kontrol gruplarına nazaran çok yoğun ödemli ve dilatasyonlu olduğu gözlemlendi. Bazal hücrelerin iki çekirdekli morfolojik yapılarını kaybettiği vebazale yakın alanlardaki hücrelerde dejenerasyonların daha yoğun şekillendiği görüldü. Düz kas hücrelerinde fokal dejenerasyonlar ve yaygın nekrozislere rastlanırken myositlerin şiştiği yoğun bazofilik çekirdeklerinin ve bazı alanlarda vakuoler yapıların da olduğu gözlemlendi. Hem orşiektomili, hem de ovariektomili mesanede sitoplazmik vakuolizasyonların fusiform özellik kazandığı, mesanenin trigonun bölgesine benzer şekilde epitel dokusunun her tarafında yoğun miktarda buldukları tespit edildi. İdrar kesesi duvarındaki kan damarlarının dilatasyona uğradığı ve yer yer konjesyonlarla beraber endotel hücrelerinde şişmeler meydana geldiği, özellikle kan kapillerlerin çevresindeki bazal laminanın kalınlaşmış, çok katlı şekilde ve eosinofilik boyanmış olduğu, çevrelerinde az da olsa lenfosit infiltrasyonlarının olduğu tespit edildi. Lamina propria ile kaslar arasındaki bağ dokuda yer yer ödemlere rastlandı. Ödem varlığı dişi gruplarda daha fazla olarak belirlendi. Yüzeydeki şemsiye hücrelerinin lümen bakan apikal yüzeylerinde deformasyonlar meydana geldiği fakat bu deformatik yapı hücrenin poligonal şeklinin yassıya değişmesiyle azaldığı görüldü (Şekil-13).



Şekil 13. Mesane dokusunun gövde bölümünün hematoksilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemesi; A: Erkek ve Dişi Kontrol grubu, B: Orşiektomili Erkek Mesane Grubu; ok: şişmiş endotel hücresi, e: ödem, d: dejeneratif hücreler, ok başı: karyolizisli ve apoptotik hücreler, v: vakuolizasyon, C: Ovariektomili Dişi Mesane Grubu; ok: şişmiş endotel hücresi, e: ödem, d:

dejeneratif hücreler, ok başı: karyolizisli ve apoptotik hücreler, v:vakuolizasyon, Hematoksilen Eosin, X40

Mesane dokusunun gövde bölümünde yapılan histopatolojik incelemede epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, ödem ve dilatasyon, endotel hücre şişmesi ve karyolizis ve apoptotik hücreleri üzerinde yapılan Kruskal Wallis Testine göre Grup 1 ile Grup 4 ve Grup 2 ile 3 arasında istatistiksel anlamlı farklılıklar bulundu ($p<0.05$, Tablo-13, Tablo-14).

Tablo 11. Mesane dokusunun gövde bölümünün histopatolojik metodlarla hematoksilen eosin boyasıyla boyanması ve ışık mikroskopik kör gredeleme (blindly scoring) yöntemi ile değerlendirilmesi

| Mesane dokusunun gövde bölümü histopatolojisi | Hayvan sayıları | Epitel hücre dejenerasyonu | Vakuolizasyon | Ödem | Endotelial hücre şişmesi | Karyolizis ve apoptotik hücreler |
|---|-----------------|----------------------------|---------------|------|--------------------------|----------------------------------|
| 1. GRUP DK | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 6 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 7 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | 8 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 2. GRUP EK | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | 4 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| | 5 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | 6 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| | 7 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 |
| | 8 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| 3. GRUP EUYGORŞ | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| | 5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |

| Mesane dokusunun gövde bölümü histopatolojisi | Hayvan sayıları | Epitel hücre dejenerasyonu | Vakuolizasyon | Ödem | Endotelial hücre şişmesi | Karyolizis ve apoptotik hücreler |
|---|-----------------|----------------------------|---------------|------|--------------------------|----------------------------------|
| | 6 | 4 | 3 | 3 | 3 | 4 |
| | 7 | 2 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | 8 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 |
| 4. GRUP | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| DUYGÖV | 5 | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 |
| | 6 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 |
| | 7 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | 8 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |

Tablo 12. Mesane dokusunun gövde bölümünde yapılan histopatolojik incelenmesi

| Grup | Epitel hücre dejenerasyonu Median± Std. Dev. | Vakuolizasyon Median± Std. Dev. | Ödem dilatasyon Median± Std. Dev. | Endotel hücre şişmesi Median± Std. Dev. | Karyolizis ve apoptotik hücre Median± Std. Dev. |
|------|--|---------------------------------------|---|---|---|
| 1 | 0.00±0.52 | 0.00±0.52 | 0.00±0.46 | 0.00±0.35 | 0.00±0.52 |
| 2 | 0.00±0.75 | 0.50±0.74 | 1.00±0.71 | 0.50±0.89 | 1.00±0.83 |
| 3 | 2.00±1.19 ^b | 2.50±1,19 ^b | 3.00±1.03 ^b | 3.00±0.99 ^b | 3.00±0.92 ^b |
| 4 | 3.00±0.83 ^a | 3.50±0.74 ^a | 3.00±1,12 ^a | 3.00±0.99 ^a | 3.00±0.99 ^a |

Tablo 13.Dişi kontrol ve çalışma grubumesane dokusunun gövde bölümünde yapılan histopatolojik incelemeninKruskal Wallis testi ile karşılaştırılması ($p<0.05$)

| | Epitel hücre dejenerasyonu | Vakuolizasyon | Ödem ve dilatasyon | Endotel hücre şişmesi | Karyolisis ve apoptotik hücre |
|-------------|----------------------------|---------------|--------------------|-----------------------|-------------------------------|
| Chi-square | 21.873 | 22.133 | 21.567 | 22.294 | 21.608 |
| df | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Asymp. Sig. | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

Tablo 14. Erkek kontrol ve çalışma grubu mesane dokusunun gövde bölümünde yapılan histopatolojik incelemenin Kruskal Wallis testi ile karşılaştırılması ($p<0.05$)

| | Epitel hücre dejenerasyonu | Vakuolizasyon | Ödem ve dilatasyon | Endotel hücre şişmesi | Karyolisis ve apoptotik hücre |
|-------------|----------------------------|---------------|--------------------|-----------------------|-------------------------------|
| Chi-square | 8.242 | 7. 873 | 9.088 | 9.032 | 9.749 |
| df | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Asymp. Sig. | 0.004 | 0.005 | 0.003 | 0.003 | 0.002 |

4.4. Mesanenin Gövde Bölümünün İmmünohistokimyasal Bulguları

Mesane dokusunun gövde bölümünde anti-nNOS, anti-eNOS ve anti-iNOS ile yapılan immünohistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis Testine göre Grup 1 ile grup 4 arasında anti-nNOS ve anti-eNOS yönünden istatistiksel anlamlı farklılıklar saptanırken($p<0,05$), anti-iNOS yönünden anlamlı farklılık bulunamadı ($p:0,935$, Tablo-17).

Mesane dokusunun gövde bölümünde anti-nNOS, anti-eNOS ve anti-iNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis Testine göre Grup 2 ile grup 3 arasında anti-nNOS(p:0,001) ve anti-eNOS(p:0,007) yönünden istatistiksel anlamlı farklılıklar saptanırken, anti-iNOS yönünden anlamlı farklılık bulunamadı ($p:0,651$, Tablo-18).

Tablo 15. Mesane dokusunun gövde bölümünün immunhistokimyasal metodlarla boyanmasıyla ve ışık mikroskopik kör gredeleme (blindly scoring) metodu ile değerlendirilmesi

| Mesane dokusunun gövde bölümü immun-histokimyasal patolojisi | Hayvan sayıları | Anti-nNOS antibody | Anti-eNOS antibody | Anti-iNOS antibody |
|--|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 1. GRUP DK | 1 | 0 | 2 | 0 |
| | 2 | 0 | 2 | 0 |
| | 3 | 0 | 2 | 0 |
| | 4 | 0 | 2 | 0 |
| | 5 | 0 | 2 | 1 |
| | 6 | 1 | 3 | 1 |
| | 7 | 1 | 3 | 2 |
| | 8 | 2 | 3 | 2 |
| 2. GRUP EK | 1 | 0 | 2 | 0 |
| | 2 | 0 | 2 | 0 |
| | 3 | 0 | 2 | 0 |
| | 4 | 0 | 2 | 0 |
| | 5 | 0 | 2 | 1 |
| | 6 | 1 | 3 | 1 |
| | 7 | 1 | 3 | 2 |
| | 8 | 2 | 3 | 2 |
| 3. GRUP EUYGORŞ | 1 | 2 | 3 | 0 |
| | 2 | 2 | 3 | 0 |
| | 3 | 2 | 3 | 1 |
| | 4 | 2 | 3 | 1 |
| | 5 | 3 | 3 | 1 |
| | 6 | 3 | 3 | 1 |
| | 7 | 3 | 4 | 1 |

| Mesane dokusunun gövde bölümü immun-histokimyasal patolojisi | Hayvan sayıları | Anti-nNOS antibody | Anti-eNOS antibody | Anti-iNOS antibody |
|--|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 8 | 3 | 4 | 2 |
| | 1 | 2 | 3 | 0 |
| | 2 | 2 | 3 | 0 |
| | 3 | 2 | 3 | 1 |
| 4. GRUP | 4 | 2 | 3 | 1 |
| DUYGOV | 5 | 2 | 3 | 1 |
| | 6 | 2 | 3 | 1 |
| | 7 | 3 | 4 | 1 |
| | 8 | 3 | 4 | 2 |

Tablo 16. Mesane dokusunun gövde bölümünde anti-nNOS, anti-eNOS ve anti-iNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesi

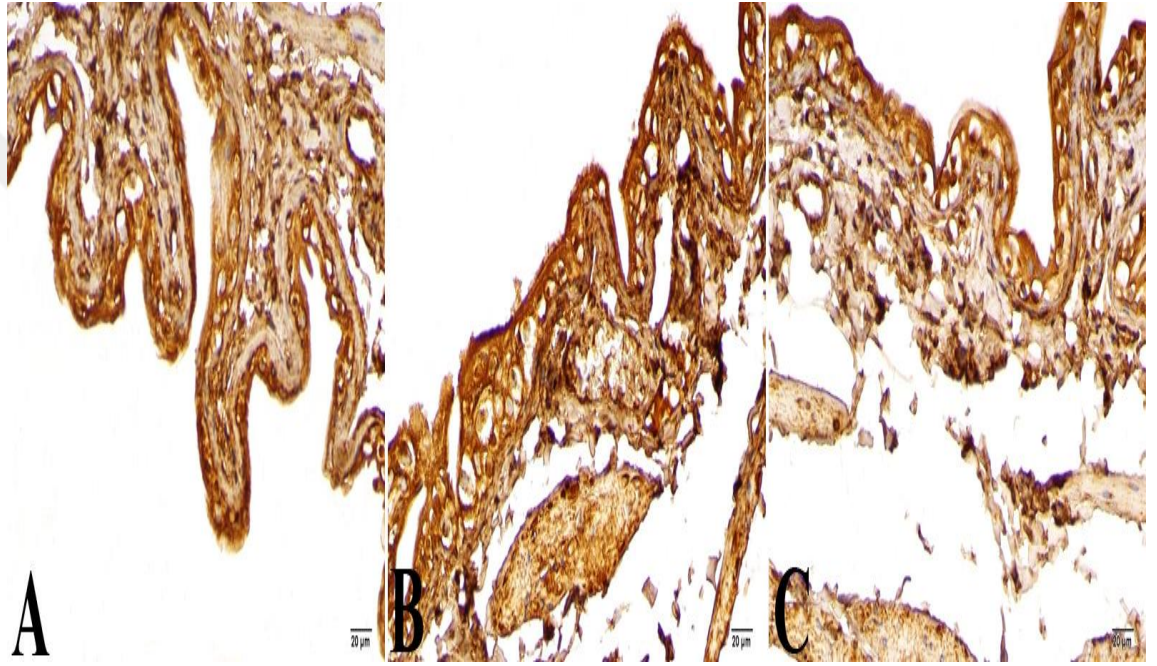
| Grup | Anti-nNOS Median \pm Std. Dev. | Anti-eNOS Median \pm Std. Dev. | Anti-iNOS Median \pm Std. Dev. |
|------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 1 | 0.00 \pm 0.75 | 2.00 \pm 0.52 | 0.50 \pm 0.89 |
| 2 | 0.00 \pm 0.75 | 2.00 \pm 0.52 | 0.50 \pm 0.88 |
| 3 | 2.50 \pm 0.53 ^b | 3.00 \pm 0.46 ^b | 1.00 \pm 0.64 |
| 4 | 2.00 \pm 0.46 ^a | 3.00 \pm 0.46 ^a | 1.00 \pm 0.64 |

Tablo 17. Dişi kontrol ve çalışma grubu mesane dokusunun trigon bölümünde anti-nNOS, anti-eNOS ve anti-iNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis Testi ile değerlendirilmesi.

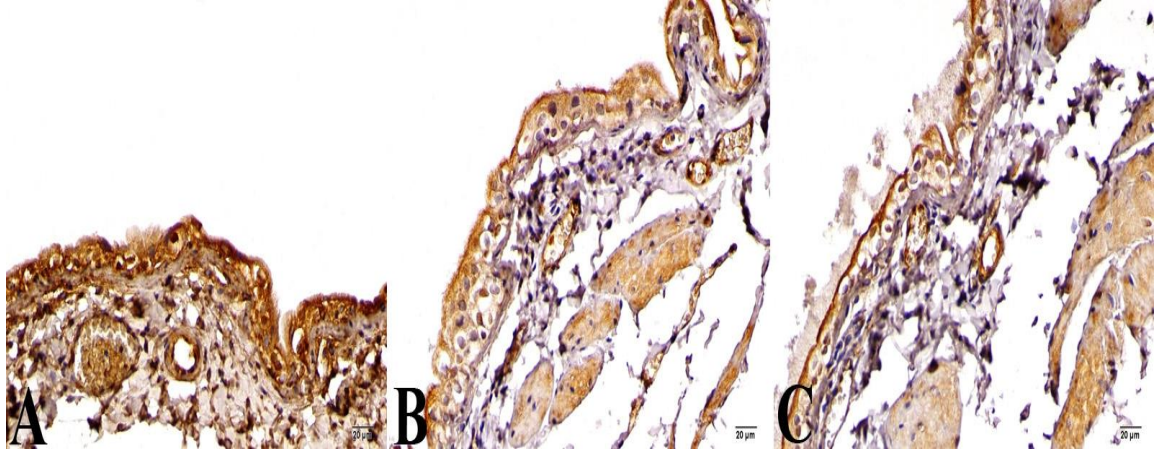
| | Anti-nNOS | Anti-eNOS | Anti-iNOS |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| Chi-square | 22.009 | 15.212 | 0.424 |
| df | 3 | 3 | 3 |
| Asymp. Sig. | 0.000 | 0.002 | 0.935 |

Tablo 18. Erkek kontrol ve çalışma grubu mesane dokusunun trigon bölümünde anti-nNOS, anti-eNOS ve anti-iNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis Testi ile değerlendirilmesi

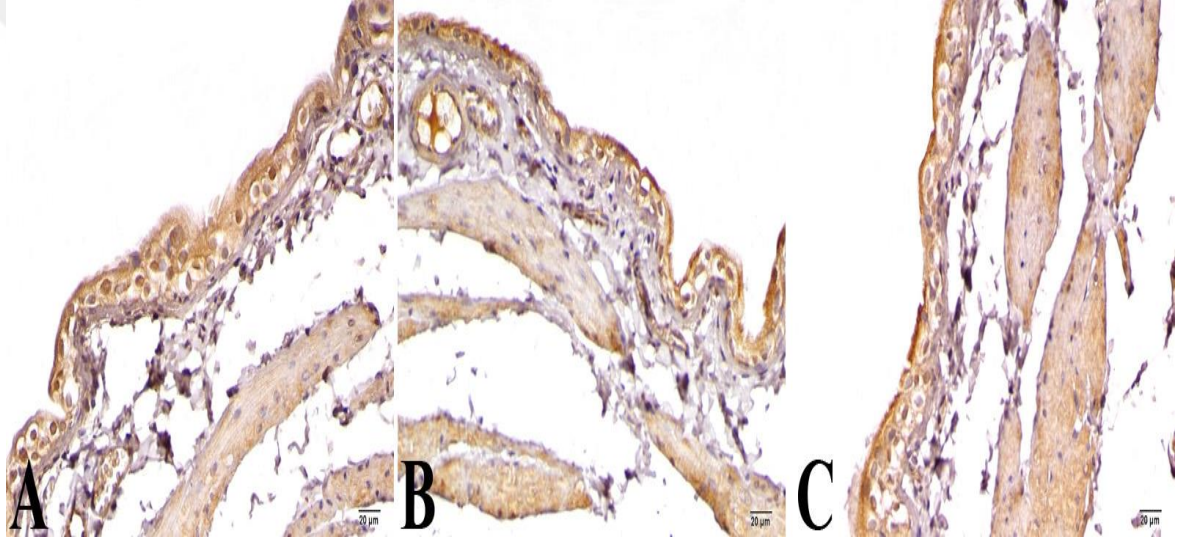
| | Anti-nNOS | Anti-eNOS | Anti-iNOS |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| Chi-square | 10.731 | 7.361 | 0.205 |
| df | 1 | 1 | 1 |
| Asymp. Sig. | 0.001 | 0.007 | 0.651 |



Şekil 14. Mesane dokusunun gövde bölümünün immunhistokimyasal metodlarla boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi; *A: Erkek ve Dişi Kontrol grubu, B: Orşiektomili Erkek Mesane Grubu, C: Ovariektomili Dişi Mesane Grubu, eNOS-antibody immunperoksidaz boyası, X40*



Şekil 15. Mesane dokusunungövde bölümünün immunhistokimyasal metodlarla boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi; *A: Erkek ve Dişi Kontrol grubu, B: Orşiektomili Erkek Mesane Grubu, C: Ovariectomili Dişi Mesane Grubu, nNOS-antibody immunperoksidaz boyası, X40*



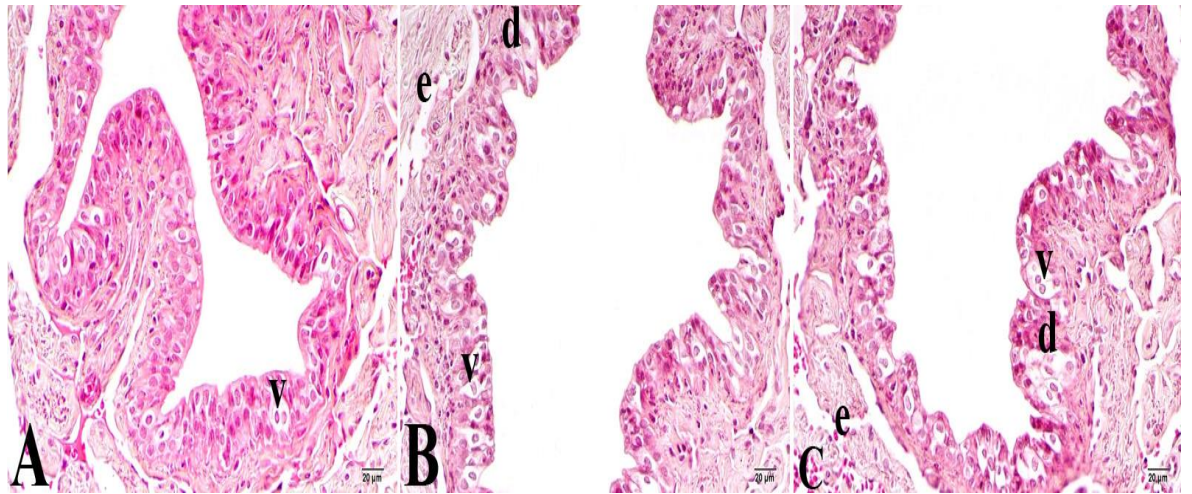
Şekil 16. Mesane dokusunun gövde bölümünün immunhistokimyasal metodlarla boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi; *A: Erkek ve Dişi Kontrol grubu, B: Orşiektomili Erkek Mesane Grubu, C: Ovariectomili Dişi Mesane Grubu, iNOS-antibody immunperoksidaz boyası, X40*

4.5. Penil Üretranın Proksimal Bölümünün Histopatolojik Bulguları

2. grubun (EK) hematoxilen eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemede penil üretranın dokusunun proksimal bölümünde herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadı. Kontrol grubu penil üretralarının proksimal bölümlerinde stratifiyekolumnar epitelyum ve içinde bol miktarda elastik iplikler ve kan damarı bulunan lamina propriya yapısı ile normal histolojik morfolojiye sahip olduğu gözlemlendi. Lamina epitelyalisini oluşturan dört çeşit hücre (bazal,

intermediat, superfisyal and nöroendokrin) normal şekillerde görülmekteydi. Hücrelerin sınırları belirgin ve çekirdekler bazısında ökromatik bazılarında ise heterokromatik olarak tesbit edildi. Bazal hücreler çoğunlukla kübik olmakla beraber bazı prepratlar da fusiform yapısında, bazılarında ise prizmatik olarak gözlemlendi. İntermediat hücreler daha çok kübik şekilli olup çekirdekleri ortada yerleşimli ve açık ökromatik olarak gözükmekteydi. Superfisyal kübik epitel olmakla beraber çekirdekleri sitoplazmanın içini tamamıyla dolduracak kadar genişlemiş olarak belirlendi. Nöroendokrin hücreler ışık mikroskopik boyamalar ile gözlenemedi.

3. grubun (EUYGORŞ) penil üretrasının proksimal bölümünün hematoksilin eosin boyama ile yapılan boyama sonrası ışık mikroskopik incelemede stratifiye kolumnar epitelyum tabakasının kontrol grubuna nazaran incelendiği gözlemlendi. Lamina propriya yapısı içinde bol miktarda elastik iplikler gözlenirken yer yer dilatasyonların şekillendiği ve kan damarı çevresinde ise dilatasyonların daha da arttığı görüldü. Özellikle intermediat hücrelerde yoğun olarak sitoplazmik vakuolizasyonlar şekillendiği tesbit edildi. Süperfisyal hücrelerde karyolizise ve apoptosize bağlı dejenerasyonlar şekillenirken bazen yoğun eosinofilik oldukları belirlendi. Lamina propriyadan tunika muskularis tabakaları arasında yer yer ödemlere rastlanırken lenfosit inflamasyonuna ise rastlanmadı. Kılcal damarlarda konjesyonlara rastlanırken orta büyüklükteki damar endotellerinin şiştiği ve deformasyona bağlı dökülmeler oluştuğu gözlemlendi (Şekil-17).



Şekil 17.Penil üretranın proksimal bölümünün hematoksilin eosin boyama ile yapılan ışık mikroskopik incelemesi; A: *Orşiektomisiz Erkek Kontrol grubu*, B-C:

Orşiektomili Erkek Çalışma Grubu; e: ödem, d: dejeneratif hücreler, v: vakuolizasyon, Hematoksilen Eosin, X40

Penil üretra dokusunun proksimal bölümünün yapılan histopatolojik incelemede epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, ödem ve dilatasyon, endotel hücre şişmesi ve karyolizis ve apoptotik hücreleri üzerinde yapılan Kruskal Wallis testine göre grup 2 ve 3 arasında istatistiksel anlamlı farklılıklar bulundu ($p<0,05$, Tablo-21).

Tablo 19. Penil üretranın proksimal bölümünün histopatolojik metodlarla hematoksilen eosin boyasıyla boyanması ve ışık mikroskopik kör gredleme (blindly scoring) yöntemi ile değerlendirilmesi

| Penil üretranın proksimal bölümünün histopatolojisi | Hayvan sayıları | Epitel hücre dejenerasyonu | Vakuolizasyon | Ödem | Endotel hücre şişmesi | Karyolizis ve Apoptotik hücre |
|---|-----------------|----------------------------|---------------|------|-----------------------|-------------------------------|
| 2. GRUP EK | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 4 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| | 5 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| | 6 | 0 | 1 | 0 | 2 | 2 |
| | 7 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 |
| | 8 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| 3. GRUP EUYGORŞ | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | 5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | 6 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | 7 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 |
| | 8 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |

Tablo 20. Penil üretranın proksimal bölümünün histopatolojik incelenmesi.

| Grup | Epitel hücre dejenerasyonu Median± Std. Dev. | Vakuolizasyon Median± Std. Dev. | Ödem ve dilatasyon Median± Std. Dev. | Endotel hücre şişmesi Median± Std. Dev. | Karyolisis ve apopitotik hücre Median± Std. Dev. |
|------|---|------------------------------------|---|--|---|
| 2 | 0.50±0.53 | 1.00±0.64 | 1.00±0.83 | 1.00±0.83 | 1.00±0.75 |
| 3 | 2.50±1.19 ^a | 2.50±1.06 ^a | 2.50±0.92 ^a | 3.00±1.03 ^a | 2.50±1.06 ^a |

Tablo 21. Erkek kontrol ve çalışma grubu penil üretranın proksimal bölümünde yapılan histopatolojik incelemenin Kruskal Wallis testi ile karşılaştırılması ($p<0.05$)

| | Epitel hücre dejenerasyonu | Vakuolizasyon | Ödem ve dilatasyon | Endotel hücre şişmesi | Karyolisis ve apopitotik hücre |
|-------------|----------------------------|---------------|--------------------|-----------------------|--------------------------------|
| Chi-square | 9.304 | 7.024 | 7.596 | 8.090 | 7.359 |
| df | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Asymp. Sig. | 0.002 | 0.008 | 0.006 | 0.004 | 0.007 |

4.6. Penil Üretranın Proksimal Bölümünün İmmunhistokimyasal Bulguları

Penil üretra dokusunun proksimal bölümünde anti-nNOS, anti-eNOS ve anti-iNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis Testine göre grup 2 ile grup 3 arasında anti-nNOS($p:0,006$) ve anti-eNOS($p:0,009$) yönünden istatistiksel anlamlı farklılıklar saptanırken, anti-iNOS yönünden anlamlı farklılık bulunamadı ($p:0,855$, Tablo-24).

Tablo 22:Penil üretra proksimal bölümünün immunhistokimyasal metodlarla boyanmasıyla ve ışık mikroskopik kör gredeleme (blindly scoring) ile değerlendirilmesi

| Penil üretra proksimal bölümünün immun-histokimyasal patolojisi | Hayvan sayıları | Anti-nNOS antibody | Anti-eNOS antibody | Anti-iNOS antibody |
|---|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 2. GRUP | 1 | 1 | 1 | 0 |

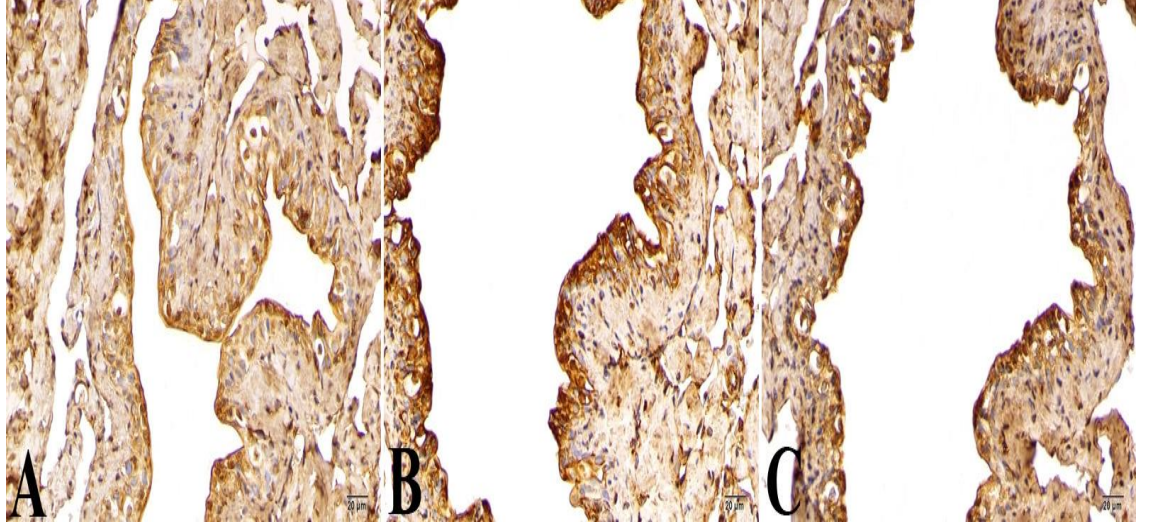
| Penil üretra proksimal bölümünün immun-histokimyasal patolojisi | Hayvan sayıları | Anti-nNOS antibody | Anti-eNOS antibody | Anti-iNOS antibody |
|---|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| EK | 2 | 1 | 2 | 0 |
| | 3 | 1 | 2 | 0 |
| | 4 | 1 | 3 | 0 |
| | 5 | 2 | 3 | 0 |
| | 6 | 2 | 3 | 1 |
| | 7 | 2 | 3 | 1 |
| | 8 | 2 | 4 | 2 |
| | 3.GRUP EUYGORŞ | 1 | 2 | 3 |
| 2 | | 2 | 3 | 0 |
| 3 | | 2 | 4 | 0 |
| 4 | | 2 | 4 | 0 |
| 5 | | 3 | 4 | 0 |
| 6 | | 3 | 4 | 1 |
| 7 | | 3 | 4 | 1 |
| 8 | | 3 | 4 | 2 |

Tablo 23. Penil üretra proksimal bölümünün anti-nNOS, anti-iNOS ve anti-eNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis testine değerlendirilmesi.

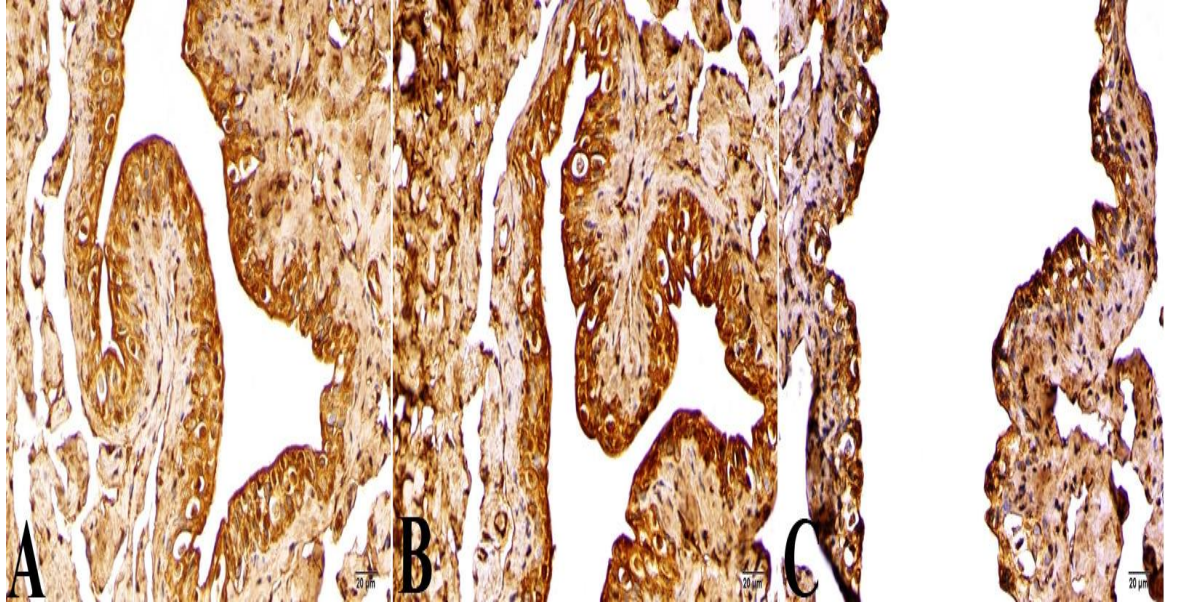
| Grup | Anti-nNOS Median \pm Std. Dev. | Anti-eNOS Median \pm Std. Dev. | Anti-iNOS Median \pm Std. Dev. |
|------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 2 | 1.50 \pm 0.53 | 3.00 \pm 0.92 | 0.00 \pm 0.75 |
| 3 | 2,50 \pm 0.53 | 4.00 \pm 0.46 | 0.00 \pm 0.92 |

Tablo 24. Erkek kontrol ve çalışma grubu penil üretra proksimal bölümünün anti-nNOS, anti-iNOS ve anti-eNOS ile yapılan immunhistokimyasal boyamanın histopatolojik incelemesinde Kruskal Wallis Testi ile değerlendirilmesi.

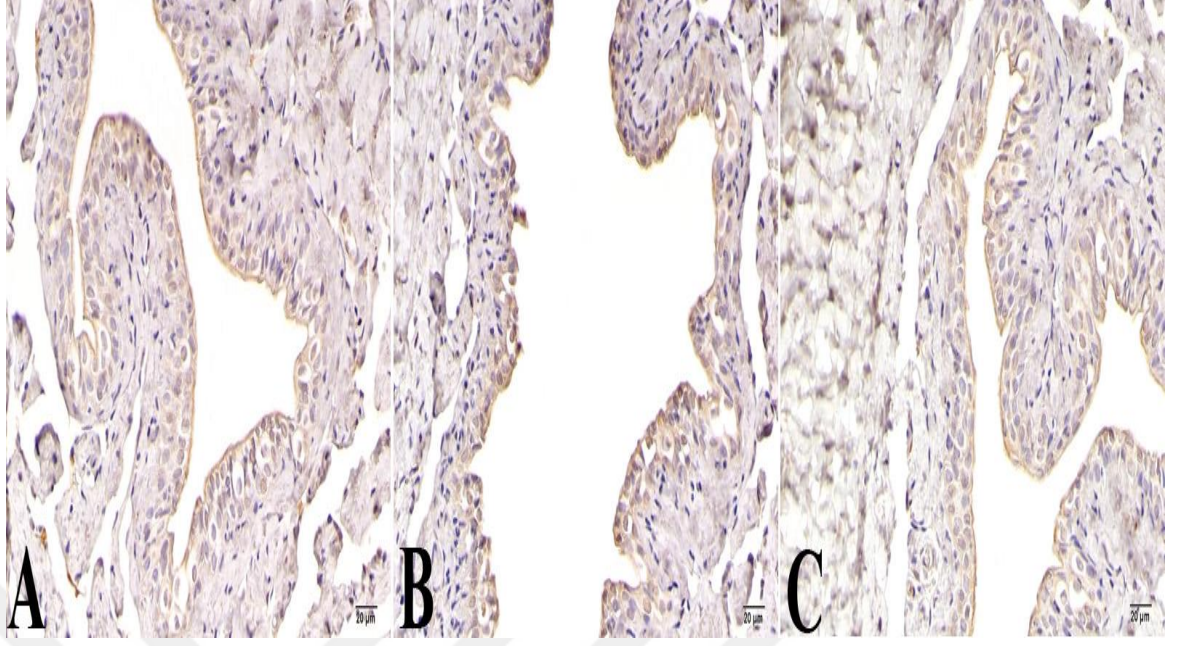
| | Anti nNOS | Anti eNOS | Anti iNOS |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| Chi-square | 7.500 | 6.747 | 0.033 |
| df | 1 | 1 | 1 |
| Asymp. Sig. | 0.006 | 0.009 | 0.855 |



Şekil 18.Penil üretraproksimal bölümünün immunhistokimyasal metodlarla boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi; *A: Orşiektomisiz Erkek Kontrol grubu, B-C: Orşiektomili Erkek Çalışma Grubu, nNOS-antibody immunperoksidaz boyası, X40*



Şekil 19.Penil üretranın proksimal bölümünün immunhistokimyasal metodlarla boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi; *A: Orşiektomisiz Erkek Kontrol grubu, B-C: Orşiektomili Erkek Çalışma Grubu, eNOS-antibody immunperoksidaz boyası, X40*



Şekil 20. Penil üretranın proksimal bölümünün immunhistokimyasal metodlarla boyanmasıyla ışık mikroskopik incelemesi; *A: Orşiektomisiz Erkek Kontrol grubu, B-C: Orşiektomili Erkek Çalışma Grubu, iNOS-antibody immunperoksidaz boyası, X40*

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada mesane dokusunun gövde ve trigon bölümünde kontrol ve orşiektomize rat grupları arasında anti-nNOS ve anti-eNOS aktivitesi yönünden istatistiksel anlamlı farklılıklar saptanırken, anti-iNOS yönünden anlamlı farklılık bulunamadı.

Akingba ve Burnett immünohistokimyasal olarak rat penil vasküler ve sinüsoidal endotelinde eNOS belirlemişlerdir. Western blot analizi ile rat penil şaft ında nNOS ve eNOS mevcudiyetini göstermiş; nNOS için protein ekspresyonu öncelikle nöronal dokuda lokalize, eNOS kavernoal düz kas ve endotele lokalize bulunmuştur (115). NOS izoform ekspresyonlarının birçok kimyasal ve fiziksel stimülasyonla değiştiği belirtilmiştir (116). Orşiektomiye takiben ve androjen replasmanı ile nNOS ve eNOS içeriklerinde değişiklik gözlenmiştir (117, 118).

Bazı çalışmalar androjen ve mesane fonksiyonu arasındaki ilişkiyi araştırmış ve androjenler ile kan damarları arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Düşük testesteron düzeyine bağlı olarak kan damarı duvarlarında belirgin artmış kalsifikasyon ile birlikte vasküler endotelial büyüme faktörünün baskılandığı gösterilmiştir (113). Ayrıca kastrasyon sonrası mesanedeki histolojik ve fonksiyonel değişiklikler ve mesane kan akımı ratlarda araştırılmış ve kastre ratlarda kan akımında ve mesane fonksiyonunda anlamlı değişiklikler saptanmamasına karşın, kan damarlarında histolojik değişiklikler olduğu görülmüştür (114). Bu araştırmada penil üretra dokusunun proksimal bölümü, mesane dokusunun gövde ve trigon bölümünde yapılan histopatolojik incelemede epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, ödem ve dilatasyon, endotel hücre şişmesi ve karyolizis ve apoptotik hücreleri üzerinde yapılan Kruskal Wallis Testine göre kontrol ve orşiektomize rat grupları arasında istatistiksel anlamlı farklılıklar bulundu.

NO / NOS yolağı vajinal düz kas kontraktilesi ve vajinal kan akımına etki ettiği bilinmektedir (70,103). NOS enzimini östrojen ve androjenlerle düzenlenmektedir. Testosteron tedavisinin proksimal vajinada total NOS aktivitesini artırdığı Traish ve arkadaşlarının araştırmasında rapor edilmiştir. Fakat testosteron tedavisi distal vajinadaki total NOS aktivitesini değiştirmemektedir.

DHT tedavisi ile hem proksimal hem de distal vajinadaki NOS aktivitesi artmıştır(119-122).

NO için fizyolojik bir rol kurmak için in vivo ürodinamik girişim yapılmıştır. Ratlarda, NOS inhibitörleri veya metilen mavisinin sistemik infüzyonu, mesane hiperaktivitesi ve azalmış mesane kapasitesi ortaya çıkarmıştır (103, 104) Bir fetal kuzu modelinde benzer manipülasyonlar yapıldığında inhibe edilemeyen mesana kasılmalarının eşlik ettiği artmış mesane kapasitesi ve tam boşalmayan mesane tespit edilmiştir (105). Kuzu modeli ve diğer çalışmalarda mesane kapasitesi arasındaki farklar fetal kuzularda yetersiz üretral sfinkter ile bağdaştırılmış (105). Nitekim önceki veriler NO detrusor kasılma cevaplarını etkileyen bir inhibitör faktör olarak hizmet edebilmesine karşın, bu analiz NO'nin üretrada daha baskın rol oynadığını işaret etmektedir.

Çalışmanın sınırlılığı açısından rat gruplarına ürodinamik incelemeler yapılabilir ve bu sonuçların NO ile arasındaki ilişkinin ortaya konulması sonraki çalışmalara daha fazla yol gösterici olabileceği öngörülebilir.

Bu çalışmada mesane gövde ve trigon bölgesinde kontrol ve ovariektomize grup arasında anti-nNOS ve anti-eNOS aktivitesi yönünden istatistiksel anlamlı farklılıklar saptanırken, anti-iNOS yönünden anlamlı farklılık bulunamadı.

Traish ve arkadaşları yaptıkları hayvan araştırmasında total NOS aktivitesinin proksimal vajinada, distal vajinadan daha fazla olduğunu bildirilmiştir. Ovariektominin proksimal vajinada total NOS aktivitesini artırdığı belirtilmektedir. Bunun nedeni ise hormonların bu enzimler üzerindeki kontrolünün anatomik bölgelere bağlı olarak değişebileceği düşüncesi ile açıklanmaktadır (123).

Mesane ve üretradaki NOS aktivitesinde östrojen etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada ovariektomize ratlarda eNOS ve nNOS aktivitesinin anlamlı arttığı gösterilmiştir. Yine bu çalışmada östrojen ile desteklenen ovariektomize ratlarda NOS aktivitesinin azaldığı görülmüştür (112).

Hem eNOS hem de nNOS östrojen kontrolü altındadır ve overleri çıkarılan hayvanlarda her iki enziminde azaldığı, vajinal apoptoz, vajinal duvar kalınlığında azalma ve intramural kollajen birikimi, vasküler duvar kalınlaşması olduğu bilinmektedir (124).

Yapılan çalışmada penil üretra dokusunun proksimal bölümünde kontrol ve ovariektomize rat grupları arasında anti-nNOS ve anti-eNOS aktivitesi yönünden

istatistiksel anlamlı farklılıklar saptanırken, anti-iNOS yönünden anlamlı farklılık bulunamadı.

Dişi rat grubunda üretra kısa olması nedeniyle net olarak eksize edilememiş ve dolayısıyla çalışmaya yeterli doku sağlanamadığından histolojik ve immünohistokimyasal olarak boyanamamıştır.

Son çalışmalar NO biyosentezini ve mekanizmasını etkileyen olayların in vitro olarak tavşan, koyun, köpek, domuz, rat ve insanlardan izole edilen üretral düz kas şeritlerinin gevşemesini değiştirdiğini göstermektedir (58, 78-87). NO aracılı gevşeme sadece düz kas yapıları sınırlı değildir. Benzer in vitro yanıtların üretral lamina propria ve eksternal üretral sfinkterde de ilişkili olduğu gösterilmiştir(87-89).

Biyokimyasal, immünohistokimyasal, enzim histokimyasal tekniklerle üretrada NOS bulunduğu doğrulanmıştır.(58, 89-95). Bu çalışmalarda NOS aktivitesi lokalizasyonları, arterler etrafındaki sinir liflerinde, ürotelyumun altında ve düz kas demetleri ve arteriyel endotelyum arasında gösterilmiştir.

Son yıllarda eNOS enzimini kodlayan gende ekson, intron ve promotor bölgelerinde pek çok polimorfizm ve çeşitli mutasyonlar saptanmıştır. Bu mutasyonların gen ekspresyonunda ve eNOS enziminde çeşitli yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olduğu ve bunlara bağlı olarak da NO dengesinin bozulduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (125, 126). eNOS gen polimorfizminde NO metabolizmasının bozulması ve endotel disfonksiyonuna bağlı olarak; hızlanmış ateroskleroz, vasküler remodelingde bozulma, aort anevrizma gelişimi ve çeşitli kardiyovasküler hastalıkların gelişebildiği yapılan araştırmalarda gösterilmiştir (127-129)

Düzensiz salınan NO'nun damar duvarında zayıflıklara ve hasara neden olarak vasküler anevrizma gelişimine yol açtığı düşünülmektedir (128). NO sentezinin düzensizliği, ekstrasellüler matriksin önemli bir yapıtaşı olan elastin proteininin miktarını etkileyerek damar duvarının zayıflamasına neden olduğu bildirilmiştir (130). NO'nun anevrizmal hastalıklarda belirgin bir rol oynadığını gösteren kanıtlar giderek artmaktadır (131). İnsan aort anevrizmalarında NO'nun major metaboliti olan nitrit düzeylerinin normal aortu olanlara göre yedi kat arttığı ve artan nitritin invitro olarak elastini parçalayacak seviyede olduğu tespit edilmiştir (132).

NO genital organlar dahil birçok dokuda nonadrenerjik nonkolinerjik sistemin haberci bir molekülüdür. Organ banyosu çalışmalarında NO/cGMP yolağının vajinal düz kas gevşemesi için anahtar bir role sahip olduğu bilinmektedir (133). Vajinal düz kasın bir PDE5 inhibitörü olan sildenafille gevşeyerek yanıt vermesi de NO/cGMP sisteminin vajinadaki cinsel yanıt cevabının önemini göstermektedir (134).

Vajinal katlarda bulunan eNOS, NO sentezi ile subepitelyal alanda ve kas tabakasında bulunan zengin vasküler yataktaki damar düz kası relaksasyonuna ve vajinanın muskuler tabakası relaksasyonuna neden olarak vajinal kan akımını artırmakta ve kadın cinsel uyarılma yanıtına katkıda bulunmaktadır. Bu relaksasyon sonucunda fizyolojik süreçte vajinal vazokonjesyon ve transüstasyon meydana gelmektedir. Vajinal transüstasyonun meydana gelmesi penetrasyonu kolaylaştırarak ağrısız bir ilişkiye olanak sağlamakta ve dolayısıyla uyarılmayı artırmaktadır.

Mesane gövde ve trigon bölümü dokusunda yapılan histopatolojik incelemede kontrol ve ovariektomize rat grubu arasında epitel hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, ödem ve dilatasyon, endotel hücre şişmesi, karyolizis ve apoptotik hücreleri üzerinde anlamlı farklılıklar bulunmuştur.

Yapılan fare deneylerinde, e-NOS eksikliğinin geç menarş, ovulasyon oranlarında azalma doğum sayısının azlığı, intrauterin gelişme geriliği ve erken menapoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (135, 136). İnsanlarda da e-NOS overe lokal etki ile ovulasyona yön vermek gibi reproduktif fonksiyonları düzenlemektedir.

Bu bilgiler ışığında mesane ve üretrada NOS varlığı ve NO'in bu bölgedeki fonksiyonel rolü ortaya çıkmaktadır. Klinik olarak NO bazındaki mekanizmalar normal miksiyonun korunmasında ve üriner inkontinansda önemli olabilir. Bu mekanizmaların pelvik cerrahi veya spinal yaralanmalar sonrası gelişen işeme disfonksiyonu ve inkontinansın kısmi sorumlusu olabilir. Bu sorumluluk ileri çalışmalar ile daha da desteklenirse bu alanlardaki tedavi seçeneği olarak NOS agonistleri veya NO donörleri tedavideki yerini bulabilir. Bu alanlardaki NO mekanizmalarının temeli gelişmeye devam ettikçe, klinik uygulamaların devamında gelmesi muhtemeldir.

Ayrıca NO-cGMP kaskadını etkileyen PDEi'nin mesane ve üretra bazındaki etkileri araştırılarak aşırı aktif mesane tedavisindeki yeri değerlendirilebilir.

Yapılan çalışmada istatistiksel anlamlı sonuçlar elde edilmiş olup NO ve NOS enzim çeşitlerinin mesane ve üretrada kastrasyondan etkilendiği gözlenmiştir. Sonuç olarak aşırı aktif mesane veya alt üriner sistem semptomlarının tedavisinde yer alması için bu çalışmalar ürodinamik verilerle desteklenmeli ve sonrasında tedavi yolunda umut ışığı olmaya devam etmelidir.



6.KAYNAKLAR

1. **Tanagho EA:** Anatomy of the Genitourinary Tract. In Smith's General Urology. Edited by Tanagho EA. and McAninch JW. Fourteenth Edition. California. Appleton & LangeCompany. Chapter 1, 1995: 7-16.
2. **James D. Brooks:** Anatomy of the Lower Urinary Tract and Male Genitalia: İn Campbell's Urology Edited by Waish PC, Retik AB, Stamey TA and Vaughan ED: Philadelphia: WB. Saunders Company. Seventh Edition. VoL, Chapter 3, 1997; 89- 128.
3. **Hmman JR:** Bladder. Ureterovesical Junction and Rectum. İn Atlas of Urosurgical Anatomy. Edited by Frank Hinman JR. Philadelphia, WB. Saunders Company. Chapter 13, 1993: 309-344.
4. **Mehmet Yıldırım:** Temel İnsan Anatomisi. İstanbul, Birinci Baskı, 1990: 339-357.
5. **Putz R, Pabst R.** Sobotta İnsan Anatomisi Atlası 4. Türkçe Baskı Cilt 2. Arıncı K(Çeviren), İstanbul, Beta Basım Yayım Dağıtım 1994; 186.
6. **Eşrefoğlu. M.** Genel ve Özel Histoloji: Epitel dokusu, Malatya: Pelikan yayıncılık, 2004
7. **Walsh PC, Retik AB, Kavoussi LR, Vaughan ED, Novick AC, Wein AJ et al.** Campbell Walsh Urology, 10th edition 2012
8. **Tanagho. E.A, McAninch J.W.** Smith Genel Üroloji. Editör: Kazancı G, 17. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009.
9. **Stephen S, Sternberg, M.D:** Urinary bladder, ureter and renal pelvis. Histology for pathologists. 2. baskı. Philadelphia: Lippincott- Raven, 1997:835-847.
10. **Junqueira L.C. Carneiro J, Kelley R.O:** Üriner Sistem. Temel Histoloji. 8. baskı. Barış Kitapevi, 1998: 375-377.
11. **Peterson R.O:** Urinary bladder. In urologic pathology. 2nd ed. Philadelphia: J:B. Lippincott, 1992: 261 -394. LXXV
12. **Jonathan I, Epstein M.D, Mahul B. et al.** Bladder Consensus: The World Health Organization/International Society of Urological Pathology Consensus Classification 63 of urotelial (Transitional Cell) neoplasms of the urinary bladder. The American Journal of Sugical pathology 1998; 22: 1435-1448
13. **Erkoçak A:** Üriner Bosaltım Yolları. Özel Histoloji. 5.baskı. İzmir: REKFO, 1984: 157-160

14. www.academic.kellogg.edu
15. **İsmail Petorak:** Medikal Embriyoloji. İkinci baskı, 1984: 228-229, 238
16. **TW Sadler:** Langman's Medical Embryology: Sixth Edition, Wilhams Wilkms Company, North Carolina, 1993: 246, 254-25
17. **Moore KL, Persaud TVN:** The Urogenital System: Before We are Born: Essentials of Embryology and Birth Defects. Fourth Edition, WB. Saunders Company, Philadelphia, 1993: 204-226.
18. **William J. Larsen:** Human Embryology. Second Edition, Neurobiology and Anatomy, 2001: 271-272.
19. **Keith L. Moore, TVN. Persaud:** The Developmg Human (Clinically Oriented Embryology). Sixth Edition, The Urogenital System, Chapter 13, pp: 305-316, 1997.
20. **Gyllensten L:** Contributions to Embryology of the Urinary Bladder: Development of Definitive Relations between Openings of the Wolffian Ducts and Ureters. *Acta Anat*, 7: 305, 1949.
21. **Cabelin MA, Te AE, Kaplan SA.** Urogenital physiology. In: Gonzalez EG, Myers SJ, Edelstein JE, Lieberman JS, Downey JA (Eds). Downey & Darling's Physiological Basis of Rehabilitation Medicine. 3th. (ed). Woburn: ButterworthHeinemann. 2001;191-208.
22. **Guyton & Hall.** Textbook of Medical Physiology. ; 9th.ed. 1996; 405-408.
23. **Linsenmeyer TA.** Neurogenic bladder following spinal cord injury. In: Kirshblum S, Campagnolo DI, DeLisa JA (Eds). Spinal Cord Medicine. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002; 181-206.
24. **Canda AE, Cross CR, Chapple CR.** Pharmacology of the lower urinary tract and management of overactive bladder. *J Turkish-German Gynecol Assoc* 2006; 7: 146- 157
25. **Andersson KE.** Pharmacology of lower urinary tract smooth muscles and penile erectile tissues. *Pharmacol Rev* 1993; 45: 253-308
26. **Restorick JM, Mundy AR.** The density of cholinergic and alpha and beta adrenergic receptors in the normal and hyperreflexic human detrusor. *Br J Urol* 1989; 63: 32-35
27. **Yoshida M, Masunaga K, Nagata T, Yono M, Homma Y.** The forefront for novel therapeutic agents based on the pathophysiology of lower urinary tract dysfunction: pathophysiology and pharmacotherapy of overactive bladder. *J Pharmacol Sci* 2010;112:128-134

28. **Morita T, Iizuka H, Iwata T, Kondo S.** Function and distribution of b3-adrenoceptors in rat, rabbit and human urinary bladder and external urethra sphincter. *J Smooth Muscle Res* 2000; 36: 21-32.
29. **Andersson KE, Wein AJ.** Pharmacology of the lower urinary tract: basis for current and future treatments of urinary incontinence. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 581 -631.
30. **Wang P, Luthin GR, Ruggieri MR.** Muscarinic acetylcholine receptor subtypes mediating urinary bladder contractility and coupling to GTP binding proteins. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 273: 959-966.
31. **Levin RM, Ruggieri MR, Wein AJ.** Identification of receptor subtypes in the rabbit and human urinary bladder by selective radio-ligand binding. *J Urol* 1998; 139: 844-848.
32. **Hawthorn MH, Chapple CR, Cock M, Chess-Williams R.** Urothelium-derived inhibitory factor(s) influences on detrusor muscle contractility in vitro. *Br J Pharmacol* 2000; 129: 416-419.
33. **Wayabayashi Y, Kojima Y, Makiura Y, Tomoyoshi T, Maeda T.** Acetylcholinesterase positive axons in the mucosa of urinary bladder of adult cats: retrograde tracing and degeneration studies. *Histol Histopathol* 1995; 10: 523-530.
34. **McCloskey KD.** Interstitial cells in the urinary bladder—localization and function. *Neurourol Urodyn* 2010; 29: 82-87.
35. **Caulfield MP, Birdsall NJM.** International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacol Rev* 1998; 50: 279-290.
36. **Eglen RM, Hegde SS, Watson N.** Muscarinicreceptor subtypes and smooth muscle function. *Pharmacol Rev* 1996; 15: 531 565.
37. **Chapple CR, Yamanishi T, Chess-Williams R.** Muscarinic receptor subtypes and management of the overactive bladder. *Urology* 2002; 60: 82-89.
38. **de Groat WC.** The urothelium in overactive bladder: passive bystander or active participant? *Urology* 2004;64: 7-11.
39. **Mahawong P, Chaiyaprasithi B, Soontrapa S, Tappayuthapijarn P.** A role of intravesical capsaicin instillation in benign prostatic hyperplasia with overactive bladder symptoms: the first reported study in the literature. *J Med Assoc Thai* 2007;90: 2301-2309.
40. **Khan MA, Thompson CS, Mumtaz FH, Jeremy JY, Morgan RJ, Mikhailidis DP.** Role of prostaglandins in the urinary bladder: an update. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1998; 59: 415-422.

41. **Sjögren C, Andersson KE, Mattiasson A.** Effects of vasoactive intestinal polypeptide on isolated urethral and urinary bladder smooth muscle from rabbit and man. *J Urol* 1985; 133: 136-140.
42. **Draznin MB, Rapoport RM, Murad F:** Myosin light chain phosphorylation in contraction and relaxation of intact rat thoracic aorta. *Int J Biochem*; 917-928, 1986.
43. **Moncada S, Higgs A.** The L- arginine-nitric oxide pathway. *N Eng J Med* 1993; 329:2002 -2012.
44. **Contestabile A.** Roles of NMDA receptor activity and nitric oxide production in brain development. *Brain Res Brain Res Rev* 2000; 32: 476-509.
45. **Halliwell B. Gutteridge JM.** *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3th Ed. Oxford University Press, New York 1999; 73-123.
46. **Koşay S.** Nitrik Oksid'in Patolojik Olaylardaki Rolü. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Basımevi, Bornova-İzmir 1996; 83: 1-83.
47. **Klotz T, Bloch W, Volberg C, Enge Imann U, Addicks K.** Selective expression of inducible nitric oxide synthase in human prostate carcinoma. *Cancer* 1998; 82: 1897 -1903
48. **Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG.** Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001; 357:593 -615.
49. **Kendall HK, Marshall RI, Bartold PM.** Nitric oxide and tissue destruction. *Oral Dis* 2001;7: 2-10.
50. **Ricciardola FLM, Sterk PJ, Gaston B, Folkerts G.** Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol Rev* 2004; 84: 731-765.
51. **Filep JG, Battistini B, Sirois P.** Induction by endothelin-1 of epithelium-dependent relaxation of guinea-pig trachea in vitro: role for nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1993; 109:637 644.
52. **Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA.** Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-142.
53. **Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG.** Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001; 357:593 -615.
54. **Michel T, Feron O.** Nitric oxide synthases: which, where, how, and why? *J Clin Invest* 1997; 100:2146-52.
55. **Ortega MA, Amaya AA.** Nitric oxide reactivity and mechanisms involved in its biological effects. *Pharmacol Res* 2000; 42: 421-427.

56. **Fischer A, Folkerts G, Geppetti P, Groneberg DA.** Mediators of asthma: nitric oxide. *Pulm Pharmacol Ther* 2002; 15: 73-81.
57. **Ignarro U, Bush PA, Buga GM, Wood KS, Fukoto JM, Rajfer J:** Nitric oxide and cyclic GMP formation: upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun*; 170: 843-850, 1990.
58. **Leone AM, Wiklund NP, Hokfelt T, Brundin L, Moncada S:** Release of nitric oxide by nerve stimulation in the human urogenital tract. *Neuroreport*; 5: 733-736, 1994.
59. **Hobbs AJ:** Soluble guanylate cyclase: the forgotten sibling. *Trends Pharmacol Sci*; 18, 484-491, 1997.
61. **Chen Y, Traverse JH, Du R, Hou M, Bache RJ.** Nitric oxide modulates myocardial oxygen consumption in the failing heart. *Circulation* 2002; 106:273 -279.
62. **Shen W, Xu X, Ochoa M, Zhao G, Wolin MS, Hintze TH.** Role of nitric oxide in the regulation of oxygen consumption in conscious dogs. *Circ Res* 1994; 75: 1086 -1095.
63. **Oddis CV, Finkel MS.** Cytokine-stimulated nitric oxide production inhibits mitochondrial activity in cardiac myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 213:1002 -1009.
64. **Muruganandam A, Mutus B.** Isolation of nitric oxide synthase from human platelets, *Biochim Biophys Acta* 1994; 1200:1-6.
65. **Katayama Y.** Nitric oxide: Mysterious messenger. *Dojindo News Letter* 1995; 1: 1-20.
67. **Yu WH.** Nitric oxide synthase in motor neurons after axotomy. *J Histochem Cytochem* 1994; 42: 451-457.
68. **Snyder SH.** Nitric oxide and neurons. *Curr Opin Neurobiol* 1992; 2: 323-338.
69. **Stark ME, Szurszewski JH.** Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function disease. *Gastroenterology* 1992; 103:1928-1949.
70. **Majid DS, Kopkan L.** Nitric oxide and superoxide interactions in the kidney and their implication in the development of salt-sensitive hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2007 Sep;34(9):946-52.
71. **Kedia GT, Uckert S, Jonas U, Kuczyk MA, Burchardt M.** The nitric oxide pathway in the human prostate: clinical implications in men with lower urinary tract symptoms. *World J Urol.* 2008 Dec;26(6):603-9. Epub 2008 Jul 8.

72. **Van Arsdalen K, and Wein AJ:** Physiology of micturition and continence, in Krane RJ and Siroky MB (Eds): Clinical Neuro-urology. Boston, Little, Brown, 1991, pp 25-82.
73. **de Groat WC, Booth AM, and Yoshimura N:** Neurophysiology of micturition and its modification in animal models of human disease, in Maggi CA (Ed): Nervous Control of the Urogenital System. Chur, Switzerland, Harwood Academic Publishers, 1993, pp 227-290.
74. **Hoyle CH, and Burnstock G:** Postganglionic efferent transmission in the bladder and urethra, in Maggi CA (Ed): Nervous Control of the Urogenital System. Chur, Switzerland, Harwood Academic Publishers, 1993, pp 349-381.
75. **Andersson KE, Mattiasson A, and Sjogren C:** Electrically induced relaxation of the noradrenaline contracted isolated urethra from the rabbit and man. J Urol 129: 210-214, 1983.
76. **Klarskov P, Gerstenberg T, Ramirez D, and Hald T:** Non-cholinergic, non-adrenergic nerve mediated relaxation of trigone, bladder neck and urethral smooth muscle in vitro. J Urol 129: 848-850, 1983.
77. **Mattiasson A, Andersson KE, and Sjogren C:** Adrenergic and non-adrenergic contraction of isolated urethral muscle from rabbit and man. J Urol 133: 298-303, 1985.
78. **Andersson KE, Garcia-Pascual A, Persson K, Forman A, and Tottrup A:** Electrically-induced, nerve-mediated relaxation of rabbit urethra involves nitric oxide. J Urol 147: 253-259, 1992.
79. **Andersson KE, Garcia-Pascual A, Forman A, and Tottrup A:** Non-adrenergic, non-cholinergic nerve-mediated relaxation of rabbit urethra is caused by nitric oxide. Acta Physiol Stand 141: 133-134, 1991.
80. **Dokita S, Morgan WR, Wheeler MA, Yoshida M, Latifpour J, and Weiss RM:** NG-nitro-L-arginine inhibits nonadrenergic, non-cholinergic relaxation in rabbit urethral smooth muscle. Life Sci 48: 2429-2436, 1991.
81. **Zygmunt PM, Zygmunt PK, Hogestatt ED, and Andersson KE:** Effect of omega-conotoxin on adrenergic, cholinergic and NANC neurotransmission in the rabbit urethra and detrusor. Br J Pharmacol 110: 1285-1290, 1993.
82. **Garcia-Pascual A, Costa G, Garcia-Sacristan A, and Andersson KE:** Relaxation of sheep urethral muscle induced by electrical stimulation of nerves: involvement of nitric oxide. Acta Physiol Stand 141: 531-539, 1991.
83. **Thornbury KD, Hollywood MA, and McHale NG:** Mediation by nitric oxide of neurogenic relaxation of the urinary bladder neck muscle in sheep. J Physiol 451: 133-144, 1992.

84. **Hashimoto S, Kigoshi S, and Muramatsu I:** Nitric oxide-dependent and independent neurogenic relaxation of isolated dog urethra. *Eur J Pharmacol* 231: 209-214, 1993.
85. **Bridgewater M, Macneil HF, and Brading AF:** Regulation of tone in pig urethral smooth muscle. *J Urol* 150: 223-228, 1993.
86. **Persson K, Alm P, Johansson K, Larsson B, and Andersson KE:** Nitric oxide synthase in pig lower urinary tract: immunohistochemistry, NADPH diaphorase histochemistry and functional effects. *Br J Pharmacol* 110: 521-530, 1993.
87. **Parlani M, Conte B, and Manzini S:** Nonadrenergic, noncholinergic inhibitory control of the rat external urethral sphincter: involvement of nitric oxide. *J Pharmacol Exp Ther* 265: 713-719, 1993.
88. **Mattiasson A, Andersson KE, and Sjogren C:** Contractant and relaxant properties of the female rabbit urethral submucosa. *J Urol* 133: 304-310, 1985.
89. **Zygmunt PK, Persson K, Alm P, Larsson B, and Andersson KE:** The L arginine/nitric oxide pathway in the rabbit urethral lamina propria. *Acta Physiol Stand* 148: 431-439, 1993.
90. **Burnett AL, Lowenstein CJ, Bredt DS, Chang TS, and Snyder SH:** Nitric oxide: a physiologic mediator of penile erection. *Science* 257: 401-403, 1992.
91. **Bredt DS, Hwang PM, Glatt CE, Lowenstein C, Reed RR, and Snyder SH:** Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. *Nature* 351: 714-718, 1991.
92. **Alm P, Larsson B, Ekblad E, Sundler F, and Andersson KE:** Immunohistochemical localization of peripheral nitric oxide synthase-containing nerves using antibodies raised against synthesized C- and N-terminal fragments of a cloned enzyme from rat brain. *Acta Physiol Stand* 148: 421-429, 1993.
93. **Vizzard MA, Erdman SL, Forstermann U, and de Groat WC:** Differential distribution of nitric oxide synthase in neural pathways to the urogenital organs (urethra, penis, urinary bladder) of the rat. *Brain Res* 646: 279-291, 1994.
94. **Grozdanovic Z, Baumgarten HG, and Bruning G:** Histochemistry of NADPH-diaphorase, a marker for neuronal nitric oxide synthase, in the peripheral autonomic nervous system of the mouse. *Neuroscience* 48: 225-235, 1992.

95. **Dokita S, Smith SD, Nishimoto T, Wheeler MA, and Weiss RM:** Involvement of nitric oxide and cyclic GMP in rabbit urethral relaxation. *Eur J Pharmacol* 266: 269-275, 1994.
96. **Steers WD:** Physiology of the urinary bladder, in Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, and Vaughan ED Jr (Eds): *Campbell's Urology*. Philadelphia, WB Saunders, 1992, pp 142-176
97. **Henderson VE, and Roepke MH:** The role of acetylcholine in bladder contractile mechanisms and in parasympathetic ganglia. *J Pharmacol Exp Ther* 51: 97-111, 1934.
98. **Andersson PO, Sjogren C, Uvnas B, and UvnasMoberg K:** Urinary bladder and urethral responses to pelvic and hypogastric nerve stimulation and their relation to vasoactive intestinal polypeptide in the anaesthetized dog. *Acta Physiol Stand* 138: 409-416, 1990.
99. **Creed KE:** The role of the hypogastric nerve in bladder and urethral activity of the dog. *Br J Pharmacol* 65: 367-375, 1979
100. **James MJ, Birmingham AT, and Hill SJ:** Partial mediation by nitric oxide of the relaxation of human isolated detrusor strips in response to electrical field stimulation. *Br J Clin Pharmacol* 35: 366-372, 1993.
101. **Lee JG, Coplen D, Macarak E, Wein AJ, and Levin RM:** Comparative studies on the ontogeny and autonomic responses of the fetal calf bladder at different stages of development: involvement of nitric oxide on field stimulated relaxation. *J Urol* 151: 1096-1101, 1994.
102. **Persson K, and Andersson KE:** Nitric oxide and relaxation of pig lower urinary tract. *Br J Pharmacol* 106: 416-422, 1992.
103. **Nishizawa O, Kawahara T, Shimoda N, Suzuki K, Fujieda N, Kudo T, Suzuki T, Noto H, Harada T, and Tsuchida S:** Effect of methylene blue on the vesicourethral function in the rats. *Tohoku J Exp Med* 168: 621-622, 1992.
104. **Persson K, Igawa Y, Matsson A, and Andersson KE:** Inhibition of the arginine/nitric oxide pathway causes bladder hyperactivity in the rat. *Acta Physiol Stand* 144: 107-108, 1991.
105. **Mevorach RA, Bogaert GA, and Kogan BA:** Role of nitric oxide in fetal lower urinary tract function. *J Urol* 152: 510-514, 1994.
106. **Musicki B, Burnett AL.** eNOS function and dysfunction in the penis. *Exp Biol Med* 2006;231:154-165.
107. **Arthur L. BURNETT:** Nitric Oxide Control of Lower Genitourinary Tract Functions: A Review: Volume 45 number 6 1071-1083.

108. **Cowart RM, Carson CC.** Tadalafil in the treatment of erectile dysfunction. *Ther Clin Risk Manag* 2008;4: 1315-30.
109. **Cleber ET, Fernanda BM, Webb CR.** Differential effects of the phosphodiesterase type 5 inhibitors sildenafil, vardenafil, and tadalafil in rat aorta. *J Pharmacol* 2006;316:654-61.
110. **Takahashi W, Yoshida M, Wada Y, Goto S, Inadome A, Yono M, et al.** Effect of estrogen on nitric oxide-induced relaxation of the rabbit urethra. *Eur J Pharmacol* 1997;339:165-71.
111. **Yallampalli C, Byam-Smith M, Nelson SO, Garfield RE.** Steroid hormones modulate the production of nitric oxide and cGMP in the rat uterus. *Endocrinology* 1994;134:1971-4.
112. **Youngjun Seo, Sung-Woo Park, Joo-Yeong Kim, Sang Don Lee** Expression of alfa 1 Receptor and Nitric Oxide Synthase in Oophorectomized and Estrogen- Supplemented Rat Bladder and Urethra *Korean J Urol* 2014;55: 677-686.
113. **Hak AE, Witteman JC, de Jong FH, Geerlings MI, Hofman A, et al.** Low levels of endogenous androgens increase the risk of atherosclerosis in elderly men: the Rotterdam study. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3632–9.
114. **Tomohiro M. Yasuhiro S., Seiji A., Bunzo K., Keiji S., Kazuhiro S.** Time-dependent effects of castration on the bladder function and histological changes in the bladder and blood vessels *Asian Journal of Andrology* (2014) 16, 457–460.
115. **Akinga AG, Burnett AL,** Endothelial nitric oxide synthase protein expression, localization, and activity in penis of alloxan induced diabetic rat. *Mol Urol* 5, 189-197, 2001.
116. **Vernet, D., Cai, L., Garban, H., Babbitt, M. L., Murray, F. T., Rajfer, J., et al.** Reduction of penile nitric oxide synthase in diabetic BB/WORdp (type 1) and BBZ/WORdp (type II) rats with erectile dysfunction. *Endocrinology* 136, 5709–5717,1995.
117. **El-Sakka, A. I., Lin, C. S., Chui, R. M., Dahiya, R., & Lue, T. F.** Effects of diabetes on nitric oxide synthase and growth factor genes and protein expression in an animal model. *Int J Impot Res* 11, 123– 132, 1999.
118. **Böger RH.** The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res* 2003; 59: 824–33.
119. **Al-Hijji J, Larsson B, Batra S:** Nitric oxide synthase in the rabbit uterus and vagina: hormonal regulation and functional significance. *Biol Reprod* 2000;62: 1387-1392.

120. **Al-Hijji J, Batra S:** Downregulation by estrogen of nitric oxide synthase activity in the female rabbit lower urinary tract. *Urology* 1999;53: 637-641.
121. **Al-Hijji J, Larsson I, Batra S:** Effect of ovarian steroids on nitric oxide synthase in the rat uterus, cervix and vagina. *Life Sci* 2001;69: 1133-1142.
122. **Kim SW, Jeong SJ, Munarriz R, Kim NN, Goldstein I, Traish AM:** Role of the nitric oxide-cyclic GMP pathway in regulation of vaginal blood flow. *Int J Impot Res* 2003;15: 355-361.
123. **Traish AM, Kim NN, Huang YH, Min K, Munarriz R, Goldstein I:** Sex steroid hormones differentially regulate nitric oxide synthase and arginase activities in the proximal and distal rabbit vagina. *Int J Impot Res* 2003;15: 397-404.
124. **Berman JR, McCarthy MM, Kyprianou N:** Effect of estrogen withdrawal on nitric oxide synthase expression and apoptosis in the rat vagina. *Urology* 1998;51: 650-656.
125. **Wattanapitayakul SK, Mihm MJ, Young AP, Bauer JA.** Therapeutic implications of human endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. *Trends Pharmacol Sci.* 2001 Jul;22(7):361-8.
126. **Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, Lyon A, Monteith S, Parsons A, et al.** A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298-->Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. *Circulation.* 1999 Oct 5;100(14):1515-20.
127. **Rudic RD, Shesely EG, Maeda N, Smithies O, Segal SS, Sessa WC.** Direct evidence for the importance of endothelium-derived nitric oxide in vascular remodeling. *J Clin Invest.* 1998 Feb 15;101(4):731-6.
128. **Khurana VG, Sohni YR, Mangrum WI, McClelland RL, O'Kane DJ, Meyer FB, et al.** Endothelial nitric oxide synthase T-786C single nucleotide polymorphism: a putative genetic marker differentiating small versus large ruptured intracranial aneurysms. *Stroke.* 2003 Nov;34(11):2555-9.
129. **Kuhlencordt PJ, Gyurko R, Han F, Scherrer-Crosbie M, Aretz TH, Hajjar R, et al.** Accelerated atherosclerosis, aortic aneurysm formation, and ischemic heart disease in apolipoprotein E/endothelial nitric oxide synthase double-knockout mice. *Circulation.* 2001 Jul 24;104(4):448-54.
130. **Kim JU, Chang HK, Lee SS, Kim JW, Kim KT, Lee SW, et al.** Endothelial nitric oxidesynthase gene polymorphisms in Behcet's disease and rheumatic diseases with vasculitis. *Ann Rheum Dis.* 2003 Nov;62(11):1083-7.
131. **Johanning JM, Franklin DP, Han DC, Carey DJ, Elmore JR.** Inhibition of inducible nitric oxide synthase limits nitric oxide production and experimental aneurysm expansion. *J Vasc Surg.* 2001 Mar;33(3):579-86.

132. **Paik DC, Ramey WG, Dillon J, Tilson MD.** The nitrite/elastin reaction: implications for in vivo degenerative effects. *Connect Tissue Res.* 1997;36(3):241-51.
133. **Giraldi A, Alm P, Werkstrom V, Myllymaki L, Wagner G, Andersson KE:** Morphological and functional characterization of a rat vaginal smooth muscle sphincter. *Int J Impot Res* 2002;14: 271-282.
134. **Min K, Kim NN, McAuley I, Stankowicz M, Goldstein I, Traish AM:** Sildenafil augments pelvic nerve-mediated female genital sexual arousal in the anesthetized rabbit. *Int J Impot Res* 2000;12 Suppl 3:S32-39.
135. **Tempfer C, Moreno RM, O'Brien WE, Gregg AR.** Genetic contributions of the endothelial nitric oxide synthase gene to ovulation and menopause in amouse model. *Fertil Steril*2000;73: 1025–31.
136. **Hefler LA, Reyes CA, O'Brien W.E. and Gregg A.R.** Perinatal development of endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. *Biol. Reprod.* 2001;64: 666–673.

7.ÖZGEÇMİŞ

03.06.1985 Hatay doğumludur. İlköğrenimi Şükrü Kanatlı ilkokulunda, orta ve lise öğrenimini İbni Sina Anadolu Lisesi'nde tamamlamıştır. 2003 yılında yükseköğrenimi için Samsun 19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başlamış ve 2010 yılında mezun olmuştur. Şırnak Silopi Devlet Hastanesi'nde 4 ay pratisyen hekimlik yapmıştır. 2011 yılında uzmanlık eğitimi için Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Ana Bilim Dalına başlamıştır. Halen burada öğrenimini sürdürmektedir. Evlidir.

