

**T.C.
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı**

124063

**İZOLE SIÇAN VAS DEFERENSİNİN SILDENAFİL
SİTRAT YANITLARINDA PURİNERJİK SİSTEMİN
ROLÜ**

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

124063

UZMANLIK TEZİ

Dr. S. SIRRI BİLGE

**Tez Danışmanı
Prof.Dr.Yüksel KESİM**

Samsun / 2003

TEŞEKKÜR VE DESTEKLEYEN KURULUŞ

Çalışmalarımın her aşamasında değerli yardımlarını benden esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Yüksel Kesim'e, değerli eleştirileri için Prof. Dr. Süleyman Çelik ve Yrd.Doç.Dr. Mehmet Kurt'a, istatistiksel değerlendirmeler için Yrd.Doç.Dr. Kamil Alakuş'a , asistan arkadaşlarım Dr. Osman Kukula, Dr. Elif Aksöz'e ve Farmakoloji Anabilim Dalının tüm çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Fonu' nun T-305 no'lu projesi ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|---|--------------|
| Teşekkür ve destekleyen kuruluş | i |
| İçindekiler | II |
| Tablo listesi | V |
| Şekil listesi | VI |
| Özet | VIII |
| Anahtar sözcükler | IX |
| Abstract | X |
| Keywords | XI |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 2 |
| 2.1 Vas deferens anatomisi | 2 |
| 2.2 Ejakülasyon nörofizyolojisi | 3 |
| 2.3 Sildenafil sitrat | 5 |
| 2.4 Nitrik oksit | 11 |
| 2.5 Nitrik oksit'in farmakolojik etkileri | 14 |
| 2.6 Fosfodiesteraz enzim sistemi | 17 |
| 2.7 Purinerjik sistem | 25 |
| 2.7.1 Purinerjik reseptörler | 28 |
| 2.7.2 Purinerjik sistemin patofizyolojik olaylardaki rolü | 41 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 46 |
| 3.1 Kullanılan besleyici solüsyon ve ilaçlar | 46 |
| 3.2 Cerrahi yöntem | 50 |
| 3.3 Deney protokolleri | 51 |
| 3.3.1 Noradrenalinin vas deferensteki etkisi | 51 |
| 3.3.1.1 Noradrenalinin vas deferensteki etkisinin sildenafil, suramin ve evans mavisi varlığında değerlendirilmesi | 51 |
| 3.3.1.1.1 Sildenafil varlığında Noradrenalin yanıtları | 51 |
| 3.3.1.1.2 Suramin varlığında Noradrenalin yanıtları | 52 |
| 3.3.1.1.3 Evans mavisi varlığında Noradrenalin yanıtları | 52 |

| | |
|--|-----------|
| 3.3.2 Adenozin 5 trifosfatın (ATP) vas deferensteki etkisi | 53 |
| 3.3.2.1 ATP nin vas deferensteki etkisinin sildenafil, | 53 |
| suramin ve evans mavisi varlığında değerlendirilmesi | |
| 3.3.2.1.1 Sildenafil varlığında ATP yanıtları | 53 |
| 3.3.2.1.2 Suramin varlığında ATP yanıtları | 54 |
| 3.3.2.1.3 Evans mavisi varlığında ATP yanıtları | 54 |
| 3.3.3 α,β meATP nin vas deferensteki etkisi | 55 |
| 3.3.3.1 α,β meATP nin vas deferensteki etkisinin sildenafil, suramin ve | |
| evans mavisi varlığında değerlendirilmesi | 55 |
| 3.3.3.1.1 Sildenafil varlığında α,β meATP yanıtları | 55 |
| 3.3.3.1.2 Suramin varlığında α,β meATP yanıtları | 56 |
| 3.3.3.1.3 Evans mavisi varlığında α,β meATP yanıtları | 56 |
| 3.3.4 EAS nun vas deferensteki etkisi | 57 |
| 3.3.4.1 EAS nun vas deferensteki etkisinin sildenafil, | 57 |
| suramin ve evans mavisi varlığında değerlendirilmesi | |
| 3.3.4.1.1 Sildenafil varlığında EAS da meydana gelen değişiklikler | 57 |
| 3.3.4.1.2 Suramin varlığında EAS da meydana gelen değişiklikler | 58 |
| 3.3.4.1.3 Evans mavisi varlığında EAS da meydana gelen | 58 |
| değişiklikler | |
| 4. BULGULAR | 60 |
| 4.1 Noradrenalinin vas deferensteki etkisi | 60 |
| 4.1.1 Noradrenalinin vas deferensteki etkisinin sildenafil, | 60 |
| suramin ve evans mavisi varlığında değerlendirilmesi | |
| 4.1.1.1 Sildenafil varlığında Noradrenalin yanıtları | 60 |
| 4.1.1.2 Suramin varlığında Noradrenalin yanıtları | 61 |
| 4.1.1.3 Evans mavisi varlığında Noradrenalin yanıtları | 61 |
| 4.2 Adenozin 5 trifosfatın (ATP) vas deferensteki etkisi | 65 |
| 4.2.1 ATP nin vas deferensteki etkisinin sildenafil, | 65 |
| suramin ve evans mavisi varlığında değerlendirilmesi | |
| 4.2.1.1 Sildenafil varlığında ATP yanıtları | 65 |
| 4.2.1.2 Suramin varlığında ATP yanıtları | 66 |

| | |
|--|----|
| 4.2.1.1.3 Evans mavisi varlığında ATP yanıtları | 66 |
| 4.3 α,β meATP nin vas deferensteki etkisi | 70 |
| 4.3.1 α,β meATP nin vas deferensteki etkisinin sildenafil, suramin ve evans mavisi varlığında değerlendirilmesi | 70 |
| 4.3.3.1 Sildenafil varlığında α,β meATP yanıtları | 70 |
| 4.3.3.2 Suramin varlığında α,β meATP yanıtları | 71 |
| 4.3.3.3 Evans mavisi varlığında α,β meATP yanıtları | 71 |
| 4.4 Elektriksel alan stimülasyonunun (EAS) vas deferensteki etkisi | 75 |
| 4.4.1 EAS nun vas deferensteki etkisinin sildenafil, suramin ve evans mavisi varlığında değerlendirilmesi | 75 |
| 4.4.1.1 Sildenafil varlığında EAS da meydana gelen değişiklikler | 75 |
| 4.4.1.2 Suramin varlığında EAS da meydana gelen değişiklikler | 76 |
| 4.4.1.3 Evans mavisi varlığında EAS da meydana gelen değişiklikler | 76 |
| 5. TARTIŞMA | 80 |
| 6. SONUÇLAR | 88 |
| 7. KAYNAKLAR | 89 |

TABLO LİSTESİ

| | |
|----------------|--|
| Tablo 1 | Non selektif PDE inhibitörleri |
| Tablo 2 | İzozim spesifik PDE inhibitörleri |
| Tablo 3 | PDE₃ inhibitörleri |



ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1 Vas deferensin anatomik yapısı
- Şekil 2 Vas deferens innervasyonu
- Şekil 3 Ejakulasyonun sinir sistemi tarafında kontrolü
- Şekil 4 Sildenafil sitrat sentez basamakları
- Şekil 5 Sildenafil sitratın etki mekanizması
- Şekil 6 Nitrik oksit sentezi
- Şekil 7 L-arginin – Nitrik oksit döngüsü
- Şekil 8 Nitrik oksitin vasorelaksan etkisi
- Şekil 9 Purinerjik kotransmisyon
- Şekil 10 ATP metabolizması
- Şekil 11 Vas deferensin çıkarılması
- Şekil 12 Noradrenalinin vas deferensteki etkisi
- Şekil 13 Epididimal kısım Sildenafil 10^{-4} M varlığında NA yanıtı
- Şekil 14 Epididimal kısım Suramin 10^{-4} M varlığında NA yanıtı
- Şekil 15 Epididimal kısım Evans Mavisi 10^{-4} M varlığında NA yanıtı
- Şekil 16 Epididimal kısım NA – sildenafil doz-yanıt eğrisi
- Şekil 17 Prostatik kısım NA- sildenafil doz-yanıt eğrisi
- Şekil 18 Epididimal kısım NA- suramin doz-yanıt eğrisi
- Şekil 19 Prostatik kısım NA-suramin doz-yanıt eğrisi
- Şekil 20 Epididimal kısım NA-Evans mavisi doz-yanıt eğrisi
- Şekil 21 Prostatik kısım NA –Evans mavisi doz-yanıt eğrisi
- Şekil 22 ATP nin vas deferensteki etkisi
- Şekil 23 Prostatik kısım Sildenafil 10^{-4} M varlığında ATP yanıtı
- Şekil 24 Prostatik kısım Suramin 10^{-4} M varlığında ATP yanıtı
- Şekil 25 Prostatik kısım Evans mavisi 10^{-4} M varlığında ATP yanıtı
- Şekil 26 Epididimal kısımda ATP- sildenafil doz-yanıt eğrisi
- Şekil 27 Prostatik kısımda ATP- sildenafil doz-yanıt eğrisi
- Şekil 28 Epididimal kısım ATP- suramin doz-yanıt eğrisi
- Şekil 29 Prostatik kısım ATP- suramin doz-yanıt eğrisi
- Şekil 30 Epididimal kısım ATP-Evans mavisi doz-yanıt eğrisi

- Şekil 31** Prostatik kısım ATP- Evans mavisi doz-yanıt eğrisi
- Şekil 32** Prostatik kısım 10^{-4} M Sildenafil varlığında α,β meATP yanıtı
- Şekil 33** Prostatik kısım 10^{-4} M Suramin varlığında α,β meATP yanıtı
- Şekil 34** Prostatik kısım 10^{-4} M Evans mavisi varlığında α,β meATP yanıtı
- Şekil 35** Epididimal kısım sildenafil - α,β meATP grafiği
- Şekil 36** Prostatik kısım sildenafil - α,β meATP grafiği
- Şekil 37** Epididimal kısım suramin - α,β meATP grafiği
- Şekil 38** Prostatik kısım suramin - α,β meATP grafiği
- Şekil 39** Epididimal kısım Evans Mavisi - α,β meATP grafiği
- Şekil 40** Prostatik kısım Evans Mavisi - α,β meATP grafiği
- Şekil 41** Sildenafil varlığında elektriksel alan stimulasyonuna alınan yanıtlar
- Şekil 42** Suramin varlığında elektriksel alan stimulasyonuna alınan yanıtlar
- Şekil 43** Evans mavisi varlığında elektriksel alan stimulasyonuna alınan yanıtlar
- Şekil 44** Epididimal kısım Elektriksel alan stimulasyonuna sildenafilin etkisi
- Şekil 45** Prostatik kısım Elektriksel alan stimulasyonuna sildenafilin etkisi
- Şekil 46** Epididimal kısım Elektriksel alan stimulasyonuna suraminin etkisi
- Şekil 47** Prostatik kısım Elektriksel alan stimulasyonuna suraminin etkisi
- Şekil 48** Epididimal kısım Elektriksel alan stimulasyonuna Evans mavisinin etkisi
- Şekil 49** Prostatik kısım Elektriksel alan stimulasyonuna Evans mavisinin etkisi

ÖZET

Ejakülasyon vas deferens düz kasının ritmik olarak kasılmasıyla testislerde üretilen spermlerin üretraya doğru atılması sonucu meydana gelir. Vas deferens kasılması noradrenalin (NA) ve adenozin-5-trifosfat (ATP) gibi bazı lokal endojen faktörler tarafından düzenlenir. NA ve ATP adrenerjik sinir uçlarında beraber depolanır ve beraber salınırlar. Sildenafil sitrat erektil disfonksiyon tedavisinde ağızdan kullanılabilen, siklik guanozin monofosfat'a (cGMP) özgül fosfodiesteraz tip 5 enziminin seçici inhibitörüdür. Eretil disfonksiyona sıklıkla ejakülasyon bozuklukları da eşlik etmektedir. Bu çalışmanın amacı erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan sildenafil sitratin ejakülasyondaki etkinliğini araştırmak ve purinerjik sistemle olan ilişkisini ortaya koymaktır.

Çalışmada sıçan izole vas deferenslerinin epididimal ve prostatik segmentleri kullanıldı. NA, seçici olmayan purinerjik reseptör agonisti ATP, seçici P_{2x} purinerjik reseptör agonisti alfa,beta metilen adenozin 5 trifosfat (α,β meATP) ve elektriksel stimülasyona alınan yanıtlar üzerine sildenafil sitratin etkisi araştırıldı. Karşılaştırmalar için seçici olmayan purinerjik reseptör antagonisti suramin ve seçici P_{2x} purinerjik reseptör antagonisti Evans mavisi kullanıldı.

Vas deferensin her iki segmentinde de NA, ATP, α,β meATP ve elektriksel stimülasyon kasılmaya yol açtı. Sildenafil sitrat ve suramin NA'e bağlı kasılmaları değiştirmezken Evans mavisi epididimal kısımda NA'e bağlı yanıtları potansiyalize etti. Her iki segmentte de sildenafil sitrat ve suramin ATP'ye bağlı kasılmaları non-kompetitif tarzda inhibe etti. Evans mavisi ise ATP yanıtlarını potansiyalize etti. Sildenafil sitrat α,β meATP'ye bağlı kasılmaları değiştirmezken suramin ve Evans mavisi her iki segmentte de kasılmaları inhibe etti. Sildenafil sitrat ve suramin elektriksel stimülasyona bağlı kasılmaları önlerken Evans mavisi kasılmaları potansiyalize etti.

Sildenafil sitrat vas deferensin her iki segmentinde de kasılmaları suramin'e benzer şekilde inhibe etti. Bu etkinin reseptör düzeyindeki etkiden ziyade ATP nin ikincil etkilerine ya da artmış cGMP'nin hücre dışına çıkışında ATP'ye bağımlı mekanizmalara bağlı olduğu ileri sürülebilir. Sonuç olarak vas deferens kasılmasının sildenafil tarafından önlenmesi sildenafilin prematür ejakülasyon tedavisinde kullanımını gündeme getirecektir.

Anahtar sözcükler: Sildenafil sitrat, vas deferens, purinerjik sistem, ejakülasyon, sıçan



ABSTRACT

Ejaculation occurs by rhythmical contractions of the smooth muscles of vas deferens to push the sperms generated in testis into the urethra. Contraction of vas deferens is controlled by some endogenous factors including noradrenaline (NA) and adenosine-5-triphosphate (ATP). NA and ATP are co-stored and released from the adrenergic nerve terminals together. Sildenafil is a selective inhibitor of cGMP-selective type 5 phosphodiesterase which can be used orally in the treatment of erectile dysfunction. Erectile dysfunctions are generally accompanied by ejaculation disorders. The aim of the present study is to investigate the effectiveness of sildenafil citrate which is used in erectile dysfunction, on ejaculation and to establish its connection with purinergic system.

In the present study, epididymal and prostatic segments of isolated vas deferens were used. Effects of sildenafil citrate on the responses evoked by NA, ATP (a non-selective purinergic receptor agonist), alpha,beta methylene adenosine-5-triphosphate (α,β meATP) (a selective P_{2x} purinergic receptor agonist) and electrical stimulation were investigated. A non-selective purinergic receptor antagonist suramine and a selective P_{2x} purinergic receptor antagonist Evans blue were also used for comparisons.

NA, ATP, α,β meATP and electrical stimulation caused contractions in both segments of vas deferens. While sildenafil citrate and suramine did not alter the contractions caused by NA, Evans blue potentiated the responses evoked by NA. Sildenafil citrate and suramine non-competitively inhibited the ATP-dependent contractions in both segments. Evans blue potentiated the ATP-dependent responses. While Sildenafil citrate did not alter the α,β meATP-dependent contractions, suramine and Evans blue inhibited these contractions in both segments. Sildenafil citrate and suramine inhibited the contractions induced by electrical stimulation but Evans blue potentiated these responses.

Sildenafil citrate inhibited the contractions in both segments of vas deferens in the same way as suramin did. This finding suggest that this effect may be related to the secondary effects of ATP or the ATP dependent processes used to decrease the increased intracellular cGMP content, rather than direct effect on receptor site.

As a result, inhibition of vas deferens contractions by sildenafil may lead to its possible use in the treatment of premature ejaculation.

Keywords: Sildenafil citrat, vas deferens, purinergic system, ejaculation, rat



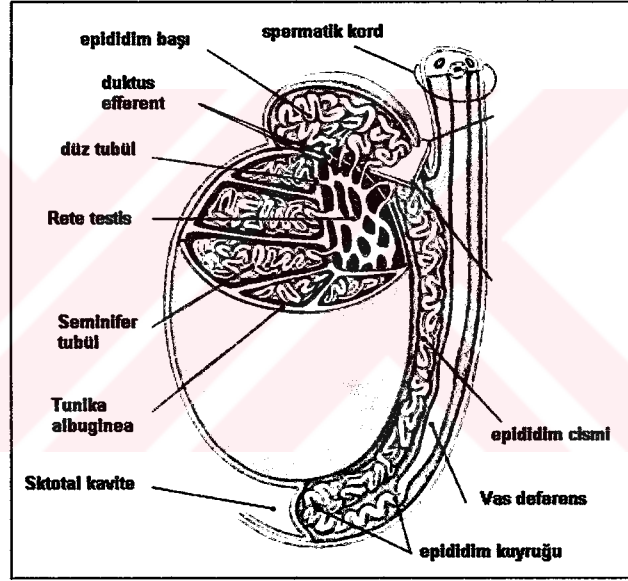
1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünyada erektil disfonksiyon (ED)'un milyonlarca erkeği etkilediği tahmin edilmektedir. ED tedavisinde vakumla konstriksiyon oluşturan aletler, vazoaaktif ajanların kavernoöz cisim içine enjeksiyonu, prostaglandin E₁ (PGE₁, alprostadil)'in transüretal olarak uygulanması ve venöz arteriyel cerrahi girişim gibi değişik seçeneklerden yararlanılmaktadır. Ancak bu girişimlerin invazif yöntemler olması ve istenilen sonuçları vermemesi ED tedavisinde yeni arayışlara sebep olmuştur. 1990'ların başlarında nitrik oksit (NO)'in ereksiyondaki öneminin anlaşılmasından sonra bu konudaki çalışmaların sayısı hızla artmıştır. NO, cinsel uyarıyı takiben nonadrenerjik nonkolinerjik (NANK) sinirlerden salıverilmektedir. NO'nin hedefi guanozin trifosfat (GTP)'ı siklik guanozin monofosfat (cGMP)'a dönüştüren guanilat siklaz enzimidir ve guanilat siklazı aktive eder (89). cGMP, korpus kavernoöz düz kaslarındaki gevşeme sonucunda ereksiyon meydana gelmesine neden olur (18). cGMP'nin parçalanması fosfodiesteraz enzimi (PDE) ile olmaktadır. ED'li erkeklerde NO ve cGMP düzeyinin düşük olduğu tespit edilmiştir (80). Sildenafil sitrat PDE tip5 (PDE₅)'i seçici olarak inhibe eder ve hücre içi cGMP'nin yeterli konsantrasyona ulaşmasını sağlar. Bu da ereksiyonla sonuçlanır. Sildenafil erkek ürogenital düz kasında nitreerjik stimülasyonla oluşan gevşemeyi potansiyalize eder (54). Sildenafil oral kullanılabilmesi, etkisinin hızlı başlaması ve iyi tolere edilebilen bir ajan olmasından dolayı ED tedavisinde tercih edilir (56). ED ile birlikte ejakülasyon problemi de karşımıza çıkar. Ejakülasyon problemlerinin yetişkin erkeklerin yaklaşık %40'ında olduğu bildirilmiştir (7). Vas deferens, olgun spermatazoa depolanması ve spermin diğer komponentlerle beraber üretraya geçişinde önemli rol oynamaktadır (44). Erkek reproduksiyonu, vas deferensin kasılması tarafından düzenlenen seminal emisyon ile ilişkilidir. Vas deferens kasılması büyük oranda purinerjik sistem tarafından sağlanmaktadır. Biz bu çalışmada izole sıçan vas deferensinde sildenafil sitrat yanıtlarında purinerjik sistemin rolünü araştırdık. Literatür taramalarımızda sildenafil'in purinerjik sistemle ilişkisini ortaya koyan bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 VAS DEFERENS'İN ANATOMİSİ

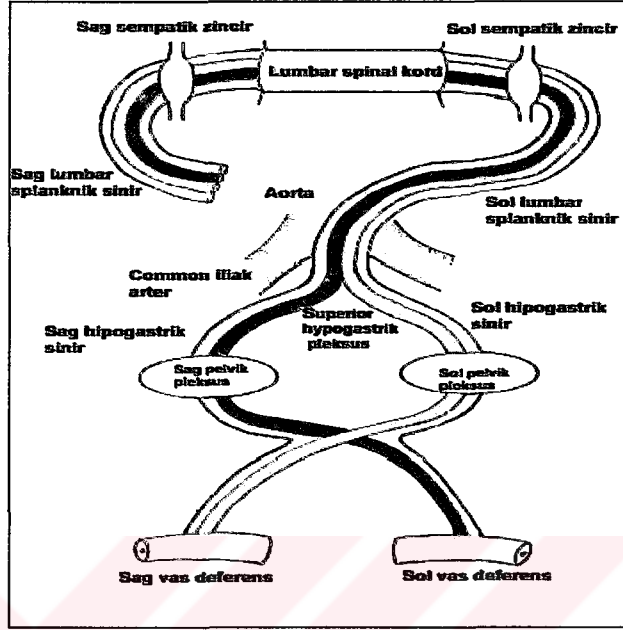
Vas deferens (duktus deferens) insanlarda uzunluğu 30-35 cm. olan bir kanaldır. Kauda epididimden başlar. Prostata yakın ejakulatör kanalda sonlanır. Dışta kan damarları ve sinirlerin yer aldığı adventisya ile sarılıdır. Dışta ve içte uzunlamasına, ortada ise sirküler uzanan üç tabakadan oluşmuş düz kas yapısı vardır. Mukozal tabaka en içtedir. Tubul lümeninin çapı yaklaşık 0.05 cm.dir (Şekil 1).



Şekil 1: Vas deferensin anatomik yapısı

Vas deferens innervasyonunu hem sempatik hem parasempatik sistemden alır. Vas deferensin nöral inputları, lomber spinal korddaki preganglionik sempatik nöronlardan gelir. Parasempatik preganglionik kolinerjik nöronlar lumbosakral spinal korddan orijini alırlar ve vas deferensini innerve eden major pelvik gangliona ulaşırlar. Vas deferensinden çok az sayıda afferent uç hipogastrik ve pelvik sinir yolu ile spinal kordun lumbosakral dorsal boynuzuna ulaşır.

Postganglionik sempatik liflerin çoğunun hedefi kas tabakasıdır. Postganglionik parasempatik lifler ise lamina propria ve iç longitudinal kas tabakasını hedef alırlar (Şekil 2).



Şekil 2 : Vas deferens innervasyonu

İnsanlarda vas deferensin üç temel özelliği vardır.

- 1- Spontan motilite gösterir.
- 2- Gerilmeye cevap verir.
- 3- Hipogastrik sinirin elektriksel uyarımı veya nörotransmitterler aracılığı ile vas deferensin sağlanan kuvvetli peristaltik kasılmalar lümen içeriğinin ileri doğru atılmasına yol açar (58).

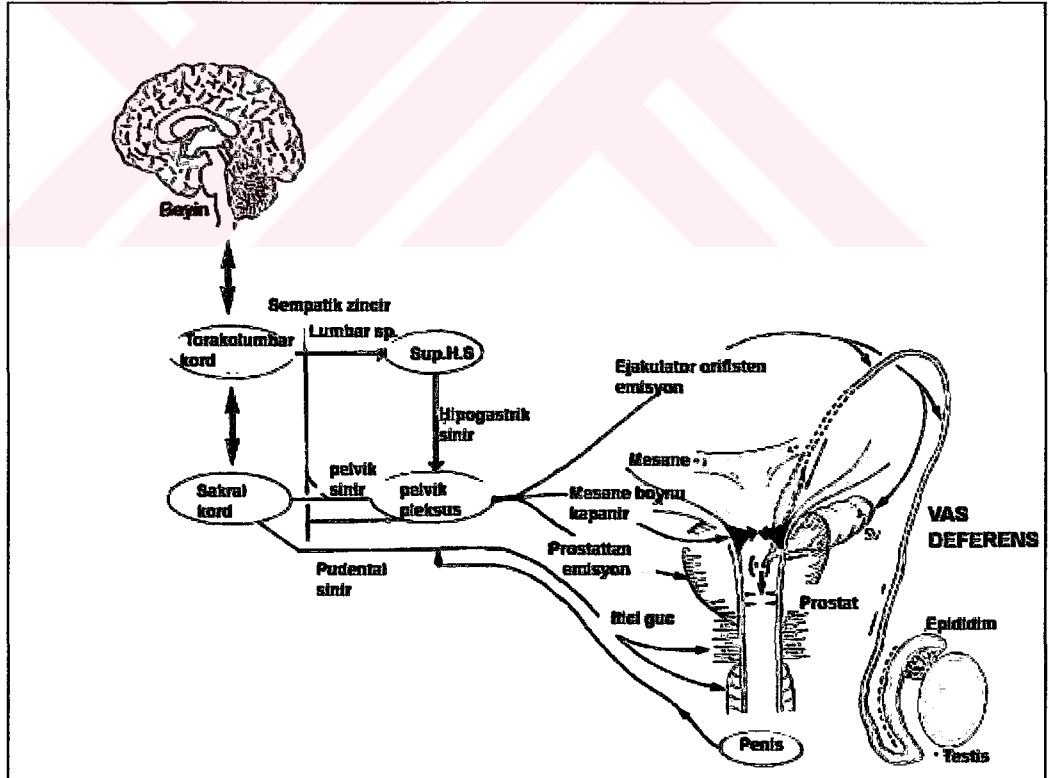
2.2 EJAKÜLASYON NÖROFİZYOLOJİSİ

Ejakülasyon iki aşamada meydana gelmektedir. Birinci aşama emisyon fazı olarak adlandırılır. Sempatik impuls epididim ve vas deferensin peristaltik düz kas kasılmalarını meydana getirir. Sperm posterior (prostatik) üretraya doğru hareketlenir. Aynı anda seminal veziküller ve prostat ritmik olarak kasılır (82).

Seminal ve prostatik sıvı sperm ile karışır. Tüm bu karışım daha sonra bulboüretral bezden salgılanan mukus ile karışır. Bu karışım semen olarak bilinir.

İkinci aşama ejakülasyon fazı olarak bilinir. Pelvik duvar kaslarının ritmik kasılması ile semen üretra dışına atılır. Emisyon fazında gerekli preganglionik sempatik sinirler T₁₀-L₂ spinal torakolumbar kordun intermediolateralinden orjinini alır. Sempatik zincir ve hipogastrik sinir yoluyla veya sempatik zincir ve pelvik sinir yolu ile pelvik pleksusa ulaştırılır. Buradan kavernöz sinir yolu ile vas deferense ulaşır (Şekil 3).

Emisyon fazında üretranın sfinkter internus kası sempatik etkiyle kasılarak semenin mesaneye kaçması (retrograd ejakülasyon) önlenmiş olur. İkinci faz semen tarafından ampulla üretra duvarı üzerinde oluşturulan basınçla başlar (120).



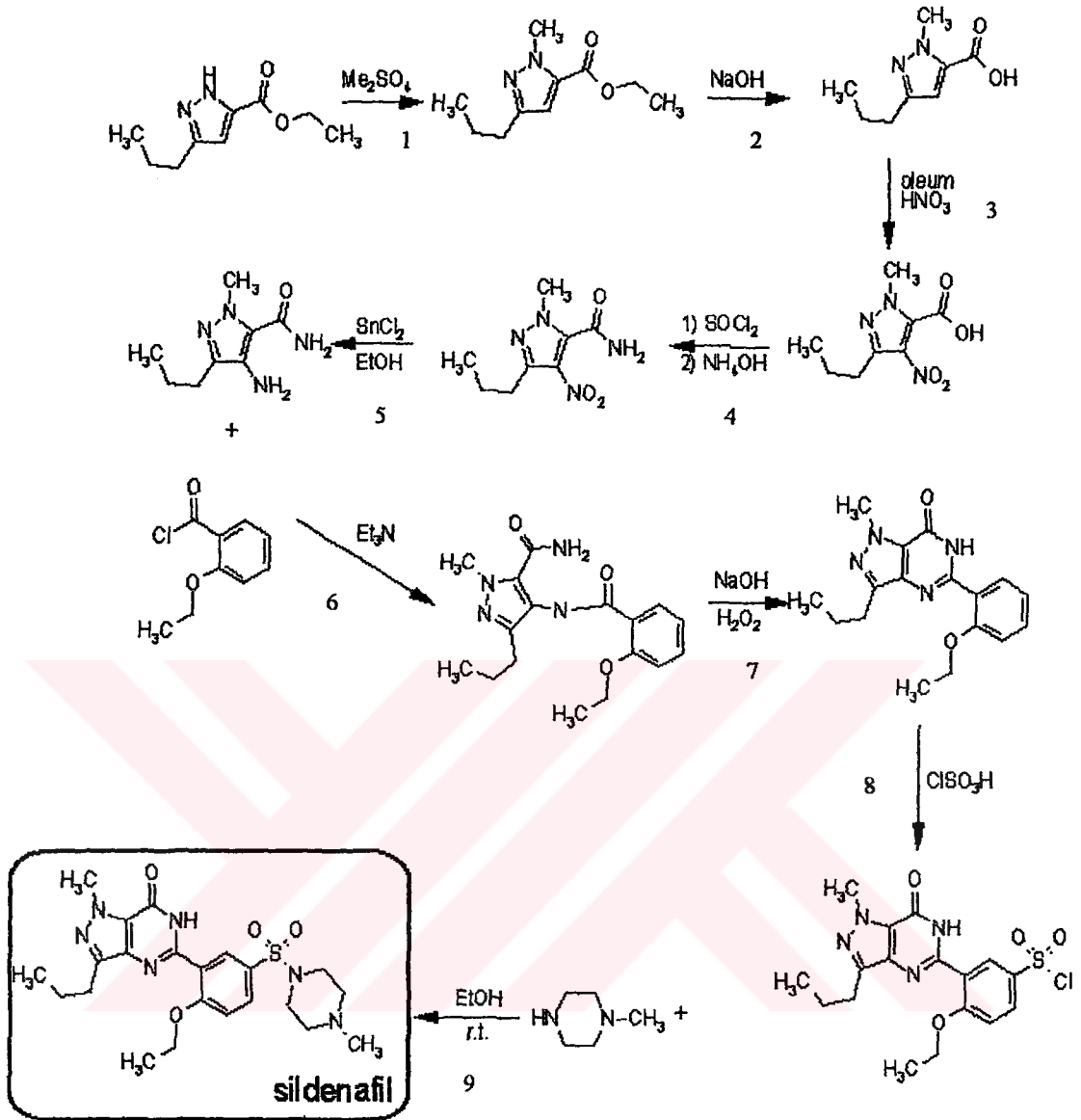
Şekil 3: Ejakülasyonun sinir sistemi tarafından kontrolü

2.3 SILDENAFİL SİTRAT

Sildenafil sitrat ED tedavisinde oral olarak kullanılabilen, cGMP'a özgül PDE₅'in seçici inhibitörüdür (56). Sildenafil sitrat kimyasal yapı olarak 1- [[3-(6,7-dihidro-1-metil-7-okso-3-propil-1H-pirazolo[4.3-d] pirimidin-5-il) – 4 - etoksifenil] sülfonil]- 4 - metilpiperazin sitrat olarak isimlendirilmiştir. Moleküler formülü C₂₂H₃₀N₆O₄S dir.

Sildenafil sitrat, sudaki çözünürlüğü 3.5 mg/ml ve molekül ağırlığı 666.7 olan, rengi beyazdan hafif gri-beyaza doğru değişen billursu bir tozdur (97).

Sildenafil sitrat, 1989'da Pfizer laboratuvarlarında Simon Campbell ve David Roberts başkanlığındaki araştırma grubu tarafından antihipertansif ve antianjinal özelliklere sahip yeni bir bileşik araştırılırken bulunmuştur. 1992'de anjina pectoris tedavisinde kullanımı yönünde klinik çalışmalara başlanmıştır. Hastaların önemli bir kısmında yan etki olarak penil ereksiyon oluştuğu gözlenmiş, 1994 yılında bu yöndeki çalışmalara başlanmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Sildenafil oral alınabilmesi, hızla absorbe olması ve alındıktan 1 saat içinde plazma doruk derişime ulaşması nedeniyle ED tedavisinde çığır açmış ve bugüne kadar en çok satan ilaç olarak tarihe geçmiştir. İlaç 27 Mart 1998'de ABD'de Besin ve İlaç Yönetimi [Food and Drug Administration (FDA)] tarafından onaylanarak kullanıma girmiştir. Sildenafil sitrat ilk defa sentezlendiği 1996 yılında Bioorganic& Medicinal Chemistry Letters da yayımlanmıştır (Şekil 4) (114).



Şekil 4: Sildenafil sentez basamakları

1. Dimetil sülfat ile 3-propylpyrazole-5-karboksilik asit etil ester in metilasyonu
2. NaOH ile hidroliz
3. Nitrik asit buharı ile azotlama
4. Thionil klorid/ NH₄OH ile karboxamid oluşumu
5. f- Nitro grubunun amino grubuna indirgenmesi
6. 2-ethoxybenzoyleklorid ile asilasyon
7. Siklizasyon
8. Klorosulfonyl derivativesinin sulfonasyonu
9. 1-methylpiperazine ile kondesasyon

Farmakokinetik ;

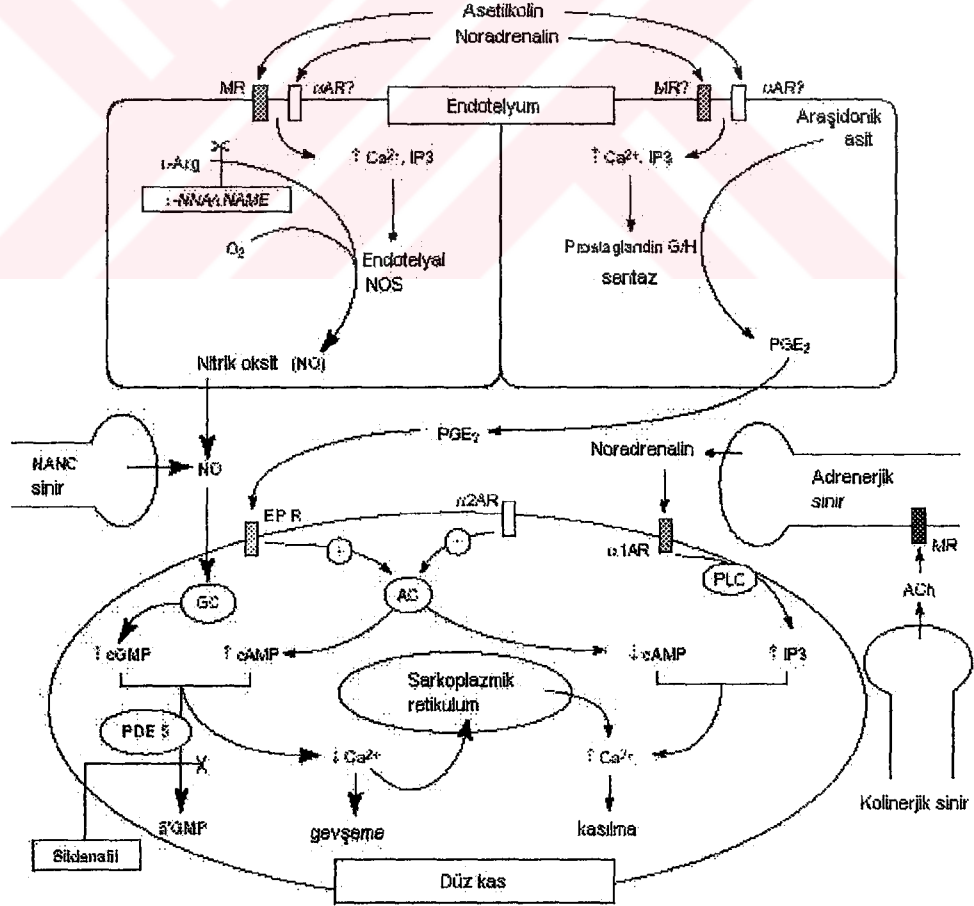
Sildenafil sitrat oral uygulamayı takiben %40 oranında absorbe olur. Hızla emilir. En yüksek plazma derişimine 30-120 dakika (ortalama 60 dakika) içinde ulaşır. Ortalama dağılım hacmi (Vss) 105 L'dir. Hem sildenafil hem de dolaşımdaki başlıca metaboliti olan N-desmetil metaboliti plazma proteinlerine %96 oranında bağlanır. Sağlıklı gönüllülerin spermlerinde dozun uygulanmasından 90 dakika sonra, uygulanan sildenafil dozunun % 0.001'inden daha azının spermlerinde bulunabileceği bildirilmiştir. Sperm motilitesi ve sayımı üzerine anlamlı etkisi yoktur (99).

Sildenafil sitrat başlıca CYP3A4 ve CYP2C9 enzimleri yardımıyla metabolize olur. Dolaşımdaki en önemli metaboliti N-desmetilasyonu ile meydana gelir. Bu metabolitin plazma konsantrasyonları sildenafil için izlenen plazma derişimlerinin %40'ı kadardır. Sildenafil, metabolitler halinde dışkı (%80 oranında) daha az oranda da idrar (%13) ile atılır (79).

Etki Mekanizması ;

Cinsel uyarıya yanıt olarak korpus kavernosum yakınındaki endotelial hücrelerden NO salınır. NO'in guanilat siklaz enziminde yapısal değişikliklere neden olarak guanozin trifosfat (GTP)'tan ikinci haberci guanozin 3'-5' cGMP yapımını artırdığı düşünölmektedir. Düz kas hücrelerinde cGMP üretim hızının guanilat siklaz ve NO arasındaki etkileşime bağlı olarak en az 400 kat arttığı gözlenmiştir. cGMP korpus kavernosumda düz kas gevşemesine neden olmaktadır. cGMP artışına yanıt olarak düz kas gevşemesini açıklamak için birkaç mekanizma ileri sürölmektedir. Kas kasılması için gerekli olan kalsiyum (Ca⁺⁺)'daki artışı cGMP inhibe etmektedir. Birkaç muhtemel yol ile cGMP Ca⁺⁺ düzeyi ile etkileşebilir. Bunlar; sitozolik Ca⁺⁺'un izolasyonunun artması, Ca⁺⁺ salıverilmesinin inhibisyonu, kalsiyuma bağımlı ATPaz (Ca⁺⁺ATPaz)'ın fosforilasyonu ve aktivasyonu şeklinde sıralanabilir. Diğer bir mekanizmaya göre cGMP miyozin hafif zincirini defosforilleyerek direkt olarak kas kasılmasını etkilemektedir (77).

Sildenafil sitrat, PDE₅ enzimini seçici olarak inhibe ederek korpus kavernosum düz kasında gevşemeye neden olur. PDE₅, cGMP'yi 5'-GMP'a parçalayarak cGMP derişimininin azalmasına neden olur (Şekil 5). Sildenafil sitrat tarafından PDE₅ inhibisyonu, cGMP derişiminini yükseltir. cGMP nin cGMP ilişkili protein kinaz veya cGMP ilişkili iyon kanallarına bağlanması Ca⁺⁺ un ekstrasellüler alana sekestrasyonu yolu ile intrasellüler Ca⁺⁺ da azalma ile sonuçlanmakta ve korpus kavernosum düz kasının gevşemesine neden olmaktadır (38). Sonuçta penis içine kan akımı artar ve ereksiyon meydana gelir. Korpus kavernosum düz kasında üretilen cGMP kısa bir süre sonra parçalanır. Fakat cinsel uyarı devam ettiği sürece parçalanan cGMP, daha fazla NO'in indüklediği cGMP ile yenilenir. Sildenafil sitrat ile cGMP seviyesi yükseltılarak ereksiyon sürdürülmüş olur (19).



Şekil 5 : Sildenafil sitratın etki mekanizması (Moreland 1999)

Sildenafil İlaç Etkileşimleri (110)

A) Sildenafilin etkisini arttıran ilaçlar

I) Aditif farmakodinamik etki

- Nitratlar (sublingual ve iv nitrogliserin)
- Amlodipin

II) Sitokrom P450'yi ve sildenafil metabolizmasını inhibe eden ilaçlar

- Eritromisin
- Ketokanazol, Itrakanzol
- Indinavir, Nelfinavir, Ritonavir, Saquinavir

III) Genelde sitokrom enzimlerini inhibe eden ilaçlar

- Simetidin

B) Sildenafilin etkisini arttırması olası ilaçlar

CYP2A4'ü ve sildenafil metabolizmasını muhtemelen inhibe eden ilaçlar

- Norfloksasin
- Klaritromisin, Roksitromisin, Troleandomisin
- Flukanazol, Mikanazol
- Metronidazol
- İzoniazid
- Amprenavir
- Fluoksetin, Fluvoksamin, Sertralin
- Nefazodon
- Diltiazem, Mibefradil, Nikardipin, Nifedipin, Verapamil
- Amiodaron
- Siklosporin
- Zafirlukast, Zilestan
- Oral kontraseptifler
- Metilprednizolon
- Sisaprid
- Doxorubisin
- Greyfurt suyu

C) Sildenafil'in etkisini azaltan ilaçlar

CYP3A4'ü inhibe eden ve sildenafil metabolizmasını arttıran ilaçlar

- Rifabutin, Rifampin
- Benzodiazepinler
- Karbamazepin, Etosüksimid, Fenitoin
- Fenobarbital, Pirimidon
- Troglitazon
- Sigara içimi

D) Sildenafil metabolizması üzerine etkili olmayan ilaçlar

CYP3A4'ü inhibe eden fakat sildenafil metabolizmasını değiştirmeyen ilaçlar

- Omeprazol
- Kinidin

Yan etkileri;

En sık rastlanan yan etkisi baş ağrısı (%7-32) dır. Yüzde kızarıklık/ateş basması (%10), dispepsi (%7), nazal konjesyon (%4), idrar yolu enfeksiyonu (%3), görme bozuklukları (%3), ishal (%3), sersemlik/baş dönmesi (%2), döküntü (%2), priapizm bildirilmektedir (6).

Kontrindikasyonları;

İlacın herhangi bir bileşenine karşı aşırı duyarlılığı bulunan hastalarda kontraindikedir. Sildenafilin nitratların hipotansif etkilerini potansiyalize ettiği gösterilmiştir. Bundan dolayı NO açığa çıkaran bileşikler (amil nitrat, butil nitrat) veya nitratların herhangi bir formu ile beraber (nitrogliserin, isosorbid mononitrat, isosorbid nitrat, isosorbid dinitrat pentaeritritol tetranitrat, eritritol tetranitrat, fenobarbital) verilmesi kontraindikedir (88). Stabil olmayan angina ve ciddi kardiyak hastalıklarda önerilmez. Ciddi karaciğer yetmezliği, hipotansiyon, geçirilmiş miyokard infarktüsü, retinitis pigmentosa gibi kalıtsal dejeneratif retinal bozukluğu olanlarda güvenilirliği çalışılmamıştır. Bundan dolayı kullanılması önerilmez (47).

2.4 NİTRİK OKSİT

NO' in keşfi ve düz kas gevşemesine öncülük yaptığının anlaşılması, penil ereksiyon fizyolojisinin ve biyokimyasının anlaşılmasına yardımcı olmuştur. Bu da ED tedavisinde yeni umutların doğmasına yol açmıştır.

NO doğada bulunan en küçük on molekülden biridir. Molekül ağırlığı 30 Da dır. Basitçe 1 atom oksijen ve bir atom nitrojen içerir. NO, lipofilik, kimyasal stabilitesi olmayan, reseptöre bağımlı olmadan kolayca difüze olabilen biyoaktif memeli hücresi salgılanma ürünüdür (86). Yarı ömrü 3-5 saniyedir (70).

NO, vertebralılarda sitokrom P450 redüktaz homologu olan ve NO sentaz (NOS) olarak adlandırılan enzimlerce enzimatik olarak oluşturulur. NOS, O₂ ve L-arginin amino asidini NO ve L-sitrülin'e dönüştürür. L-argininden NO sentezinin nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat (NADPH), NOS, kalmodülin, oksijen ve dört kofaktöre [hem, flavin mononükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD), tetrahidrobiyopterin] gereksinim duyduğu anlaşılmıştır. NOS'ın üç farklı tipi vardır: nöronal NOS (nNOS), indüklenebilir NOS (iNOS), endotelial NOS (eNOS) (Şekil 6) (59).

nNOS: Normal şartlarda inaktif durumda bulunan enzimlerdir. Çeşitli nöronlarda bulunur. Periferik sinir sisteminde NO, gastrointestinal sistem, ürogenital sistem ve solunum sisteminde nNOS içeren nonadrenerjik nonkolinerjik sinirler yolu ile düz kas gevşemesini düzenler. İskelet kasında, kalp ve retina katekolaminlerin salgılanmasını düzenleyen sinir terminallerinde de bulunur. Kalsiyuma bağımlıdır (87).

iNOS: Normal şartlarda bu enzim aktif değildir. Tümör nekrotizan faktör (TNF), interlökin I (IL-1) ve endotoksinler gibi inflamatuvar hücrelerde iNOS sentezi meydana gelir. Fizyolojik sınırlar içinde kalsiyuma bağımlı değildir. Bunun nedeni kalmoduline çok sıkı bağlanmış olmasıdır.

eNOS: Vasküler düz kaslarda bulunur. Endotelial kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) diye bilinen NO'nin kaynağıdır. Kalsiyum ve kalmodüline bağımlıdır.

Endotelial NO iki yoldan oluşmaktadır.

1- Sürekli salıverilen NO: Bu da iki şekilde oluşur.

a) Bazal salgılama

b) Uyarı ile

1-Reseptöre bağımlı olan : asetilkolin, bradikinin, ATP v.b

2- Reseptöre bağımlı olmayan

Fiziksel uyarı: pulsatil akım, hipoksi, mekanik deformasyon, yırtılma basıncı

Agonistler: Ca^{++} -ATP az inhibitörleri, Ca^{++} -iyonoforlar

2- İndüksiyon sonucu salıverilen NO:

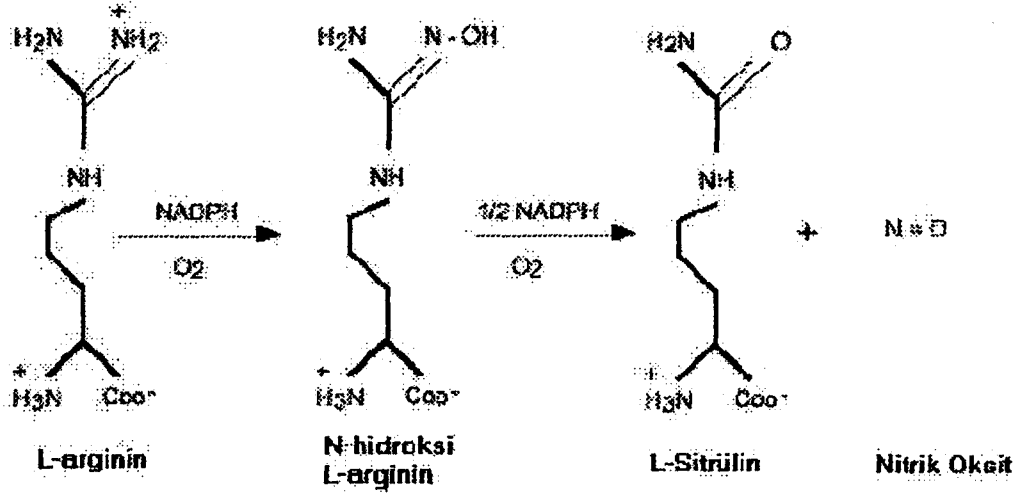
Bir aminoasit olan L-arginin'in damar endotel hücrelerinde NO'nin ön maddesi olduğu ilk kez 1988'de belirlenmiştir. D-enantiomeri ve L-arginin analoglarının hiçbiri NO'e dönüşmemektedir. NO sentezinde kullanılan L-arginin aşağıdaki yollardan sağlanmaktadır.

1- NO sentezi ile oluşan sitrülünün geri dönüşümü

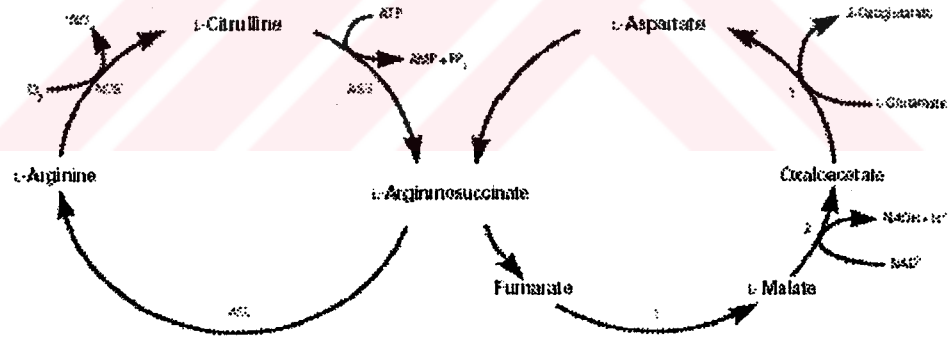
2- L-argininin hücre içine geri alınması

3- L-arginin, L sitrüllin içeren peptidler

4- Metilargininin metabolize olması (Şekil 7).



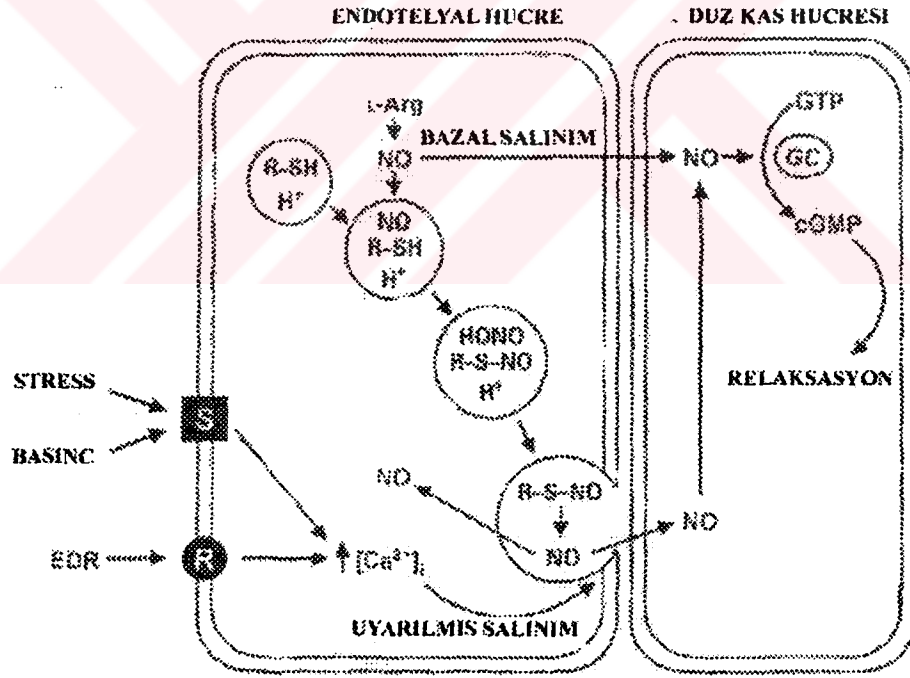
Şekil 6: Nitrik oksit sentezi



Şekil 7 : L-arginin –NO döngüsü

2.5 NİTRİK OKSİT'İN FARMAKOLOJİK ETKİLERİ

Kardiyovasküler etkisi: Endotel hücrelerinden devamlı olarak salınan NO, vasküler düz kasların gevşemesini sağlar. NO sentezinin inhibe edilmesi vasküler düz kaslarda kasılmaya ve kan basıncının yükselmesine neden olur. İntravasküler volümün düzenlenmesinde de NO görev alır. NO, kalpte kasılma zamanını kısaltır. Negatif inotrop etkilidir (78). NO normal akım şartlarında kuvvetli bir damar genişletici maddedir. Çevresel şartlar değiştiğinde (egzersiz, hipoksi v.b) NO sentezi uyarılarak damar tonusunun ve kan akımının bir düzenleyicisi olarak görev yapar. Endotelial NO sisteminin ateroskleroz, hiperkolesterolemi, hipertansiyon, diyabet, sigara içimi ve yaşlanmaya bağlı olarak gerilediği ve bu süreçler sonucunda NO' in olumlu damarsal etkilerinin azaldığı bildirilmiştir (106).



Şekil 8 : Nitrik oksit'in vasorelaksan etkisi

Pulmoner sisteme etkisi: NO, pulmoner ve bronşial düz kasların düzenlenmesinde görev alır. NO aktivasyonu sonucu pulmoner vazodilatasyon ortaya çıkar. Endojen NO eksikliği pulmoner hipertansiyona neden olur. Pulmoner damarların düz kaslarında ve fibroblastlarda proliferasyonu engelleyen NO, bağ dokusu artışında da azaltıcı etki yapmaktadır.

Trombosit fonksiyonlarına etkisi: NO, trombosit hücreleri içine girip trombosit agregasyonunu ve adezyonunu inhibe ederek pıhtılaşmayı önler.

Santral Sinir Sistemi (SSS)'ne etkisi: NO, hem periferik hem de SSS'de bir nörotransmitterdir. Ancak diğer nörotransmitterler gibi depolanmaz. Sadece ihtiyaç duyulduğunda sentezlenir. SSS'de glutamatın N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerini uyarması sonucunda NO sentezlenir. NO, SSS regülasyonunda rol alır (52). Ayrıca insan belleğinin oluşumunu ve öğrenmeyi sağlayan maddenin NO olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır.

Renal Sisteme etkisi: Afferent arteriollerde perfüzyon basıncının artması NO salınmasına ve renal otonöregülasyonda önemi olan vazodilatasyona yol açar.

İmmün Sisteme etkisi: İmmün hücreleri uyaran herhangi bir enfeksiyon sitokinlerin salgılanarak makrofajları uyarmasına ve NO sentezlenmesine neden olur. Salınan NO, bir çok hücrede ölüme neden olur.

Sindirim Sistemine etkisi: NO'nun mukozal kan akımının düzenlenmesinde, mukozanın korunmasında, karaciğer hastalıklarında hemodinamik yanıtın düzenlenmesinde ve hepatositlerin işlevlerinde önemli rol oynayabileceği bildirilmiştir (108).

Travma üzerine etkisi: NO, iskemi ve bunu takip eden reperfüzyon sırasında kardiyak, pulmoner, serebral ve gastrointestinal sistemdeki hasarı düzenler.

Miyometriuma etkisi: NO, gebelik sırasında miyometrial kasılmayı inhibe eder.

Genital sisteme etkisi: Penil ereksiyon sırasında oluşan düz kas ve damar gevşemesi NANK inhibitör sistem aracılığı ile olmaktadır (90). NO, stimülasyona yanıt olarak sentezlenmekte ve salıverilmektedir. Yapılan çalışmalarda korpus kavernosumun endotelial hücreleri üzerindeki reseptörlere bağlanan nörotransmitterlere yanıt olarak NO salındığı ve bunun da düz kas gevşemesine neden olduğu ortaya çıkarılmıştır (78). Nörotransmitterlerin reseptörlere bağlanmasından sonra endotelial hücreler NOS aracılığıyla NO sentezlerler. NO, korpus kavernosum yakınındaki endotelial hücrelerden salıverilir. NO, guanilat siklazın “hem” grubu ile etkileşime girer. Fakat sadece hem ile etkileşmeyip enzimin diğer bölgelerini de etkileyerek enzimin aktivitesini arttırdığı düşünülmektedir.

2.6 FOSFODİESTERAZ ENZİM SİSTEMİ (PDE)

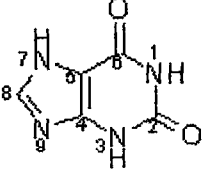
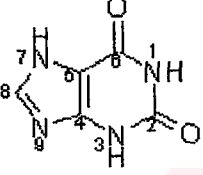

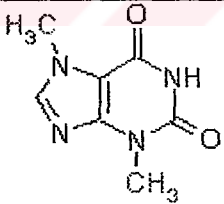
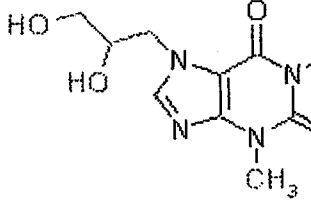
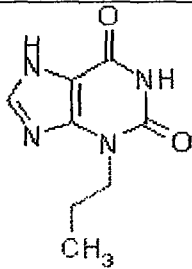
Siklik nükleotidler (cAMP ve cGMP), hormon ve nörotransmitterler gibi ekstrasellüler sinyallerin etkilerine cevap verebilen her zaman her yerde bulunabilen ikinci habercilerdir. Bu moleküller proinflamatuvar mediatör üretimi, iyon kanal fonksiyonu, kas kasılması, öğrenme, farklılaşma, apoptozis, lipogenezis, glukojenolizis ve glukoneogenezis gibi olayları büyük oranda etkilerler (96).

Çeşitli dokularda bilinen 40'dan fazla siklik nükleotid spesifik PDE izozimi bulunmaktadır (13).

İlk PDE 1958'de bulunmuştur. Bundan 40 yıl sonra PDE'ların bir çok formu veya izoformu olduğu gösterilmiştir. PDE ailesinin 1990'a kadar standart bir sınıflandırılması yapılamamıştır (14). Farklı ekstraksiyon tekniklerinin gelişmiş olması farklı PDE izozimlerinin bulunmasına yol açmıştır. Bu izozimler biyokimyasal özelliklerine göre 11 alt gruba ayrılırlar (Tablo 1) (54). Bu izozimlerin sadece biyokimyasal özellikleri farklı değildir. Farklı aile üyeleri için kodlanan genler de farklıdır. Her bir PDE subtipinin farklı subünitlerden meydana gelebilmesine rağmen tüm memeli PDE'ları yüksek derecede homoloji gösterirler (36).

İlk bulunan ajanlar seçici olmayan PDE inhibitörü ilaçlardır. Bunlar tipik olarak tüm PDE'ları inhibe ederler. Ksantinler seçici olmayan PDE inhibitörlerinin tipik örnekleridir (15).

Tablo 1 : Seçici olmayan PDE inhibitörleri

| İLAC | KİMYASAL YAPI | ÖZELLİK |
|------------|---|---|
| Ksantin |  <p>The chemical structure of Xanthine is a purine ring system with two carbonyl groups at positions 2 and 6, and two NH groups at positions 1 and 3. The atoms are numbered 1 through 9.</p> | Renal vazodilatör olarak hipertansiyon tedavisinde kullanım alanı vardır. Bronş düz kaslarında gevşeme yaparak astım tedavisinde kullanılır. Koroner kan akımını artırır. Yan tesir olarak sinirlilik, bulantı, kusma, konvulsiyon, kalp hızında artma yapar. |
| Teofilin |  <p>The chemical structure of Theophylline is identical to Xanthine, but with a methyl group attached to the nitrogen at position 7.</p> | 1930'dan beri bronkodilatör olarak kullanılmaktadır. Astımın geç faz inflamasyonunu inhibe eder. |
| Kafein |  <p>The chemical structure of Caffeine is a purine ring system with two carbonyl groups at positions 2 and 6, and two methyl groups attached to the nitrogens at positions 1 and 3. A methyl group is also attached to the nitrogen at position 7.</p> | Serebral vazokonstriksiyona neden olur. |
| Teobromin |  <p>The chemical structure of Theobromine is a purine ring system with two carbonyl groups at positions 2 and 6, and two methyl groups attached to the nitrogens at positions 1 and 3. A methyl group is also attached to the nitrogen at position 7.</p> | Düşük güçtedir. |
| Difilin |  <p>The chemical structure of Dipyridol is a purine ring system with two carbonyl groups at positions 2 and 6, and two methyl groups attached to the nitrogens at positions 1 and 3. It has a 2-hydroxyethyl group attached to the nitrogen at position 7.</p> | Bronkodilatördür. Teofilinden daha az güçlüdür. |
| Enprofilin |  <p>The chemical structure of Enprofylline is a purine ring system with two carbonyl groups at positions 2 and 6, and two NH groups at positions 1 and 3. It has a propyl group attached to the nitrogen at position 7.</p> | Teofilinden daha güçlüdür. |

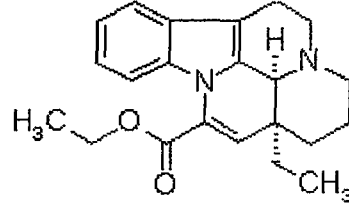
İzozim spesifik PDE inhibitörleri sıklıkla ikinci kuşak ajanlar olarak adlandırılırlar.

Tablo II: İzozim spesifik PDE inhibitörleri

| İzozim | Bulunduğu yer | Etki | İnhibitörleri |
|--------|---|--------------|---|
| 1 | Kalp, beyin, böbrek, iskelet kası, düz kas (vasküler+visseral) vagus siniri | cGMP>cAMP | MIMX, Vinposetin |
| 2 | Adrenal korteks, korpus kavernosum, kalp, karaciğer, böbrek, solunum yolu düz kası, trombosit | cGMP, cAMP | EHNA(erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl)adenine) |
| 3 | Kalp, korpus kavernosum, düz kas, n.vagus, karaciğer, böbrek inflamatuvar hücreler, trombosit | cAMP | Enoksimon, Piroksimon Olprinon, Motapizon, Silostamid, Silostazol, Milrinon, Amrinon, Pimobendan |
| 4 | Böbrek, akciğer, kalp, iskelet kası, trombosit, inflamatuvar hücreler | cAMP | Rolipram, Benafentrin Zardaverin |
| 5 | Korpus kavernosum, trombosit, düz kas, (vaskular, visseral), n.vagus | cGMP | SİLDENAFİL, Zaprinast, Dipiridamol, Vardenafil |
| 6 | Retina (rod ve koniler) | cGMP | E4021, PDE ₅ inhibitörleri |
| 7 | İskelet kası, kalp, böbrek, solunum yolları | cAMP | Dipiridamol |
| 8 | 8A: testis, over, ileum, kolon, 8B: tiroid | cAMP | Dipiridamol |
| 9 | Dalak, ince barsak, beyin | cGMP | Zaprinast |
| 10 | Beyin(putamen, kaudat nukleus) | cAMP cGMP | IBMX |
| 11 | İskelet kası, prostat, testis, böbrek, karaciğer, hipofiz | cAMP cGMP | Zaprinast, Dipiridamol |

PDE₁ ailesi

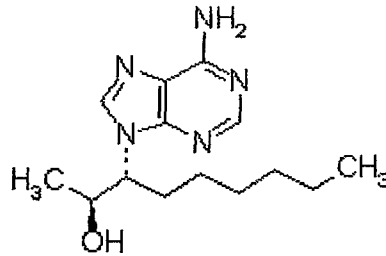
Klasik PDE₁'ler kalsiyum kalmodulin ile aktive olurlar (55). PDE₁'ler başta beyin ve kalp olmak üzere geniş dağılım gösterirler. Üç adet PDE₁ izoenzimi vardır; PDE_{1A}, PDE_{1B}, PDE_{1C} (96). PDE_{1A}, PDE_{1B} cGMP nin hidrolizine neden olurken PDE_{1C} cAMP ve cGMP yi eşit derecede hidrolize etmektedir. PDE_{1A} beyin ve lenfositlerde bulunmaktadır. Vinpocetin PDE₁'in başlıca inhibitörüdür (4). Damar genişletici özelliğe sahiptir.



Vinpocetin

PDE₂ ailesi

Bu enzim olfaktor nöron, adrenal korteks, beynin çeşitli bölgeleri ve korpus kavernosumda bulunur. Üç izoformu vardır. PDE₂ A₁, A₂, A₃. Günümüzde birkaç seçici inhibitörü bulunmuştur. Bunlardan bir tanesi erythro-9 (2-hydroxyl-3-nonyl) adenin (EHNA) dır. PDE₂ inhibitörlerinin anjina pektoris, hipertansiyon ve kalp yetmezliği tedavisinde rolü olduğu ileri sürülmektedir. Sildenafilin PDE₂'ler üzerine etkisi yoktur.

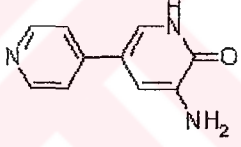
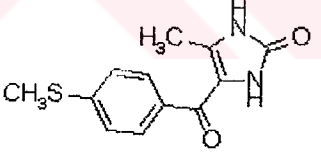
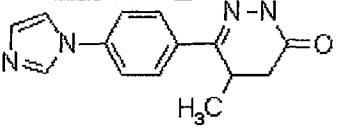
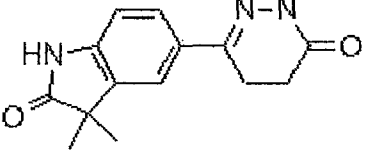
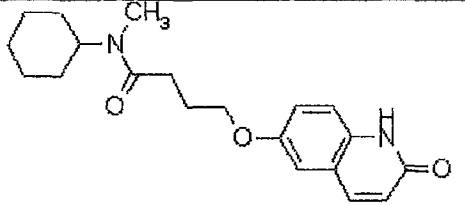


EHNA

PDE₃ ailesi

cAMP'ye yüksek afinite gösterir. İki izoformu vardır. PDE_{3A}, PDE_{3B}. Düz kas, trombosit ve kardiyak dokuda bulunur. PDE₃ ayrıca insan korpus kavernosumunda da bulunur ve sildenafil tarafından zayıf olarak inhibe edilir. PDE₃ inhibitörlerinin bronkodilatör, vazodilatör ve inotropik ajan olarak kullanım alanları vardır. İnotropik etkisinin intrasellüler Ca⁺⁺'da cAMP aracılı artış yolu ile olduğu düşünülmektedir. PDE₃ inhibitörleri amrinon, milrinon, enoksimon kalp yetmezliğinin akut kısa süreli intravenöz tedavisi için uygun görülmektedir. Diğer potansiyel kullanım alanları henüz tam olarak açıklanamayan T hücre modülasyonudur. PDE₃ inhibitörleri sinerjistik olarak T hücre reseptör aracılı sitokin yapımını ve mitojenik proliferasyonu inhibe etmektedir.

Tablo III : PDE₃ inhibitörleri

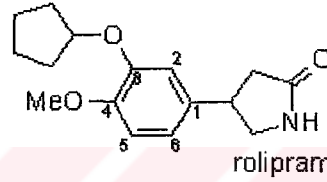
| KİMYASAL SINIF | ÖRNEK | YAPI |
|--------------------|------------|--|
| Bipiridinler | Amrinon |  |
| İmidazolonlar | Enoksimon |  |
| İmidazolinler | CI930 |  |
| Dihidropiridazinon | İndolidan |  |
| Dihidrokinolin | Silostamid |  |

PDE₄ ailesi

Astım ile ilişkili inflamatuvar hücrelerde lokalize izozimdir. cAMP'ye özgüdürler. Akciğer dokusunda cAMP'nin yükselmesi alerjik reaksiyonlarda hücrel yanıt için önemlidir. Astım tedavisinde kullanılan β adrenerjik blokörler havayolu düz kasını cAMP'ye bağımlı mekanizmalarla gevşetirler. Hava yolu düz kası PDE₄ inhibitörleri ile gevşer bu nedenle bronşial astımda kullanılır. β adrenoseptör agonistlerle karşılaştırıldığında tam bronkodilatördürler. PDE₄ inhibitörleri astımın klinik öncesi modellerinin büyük kısmında etkili bulunmuştur. Bronş daralmasını, pulmoner eozinofili ve antijenler tarafından tetiklenen bronşial aşırı yanıt verirliliği önlerler. PDE₄ inhibitörleri nötrofil, makrofaj ve CD₈ hücreleri gibi kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) progresyonu ile ilişkili inflamatuvar hücrelerin etkilerini önlerler. Bu etkilerini duysal sinir uçlarından salınan P maddesi ve nörokinin A gibi nörokininleri inhibe ederek gerçekleştirirler (60). Ayrıca süperoksit oluşumunu, kemotaksisi, nötrofil ve eozinofillerde degranülasyonu önlerler. PDE₄ inhibitörleri yeni bir sınıf antiinflamatuvar ilaç ve özellikle de astım için ilaç endüstrisinin ilgisini çekmektedir. En büyük problem beyinde veya beyin dışındaki kusma merkezlerini etkileyerek kusmaya neden olmalarıdır. Bu durum bazı yeni bileşiklerin klinik gelişimine engel olmaktadır. Bu grupta yer alan bazı ilaçlar şunlardır:

- 1- Ro 20-1724: Özellikle psöriatik hastalarda etkilidir. Beyin ve böbrekler PDE₃ den yoksun dokulardır. Buralarda cAMP hidrolizi büyük oranda PDE₄ izozimleri ile yapılmaktadır. Ro 20-1724 böbrekteki PDE₄'lerin güçlü bir inhibitörüdür (115).
- 2- Rolipram: Yapısal olarak Ro 20-1724'e benzer. Farklı olarak adenosin uptake'i üzerine etkisi yoktur. Antidepresan özelliğe sahiptir.
- 3- Denbufilin
- 4- BAY 19-8004: Bronkoalveoler lavajda polimorfonükleer lökositlerin artışını önlediği gösterilmiştir. Astım ve KOA için geliştirilme aşamasındadır (63).

- 5- CP 80633: Topikal uygulanarak atrofik dermatitli hastaların deri lezyonlarındaki inflamasyonu azaltır.
- 6- Silomilast (Ariflo): 15 mg dozda günde 2 kez KOAH hastalarına uygulandığında yavaş yavaş, sürekli ve tatmin edici düzelmeler sağlar.
- 7- RP 73401 (Piklomitast): Romatoid artritte faydalı bulunmuştur. $TNF\alpha$, İL-12 gibi gibi sitokinlerin yapımını suprese eder.
- 8- CDP 840: Güçlü PDE_4 inhibitörüdür. Yan etkileri olmadan astımın klinik modelinde etkilidir.
- 9- PD189659: Preklinik aşamadır. Antiinflamatuvar etkinliği vardır (116).



PDE_5 ailesi

cGMP bağlayan 93kD'luk iki alt üniteden oluşan homodimerdir. cGMP'ye bağlanma özelliği Tip 2'ye benzese de cGMP düzeyinin artması ile tip 5'in parçalayıcı aktivitesinin inhibe olduğu gösterilmemiştir. PDE_5 vasküler düz kasta bazal cGMP düzeyinin sürdürülmesinde görevli majör PDE izoformudur. PDE_1 ve PDE_2 'lere göre daha sınırlı doku dağılımı gösterirler. Özellikle vasküler düz kasta yaygındır.

Inhibitörleri:

Zaprinast (2-O-propoxyphenyl-8-azopurin-6-one): Zaprinastın diğer ksantin bileşikleri gibi PDE'leri inhibe ettiği gösterilmiştir. Lökosit ve mast hücrelerinden inflamatuvar mediatörlerin salıverilmesini inhibe eder (54). Disodyum kromoglikattan 20-50 kez daha az güçlüdür. Koroner arterlerde nitrovazodilatör ilaçların gevşetici etkilerini büyük oranda potansiyalize eder. Zaprinastın düz kaslarda NANK nitelikteki gevşemeleri potansiyalize ettiği gösterilmiştir.

Sildenafil: Seçici PDE_5 inhibitörüdür.

Vardenafil: Yeni geliştirilen yüksek afiniteli PDE₅ inhibitörüdür. Yapılan çalışmalarda PDE₅'i inhibe etmekte sildenafilden daha güçlü olduğu bulunmuştur (69).

Taladafil: Kimyasal yapısı sildenafilden önemli farklılıklar göstermektedir. PDE₆'ya diğer izoformlardan daha az etkilidir. Yarı ömrü 17,5 saattir. Alındıktan 24 saat sonra anlamlı aktiviteye sahiptir. Orta derecede yan etki profiline sahiptir. Vizüel yan etkileri bildirilmemiştir (45).

FR226807: N-(3,4-dimethoxybenzyl)-2-{[1R]-2-hydroxy-1-methyl} amino}-5-nitrobenzamid. Güçlü seçici PDE₅ inhibitörüdür. Penil ereksiyon üzerinde olumlu etkisi vardır (62).

KF-31327:(3-ethyl-8[2-(4-hydroxymethylpiperidino)benzylamino]-2,3-dihydro-1H-imidazo[4,5-9]quinazoline-2-thione dihydrochloride

PDE₆ ailesi

cGMP'ye özgül PDE izozimidir. Fotreseptör hücre-özgül fosfodiesteraz olarak tanımlanmaktadır. PDE₆'nın görme fonksiyonunda çok önemli rolü olduğu bilinmektedir (46).

PDE₇ ailesi

cAMP'ye özgül PDE izozimidir. PDE_{7A1} ve PDE_{7A2} olmak üzere iki alt grubu vardır. PDE₇ mRNA'sının geniş dağılımı olduğu gösterilmiştir. Daha çok T hücrelerinde bulunur. T hücre aktivasyonunda rolü olduğu ve seçici inhibitörlerinin T hücre aracılı hastalıklarda yararlı etkileri olabileceği düşünülmektedir. Buna ek olarak havayolu epitelyal hücrelerindeki PDE₇'lerin varlığı bunların inhibitörlerinin havayolu hastalıklarında yararlı etkileri olabileceğini düşündürmektedir (12).

PDE₈ ailesi

PDE_{8A} ve PDE_{8B} olmak üzere iki alt tipe ayrılır. Her ikisi de cAMP hidrolizi için seçicidir ve seçici olmayan inhibitör IBMX tarafından inhibe

edilmez. PDE_{8A} en yüksek oranda testislerde takiben de göz, karaciğer, böbrek, iskelet kası, embriyo, yumurtalık ve beyinde bulunurken PDE_{8B} tiroid bezinde yüksek oranda bulunur. Daha düşük olarak beyin, böbrek, pankreas, spinal kord, plasenta, prostat ve uterusunda bulunur (105).

PDE₉ ailesi

cGMP'nin hidrolizi için seçicidir. IBMX tarafından etkili olarak inhibe edilemez. Yüksek oranda ince barsak düz kasında bulunur. Ayrıca, böbrek, karaciğer, akciğer, beyin, testis, iskelet kası, dalak, kalp ve timusta bulunduğu tespit edilmiştir. Günümüzde PDE₉'un 5 varyantı tespit edilmiştir. Fakat fonksiyonel rolleri henüz bilinmemektedir (105).

PDE₁₀ ailesi

IBMX tarafından inhibe edilir. cAMP ve cGMP'nin her ikisini de hidrolize eder.

2.7 PURİNERJİK SİSTEM

Ekstrasellüler purinler [adenozin, adenosin 5 trifosfat (ATP), adenosin 5 difosfat (ADP)] ve pirimidinler [uridin difosfat (UDP), uridin trifosfat (UTP)] purin reseptörleri diye adlandırılan hücre yüzey reseptörleri aracılığıyla çeşitli biyolojik etkilerini oluşturan, omurgalı ve omurgasızlarda gelişim, proliferasyon ve farklılaşma, hücre ölümü, hormon ve nörotransmitter salıverilmesi gibi bir çok olayda anahtar rol oynayan özgül maddelerdir (32, 100).

Purinerjik iletişimin fizyolojisindeki değişiklikler immun sistem hastahkları, inflamasyon, ağrı, nörodejeneratif bozukluklar ve osteoporoz gibi bir çok patolojinin meydana gelmesine neden olabilir (1).

Purinerjik sistem hakkındaki ilk yayınlar 1929 yılında Drury ve Szent Gyorgyi tarafından ekstrasellüler adenin bileşiklerinin fizyolojik aktivitesinin tanımlanması ve memeli kalbinde bunların etkileri olduğunun ileri sürülmesiyle başlamıştır.

1950'de Green ve Stoner "Purin nükleotid ve nükleosidlerinin kardiyovasküler etkisi" adlı bir kitap yayımladılar.

1959'da Holton, duyuşal sinirlerin antidromik stimölasyonu sırasında ATP salıverildiğini ve tavşan kulak arterinde vazodilatasyona sebep olduğunu gösterdi.

1963'de Berne, adozinin koroner kan akımında fizyolojik düzenleyici olabileceğini ileri sürdü.

1970'de Satin ve Rall tarafından adozinin ekstrasellüler sinyal iletişimde gerekli olabileceğini ileri sürüldü.

1972'de Burnstock, ATP'nin gastrointestinal sistem ve mesane düz kasının NANK yanıtında gerekli olan bir nörotransmitter olabileceğini ileri sürdü.

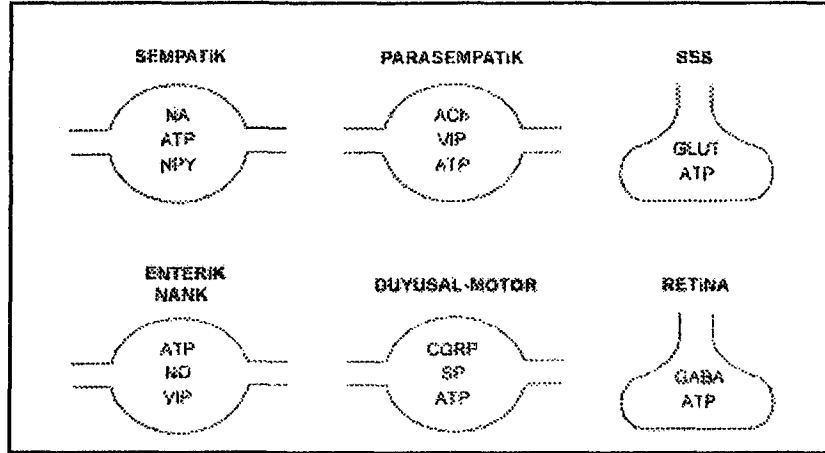
1976'da Burnstock, "Bazı sinirler birden fazla nörotransmitter salabilir mi?" adlı makalesini "Commentary in Neuroscience" adlı dergide yayımladı.

1978'de Burnstock, purinerjik reseptörleri P_1 ve P_2 olmak üzere iki majör gruba ayırdı.

1980'de Furchgott ve Zawadski, endotelyal hücreler üzerindeki purinerjik ATP reseptörlerinin EDRF salıverilmesinde aracılık ettiğini gösterdiler.

1985'de; Burnstock, P_2 reseptörleri P_{2x} ve P_{2y} olmak üzere iki büyük gruba ayırdı (31).

Çok sayıda deney ATP'nin klasik transmitter ve nöropeptidlerle beraber bir çok majör sinir tipinde kotransmitter olduğunu düşündürmektedir (1,109). ATP, adrenerjik sinir uçlarında noradrenalin ve nöropeptid Y ile, kolinerjik sinir uçlarında ise asetilkolin ile birlikte kotransmitter olarak bulunmaktadır. Duyusal motor sinirlerde kalsitonin geni ilişkili peptid (cGRP) ve P maddesinin beraber bulunduğu bilinmektedir. ATP bu sinirlerde kotransmitterdir (Şekil 9) (30).

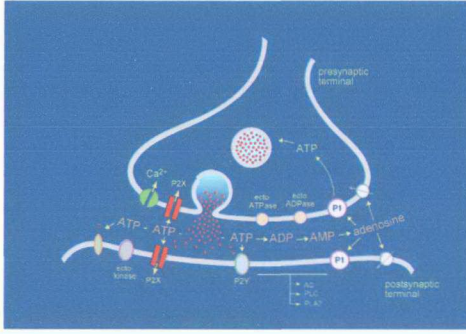


Şekil 9: Purinerjik kotransmisyon

Barsakta NANK inhibitör nörotransmisyonunda ATP'nin de rol aldığı ilk defa 1970 yılında gösterilmiştir (1).

Şu an için geçerli görüş ATP, VIP ve NO muhtemelen NANK inhibitör sinirlerde kotransmitter olduğu yönündedir. Genel prensip kotransmitterlerin sinerjistik olduğu yönündedir (31).

Purinerjik nöronlarda ATP sentezlemeye yarayan bir enzim sistemi mevcuttur (29). Purinler aktif olarak hücre içine alınır ve hızla nükleotidlere dönüşürler (8). ATP sentezlenip salıverildikten sonra süratle Mg'a bağlı ATPaz ve 5' nukleotidaz enzimleri ile hidrolize olur ve en son adenozone dönüşür (39). Adenozin de ya inaktif ürünlere dönüşür ya da purinerjik sinir ucu tarafından geri alınarak tekrar ATP sentezinde kullanılır (Şekil 10). 5' nukleotidaz enzimi gastrointestinal kanalda yüksek derişimlerde bulunurken, purinerjik sinir liflerinin uçlarına yakın düz kas hücrelerinin membranında Mg'a bağımlı ATPaz enzimi vardır (29). Purinerjik sinirlerin uyarılması veya dışarıdan ATP uygulanması durumlarında meydana gelen yanıtların kısa sürede maksimuma ulaşp çabuk kaybolması ATP'nin hızlı parçalandığının göstergesidir (113). ATP normal koşullarda hücrede 2-10 mmol derişim aralığında bulunur (112).



Şekil 10: ATP metabolizması

2.7.1 PURİNERJİK RESEPTÖRLER

ATP, adenozin ve analogları etkilerini 2 tip (P_1 ve P_2) purinerjik reseptör aracılığıyla gösterirler (123).

P_1 ve P_2 reseptörler sınıflandırılırken 4 kriter göz önünde bulundurulur (1).

- 1- ATP, ADP, AMP ve adenzinin rölatif gücü
- 2- Antagonistlerin özellikle metilksantinlerin seçici etkisi
- 3- Adenozin tarafından intrasellüler cAMP seviyesindeki değişikliklerle adenilat siklazin modülasyonu
- 4- ATP tarafından prostaglandinlerin sentezinin indüksiyonu

P_1 reseptörler; moleküler, biyokimyasal ve farmakolojik özelliklerine göre 4 alt tipe ayrılırlar. A_1 , A_{2A} , A_{2B} , A_3 (40).

Moleküler yapıları ve transdüksiyon mekanizmalarındaki farklılıktan dolayı P_2 reseptörler P_{2x} ve P_{2y} olmak üzere 2 gruba ayrılırlar. Bugün için P_{2x} reseptörlerinin 7 alt tipi (P_{2x1-7}) ve P_{2y} reseptörlerinin 5 alt tipi ($P_{2y1,2,4,6,11}$) tanımlanmıştır (67).

P₁ RESEPTÖRLER;

Heptohelikal G proteine bağlı reseptör (GPCR) üst ailesinin üyesidirler (94). Memeli dokularında kalp, düz kas, böbrek, testis, trombosit, lökosit, adiposit ve SSS'nde heterojen olarak dağılmışlardır. Adenozin tarafından aktive olurlar. Alt tipleri şunlardır.

A₁ RESEPTÖRLER

Özellikle SSS' nde bulunurlar. Serebral korteks, hipokampus, serebellum ve spinal kordda yüksek yoğunlukta bulunurlar (100).

A₁ reseptörler hücre gövdelerinde ve aksonlarında pre ve postsinaptik olarak yerleşmişlerdir. Transmitter salıverilmesini azaltarak nörotransmisyonun inhibisyonuna aracılık ederler. A₁ reseptörler; cAMP oluşumunun inhibisyonu, K⁺ kondüktansının stimülasyonu, N-kanal aracılı Ca⁺⁺ kondüktansının inhibisyonu, fosfolipaz C üretiminin stimülasyonu, NO üretiminin düzenlenmesine aracılık ederler. Böbrekte A₁ reseptör aktivasyonu özellikle aferent arteriolde vazokonstriksiyona neden olur. Glomerüler filtrasyon hızında azalma ve renin sekresyonunda azalma meydana gelir (95).

A₁ reseptörlerin en önemli rolü, kan damarlarının tonusunun düzenlenmesidir (51). Pankreatik β hücreleri üzerindeki A₁ reseptörleri insülün sekresyonunun inhibisyonuna aracılık ederler (61). Kalpte, beyinde ve böbrekte iskemi veya reperfüzyon injurisi sırasında adenozinin koruyucu etkisine aracılık ederler (117). Spinal kordda ve periferde kapsaisin duyarlı nöronlardan kalsitonin geni ile ilişkili peptid (cGRP)'nin salıverilmesinin inhibisyonuna aracılık ederler (102).

Agonistleri;

1- CPA (N-cyclopentyladenosine): Kardiyoprotektif ve serebroprotektif etkiye sahiptir. Akut verildiğinde antikonvülsan özellik gösterir.

2-R-PIA[(R)-N-phenylisopropyladenosine]: Sıçanlarda antikonvülsan ve serebroprotektif aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir.

3- ADAC : Seçici A₁ reseptör agonistidir.

- 4- GR 79236 : Seçici A₁ reseptör agonistidir, CPA analogudur.
- 5- SDZ WAG 994: Oral yoldan etkili A₁ reseptör agonistidir. Kan basıncında herhangi bir değişiklik yapmadan bradikardi ve plazma renin aktivitesinde baskılanma yapar. Atrial hızı yavaşlatır.
- 6- NNCZ1-0136: Nöroprotektif özelliği vardır

Antagonistleri:

- 1- DPCPX
- 2- KFM 19
- 3- BG 9719
- 4- WRC-0571

A_{2A} RESEPTÖRLER

Trombositler, SSS, vasküler düz kas ve endotelyumda bulunurlar. Beyinde striatum, nukleus akkumbens ve olfaktor tuberkulde yoğunlaşmışlardır. Beyin dışında ise göz ve iskelet kası, kalp, akciğer, mesane ve uterusda bulunurlar. A_{2A} ve dopamin D₂ reseptörleri arasında negatif etkileşim bulunmuştur. Striatal membranda A_{2A} reseptör stimülasyonu dopamin D₂ reseptörüne bağlanan agonistin afinitesinin azalmasına neden olmaktadır (100). Bu durum Parkinson hastalığının tedavisinde A_{2A} reseptör antagonistlerinin kullanımına ait yeni bir tedavi yaklaşımı olabilir. Damarlarda A_{2A} reseptörleri düz kas ve endotelyumda bulunurlar. Vazodilatasyonla ilişkilidirler. Yapılan reseptör silme (knock out) çalışmalarında A_{2A} reseptörleri silinmiş farelerde lokomotor aktivitede azalma, sinirlilikte artma, hipoaljezi, kan basıncı ve kalp hızında artış, trombosit agregasyonunda artış görülmektedir (74).

Agonistleri

- 1- CGS 21680: Sıçan izole perfüze kalp modelinde koroner kan akımını artırır. Kan beyin engelini geçemez.
- 2- DPMA: Ortalama arteriyel basınçta dozla ilişkili azalma meydana getirir
- 3- APEC: Kan beyin engelini geçer. Nöroprotektif özelliği vardır.
- 4- HENECA: Vazodilatör özelliğe sahiptir (2).

Antagonistleri;

- 1- 8-(3-klorostyryl) kafein
- 2- KF-17837
- 3- DMPX
- 4- [³H] SCH 58261
- 5- SCG 63390

A_{2B} RESEPTÖRLER

Genel olarak bütün hücrelerde bulunurlar (42). Çekum, kalın barsak, barsak, mesanede daha yüksek derişimlerde bulunurlar. Fonksiyonel çalışmalarda A_{2B} reseptörlerinin solunum yolu düz kasında bulunduğu gösterilmiştir (49).

Agonistleri

Seçici agonisti yoktur

- 1- NECA
- 2- 2-CIADO
- 3- IB-MECA
- 4- R-PIA

Antagonistleri

- 1- Enprofilin
- 2- XAC
- 3- CGS 15943

A₃ RESEPTÖRLER

Testis, akciğer, böbrek, plasenta, kalp, beyin, böbrek, dalak, karaciğer, mesane ve uterusda bulunmaktadırlar. A₃ reseptörleri adenilat siklazın inhibisyonu ve sellüler inozitol trifosfat (IP₃) düzeyi ve intrasellüler Ca⁺⁺ düzeyinin artması ile ilişkilidirler.

Mast hücrelerindeki A_3 reseptörleri histamin gibi allerjik mediatörlerinin salıverilmesini düzenler. İnflamasyonda rolü vardır.

Agonistleri;

1-IB-MECA: Farelerde kollajenin indüklediği artrit modelinde eklem inflamasyonunun şiddetini azaltır. Postoklüzif serebral kan akımını düzeltir (2).

2- CI-IB-MECA: IB-MECA analogudur.

3- NNC 21-0238: Konvülsiyon ve serebral iskemi modellerinde koruyucu rolü olduğu düşünülmektedir.

Antagonistleri;

1- L-249313

2- MRS 1191

3- L-268605

4- MRS 1067

P₂ RESEPTÖRLER

P_2 reseptörler, ligand kapılı iyon kanalı (P_{2x}) ve G proteinine bağlı (P_{2y}) reseptörler olmak üzere 2 sınıfa ayrılırlar.

P_{2x} reseptörleri

P_{2x} reseptörlerin vas deferens, mesane, vasküler düz kasta bulunduğu ve kasılmaya aracılık ettiği gösterilmiştir (68). P_{2y} reseptörler ise vasküler endotelial hücrelerde bulunurlar. Gevşemeye aracılık ederler. Günümüzde P_{2x} reseptörlerinin 7 alt tipi (P_{2x1-7}) ve P_{2y} reseptörlerinin 5 alt tipi ($P_{2y1,2,4,6,11}$) farmakolojik olarak karakterize edilmiştir.

ATP ve UTP tarafından eşit olarak aktive edilen ve vücutta geniş dağılım gösteren P_{2u} reseptörleri, trombositlerde bulunan ve agregasyonda görevli P_{2T} reseptörleri, mast hücreleri ve lenfositlerde bulunan P_{2Z} reseptörleri ayırt edilmiştir (93).

P_{2x} RESEPTÖR ALT TIPLERİ

P_{2x1} reseptörler

P_{2x1} reseptör mRNA sı mesane, küçük arterlerin düz kası ve vas deferenste bulunmaktadır (100). Kan damarları düz kas hücrelerinde bulunan P_{2x1} reseptörleri nöronlardan salıverilen ATP tarafından aktive edilirler ve kan damarlarındaki kasılmaya aracılık ederler. İlginç olarak P_{2x1} reseptörleri silinmiş farelerde yapılan çalışmalarda kan basıncı normal bulunmuştur (91). P_{2x1} reseptörlerinin tek vasküler P_{2x} reseptörü olmadığı düşünülmektedir. P_{2x1} reseptörler 2 metiltio ATP (2 MeSATP), ATP ve α,β meATP tarafından aktive edilirler.

P_{2x2} reseptörler

Sinir sisteminde yaygın olarak bulunurlar (67). Myenterik nöron, mesane, beyin, spinal kord, superior servikal ganglion, adrenal medulla ve barsakta bulunmaktadır. 2MeSATP ve ATP γ S tarafından aktive edilirler. α,β meATP ve β,γ meATP'ye duyarsızdırlar. Yavaş desensitize olurlar.

P_{2x3} reseptörler

Çok sınırlı dağılım gösterirler. Sadece duyuşal nöronlarda (trigeminal, nodosa, dorsal kök ganglialar) bulunmaktadır. Agonistlerin aktive etmesine göre 2MeSATP >> ATP > α,β meATP şeklinde sıralanırlar. Hızlı desensitizasyon gelişir.

P_{2x4} reseptörler

Beyin, spinal kord, duyuşal ganglia, superior servikal ganglion, akciğer, bronşial epitelyum, timus, mesane, tükürük bezlerinin asiner hücreleri, adrenal gland, testis ve vas deferenste bulunmaktadır. En fazla 2 MeSATP tarafından aktive olur. α,β meATP zayıf etkili veya etkisizdir. Suramin ve piridoksalfosfat-6-azofenil-29,49-disülfonik asit (PPADS)'ye duyarsızdır.

P_{2x5} reseptörler

Servikal spinal kordun ventral boynuzunun motor nöronlarında ve trigeminal dorsal kök ganglionlarındaki nöronlarda bulunurlar. Agonistlerin aktive etmesine göre ATP>2MeSATP>ADP dir. α,β meATP etkisizdir. Hızlı desensitizasyon göstermez. Suramin ve PPADS tarafından bloke olurlar.

P_{2x6} reseptörler

Trigeminal, dorsal kök ve servikal gangliada ve spinal kordun lamina IX spinal motor nöronlarında bulunurlar. Aktive etmelerine göre agonistlerin etki gücü ATP>2MeSATP>ADP şeklindedir. α,β meATP'nin etkisi yoktur.

P_{2x7} reseptörler

P_{2x} reseptör ailesinin atipik bir üyesidir. Mast hücrelerinde ve makrofajlarda yaygın olarak çalışılmıştır. P_{2x7} reseptörlerinin uzun süreli aktivasyonu karışık bir intrasellüler süreç olan apoptozisi (programlanmış hücre ölümü) tetikleyebilir. ATP analogu BzATP tarafından tam aktive edilirler. Fizyolojik fonksiyonu tam açık değildir. KN62 kalsiyum-kalmodullin bağımlı protein kinaz-II nin inhibitörüdür. KN62 insan P_{2x7} reseptörünün güçlü non-kompetitif antagonistidir.

P_{2y} RESEPTÖRLER

P_{2y} reseptörlerinin hepsi G proteine bağlı reseptör (GPCR) ailesinin üyesidirler. Purinler ve pirimidinler tarafından aktive olurlar.

P_{2y1} ve benzeri reseptörler

Kalp, vasküler, konnektif, immün ve nöronal dokularda bulunurlar. Vasküler endotelyum ve düz kas hücrelerindeki P_{2y1} benzeri reseptörler vasküler tonusun düzenlenmesinde rol alırlar. Bir çok kan damarında P_{2y1} benzeri reseptörler endotelyumda bulunurlar ve eNOS'ın Ca⁺⁺'a bağımlı aktivasyonu ve EDRF yapımı tarafından oluşturulan vazodilatasyona aracılık ederler.

Endotelyal prostasiklin yapımı P_{2y1} benzeri reseptörler tarafından stimüle edilir. Fakat vazodilatasyonda çok az rolü vardır. Uridin nükleotidleri (UTP,UDP) bu reseptörlere etkisizdir.

P_{2y2} reseptörler

Geniş olarak dağılmışlardır. Fakat fizyolojik önemi hakkında çok az bilgi vardır. Yapılan fonksiyonel çalışmalarda astrositlerde, farklı kan hücrelerinde, kromafin hücrelerde, endotelyal ve epitelyal hücrelerde, silial hücrelerde, hepatosit, keratinosit, miyosit ve fibroblastlarda, pankreatik β hücrelerde, pitutier hücrelerde bulunduğu gösterilmiştir. Damarlarda genelde endotelyumda bulunurlar. ATP ve UTP tarafından aktive edilirler.

P_{2y4} reseptörler

Uridin nükleotid özgül reseptörleridir. UTP için yüksek seçicidirler. ATP, antagonist ve parsiyel agonist olarak davranır. Sınırlı dağılım gösterirler. Plasentada ve düşük düzeylerde de akciğerlerde bulunurlar. Suramin tarafından bloke edilemezler.

P_{2y6} reseptörler

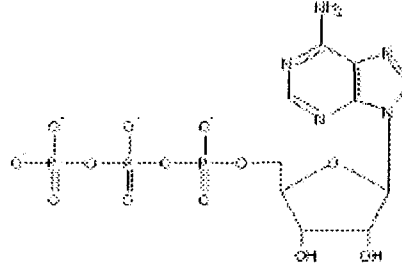
Uridin nükleotid spesifik reseptörleridir. En fazla UDP tarafından aktive olurlar. Plazenta, timus, akciğer, mide, barsak, dalak, mezenter, kalp ve aortada bulunurlar.

P_{2y11} reseptörler

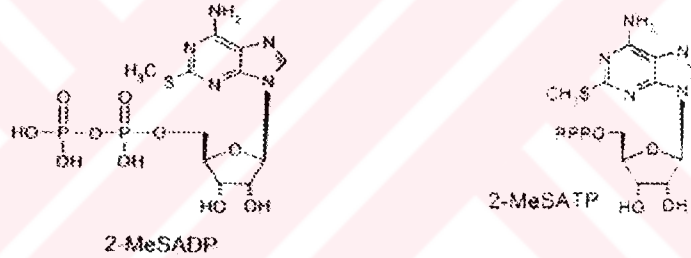
En fazla ATP tarafından aktive edilirler. UTP ve UDP etkisizdir. Dalakta ve HL-60 hücrelerinde bulunduğu gösterilmiştir.

P₂ reseptör agonistleri:

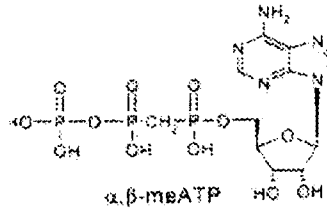
1- ATP : Seçici olmayan P₂ reseptör agonistidir.



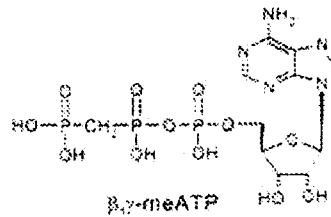
2- 2-Methylthio ATP (2MeSATP) ve 2- Methylthio ADP (2 MeSADP): 2MeSATP hem P_{2x} hem P_{2y} reseptörler için güçlü agonisttir. P_{2x1} ve P_{2x3} reseptörler için ATP'den daha güçlüdür. 2MeSATP endotelial P_{2y1} reseptörleri yolu ile etki eder. NO saliverilmesi ile vasküler düz kas gevşemesi yapar.



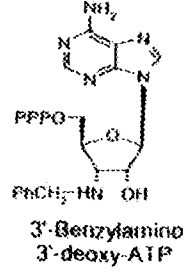
3- Alfa-beta metilen ATP (α,β meATP) : P_{2x1} ve P_{2x3} reseptör alt tiplerine seçicidir. P_{2y} reseptörlerine zayıf etkili veya etkisizdir.



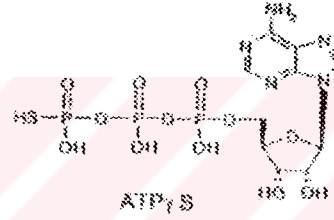
4- Beta-gamma metilen ATP (β,γ meATP) : ATP nin stabil analogudur.



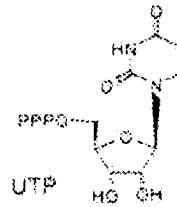
5- 3' Benzilamino-3' deoksi ATP : Güçlü P_{2x} reseptör agonistidir



6- Adenosin 5'-O-(3-thiotrifosfat) (ATP_γS) : Çeşitli P_{2x} ve P_{2y} alt tiplerine güçlü agonisttir.



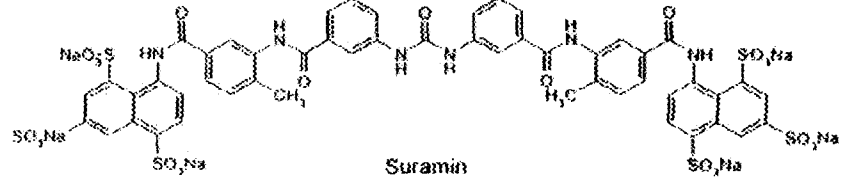
7- UTP ve UDP : P_{2y2} reseptörleri üzerine UTP ATP'ye eşit etkinlik gösterir. P_{2y4} reseptörlerinde ise UTP ve UDP ATP'ye eşit etkinlik gösterir.



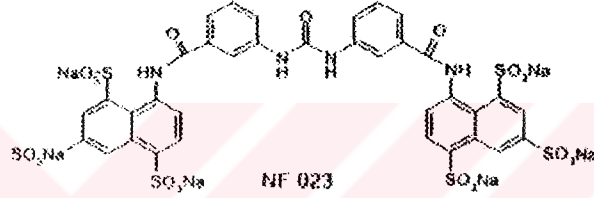
P₂ reseptör antagonistleri;

1- **Suramin:** (8-(3-benz-amido-4-methylbenzamido)-naphtelene-1,3,5-trisulfonic acid). Seçici olmayan P₂ reseptör antagonistidir. Tripanosidal ilaç olarak bir dönem kullanılmıştır. Suramin tarafından P_{2x} ve P_{2y} reseptörlerinde oluşturulan

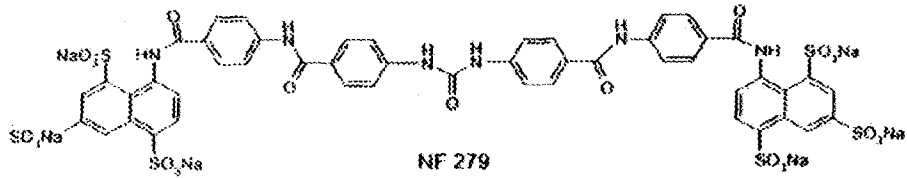
antagonizması rölatif olarak zayıftır. Antagonizma sıklıkla non-kompetitifdir. İnsan kan hücrelerinde ekto ATPazın non-kompetitif inhibitörüdür (2).



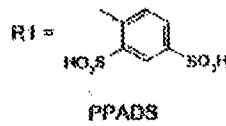
2- NF 023: Suramin tabanlı bir bileşiktir. P_{2x} reseptörlerine orta derecede seçici antagonisttir. Vas deferensdeki P_{2x1} reseptörlere 30 kat daha fazla özgüldür. Antagonizma kompetitif ve geri dönüşümlüdür (107).



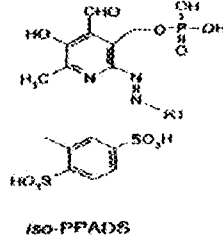
3- NF 279 : Suramin analogudur. Sıçan vas deferensinde P_{2x1} reseptör aracılı α,β meATP kasılmalarını bloklamada NF 023'ten 10 kez daha güçlü bulunmuştur (41).



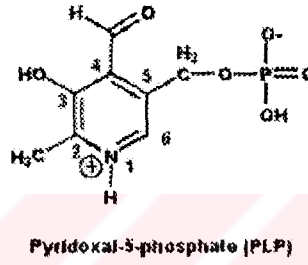
4- PPADS: P_{2x} selektif antagonistti olduğu ileri sürülmesine rağmen seçici olmayan P₂ reseptör antagonistti olarak kabul edilmelidir. Çeşitli düz kas preparatlarında endojen P_{2x1} reseptörlerinin geri dönüşümlü antagonistidir (84).



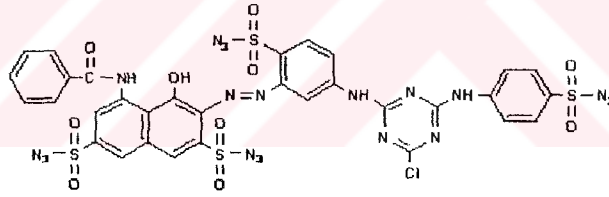
5- İso PPADS: PPADS'nin izomeridir.



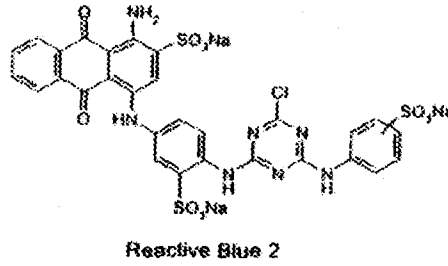
6- Piridoxal -5-fosfat (P5P): Seçici olmayan P_2 reseptör antagonistidir. P_{2x1} ve P_{2x4} reseptör aracılı yanıtları inhibe eder. PPADS'den daha az güçlüdür.



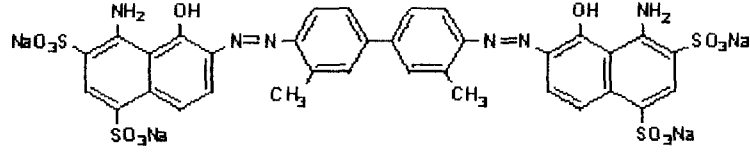
7- Reaktif kırmızı: P_{2y1} reseptörlerin kompetitif antagonistidir (24).



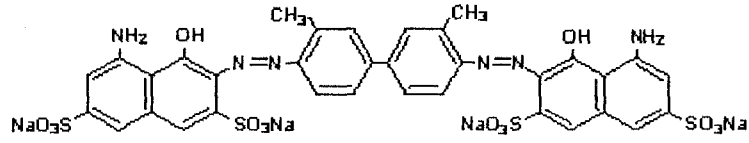
8- Reaktif mavi : Non-kompetitif P_2 reseptör antagonistidir. P_{2y6} 'lara P_{2y4} 'lerden daha güçlüdür. P_{2y2} reseptörlerine etkisizdir.



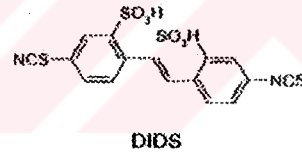
9- Evans mavisi: P_{2x1} reseptörlerin seçici antagonistidir (22).



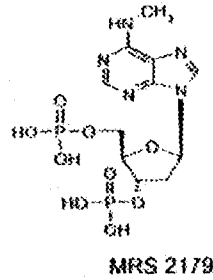
10- Trypan mavisi: Vas deferens P_{2x1} reseptörlerinin $\alpha\beta$ meATP aracılı kasılmalarını seçici olarak bloke eder (25).



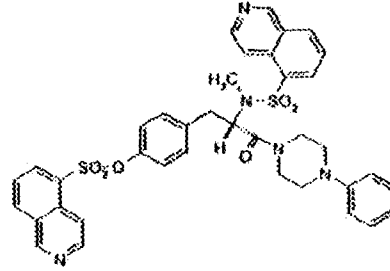
11- DIDS: Cl^- transport blokörüdür. P_{2x1} reseptörlerinin non-kompetitif pseudoirreversibl antagonistidir (21).



12- MRS 2179 ve diğer bifosfat analogları : P_{2y1} reseptörlerinin kompetitif antagonistidir.



13- KN-62: İsoquinolineine derivativesidir. Ca / kalmodulin bağımlı protein kinaz II seçici antagonistidir. P_{2x7} reseptörlerinin non-kompetitif antagonistidir.



KN-62

2.7.2 PURİNERJİK SİSTEMİN PATOFİZYOLOJİK OLAYLARDAKİ ROLÜ

1- Embriyonik gelişim

ATP ve adenosin yaşamın başlangıcı için anahtar rol oynamaktadır. ATP, sperm hareketliliği için zorunludur, kapasitasyon için tetikleyicidir.

2- Hücre proliferasyonu ve büyüme

Purin ve pirimidinler hücre siklusu yoluyla hücre büyümesini inhibe ederler. ATP yüksek derişimlerde hücre büyümesini inhibe etmektedir. Bu inhibisyonun S fazındaki hücrelerin ölümüne bağılı olduğu gösterilmiştir. Bu etki antikanser tedavide kullanılabilir.

3- İmmün hücre fonksiyonlarının düzenlenmesi

ATP ve adenosin immün hücreler üzerindeki reseptör alt tiplerinin aktivasyonu, sitokin maturasyonu ve salıverilmesi, doğal öldürücü (NK) hücre aktivasyonu, migrasyon, fagositoz gibi olaylarda önemli rol oynamaktadır.

4- Dış ve iç salgılardaki rolü

ATP ve UTP'nin her ikisi de Cl⁻ transportunu stimüle eder. Bu durum solunum yolu epitelinde önemli olaylara neden olmaktadır. P_{2y} reseptörleri Cl⁻

kanallarını ve K^+ salıverilmesini stimule, Na emilimini inhibe ederek sonuçta solunum yolu yüzeyine sıvı toplanmasına neden olurlar. Yapılan çalışmalar UTP'nin aerosol şeklinde uygulanmasının mukosilyer aktiviteyi artırdığını göstermektedir (92). ATP, gastrik asit sekresyonunu, parotis ve lakrimal asiner hücrelerden sekresyonu düzenlemektedir. ATP pankreasta P_{2y} reseptör aktivasyonu ile insülün salıverilmesine neden olmaktadır. β hücreleri üzerindeki P_{2y} reseptörleri yeni oral antidiabetik ilaçların gelişimi için hedef olabilir (124).

5- Epilepsi

Epilepsi aktivitesi sırasında beyin adenzin miktarında artış olmaktadır. P_{2x2} , P_{2x4} , P_{2x6} reseptörlerinin bulunduğu prepiriform korteks içine ATP analoglarının mikroiinjeksiyonu motor konvülsiyonlara neden olmaktadır. Bu nedenle P_{2x} reseptör antagonistleri antikonvülsan tedavi için yeni bir yaklaşım olabilir (124).

6- Stroke / iskemi

Direkt etkili adenzin reseptör agonistleri serebral iskemik hasarı azaltırlar. Buna zıt olarak adenzin reseptör antagonistleri fokal ve global serebral iskemi hayvan modelinde iskemik beyin hasarını artırırılar.

7- Parkinson Hastalığı

Davranışsal ve biyokimyasal bilgiler santral dopaminerjik ve purinerjik sistemler arasında etkileşim olduğunu desteklemektedir. Kafein gibi metilksantinler tek taraflı striatal lezyonu olan sıçanlarda dopamin agonistlerinin etkilerini potansiyalize etmektedir. Zıt olarak, adenzin agonistleri A_{2A} reseptör aktivasyonu ile dopaminin davranışsal etkilerini bloke edebilir. Adenzin A_{2A} reseptörleri striatum, nukleus akkumbens ve olfaktor tuberkulde yoğun olarak bulunmaktadır. Bu bölgeler dopamin D_1 ve D_2 reseptörlerin yoğun olarak bulunduğu yerlerdir. Adenzin A_{2A} reseptörleri ve dopamin D_2 reseptörleri bazal gangliadaki GABAerjik-enkefalinlerjik striatopallidal nöronlarda beraber

bulunmaktadırlar. Striatal adenozin sistemleri özellikle A_{2A} reseptörleri Parkinson Hastalığı gibi bazal ganglia bozukluklarında önemli rol oynamaktadırlar.

A_{2A} reseptör antagonisti KF 17837 MPTP verilen farelerde L-Dopa'nın antiparkinson etkisini diskinezi meydana getirmeden potansiyalize etmektedir.

8- Ağrı

ATP'nin derideki duyuşal sinir sonlanmalarını stimüle ettiği ve ağrıya duyarlığa neden olduğu bilinmektedir. P_{2x3} reseptörleri yüksek miktarda dorsal kök ganglionlarının duyuşal nöronlarında bulunmaktadır. Doku zedelenmesinden sonra ATP, hasarlı hücrenin sitoplazmasından ekstrasellüler aralığa salınır ve P_{2x3} reseptörlerini stimüle edebilir. Ağrı tedavisinde P_{2x3} reseptörleri yeni ilaçlar için hedef olabilir. ATP prostaglandin sentezini indüklemektedir. ATP'nin migrende rol aldığı bildirilmiştir. ATP'nin agregasyon sırasında trombositlerden salıverildiği ve migrende bu salıverilmenin arttığı tespit edilmiştir.

9- İnflamasyon

Adenozin, nötrofillerin toplanmasını ve vasküler endotelyuma yapışmasını inhibe eder. Proinflamatuvar sitokin üretimini azaltır. Nukleotid ve nukleosidlerin hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar özellikleri gösterilmiştir (124).

10- Diabetes Mellitus

ATP, P_{2y2} reseptörleri ile pankreatik insülin salıverilmesini stimüle eder. P_{2y} agonistleri antidiabetik ajan olarak kullanılabilir.

11- İlaç toksisitesi ve transplantasyon

Adenin nukleotidleri, adriamisin ve siklosporinin indüklediği sitotoksisiteyi azaltmaktadır. Yapılan çalışmalar karaciğer transplantasyonundan sonra greft yetmezliğini azalttığını göstermektedir.

12- İşitme

P_{2x2} reseptörlerinin kokleada bulunduğu tespit edilmiştir. Bunlar endotelyumun endolenfatik yüzeyinde bulunur. Ses iletimi ile ilişkili alanlarda bulunduğu tespit edilmiştir (64). ATP sıvı dengesini, koklear kan akımını, işitme duyarlılığını etkiler. Meniere hastalığı, tinnitus ve sensörinöral sağırılıkta yararlı olabilir.

13- Uyku

Adenozinlerin hipnotik ve sedatif etkileri iyi bilinmektedir. Adenozinin beyin içine direkt uygulanması EEG’de derin uykuda görülene benzer dalgalar görülmesine neden olmaktadır. REM uykusunda ve total uykuda artış meydana gelmektedir. Kafein REM’i baskılar ve total uyku zamanını azaltır.

14- Kanser

ATP nin kanser ve kanser kaşeksisi tedavisinde olumlu etkileri vardır. Glukoneogenezis inhibisyonu, proinflamatuvar sitokinler, İL-1 ve İL-6’nın yapımını azaltırlar. ATP’nin meme tümör hücre büyümesini azalttığı in vitro olarak gösterilmiştir (3).

15- Kemik fonksiyonları:

Osteoklastlarda P_{2x} ve P_{2y} reseptörleri bulunurken osteoblastlarda P_{2y} reseptörleri bulunmaktadır. ATP, osteoklastların oluşumunu ve bunların rezorbe edici etkisini uyarır ve osteoblastlara bağlı kemik oluşumunu inhibe eder. P_2 reseptör fonksiyonlarının düzenlenmesi osteoporoz, romatoid artrit, peridontit ve osteopeni gibi hastalıkların tedavisinde yararlı olabilir.

16- Genitoüriner sistem:

ATP, mesane detrusör kasında P_{2x} reseptörleri aktive ederek kasılmaya neden olur. Detrusör fonksiyon bozukluğu yaşlı bayanlarda görülen idrar kaçırma bozukluğunun en önemli sebebidir. Miksiyonda gerekli olan üretral gevşeme için

NO ve ATP beraber görev alırlar. NO, gevşemenin birinci fazına aracılık ederken ATP ikinci fazına aracılık etmektedir. P_{2x} reseptör antagonistlerinin idrar kaçırma tedavisinde yararlı olabileceği düşünülmektedir. **Sıçan vas deferens düz kasında P_{2x} reseptörlerin ejakülasyonda rol oynadığı ileri sürülmektedir (76).** P_{2x} reseptörleri silinmiş (knock out) farelerde fertilitenin %90 oranında azaldığı gösterilmiştir (91). Bu durum ejakülattaki sperm sayısının % 60 oranında azalmasına bağlanmıştır. Penis kan damarları ve korpus kavemosumda bulunan P_{2x} reseptörlerinin erektil fonksiyonda rolü olduğu ileri sürülmektedir. ATP'nin korporal düz kas üzerine etkisi tonusa bağlıdır. Yüksek bazal tonusta korporal düz kasta gevşemeye neden olurken düşük bazal tonusta kasılmaya yol açmaktadır.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Deney Hayvanı Etik Kurulu'nun 16.07.2001 tarih ve 10/53 sayılı kararı ile onay alındıktan sonra deneylere başlandı.

Çalışmada, ağırlıkları 250-350 gram arasında değişen standart yem ve çeşme suyu ile beslenen, sıcaklığı ve bağıl nemi sabit aynı odada 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda tutulan erkek Wistar sıçanlar kullanıldı. Çalışma süresince deney hayvanı çalışmalarını hakkındaki Helsinki 1983 Bildirisine bağlı kalındı.

Deneyler termosirkulator (Harvard AH50-1940) tarafından sağlanan 37°C sabit sıcaklıkta 40 ml.'lik çift ceketli cam organ banyolarında yapıldı. Banyolardaki besleyici solüsyon %95 O₂ + %5 CO₂ karışımı ile gazlandırıldı. Preparatlardan elde edilen yanıtlar Grass izometrik transduser (model FT03) aracılığı ile Grass Poligraf (model 7A)'da kaydedildi.

3.1 Kullanılan besleyici solüsyon ve ilaçlar;

Besleyici Solüsyon:

Deneylerde besleyici solüsyon olarak **Krebs Henseleit** solüsyonu kullanıldı. İçeriği ; NaCl : 6,9 g/L, KCl: 0,35 g/L, CaCl₂: 0,28 g/L, MgSO₄ : 0,14 g/L, NaHCO₃: 2,09 g/L, KH₂PO₄: 0,16 g/L, glukoz: 1,09 g/L.

Kullanılan ilaçlar

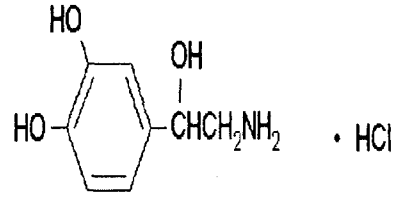
1- Noradrenalin HCl (Sigma)

Alfa adrenerjik agonist

Kapalı formülü: $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$

Molekül ağırlığı: 205.6

Kimyasal formülü



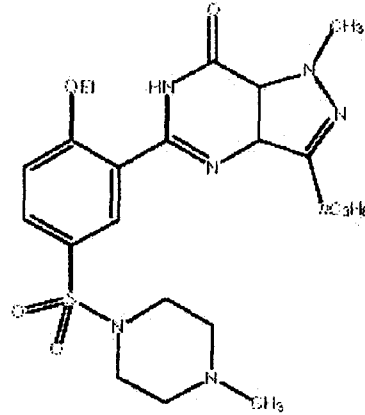
2- Sildenafil sitrat (Fako, Türkiye)

Fosfodiesteraz enzimi tip 5 (PDE₅) seçici inhibitörü

Kapalı formülü: $C_{22}H_{30}N_6O_4S$

Molekül ağırlığı :666

Kimyasal formülü:



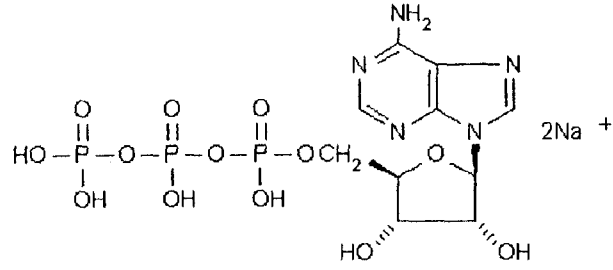
3- Adenozin 5 trifosfat disodyum tuzu (ATP) (Sigma);

Seçici olmayan P₂ purinerjik reseptör agonisti

Kapalı formülü: C₁₀H₁₄N₅Na₂O₁₃P₃

Molekül ağırlığı: 551.1

Kimyasal formülü:



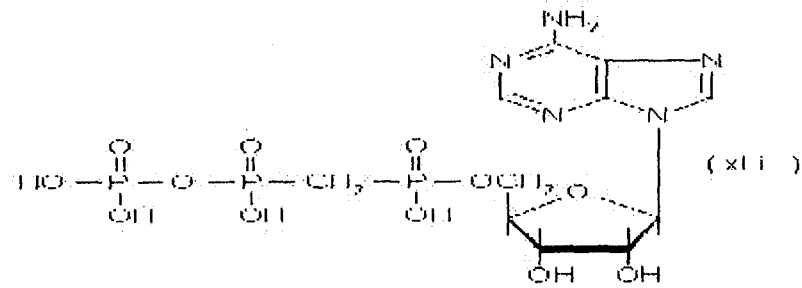
4- α,β -Metileneadenosin 5'-trifosfat lityum tuzu (α,β meATP) (Sigma)

Seçici P_{2x} purinerjik reseptör agonisti

Kapalı formülü: C₁₁H₁₈N₅O₁₂P

Moleküler ağırlığı: 505.2

Kimyasal formülü:



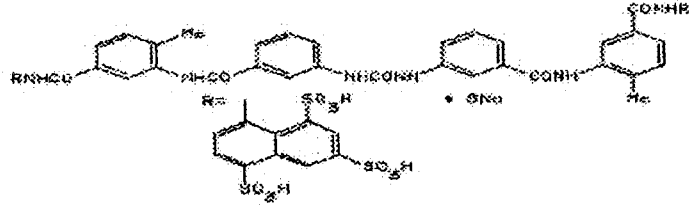
5-Suramin heksasodyum tuzu (Bayer, Almanya)

Seçici olmayan P₂ purinerjik antagonisti

Kapalı formülü: C₅₁H₃₄N₆Na₆O₂₃S₆

Molekül ağırlığı: 1429

Kimyasal formülü



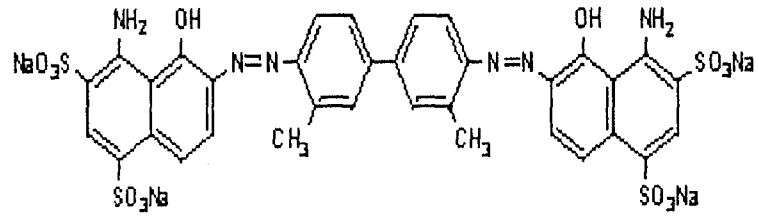
6-Evans Mavisi (Sigma)

Seçici P_{2x} purinerjik reseptör antagonisti

Kapalı formülü: C₃₄H₂₄N₆Na₄O₁₄S₄

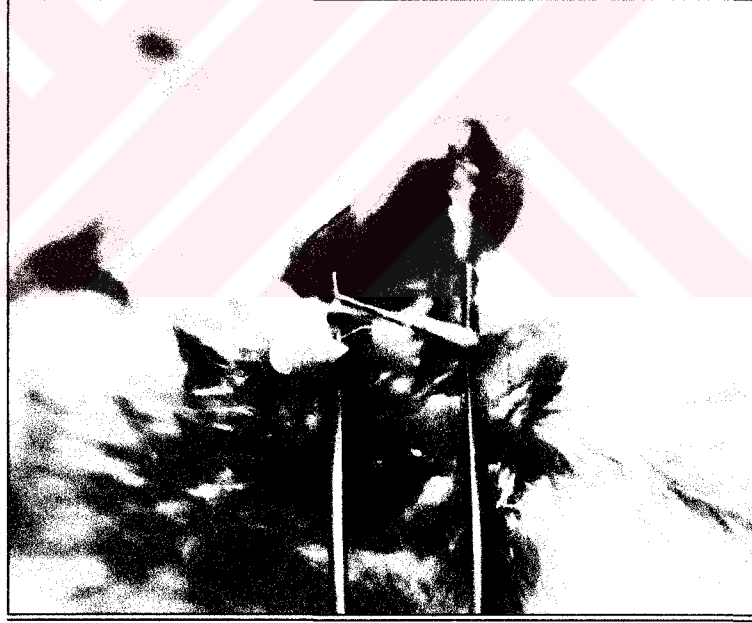
Molekül ağırlığı: 960.8

Kimyasal formülü



3.2 Cerrahi Yöntem

Sıçanlar eter ile uyutulduktan sonra median kesi ile abdominal kaviteye girildi. Skrotum içeriği dışarıya alındıktan sonra iki taraflı olarak vas deferensler çıkarıldı (Şekil 11). İçinde Krebs Henseleit solüsyonu olan petri kutularına kondu. Vas deferensler, çevresindeki yağ ve fasialardan temizlendikten sonra orta noktalarından kesilerek epididimal ve prostatik kısımlarına ayrıldı. Hazırlanan preparatlar 5/0 ipek sutur ile bir ucu izometrik transdusere bağlı olacak şekilde organ banyosuna asıldı. Preparatlara 1 gram'lık istirahat gerilimi uygulandı. Bir saatlik dengelenme periyodundan sonra deney protokolleri uygulandı.



Şekil 11 : Vas deferensin çıkarılması

3.3 Deney Protokolleri

3.3.1. NORADRENALİNİN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİ

Prostatik kısım;

Vas deferensin prostatik kısmında noradrenalinin etkisi 6 preparatta incelendi. 10^{-5} M derişimde noradrenaline kontrol yanıtı alındıktan sonra deneylere başlandı. Noradrenalin 10^{-8} - 10^{-5} M derişim aralığında kümülatif olarak preparatlara uygulandı. Her bir ilaç derişiminin yanıtı doruk değerine ulaştıktan sonra bir diğer derişim uygulandı. Daha sonra preparatlar yıkayıp dinlendirilmeye bırakıldı.

Epididimal kısım;

Vas deferensin epididimal kısmında noradrenalinin etkisi 6 preparatta incelendi. 10^{-5} M derişimde noradrenaline kontrol yanıtı alındıktan sonra deneylere başlandı. Noradrenalin 10^{-8} - 10^{-5} M derişim aralığında kümülatif olarak preparatlara uygulandı. Her bir ilaç derişiminin yanıtı doruk değerine ulaştıktan sonra bir diğer derişim uygulandı. Daha sonra preparatlar yıkayıp dinlendirilmeye bırakıldı.

3.3.1.1 NORADRENALİNİN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİNİN SİLDENAFİL, SURAMİN ve EVANS MAVİSİ' nin VARLIĞINDA DEĞERLENDİRİLMESİ

3.3.1.1.1. Sildenafil varlığında Noradrenalin yanıtları

Prostatik kısım:

Vas deferensin prostatik kısmında noradrenaline kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Daha sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında sildenafil varken noradrenaline kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Preparatların sildenafille 20 dakika temas etmesi sağlandı.

Epididimal kısım:

Vas deferens epididimal kısmında noradrenaline kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Daha sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında sildenafil varken noradrenaline kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Preparatların sildenafille 20 dakika temas etmesi sağlandı.

3.3.1.1.2. *Suramin varlığında noradrenalin yanıtı*

Prostatik kısım:

Vas deferensin prostatik kısmında noradrenaline kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Daha sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında suramin varken noradrenaline kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Preparatların suraminle 20 dakika temas etmesi sağlandı.

Epididimal kısım:

Vas deferens epididimal kısmında noradrenaline kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Daha sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında suramin varken noradrenaline kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Preparatların suraminle 20 dakika temas etmesi sağlandı.

3.3.1.1.3. *Evans Mavisi varlığında Noradrenalin yanıtı*

Prostatik kısım:

Vas deferensin prostatik kısmında noradrenaline kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Daha sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında Evans mavisi varken noradrenaline kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Preparatların Evans mavisiyle 20 dakika temas etmesi sağlandı.

Epididimal kısım:

Vas deferensin epididimal kısmında noradrenaline kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Daha sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında Evans

mavisi varken noradrenaline kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Preparatların Evans mavisiyle 20 dakika temas etmesi sağlandı.

3.3.2. ADENOZİN 5' TRİFOSFAT (ATP) NİN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİ

Prostatik kısım;

Vas deferensin prostatatik kısmında ATP'nin etkisi 6 preparatta incelendi. 10^{-4} M derişimde ATP'ye kontrol yanıtı alındıktan sonra deneylere başlandı. ATP 10^{-6} - 10^{-3} M derişim aralığında kümülatif olarak preparatlara uygulandı. Daha sonra preparatlar yıkanıp dinlendirilmeye bırakıldı.

Epididimal kısım;

Vas deferensin epididimal kısmında ATP'nin etkisi 6 preparatta incelendi. 10^{-4} M derişimde ATP'ye kontrol yanıtı alındıktan sonra deneylere başlandı. ATP 10^{-6} - 10^{-3} M derişim aralığında kümülatif olarak preparatlara uygulandı. Daha sonra preparatlar yıkanıp dinlendirilmeye bırakıldı.

3.3.2.1 ATP'NİN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİNİN SİLDENAFİL, SURAMİN ve EVANS MAVİSİ' nin VARLIĞINDA DEĞERLENDİRİLMESİ

3.3.2.1.1 *Sildenafil varlığında ATP yanıtı*

Prostatik kısım:

Vas deferensin prostatik kısmında ATP'ye 10^{-6} - 10^{-3} M aralığında kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Daha sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında sildenafil varken ATP'ye kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Preparatların sildenafille 20 dakika temas etmesi sağlandı.

Epididimal kısım:

Vas deferensin epididimal kısmında ATP'ye kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Daha sonra sildenafil 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında ortamda varken ATP'ye kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Preparatların sildenafille 20 dakika temas etmesi sağlandı.

3.3.2.1.2 *Suramin varlığında ATP yanıtı*

Prostatik kısım;

Vas deferensin prostatik kısmında ATP'ye kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Daha sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında suramin varken ATP'ye kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Preparatların suraminle 20 dakika temas etmesi sağlandı.

Epididimal kısım;

Vas deferensin epididimal kısmında ATP'ye kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Daha sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında suramin varken ATP'ye kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Preparatların suraminle 20 dakika temas etmesi sağlandı.

3.3.2.1.3 *Evans mavisi varlığında ATP yanıtı*

Prostatik kısım;

Vas deferensin prostatik kısmında ATP'ye kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Daha sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında Evans mavisi varken ATP'ye kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Preparatların Evans mavisiyle 20 dakika temas etmesi sağlandı.

Epididimal kısım;

Vas deferensin epididimal kısmında ATP'ye kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Daha sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında Evans mavisi varken ATP'ye kümülatif derişim-yanıt eğrisi elde edildi. Preparatların Evans mavisiyle 20 dakika temas etmesi sağlandı.

3.3.3 ALFA BETA METİLEN ATP (α,β meATP)' NİN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİ

Prostatik kısım;

Vas deferensin prostatik kısmında α,β meATP'nin etkisi 5 preparatta incelendi. α,β meATP $3\mu\text{M}$ derişimde tek doz olarak preparatlara uygulandı. α,β meATP'ye hızlı desensitizasyon geliştiği bilindiği için yanıt alındıktan sonra süratle ortamdan uzaklaştırıldı. Preparatlar yıkandıktan sonra dinlenme süresi 1 saat olarak belirlendi.

Epididimal kısım;

Vas deferensin epididimal kısmında α,β meATP'nin etkisi 5 preparatta incelendi. α,β meATP $3\mu\text{M}$ derişimde tek doz olarak preparatlara uygulandı. Preparatlar yıkandıktan sonra dinlenme süresi 1 saat olarak belirlendi.

3.3.3.1. ALFA BETA METİLEN ATP (α,β meATP)'NİN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİNİN SİLDENAFİL, SURAMİN ve EVANS MAVİSİ' nin VARLIĞINDA DEĞERLENDİRİLMESİ

3.3.3.1.1. *Sildenafil varlığında α,β meATP yanıtı*

Prostatik kısım;

Vas deferensin prostatik kısmında α,β meATP $3\mu\text{M}$ derişimde tek doz olarak uygulandı. Yanıt alındıktan sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında

sildenafil varken α,β meATP ($3\mu\text{M}$)'ye yanıt alındı. Preparatların sildenafille 20 dakika temas etmesi sağlandı.

Epididimal kısım:

Vas deferensin epididimal kısmında α,β meATP ($3\mu\text{M}$) derişimde tek doz olarak uygulandı. Yanıt alındıktan sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında sildenafil varken α,β meATP ($3\mu\text{M}$)'ye yanıt alındı. Preparatların sildenafille 20 dakika temas etmesi sağlandı.

3.3.3.1.2. *Suramin varlığında α,β meATP yanıtları*

Prostatik kısım:

Vas deferensin prostatik kısmında α,β meATP ($3\mu\text{M}$) derişimde tek doz olarak uygulandı. Yanıt alındıktan sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında suramin varken α,β meATP ($3\mu\text{M}$)'ye yanıt alındı. Preparatların suraminle 20 dakika temas etmesi sağlandı.

Epididimal kısım:

Vas deferensin epididimal kısmında α,β meATP ($3\mu\text{M}$) derişimde tek doz olarak uygulandı. Yanıt alındıktan sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında suramin varken α,β meATP ($3\mu\text{M}$)'ye yanıt alındı. Preparatların suraminle 20 dakika temas etmesi sağlandı.

3.3.3.1.3 *Evans Mavisi varlığında α,β meATP yanıtları*

Prostatik kısım:

Vas deferensin prostatik kısmında α,β meATP ($3\mu\text{M}$) derişimde tek doz olarak uygulandı. Yanıt alındıktan sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında Evans Mavisi varken α,β meATP ($3\mu\text{M}$)'ye yanıt alındı. Preparatların Evans mavisiyle 20 dakika temas etmesi sağlandı.

Epididimal kısım:

Vas deferensin epididimal kısmında α,β meATP ($3\mu\text{M}$) derişimde tek doz olarak uygulandı. Yanıt alındıktan sonra ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında Evans Mavisi varken α,β meATP ($3\mu\text{M}$)'ye yanıt alındı. Preparatların Evans mavisıyla 20 dakika temas etmesi sağlandı.

3.3.4. ELEKTRİKSEL ALAN STİMÜLASYONU (EAS)'NUN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİ

Deneylerin bu grubunda Grass stimulatör (model S88K) den sağlanan elektrik akımı sayesinde iki uçlu gümüş elektrodlar yardımıyla alan stimülasyonu yapıldı. Elektrodlar preparatlara yaklaşık 1 cm mesafede organa değmeyecek şekilde yerleştirildi. Kullanılan parametreler 40 V, 20 Hz, vurum süresi 0.25 msn. idi. Stimülasyona 2 kez kontrol yanıtı alındıktan sonra preparatlar dengelenmeye bırakıldı. Daha sonra deney protokolleri uygulandı.

3.3.4.1 EAS'NUN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİNİN SİLDENAFİL, SURAMİN ve EVANS MAVİSİ'nin VARLIĞINDA DEĞERLENDİRİLMESİ

3.3.4.1.1. *Sildenafil varlığında EAS'da meydana gelen değişiklikler*

Prostatik kısım:

Prostatik kısımda sildenafil varlığında EAS uygulaması 7 preparattta incelendi. 40 V, 20 Hz, 0.5 msn elektriksel uyarıya kontrol yanıtı alındı. Ortamda 10^{-6} - 10^{-4} derişim aralığında sildenafil varken aynı değerlerle elektriksel stimülasyon uygulandı. Yanıt alındıktan sonra preparat yıkandı. 30 dakikalık dinlenme periyodundan sonra bir üst derişime geçildi.

Epididimal kısım:

Epididimal kısımda sildenafil varlığında EAS uygulaması 7 preparattta incelendi. 40 V, 20 Hz, 0.5 msn elektriksel uyarıya kontrol yanıtı alındı. Ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında sildenafil varken varken aynı değerlerle elektriksel stimölasyon uygulandı. Yanıt alındıktan sonra preparat yıkandı. 30 dakikalık dinlenme periyodundan sonra bir üst derişime geçildi.

3.3.4.1.2 *Suramin varlığında EAS'da meydana gelen değişiklikler*

Prostatik kısım :

Prostatik kısımda suramin varlığında EAS uygulaması 7 preparattta incelendi. 40 V, 20 Hz, 0.5 msn elektriksel uyarıya kontrol yanıtı alındı. Ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında suramin varken aynı değerlerle elektriksel stimölasyon uygulandı. Yanıt alındıktan sonra preparat yıkandı. 30 dakikalık dinlenme periyodundan sonra bir üst derişime geçildi.

Epididimal kısım:

Epididimal kısımda suramin varlığında EAS uygulaması 7 preparattta incelendi. 40 V, 20 Hz, 0.5 msn elektriksel uyarıya kontrol yanıtı alındı. Ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında suramin varken aynı değerlerle elektriksel stimölasyon uygulandı. Yanıt alındıktan sonra preparat yıkandı. 30 dakikalık dinlenme periyodundan sonra bir üst derişime geçildi.

3.3.4.1.3 *Evans mavisi varlığında EAS da meydana gelen değişiklikler*

Prostatik kısım:

Prostatik kısımda Evans mavisi varlığında EAS uygulaması 6 preparattta incelendi. 40 V, 20 Hz, 0.5 msn elektriksel uyarıya kontrol yanıtı alındı. Ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında Evans mavisi varken aynı değerlerle elektriksel stimölasyon uygulandı. Yanıt alındıktan sonra preparat yıkandı. 30 dakikalık dinlenme periyodundan sonra bir üst derişime geçildi.

Epididimal kısım:

Epididimal kısımda Evans Mavisi varlığında EAS uygulaması 6 preparatta incelendi. 40 V, 20 Hz, 0.5 msn elektriksel uyarıya kontrol yanıtı alındı. Ortamda 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında Evans mavisi varken aynı değerlerle elektriksel stimulasyon uygulandı. Yanıt alındıktan sonra preparat yıkandı. 30 dakikalık dinlenme periyodundan sonra bir üst derişime geçildi.

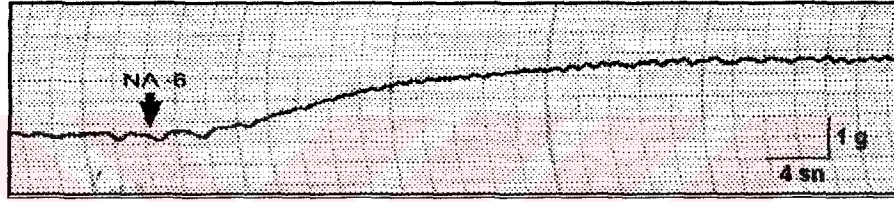
İstatistiksel Analiz:

Tüm değerler ortalama \pm standart hata şeklinde verildi. Kasılmalar kontrol yanıtların yüzdesi olarak hesaplandı. PD_2 değerleri GraphPad Prism v3.0 (San Diego, ABD) farmakolojik analiz programı ile lineer olmayan regresyon analizi kullanılarak hesaplandı. Gruplar arasındaki farklılıkta iki yönlü Varyans Analizi Bonferoni testi (two way ANOVA) kullanıldı. Elektriksel stimülasyonda gruplar arasındaki farklılık için parametrik olmayan t test kullanıldı. Anlamlılık için $p < 0.05$ düzeyi esas alındı.

4. BULGULAR

4.1. NORADRENALİNİN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİ

Noradrenalin (NA) 10^{-8} - 10^{-5} M derişim aralığında izole sıçan vas deferensinin epididimal ve prostatik kısmında tüm preparatlarda derişime bağı kasılmaya yol açtı. Kasılmalar yavaş başlangıçlı ve uzun süreli olarak meydana geldi (Şekil 12). Maksimum kasıcı etki epididimal ve prostatik kısımda 10^{-6} M derişimde elde edildi.

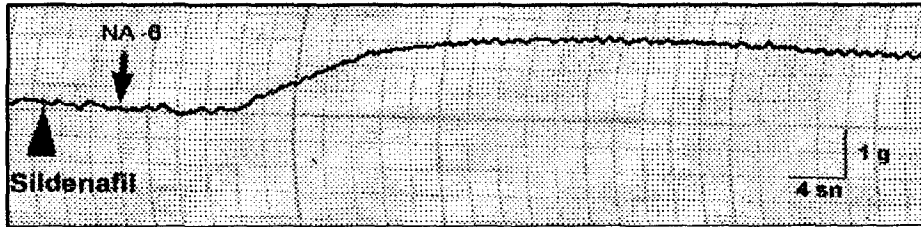


Şekil 12: Noradrenalinin vas deferensteki etkisi
(NA-6: Noradrenalin 10^{-6} M)

4.1.1. NORADRENALİNİN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİNDE SILDENAFİL, SURAMİN ve EVANS MAVİSİ VARLIĞINDA MEYDANA GELEN DEĞİŞİKLİKLER

4.1.1.1 Sildenafil varlığında Noradrenalin yanıtları

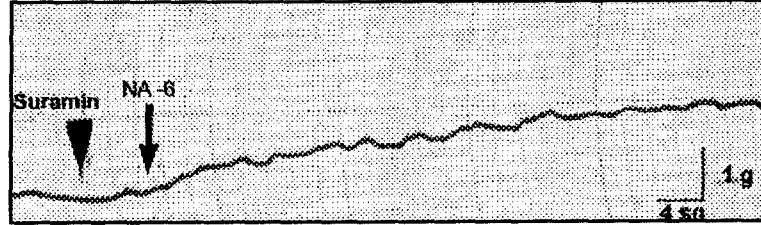
NA kasılmalarının PD_2 değerleri epididimal kısımda $6,98 \pm 0,22$ prostatik kısımda $6,52 \pm 0,13$ olarak hesaplandı. Sildenafil (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında vas deferensin her iki kısmında da NA'in oluşturduğu kasıcı etkide anlamlı bir değişiklik olmadı ($p > 0,05$) (Şekil 13, 16,17).



Şekil 13: Epididimal kısımda sildenafil (10^{-4} M) varlığında NA yanıtı
(NA-6: Noradrenalin 10^{-6} M)

4.1.1.2. Suramin varlığında noradrenalin yanıtları

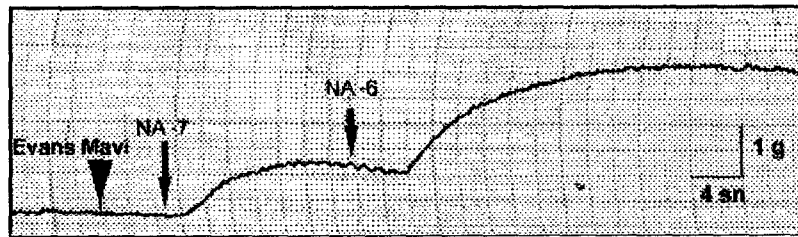
NA kasılmalarının PD_2 değerleri epididimal kısımda $6,02 \pm 0,18$ prostatik kısımda $6,73 \pm 0,05$ olarak hesaplandı. Suramin (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında her iki kısımda da NA'nın oluşturduğu kasıcı etkide anlamlı bir değişiklik olmadı ($p>0.05$) (Şekil 14, 18, 19).



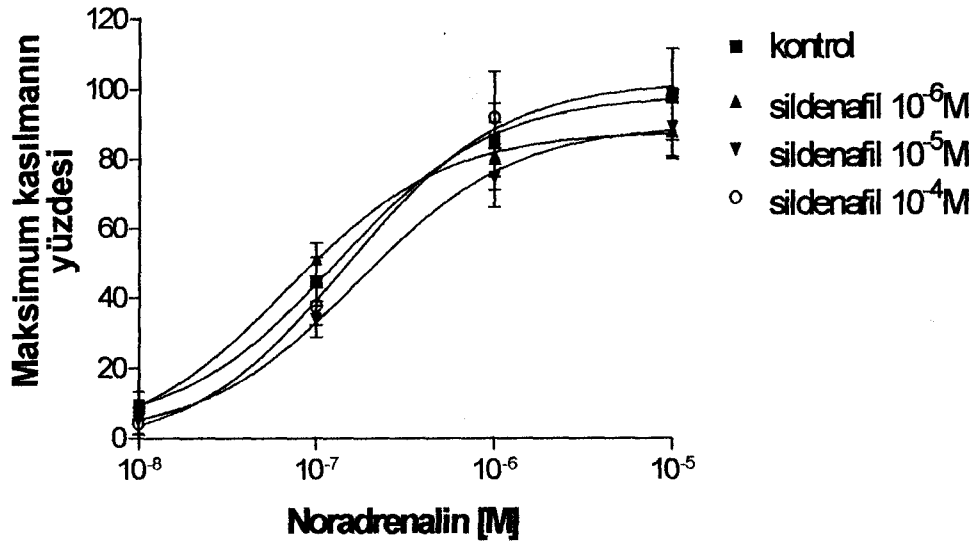
Şekil 14 :Epididimal kısımda suramin (10^{-4} M) varlığında NA yanıtı (NA-6: Noradrenalin 10^{-6} M)

4.1.1.3 Evans Mavisi varlığında Noradrenalin yanıtları

NA kasılmalarının PD_2 değerleri epididimal kısımda $6,87 \pm 0,27$ prostatik kısımda $5,83 \pm 0,28$ olarak hesaplandı. Evans mavisi 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında preparatlara uygulandı. Epididimal kısımda Evans mavisi 10^{-4} M derişimde NA cevabını anlamlı olarak arttırdı ($p<0.05$). Prostatik kısımda ise anlamlı bir değişiklik olmadı ($p>0.05$) (Şekil 15,20, 21).

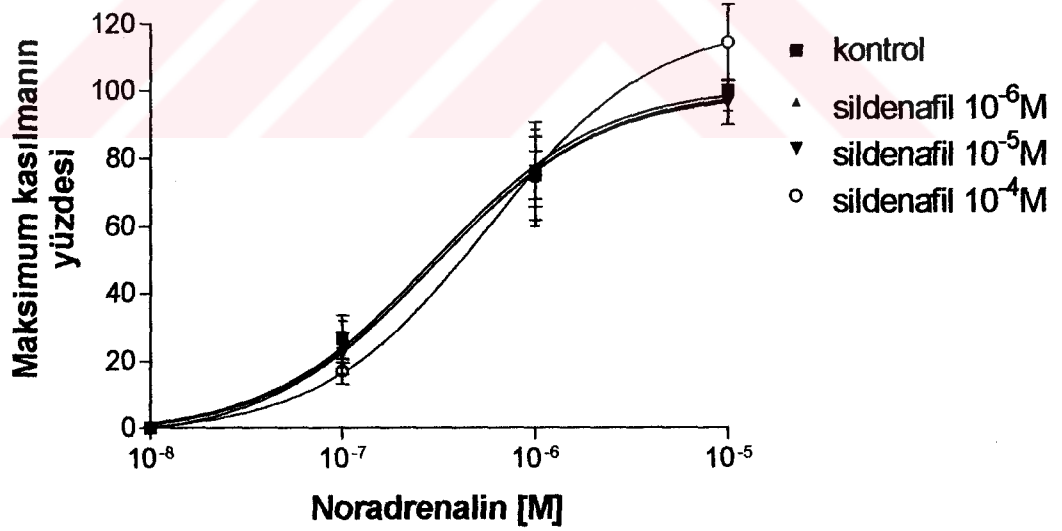


Şekil 15 : Epididimal kısımda Evans Mavisi (10^{-4} M) varlığında NA yanıtı (NA-7: Noradrenalin 10^{-7} M, NA-6: Noradrenalin 10^{-6} M)



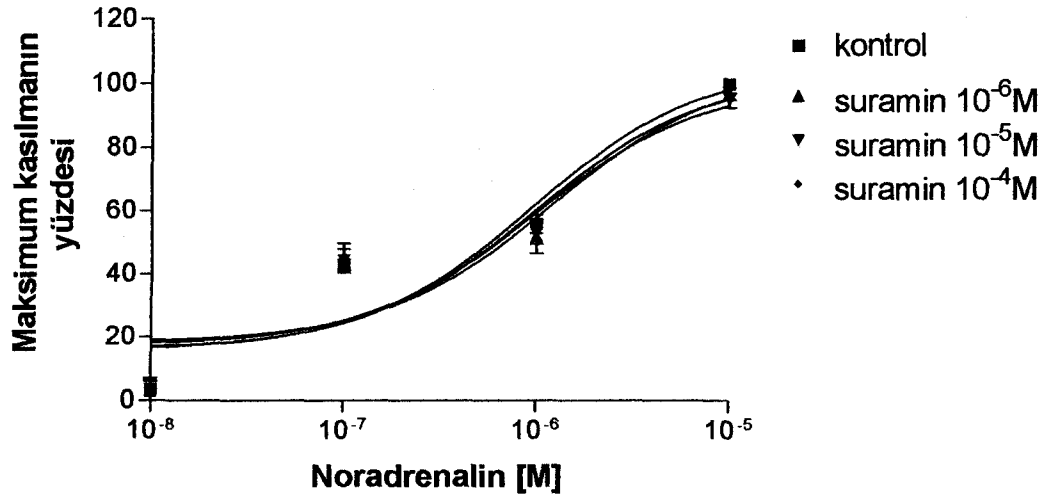
Şekil 16: Epididimal kısımda sildenafil (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında noradrenalin doz-yanıt eğrisi.

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=6)



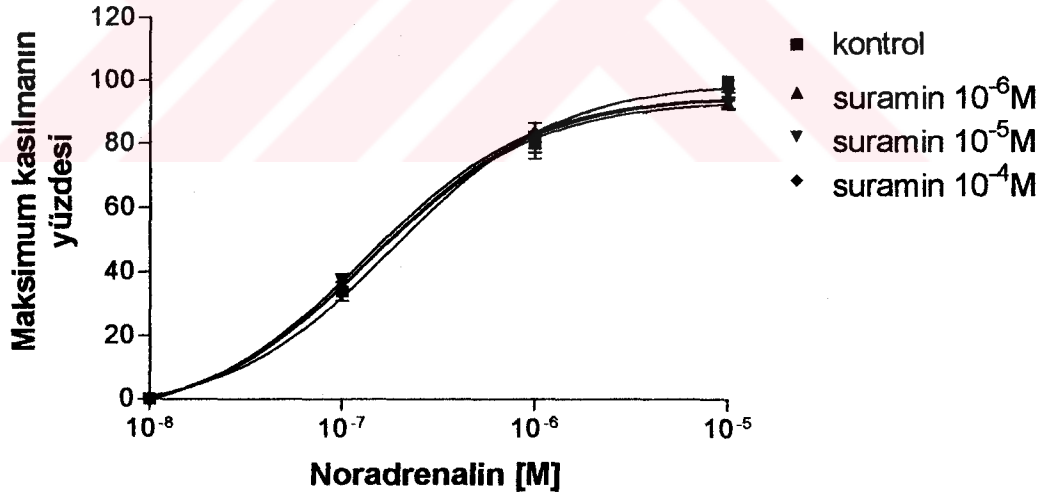
Şekil 17 : Prostatik kısımda sildenafil (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında noradrenalin doz-yanıt eğrisi.

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=6)



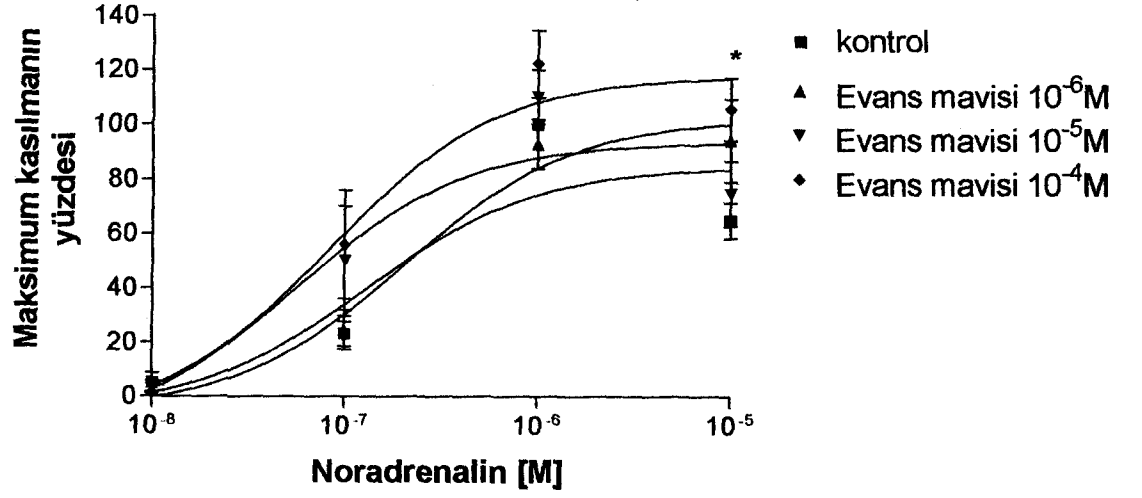
Şekil 18 : Epididimal kısımda suramin (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında noradrenalin doz-yanıt eğrisi.

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=6)



Şekil 19 : Prostatik kısımda suramin (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında noradrenalin doz-yanıt eğrisi.

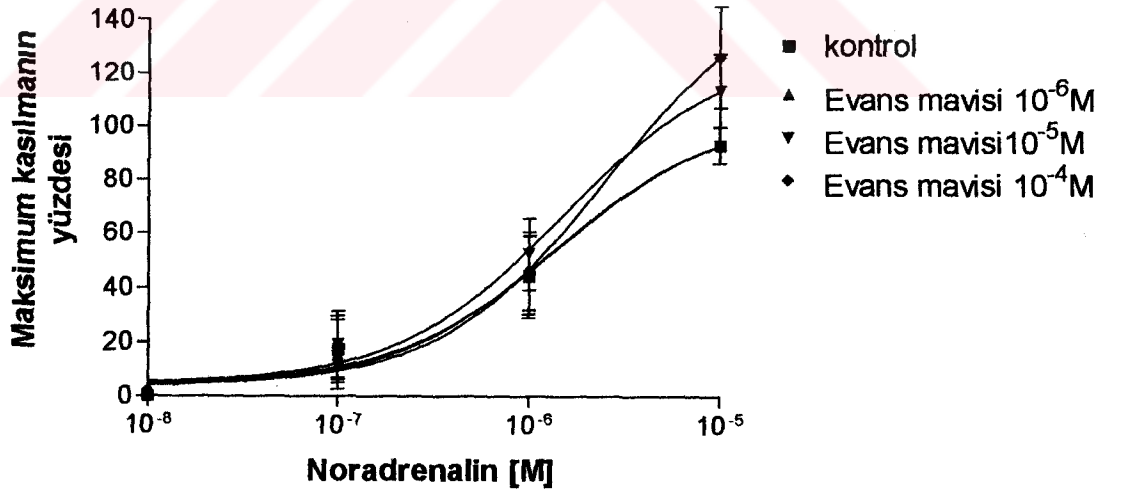
Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=6)



Şekil 20 : Epididimal kısımda Evans mavisi (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında noradrenalin doz-yanıt eğrisi.

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=6)

* $p < 0.05$, kontrol grubuna göre

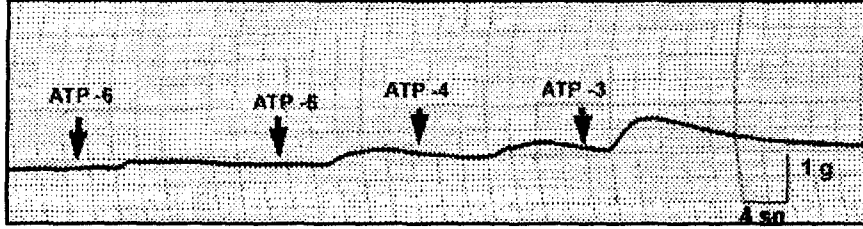


Şekil 21: Prostatik kısımda Evans mavisi (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında noradrenalin doz-yanıt eğrisi.

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=6)

4.2. ADENOZİN 5' TRİFOSFAT (ATP)'İN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİ

ATP izole sıçan vas deferensinin epididimal ve prostatik kısmında tüm preparatlarda derişime bağı kasılmaya yol açtı. Kasılmalar hızlı başlangıçlı ve geçici karakterdeydi (Şekil 22). ATP her iki kısımda da 10^{-6} - 10^{-3} M derişim aralığında uygulandı. Maksimum kasıcı etki her iki kısımda da 10^{-3} M derişimde elde edildi.

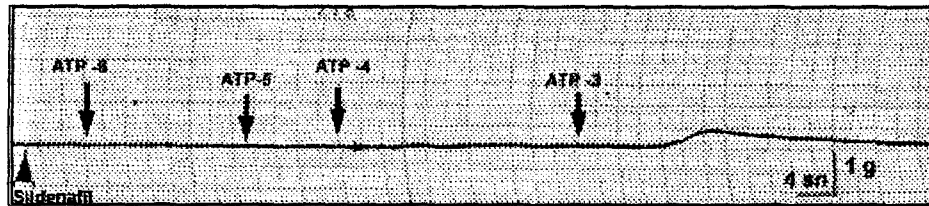


Şekil 22: Adenozin 5' trifosfat (ATP)'in vas deferensteki etkisi
(ATP-6: 10^{-6} M; ATP-5: 10^{-5} M; ATP-4: 10^{-4} M; ATP-3: 10^{-3} M)

4.2.1. ATP'İN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİNDE SİLDENAFİL, SURAMİN ve EVANS MAVİSİ'nin VARLIĞINDA MEYDANA GELEN DEĞİŞİKLİKLER

4.2.1.1. Sildenafil varlığında ATP yanıtları

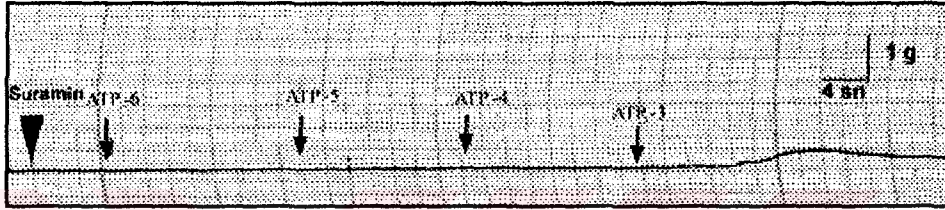
ATP kasılmalarının PD_2 değerleri epididimal kısım için $3,66 \pm 0,12$ prostatik kısım için $3,94 \pm 0,09$ olarak hesaplandı. Sildenafil 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında preparatlara uygulandı. Her iki kısımda da Sildenafil 10^{-4} M derişimde ATP'nin doz yanıt eğrisini non-kompetitif olarak antagonize etti. Maksimumdaki azalma $\% 42,2 \pm 2,1$ oranında gerçekleşti (Şekil 23, 26, 27).



Şekil 23: Prostatik kısımda sildenafil (10^{-4} M) varlığında adenozin 5' trifosfat yanıtı
(ATP-6: 10^{-6} M; ATP-5: 10^{-5} M; ATP-4: 10^{-4} M; ATP-3: 10^{-3} M)

4.2.1.2. Suramin varlığında ATP yanıtları

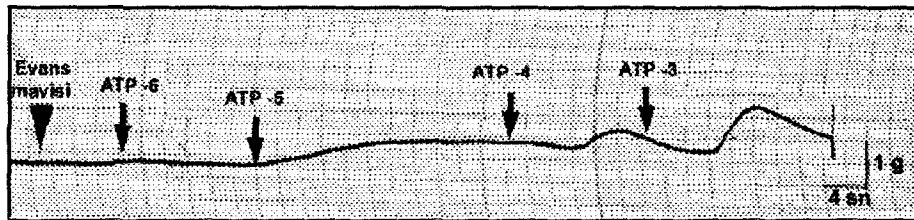
ATP kasılmalarının PD_2 değerleri epididimal kısım için $3,92 \pm 0,10$ prostatik kısım için $3,49 \pm 0,14$ olarak hesaplandı. Suramin $10^{-6} - 2 \times 10^{-4}$ M derişim aralığında preparatlara uygulandı. Suramin epididimal kısımda 10^{-4} M, prostatik kısımda 2×10^{-4} M derişimde ATP'nin doz-yanıt eğrisini non-kompetitif olarak antagonize etti. Maksimumdaki azalma % $40,1 \pm 3,6$ oranında gerçekleşti (Şekil 24,28,29).



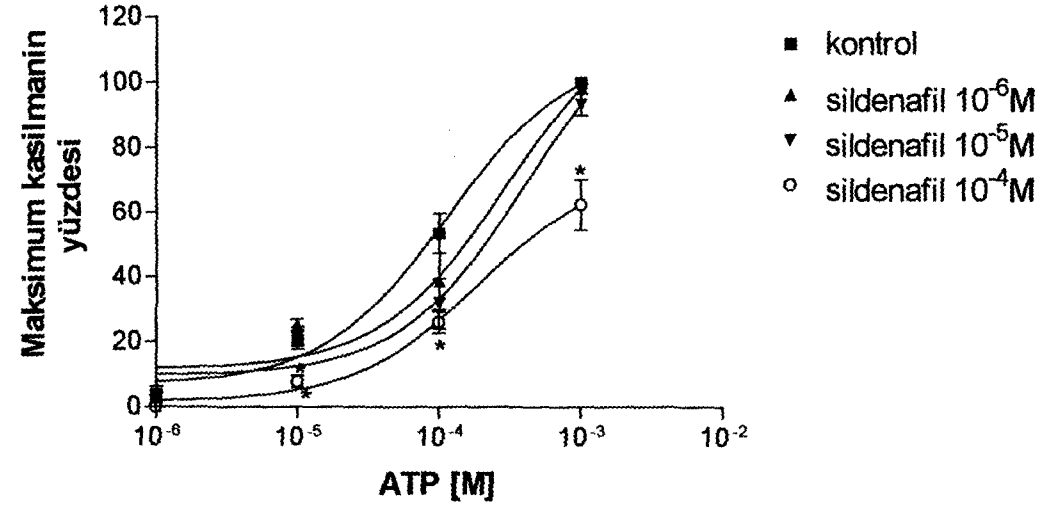
Şekil 24: Prostatik kısımda suramin (10^{-4} M) varlığında adenozin 5' trifosfat yanıtı (ATP-6: 10^{-6} M; ATP-5: 10^{-5} M; ATP-4: 10^{-4} M; ATP-3: 10^{-3} M)

4.2.1.3. Evans mavisi varlığında ATP yanıtları

ATP kasılmalarının PD_2 değerleri epididimal kısım için $3,59 \pm 0,16$ prostatik kısım için $3,60 \pm 0,16$ olarak hesaplandı. Evans mavisi $10^{-6} - 10^{-4}$ M derişim aralığında preparatlara uygulandı. Evans mavisi her iki kısımda da 10^{-4} M derişimde ATP yanıtlarını anlamlı olarak potansiyalize etti ($p < 0,05$) (Şekil 25, 30,31).



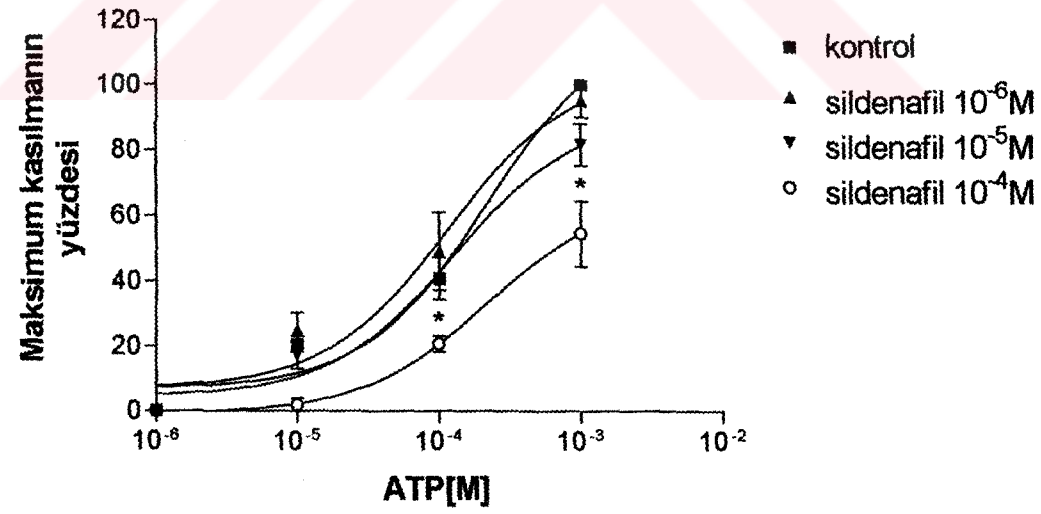
Şekil 25: Prostatik kısımda Evans mavisi (10^{-4} M) varlığında adenozin 5' trifosfat yanıtı (ATP-6: 10^{-6} M; ATP-5: 10^{-5} M; ATP-4: 10^{-4} M; ATP-3: 10^{-3} M)



Şekil 26: Epididimal kısımda sildenafil (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında adenozin 5' trifosfat doz-yanıt eğrisi.

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=6)

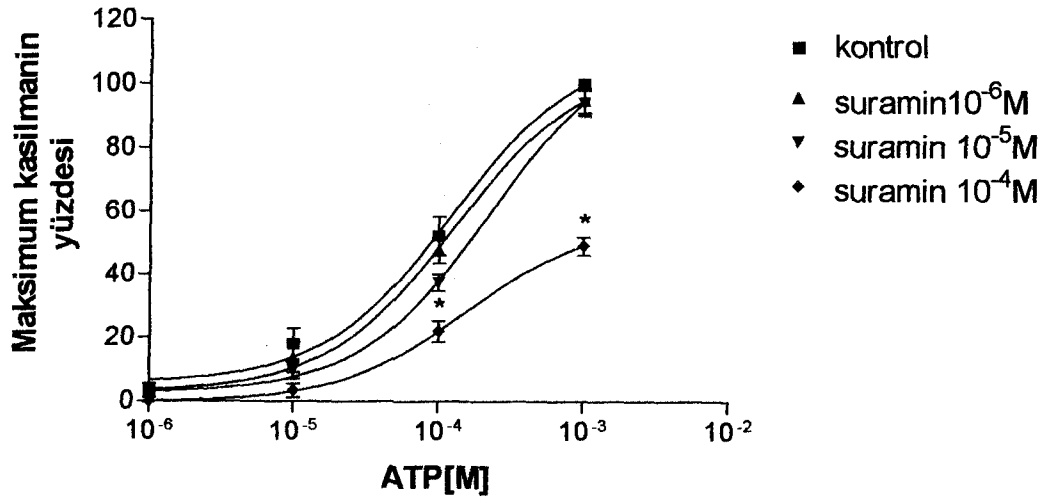
* $p < 0.05$, kontrol grubuna göre



Şekil 27: Prostatik kısımda sildenafil (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında adenozin 5' trifosfat doz-yanıt eğrisi.

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=6)

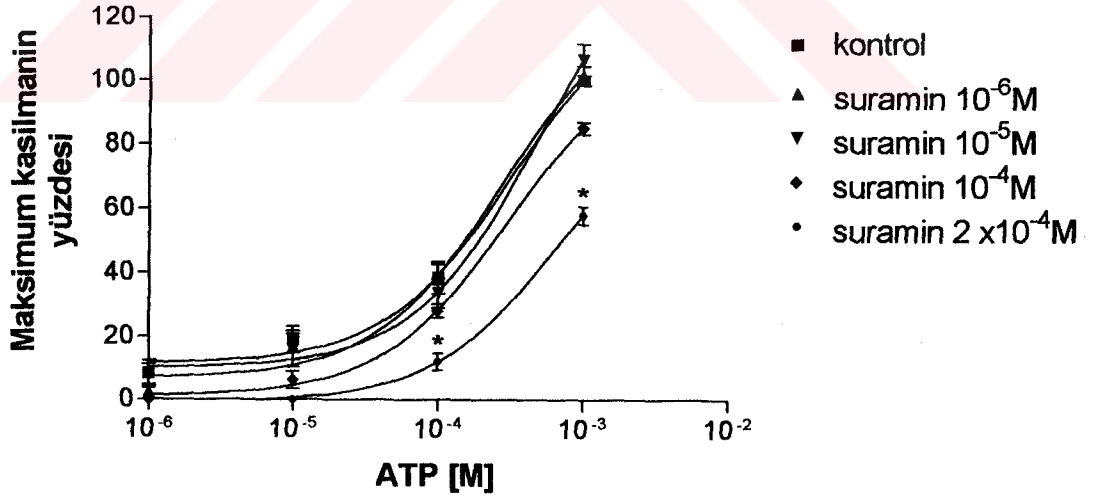
* $p < 0.05$, kontrol grubuna göre



Şekil 28: Epididimal kısımda suramin (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında adenozin 5' trifosfat doz-yanıt eğrisi.

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=6)

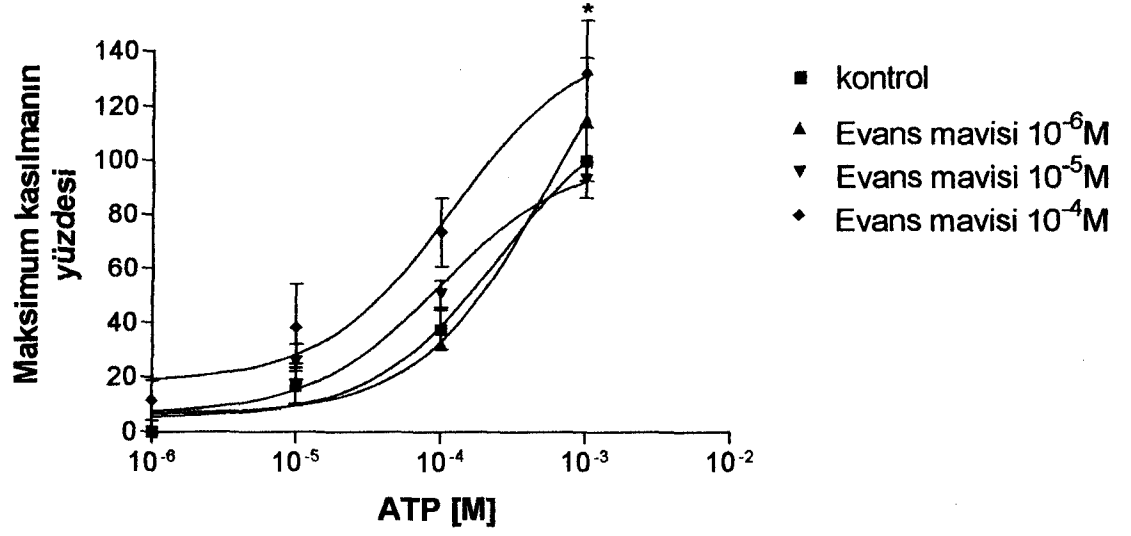
* $p < 0.05$, kontrol grubuna göre



Şekil 29: Prostatik kısımda suramin (10^{-6} - 2×10^{-4} M) varlığında adenozin 5' trifosfat doz-yanıt eğrisi.

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=6)

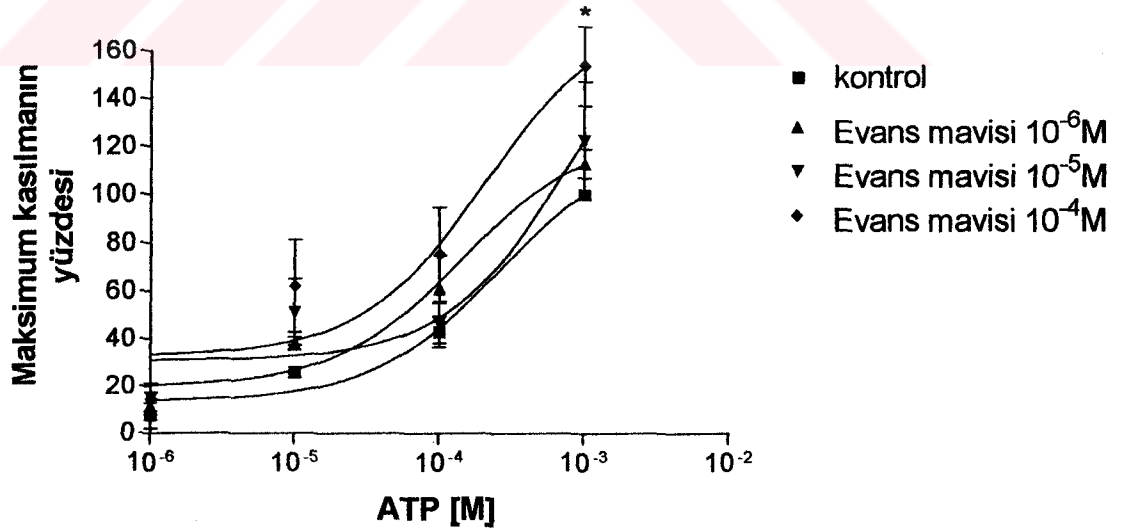
* $p < 0.05$, kontrol grubuna göre



Şekil 30: Epididimal kısımda Evans mavisi (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında adenozin 5' trifosfat doz-yanıt eğrisi.

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=6)

* $p < 0.05$, kontrol grubuna göre



Şekil 31: Prostatik kısımda Evans mavisi (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında adenozin 5' trifosfat doz-yanıt eğrisi.

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=6)

* $p < 0.05$, kontrol grubuna göre

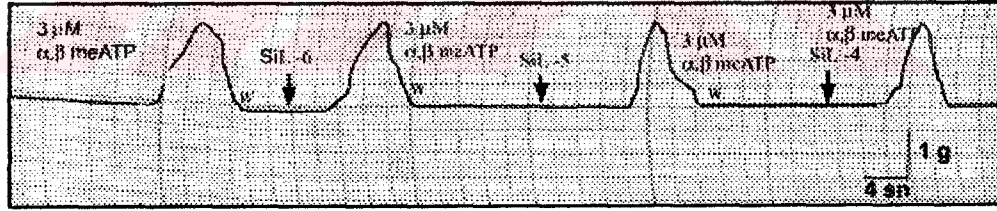
4.3. ALFA BETA METİLEN ATP (α,β meATP)'NİN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİ

α,β meATP izole sıçan vas deferensinin epididimal ve prostatik kısımlarında tüm preparatlarda, uygulandığı $3 \mu\text{M}$ derişimde kasılmaya yol açtı. Kasılmalar hızlı başlangıçlı ve kısa süreliydi.

4.3.1. α,β meATP'NİN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİNDE SILDENAFİL, SURAMİN ve EVANS MAVİSİ'nin VARLIĞINDA MEYDANA GELEN DEĞİŞİKLİKLER

4.3.1.1. Sildenafil varlığında α,β meATP yanıtları

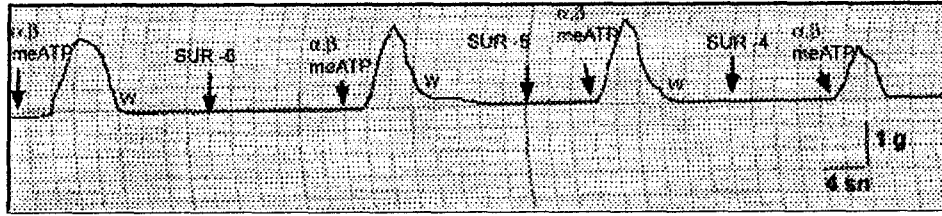
α,β meATP vas deferensin her iki kısmında da $3 \mu\text{M}$ derişimde hızlı ve geçici kasılmaya neden oldu. Sildenafil 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında preparatlara uygulandı. Sildenafil 10^{-4} M derişimde α,β meATP yanıtını anlamlı olarak değiştirmede ($p>0.05$) (Şekil 32, 35, 36).



Şekil 32: Prostatik kısımda sildenafil varlığında alfa,beta metilen ATP yanıtı
(SİL-6: Sildenafil 10^{-6}M , SİL-5: Sildenafil 10^{-5}M , SİL-4: Sildenafil 10^{-4}M)
(W: yıkama)

4.3.1.2. Suramin varlığında α,β meATP yanıtları

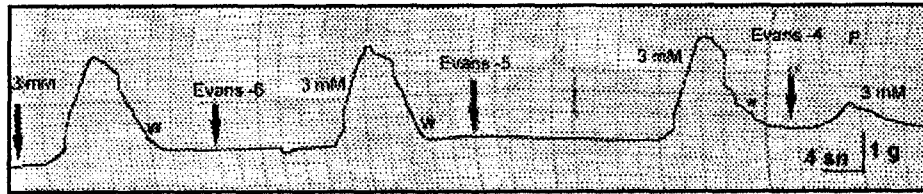
α,β meATP vas deferensin her iki kısmında da $3 \mu\text{M}$ derişimde hızlı ve geçici kasılmaya neden oldu. Suramin 10^{-6} – 10^{-4} M derişim aralığında preparatlara uygulandı. Suramin 10^{-4} M derişimde α,β meATP yanıtını epididimal kısımda $\% 56,7 \pm 3,4$ oranında prostatik kısımda $\% 57,5 \pm 3,6$ oranında azalttı. Kasılmadaki bu azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$) (Şekil 33, 37, 38).



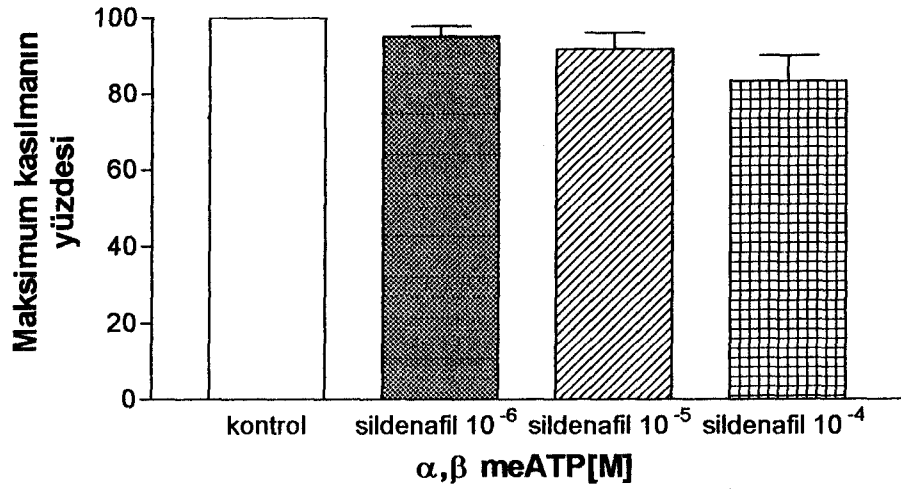
Şekil 33 : Prostatik kısımda suramin varlığında alfa,beta metilen ATP yanıtı
(SUR-6: Suramin 10^{-6}M , SUR-5: Suramin 10^{-5}M , SUR-4: Suramin 10^{-4}M)
(W: yıkama)

4.3.1.3. Evans mavisi varlığında α,β meATP yanıtları

α,β meATP vas deferensin her iki kısmında da $3 \mu\text{M}$ derişimde hızlı ve geçici kasılmaya neden oldu. Evans mavisi 10^{-6} – 10^{-4} M derişim aralığında preparatlara uygulandı. Evans mavisi epididimal kısımda 10^{-4} M derişimde $\% 64,2 \pm 6,8$ prostatik kısımda ise 10^{-5} M derişimde $\% 44,2 \pm 4,6$ ve 10^{-4} M derişimde $\% 63 \pm 3,2$ oranında α,β meATP ye bağlı kasılmaları inhibe etti. Kasılmadaki bu azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$) (Şekil 34, 39, 40).

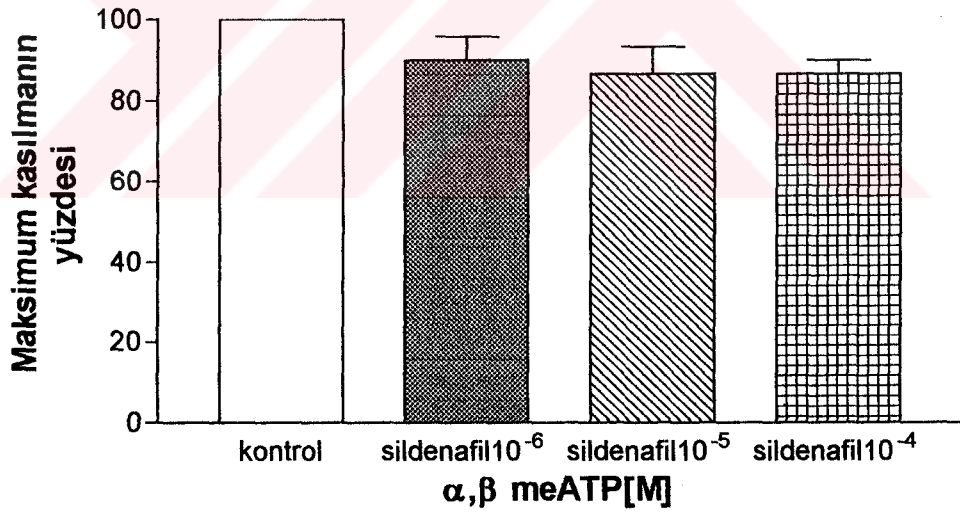


Şekil 33 : Prostatik kısımda Evans mavisi varlığında alfa,beta metilen ATP yanıtı
(Evans-6: Evans mavisi 10^{-6}M , Evans-5: Evans mavisi 10^{-5}M ,
Evans,4 Evans mavisi 10^{-4}M)
(W: yıkama)



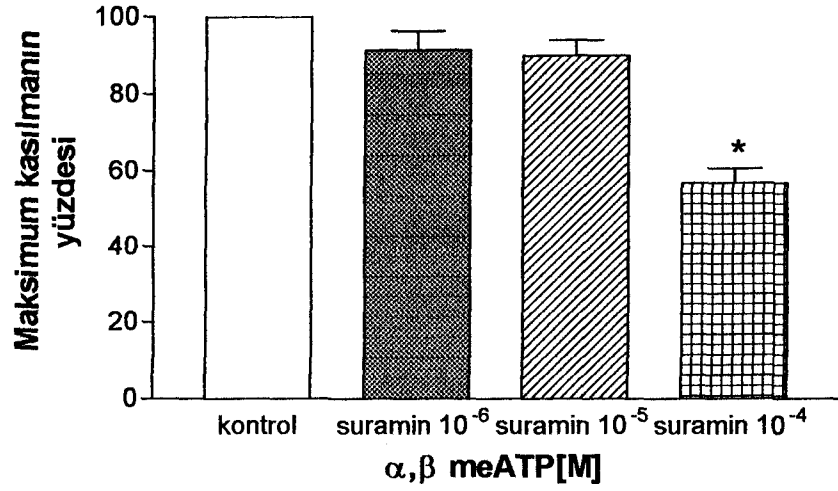
Şekil 35: Epididimal kısımda sildenafil (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında alfa,beta metilen ATP grafiği

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=5)



Şekil 36: Prostatik kısımda sildenafil (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında alfa,beta metilen ATP grafiği

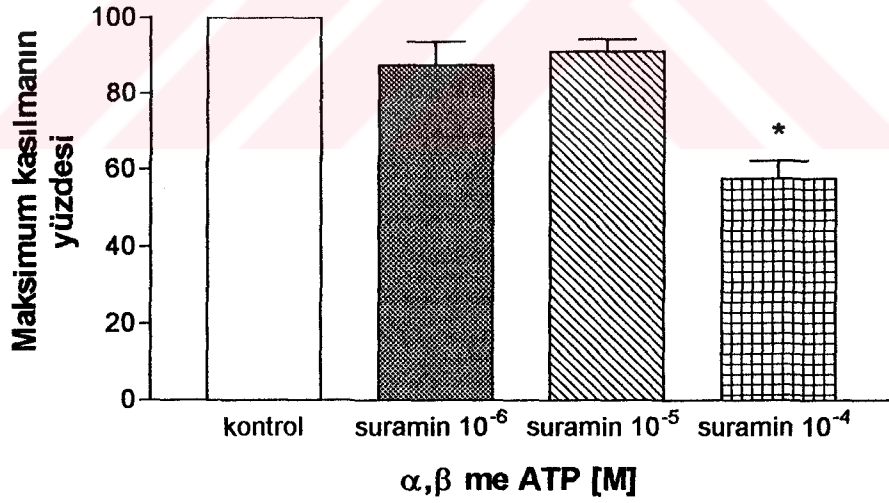
Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=5)



Şekil 37: Epididimal kısımda suramin (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında alfa,beta metilen ATP grafiği

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=5)

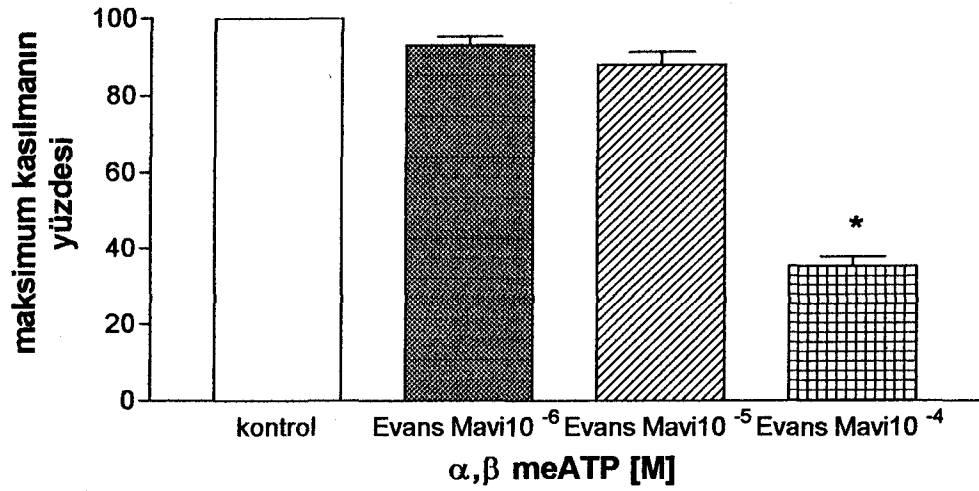
* $p < 0.05$, kontrol grubuna göre



Şekil 38: Prostatik kısımda suramin (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında alfa,beta metilen ATP grafiği

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=5)

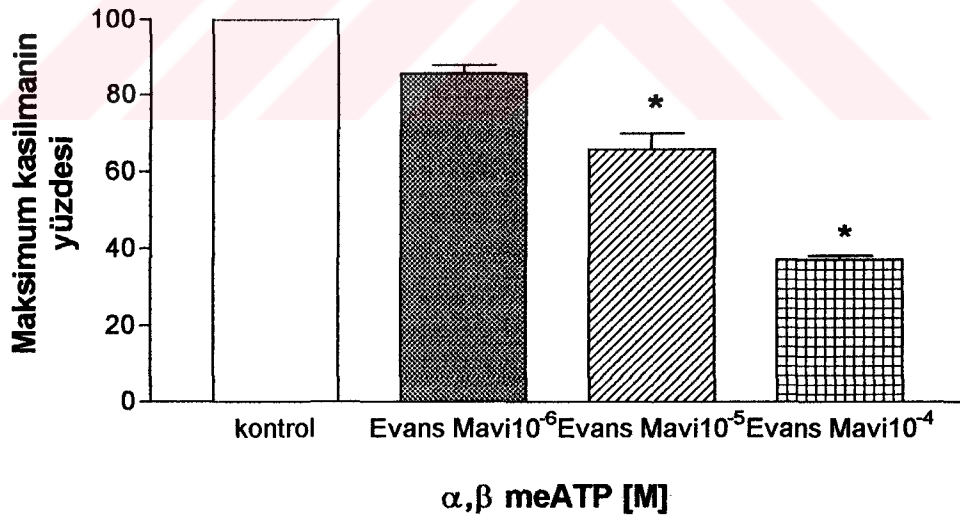
* $p < 0.05$, kontrol grubuna göre



Şekil 39: Epididimal kısımda Evans mavisi (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında alfa,beta metilen ATP grafiği

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=5)

* $p < 0.05$, kontrol grubuna göre



Şekil 40: Prostatik kısımda Evans mavisi (10^{-6} - 10^{-4} M) varlığında alfa,beta metilen ATP grafiği

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=5)

* $p < 0.05$, kontrol grubuna göre

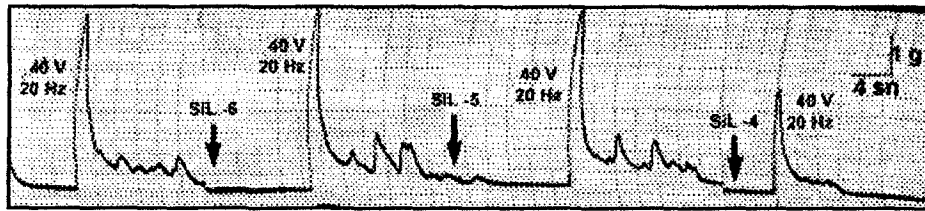
4.4. ELEKTRİKSEL ALAN STİMÜLASYONU (EAS)'NUN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİ

40 V, 20 Hz, 0.5 msn elektriksel uyarı vas deferensin epididimal ve prostatik kısmında klasik 2 fazlı yanıtı neden oldu. Uyarıdan sonra meydana gelen hızlı başlangıçlı ve kısa süreli kasılma Faz I olarak değerlendirildi. Bundan sonra meydana gelen daha uzun süreli ve ritmik kasılmalar şeklinde oluşan yanıt ise Faz II olarak değerlendirildi. Faz I, kasılmanın purinerjik komponentini Faz II ise kasılmanın adrenerjik komponentini oluşturmaktadır.

4.4.1. EAS'NUN VAS DEFERENSTEKİ ETKİSİNDE SILDENAFİL, SURAMİN ve EVANS MAVİSİ'nin VARLIĞINDA MEYDANA GELEN DEĞİŞİKLİKLER

4.4.1.1. Sildenafil varlığında EAS' da meydana gelen değişiklikler

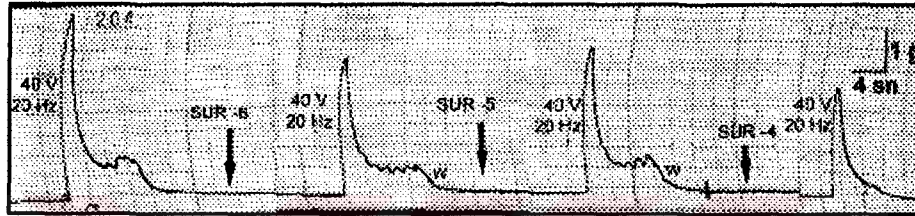
Elektriksel uyarıya kontrol yanıtları alındıktan sonra sildenafil 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında preparatlara uygulandı. Sildenafil epididimal kısımda 10^{-4} M derişimde Faz I' i % $45,9 \pm 4,6$ oranında Faz II'yi % $48,7 \pm 4,8$ oranında bloke etti. Meydana gelen kasılmadaki azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Prostatik kısımda ise sildenafil 10^{-4} M derişimde Faz I' i % $44,6 \pm 4,8$ oranında, Faz II'yi ise % $52 \pm 4,6$ oranında inhibe etti. Meydana gelen kasılmadaki azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$) (Şekil 41, 44, 45).



Şekil 41 : Sildenafil varlığında elektriksel alan stimülasyonuna alınan yanıtlar (SİL-6: Sildenafil 10^{-6} M, SİL-5: Sildenafil 10^{-5} M, SİL-4: Sildenafil 10^{-4} M)

4.4.1.2. Suramin varlığında EAS' da meydana gelen değişiklikler

Elektriksel uyarıya kontrol yanıtları alındıktan sonra suramin 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında preparatlara uygulandı. Suramin 10^{-4} M derişimde epididimal kısımda Faz I'i % $42,6 \pm 4,6$ oranında, Faz II'yi % $35,2 \pm 3,8$ oranında inhibe etti. Meydana gelen kasılmadaki azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Prostatik kısımda ise suramin 10^{-4} M derişimde Faz I'i % $51,4 \pm 4,8$ Faz II'yi ise % $41,2 \pm 4,9$ oranında inhibe etti. Meydana gelen kasılmadaki azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$) (Şekil 42, 46, 47).

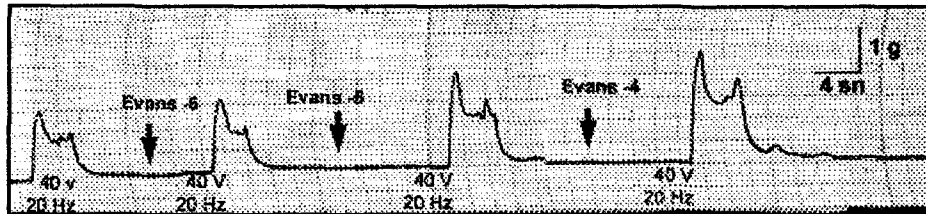


Şekil 42: Suramin varlığında elektriksel alan stimülasyonuna alınan yanıtlar

(SUR-6: Suramin 10^{-6} M, SUR-5: Suramin 10^{-5} M, SUR-4: Suramin 10^{-4} M)

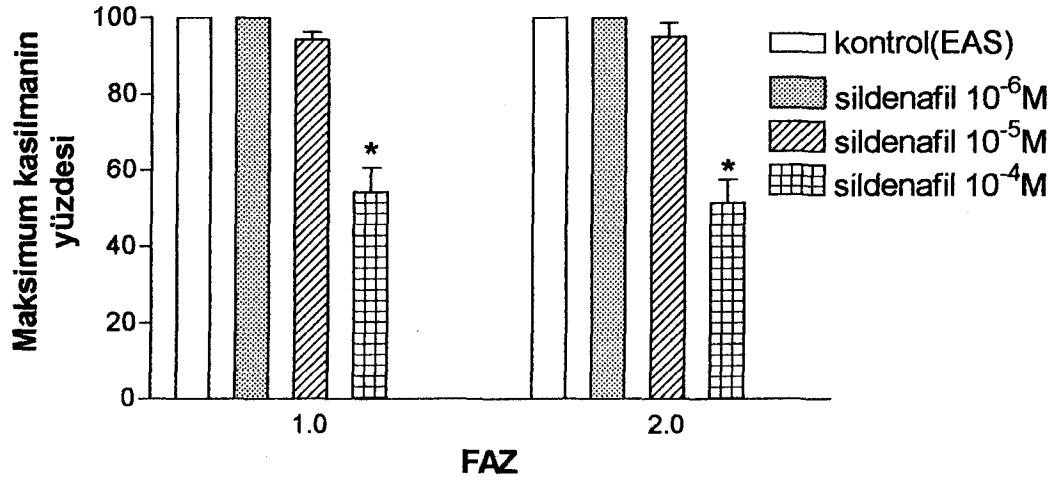
4.4.1.3. Evans mavisi varlığında EAS da meydana gelen değişiklikler

Elektriksel uyarıya kontrol yanıtları alındıktan sonra Evans mavisi 10^{-6} - 10^{-4} M derişim aralığında preparatlara uygulandı. Evans mavisi 10^{-4} M derişimde epididimal kısımda Faz I'i % $20,6 \pm 3,0$ oranında, Faz II'yi ise % $29,2 \pm 2,8$ oranında potansiyalize etti. Prostatik kısımda ise Evans mavisi 10^{-5} M derişimde Faz I'i % $30,8 \pm 3,7$, Faz II'yi % $23,6 \pm 3,0$ oranında artırırken, 10^{-4} M derişimde Faz I'i % $67,2 \pm 4,9$, Faz II'yi ise % $62,2 \pm 5,1$ oranında artırdı. Meydana gelen bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$) (Şekil 43, 48, 49).



Şekil 43 : Evans mavisi varlığında elektriksel alan stimülasyonuna alınan yanıtlar

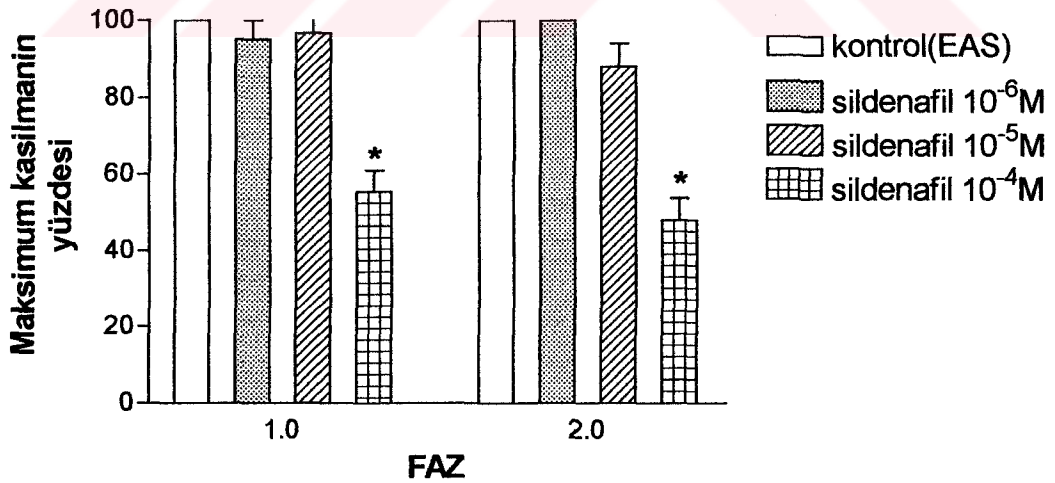
(Evans-6: Evans mavisi 10^{-6} M, Evans-5: Evans mavisi 10^{-5} M, Evans-4: Evans mavisi 10^{-4} M)



Şekil 44: Epididimal kısımda elektriksel alan stimülasyonuna sildenafilin etkisi

Veriler ortalama±OSH olarak sunulmuştur. (n=7)

* p<0.05, kontrol grubuna göre

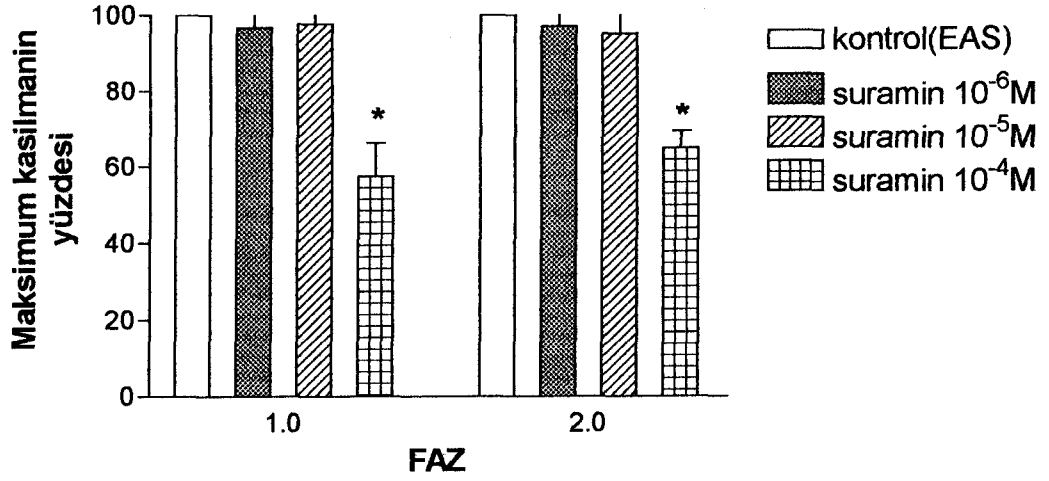


Şekil 45: Prostatik kısımda elektriksel alan stimülasyonuna sildenafilin etkisi

Veriler ortalama±OSH olarak sunulmuştur. (n=7)

* p<0.05, kontrol grubuna göre

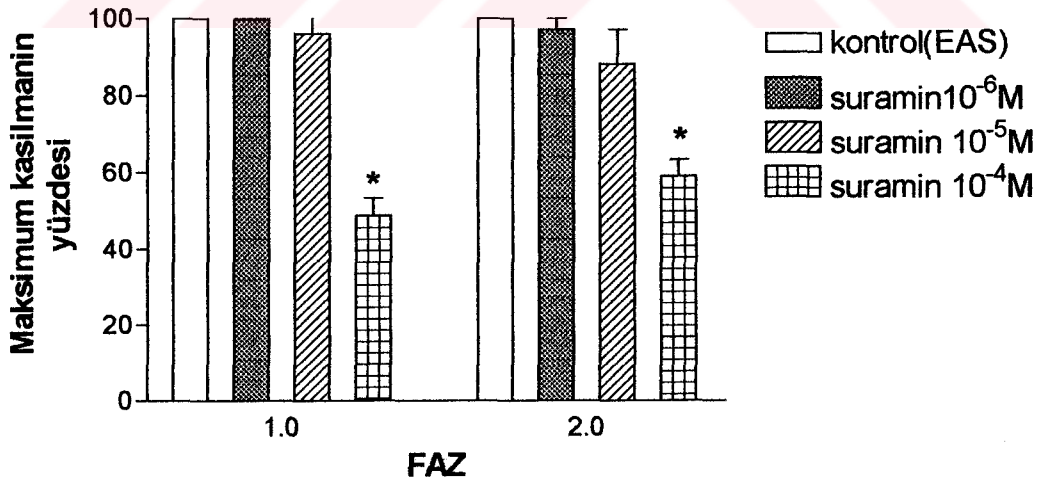
İC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ



Şekil 46: Epididimal kısımda elektriksel alan stimülasyonuna suraminin etkisi

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=7)

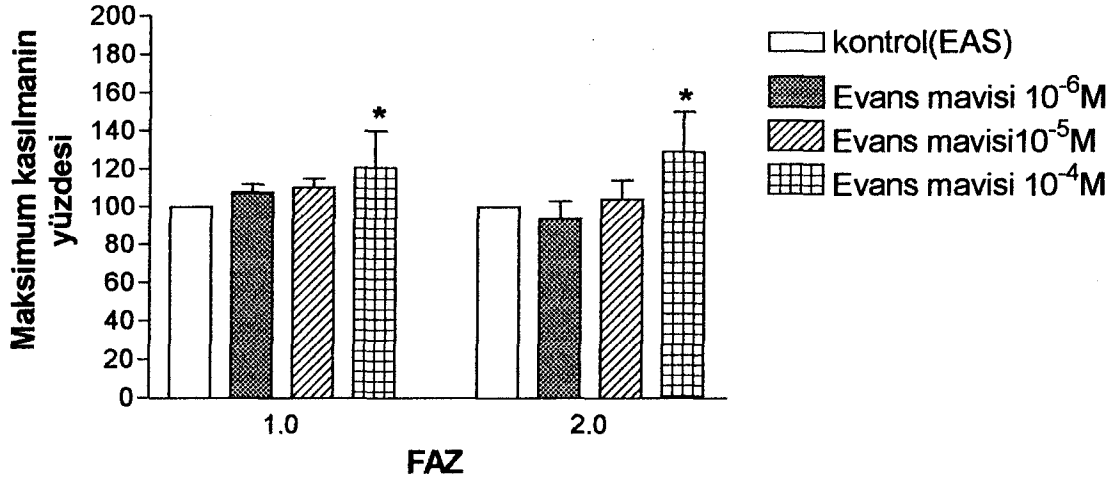
* $p < 0.05$, kontrol grubuna göre



Şekil 47: Prostatik kısımda elektriksel alan stimülasyonuna suraminin etkisi

Veriler ortalama \pm OSH olarak sunulmuştur. (n=7)

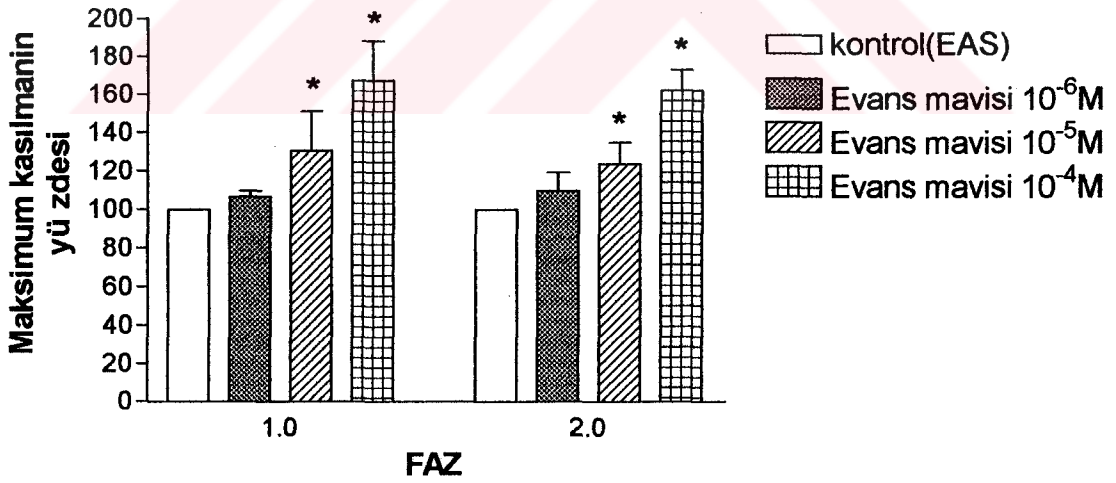
* $p < 0.05$, kontrol grubuna göre



Şekil 48 : Epididimal kısımda elektriksel alan stimülasyonuna Evans mavisinin etkisi

Veriler ortalama±OSH olarak sunulmuştur. (n=6)

* p<0.05, kontrol grubuna göre



Şekil 49 : Epididimal kısımda elektriksel alan stimülasyonuna Evans mavisinin etkisi

Veriler ortalama±OSH olarak sunulmuştur. (n=6)

* p<0.05, kontrol grubuna göre

5. TARTIŞMA

Vas deferens innervasyonunu, sempatik ve parasempatik sistemin yanı sıra NANK sistemden de alır (33). NANK sistem içinde bulunan purinerjik sistem vas deferensin kasılmasında önemli role sahiptir. Vas deferenste sempatik sinir uçlarından Noradrenalin (NA) ile birlikte purinerjik sistemin nöromedyatörü adenozin 5' trifosfat (ATP) salıverildiği ve NA nin ko-transmitteri işlevi gördüğü gösterilmiştir (66). Erkek sıçan genital organlarında immünohistokimyasal tekniklerle yapılan araştırmalarda vas deferens düz kas hücresi membranında P_{2x} reseptörlerinin bulunduğu ve bunların sperm transportu ve ejakülasyonda gerekli olduğu bildirilmiştir (76). Bu nedenle biz bu çalışmamızda sildenafil sitratın etki mekanizmasında purinerjik sistemin rolünü araştırmak için vas deferensin prostatik ve epididimal kısımlarında ayrı ayrı olmak üzere deneyler yaptık.

Tüm preparatlarda NA $10^{-8} - 10^{-5}$ M derişim aralığında derişime bağılı yavaş ve dengeli bir kasılmaya yol açtı. Vas deferens düz kasında NA, α_1 reseptörler aracılığıyla yavaş ve dengeli bir kasılma meydana getirir (113). Çalışmamızda istatistiksel açıdan anlamlı olmamakla birlikte, epididimal kısımdaki NA kasılması daha güçlüydü. Bu durum NA'in her iki vas deferens segmentindeki PD_2 değerlerinden anlaşılmaktadır. Vas deferensin epididimal kısmında adrenerjik yanıtın daha belirgin olduğu bildirilmiştir (83). Seçici olmayan P_{2x} reseptör antagonisti suramin NA yanıtlarında anlamlı bir değişiklik yapmadı. Bu bulgumuz sıçan vas deferensinde suramin ve diğer P_2 purinoseptör antagonistleri ile yapılmış olan çalışmalar ile uyum içerisinde (23,73,81). Buradan NA ile α_1 adrenerjik stimülasyonda belirgin şekilde endojen ATP ortaya çıkmadığı görülmektedir. Eğer öyle olsaydı suramin NA yanıtlarını kısmen de olsa azaltabilirdi. Bu görüşümüz Bultman ve Starke'nin α_1 adrenerjik stimülasyon üzerinden endojen ATP salıverildiği yolundaki görüşlerine aykırıdır (28).

Seçici P_{2x} reseptör antagonisti Evans mavisini, NA kasılmalarını arttırdı. Bu durumun mekanizması açık olmamakla birlikte Evans mavisinin bu etkisinin adrenerjik ve purinerjik reseptörler üzerinden değil de hücre içine kalsiyum (Ca⁺⁺) girişini artırarak NA kasılmasını şiddetlendirmesi ile açıklanabilir (22). Sildenafil, vas deferensin her iki kısmındaki NA yanıtlarında değişiklik yapmadı. Bu bulgumuz insan vas deferensindeki sildenafil çalışmasında, NA kasılmalarına sildenafil'in etkili olmadığı bulgusuna uymaktadır (85). Eksojen NA'nin α adrenoseptörlerle etkileşimi sonucu Ca²⁺ influksundaki artışla düz kas kasılması oluşur (17). Buradan hareketle sildenafilin α adrenerjik reseptörler üzerinden etkilediği öne sürülebilir.

Seçici olmayan P₂ reseptör agonisti ATP'nin, izole sıçan vas deferensinin epididimal ve prostatik kısımlarında derişime bağlı kasılmalara yol açtığı gözlemlendi. Kasılmaların hızlı başlangıçlı ve geçici karakterli olduğu görüldü. Bir çok düz kas dokusunda olduğu gibi vas deferensinde de purin nükleotidleri kasılma meydana getirirler (26,27,29,48). Uyguladığımız 1mM konsantrasyonda ATP ile oluşan kasılmanın P_{2x} purinoseptörler aracılı olduğu bildirilmiştir (23). Diğer taraftan yüksek doz K⁺ ile kasılmış vas deferens preparatlarında ATP'nin gevşeme meydana getirdiği bildirilmiştir (28). Seçici olmayan purinerjik reseptör antagonisti suramin her iki vas deferens segmentinde ATP yanıtlarını non-kompetitif olarak antagonize ettiği saptandı. Antagonizma %40 civarında saptandı. Bultmann ve ark (1994)'nin sıçan vas deferensinde yaptıkları çalışmada ATP'yi bizim kullandığımız derişimde kullanmışlar ve ATP'nin kasıcı yanıtlarının suramin ile %40 oranında inhibe olduğunu gözlemişlerdir. Yukarıdaki araştırmacının 1999'da yaptığı yine sıçan vas deferens çalışmasında suramin ATP yanıtlarını %34–43 oranında bloke etmiştir. Kısmi blokajın nedeni P_{2x} reseptörleri üzerinde suramine hassas olan ve olmayan bölgelerin bulunmasına bağlanabilir (72). Bu çalışmaların sonuçları bizim bulgularımızla uyum içerisindedir. Diğer taraftan fare vas deferensinde ATP'nin düşük derişimleri ile oluşturulan kasılmalar suramin tarafından kompetitif olarak antagonize edilirken ATP'nin yüksek derişimlerini suramin etkilememiştir (72).

Kobay vas deferensindeki çalışmada ATP'nin düşük derişimlerinde, suramin hafif inhibitör etki gösterirken 100 μ M ve üzerindeki derişimlerde potansiyalizasyon gözlenmiştir (10). Kobay mesane preparatlarında ATP kasılmaları suramin tarafından derişime bağılı non-kompetitif tarzda bloke edilmiştir (9). Çalışmamızda Evans mavisi vas deferensin her iki segmentinde ATP yanıtlarını potansiyalize etti. Evans mavisi, sıçan vas deferensinde P_{2x} reseptörler üzerinde güçlü antagonistik etkiye sahiptir (22,27,68). Ancak Evans mavisi sıçan vas deferens dokusunda ATP seviyesinin düşmesini de inhibe eder ve P_{2y} reseptörler üzerine etkisi çok azdır (27). Önceden uygulanan Evans mavisi ATP'nin yıkımını engellediği için ATP'nin kasıcı yanıtlarını arttırmış olabilir. Sildenafil vas deferenste ATP yanıtlarını suramin gibi 10^{-4} M derişimde non-kompetitif olarak antagonize etti. Yaptığımız çalışmada sildenafilin tek başına gevşetici etkisi olmadığını izledik. O zaman sildenafilin ATP yanıtlarını antagonize etmesi purinerjik reseptör blokajı ile ve/veya NO üzerinden olmaktadır. Şöyle ki; eksojen uygulanan ATP nin NO salıverilmesinde artma yaptığı deneysel olarak gösterilmiştir (119). NO, hücre içi cGMP düzeyini yükseltir. Hücre içi cGMP düzeyinin artışı düz kas gevşemesine neden olur. Sellüler cGMP'nin eliminasyonu iki şekilde olur: PDE'lar tarafından parçalanma ve ekstrasellüler aralığa taşınma (export) (65). Sildenafil cGMP'yi parçalayan PDE₅ enzimini seçici olarak inhibe ettiğinden ortamda cGMP düzeyinin yükselmesi vas deferens düz kasında gevşemeye yol açmıştır. Nitekim sildenafil tavşan ve insan korpus kavernosumunda yapılan in vitro çalışmalarda oluşturulan gevşemeleri NO aracılığıyla artırdığı ileri sürülmüştür (37). Diğer taraftan insan eritrositlerinde yapılan çalışmalarda cGMP'nin hücre dışına transportunu sağlayan organik anyon pompasının ATP'ye, ATP hidrolizine ve cGMP'nin stimüle ettiği ATPaz aktivitesine bağımlı olduğu gösterilmiştir. PDE inhibitörleri bu taşınma işlemini inhibe ederler. PDE₅ inhibitörü sildenafil dual etkisi ile hem cGMP'nin parçalanmasını önlemekte hem de export inhibisyonu ile cGMP düzeyini artırmaktadır (111).

Seçici P_{2x} reseptör agonisti α,β meATP (29) 3 μ M derişimde sıçan vas deferensinde kasılmaya neden olduğu bulundu. Vas deferens düz kasında P_{2x} reseptör aktivasyonu kasılma meydana getirmektedir (113). Bultmann ve ark 1994'de aynı derişimdeki α,β meATP ile sıçan vas deferensinde kasıcı yanıtlar elde etmişlerdir. Başka çalışmalarda da sıçan vas deferensinde (26,68) ve kobay vas deferensinde (84) α,β meATP kasılmaya neden olmuştur.

Suraminin 10^{-4} M derişimde α,β meATP yanıtlarını sıçan vas deferensinin epididimal kısmında %56,7 prostatik kısmında %57,5 oranında azalttığı saptandı. Suraminin α,β meATP yanıtlarını sıçan vas deferensinde antagonize ettiğine dair yayınlar mevcuttur. Bultmann ve ark (1994) suraminin α,β meATP yanıtlarını tamamen inhibe ettiğini ve antagonizmanın derişime bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Biz 10^{-4} M derişimde, yukarıda bildirdiğimiz gibi kısmi inhibisyon gözledik. Yine suramin ve türevleri sıçan vas deferensinde α,β meATP yanıtlarını bizim çalışmamızda olduğu gibi non-kompetitif tarzda azaltmıştır (23,68,81). Fare vas deferensinde suraminin α,β meATP antagonizması kompetitifdir (72). Kobay vas deferensinde suraminin 3-100 μ M derişimde; α,β meATP'nin 1 μ M derişimde oluşturduğu kasılmaları derişime bağlı inhibe ettiği bildirilmiştir. Yüksek derişimde (100 μ M) suramin bu kasılmaları tamamen bloke etmiştir (121). Suraminin kısmi blokajı derişimine bağlı olabileceği gibi P_2 reseptörler üzerinde seçici olmayan etkisinin olmasına da bağlanabilir. Çünkü α,β meATP seçici P_{2x} reseptör agonistidir. Evans mavisinin α,β meATP yanıtlarını sıçan vas deferensinin her iki segmentinde de bloke ettiği bulundu. Evans mavisini sıçan vas deferensinde seçici P_{2x} reseptör antagonistidir ve oluşturduğu blokaj seçici olmayan P_2 reseptör antagonisti suramininkinden fazlaydı (%64,2). α,β meATP yanıtlarını sıçan vas deferensinde azalttığını Bultmann (1994)'de saptamıştır. Sildenafil, kullanıldığı tüm derişimlerde α,β meATP yanıtlarını değiştirmedeği görüldü. Bu konuda yapılmış bir çalışma olmadığından başka literatürlerle tartışma olanağı bulamadık. Seçici P_{2x} reseptör agonisti α,β meATP'nin kasıcı etkisinin sildenafil tarafından etkilenmemesi sildenafilin P_{2x} reseptörleri etkilemediğini göstermektedir.

Çalışmamızda P₂ reseptörler üzerinde seçici olmayan etkiye sahip ATP yanıtları ise sildenafil tarafından non-kompetitif tarzda antagonize edilmiştir. Bu antagonizma yukarıda da izah edildiği gibi eksojen ATP'nin NO salıverdirterek hücre içi cGMP'yi artırması ve sildenafilin cGMP'yi yıkan PDE₅ enzimini inhibe ederek hücre içi cGMP seviyesini artırmasına bağlanmıştır. Buradan hareketle sildenafil – NO etkileşimine yönelik çalışmalara ihtiyaç vardır. Diğer taraftan sildenafilin selektif P_{2y} reseptör agonistleri ile çalışılması bu görüşümüze olumlu veya olumsuz katkılarda bulunabilir.

Vas deferensin 40V, 20 Hz, 0,5 ms. elektriksel alan stimülasyonu her iki segmentte de bifazik yanıtlara neden oldu. Vas deferensin elektriksel stimülasyonu ile bifazik yanıtlar elde edildiğine dair literatürde bir çok çalışmaya rastladık (16,17,57,83,84). Yapılan çalışmalarda vas deferensin elektriksel stimülasyonunun ATP ve NA salıverilmesine neden olduğu ve bunların da kavşak sonrası reseptörleri etkileyerek kasılmaya neden olduğu gösterilmiştir (71,119). ATP purinerjik P₂ reseptörleri etkileyerek hızlı ve geçici kasılmaya neden olup bifazik yanıtın birinci fazını oluşturmaktadır. NA ise α₁ adrenerjik reseptörleri etkileyerek yavaş ve dengeli kasılmaya neden olur ve ikinci fazı oluşturur (17).

Seçici olmayan P₂ reseptör antagonisti suramin 10⁻⁴M derişimde epididimal kısımda Faz I'i % 42 Faz II'yi %35 oranında; prostatik kısımda ise Faz I'i % 51, Faz II'yi % 41 oranında bloke etti. Bu bulgularımız literatürlerle uyumludur (26). Kobay vas deferensinde hücre içi mikroelektrot kayıt tekniği kullanılarak yapılan çalışmada suraminin düz kas hücrelerinin istirahat membran potansiyelinde değişikliğe neden olmadan eksitator kavşak potansiyelinin büyüklüğünde büyük oranda azalma meydana getirdiği gösterilmiştir. Bu çalışmaya göre vas deferensteki eksitator kavşak potansiyeli NA ile değil ATP aracılığı ile meydana gelmektedir (103). Sıçan, tavşan ve kobay vas deferensinde yapılan çalışmalarda epididimal ve prostatik kısımlarda eksitator kavşak potansiyellerin benzer olduğu ve P₂ reseptör antagonisti suramin tarafından önlendiği gösterilmiştir (104). Bizim çalışmamızda da suramin her iki kısımdaki

yanıtları önlemiştir. Sneddon'un ifade ettiği gibi bu etki eksitator kavşak potansiyeli inhibisyonu ile olabilir. Bultman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada suraminin elektriksel stimülasyona bağlı kasılmaların sadece Faz I'ini önlediğini Faz II'yi ise etkilemediği ileri sürülmüştür. Faz I daha çok purinerjik sistem kontrolündedir (26). Ancak bizim çalışmamızda suraminin Faz I'i daha büyük oranda olmak üzere Faz II'yi de anlamlı olarak önlediği görülmüştür.

Diğer taraftan Boselli (2000)'nin yaptığı çalışmada vas deferensin elektriksel stimülasyonu üzerine suraminin etkisi düşük ve yüksek frekanslarda çalışılmıştır. Düşük frekanslarda (0,1-1 Hz) suramin sadece Faz I'i önlemiş Faz II'yi ise etkilememiştir. Bu sonuçlar diğer yayınlar ile uyum içindedir (71). Yüksek frekanslarda ise (10-30 Hz) suramin Faz I ve Faz II'yi parsiyel olarak önlemiştir. Bu bulgu bizim çalışmamızı destekler yöndedir. Çünkü bizim çalışmamızda da 20 Hz ile benzer sonuçlar elde edildi. Suraminin Faz I ve Faz II'de yaptığı kısmi blokajın nedeninin suramine dirençli bölgelerin olabileceğinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (23). Diğer bir olasılık olarak ise yüksek frekanslı stimülasyonun ektoATP az ların salınımına neden olduğu ve bir ektoATP az inhibitörü olan suraminin intrensik etkisine bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (43). Nitekim tavşan vas deferensinde yapılan çalışmada elektriksel stimülasyonun ATP az salınımına neden olduğu ve bunun da yüksek frekanslarda daha fazla olduğu gösterilmiştir (122).

Seçici P_{2x} reseptör antagonisti Evans mavisinin epididimal kısımda Faz I'i %20,6, Faz II'yi % 29,2; prostatik kısımda Faz I'i % 67,2, Faz II'yi %62,2 oranında artırdığı gözlemlendi. Literatürde vas deferensin elektriksel stimülasyonunun yanıtları üzerine Evans mavisinin etkisi hakkında herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Ancak bizim çalışmamızda Evans mavisinin ATP ve NA yanıtlarını arttırmasından dolayı elektriksel stimülasyona bağlı yanıtları da arttırması normal beklentimizdi. Çünkü elektriksel stimülasyon sonucu yanıtlar ATP ve NA aracılığı ile meydana gelmektedir. Evans mavisinin sıçan vas deferensinde elektriksel stimülasyonla reseptörden bağımsız Ca⁺⁺ girişini arttırarak potansiyalizasyon meydana getirdiği ileri sürülmektedir (22).

Sildenafil'in epididimal kısımda Faz I'i %45,9, Faz II'yi % 48,7 oranında; prostatik kısımda ise Faz I'i % 44,6, Faz II'yi % 52 oranında önlediği saptandı. Literatürde sildenafil'in vas deferensin elektriksel stimülasyonuna bağlı kasılmaları önlediğine ilişkin tek bir yayına rastladık. Bu çalışmada sildenafil tarafından meydana getirilen gevşeme K^+ kanal blokörleri tarafından ortadan kaldırılmış ve sildenafil'in meydana getirdiği gevşemenin NO'den bağımsız mekanizmalar yolu ile meydana gelebileceği bunun da kavşak öncesi K^+ kanallarının açılmasını aktive ederek adrenerjik iletimi azalttığı ileri sürülmüştür (85). Bu çalışmada elektriksel stimülasyona bağlı kasılmaları sildenafil'in önlemesi bizim çalışmamızla uyum içindedir. Ancak biz sildenafil'in etkisinde purinerjik sistemin etkisini araştırdığımızdan dolayı K^+ kanalları ile ilgili tartışmaya girmiyoruz. Literatürde elektriksel stimülasyon üzerine sildenafil'in etkisini araştıran başka yayınlara rastlamak mümkündür. Tavşan korpus kavernosumunda elektriksel stimülasyonla meydana getirilen gevşemeleri sildenafil artırmıştır (11). Yine tavşan korpus kavernosumunda elektriksel stimülasyon tarafından meydana getirilen gevşemenin fentolamin sildenafil ile kombine edildiğinde belirgin olarak arttığı gözlenmiştir (5). Sıçan korpus kavernosumunda elektriksel stimülasyon tarafından meydana getirilen gevşemelerin amplitüd ve süresini sildenafil belirgin olarak artırmıştır (11,53). Anesteziye edilmiş köpeklerde sinir stimülasyonuna bağlı korpus kavernosum içi basınçlarında artış yaptığı gösterilmiştir (34). Erkek ve dişi ürogenital sisteminin bir parçası olan anokoksigeus kasında yapılan çalışmada sildenafil elektriksel stimülasyona bağlı gevşemelerin amplitüd ve süresini artırdığı gösterilmiştir (50). Tavşan klitoral korpus kavernosumunda yapılan çalışmada ise sildenafil elektriksel stimülasyona bağlı gevşemeyi anlamlı olarak artırmıştır (101,118). Tüm bu çalışmalarda sildenafil'in gevşetici etkisinin NO/cGMP yolağının aktivasyonu ile meydana geldiği ileri sürülmektedir. Buradan hareketle sildenafil'in sıçan vas deferensinin elektriksel stimülasyonuna bağlı kasılmaları inhibe etmesi NO üzerinden olabilir. Vas deferensin elektriksel stimülasyonu frekansa bağımlı olarak NO salıverilmesinde artış yaptığı bildirilmektedir (119).

Sonuç olarak; çalışmamızda sildenafilin vas deferenste ATP'ye ve elektriksel stimülasyona bağlı kasılmaları antagonize ettiği saptanmıştır. Bu etkide purinerjik sistemin rolünün olduğunu; ancak bunun reseptör düzeyindeki olaylardan çok sildenafilin, NO salınması ve cGMP'nin hücre dışına çıkışı gibi ATP'ye bağımlı mekanizmalarla etkileşmesiyle gerçekleştiğini düşünüyoruz.

Sildenafilin vas deferenste relaksasyon yaptığını gösteren bu çalışmanın sonuçlarının kliniğe yansması önemlidir. Vas deferensin gevşemesi ile sperm transportu inhibe olmaktadır. Epididimde spermlerin kalış süresi uzamakta ejakulat volümü ve sperm sayısı artmaktadır. Bu nedenle sperm sayısı az olan infertil hastalarda kullanımı akla gelebilir. Fakat spermlerin epididimde kalış süresi ile fertilité arasındaki ilişki kesin değildir. Yeoung ve ark yaptıkları çalışmada vas deferens ve epididimde uzun süre kalan spermlerin fertilité yeteneklerinde azalma olduğunu saptamışlardır (125). Bu konuda daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır. Öte yandan sildenafil tedavisi ile prematur ejakulasyon tedavisinde başarılı sonuçlar alınabilir.

Ejakulasyon bozukluklarının büyük bir kısmı ED'la beraber görülmektedir. Böylece her iki sorunu da olan hastalar için tek bir ilaç tedavisi yararlı sonuçlar getirecektir. Sildenafilin kısa sürede etki göstermesi sperm örneklerinin toplanmasında işe yarayabilir. Yapılan çalışmalarda en erken etki süresi 12 dakika olarak bulunmuştur. Bu durum sildenafilin sadece tedavide değil tanı aracı olarak da kullanılmasını gündeme getirebilir.

6. SONUÇLAR

1. Sildenafil, izole sıçan vas deferensinin epididimal ve prostatik kısmında noradrenaline bağlı kasılmaları değiştirmedir.
2. Sildenafil, izole sıçan vas deferensinin epididimal ve prostatik kısmında ATP'ye bağlı kasılmaları anlamlı olarak inhibe etti. Meydana gelen antagonizma non – kompetitif nitelikteydi.
3. Sildenafil, izole sıçan vas deferensinin epididimal ve prostatik kısmında selektif P_{2x} purinerjik reseptör agonisti α,β meATP'ye bağlı kasılmaları değiştirmedir.
4. Sildenafil, izole sıçan vas deferensinin epididimal ve prostatik kısmında elektriksel stimölasyona bağlı kasılmaları anlamlı olarak inhibe etti.
5. Non-selektif P_{2x} purinerjik reseptör antagonisti suramin NA'e bağlı kasılmaları değiştirmezken ATP, α,β meATP'ye ve elektriksel stimölasyona bağlı kasılmaları anlamlı olarak inhibe etti.
6. Selektif P_{2x} purinerjik reseptör antagonisti Evans mavisi NA, ATP ve elektriksel stimölasyona bağlı kasılmaları anlamlı olarak artırırken α,β meATP' ye bağlı kasılmaları anlamlı olarak inhibe etti.

7. KAYNAKLAR

1. Abbraccio MP, Burnstock G. Purinergic Signalling: Pathophysiological Roles. *Jpn J Pharmacol* 1998; 78: 113-145.
2. Abbraccio MP, Williams M. Handbook of Experimental Pharmacology Purinergic and pyrimidinergetic signalling I molecular, nervous and urogenitary system function. 2001; 151/1: 129-175.
3. Abraham EH, Vos P, Kahn J, Grubman SA, Jefferson DM, Ding I. Cystic fibrozis hetero-and homozygosity is associatede with inhibition of breast cancer growth. *Nat Med* 1996; 2: 593-596.
4. Ahn HS, Crim W, Romano M, Sybertz E, Pitts B. Effects of selective inhibitors on cyclic nucleotide phosphodiesterases of rabbit aorta. *Biochem Pharmacol* 1989 Oct 1; 38(19): 3331-9.
5. Angulo J, Cuevas P, Fernandez A, Gabancho S, Tejada IS. Combination of Phentolamine and L-Arginine or Sildenafil synergistically improves neurogenic relaxation of rabbit corpus cavernosum smooth muscle. *Urology* 2001; 57 (3): 585-589.
6. Aoyagi T, Hayakawa K, Miyajik K , Ishikawa H, Hata M. Sildenafil induced priapism. *Bull Tokyo Dent Coll* 1999; 40(4): 215-217.
7. Aversa A, Mazzilli F, Rossi T, Delfino M, Isidori A, Fabbri A. Effects of sildenafil (Viagra™) administration on seminal parameters and post-ejaculatory refractory time in normal males. *Human Reproduction* 2000; 15 (1): 131-134.
8. Aynacioğlu Ő, Őadan G. Purinerjik sistem, purinoseptörler ve fizyolojik-farmakolojik özellikleri. *Akd Ü Tıp Fak Dergisi* 1990; 7(3-4): 103-108.

9. Bailey SJ, Hourani SMO. Differential effects of suramin on P₂-purinoceptors mediating contraction of the guinea pig vas deferens and urinary bladder. *Br J Pharmacol* 1994; 112: 219-225.
10. Bailey SJ, Hourani SMO. Effects of suramin on contraction of the guinea-pig vas deferens induced by analogues of adenosine 5'-triphosphate. *Br J Pharmacol* 1995; 114: 1125-1132.
11. Ballard SA, Gingell CJ. Effects of sildenafil on the relaxations of human corpus cavernosum tissue in vitro and on the activities of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes. *J Urology* 1998; 159: 2164-2171.
12. Barnes MJ, Cooper N, Davenport RJ, Dyke HJ, Galleway FP, Galvin FCA, Gowers L, Haughan AF, Lowe C, Meissner JWG. Synthesis and Structure – Activity relationships of guanine analogues as phosphodiesterase 7 (PDE) inhibitors. *Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters* 2001; 11: 1081-1083.
13. Beavo JA, Conti M. Multiple cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Mol Pharm* 1994; 46: 399-405.
14. Beavo JA, Reisfunyder DH. Primary sequence of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes and the design of selective inhibitor. *TIPS Reviews* 1990; 11: 150-155.
15. Bi Y, Stay P, Adam L, He B, Krupinski J, Normandin D, Pongrac R, Seliger L, Watson A, Macar JE. The discovery of novel, potent and selective PDE 5 inhibitors. *Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters* 2001; 11: 2461-2464.
16. Boselli C, Grana E. Differential blockade of α,β -methylene-ATP, noradrenaline and electrically evoked contractions of the rat vas deferens. *Journal of Autonomic Pharmacology* 1999; 19: 249-256.

17. Boselli C, Grana E. Differential effects of drugs interacting with autonomic transmitters on response of rat vas deferens to field stimulation. *Journal of Autonomic Pharmacology* 2000; 20: 87-97.
18. Bowman A, Drummond AH. Cyclic GMP mediates neurogenic relaxation in the bovine retractor penis. *Br J Pharmacol* 1984; 81: 665-674.
19. Boyce EG, Umland EM. Sildenafil citrate: A Therapeutic Update. *Clinical Therapeutics* 2001; 23: 2-23.
20. Brown CA, Patel V, Wilkinson G, Boarder MR. P2 purinoceptor-stimulated conversion of arginine to citrulline in bovine endothelial cells is reduced by inhibition of protein kinase C. *Biochem Pharmacol* 1996 Dec 24; 52(12): 1849-54.
21. Bultmann R, Starke K. Blockade by 4,4'-diisothiocyanastilbene-2,2'-disulphonate (DIDS) of P_{2x} purinoceptors in rat vas deferens. *Br J Pharmacol* 1994; 12: 690-694.
22. Bultmann R, Starke K. Evans blue blocks P_{2x} – purinoceptors in rat vas deferens. *Naunyn- Schimedeberg's Archives of Pharmacology* 1993; 348: 684-687.
23. Bultmann R, Starke K. P₂-purinoceptor antagonists discriminate three contraction-mediating receptors for ATP in rat vas deferens, *Naunyn- Schimedeberg's Archives of Pharmacology* 1994; 349: 74-78.
24. Bultmann R, Starke K. Reactive red 2: a P_{2y} –selective purinoceptor antagonist and an inhibitor of ecto-nucleotidase. *Naunyn- Schimedeberg's Archives of Pharmacology* 1995; 352(5): 477-82. (8751075)
25. Bultmann R, Trandelenburg M, Starke K. Blockade of P_{2x}- purinoceptors by trypan blue in rat vas deferens. *Br J. Pharmacol* 1994; 113: 349-354.

26. Bultmann R, Wittenburg H. P₂-purinoceptor antagonists II. Blockade of P₂ – purinoceptor subtypes and ecto-nucleotidases by compounds to suramin. Naunyn-Schimedeborg's Archives of Pharmacology 1996; 354: 498-504.
27. Bultmann R, Wittenburg H, Pause B, Kurz G, Nickel P, Starke K. P₂-purinoceptor antagonists III. Blockade of P₂ –purinoceptor subtypes and ecto-nucleotidases by compounds related to Evans blue and trypan blue. Naunyn- Schimedeborg's Archives of Pharmacology 1996; 354: 491-497.
28. Bultmann R, Starke K, Nucleotide- evoked relaxation of rat vas deferens-a possible role for endogenous ATP released upon α 1- adrenoceptor stimulation. Eur J Pharmacol 2001; 422: 197-202.
29. Burnstock G. Neurotransmitters and trophic factors in the autonomic nervous system. J Physiol 1981; 313: 1-35.
30. Burnstock G. Purinergic cotransmission. Brain Research Bulletin 1999; 50(5/6): 355-357.
31. Burnstock G. The past, present and future of purine nucleotides as signalling molecules. Neuropharmacology 1997; 36(9): 1127-1139.
32. Burnstock G, Williams M. P₂ purinergic receptors: modulation of cell function and therapeutic potential. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 2000; 295(3): 862-869.
33. Burton LD, Housley GD, Salih SG, Jarlebark L, Christie DL, Greenwood D. P_{2x2} receptor expression by interstitial cells of Cajal in vas deferens implicated in semen emission. Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical 2000; 84: 147-161.
34. Carter AJ, Ballard SA. Effect of the selective phosphodiesterase type 5 inhibitor sildenafil on erectile function in anesthetized dog. J Urol 1998; 160: 242-246.

35. Castro AF, Amorena C, Muller A, Ottaviano G, Tellez-Inon MT, Taquini AC. Extracellular ATP and bradykinin increase cGMP in vascular endothelial cells via activation of PKC. *Am J Physiol* 1998 Jul; 275(1 Pt 1):C113-9.
36. Charbonneau H, Prustie RK, Le Trong H, Sonnenburg WK, Mullaney PJ, Walsh KA, Beavo JA. Identification of a noncatalytic cGMP-binding domain conserved in both the cGMP-stimulated and photoreceptor cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 288-292.
37. Chuang AT, Strauss JD, Murphy RA, Steers WD. Sildenafil a type-5 cGMP phosphodiesterase inhibitor specifically amplifies endogenous cGMP- dependent relaxation in rabbit corpus cavernosum smooth muscle in vitro. *J Urol* 1998; 160: 257-261.
38. Corbin JD, Francis SH, Webb DJ. Phosphodiesterase type 5 as a pharmacologic target in erectile dysfunction. *Urology* 2002 Sep; 60(2 Suppl 2): 4-11.
39. Cunha RA, Riberio JA. ATP as a presynaptic modulator. *Life Sciences* 2000; 68: 119-137.
40. Dalziel HH, Westfall DP. Receptors for adenine nucleotides and nucleosides: subclassification, distribution and molecular characterization. *Pharm Rev* 1994; 46(4): 450-462.
41. Damer S, Niebel B, Czeche S, Nickel P, Ardanuy U, Schmalzing G, Rettinger J, Mutschler E, Lambrecht G. NF 279: a novel potent and selective antagonists of P_{2x} receptor- mediated response. *Eur J Pharmacol* 1998; 350: R5-R6.
42. Dixon AK, Gubitza AK, Sirinathsinghji DJ, Richardson PJ, Freeman TC. Tissue distribution of adenosine receptor mRNA in the rat. *Br J Pharmacol* 1996; 118(6): 1461-1468.

43. Dunn PM, Blakely AGH. Suramin: a reversible P₂-purinoceptor antagonists in the mouse vas deferens. *Br J Pharmacol* 1988; 93: 243-245.
44. Dunn PM. Fertility : Purinergic receptors and the male contraceptive pill. *Current Biology* 2000; 10: R305-R307.
45. Eardley I, Cartledge J. Taladafil (Cialis) for men with erectile dysfunction. *Int J Clin Pract* 2002; 56(4): 300-304.
46. Estrade M, Grondin P, Cluzel J, Bonhomme B, Doly M. Effect of a cGMP-specific phosphodiesterase inhibitor on retinal function. *Eur J Pharmacol* 1998; 352: 157-163.
47. Fagelman E, Fagelman A, Shabsigh R. Efficacy, safety and use of sildenafil in urological practice. *Urology* 2001; 57: 1141-1144.
48. Fedan JS, Hogaboom GK, Westfall DP, O'Donnell JP. Comparison of contractions of the smooth muscle of the guinea-pig vas deferens induced by ATP and related nucleotides. *Eur J Pharmacol* 1982; 81: 193-204.
49. Feoktistov I, Biaggioni I. Role of adenosine in asthma. *Drug Dev Res* 1996; 39: 333-6.
50. Frith D, Gibson A. Sildenafil citrate on nitregeric transmission in anococcygeus muscles from the urogenital system of male and female mice. *Eur J Pharmacol* 2000; 400: 305-312.
51. Fuglsang A, Thekildsen P, Crone C. Presynaptic modulation of sympathetic nevre transmission an element in vasomotor control. *Int J Microcirc Clin Exp* 1989; 8(1): 71-84.

52. Garthwaite J, Charles SL, Williams RC. Endothelium –derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. *Nature* 1998; 336(24): 385-387.
53. Gemalmaz H, Waldeck K, Chapman TN, Tuttle JB, Steers WD, Andersson KE. In vivo and in vitro investigation of the effects of sildenafil on rat cavernous smooth muscle. *J Urol* 2001; 165: 1010-1014.
54. Gibson A. Phosphodiesterase 5 inhibitors and nitrenergic transmission from zaprinast to sildenafil. *Eur J Pharmacol* 2001; 411: 1-10.
55. Glossmann H, Petrischor G, Bartsch G. Molecular mechanisms of the effects of sildenafil (VIAGRA®). *Experimental Gerontology* 1999; 34: 305-318.
56. Goldstein I, Lue TF, Padmanathan H, Rosen RC, Steers WD, Wicker PA. Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. *N Eng J Med* 1998; 338: 1397-1404.
57. Grana E, Boselli C, Bianchi L. Cromokalim blocks the purinergic response evoked in rat vas deferens by single-pulse electrical stimulation. *Eur J Pharmacol* 1997; 319: 57-64.
58. Groat WC, Yoshimura N. Pharmacology of the lower urinary tract. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001; 41: 691-721.
59. Guoyao WU, Sidney M, Morris JR. Arginine metabolism : nitric oxide and beyond. *J Biochem* 1998; 336: 1-17.
60. Higgs G. Phosphodiesterase type 4 as a target for treating asthma. *Res Immunol* 1998; 149: 203-204.

61. Hillarie-Buys D, Gross R, Loubatieres –Mariani MM, Ribes G. Effect of pertussis toxin on A_1 -receptor-mediated inhibition of insulin secretion. *Br J Pharmacol* 1989; 96: 3-4.
62. Hosogai N, Hamada K, Tomita M, Nagashima A, Takahashi T, Sekizawa T, Mizutani T, Urano Y, Kurado A, Sawada K, Ozaki T, Seki J, Goto T. FR 22807: a potent and selective phosphodiesterase type 5 inhibitor. *Eur J Pharmacol* 2001; 428: 295-302.
63. Huang Z, Ducharma Y, Macdonald D, Robichaud A. The next generation of PDE4 inhibitors. *Curr Opin Chem Biol* 2001; Aug;5(4): 432-8.
64. Jarlebark LE, Housley GD, Raybould NP, Vlajkovic S, Thorne PR. ATP-gated ion channels assembled from P_{2x2} receptor subunits in the mouse cochlea. *Neuroreport* 2002; 13(15): 1979-1984.
65. Jedlitschky G, Burchell B, Keppler D. The multidrug resistance protein 5 functions as an ATP-dependent export pump for cyclic nucleotides. *J Biol Chem* 2000 Sep 29; 275(39): 30069-74.
66. Kayaalp SA (ed). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 9.baskı. Ankara, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd.Şti, 2000; 1044-1074.
67. Khakh BS, Burstock G, Kennedy C, King BF, North RA, Seguela P, Voigt M, Humphrey PA. International Union of Pharmacology. XXIV. Current Status of the Nomenclature and Properties of P_{2x} receptors and their subunits. *Pharmacol Rev* 2001; 51(1): 107-117.
68. Khakh BS, Surprenant A. A study on P_{2x} purinoceptors mediating the electrophysiological and contractile effects of purine nucleotides in rat vas deferens. *Br J Pharmacol* 1995; 115: 177-185.

69. Kim NN, Huang Y, Goldstein I, Bischoff E, Traish AM. Inhibition of cyclic GMP hydrolysis in human corpus cavernosum smooth muscle cells by vardenafil, a novel, selective phosphodiesterase type 5 inhibitor. *Life Sciences* 2001; 69: 2249-2256.
70. Krukoff TL. Central actions of nitric oxide in regulation of autonomic functions. *Brain Research Reviews* 1999; 30: 52-65.
71. Kugelgen I, Starke K. Corelease of noradrenaline and ATP by brief pulse trains in guinea-pig vas deferens. *Naunyn-Schimedeborg's Archives of Pharmacology* 1994; 350: 123-129.
72. Kugelgen I, Bultmann R, Starke K. Interaction of adenine nucleotides, UTP and suramin in mouse vas deferens: suramin-sensitive and suramin-insensitive components in the contractile effect of ATP. *Naunyn-Schimedeborg's Archives of Pharmacology* 1990; 342(2): 198-205.
73. Kurz AK, Bultmann R, Driessen B, Kugelgen I, Starke K. Release of ATP in rat vas deferens: origin and role of calcium. *Naunyn-Schimedeborg's Archives of Pharmacology* 1994; 350: 491-498.
74. Ledent C, Vaugeois JM, Schiffmann SN, Pedrazzini T, Yacoubi ME, Vanderhaeghen JJ, Heath JK, Vassart G, Parmentier M. Apressiveness, hypoalgesia and high blood pressure in mice lacking the adenosine A_{2A} receptor. *Nature* 1997; 388: 674-678.
75. Lee HY, Bardini M, Burnstock G. Distribution of P_{2x} receptors in the urinary bladder and the ureter of the rat. *J Urol* 2000; 163: 2002-2007.
76. Lee HY, Bardini M, Burnstock G. P_{2x} receptor immunoreactivity in the male genital organs of the rat. *Cell Tissue Res* 2000; 300: 321-330.

77. Lee MR, Li L., Kitazawa T. Cyclic GMP causes Ca^{++} desensitization in vascular smooth muscle by activating the myosin light chain phosphatase. *The Journal of Biological Chemistry* 1997; 272 (21): 5063-5068.
78. Lincoln J, Hoyle C.H.V, Burnstock G. *Nitric Oxide in Health and Disease*, Cambridge University Press, 1997
79. Longtry HD, Markham A. Sildenafil a review of its use in erectile dysfunction. *Drugs* 1999; 57(6): 967-989.
80. Lue TF. Erectile dysfunction. *N Eng J Med* 2000; 15: 1802-1812.
81. Mallard N, Marshall R, Sithers A, Spriggs B. Suramin: a selective inhibitor of purinergic neurotransmission in the rat isolated vas deferens. *Eur J Pharmacol* 1992; Sep 10; 220(1): 1-10.
82. McDonnell SM. Ejaculation Physiology and Dysfunction. *Vet Clin North Am Equine Pract* 1992; Apr;8(1): 57-70.
83. McGrath JC. Adrenergic and 'non-adrenergic' components in the contractile response of the vas deferens to a single indirect stimulus. *J Physiol* 1978; Oct;283: 23-39.
84. McLaren GJ, Lambrecht G, Mutschler E, Baumert HG, Sneddon P, Kennedy C. Investigation of the action of PPADS, a novel P_{2x} -purinoceptor antagonist, in the guinea-pig isolated vas deferens. *Br J Pharmacol* 1994; 111: 913-917.
85. Medina P, Segarra G, Torondel B, Chuan P, Domenech C, Vila JM, Lluch S. Inhibition of neuroeffector transmission in human vas deferens by sildenafil. *Br J Pharmacol* 2000; 131: 871-874.

86. Moncada S. Nitric oxide gas: mediator, modulator and pathophysiologic entity. *J Lab Clin Med* 1992; 120: 187-191.
87. Moncada S, Higgs A, Furchgott R. XIV. International Union of Pharmacology Nomenclature in Nitric Oxide Research. *Pharmacol Rev* 1997; 49(2): 137-141.
88. Morales A, Gingell C, Collins M, Wicker PA, Osterloh IH. Clinical safety of oral sildenafil citrate (VIAGRA®) in the treatment of erectile dysfunction. *International Journal of Impotence Research* 1998; 10: 69-74.
89. Moreland RB, Hsieh G, Nakane M, Brioni JD. The Biochemical and Neurologic basis for the treatment of male erectile dysfunction. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2001; 296(2): 225-234.
90. Moreland RB, Goldstein I, Kim NN, Traish A. Sildenafil citrate, a selective phosphodiesterase type 5 inhibitor. *TEM* 1999; 10(3): 97-104.
91. Mulryan K, Gitterman DP, Lewis CJ, Vial C, Leckie BJ, Cobb AL, Brown JE, Conley EC, Buell G, Pritchard CA, Evans RJ. Reduced vas deferens contraction and male infertility in mice lacking P_{2x1} receptors. *Nature* 2000; 403(6): 86-89.
92. Noone PG, Bennett WD, Regnis JA, Zeman KL, Carson JL, King ML, Boucher RC, Knowles MR. Effect of aerosolized uridine-5'-triphosphate on airway clearance with cough in patients with primary ciliary dyskinesia. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; Jul; 160(1): 144-145.
93. North RA, Bernard EA. Nucleotide receptors. *Current Opinion in Neurobiology* 1997; 7: 346-357.
94. North RA, Surprenant A. Pharmacology of cloned P_{2x} receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2000; 40: 563-580.

95. Oliveria A, Lamas S, Rodriguez-Royal D, Lopez –Novaa JM. Adenosine induces mesengial cell contraction by an A₁-type receptor. *Kidney Int* 1989; 35: 1300-1305.
96. Perry MJ, Gerald AH. Chemotherapeutic potential of phosphodiesterase inhibitors. *Current Opinion in Chemical Biology* 1998; 2: 472-481.
97. Pfizer Inc: *Viagra U.S. Product Prescribing Information*, 1999
98. Pound N. Effects of morphine on electrically evoked contractions of the vas deferens in two congeneric rodent species differing in sperm competetion intensy. *Proc R Soc Lon B* 1999; 266: 1755-1758.
99. Purvis K, Muierhead GJ. The effects of sildenafil on human sperm function in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 2002; 53 (Suppl 1): 535-605.
100. Ralevic V, Burnstock G. Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol Rev* 1998; 50(3): 413-492.
101. Rosselli M, Keller PJ. Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Human Reproduction Update* 1998; 4: 3-24.
102. Santicoli P, Del Bianco E, Maggi CA. Adenosine A₁ receptors mediate the presynaptic inhibition of calcitonin gene-related peptide release by adenosine in the rat spinal cord. *Eur J Pharmacol* 1993; 231: 139-142.
103. Sneddon P, Westfall TD, Todorov LD, Todorova M, Westfall DP, Nickel P, Kennedy C. The effect of P₂ receptor antagonists and ATPase inhibition on sympathetic purinergic neurotransmission in the guinea-pig isolated vas deferens. *Br J Pharmacol* 2000; 129: 1089-1094.

104. Sneddon P, Machaly M. Regional variation in purinergic and adrenergic responses in isolated vas deferens of rat, rabbit and guinea-pig. *J Auton Pharmacol* 1992; Dec;12(6): 421-428.
105. Soderling SH, Beavo JA. Regulation of cAMP signaling: new phosphodiesterases and new functions. *Current Opinion in Cell Biology* 2000; 12: 174-179.
106. Somers MS, Harrison DG: Reactive Oxygen Species and the Control of Vasomotor Tone. *Curr Hypertens Rep* 1999; 1: 102.
107. Soto F, Lombrecht G, Nickel P, Stuhmer W, Busch AE. Antagonistic properties of the suramin analogue NF 023 at heterologously expressed P_{2x} receptors. *Neuropharmacology* 1999; Jun;38(1): 141-149.
108. Stark ME, Szurszewski SH: Role of Nitric Oxide in Gastrointestinal and Hepatic Function and Disease. *Gastroenterology* 1992; 103: 1928.
109. Stjarne L. Novel dual "small" vesicle model of ATP and noradrenaline – mediated sympathetic neuromuscular transmission. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* 2001; 87: 16-36.
110. Stockley I.H, *Drug Interactions*. 5 edition, Pharmaceutical Press, 2001,
111. Sundkvist E, Jaeger R, Sager G. Pharmacological characterization of three ATP-dependent low Km guanosine 3',5'- cyclic monophosphate (cGMP) transporter in human erythrocytes. *Biochemical Pharmacology* 2002; 63: 945-949.
112. Szewczyk A, Pikula S. Adenosine 5'-triphosphate: an intracellular metabolic Messenger. *Biochimica et Biophysica Acta* 1998; 1365: 333-353.
113. Tennant JP, Hourani SM. Breakdown of extracellular ATP by the prostatic and epididymal ends of the guinea pig vas deferens. *Eur J Pharmacol* 2000; 387: 107-109.

114. Territt NK, Bell AS, Brown D. A potent and selective inhibitor of type 5 cGMP phosphodiesterase with utility for the treatment of male erectile dysfunction. *Bioorg Med Chem Lett* 1996; 6: 1819.

115. Thompson WJ. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: pharmacology, biochemistry and function. *Pharmac Ther* 1991; 51: 13-33.

116. Torphy TJ, Page C. Phosphodiesterases: the journey towards therapeutics. *TIPS* 2000; 21: 157-159.

117. Tsuchida A, Liu GS, Wilborn WH, Downey JM. Pretreatment with the adenosine A₁-selective agonist, 2-chloro-N⁶-cyclopentyladenosine (CCPA) causes a sustained limitation of infarct size in rabbits. *Cardiovasc Res* 1993; 27: 652-656.

118. Vemulapalli S, Krowski S. Sildenafil relaxes rabbit clitoral corpus cavernosum. *Life Sciences* 2000; 67: 23-29.

119. Vetri T, Maio RD, Bonafede G, Passafiume L, Postorino A. Neurotransmitters adenosine triphosphate and noradrenaline induce nitric oxide release in rat vas deferens, *Journal of Autonomic Pharmacology* 2000; 20: 133-137.

120. Waldinger MD, Berendsen HHG, Blok BFM, Olivier B. Premature ejaculation and serotonergic antidepressants-induced delayed ejaculation: the involvement of the serotonergic system. *Behavioural Brain Research* 1998; 92: 111-118.

121. Westfall TD, McIntyre CA, Obeid S, Bowes J, Kennedy C, Sneddon P. The interaction of diadenosine polyphosphates with P2x-receptors in the guinea-pig isolated vas deferens. *Br J Pharmacol* 1997 May; 121(1): 57-62.

122. Westfall TD, Menzies JR, Liberman R, Waterson S, Ramphir N, Westfall DP, Sneddon P, Kennedy C. Release of a soluble ATPase from rabbit isolated vas deferens during nerve stimulation. *Br J Pharmacol* 2000; Nov; 131(5): 909-914.

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DENEYİMANTASTON MÜHÜRÜ**

123. Williams M. Purine receptors in mammalian tissues: pharmacology and functional significance. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1987; 27: 315-345.

124. Williams M. Purines: from premise to promise. *Journal of Autonomic Nervous System* 2000; 81: 285-288.

125. Yuhong Q, Patricia K. Rabbit corpus cavernosum smooth muscle shows a different phosphodiesterase profile than human corpus cavernosum. *J Urol* 2000; 164: 882-886.



