

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA N- LDL ENJEKSİYONU
SONRASINDA OLUŞAN ENDOTELİYAL
DİSFONKSİYON SONUCU KORPUS
KAVERNOSUM PENİS VE TORAKAL
AORTADAKİ HİSTOPATOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLER**

AYŞE ÖZLEM DURMUŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İZMİR- 2007

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA N- LDL ENJEKSİYONU
SONRASINDA OLUŞAN ENDOTELİYAL
DİSFONKSİYON SONUCU KORPUS
KAVERNOSUM PENİS VE TORAKAL
AORTADAKİ HİSTOPATOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLER**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman: Yard. Doç. Dr. H. Alper BAĞRIYANIK

AYŞE ÖZLEM DURMUŞ

TEŐEKKÜR:

Tüm Yüksek lisans eğitimim süresince ve tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimlerini aktaran tez danışmanım Sn. Yrd.Doç.Dr.Alper BAĞRIYANIK'a; iş yoğunluğuna rağmen her zaman çalışma hayatı ve bilimsel düşünce adına yetişmemde katkıda bulunan Prof.Dr.Candan ÖZOĞUL'a ve tezimin her aşamasında desteğini esirgemeyen sabırlı davranışlarıyla bana güç veren Yrd.Doç.Dr. Nergis MURAT'a tezin yapımı sırasında yardımları ile destek veren Dr. Başak BAYKARA ve Dr.Müge KİRAY' a ve iki yıl boyunca eğitimim süresince bana çok büyük katkıları olan hocalarıma ve samimi arkadaşlıklarını esirgemeyen beraber çalıştığım arkadaşlarıma, Tüm yüksek lisans eğitimim süresince yakın destek ve sabrı ile manevi güç kaynağım eşim Coşkun ve oğullarım Mertcan ve Egecana şükranlarımı sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TABLO LİSTESİ.....	3
ŞEKİL LİSTESİ.....	3-4
RESİM LİSTESİ.....	4
KISALTMALAR.....	5
ÖZET.....	6-7
ABSTRACT.....	8-9
1- GİRİŞ VE AMAÇ.....	10
2- GENEL BİLGİLER.....	11-35
2.1. DAMAR HİSTOLOJİSİ.....	11-17
2.1.1. Damar duvar tabakaları	
2.2. ENDOTEL.....	17-20
2.2.1. Endotel hücre yapısı	
2.2.2. Endotel işlevleri	
2.2.3. Vasküler tonusun endotel tarafından düzenlenmesi	
2.2.4. Endotel disfonksiyon disfonksiyona bağlı vasküler tonus azalması	
2.3. HİPERLİPİDEMİ.....	20-25
2.3.1. Tanım ve Genel bilgiler	
2.3.2. Etiyoloji	
2.3.3. Hiperlipidemi sonuçları	
2.3.4. Hiperlipidemide Oluşan Vasküler Histopatolojik Değişiklikler ve Ateroskleroza Olan Katkısı	
2.4. ATEROSKLEROZ.....	25-29
2.4.1. Tanım ve Genel bilgiler	
2.4.2. Ateroskleroz etiyojisi	
2.4.3. Ateroskleroz Patogenezi	
2.4.4. Aterosklerozda oluşan vasküler histolojik değişiklikler	
2.4.5. Ateroskleroz ve endotel disfonksiyon ilişkisi	
2.5. KÖRÖS KAVERNÖZUM.....	30
2.5.1. Kavernöz doku yapısı	

2.5.2. Kavernöz doku histolojisi	
2.6. EREKTİL FİZYOLOJİ VE EREKTİL DİSFONKSİYON	31-35
2.6.1. Ereksiyon fizyolojisi	
2.6.2. Erektile disfonksiyon	
I-Erektile disfonksiyon fizyopatolojisi	
II-Erektile disfonksiyon etiyolojisi	
3. GEREÇ ve YÖNTEM	36-41
3.1. Sıçanların beslenmesi ve gruplandırılması.	
3.2. Plazma lipid seviyelerini ölçülmesi	
3.3. İzole organ banyosunda korpus kavernosum yanıtlarının değerlendirilmesi	
3.4. Çalışmada kullanılan boya ve boyama yöntemleri	
3.5. Işık mikroskopi değerlendirmeleri	
3.6. İstatistiksel yöntemler	
4. BULGULAR	42-54
4.1. Kavernöz doku organ banyosu yanıtları	
4.2. Torakal aortada oluşan histolojik değişiklikler	
4.3. Korpus kavernozumda oluşan histopatolojik değişiklikler	
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	55-58
6. SONUÇLAR	58
7. KAYNAKLAR	59-63

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Kavernoöz dokuda grup içi asetilkoline bağımlı maksimal gevşeme yanıtları

Tablo 2: Aort elastik lamel kalınlığı ve elastik lamel sayısı ortalamaları (ortalama \pm standart hata).

_RESİM LİSTESİ

Resim-1: Deneklere xylamin/Ketamin enjeksiyonu ile anestezi uygulanması

Resim-2: Stürlerin kapatılması

Resim-3: Organ Banyosu Çalışması

Resim-4: Veri kayıt sistemi

Resim 5: Torakal aorta Sham grupları H&E

Resim6: nLDL enjeksiyonundan 24 saat sonra torakal aorta görüntüsü, H&E

Resim 7: nLDL enjeksiyonundan 72 saat sonra torakal aorta görüntüsü, H&E

Resim 8: nLDL enjeksiyonundan 2 hafta sonra torakal aorta görüntüsü H&E

Resim 9: Sham grubu ve nLDL enjeksiyonundan 2 hafta torakal aorta görüntüsü Verhoeff

Resim 10: Sham grubu Mason Trikrom

Resim 11: nLDL enjeksiyonundan 24 saat sonra torakal aorta Mason Trikrom

Resim 12 : nLDL enjeksiyonundan 72 saat sonra torakal aorta Mason Trikrom

Resim 13: nLDL enjeksiyonundan 2 hafta sonra torakal aorta Mason Trikrom

Resim 14: Kavernoöz sinüs duvarı düz kaslarında hipertrofi

Resim 15: nLDL enjeksiyonundan 2 hafta sonra kavernoöz sinüs Van Gieson

Resim 16: nLDL enjeksiyonundan 24 saat sonra torakal aorta e NOS görünümü

Resim 17: nLDL enjeksiyonundan 72 saat sonra torakal aorta e NOS görünümü

Resim 18: nLDL enjeksiyonundan 2 hafta sonra torakal aorta e NOS görünümü

Resim 19: nLDL enjeksiyonundan 24 saat sonra kavernoöz doku eNOS görünümü

Resim 20: nLDL enjeksiyonundan 72 saat sonra kavernoöz doku eNOS görünümü

Resim 21: nLDL enjeksiyonundan 2 hafta sonra kavernoöz doku eNOS görünümü

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Tipik bir damarın duvar yapısı

Şekil-2 : Arterden vene geçiş, mikrosirkülasyon.

Şekil-3 Nitrik Oksidin Anti-aterojenik etkileri

Şekil 4: Korpus kavernozum endotelinden salınan vazodilatatör maddeler

Şekil 5: NO-cGMP yolağı aracılı korpus kavernozum düz kas gevşemesi

Şekil 6: Kontrol grubu kavernöz dokularda asetilkoline bağlı oluşan gevşeme yanıtları. Veriler ortalama standart hata şeklinde gösterilmiştir. ($p>0.05$) (24. saat grubu $n=6$; 72.saat grubu $n=6$; 2 hafta grubu $n=5$)

Şekil 7: n LDL enjeksiyonu yapılan gruplarda kavernöz dokularda asetilkoline bağlı oluşan gevşeme yanıtları. Veriler ortalama standart hata şeklinde gösterilmiştir. (* 24.saat- 2 hafta grubu $p<0.05$) (24. saat grubu $n=9$; 72.saat grubu $n=9$; 2 hafta grubu $n=8$)

Şekil 8: Aort elastik lamel kalınlığı ortalamaları. Sonuçlar ortalama± standart hata olarak gösterilmiştir. * NLDL grupları kendi sham grubu ile anlamlı olarak farklı. # NLDL grupları arasında anlamlı olarak fark bulunmaktadır, $p< 0.01$.

Şekil 9: Aort elastik lamel sayısı ortalamaları. Sonuçlar ortalama± standart hata olarak verilmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamaktadır, $p> 0.05$.

KISALTMALAR

- Apolipoprotein-B (APO-B)
- Asetilkolin (ACh)
- Anjiotensin II (Anj-II)
- Anjiotensin Konvertig Enzim (ACE)
- Araşidonik asit (AA)
- Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein(VLDL)
- Doku plazminojen aktivatörleri (tPA)
- Doğal Düşük Dansiteli lipoprotein (nLDL)
- Düşük Dansiteli Lipoprotein (LDL)
- Düşük Yoğunluklu Lipoprotein(DYL)
- Endotel bağımlı hiperpolarizan faktör (EDHF)
- Endotelin-1 (ET-1)
- Endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS)
- Endotel Bağımlı Hiperpolarizan Faktör (EDHF)
- Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör(EDRF)
- Erektıl disfonksiyon (ED)
- Fibroblast büyüme faktörü (FGF)
- Granüllü Endoplazmik Retikulum (GER)
- Guanizin Trifosfat (GTP)
- İndüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS)
- İnterlökin (IL)
- Korpus kavernozum (KK)
- Koloni Stimüle edici Faktör(CSF)
- Nitrik Oksit (NO)
- Nitrik Oksit Sentaz (NOS)
- Nükleo Adenozin Difosfat(NADPH)
- Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (nNOS)
- Platelet Aktive edici Faktör-1 (PAF-1)
- Platelet Derivated Growth Faktör (PDGF)
- Prostaglandin-I₂ (PGI₂)
- Renal Arter (RA)
- Siklik adenozin monofosfat (cAMP)
- Siklik guanidin monofosfat (cGMP)
- Siklooksijenaz (COX)
- Soluble guanilat siklaz (sGC)
- Transforme-edici Gelişim Faktörü alfa (TGF- α)
- Transforme-edici Gelişim Faktörü beta (TGF-b)
- Tromboxan-A₂ (TxA₂)
- Trombosit Aktive edici Faktör-1 (PAF-1)
- Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)
- Vasküler Düz Kas Hücreleri (VDKH)

ÖZET

SIÇANLARDA N- LDL ENJEKSİYONU SONRASINDA OLUŞAN ENDOTELİYAL DİSFONKSİYON SONUCU KORPUS CAVERNOSUM PENİS VE TORAKAL AORTADAKİ HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

Dr. Özlem Durmuş. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD. 35340 Balçova-İzmir. ozlemdurmus@yahoo.com

AMAÇ

Artan kanıtlar endotelial disfonksiyon aterosklerozun erken dönem bulgusu olduğu yönündedir. LDL endotelial disfonksiyona neden olan önemli faktörlerden birisidir. Endotel hücre fonksiyon bozukluğuna bağlı gelişen erektil disfonksiyonun kardiyovasküler hastalıkların erken dönem bulgusu olduğu bilinmektedir. Çalışmada amaçlanan yüksek doz LDL' ye bağlı olarak aort ve korpus kavernozumun endotel ve düz kas hücrelerinde zamana bağlı gelişen değişiklikleri histopatolojik olarak ve organ düzeyinde etkilerini değerlendirerek incelemektir.

YÖNTEM

Gruplara 4mg/kg iv n LDL ve sham grupları içinde serum fizyolojik uygulandıktan sonra 24.saat, 72.saat ve 2.haftada torakal aorta ve kavernöz dokudaki histopatolojik değişiklikler incelendi. KK dokuları alınarak izole organ banyosunda kümülatif dozlarda asetilkolin (ACh) ile endotel bağımlı yanıtları değerlendirildi.

BULGULAR

Çeşitli histokimyasal yöntemlerle hazırlanarak değerlendirilen histopatolojik bulgular gerek aort gerekse kavernöz sinüs endotel hücrelerinin ışık mikroskopik olarak herhangi bir histopatolojik bulgu sergilemedi. İmmünohistokimyasal olarak ise nLDL uygulamasından sonra 72 saat ve 2 haftalık gruplarda e-nos tutulumu aortta ve vasavosorum endotel hücrelerinde, kavernöz sinüs endotel hücrelerinde ortadan kuvvetliye giderek artan sitoplazmik tutulum gösterdi. Organ banyosu çalışmalarında asetilkoline bağlı gevşeme yanıtları sham gruplarında değişmezken n LDL enjeksiyonu yapılan gruplarda azalma gösterdi. N LDL enjeksiyon yapılan gruplar karşılaştırıldığında 2. hafta grubunda asetilkoline bağlı gevşeme yanıtlarında 24. saate göre anlamlı derecede azalma görüldü.

SONUÇ

Sonuç olarak, sıçanlarda oluşturduğumuz hiperlipidemi modelinde torakal aort ve kavernoöz doku değişiklikleri korelasyon göstermektedir. nLDL zaman bağılı olarak aort elastik membranlarında dejenerasyona, kavernoöz sinüs düz kaslarında hipertrofiye ve trabeküler bağ dokusu dejenerasyonlarına neden olmaktadır. Her iki dokuda da eNOS'un inaktivasyonuna neden olmaktadır. Ancak nLDL' nin uzun dönemde oluşturabileceği endotelial hasar ve diğer bulgularımız ultrastrüktürel olarak incelenmelidir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER

n LDL, endotelial disfonksiyon, torakal aorta, korpus kavernoöz, sıçan

ABSTRACT

HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN RAT TORACAL AORT AND CORPUS CAVERNOSUM IN n LDL-INDUCED ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

**Dr Özlem Durmuş. Dokuz Eylül University Faculty of medicine,
Department of Histology. 35340 Balcova-Izmir ozlemdurmus@yahoo.com**

OBJECTIVE

Accumulating evidence suggests that endothelial dysfunction is an early marker for atherosclerosis. LDL is one of the important factors that causes endothelial dysfunction. Early clinical symptom of poor maintenance caused by functional endothelial cell dysfunction probably occurs before the development structural, occlusive penile arterial disease and may be one of the earliest signs of systemic cardiovascular disease. In our study; we aimed to study time related histopathological changes in nLDL-induced endothelial dysfunction in rat toracal aort and corpus cavernosum.

MATERIAL AND METHODS

In our study, we evaluated histopathological changes in native Low Density Lipoprotein (nLDL) cholesterol-induced hypercholesterolemic rats in 24 hours, 72 hours and 2 weeks after LDL injection. Endothelial functions in corpus cavernosum were assessed by isolated tissue bath with cumulative doses of acetylcholine.

RESULTS

There have been no significant histological changes on torasic aort and corpus cavernosum endothelium in all groups. On the other hand thickness of elastic lamels increased time related in n LDL groups in torasic aort. Also muscular hypertrophy was seen in n LDL injected corpus cavernosum tissues. Increased eNOS was seen in the cytoplasm of endothelium cells in LDL injected groups. Vasorelaxation responses to ACh in LDL injected groups showed significant changes when compared with groups. No statistically significant differences were seen between endothelium dependent vasorelaxation of ACh in all sham groups.

CONCLUSION

According to our results, there are correlations between the histological changes in torasic aort and corpus cavernosum tissues. In both tissues n LDL caused accumulation of e NOS in cytoplasm that causes inactivation of e NOS. Further studies are needed to show the long term effects of n LDL on endothelial damage with ultrastructural methods.

KEY WORDS

n LDL, endothelial dysfunction, toracal aort, corpus cavernosum, rat

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Vasküler endotel, vasküler tonusun düzenlenmesinden hemostazın sağlanmasından sorumlu parakrin, endokrin ve otokrin bir organdır (1). Endotelial hücreler koagülasyon, tromboz ve fibrinolitik sistemleri düzenlemenin yanı sıra vasküler tonus proliferasyon gibi düz kas hücrelerinin aktivitesini, makromoleküller ve inflamatuvar hücrelerin damar duvarına geçişini kontrol ederler (2). Endotel fizyolojisinde oluşan değişiklikler olarak bilinen endotelial disfonksiyon aterosklerozun erken dönem bulgusu olarak bildirilmektedir (1,3,4). Endotelial disfonksiyonda, kasıcı ve gevşetici ajanlar arasındaki dengenin kasıcı ajanlar lehine bozulmasının yanı sıra aterogenezisin bütün evrelerinde görülen proinflamatuvar, proliferatif, prokoagülatif çevre ile karakterize endotelial aktivasyonda gözlenmektedir. Sigara, diabet, yüksek seviyedeki plazma lipidleri özellikle LDL endotelial disfonksiyona neden olan etkenler arasında bulunmaktadır. LDL, permabilite değişiklikleri, hücre adezyonu, nitrik oksit (NO) gibi vazodilatör maddelerin sekresyonunu indükleyerek etkisini oluşturmaktadır (2).

Penil ereksiyon, erektil dokulara kan akımı artışı ile oluşur. Oluşan ereksiyonun devamlılığı arterlerde oluşan endotel bağımlı gevşeme ve sinüzoidal endotel bağımlı korpus kavernozum düz kas gevşemesi ile sağlanır. Nitrik oksit, nonadrenerjik ve nonkolinerjik sinir liflerinden ve sinüzoidal endotelden salınan periferik etkili proerektil bir nörotransmitterdir (5-7). Ereksiyon sağlama ve devamlılığındaki yetersizlik olarak bilinen erektil disfonksiyon diabet, kardiyovasküler hastalıklar ve hiperkolesterolemiye bağılı olarak oluşabilmektedir (6,8,9). İnsanlarda ve tavşanlarda yapılan çalışmalarda, hiperkolesteroleminin penil ve pelvik damarların vasküler lümenini daraltıp kan akımını azaltarak, endotel bağımlı NO'nun oluşturduğu korpus kavernozum düz kas gevşemesini azaltarak ve fibrozis, düz kas hücre yıkımı gibi korpus kavernozum düz kas doku değişiklikleri oluşturarak erektil disfonksiyon oluşturduğu bildirilmektedir (6). Ayrıca yapılan klinik çalışmalarda ağırlıklı olarak endotel kökenli bir hastalık olan erektil disfonksiyonun kardiyovasküler hastalıkların, sistemik vasküler anomalilerin erken dönem bulgusu olduğu bildirilmektedir (10,11).Yapılan literatür incelemeleri sonucunda, hiperkolesterolemiye bağılı olarak gelişen LDL artışının oluşturduğu erektil disfonksiyon gelişimini zaman bağılı olarak ayrıntılı inceleyen deneysel bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmadaki amacımız, yüksek doz LDL' ye bağlı olarak aort ve korpus kavernozumun endotel ve düz kas hücrelerinde zamana bağlı gelişen değişiklikleri incelemektir.

2-GENEL BİLGİLER

2.1 DAMAR HİSTOLOJİSİ:

Damar sisteminin genel amacı oldukça dar bir aralıktaki sıvı basınçları ile tüm organlara taze kan sağlayan kapiller yataklarının perfüzyonudur. Yerel işlevsel gereksinimler endotel tüplerini çevreleyen duvarın yapısal doğasını belirler. Damarlar;

- 1- Büyük arterler (Elastik arter), iletici arter 7mm den büyük arterler
- 2- Orta çap arterler (Müsküler arterler çapı 3–7 mm arası olanlar)
- 3- Arteriyoller (çapı 3mm den küçük olanlardır)
- 4- Kapiller
- 5- Venül
- 6- Küçük venler
- 7- Büyük venler

2.1.1. DAMAR DUVAR TABAKALARI

Damar tabakaları genel olarak;

1-Tunika intima: Gevşek bağ dokusunun üzerinde serili olan tek kat endotel hücrelerinden oluşur. İçte endotel hücre dizisi, bunun altında bazal lamina ve gevşek bir fibroelastik bağ dokusundan oluşan subendotelial tabakadan meydana gelir. Subendotelial tabakanın dış kısmında elastik fibrillerin yoğunlaşması ile membrana elastika interna bulunur. Bu yapı orta tip arterlerde belirgin bir şekilde görülür, ancak venler ve büyük tip arterlerde ayırt edilemez. Subendotelial tabakada arasına düz kas hücreleri de görülür. Bu tabakada hem bağ dokusu fibrilleri hem de düz kas hücreleri genel olarak longitudinal düzenlenmiştir.

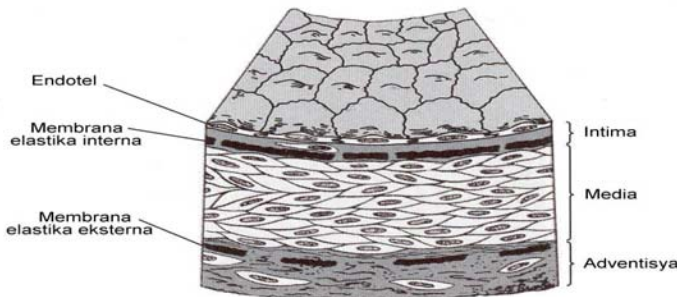
2-Tunica media (En kalın tabaka) Elastik fibril ve düz kas yapıya hakimdir. Membrana elastika eksterna tunica mediyayı tunika adventisyadan ayırır. Esas olarak sirküler düzenlenmiş düz kas hücrelerinden meydana gelir. Kas hücreleri arasında dağılmış farklı miktarlarda elastik ve tip III kollajen fibriller ile proteoglikanlar bulunur. Ekstrasellüler matriks düz kas hücrelerince yani retikulum oluşturulur. Bu tabaka arterlerde iyi gelişmiştir. Elastik ve Müsküler arterler arasında media tabakasının

içeriği farklılık gösterir. Kapiller ve postkapiller venüllerde bu tabakayı perisitler oluşturur.

3-Tunika adventisiya: Bağ doku yapısındaki en dış tabakadır. Daha çok uzunlamasına düzenlenmiş kollajen ve elastik fibrillerden oluşur. Özellikle venlerde bu tabakada düz kas hücreleri de bulunur. Media tabakası elastik fibrillerin yoğunlaşması ile membrana elastika eksterna ile adventisyadan ayrılır. Adventisiya venlerin duvarlarında en belirgin tabakadır. Bu tabaka çevre bağ dokusu ile devam eder. Büyük damarlarda adventisiya içinde "vazavazorum" olarak adlandırılan küçük kan damarları bulunur. Vaza vazorumlar lümeninden diffüzyonla beslenemeyecek kadar kalın olan adventisiya ve media tabakalarını besler. Arterlerde bu damarlar daha az sayıdadır ve sadece adventisiya tabakasında bulunur. Venlerde ise daha çok sayıdadır ve media tabakasına da ulaşır. İntima ve medianın en iç tarafı damarsızdır ve kandan diffüzyonla beslenir. Lenfatik kapillerler; arterlerde sadece adventisyada bulunurlar, venler de ise media tabakasına kadar girerler.

Kan damarı duvarlarındaki düz kaslar myelinsiz sempatik sinir ağı (vazomotor sinirler) ile uyarılır. Bu sinirler norepinefrin içerirler. Norepinefrin salınımı damarlarda vazokonstriksiyona neden olur. İskelet kasındaki arterler ayrıca kolinerjik vazodilatatör sinir desteği de alırlar. Bu efferent sinirler arterlerin media tabakasına girmediğinden, norepinefrinin media düz kas hücrelerini etkileyebilmesi için bir kaç mikrometre diffüze olması gerekir. Mediadaki düz kas hücreleri arasındaki gap junctionlar, nörotransmitterlerin daha içteki kas hücrelerine taşınmasını sağlar. Venlerde sinir uçları hem adventisyada hem de mediada bulunur. Fakat total yoğunluk açısından arterler daha zengindir.

Tunika media ile diğer tabakalar arasındaki fibrillerin yoğunlaşması sonucu intima-media arasında **membrana elastika interna** isimli membran, media adventisiya arasında ise **membrana elastika eksterna** vardır.



Şekil 1: Tipik bir damarın duvar yapısı (Ross R, Glomset J.A.: The pathogenesis of atherosclerosis. N Engl J Med 1976; 295:369' dan alınmıştır).

Büyük arterler (elastik arter) iletiçi arterlerin çapları 7 mm den büyüktür. Aorta, arteria pulmonalis, arteria carotis communis, arteria subclavia ve arteria iliaca communis bu gruba girer. Duvarları kalındır. Ama çaplarına göre daha incedir. Tunika media tabakası iyi gelişmiştir. Media tabakasındaki elastik fibriller fazla olduğu için canlı dokuda sarı renkte görülürler. Bu tabakada bol miktarda elastik fibriller bulunur. **Tunika intima** tabakası, müköler arterlerdekiine göre daha kalındır. Aortada, total duvar kalınlığının yaklaşık % 20'sini intima tabakası oluşturur. Lümeneye bakan yüzü tek sıra yassı endotel hücre dizisi ile örtülüdür. Komşu endotel hücreleri birbirleriyle zonula okludens ve bazen de gap junctionlar ile bağlanmıştır. Subendoteliyal tabaka kalındır. Burada uzunlamasına yerleşim gösteren kollajen ve elastik fibriller ile düz kas hücreleri görülür. Burada uzunlamasına yerleşim gösteren kollajen ve elastik fibriller ile düz kas hücreleri görülür. Kas hücreleri intimada bulunan çeşitli tip intersellüler maddeleri üretirler. Membrana elastika interna tunika mediaya yakın kısımda yoğunlaşan elastik fibrillerden oluşur. İntimanın periferik kısmında membrana elastika interna, media tabakasındaki elastik liflerle karıştığı için ayırt edilemez. **Tunika media** büyük arterlerde iyi gelişmiştir. Büyük damarlarda kalınlığı 500 mikrona (0.5 mm) kadar ulaşır. Yeni doğanlarda 40, yetişkinlerde 70 kadar pencerele düzenlenmiş elastik membran içerir. Başlıca elastik fibrillerden oluşur. Ayrıca kollajen fibriller, düz kas hücreleri de bulunur. Ara madde olarak glikoz amino glikanlar vardır. Arterin elastik fibrilden zengin olması içinden geçen kan miktarına uygun olarak genişleyebilmesini sağlar. Membrana elastika eksterna tunika mediayı tunika adventisiyadan ayıran tabakadır. **Tunika adventisia** ise oldukça ince gevşek bağ dokusu başlıca kollajen fibril az olarak elastik fibril bulunan tabakadır. Elastik arterlerde ince olup farklı yönlerde seyreden kollajen ve elastik fibriller içerir. Kollajen lifler damarın sistolde aşırı dilate olmasını engeller. Bu tabaka yağ hücrelerinden oluşan zengin bağ dokuya karışır. Bu tabakada; fibroblastlar, düz kas hücreleri, diğer tip bağ dokusu hücreleri, damarlar (vaza vazorum) ve sinirler bulunur. Büyük arterler kalın duvarlı olduğundan sadece kendi lümenlerinden diffüzyon yolu ile beslenemezler. Vasovazorum diye isimlendirilen damarlar tunica adventisia da pleksus yapar. Bu pleksus arterlerde tunika medianın derinlerine inmezken vende tunika mediaya kadar uzanır.

Musköler arterler; arterler içinde sayıca en çok olanıdır. Arteria brakialis, arteria femoralis, arteria radialis ve dalları bu grupta yer alır. Arteryal sistemdeki damarların çoğu orta tip arterdir. Orta büyüklükteki müköler arterler fonksiyonel

ihtiyaçlara yanıt olarak kanın farklı organlara seçici biçimde dağıtılmasına olanak veren dağıtıcı arterlerdir. Bu tip damarlardaki histolojik katlar: **Tunika intima**: Lümene bakan yüzünü tek sıra endotel hücre dizisi oluşturur. Endotel altında ince bir subendotelial tabaka bulunur. Media tabakasına yakın dış kısımda damar enine kesitlerinde kıvrıntılı bir yapı olarak membrana elastika interna belirgin şekilde görülür. Membrana elastika interna pencereleli elastik bir membrandır. Enine kesitte media kaslarının ölüm sonrası kasılmasına bağlı olarak kıvrıntılı parlak şekilde seçilir. **Tunika media**; bu tabakanın kalınlığı düz kas hücrelerinin dairesel şekilde oluşturduğu 3-4 tabakadan 40 tabakaya kadar değişmektedir. Bu tabakanın düz kas hücreleri çok yoğun, çapı küçük elastik liflerden oluşur. Düz kas hücreleri arasında bu hücreler tarafından sentez ve salgılanan kollajen ve elastik fibriller görülür. **Tunika adventisia** ise media kalınlığında olabilir longitüdinal seyirli elastik, kollajen fibrillerden oluşur. Müsküler arterlerde adventisya tabakası tunika media kadar ya da daha kalın olabilir. Uzunlamasına düzenlenmiş elastik fibriller ve daha az miktarda da kollajen fibriller içerir. Müsküler arterlerin duvarındaki elastik fibrillerin çoğu adventisyada bulunur. Media tabakasına yakın iç kısımda sınırları belirgin olmaksızın çevre bağ dokusu ile devam eden membrana elastika eksterna gözlenir. Adventisyada ayrıca vazomotor sinirlerden oluşan bir sinir ağı ve lenfatik damarlar da yer alır.

Küçük arterler: Çapları daha küçük ve duvarı daha ince olmakla birlikte orta tip duvar yapısına benzer özellikler gösterir.

Arteriyoller; (prekapiller damar): Arterial sistemin çapı 30 ile 400 mikron arasında değişen en küçük terminal dalları arteriyol olarak isimlendirilir. Bu tip damarlarda görülen tabakalar aşağıda belirtilmiştir. **Tunika intima**: En küçük arteriyollerde sadece endotel hücresi ve bazal membrandan bulunur. Daha büyük arteriyollerde endotel hücre dizisi altında ince bir bağ dokusu ve zorlukla belirlenebilen bir membrana elastika interna gözlenir. **Tunika media**: Bu tabaka, damarın büyüklüğüne göre değişen sarmal şeklinde düzenlenmiş. 2-6 sıra düz kas hücrelerinden oluşur. Düz kas hücreleri arteriyol duvarını çepeçevre sarmadığında, bu damarlar artık metarteriyol olarak isimlendirilir. Metarteriyollerin başlangıç bölümünde düz kas hücre halkasından oluşan sfinkter yapısı (prekapiller sfinkter) kapillerlere girecek kan miktarını kontrol eder. **Tunika adventisya**: İnce gevşek bir bağ dokusudur. Media tabakası kadar kalın olabilir. Kollajen ve elastik fibrillerden oluşur. Çok küçük arteriyolde iç elastik lamina yoktur. Subendotel tabaka çok incedir Küçük

tip arterlerin en uç kısımları ve arteriyoller (prekapiller damarlar) rezistans damarlar olarak bilinir. Bu damarlar kalpten atılan kanın periferde karşılaştığı en büyük direnç bölgesidir; periferik direncin oluşumunu ve kontrolünü sağlarlar.

Kapillerler: Arteriyol ve venüllerin arasında çok sayıda dallanmalar ve anastomozlar ile bir ağ yapısı oluşturan damarlardır. Kanın akış hızı aortada ortalama 320mm/sn iken, kapillerlerde 0.3mm/sn'dir. Kapiller sistem ırmakların aktığı ve boşaldığı bir göle benzetilebilir. Toplam uzunluğu 96 000 km kadar olduğu hesaplanmıştır. Ortalama çapları 5-9mikron kadardır. Kapiller sistemde kan akımının yavaş ve kapiller duvarın ince oluşu, kan ile doku arasındaki değişim için çok uygundur.

Arteriyollerden metarteriyoller bunlardan ise kapillerler çıkar. Kapillerler kısa toplayıcı venüller aracılığıyla küçük venüllere direne olur Arterlerin, arteriyollerin ve küçük venüllerin duvarı daha fazla düz kas hücresi içerir. Metarteriyollerin duvarında düz kas hücreleri seyrek olarak dağılmıştır. Kapillerlerin açıldığı yer musküler prekapiller sfinkterler tarafından kontrol edilir. Farklı damarların çapları ayrıca bu şekilde belirtilmiştir.

Metabolik aktivitesi fazla olan dokular (akciğer, karaciğer, böbrek, müköz membranlar, bezler, iskelet - kalp kası, beyin korteksi) kapillerden zengindir. Düz kaslar, tendon, sıkı bağ dokusu ve seröz membranlar gibi yapılar ise kapillerlerden fakirdir.

Dokularla kan damarları arasında ki alışverişin gerçekleştiği yüksek derecede geçirgen tek sıralı endotel hücrelerinin oluşturur. Kapiller sistemde kan akımının yavaş ve kapiller duvarın ince oluşu kapillerleri doku ve kan arası alış verişe en uygun yer haline getirir. Kapillerlerde lümeni döşeyen endotel oval yassı çekirdekli endotel hücrelerinden oluşur. En küçük kapillerde bir endotel hücresi orta çaptaki kapillerde 2-3 endotel hücresi bulunur. Bazal membran kapilleri kuşatır. Bazal membran altındaki adventisya kollajen fibril ve kesintili görülen bağ doku hücrelerinden oluşan ince bir tabakadır.

Kapillerler 3 tiptir. Kapiller damarların duvarı içten dışa doğru; endotel, perisit ve ince bir retiküler fibril ağından oluşur. Endotel hücreleri arasında fasiya okludens (devamlılık göstermeyen sıkı bağlantı) tipi bağlantılar görülmesine rağmen beyinde kapiller endotelleri arasında ise zonula okludens (devamlılık gösteren sıkı bağlantı) tipi bağlantılar bulunur. Perisitler modifiye düz kas hücreleri olup bazal lamina ile yakın komşulukta olacak biçimde rastgele aralıklarla dağılarak endotel hücrelerini

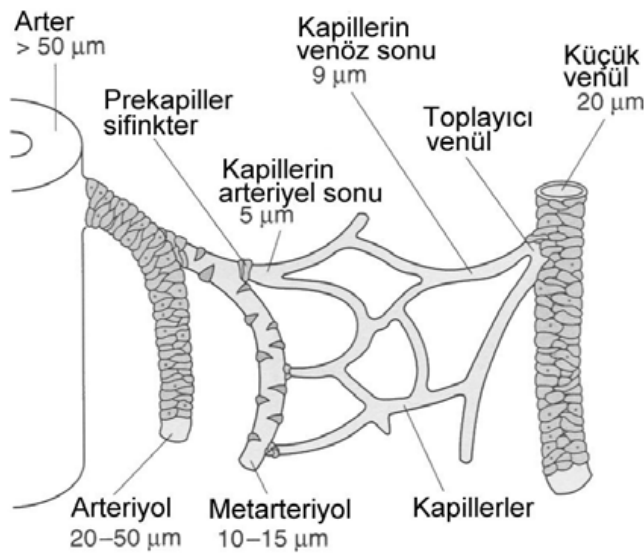
kısmen kuşatır. Endotel hücrelerinin yapısına ve bazal laminanın varlığına bağlı olarak kapillerler dört gruba ayrılır.

□ **Kesintisiz veya somatik kapillerler:** Duvarında pencerelerin olmaması ile karakterizedir. Bu tip kapillerler; kaslarda, bağ dokusunda, ekzokrin bezlerde ve sinir dokusunda bulunur. Bazal lamina kesintisiz olarak endoteli kuşatır. Komşu hücreler arasında zonula okludens tipi bağlantılar vardır.

□ **Pencereli veya visseral kapillerler:** Endotel hücrelerinin sitoplazmalarında 60-80 mikron çapında ince bir diaframla kapatılmış pencereler vardır. Endotel etrafında devamlı bir bazal lamina bulunur. Bu tip kapillerler; böbrek, bağırsak ve endokrin bezler gibi kan ile doku arasında madde alış verişinin hızlı olduğu organlarda görülür (Şekil 2).

□ **Pencereli diaframsız kapillerler:** Böbrek glomeruler kapillerlerinde bulunan, pencerelerinde diafram olmayan ve bazal laminası diğerlerine göre oldukça kalın olan kapillerlerdir.

□ **Sinuzoidal kapillerler:** Çapları diğer kapillerlere göre daha büyüktür (30-40 mikron). Seyri boyunca genişlemeler ve daralmalar gösterir. Endotel hücre sitoplazmasında çok sayıda diaframsız pencere vardır. Devamlı bir bazal lamina yoktur. Endotel hücreleri aralıklı yerleşim gösterir. Duvarlarında perisit bulunmaz. Sinuzoidlerin en tipik örneği karaciğerde bulunur. Bunun dışında dalak, kemik iliği, adrenal korteks, adenohipofiz gibi endokrin bezlerde de gözlenir.



Şekil-2 : Arterden vene geçiş, mikrosirkülasyon. (Ganong W.F.: Review of Medical Physiology, 19th ed. Appleton & Lange, 1999)

ARTERİOVENÖZ ANASTOMOZLAR

Kan akımı arteriyollerden venüllere kompleks bir kapiller ağ içinden akar. Kapiller ağ ya doğrudan arteriyollerden ya da daha küçük metarteriyollerden başlar. Kan kapiller ağ dışında arteriovenöz anastomozlarla kapiller yatağa uğramadan doğrudan arteriyollerden venüllere geçiş gösterebilir. Arteriovenöz anastomozun arteriyol ucu içerdiği çok miktardaki düz kas hücrelerine bağlı olarak kalın duvarlıdır. Bu kalın düz kas tabakasının kasılması anastomoz lümenini kapatır ve kan kapiller yatağa yönelir. Bu tabaka gevşediğinde ise kan kapiller yatağa uğramadan venüllere geçer. Arteriovenöz anastomozlar deride belirli bölgelerde (dudaklar, burun, kulak, el ve ayak parmağı gibi) yaygın olarak bulunur. Bunlar ısı regulasyonunda önemli rol oynarlar. (12)

2.2 ENDOTEL

2.2.1 ENDOTEL HÜCRE YAPISI

Endotel hücresi kan damarlarını kan akımı yönünde uzunlamasına döşeyen yassı ince içsi, poligonal yaklaşık 10x30 µm boyutunda hücrelerdir. Çekirdekleri lümene doğru kabarık şekilde yassı, oval ve heterokromatiktir. Bu hücrelerde küçük bir golgi kompleksi, birkaç mitokondrium serbest ribozomlar ve GER sarnıçları izlenir. Çekirdeğin yerleştiği kısım hücrenin en kalın kısmıdır. Perifere gidildikçe hücre incilir. Yaklaşık iki plazma zarı arası 0.2-0.4 µm kalınlığına iner. (17)

2.2.1.1 HÜCRE İSKELETİ

Perinükleer bölgede 9-11 nm çaplı ara flamanlar bulunur. Flamanın dağılımı değişiklik gösterir. Bazılarında desmin bazılarında ise vimentin bazılarında ise hem desmin hem de vimentin şeklindedir. Bu flamanlar hücreye yapısal destek sağlarlar.(18)

2.2.1.1 HÜCRELER ARASI BAĞLANTILAR

Hücreler üst üste gelecek şekilde katlanarak birbirlerine sıkı bağlantılar (Zonula okludens) ile bağlanırlar. Desmozom ve zonula adherens yoktur. Gap junctionlar bulunur. Kılcal damarların karakteristik özelliği pinositoz vezikülleridir. 70nm çaplı veziküller tek tek ya da kanal oluşturacak şekilde görülebilirler. Bu tür

geçiş transitozis denir. Enine kesitlerde bir lümeni çevreleyen 1-3 endotel hücresi gözlenir. Bunlar kendi oluşturdukları bazal lamina üzerine otururlar. (19)

2.2.2 ENDOTEL İŞLEVLERİ

1. Seçici geçirgenlik
2. Metabolik fonksiyonlar
3. Pıhtılaşma ile ilgili fonksiyonlar
4. Ekstra sellüler matriks yapımı(Kollajen, proteoglikanlar)(20)

1. Seçici geçirgenlik: :O₂, CO₂ ve glikoz, gibi küçük hidrofilik ve hidrofobik moleküller diffüzyonla geçer Su ve diğer yaklaşık 1,5nm çaplı hidrofilik moleküller hücreler arası bağlantılardan diffüze olur (parasellüler yol) Suda eriyen 11nm'den büyük moleküller transitosiz yoluyla geçer

2. Metabolik Fonksiyonlar:

Vazoaktif faktörlerin yapımı: Vasküler tonusu ayarlar ÖR: Endotelin, ACE (*vazokonstrüktör*), NO/EDRF, prostosiklin (*Vazodilatör*) İnflamasyon ve immünitinin düzenlenmesi: IL-1, IL-6, IL-8, adezyon molekülleri, Histokompatibilite antijenleri. (21)

Büyüme faktörleri yapımı: PDGF, CSF, FGF(*uyarıcılar*);heparin, TGF-beta(*inhibitörler*)

Lipoliz: LDL, trigliserid ve kolesterole yıkar.

İnaktivasyon: Bradikinin,serotonin,trombin,prostaglandinler,norepinefrin,vb.

Aktivasyon: Anjiotensin-I >Anjiotensin-II

2.2.3 VASKÜLER TONUSUN ENDOTEL TARAFINDAN DÜZENLENMESİ

Vasküler tonusun düzenlenmesi, endotelin en önemli görevi olarak bilinmektedir. Bu görevi birçok kasıcı ve gevşetici ajan salımı ile sürdürür. Bu faktörler arasındaki denge endotelin fonksiyonel veya disfonksiyonel durumunu belirler.

2.2.3.1 VAZODİLATASYON OLUŞTURAN FAKTÖRLER

Endotel hücreleri tarafından salınan ana gevşetici faktör NO'dir. NO, L-arjinin'in, L-sitrulin'e oksidasyonu sırasında NOS enzimi tarafından oluşturulan serbest radikaldir (22). Bu enzimin, nöronal NOS (nNOS), indüklenebilir NOS (iNOS) ve

endotelial NOS (eNOS) olmak üzere 3 alt tipi vardır. Endotel hücreleri esas olarak eNOS ekspresyon ederler ve buna bağlı olarak devamlı bir biçimde sistemik ve pulmoner dolaşıma düşük miktarlarda NO salıverirler (23). Endotel hücrelerinde NO bir defa salındıktan sonra düz kas hücrelerinde bulunan hem'in prostetik grubu ile etkileşir. Bu ise guanilat siklaz aktivasyonuna ve siklik guanidin monofosfat (cGMP) üretiminde artışa neden olur. Artmış cGMP hücre içi kalsiyum konsantrasyonunda azalmaya ve buna bağlı olarak ise VDKH'de gevşemeye neden olur (24).

Prostasiklin ve endotel bağımlı hiperpolarizan faktör (EDHF), endotel tarafından salgılanan ve damar tonusunun düzenlenmesi üzerine etkili diğer vazodilatör ajanlardır. Prostasiklinler endotel tarafından humoral ve hemodinamik yanıt olarak üretilirler (25). Araşidonik asidi (AA) substrat olarak kullanılarak COX enzimi aracılığı ile sentezlenirler. Prostasiklinler gevşetici etkilerini adenilat siklaz stimülasyonuna bağlı olarak VDKH'de hücre içi siklik adenosin monofosfat (cAMP) konsantrasyonunu artırarak gösterirler (26,25). Endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) ise gevşetici etkisini hücre membranında potasyum geçirgenliğini artırarak gösterir (27).

2.2.3.2 VAZOKONSTRİKSİYON OLUŞTURAN FAKTÖRLER

Normal vasküler tonusun devamlılığı için endotel hücreleri endotelinler, tromboksan A₂ ve prostaglandin H gibi birçok kasıcı mediyatör salgılar. Bunların içerisinde ET-1 endotel hücreleri tarafından salınan en güçlü kasıcı ajandır (28). Trombin, adrenalin, Anj II, hipoksi ve artmış gerilim stresi gibi uyarılara yanıt olarak üretilir (29). VDKH' de spesifik reseptörlerine bağlanarak hücre içerisindeki kalsiyum konsantrasyonunun artışına sebep olur ve NO'in etkisini antagonize eder. İlginç olarak sağlam endotelde ET-1, NO ve prostasiklin üretimini stimüle ederek ve vazokonstriktör etkiyi ayarlayarak kendi sentezini azaltır (30).

Endotel hücreleri tarafından sentezlenen tromboksan A₂ ve prostaglandin H₂ VDKH'lerindeki ve trombositlerdeki tromboksan reseptörlerini aktive ederler. Bu faktörler de NO'in ve prostasiklinin etkilerine ters bir etki oluşturarak VDKH'de kasılmaya neden olurlar. Bununla beraber bu maddelerin koroner arter üzerine olan etkileri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. PAF-1'de endotel hücrelerinden humoral ve hemodinamik uyarılar sonucunda sentezlenen ve salınan vazomotor tonus ayarlayıcı başka bir kasıcı ajandır. Son olarak endotel anjiotensin dönüştürücü enzim (ADE) ekspresyon eder ve bu da anjiotensin I'den Anj II dönüşümüne neden olarak direkt ET-1 salınına neden olur.

Sonuç olarak vazokonstriktif ve vazodilatör ajanların arasındaki bu ilişki sağlıklı endotelin vasküler tonus üzerine olan etkisini belirler. Bu denge üzerinde herhangi bir değişiklik endotelial disfonksiyon gelişimine neden olur.

2.2.4 ENDOTELYAL DİSFONKSİYONA BAĞLI VASKÜLER TONUS AZALMASI

Vasküler tonus kaybı endotelial disfonksiyon oluşumunda ilk ortaya çıkan olaydır. Kasıcı ajanların artması ve gevşetici ajanların azalması ile karakterize bir olaydır. Birçok çalışma NO'nin kullanılabilir miktarında azalma ve endotelial disfonksiyon arasında güçlü bir ilişki olduğunu bildirmiştir (31-32). Bu olay eNOS'ın aktivitesinde azalmaya veya NO'nin indirgenmesinde artışa bağlı olabilir. NO kan damarlarındaki endotel bağımlı gevşemeden temel olarak sorumlu olduğu için, ateroskleroz sırasında bu gevşetici etkinin bozulması koroner ve periferik arterlerde gevşeme yanıtlarında ciddi azalmaların oluşmasına neden olmaktadır (33,34).

Vazodilatör NO'nin kaybına ek olarak, ET-1 gibi vazokonstriktör faktörlerin üretiminde artış da endotel hasarı ile ilişkilidir (35-36). Bu olay ise NO kaybında daha fazla artışa neden olmakta ve damar yapısının kontrolsüz kasılması ile sonuçlanmaktadır. İlerleyen dönemlerde ise hipertansiyona ve koroner kalp hastalıkları, ED, periferik arter hastalıkları gibi hastalıklara neden olmaktadır.

2.3 HİPERLİPİDEMI

2.3.1 .Tanım:

Hiperlipidemi plazma lipidlerinin anormal düzeyde olması veya kan yağlarının oranlarında ve düzeylerinde sağlığımızı bozacak yöndeki değişikliklere denir. Dislipidemi çok önemli bir laboratuvar semptomudur. Hiperlipidemi, atherosklerozla ilgili en yaygın ve en önemli düzeltilebilir risk faktörüdür(37) plazma lipid düzeyleri farklı toplumların kişileri arasında genetik ve gıda alımına bağlı olarak değişir .ancak total kolesterol düzeyi 240mg/dl den yüksek bulunmuşsa” yüksek kolesterol düzeyi “olarak kabul edilir. Plazma kolesterol düzeyleri 200-240 mg/dl ise ”sınırdaki yüksek”, 200mg/dl değerinden düşük ise “arzu edilen düzey” olarak kabul edilir. (38) Yapılan çalışmalarda plazma total kolesterol düzeyinin 240 mg/dl den yüksek olması halinde koroner kalp hastalığı riskinde artma olduğunu göstermektedir (16)

2.3.2. Etiyoloji

Dislipidemilerin etiyojisi; fizyolojik-reaktif dislipidemi, sekonder dislipidemi ve primer dislipidemi başlıkları altında 3 ana gruba ayrılır.

A- Primer (ailevi) dislipidemiler

1- Ailesel hiperkolesterolemi: (Yüksek kolesterollü hastaların yaklaşık %80'inden fazlasında ailesel hiperkolesterolemi vardır).

a) Poligenik hiperkolesterolemi: En sık görülen hiperkolesterolemidir. Endojen ve eksojen etkenler (kötü beslenme gibi) bir aradadır. Genellikle kolesterol düzeyleri 200-300mg/dl arasındadır. Aterosklerotik kalp hastalığı riski 2-3 misli daha fazladır.

b) Monogenik hiperkolesterolemi: (Olguların %5'inden azı) En çok görülenler, 19. Kromozom defektlerine bağlı olup LDL'nin transportu, bağlanması, hücreye internalizasyonu, yeniden kullanımı (recycling) ile ilgili genlerde mutasyon olmasıyla ilgilidir. Bu olguların heterozigot olanlarında LDL düzeyi 300-550mg/dl arasındayken, homozigot olanlarında 500'den başlayıp binli değerlere kadar yükselebilmektedir. Özellikle homozigot olan olgular çocuklukta ve gençlikte gelişen erken ateroskleroz ve komplikasyonlarıyla (Örneğin; akut miyokart infarktüsü gibi bir olayla) ortaya çıkabilirler. Heterozigot olguların toplumda görülme sıklığı binde 1-2 iken, homozigot olguların görülme sıklığı milyonda 1 civarındadır.

Bu olguların dışında, insanlarda 1/700-800 arasında bir oranda Apolipoprotein B 100 (Apo B 100) eksikliğine bağlı hiperkolesterolemi olduğu bilinmektedir. Şu ana kadar Apo B 100 eksikliği olduğu bilinen olguların hepsinin heterozigot olduğu bildirilmiştir. Homozigot olgularla ilgili bilgilerimiz eksiktir. Bu olgularda da total kolesterol düzeyleri 250-550 mg/dl arasında bulunmaktadır.

Toplumun %1'inde de Apolipoprotein E polimorfizmine bağlı olarak (Apo E 3/4 ve 4/4 fenotiplerinde) diyeteki kolesterol emiliminin ve kan düzeyine diyetin etkisinin fazlalığı bildirilmiştir. Kolesterolden fakir diyetin en yararlı olduğu hastaların bunlar olduğu bildirilmiştir. Apolipoprotein epsilon 4-alleli olan hastaların da yüksek koroner arter hastalığı riski (Framingham çalışması) olduğu bildirilmiştir.

II- Ailesel kombine hiperlipidemi (Bütün hiperkolesterolemilerin %10'u kadarı): Sıklığı 1/300 ile 1/400 arasında olup, otozomal dominant kalıtmı, aşırı Apo B 100 yapımının görüldüğü, sıklıkla T.kolesterol düzeyinin 250-350mg/dl arasında ve trigliserid düzeyinin 250-500mg/dl arasında olduğu dislipidemidir.

III- Ailesel hipertrigliseridemi: Sıklığı 1/400-500'dür. Sıklıkla metabolik sendrom (refah hastalığı) tablosunda görülür. Otosomal dominant geçişlidir. VLDL ve Trigliserid yüksek, HDL düşüktür.

IV- Ailesel disbetalipoproteinemi (Tip III hiperlipidemi): Yaklaşık olarak 1/5000 sıklıkta ortaya çıkar. Trigliserid + T.kolesterol değerleri 300-1000 mg/dl arasındadır. Lipo-protein elektroforezinde prebeta bandı genişlemiştir. Ksantomalar ve erken ateroskleroz başlıca komplikasyonlarıdır.

V- Şilomikronemi: Çok nadir bir metabolik bozukluktur. Genellikle hipertrigliseridemi veya kombine hiperlipidemi tablosu içinde görülür. Lipoprotein lipaz eksikliği veya Apolipo-protein C-II eksikliği gibi metabolik bozukluklarda da görülür.

VI- Lipoprotein (a) Hiperlipoproteinemisi: Lipoprotein (a); antiplasminojen etkili, damar içi trombolizi inhibe edici etkisi olan bir apoprotein içerir. Bu nedenle aterojenik etkisi olan bir lipoproteindir. Lipoprotein (a) düzeyinin 30 mg/dl'den yüksek olmasının ateroskleroz riskinde artışa neden olduğu bildirilmiştir. Ancak, GRIPS veya Physicians-Health gibi bazı prospektif çalışma sonuçlarına göre Lipoprotein (a) düzeyiyle infarktüs riski arasında çelişkili bulgular vardır. Bu nedenle kolesterol yüksekliği olanlarda, Lipoprotein (a) yüksekliğinin tromboembolik olay riskini artırabileceği ve tek başına kolesterol yüksekliğinden daha büyük bir risk olabileceği vurgulanmıştır.

VII- Ailesel hipoalfalipoproteinemi: HDL kolesterol düşüklüğü vardır. Türkiye'de endemik olduğu bildirilmektedir. Otozomal dominant geçişlidir.

VIII- Diğer ailesel dislipidemiler

B- Reaktif fizyolojik hiperlipidemiler: Hafif ve diyetle bağlı lipid değişiklikleridir.

a) Hipertrigliseridemi: Alkol ve ziyafet tipi şaşaalı ve abartılı yemeklerden sonra olabilir. Trigliserid tayini için en az 12 saatlik bir açlık devresinin olması şarttır. Yoksa sonucun yorumu sağlıklı olmaz.

b) Hiperkolesterolemi: Hayvansal yağlardan zengin, kolesterolden zengin gıdalarla beslenenlerde (yumurta, yağlı peynirler gibi gıdaların aşırı tüketimini takiben) görülür.

C- Sekonder hiperlipidemi tipleri:

a) Hipertrigliseridemi: Primer neden en başta şişmanlık, alkol kullanımı ve diabetin kötü regülasyonudur.

b) Hiperkolesterolemi: Yanlış beslenme, kolestazis, nefrotik sendrom, hipotiroidi, ilaçlar (Örneğin; Thiazide grubu gibi)(38)

2.3.3. Hiperlipidemi Sonuçları

Dislipidemiler komplikasyonları olmadan klinik olarak bulgu vermez. Ancak araştırılırsa bulunabilen, komplikasyonları olmadan tedavi edilirse hayat süresini ve kalitesini artıran, çok önemli bir laboratuvar semptomudurlar.

Başlıca sonuçlar; ksantomlar, ksantelesmalar, yağlı karaciğer (özellikle trigliseridemilerde), pankreatit (hipertrigliserdemilerde TG > 500 mg/dl ise risk artmaya başlar) ve hiperkolesterolemiye bağlı olan ateroskleroz, koroner kalp hastalığı ile beyin damar hastalığına bağlı sonuçlardır.

2.3.4. Hiperlipidemide Oluşan Vasküler Histopatolojik Değişikliler ve Ateroskleroza Olan Katkısı

Hiperlipidemi ateroskleroz için evrensel olarak kabul edilmiş temel risk faktörüdür. Verilerin çoğu özellikle hiper kolesterolemiyi göstermektedir. Fakat onun kadar belirgin olmamakla birlikte hipertrigliseridemide rol oynayabilir. Kan lipidleri spesifik apoproteinlerle kompleks oluşturarak lipoprotein şeklinde taşınırlar. Hiperkolesteroleminin ateroskleroz oluşumuna katkısının temel delilleri şunlardır.

1-İnsanda görülenin hemen hemen aynısı olan aterosklerotik plaklar, primatler dahil deney hayvanlarında yüksek kolesterollü diyetlerle oluşturulabilir.

2-Aterolardaki (plaklar) lipidlerin büyük kısmı plazma kökenli kolesterol ve kolesteril esterleridir.

3-Birçok geniş ölçekli epidemiyolojik analiz, İskemik kalp hastalığından ölüm oranı temel alınarak değerlendirildiğinde total plazma kolesterol veya düşük dansiteli lipoprotein seviyesi ile aterosklerozun ağırlığı arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir. Total kolesterol seviyesi yükseldikçe semptomatik ve ölümcül aterosklerotik hastalık riskide artar. Risk altında olanları olmayanlardan ayıran net bir eşik yoktur. Ancak genel olarak total serum kolesterol seviyesi 150mg/dl altında olanlarda aterosklerotik olaylar çok nadirdir. Çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) seviyesi yüksekliği ile kendini belli eden hipertrigliseridemide bir miktar artmış risk taşır

4-Hiperkolesterolemiye neden olan genetik ve edinsel hastalıklar (Familyal hiperkolesterolemi, Diabetes mellitues, Hipotiroidizm) prematür ve ağır ateroskleroza yol açar.

5-Serum kolesterol seviyesi diyet yada ilaçla düşürüldüğünde hayvanlarda aylar içinde bazı aterosklerotik plakların gerilediği veya ilerlemesinin durduğuna ve kardiyovasküler mortalite riskinin azaldığına dair veriler vardır.

2.3.4.1. HİPERLİPİDEMİDE GÖRÜLEN VASKÜLER HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

Kronik hiperlipidemi özellikle de hiperkolesteroleminin kendisi endotel disfonksiyonunu başlatabilir. Kronik hiperlipidemi ile lipoproteinler endotel hasarı veya disfonksiyonu yerlerinde birikirler. Kronik hiperlipidemi büyük oranda oksidatif mekanizmalarla arter duvarında lipid modifikasyonunu sağlar ki bu okside LDL oluşumu ile sonuçlanır. Okside LDL'nin varlığı endotel hasarı oluşmasında öneli olduğu düşünülmektedir. Birçok çalışmada damar duvarının okside LDL'ye maruz kalma süresi arttıkça endotel bağımlı vazodilatasyon fonksiyonunun bozulduğu gösterilmiştir.(39)

Endotel hücreleri ve onlara yapışmış monositlerden oluşan mikro çevredeki LDL'nin bu aktive hücrelerce oluşturulmuş serbest radikallere maruz kaldığı varsayılmaktadır. Okside LDL, LDL reseptöründen farklı olan çöpçü reseptör aracılığı ile makrofajlarca kolaylıkla yutulur. Okside LDL dolaşan monositler için kemotaktiktir ve monosit adhezyonunu artırır. Okside LDL lezyon alanında ki makrofajların

motilitesini engelleyerek makrofajların orada tutulmasını ve toplanmasını sağlar. Büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımını uyarır. Endotel ve düz kas hücrelerine sitotoksiktir. Okside LDL yi yutan Makrofajlar köpük hücreleri haline dönüşürler.

2.4 ATEROSKLEROZ

2.4.1 TANIM VE GENEL BİLGİLER

Ateroskleroz büyük ve orta boy elastik ve musküler arter duvarlarında kalınlaşma ve lipit birikimleri sonucu arter lümeninin daralması ve arterin kanlandığı bölgeye yeterli miktarda oksijenlenmiş kan taşınamamasına bağlı olarak iskemiye neden olan bir hastalıktır. Aterosklerotik lezyonlar koroner arterler, karotid arterler, basiller ve vertebral arterler gibi musküler arterlerde bulunabilmekte beraber aynı zamanda aorta, iliyak arterler ve femoral arterler gibi elastik arterlerde de bulunabilmektedir. Aterosklerotik lezyonlar birçok patogenetik oluşumun sonucudur. Bunların içerisinde makrofajlarda köpük hücre oluşumu ve ölümü, ekstrasellüler lipit birikimi, hücre içerisindeki yapısal matriks ve düz kas hücrelerinin azalması ve yer değiştirmesi, mineral depozit oluşumlarının meydana gelmesi, kronik enflamasyon, yeniden damar yapılanmasının oluşması, lezyon yüzeyinde bozulmaların oluşması ve hematoma ve/veya trombusun fibromusküler dokuya dönüşümü sayılabilir. Lezyonun oluşumu veya ilerlemesi esnasında bu oluşumlardan bir veya birkaçı aynı anda bulunabilir. Hastalığın seyri esnasında bu oluşumların bazıları devamlı olarak bulunurken bazıları ise belirli evrelerde görülebilir (40). Ateroskleroz oluşum gösterdiği yere göre; koroner arterlerde miyokart enfarktüsüne, beyine giden damarlarda olması durumunda felç, penil arterde olması durumunda ED, iliyofemoral arterlerde olması durumunda intermittant kladikasyon, RA'de olması durumunda ise böbrek yetmezliği gibi çok çeşitli klinik hastalıklara neden olabilmektedir.

2.4.2 Ateroskleroz Etiyolojisi

Epidemiyolojik çalışmalar aterosklerozun görülme sıklığı ve klinik seyrini etkileyen birçok risk faktörü olduğunu bildirmiştir. Bu risk faktörleri önlenemeyen ve önlenemeyen risk faktörleri olarak iki sınıfta incelenmektedir. Önlenemeyen veya değiştirilemeyen risk faktörleri; yaş, cinsiyet ve genetik faktörlerdir (ailesel yatkınlık) (41). Aterosklerotik lezyonlar özellikle yaşın artması ile beraber daha sık

görülmektedir. Kardiyovasküler hastalıklar gibi ateroskleroza bağlı olarak görülen hastalıkların insidansları erkeklerde kadınlara göre daha fazla olarak görülmektedir. 60 yaş altı erkeklerde kardiyovasküler hastalık insidansı kadınlara göre 2 kat daha fazla görülmektedir (42). Diyabet, hipertansiyon gibi ateroskleroz oluşumunu kolaylaştırıcı faktörlerde de ailesel yatkınlık görülebilmektedir. Lipit metabolizmasının herhangi bir basamağında oluşabilecek olan genetik bir bozukluk da ateroskleroza ailesel yatkınlık oluşturabilmektedir (43).

Değiştirilebilen ya da önlenebilen risk faktörleri ise hiperlipidemi, sigara kullanımı, şişmanlık, stres, fiziksel aktivite azlığı olarak sıralanabilir. Bunlar içerisinde en fazla hiperlipidemi üzerinde durulmaktadır. Bunların dışında hiperhomosisteinemi ise bağımsız risk faktörü olarak sınıflanmıştır.

1996 yılında ülkemizde yapılmış olan bir çalışma ile;

- ✓ 6 Milyon kişide 200–239 mg/dl arası plazma kolesterol düzeyleri
- ✓ 2 Milyon kişide 240 mg/dl üzerinde plazma kolesterol düzeyleri
- ✓ Halk genelinde Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (YYL) düzeylerinin düşük olduğu
- ✓ Fiziksel aktivite alışkanlıklarının yetersiz olduğu
- ✓ Erkeklerde aşırı sigara tüketimi olduğu
- ✓ Kadınlarda 40 yaş üzeri şişmanlama ve diyabet görülme sıklığında artış olduğu
- ✓ Hipertansiyonun sık görülen bir hastalık olduğu belirlenmiştir (44).

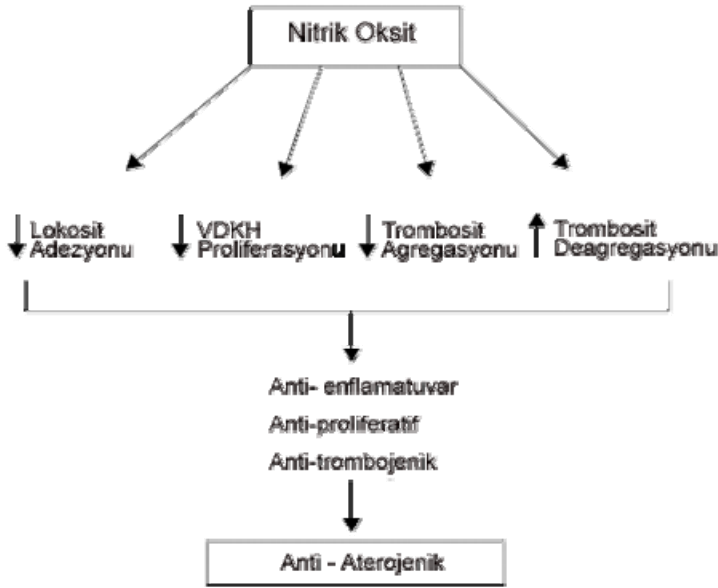
Gelişmiş olan ülkelerde ölümlerin yaklaşık olarak %35'i aterosklerotik kalp hastalıklarına bağlanmakta iken, bu oran ülkemizde %50 olarak belirlenmiştir (45-46).

2.4.3 Ateroskleroz Patogenezi

Ateroskleroz patogenezinde nitrik oksit (NO) çok önemli bir yere sahiptir. Dış uyarılara yanıt olarak oluşan endotelin NO üretiminde azalma aterosklerozun başlangıcı olarak değerlendirilmektedir (47). Bu nedenle aterosklerozun önlenmesi için asıl önlenmesi gereken basamağın endotelial disfonksiyon basamağı olduğu ileri sürülmektedir.

2.4.3.1 Enflamasyon ve Trombozisin Endotel Tarafından Düzenlenmesi

Vasküler tonusun devamlılığının sağlanması dışında, normal endotel anti-proliferatif ve anti-enflamatuvar özelliklere de sahiptir. Endotel bağımlı vazodilatör olan NO; lökositlerin endotel duvarına adezyonunu (48,49), vasküler düz kas hücrelerinin (VDKH) migrasyon ve proliferasyonunu inhibe eder (50,51) ve endotel hücrelerinin proliferasyonunu stimüle eder (52). Bunun yanında NO trombosit agregasyonunun inhibisyonu ve trombosit deagregasyonunun stimülasyonunu sağlar.(53)



Sekil 1: Nitrik Oksitin Anti-aterojenik etkileri

Şekil-3 Nitrik Oksidin Anti-aterojenik etkileri

Prostasiklinler; bir diğer endotel bağımlı gevşetici ajanlardır. Bu ajanlar, NO ile sinerjistik olarak etkileşir veya NO'e sinerjistik olarak etki ederler, trombosit agregasyon ve adezyonunu inhibe ederler (54). Bunun yanında sağlıklı endotel hücrelerinin yüzeyleri negatif yüklü olarak heparanlar ile sarılmıştır ve kontakt inhibisyon sağlarlar (55). Endotel hücreleri doku plasminojen aktivatörleri (tPA), trombin inaktivatörleri ve trombomodülin gibi antikoagülan faktörler sentezlerler (56). Sonuç olarak lökositler vasküler yüzeye tutunamaz ve hücre proliferasyonunu sıkıca kontrol ederler (57). Bunlar endotelyal disfonksiyon ve ateroskleroz karşısında görev alan savunma sistemleridir.

2.4.4 ATEROSKLEROZDA OLUŞAN VASKÜLER HİSTOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

Farklı biçimde oluşan endotel hasarından sonra monositler endotel hücrelerinin arasına yapışır ve subendotelyal bölgeye yerleşmek için göç ederler. Burada makrofajlara dönüşürler. Köpüksü hücreler haline gelmek için iştahla büyük kısmı okside LDL olmak üzere lipoproteinleri yutarlar. Okside LDL monositler için kemotaktik ve makrofajlar için biriktikleri yerde immobilize edici etkisi vardır. Makrofajlar aynı zamanda intimada da çoğalırlar. Lezyon gelişiminin erken döneminde bir kısmı media kökenli düz kas hücreleri intimaya göç ederler ve orada birikirler, çoğalırlar ve bazıları lipidleri alarak köpüksü hücrelere dönüşürler. Hiperkolesterolemi ve inflamasyon devam ettiği sürece monosit adhezyonu düz kas hücrelerinin endotelyal göçü ve makrofajlar ile düz kas hücrelerinde lipid birikimi sürer ve en sonunda makroskopik olarak yağlı çizgilenmeler şeklinde olan intimada köpüksü hücre agregatları ile sonuçlanır. Bu agregatlar atherom plaklarının öncül lezyonlarıdır. Hiperkolesterolemi denetim altına alınabilirse bu yağlı çizgilenmeler gerileyebilir. Ancak kalıcı olurlarsa gelişimleri devam eder. Köpüksü hücre odakları etrafında düz kas hücrelerinin çoğalmaları yağlı çizgilerin matür yağlı-fibröz atheroma çevirir.

Arteryal düz kas hücreleri kollojen, elastin ve glikoproteinler sentezleyebilirler. Düz kas hücrelerinin çoğalmasına bazı büyüme faktörleri karışmaktadır ki en önemlileri endotel hasarı olan odağa tutunan trombositlerden salınan fakat yanı sıra makrofajlar, endotel hücreleri ve düz kas hücreleri tarafından da yapılan Platelet Derivated Growth Factor'dür (PDGF). Diğer aday mitojenler ise FGF ve Transforme edici büyüme faktörüdür (TGF- α). Farklı büyüme inhibitörleri düz kas proliferasyonunu denetler. Bunlar endotel hücreleri ve düz kas hücrelerinde mevcut heparin benzeri moleküller yada endotel hücreleri ya da makrofajlardan köken alan TGF- β dan oluşur. Aterogenezin bu aşamasında intimal plak ortasında bir kısmı ölmüş ekstrasellüler lipid ve hücre artıkları ortama salmış makrofaj ve atheromda kollajen, elastin ve proteoglikanların depolanması ile değişir. Bu bağ doku özellikle daha sonra "fibröz kep" i oluşturacak intimal yüzde belirgindir. Böylelikle tam olgunlaşmış yağlı-fibröz atherom gelişmiş olur.

Plaklar büyüdükçe alttaki medianın atrofisi ve fibrozisine duvar elastisitesi ve gerginliğinin bozulmasına komşu adventisya da lenfositik infiltrasyona ve sınırları

çevresinde yeni küçük damarların oluşmasına (angiogenezis) yol açar. Plakların üzerinde mural trombüsler gelişebilir. Tipik bir aterom 4 değişikliğe uğrayabilir ve komplike plaklar denilen durumlara yol açarlar. İlerlemiş hastalıkta plaklar sıklıkla odaksal ya da masif kalsifikasyona giderler. Arterler adeta kurşun borulara dönüşürler. Luminal yüzeyin fissürleşmesi ya da ülserasyonu ile plağın rüptürü debrilerin kan akımına geçişine (kolesterol embolisi) yol açabilir. Fissürlemiş ya da ülsere lezyonların üzerine trombüs gelişebilir. Endotelial bütünlüğün kaybından (erken ülserasyon) kaynaklanabilen ve damar lümeninden progresif kan girişine yol açan plak çevresinde kapillerlerden gelişebilen plak içine kanama ve plağın rüptürüne yol açabilir.(58)

2.4.5 ATEROSKLEROZ VE ENDOTELYAL DİSFONKSİYON İLİŞKİSİ

Damar endoteli kan damarlarının iç yüzeyini kaplayan bir yapıdır. Yıllarca; kan ve intersitium arasında geçirgenliği sağlayan yarı geçirgen bir yapı olarak düşünülmüştür. Bugün ise sekretuar, düzenleyici ve immünolojik özellikleri olan dinamik heterojen bir organ olarak değerlendirilmektedir (59). Endotel besinlerin, birçok biyolojik aktif moleküllerin ve kan hücrelerinin tüm insan vücudunda dolaşmasını düzenler. Proteinler (büyüme faktörleri, koagülasyon proteinleri ve antikoagülan proteinler), lipit taşıyıcı partiküller, metabolitler (NO, serotonin) ve hormonlar (ET-1) gibi birçok molekülleri içeren hücre membran reseptörleri için seçici geçirgen olarak görev alır. Sağlıklı endotel aynı zamanda vasküler tonus düzenlenmesinde rol alarak enflamasyonu, hemostazı ve tamir basamaklarında oluşabilecek olan trombotik olayları kontrol eder (22).

Travma ve birçok patolojik faktörlere bağlı olarak oluşan endotel aktivasyonu, kendi düzenleyici fonksiyonlarında değişiklikler oluşmasına neden olur. Endotel vasküler hemostazın sağlanmasında yetersiz hale gelir. Bu olay ise gevşetici ve kasıcı ajanlar, prokoagülan ve antikoagülan mediyatörler, hücre büyümesi uyarıcıları ve inhibe edicileri arasında sırası ile oluşan dengesizliğe neden olarak endotelial disfonksiyon olarak tanımlanan olaya neden olur (57).

2.5 KORPUS KAVERNOZUM

2.5.1. KORPUS KAVERNOZUM YAPISI

Korpus kavernozum erektil bir yapıdır. KK penis tunika albuginea denen sert bağ dokudan oluşan dayanıklı bir tabaka ile örtülüdür. Kavernoöz cisimleri örten tunika albuginea daha kalın, spongiöz cismi örten tunika ise daha incedir. KK penis kavernoöz sinüs ya da laküna olarak adlandırılan büyük kan adacıkları ve bağ dokusu septaları olan trabeküllerden oluşur.

2.5.2 KAVERNOZ DOKU HİSTOLOJİSİ

Korpus kavernozumda trabeküllerin gövdesini bağ doku hücreleri olan fibroblastlar, düz kas hücreleri ve bu hücreler arasında yerleşen kollajen ve elastik lifler yapar. Düz kas hücreleri tek tek ya da demetler halinde düzenlenir. Korpus kavernozum yapısındaki lakünalar ise bazal lamina üzerine oturan skuamöz epitelyum ile sınırlanır. Sentral lakünalar sentral derin arterler tarafından desteklenir. Bu arterler lakünelara boşalan birçok dallar verir. En derin penil arterlerin duvarı aynı zamanda trabekül duvarı olduğu için demetler halinde longitudinal olarak düzenlenen düz kas hücreleri yerleşmiştir. Süperfisyal arterler ise perifer kapiller ağlarını ve venöz pleksusları desteklemektedir.(60)

2.6 EREKTİL FİZYOLOJİ VE EREKTİL DİSFONKSİYON

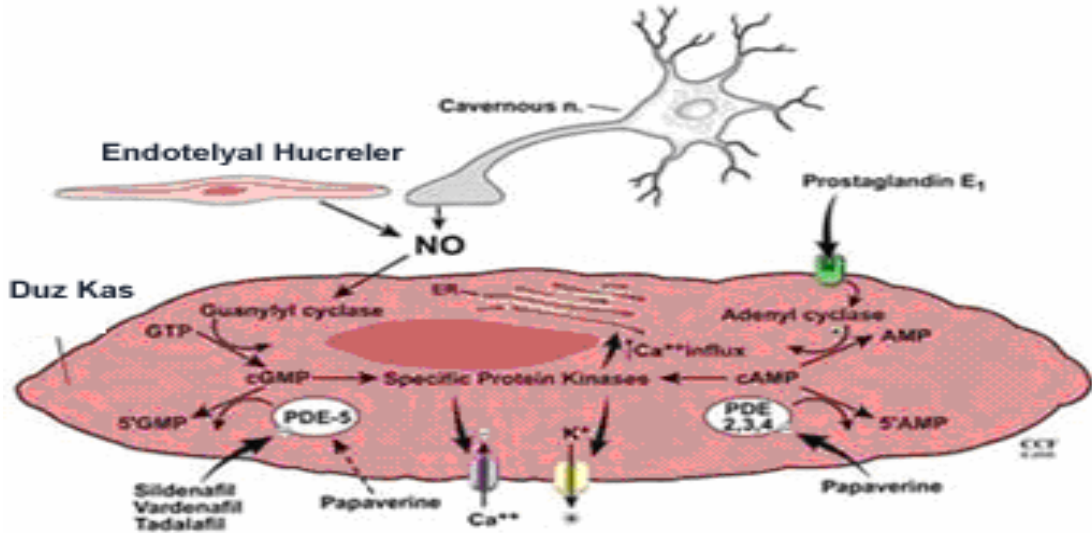
2.6.1 Ereksiyon Fizyolojisi

Ereksiyon, seksüel bir uyarı sonrası KK'daki düz kas elemanlarının ve arterlerin gevşemesine bağlı olarak gelişen hemodinamik bir durumdur. Penil ereksiyon için gerekli uyarılar parasempatik sinir lifleri ile taşınır. KK'daki düz kas elemanlarının relaksasyonunu takiben, sinüzoitlere kan dolmaya başlar. Genişleyen sinüzoitler ile tunika albuginea arasında küçük venüllerin kompresyonu, venöz akışın kısıtlanmasına, dolayısıyla da kanın KK içinde tutulması sonucunda da ereksiyona neden olur.

Penis düz kasının (arteriyel ve trabeküler) kasılma aktivitesi; yeterli seviyede agonist (nörotransmitter, hormonlar ve endotel ilişkili maddeler), reseptörlerin yeterli ekspresyonu, transdüksiyon mekanizmalarının bütünlüğü, kalsiyum hemostazı, kasıcı proteinler arasındaki ilişki ve düz kas hücrelerinin hücre arası ilişkileri (gap-junctionlar) gibi birçok faktörle ayarlanmaktadır. Kasıcı ve gevşetici faktörler

arasındaki denge ve etkileşim penis düz kas tonusunda belirleyicidir. Düz kas kasılması intrasellüler kalsiyumun, rölatif olarak ve kasıcı mekanizmanın kalsiyuma olan sensitivitesinin artmasına bağlıdır. Düz kasın tonusunu ise kalsiyum sensitizasyon mekanizmasının kasıcı ve gevşetici faktörlere olan net cevabı belirler.

Vasküler fizyolojinin anahtar düzenleyicisi olan endotelin ereksiyon oluşumunda temel bir rolü vardır. Diyabet, hipertansiyon, hiperkolesterolemi gibi endotelial disfonksiyonun geliştiği hastalıklar artmış ED prevalansı ile ilişkilidir. Düz kas kasılmasını etkileyen birçok madde endotelde üretilir. Bunlar düz kasta kasılmayı (endotelin, TXA_2) ve gevşemeyi (NO, PGI_2) sağlayan maddeleri kapsamaktadır. Bununla birlikte endotelial fonksiyonun korunması genellikle yeterli vasküler düz kas gevşemesinin devamlılığı ile ve kontraktıl cevapların modülasyonu ile ilişkilidir. Humoral ve parakrin stimulusa cevap olarak endotel düz kas gevşemesi sağlayan maddeler salgılar. Endotel–bağımlı vazodilatörler (ACh, bradikinin) endotelial hücrede intrasellüler kalsiyum artışı sağlayan endotelial reseptörleri etkileyerek vasküler düz kas gevşemesini oluşturmaktadır (Şekil 4). Kalsiyum artışı düz kasta gevşeme oluşturan lokal mediyatörlerin sentezinden sorumlu endotelial enzim aktivitesini tetiklemektedir. Hayvan modellerinde gösterildiği gibi ACh'in intrakavernozal enjeksiyonu ereksiyon sağlamaktadır.



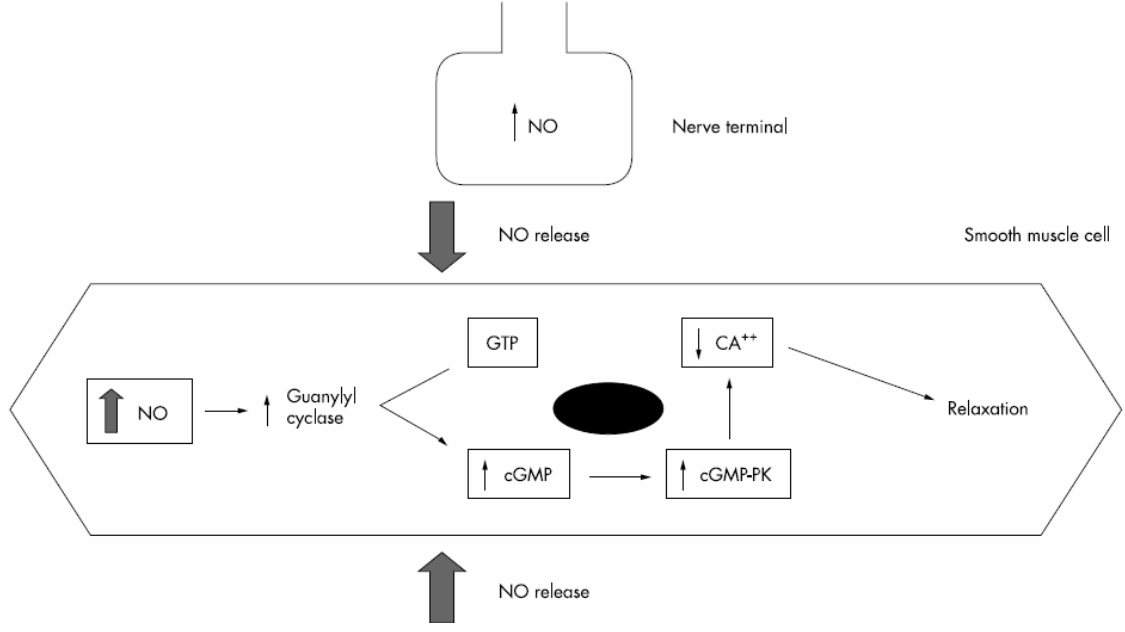
Şekil 4: Korpus kavernozum endotelinden salınan vazodilatör maddeler

İnsan KK' unda endotel bağımlı gevşemeden sorumlu tek mediyatör NO yüksek oranda reaktif olan, kimyasal olarak stabil olmayan bir serbest radikaldir. NOS,

L–arjinin ve moleküler oksijeni kullanarak NO ve L–sitrulin üretmektedir. Tetrahidrobiopterin ve NADPH bu reaksiyon için gereklidir (61,62). nNOS ve eNOS sırasıyla penisin kolinerjik sinirlerinde ve endotelde eksprese olmaktadır (63-64). Postganglionik parasempatik sinirler olan nitreerjik sinirler yapılarında nNOS içerirler ve NO salınımına aracılık ederler (65-66). Kavernozaal sinir uyarımı peniste gevşemeye neden olan NO salınımını sağlayan sinir terminallerindeki nitreerjik sinir liflerini aktive eder (67,68). Birçok hayvan modelinde spinal kord veya kavernozaal sinir stimülasyonu ile sağlanan ereksiyon NOS inhibitörlerince inhibe edilebilir (63,69-70). Penis kan damarlarındaki endotelde ve KK' un endotelinde bulunan eNOS, NO'in diğer bir kaynağıdır. Erektile fonksiyonu eNOS'ın sağladığına dair 3 teori ileri sürülmektedir. Birincisi, postganglionik kolinerjik liflerden salgılanan ACh'in endotelden NO salınımını sağlıyor olabilmesi. Gerçekten izole KK veya penil arterlerde ACh'in dışardan uygulanması endotele bağımlı gevşeme oluşturmaktadır. eNOS ile ilgili ikinci olasılık, gerilim stresi ile eNOS'ın aktive olmasına bağılı olabilir (71). Ereksiyon süresince vasküler ve sinüzoidal lümenin genişlemesi gerilim stresine neden olabilir; bu da protein kinaz (aynı zamanda PKB olarak da bilinen) aktivasyonu sonrasında eNOS'ın fosforilasyonuna ve aktivasyonuna neden olarak endotelden NO salınımını kolaylaştırır (72). Üçüncü olarak, bradikinin ve oksijen gibi plazmadaki maddeler, oksijenlenmiş kanın KK'a girişı üzerine endotelde NO üretimini tetikleyebilir. Nitreerjik sinirlerdeki nNOS'dan oluşan NO düz kas gevşemesinin çoğunlukla başlangıcından sorumlu iken, eNOS'dan oluşan NO'in ereksiyonun devamlılığını sağladığı konusunda fikir birliğı vardır.

ACh, norepinefrin gibi klasik nörotransmitterlerden farklı olarak NO'in hücre membranında spesifik bir reseptörü yoktur. NO sitoplâzmadaki soluble guanilat siklaz (sGC) enzimi için hücre membranını geçememektedir. NO'in cGMP'ye bağlanması, proteinde konformasyonel değışikliklere neden olmakta ve aktivitesini arttırmaktadır (73). Aktive olmuş sGC GTP'nin cGMP'ye dönüşümünü katalizlemektedir. Ökaryotik hücrelerde cGMP sinyalleri 3 farklı yol aracılığıyla olur; iyon kanalları, fosfodiesterazlar ve protein kinazlar bu etkileşimler aracılığı ile intrasellüler cGMP konsantrasyonundaki artış kontraktile yanıtta azalmayı indükleyen intrasellüler olay kaskatını başlatmaktadır. Bunlar hiperpolarizasyon, voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının kapanması, intrasellüler organeller ile kalsiyumun sekestrasyonu, intrasellüler kalsiyumdaki artışın korunması ve kontraktile organların desensitizasyonunu içermektedir.

Nitrerjik sinir stimulasyonu veya ekzojen NO verilmesi penil KK'da intrasellüler cGMP konsantrasyonlarında artışa neden olur (Şekil 5) (74,75). sGC'nin selektif inhibitörlerinin penil düz kasta nitrerjik relaksasyon cevabını inhibe ettiği gösterilmiştir (76-77). Bütün bu bulgular penil düz kastaki nitrerjik nörotransmisyonun sGC stimulasyonu ve cGMP konsantrasyonlarında artış yoluyla olduğunu göstermektedir.



Şekil 5: NO-cGMP yolağı aracılı korpus kavernozum düz kas gevşemesi

2.6.2. Eretil disfonksiyon

ED, bir erkeğin en az 6 ay süre ile seksüel ilişki için yeterli penis ereksiyonunu sağlama ve/veya sürdürmede yetersizlik olarak tanımlanmıştır. ED prevalansına ilişkin en kapsamlı veriler ABD'de yapılan çalışmalara dayanmaktadır. NIH'ın 1993'deki verisine göre ABD'de ED prevalansı 10-20 milyon erkeği kapsamaktadır. Genel popülasyondaki insidans %10 olarak ele alınırsa, dünyada 650 milyon erkeğin ED hastası olduğu tahmin edilmektedir. Dünyanın çeşitli ülkelerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, ED prevalansına ilişkin tahminler ileri sürülmüştür. Yaşlanma ile ED riski artmaktadır. Fizyolojik fonksiyondaki ilerleyici azalma, artmış kronik hastalık prevalansı, psikolojik durumlar yaşlanmada ED riskini arttıran sorumlu faktörlerdir.

2.6.2.1 Eretil disfonksiyon etiyolojisi

ED, yaşam kalitesi ve genel sağlığı etkileyebilir ve sıklıkla multifaktöriyel bir etiyojiye sahiptir. Organik ve/veya psikojenik kökenli olabilir. 1960'lı yıllarda olguların çoğu psikojenik kökenli olduğu düşünölmekteyken günümüzde ise organik ve/veya psikolojik sorunların karmaşık bir etkileşimi sonucunda oluştuğu kabul edilmektedir. Genç erkeklerde psikojenik nedenler fazla iken, yaşlılarda organik nedenler daha ön plandadır. Geniş bir sistemik hastalık spektrumu ED'a neden olmaktadır. ED nedenleri arasında; hormonal nedenler, psikolojik nedenler, nörolojik nedenler, iyatrojenik nedenler, vasköler nedenler sayılabilir.

Kardiyovasköler hastalıklar ile ED birlikteliği son dönemde yapılan çalışmalarla net olarak ortaya konmuştur. Hipertansiyon, serebrovasköler olaylar, miyokart enfarktüsü, ateroskleroz ve periferik vasköler hastalıklar gibi kardiyovasköler risk faktörlerini içeren hastalıkların ereksiyon hemodinamiğini bozarak ED'a neden oldukları bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar, 50 yaş üstü erkeklerde arteriyojenik ED varlığında kalp ve periferik damar hastalıklarının araştırılması gerektiğini vurgulamışlardır.

2.6.2.2. Erektile disfonksiyon patogenezi

KK'daki düz kas elemanlarının ve arterlerin gevşemesine bağlı olarak gelişen hemodinamik durumun herhangi bir yerindeki bozukluk ED ile sonuçlanır ve etiyoji sıklıkla multifaktöriyeldir. Pek çok hastalıklar; nörojenik, vasköler ve hormonal sistemi etkileyerek, KK düz kaslarında mikroskobik yapısal değişikliklere neden olarak ya da kişinin psikolojik durumunu bozarak ED'a yol açar. ED etiyojisinde genellikle organik ve psikojenik faktörler birbiri içine girmiştir. Ancak, penisin özelleşmiş bir vasköler yatak olduğu göz önüne alındığında; ED etiyojisinde vasköler nedenler sıklıkla yer almaktadır. Vasköler ED'u olan hastaların büyük bir çoğunluğunda bozulmuş penil perfüzyon yaygın aterosklerotik hastalığın bir komponentidir. Aterosklerozisin yanı sıra arteriyel yetmezliğe yol açan en sık risk faktörleri; hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara, diabetes mellitus sayılabilir. Aterosklerozisde damarlarda endotel hasarı, hücresel migrasyon ve damar düz kas hücre proliferasyonu şeklinde morfolojik değişiklikler meydana gelir. Artan yaş aterosklerozis için güçlü bir risk faktörüdür ve NO salınımındaki değişikliklerle ilişkilidir. Yapılan çalışmalar, ED insidansı ve koroner arter hastalığının başlama yaşı arasında bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Hiperlipidemi, kavernöz düz kaslarda ve endotelde disfonksiyona yol açmaktadır. Tavşan modellerinde

ateroskleroz ve hiperkolesteroleminin azalmış NOS aktivitesi, artmış kontraktil tromboksan A₂ ve prostaglandin üretimi ile birlikte olduğu ve elektrik stimülasyonuna yanıt olarak, düz kas gevşemesinde bozukluk olduğu gösterilmiştir. Hiperkolesterolemideki bu bozulmuş NO bağımlı düz kas gevşemesi ayrıca DYL'in kontraktil etkilerine, serbest oksijen radikallerinin salınımına ve NOS inhibitörlerinin artışına bağlanmaktadır. Yapılan ultrastrüktürel çalışmalar, kolesterol ağırlıklı beslenmiş tavşanlarda KK'da erken dönemde aterosklerotik değişikliklerin başladığını göstermektedir. Bu değişiklikler ED'un primer sebebi olmakla birlikte, aterosklerotik lezyonların ilerlemesine ve daha kompleks hale gelmesine de neden olmaktadır (6).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada 250-300 gram ağırlığında 36 adet wistar erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar Dokuz Eylül Üniversitesi deneysel cerrahi bölümünden temin edildi. Çalışma farmakoloji ve histoloji anabilim dalı laboratuvarlarında yapıldı. Çalışma süresince tüm hayvanlar 23° C sıcaklıkta odalarda her kafesde 2 adet sıçan olacak şekilde barındırıldı. Standart diyetle beslenerek istedikleri kadar su içmelerine izin verildi.

3.1 nLDL enjeksiyonu:

Sıçanlara intravenöz olarak nLDL enjeksiyonu xylazin/ketamin anestezisi altında jugular veni kanüle edilerek yapıldı(Resim 1). Enjeksiyon sonrasında insizyon yeri sutur ile kapatıldı (Resim2). Enjeksiyon sonrası insizyon yerinde enfeksiyon gelişen sıçanlar çalışma dışı bırakıldı.

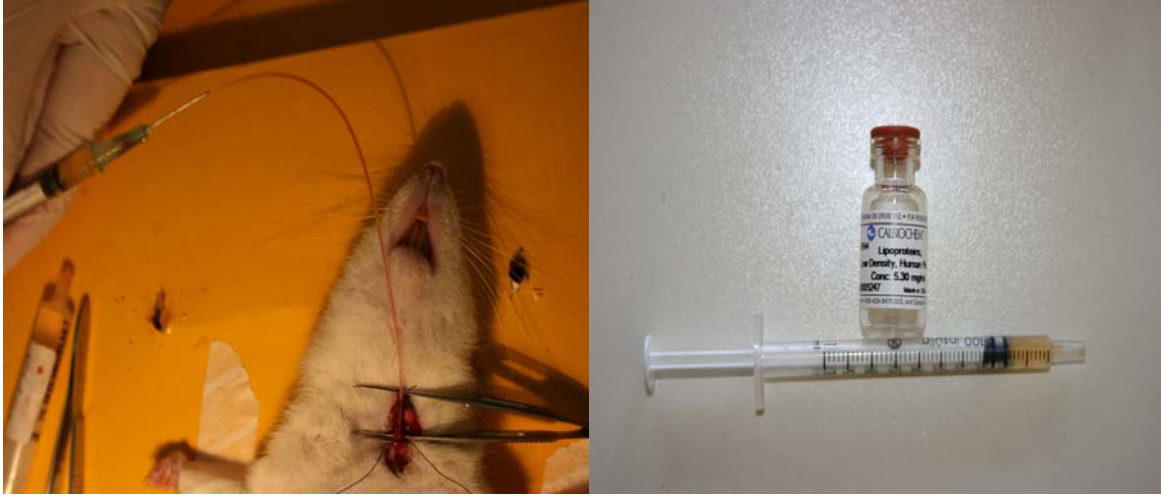
3.2. Çalışma grupları

Grup 1 (n=6) : Sıçanlar 4 mg/kg i.v olarak nLDL enjeksiyonu yapılarak(78) (Resim 1). Enjeksiyonu takiben 24. Saatte hayvanlar servikal dislokasyonla sakrifiye edilerek organ banyosu çalışması için sadece korpus kavernozumun bir kısmı, histopatolojik inceleme için torakal aorta ve korpus kavernozum diğer kısmı alındı.

Grup 2 (n=6) : Sıçanlar 4 mg/kg i.v olarak nLDL enjeksiyonu yapılarak, enjeksiyonu takiben 72. Saatte hayvanlar servikal dislokasyonla sakrifiye edilerek organ banyosu çalışması için sadece korpus kavernozumun bir kısmı, histopatolojik inceleme için torakal aorta ve korpus kavernozum diğer kısmı alındı.

Grup 3 (n=6) : Sıçanlar 4 mg/kg i.v olarak nLDL enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyonu takiben 2 hafta sonunda hayvanlar servikal dislokasyonla sakrifiye edilerek organ banyosu çalışması için sadece korpus kavernozumun bir kısmı, histopatolojik inceleme için torakal aorta ve korpus kavernozum diğer kısmı alındı.

Kontrol grubu (n=12): Yukarıda belirtilen her grubun kendi sham grubu alındı. Bu gruplarda da sıçanlara juguler ven kanüle edilerek nLDL verildiği miktarda serum fizyolojik enjekte edilerek ve 24.saat, 72. saat ve 2.hafta sonunda hayvanlar servikal dislokasyonla sakrifiye edilerek organ banyosu çalışması için sadece korpus kavernozumun bir kısmı, histopatolojik inceleme için torakal aorta ve korpus kavernozum diğer kısmı alındı.



Resim 1: Deneklere xylamin/Ketamin anestezi altında n LDL uygulanması



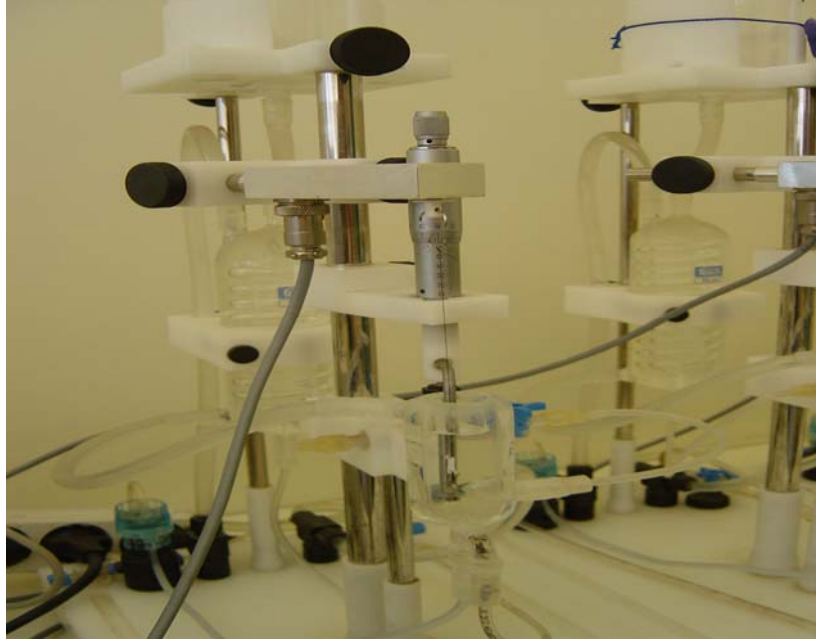
Resim 2: n LDL enjeksiyonu sonrasında stürlerin kapatılması

3.3. Çalışmada kullanılacak yöntemler:

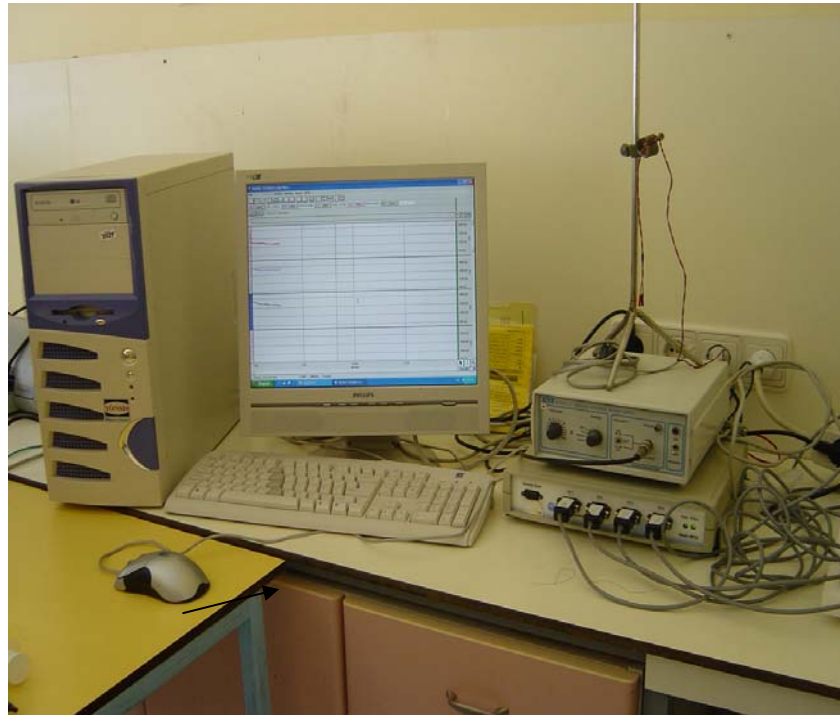
3.3.1. Organ banyosu çalışması ile kavernöz dokunun gevşeme yanıtlarının değerlendirilmesi:

Hayvanlar eter anestezisi ile sakrifiye edildikten sonra penis cerrahi olarak çıkarıldı, çevre bağ dokuları temizlendikten sonra içerisinde %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılan Krebs(mM) (NaCl 133; KCl 5; CaCl₂ 2.5 ; MgSO₄ 1.2, NaHCO₃ 12; NaH₂PO₄ 1 ; glukoz 11) solüsyonu bulunan kaplara konularak. Glans penis ve üretra tunika albugeniadan ayrılarak ve iki corpus cavernosum birbirinden ayrılarak,şerit şeklinde preparatlar hazırlandı ve 10 ml' lik organ banyosuna 2 g gerilim uygulanarak asıldı(Resim 3). 60 dakika dinlenme süresince dokular 15

dakikalık periyodlarla krebs solüsyonu ile yıkandı. $7.5 \times 10^{-6} \text{M}$ Fenilefrinin konsantrasyonu ile kastırılan dokulara ($10^{-9} - 10^{-4} \text{M}$) konsantrasyonları arasında asetilkolin kümülatif olarak denenerek gevşeme yanıtları değerlendirildi. Elde edilen yanıtlar MAY transduser aracılığıyla biopac programına aktarılarak değerlendirildi (Resim 4).



Resim 3: Şerit şeklinde hazırlanmış kavernoöz dokunun organ banyosuna asılması



Resim 4: Çalışma verilerinin kaydedildiği MP30 kayıt sistemi

3.3.2. Histopatolojik,immunohistokimyasal inceleme:

Eter anestesizi altında tüm deneklerden alınacak doku örnekleri ışık mikroskopi inceleme için %10'luk tamponluk formaldehite alındı. Rutin histolojik takip işlemlerinden geçirilecek ve parafin bloklara gömüldükten sonra 5µm kesitler alındı.. Hematoksilen-eozin, Mason-Trichrom ve Verhoeff boyaları ile boyandı. Ayrıca immunohistokimyasal inceleme için kesitler lizinli lamlara yerleştirildi. 24 saat 60°C etüvde bekletildikten sonra eNOS immunreaktivitesinin gösterilmesi amacıyla sıçan spesifik anti-eNOS avidin biyotin immunpeorksidaz işaretleme yapıldı.

3.3.2.1. İndirek İmmunohistokimya boyaması

Alınan penis ve aort kesitleri immunohistokimyasal boyama için bir gece 60 C°'lik etüvde tutulduktan sonra, 30'ar dakika iki saat değişim ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Ardından %95'ten %60'a azalan dereceli alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Dakopen (IM3580, Immunotech, France) ile sınırlandırılan % 0,5'lik tripsin solüsyonu içinde oda sıcaklığında 15 dakika tutulan kesitlere, doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dk %3'lük H₂O₂ uygulandı. 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu (PBS; Posphate buffer solution) ile yıkanan kesitler 1 saat bloklama solusyonu (TA-125-UB, Lab Vision, Fremont, CA) ile muamele edildi. Bloklama solusyonu dokudan uzaklaştırıldıktan sonra primer antikorlar eNOS (Genetex Inch.) ile bir gece inkübe edildi. Ertesi gün tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler, anti-mouse biotin-streptavidin hidrojen peroksidaz ikincil antikor (85-9043 Zymed Histostain kit San Francisco,USA) ile 30'ar dakika boyandı. Yine üç defa 5'er dakika tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler, oluşturulan immunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla DAB(Roche Diagnostics Germany) ile 5 dk boyandı. Mayer's hematoksilen (72804E, Microm, Walldorf, Germany) ile artalan boyaması sağlandıktan sonra distile su ile 10 dk yıkanan kesitler kapatma medyumu (AML060, Scytek, Logan, Utah, USA) ile kapatıldı.

3.3.2.2. Hematoksilen-eozin boyama:

Parafin bloklardan kesitler alındıktan sonra etüvden geçirilen preparatlara deparafinizasyon protokolü uygulanarak rutin hematoksilen eozin boyama yapıldı. Preparatlar ksilenden geçirilerek entellan ile kapatıldı.

3.3.2.3. Masson-Trichrom boyama

Hazırlanan preparatlara Weigert's demir hematoksilen (A) ve Weigert's demir hematoksilen (B) solüsyonlarından konarak 10 dk bekletildi. Bu solüsyonlar lamdan uzaklaştırıldıktan sonra pikrik asit alkollü solüsyonuna konarak 4dk bekletildi. Takibinde preparatlar distile su ile yıkandı. Fosfomolibdik asit solüsyonu konup 10 dk bekletildikten sonra bu solüsyon uzaklaştırılıp preparatlar mason anilin solüsyonu ile 5dk bekletildi. Distile sudan geçirildikten sonra dereceli alkollerden geçirilip dehidrate edilen preparatlar son olarak absolü alkolde 1 dk bekletildi. Takibinde ksilende şeffaflaştırılan preparatların üzeri entellan ile kapatıldı.

3.3.2.4. Verhoeff boyama

Alınan aort ve penis kesitleri etüvden geçirildikten sonra rutin deparafinizasyon işlemi uygulanarak distile su aşamasına kadar getirildi. Aşağıdaki kimyasallardan oluşan Verhoeff çalışma solüsyonunu (A solüsyonu : kristalize hematoksilen 5 g, absolü alkol 100 ml ; B solüsyonu: Ferric 3 klorid 10g ,distile su 100ml; Lugol iyodin solüsyonu: iyot 1g, potasyum iyodat 2g, distile su 100ml) A'dan 20 ml, B'den 8 ml ve Lugol solüsyonundan 20 ml eklenerek hazırlandı. Deparafinize edilen kesitler 30 dk Verhoff solüsyonuyla üzerleri kapatılmış halde bekletildi. Çeşme suyuyla boya uzaklaştırıldıktan sonra kesitlerin üzeri %2lik ferric klorid ile kapatılarak 3 dakika diferensiyeye edildi. Daha sonra kesitler distile sudan geçirilip su ve boya kalıntılarını uzaklaştırmak amacıyla % 96 lık alkolden geçirildi. Ksilende bekletilen kesitler entellan ile kapatıldı.

3.4. Çalışmada kullanılan kimyasallar: n LDL (Appllichem), asetilkolin(Sigma), fenilefrin (Sigma)

3.5. İstatistiksel analiz yöntemi:

Tüm Histolojik veriler SPSS 11.0 for Windows istatistik programında değerlendirildi. Ölçüm sonuçları ortalama±standart hata olarak gösterildi. Çoklu grup karşılaştırmaları nonparametrik Kruskal-Wallis varyans analizi kullanılarak yapıldı. İkili grup karşılaştırmaları için Mann-Whitney testi kullanıldı. $P < 0.05$ anlamlılık düzeyi esas alındı.

Çalışmada organ banyosundan elde edilen veriler ortalama±standart hata olarak hesaplandı. Organ banyosunda asetilkoline bağlı olarak elde edilen maksimal gevşeme yanıtları fenilefrin kasılmasına göre % alınarak hesaplandı. Tüm gruplardan elde edilen maksimal gevşeme yanıtları tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldı. Veriler Graphpad istatistik programında değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Kavernoza dokusunda asetilkoline bağlı gevşeme yanıtları

Hiperlipidemi enjeksiyonunu takiben her üç grupta (24.saat, 72.saat ve 2 hafta) da korpus kavernozaum şeritlerinde 7.5×10^{-6} M fenilefrin kasılması sonrası ACh kümülatif olarak uygulanmıştır (10^{-9} - 10^{-5} M). Alınan gevşeme yanıtları fenilefrin kasılması üzerinden yüzde olarak değerlendirilmiştir.

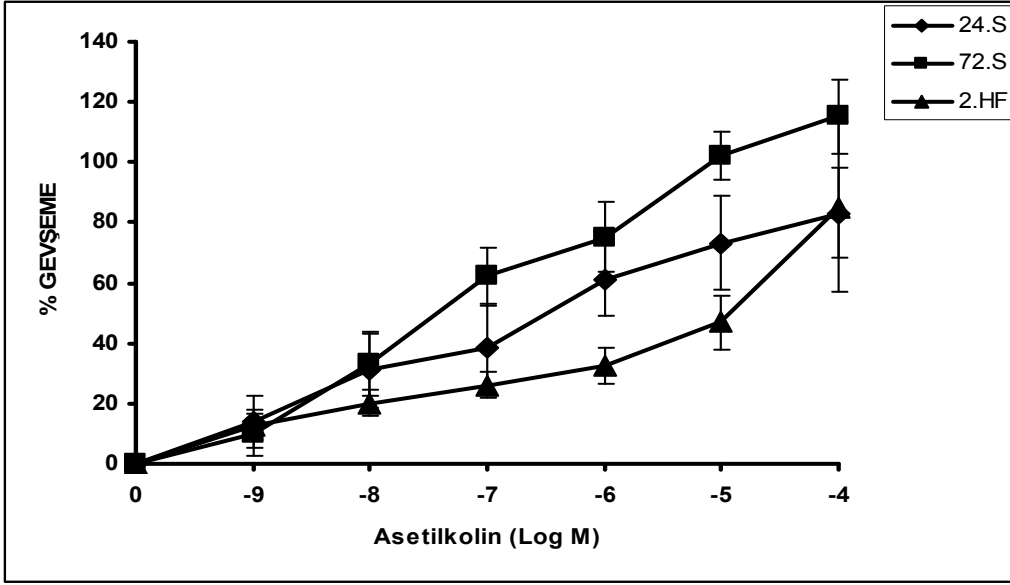
24 saat grubu, 72. saat grubu ve 2 hafta LDL enjeksiyonu yapılan gruplarda ACh'e bağlı gözlenen maksimum gevşeme yanıtları sırası ile % 98.23 ± 27.4 (n=9), % 57.4 ± 17.4 (n=9), % 6.6 ± 14.81 (n=8) olarak elde edilmiştir. Aynı grupların kontrollerinde ise sırasıyla % 83.20 ± 12.2 (n=6), % 115.2 ± 14.8 (n=6), % 85.2 ± 28.1 (n=5) oranında gevşeme yanıtları elde edilmiştir.

Grup içi yapılan karşılaştırmalarda n LDL enjeksiyonu yapılan sıçanların kavernoza dokularında 24.saatte asetilkoline bağlı gevşeme yanıtlarında farklılık gözlenmezken, 72. saat ve 2.hafta gruplarında gevşeme yanıtları kontrollerine oranla anlamlı derecede azalmıştır (sırasıyla $p=0.0676$, $p=0.0355$, $p=0.0197$, Tablo 1).

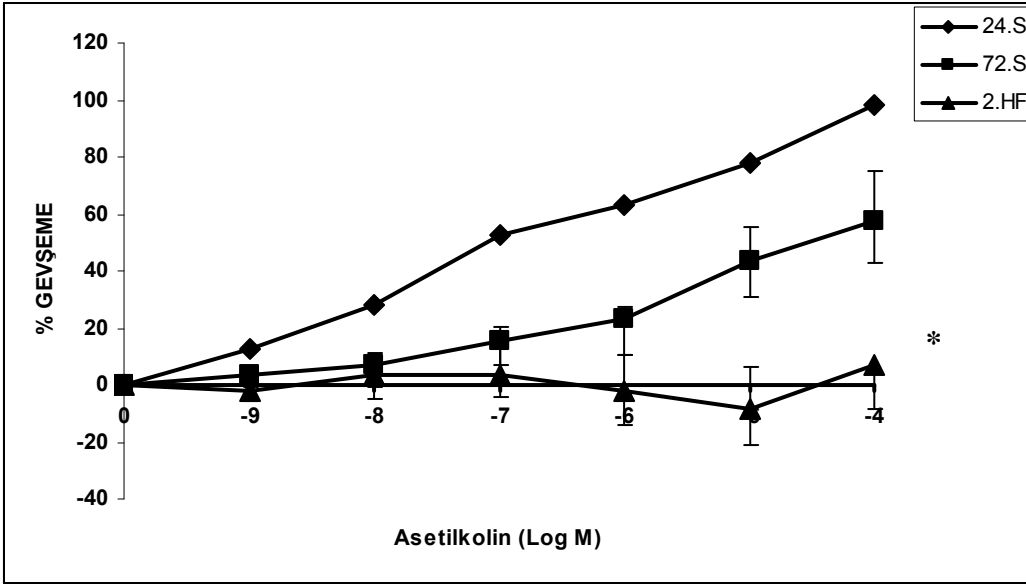
Tablo 1: Kavernoza dokuda grup içi asetilkoline bağlı maksimal gevşeme yanıtları

24. SAAT GRUBU		72. SAAT GRUBU		2. HAFTA GRUBU	
n LDL(n=9)	SF (n=6)	n LDL(n=9)	SF (n=6)	n LDL(n=9)	SF (n=6)
98.2 ± 27.4	83.2 ± 12.2	57.4 ± 17.4	115.2 ± 14.8	6.5 ± 14.8	85.2 ± 28.1
P=0.0676		P=0.0355		P=0.0197	

Gruplar arası karşılaştırmalarda her üç grubun kontrol grubunda farklılık saptanmazken ($p>0.05$, şekil 6), nLDL enjeksiyonu yapılan gruplar arasında yapılan karşılaştırmada ise 2. hafta grubunda elde edilen maksimum gevşeme yanıtları 24. saat grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p<0.05$, şekil 7).



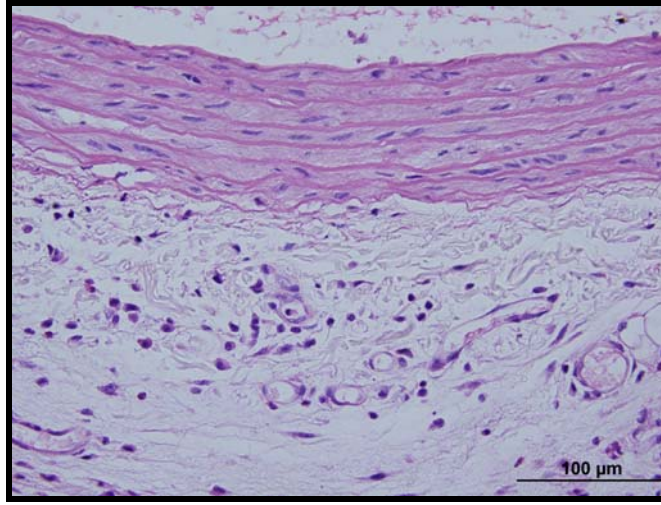
Şekil 6: Sham grubu kavernöz dokularda asetilkoline bağlı oluşan gevşeme yanıtları. Veriler ortalama standart hata şeklinde gösterilmiştir. ($p>0.05$) (24. saat grubu $n=6$; 72.saat grubu $n=6$; 2 hafta grubu $n=5$)



Şekil 7: n LDL enjeksiyonu yapılan gruplarda kavernöz dokularda asetilkoline bağlı oluşan gevşeme yanıtları. Veriler ortalama standart hata şeklinde gösterilmiştir. (* 24.saat- 2 hafta grubu $p<0.05$) (24. saat grubu $n=9$; 72.saat grubu $n=9$; 2 hafta grubu $n=8$)

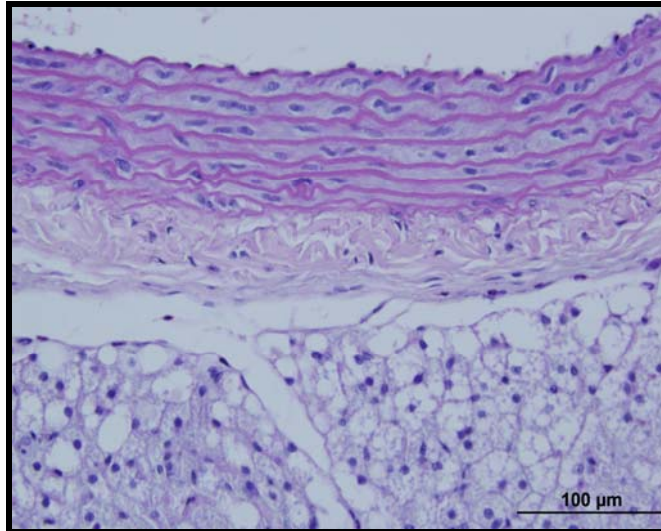
4.2. Torakal aortun histopatolojik olarak değerlendirilmesi

24 saat, 72 saat ve 2 haftalık sham gruplarından alınan torakal aorta örnekleri değerlendirildiğinde normal histolojik yapı sergilemekteydi. Tunika intima, tunika media ve tunika adventisya tüm yapılarıyla normal görünümdeydi. Ancak nLDL gruplardan alınan kesitlerin çoğunda endotele nötrofilik adhezyon belirgin olarak dikkati çeken bir bulguydu (Res:17).



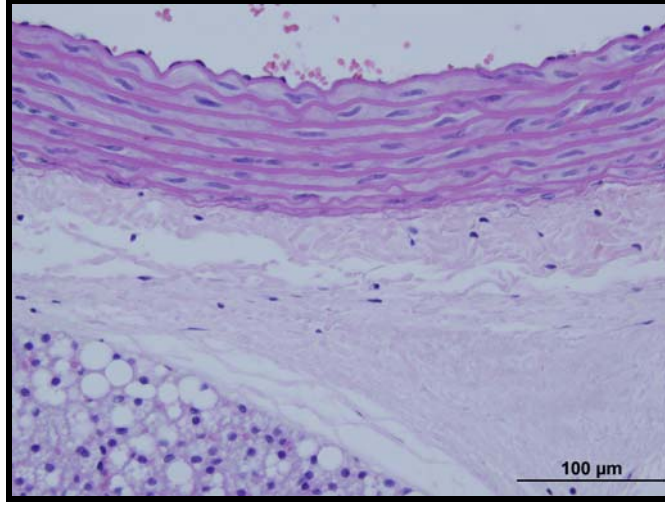
Resim 5: Torakal aorta Sham grupları H&E

Aynı histokimyasal tekniklerle değerlendirilen 24 saatlik LDL grubu bulguları sham grupları bulguları ile uyumluydu.



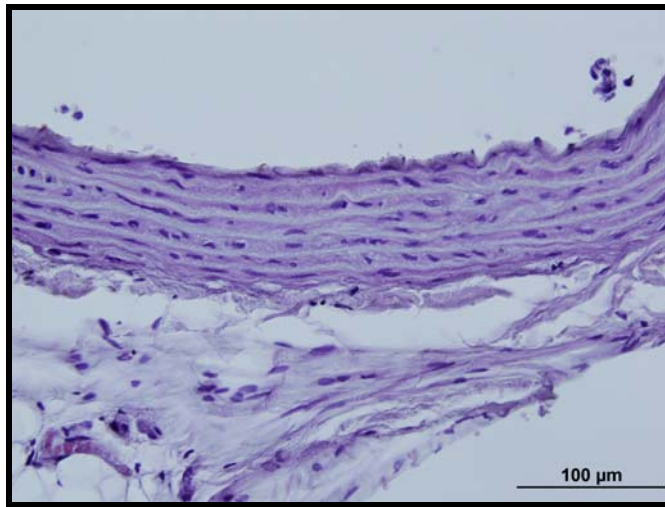
Resim6: nLDL enjeksiyonundan 24 saat sonra torakal aorta görüntüsü, H&E

72 saatlik LDL grubu bulguları da sham grupları bulguları ile uyumluydu.

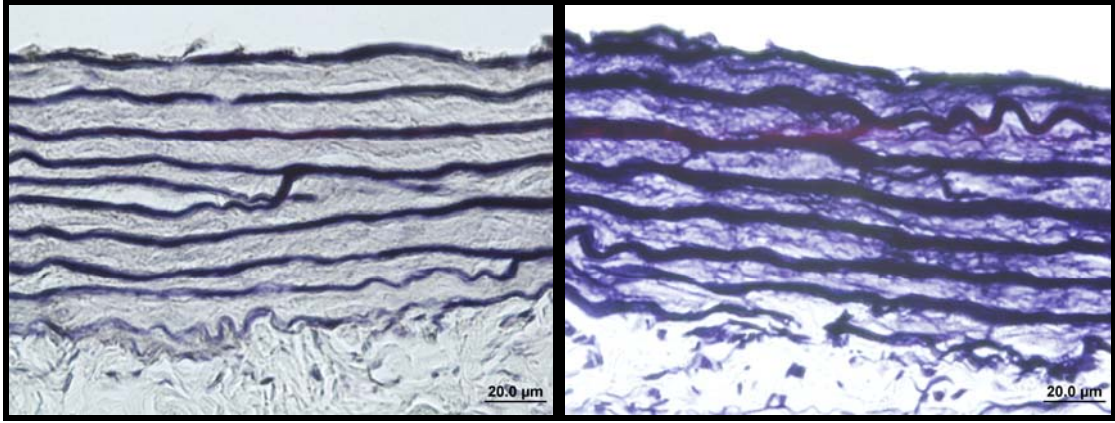


Resim 7: nLDL enjeksiyonundan 72 saat sonra torakal aorta görüntüsü, H&E

2 hafta nLDL grubunda tunika intima ve adventisya histolojik olarak normal gözlenirken tunika medyadaki elastik lamellerin hematoksilin eozin ile boya reaksiyonu vermediği heterojen bir yapı sergilediği gözlemlendi. (Resim 8) Ayrıca bu lamellerin düzensiz bantlar şekline dönüştüğü lifsel alt yapılarının belirginleştiği liflerin birbirlerinden ayrıldığı dikkati çekti. Bu formasyon bu grupta elastik lamellerin sham grupları ve diğer LDL gruplarındaki elastik lamellere göre daha kalın olarak görünmesine neden olmaktadır. Bu bulgu Verhoeff boyası uygulanmış aort doku örneklerinde de sham grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak dikkati çekti (Resim 9)



Resim 8: nLDL enjeksiyonundan 2 hafta sonra torakal aorta görüntüsü H&E



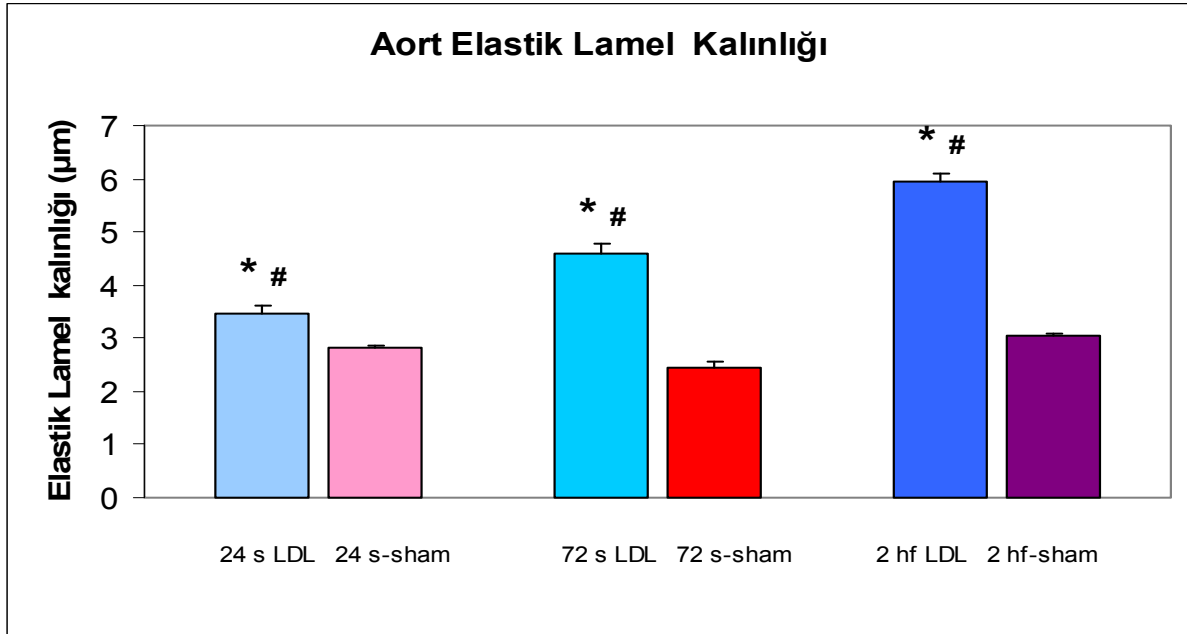
Resim 9: Sham grubu ve nLDL enjeksiyonundan 2 hafta torakal aorta görüntüsü Verhoeff

Bu gözlem sonucunu kantitatif olarak belirleyebilmek amacıyla tüm gruplarda dört ayrı düzlemde görüntü analiz programı ile elastik lamel sayıları sayılarak ve kalınlıkları ölçülerek istatistiksel olarak değerlendirildi. (UTHSCSA Image Tool for Windows version 3.00) Tüm veriler SPSS 11.0 for Windows istatistik programında değerlendirildi. Ölçüm sonuçları ortalama±standart hata olarak gösterildi. Çoklu grup karşılaştırmaları nonparametrik Kruskal-Wallis varyans analizi kullanılarak yapıldı. İkili grup karşılaştırmaları için Mann-Whitney testi kullanıldı. $P < 0.05$ anlamlılık düzeyi esas alındı. Analizlerin sonuçlarına göre ortalama elastik lamel kalınlıkları parametresinde gruplar arasında anlamlı fark olduğu bulundu (Tablo 2). Ortalama elastik lamel sayılarında ise gruplar arasında anlamlı fark oluşmadığı gözlemlendi ($p > 0.05$, Tablo 2).

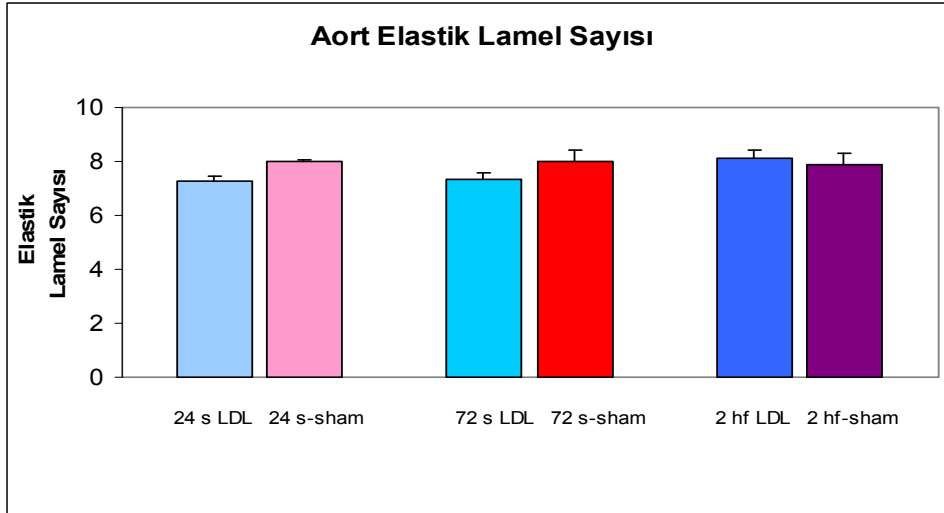
Deney sürelerine göre her üç nLDL grubu kendi sham grupları ile karşılaştırıldığında ortalama elastik lamel kalınlıklarının anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p = 0.01$). Sham grupları kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman anlamlı fark bulunmadığı gözlemlendi. nLDL grupları karşılaştırıldığı zaman ortalama elastik lamel kalınlığının 2 hafta grubunda anlamlı olarak yüksek, 24 saat grubunda ise düşük olduğu bulundu.

Tablo 2: Aort elastik lamel kalınlığı ve elastik lamel sayısı ortalamaları (ortalama \pm standart hata).

Grup	Ortalama elastik lamel kalınlığı	Ortalama elastik lamel sayısı
24 s-LDL	3,45 \pm 0,15	7,29 \pm 0,14
24 s-sham	2,81 \pm 0,06	7,97 \pm 0,09
72 s-LDL	4,58 \pm 0,18	7,36 \pm 0,22
72 s-sham	2,44 \pm 0,11	7,12 \pm 0,47
2 hf-LDL	5,94 \pm 0,15	8,14 \pm 0,28
2 hf-sham	3,02 \pm 0,07	7,87 \pm 0,42



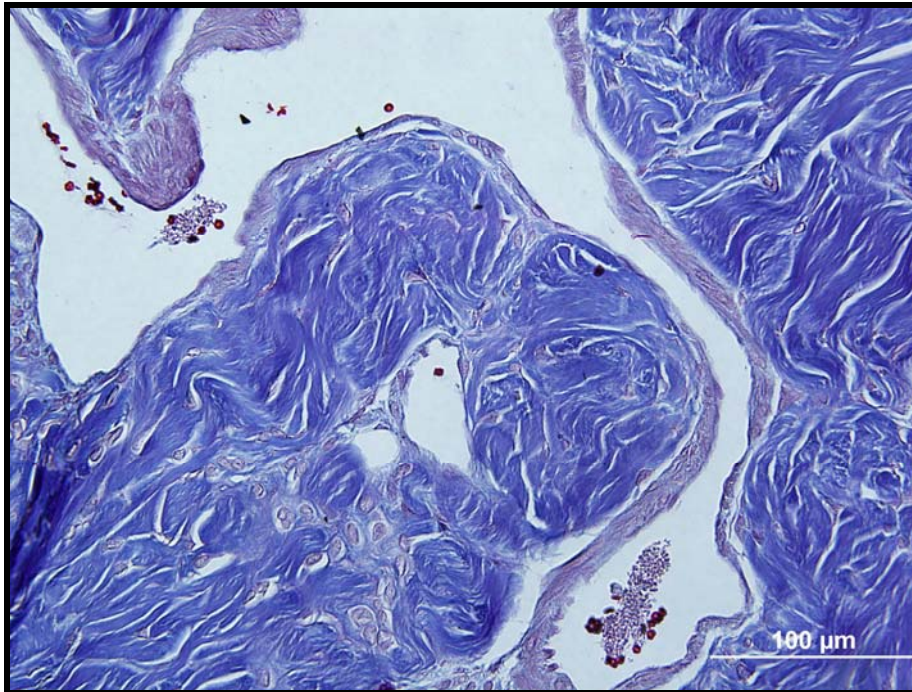
Şekil 8. Aort elastik lamel kalınlığı ortalamaları. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak gösterilmiştir. * LDL grupları kendi sham grubu ile anlamlı olarak farklı. # LDL grupları arasında anlamlı olarak fark bulunmaktadır, $p < 0.01$.



Şekil 9: Aort elastik lamel sayısı ortalamaları. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamaktadır, $p > 0.05$.

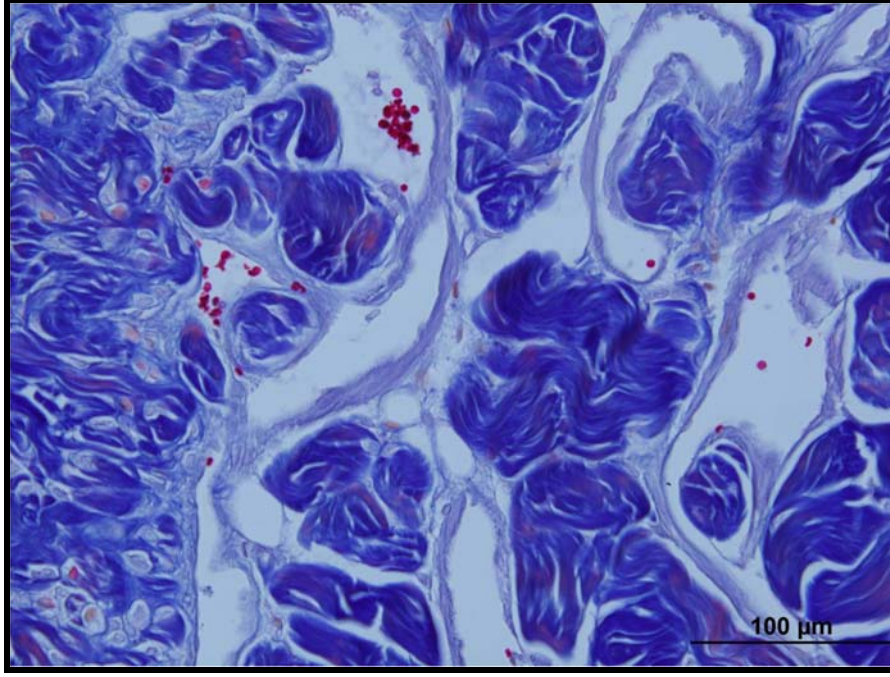
4.3. Kavernöz dokunun histopatolojik olarak değerlendirilmesi

24 saat, 72 saat ve 2 haftalık sham gruplarından alınan Kavernoz doku örnekleri Hematoksilen Eozin, Verhoeff ve Masson Trikrom boyaları ile değerlendirildiğinde normal histolojik yapı sergilemekteydi.



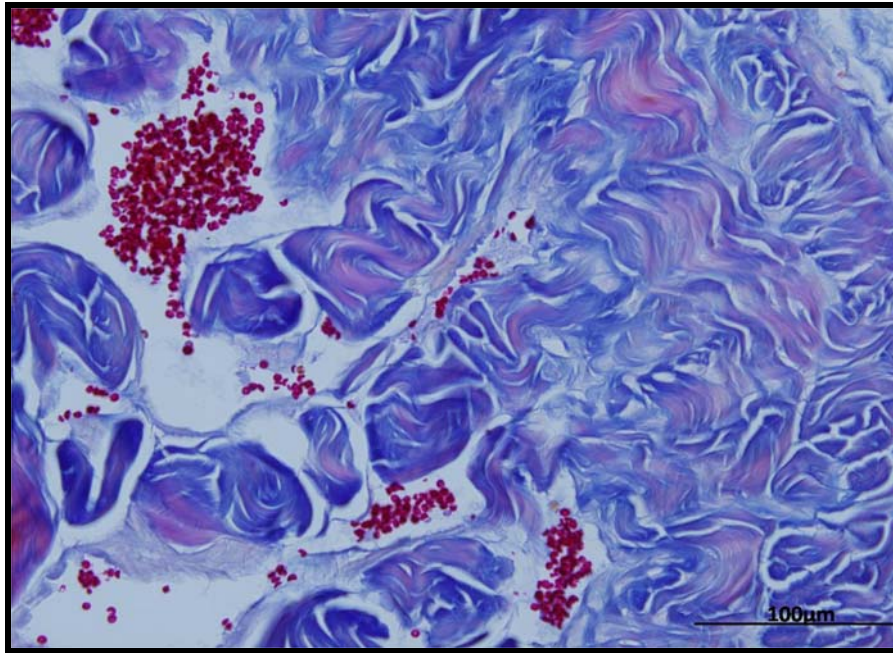
Resim 10: Sham grubu korpuz kavernozum Mason Trikrom

Aynı histokimyasal tekniklerle değerlendirilen 24 saatlik LDL grubu bulguları kendi sham grubu bulguları ile uyumluydu.



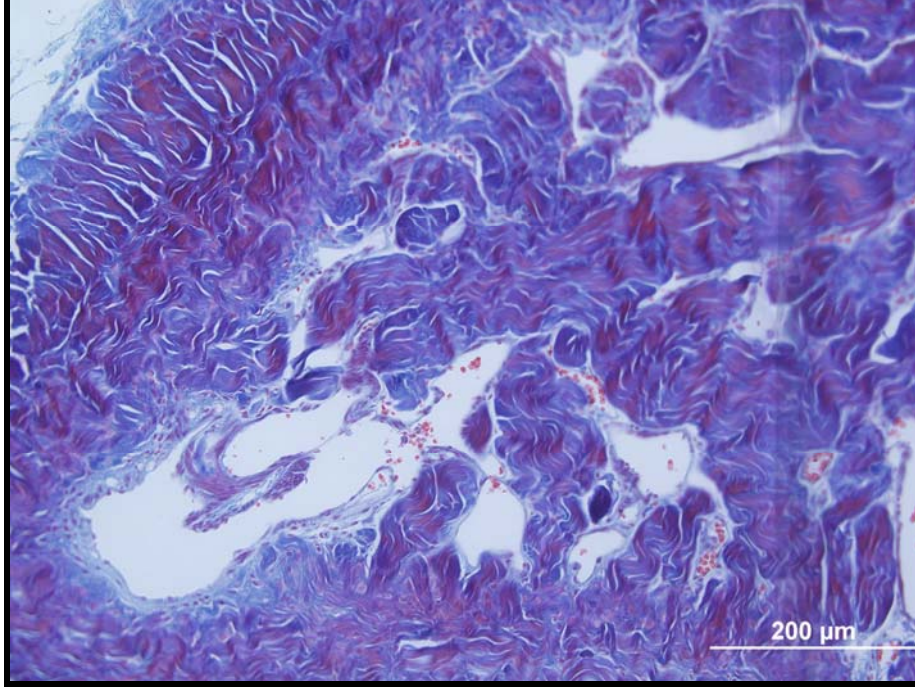
Resim 11: nLDL enjeksiyonundan 24 saat sonra korpus kavernozum, Mason Trikrom

72 saatlik LDL grubunda 24 saatlik LDL ve Sham gruplarından farklı olarak kavernoza trabeküllerin çatısını oluşturan kollajen liflerin bazılarında histokimyasal olarak hafif asidofilik dikkati çekti. Masson trikrom boyasının iyi diferensiyasyon olmadığı düşünülerek boyama tekrarlandı ayrıca materyal metotda planlanmayan Mallory Azan ve Demirli Hematoksilin-Van Gieson gibi farklı bağ doku boyaları ile de bu bulgu kontrol edildi ve aynı sonuca varıldı.



Resim 12 : nLDL enjeksiyonundan 72 saat sonra korpus kavernozum Mason Trikrom

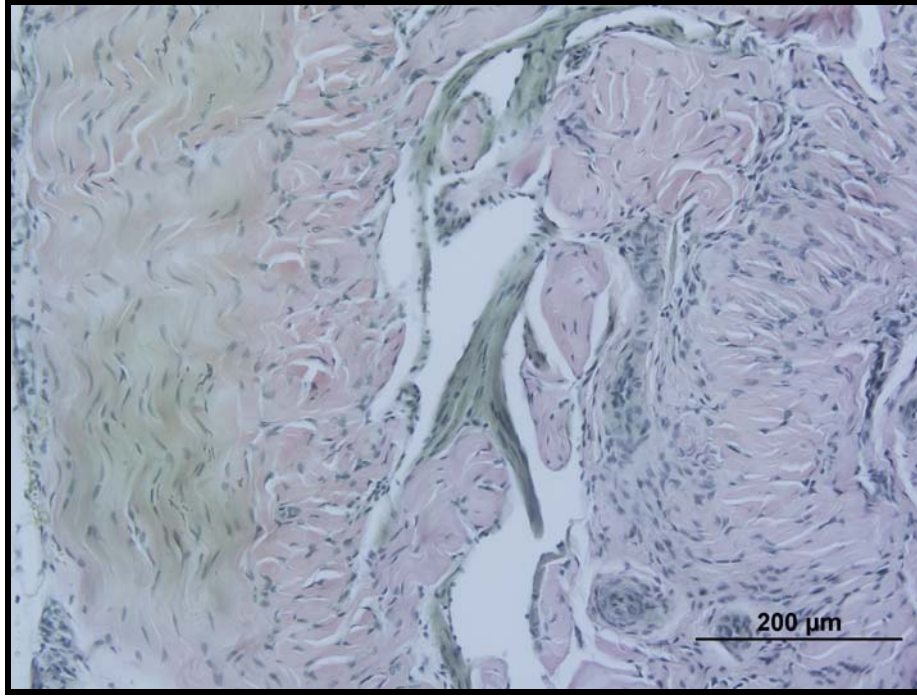
2 hafta LDL grubunda ise kavernoöz trabeküllerde kollagen liflerde 72 saatlik gruba göre asidofilik boyanma artmış olarak gözlemlendi. Bu grupta ayrıca kavernoöz sinüsleri çevreleyen düz kas hücreleri hipertrofik olarak değerlendirildi. (Resim 13,14))



Resim 13: nLDL enjeksiyonundan 2 hafta sonra torakal aorta Mason Trikrom



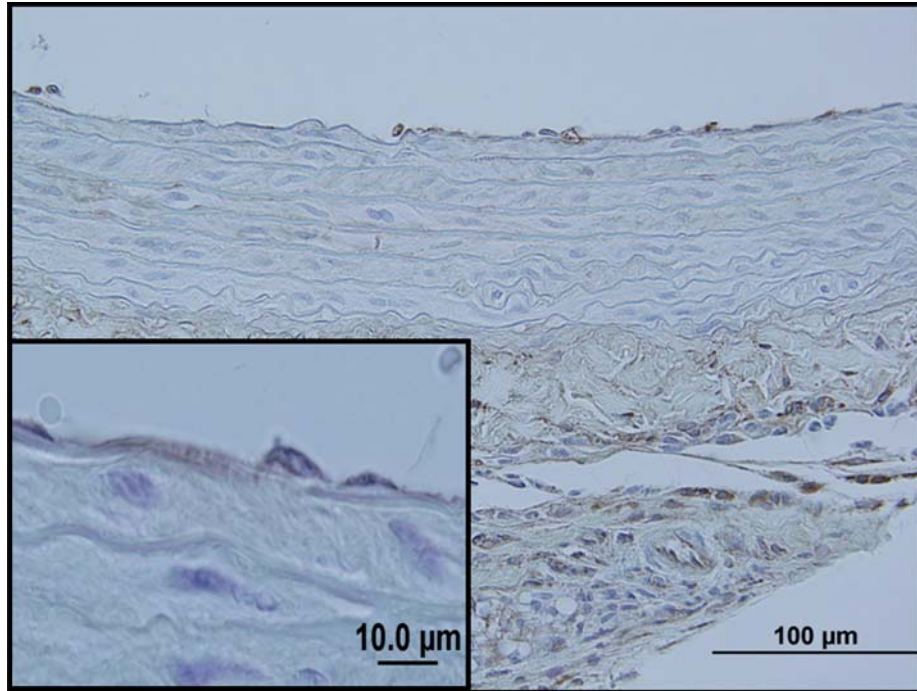
Resim 14: Kavernoöz sinüs duvarı düz kaslarında hipertrofi Mason Trikrom



Resim 15: nLDL enjeksiyonundan 2 hafta sonra kavernöz sinüs Van Gieson

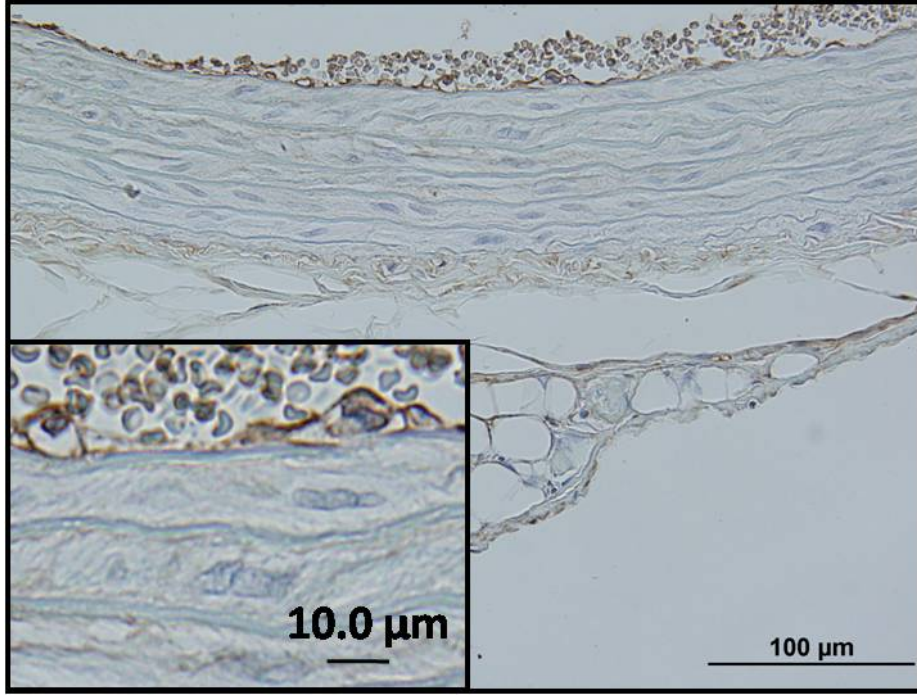
4.4. Torakal aortun immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi

24 saat, 72 saat ve 2 haftalık sham grupları ve 24 saatlik LDL grubundan alınan örneklerde az sayıda endotel hücrelerinde immünohistokimyasal olarak zayıf e-nos tutulumu gözlemlendi.

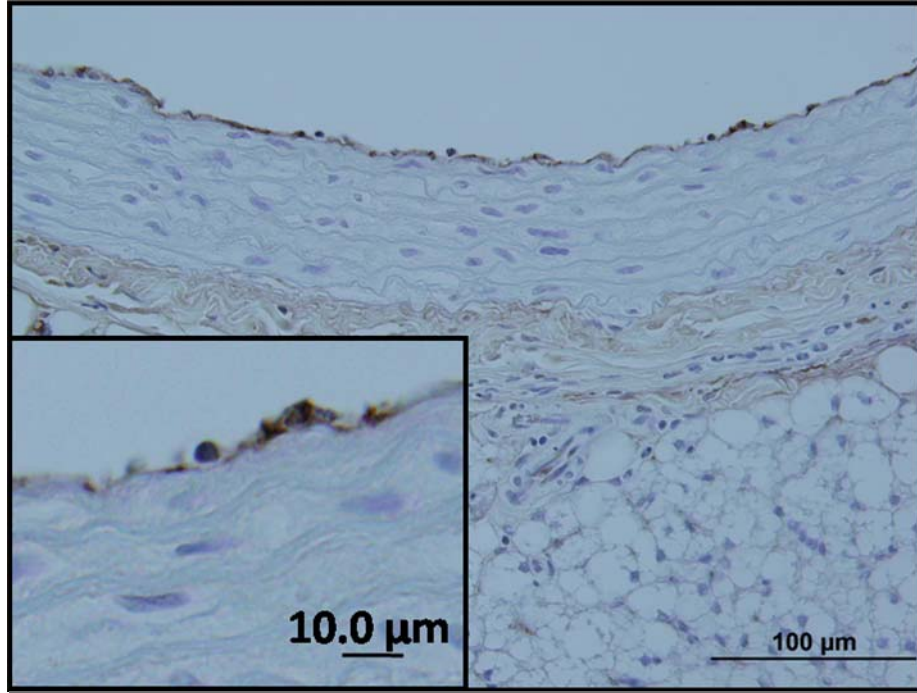


Resim 16: nLDL enjeksiyonundan 24 saat sonra torakal aorta e NOS görünümü

Ancak 72 saatlik LDL grubunda aort endotel hücrelerinin hepsinde e-nos tutulumu gözlemlendi.



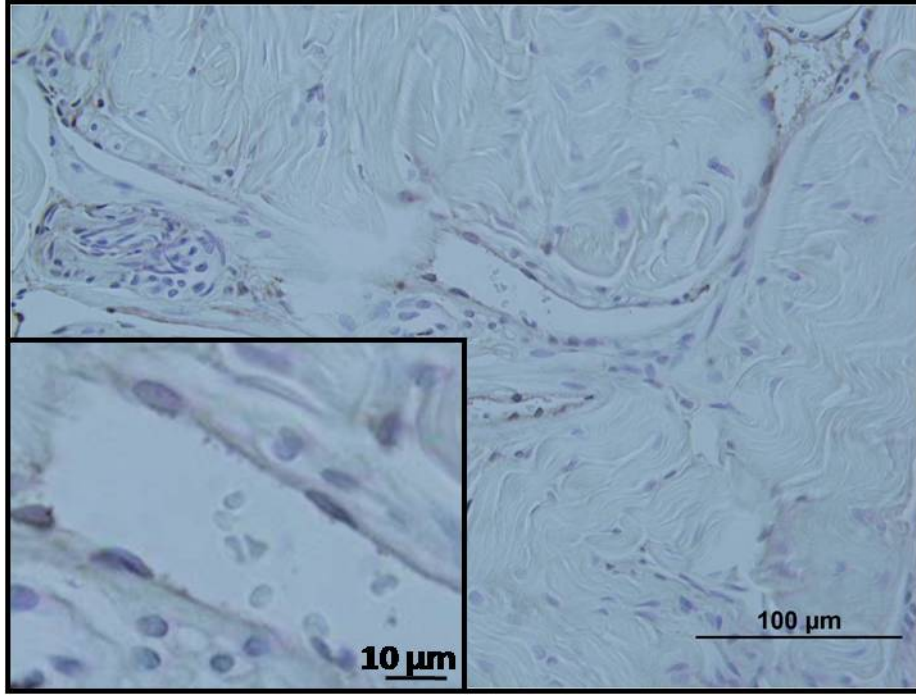
Resim 17: nLDL enjeksiyonundan 72 saat sonra torakal aorta e NOS görünümü
2 haftalık LDL grubunda ise tüm aort endotel hücrelerinin sitoplazmalarında e-nos tutulumu kuvvetli pozitif.



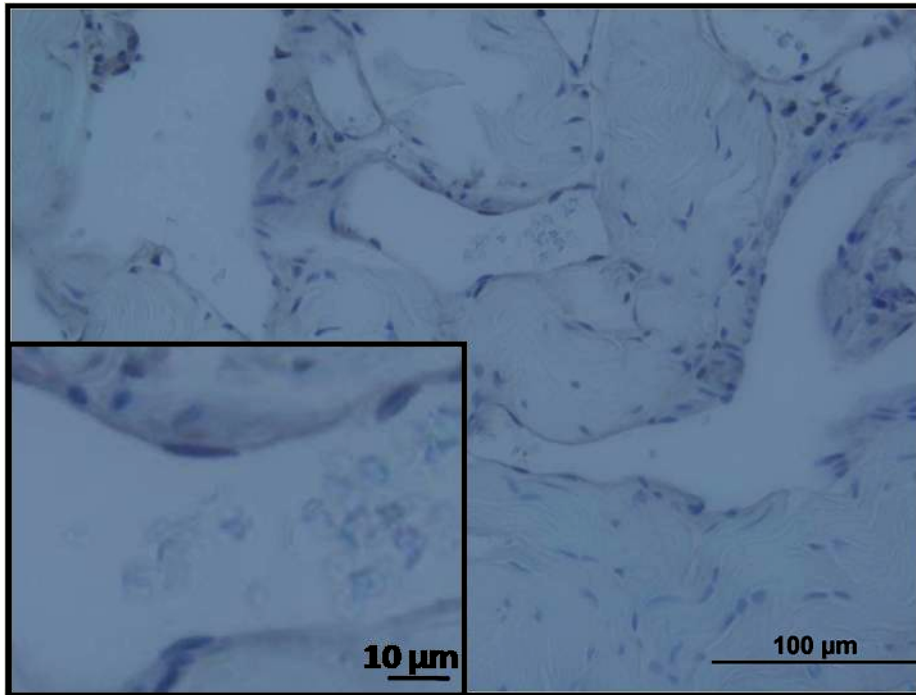
Resim 18: nLDL enjeksiyonundan 2 hafta sonra torakal aorta e NOS görünümü

4.5. Kavernöz dokunun immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi

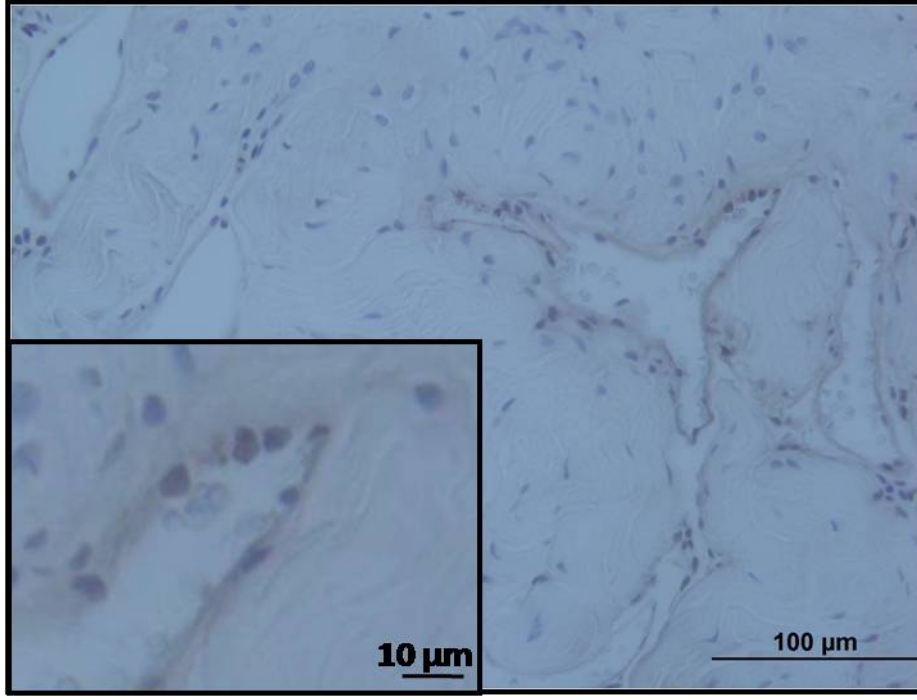
24 saat, 72 saat ve 2 haftalık sham grupları ve 24 saatlik LDL grubundan alınan örneklerde az sayıda endotel hücrelerinde immünohistokimyasal olarak zayıf e-nos tutulumu gözlemlendi. Ancak 72 saatlik LDL grubunda endotel hücrelerinin hepsinde e-nos tutulumu gözlemlendi. 2 haftalık LDL grubunda ise tüm endotel hücrelerinin sitoplazmalarında e-nos tutulumu kuvvetli pozitif idi.



Resim 19: nLDL enjeksiyonundan 24 saat sonra kavernöz doku eNOS görünümü



Resim 20: nLDL enjeksiyonundan 72 saat sonra kavernöz doku eNOS görünümü



Resim 21: nLDL enjeksiyonundan 2 hafta sonra kavernöz doku eNOS görünümü

4. TARTIŞMA

Vasküler endotel, vasküler tonusun düzenlenmesinden, hemostazın sağlanmasından sorumlu parakrin, endokrin ve otokrin bir organdır (1). Endotel hücreleri koagülasyon, trombozis ve fibrinolitik sistemleri düzenlemenin yanı sıra vasküler tonus proliferasyon gibi düz kas hücrelerinin aktivitesini, makromoleküller ve inflamatuvar hücrelerin damar duvarına geçişini kontrol ederler (2). Endotel fizyolojisinde oluşan değişiklikler olarak bilinen endotelyal disfonksiyon aterosklerozun erken dönem bulgusu olarak bildirilmekle birlikte ateroskleroz oluşum süresince devam etmekte ve adezyon faktörleri, inflamatuvar mediatörler ve diğer aterojenik genlerin ekspresyonlarındaki değişikliklerde rol oynamaktadır (79). Sigara, diabet, yüksek seviyedeki plazma lipidleri özellikle LDL endotelyal disfonksiyona neden olan etkenler arasında bulunmaktadır. LDL, permabilite değişiklikleri, hücre adezyonu, nitrik oksit (NO) gibi vazoaaktif maddelerin sekresyonunu indükleyerek etkisini oluşturmaktadır (2).

Penis özelleşmiş vasküler yatak şeklindedir buna bağlı olarak erektil disfonksiyon vasküler orjinlidir (80). Penil ereksiyon için arteriyel vazodilatasyon, trabeküler düz kas gevşemesi venoz çıkışın azalması gerekmektedir. NO ve parasempatik, nonadrenerjik ve nonkolinerjik sinir uçlarından salınan nörotransmitterler aracılığıyla oluşan arteriyel dilatasyon penil ereksiyonda oluşan en önemli olaydır (81, 82). Eretil disfonksiyonlu hastalar kardiyovasküler hastalıklarla hipertansiyon, diabet, lipidemi, hiperkolesterolemi gibi ortak risk faktörlerini taşımaktadır. Aynı faktörler endotel bağımlı gevşemede azalmadan sorumlu endotelyal disfonksiyona da neden olmaktadır(81).Eretil disfonksiyon ve endotelyal disfonksiyonla yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar erektil disfonksiyonun kardiyovasküler hastalıkların erken dönem bulgusu olduğu yönündedir (10, 83).

Eretil disfonksiyon hayat kalitesini önemli oranda etkileyen, atersklerotik vasküler hastalığın genel bir komplikasyonudur. Penil ereksiyonun fizyolojik düzenlenmesinde önemli bir rolü olan NO patofizyolojisindedeki rol üstlenmektedir. NO aktivitesindeki azalma kardiyovasküler risk faktörleri varlığında oluşan vasküler hastalıklarla görülenlerle benzer olabilir (84). Bizde çalışmamızda hiperlipidemiye bağlı olarak sıçan torakal aortunda ve kavernöz dokusunda zaman bağlı olarak oluşan değişikliklerin korelasyonunu değerlendirdik.

Damarlarda hiperlipidemiye bağlı histopatolojik değişikliklerin oluştuğu bildirilmektedir. Juzviak S Ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada tavşanların yüksek oranda yağlı diyetle beslenmesine bağlı olarak torakal aortada patolojik lezyonlar özellikle tunika intimada kalınlaşma gösterildi. Çalışılan örneklerin tüm yüzeylerinde kalınlaşma oluştuğu ve aterom plağında foam hücreleri, lipid depozitleri elastik fibrillerde artış gözlendiği bildirildi. Ayrıca yine aynı çalışmada tunika intimayı kaplayan endotel devamlılığının bozulduğu, tunica intima altındaki ilk elastik membran arasında da foam hücreleri ve lipid depozitleri gözlemlendiği, ve tunica mediada kalınlaşma elastik membranların düzensizleştiği bildirildi(85).

Bizde alışmamızda sıçanlarda yüksek doz LDL enjeksiyonu ile oluşturduğumuz hiperlipidemi modelinde torakal aortada 24 saat ve 72. saat gruplarında sham gruplarına göre farklılık gözlenmezken 2.hafta gruplarında aort elastik lamellerinde dejenerasyon gözlemledik.

Kavernöz dokuda hiperlipidemiye bağlı oluşan histopatolojik değişiklikleri inceleyen çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Yapılan bir çalışmada tavşanlar tek yumurta diyetiyle beslendikten sonra Işık mikroskobu incelemesi sonucunda korpus kavernozumda dağınık yağlı değişiklikler olduğu, vaskler değişiklikler ve fibrzis kalsifikasyon ve nekroz gözlenmediği bildirilmiştir (86).

Biz alışmamızda kavernoöz dokudaki oluşan histopatolojik değişiklikleri zamana göre değerlendirdik. Sonuçlarımıza göre Bizim alışmamızda da 2 haftalık grupta Kavernoöz sinüs periferindeki düz kaslar hipertrofikti, 72 saatlik grupta daha az olmak üzere 2 haftalık grupta trabekül kollagen liflerinde giderek artan asidofilik boyanma kollagen dejenerasyonu olabileceğini düşündürdü. Devam eden hiperkolesteroleminin erektil disfonksiyonun insidans ve ciddiyetini arttırdığı ve diyeti düzenleyerek bunun geriye dönüşümlü olabileceği bildirilmektedir(86).Ancak bizim çalışmamızda erektil dokudaki yapı değişikliğinde geriye dönüşüm gözlenmemekte ve zamana bağlı olarak artmaktadır.

Yüksek lipid profilinin penil ereksiyonu nasıl etkilediği önem verilmesi gereken bir konudur. Kavernoöz dokunun endotele bağlı gevşeme yanıtları asetilkolinin korporal endotelial hücrelerdeki reseptörlerle etkileşerek NO salınımına yol açmasıyla oluşmaktadır. Bu konuda yapılan çalışmalar artan kanıtlar şeklinde hiperlipoproteineminin endotele bağlı gevşeme yanıtlarını bozduğu ve düz kas fonksiyonları üzerinde direk etkisi olduğunu düşündürmektedir(86). Yapılan alışmalar endotelial disfonksiyonun ve hiperkolesteroleminin korpus kavernozum

düz kas hücrelerinde endotel bağımlı gevşemede azalmadan sorumlu olduğunu bildirmektedir(80). Behr-Rousel D ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada fenilefrinle kasılmış korpus kavernozum dokusunda asetilkoline bağılı gevşeme yanıtlarında azalma bildirilmiştir (6). Byrne R ve arkadaşlarının yaptığı izometrik çalışmalarda ise benzer olarak kolesterolle beslenmiş hayvanlarda asetilkolin aracılı endotel gevşeme yanıtının azaldığı bildirilmiştir (82). Bu çalışmalara benzer olarak, organ etkileri düzeyinde hiperlipideminin, kavernöz doku üzerindeki etkisini asetilkoline bağılı gevşeme yanıtıyla değerlendirdiğimizde zamana bağılı olarak gevşeme yanıtlarında azalma saptadık.

Vasküler düz kas gevşemesinde NO'nun önemi büyüktür (81). Artan kanıtlar, antiaterojenik ve vazodilatatör etkilerin e NOS ekspresyonunu ve aktivitesini module ettiğini göstermektedir ve e NOS gen polimorfizimi bir çok kardiyovasküler hastalıkla ilişkilendirilmektedir(87). Hiperkolesterolemik tavşanlarda e NOS aktivitesindeki azalma kavernöz düz kas kasılmasına neden olmaktadır. (80). Ancak bunun öncelikle damarda mı yoksa kavernöz dokuda mı olduğu bilinmemektedir.

Ryu J-K ve arkadaşları hiperkolesterolemik sıçanlarda yaptıkları çalışmayla ,kavernöz anjiogenezi gösteren endotelial bölgeleri değerlendirdiklerinde e NOS'un anlamlı derecede azaldığını bildirmektedirler (80).

Aterosklerotik segmentlerde, birçok bölgede e NOS ekspresyonunda azalma olmaktadır. Özellikle sadece düz kas hücrelerinde değil fibrozis olan ciddi subendotelial lezyonlarda görülmektedir. Aterosklerozun erken dönemlerinde damarların stenotik bölümlerinde e NOS proteininde artış olmaktadır (87).

Çalışmamızda torakal aortaya ait sham grupları ve 24 saatlik grupta çok az sayıda endotel hücrelerinde e NOS zayıf sitoplazmik tutulum şeklindeydi. 72 saatlik grupta tüm endotel hücre sitoplazmaları orta tutulum gösterirken 2 haftalık grupta aort endotel hücrelerinin hepsi kuvvetli sitoplazmik tutulum gösterdi. Tüm gruplara ait bu reaksiyon çeşitliliği vasavasorumların endotel hücrelerinde de aynı kuvvette gözlemlendi.

Sitoplazmik tutulum e NOS'un inaktif olduğunun göstergesidir. Böylece NO salınımı da azalmıştır. NO sentezinin azaldığı durumlarda (damar endotel yapısının bozulduğu gibi) damar endoteline nötrofilik adezyonun inhibisyonu ortadan kalkmıştır(20). Bizim çalışmamızda da nLDL gruplarından alınan kesitlerin çoğunda nötrofilik adhezyon belirgin olarak dikkati çeken bir bulguydu.

Kavernöz dokuda yapılan immunhistokimyasal uygulama sonrasında e NOS'un sitoplazmadaki tutulumunun zamana bağlı olarak giderek arttığı gözlemlendi. NO sentezinden sorumlu olan e NOS endotel hücre membranında bulunduğu aktif formundadır. Endotel hücre membran bütünlüğünü bozan hiperlipidemi gibi durumlarda e NOS sitoplazmaya göç ederek inaktif hale geçmektedir. Sonuçlarımıza göre her iki dokuda da zamana bağlı olarak e NOS'un sitoplazmadaki tutulumu artmaktadır. Bu sonuçlarımız organ banyosunda asetilkoline bağlı gevşeme yanıtlarındaki azalma ile korelasyon göstermektedir.

SONUÇLAR:

Sonuçlarımıza göre; çeşitli histokimyasal yöntemlerle hazırlanarak değerlendirilen gerek aort gerekse kavernöz sinüs dokularında endotel hücreleri ışık mikroskopik olarak herhangi bir histopatolojik bulgu sergilemedi. İmmünohistokimyasal olarak ise nLDL uygulamasından sonra 72 saat ve 2 haftalık gruplarda e NOS tutulumu aortta ve vasavasorum endotel hücrelerinde, kavernöz sinüs endotel hücrelerinde ortadan kuvvetliye giderek artan sitoplazmik tutulum gösterdi.

Sonuç olarak, sıçanlarda oluşturduğumuz hiperlipidemi modelinde torakal aorta ve kavernöz doku değişiklikleri korelasyon göstermektedir. nLDL zamana bağlı olarak aort elastik membranlarında dejenerasyona, kavernöz sinüs düz kaslarında hipertrofiye ve trabeküler bağ dokusunda yer yer asidofilik boyanmaya neden olmaktadır. Bu durumda nLDL her iki dokuda da eNOS'un inaktivasyonuna neden olmaktadır. Ancak bu bulgularımızın desteklenmesi ileri ultrastrüktürel incelemelere gerektirmektedir.

KAYNAKLAR

1. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003 Feb 1; 23(2):168-75.
2. Badimon, L.; Martinez-Gonzalez, J.; LLorente-Cortes, V.; Rodriguez, C.; Padro, T. Cell Biology and Lipoproteins in Atherosclerosis. *Current Molecular Medicine*, Volume 6, Number 5, August 2006, pp. 439-456(18)
3. Duvall WL. Endothelial dysfunction and antioxidants. *Mt Sinai J Med.* 2005 Mar; 72(2):71-80.
4. Nakajima K, Nakano T, Tanaka A. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clinica Chimica Acta* 367 (2006)36-47.
5. Escrig A, Gonzalez- Mora JL, Mas M. Nitric oxide release in penile corpora cavernosa in a rat model of erection. *J Physiol* (1999), 516,261-69.
6. Behr-Roussel D, Bernabe J, Compagnie S, Rupin A, Verbeuren TJ, Alexandre L, Giuliano F. Distinct mechanisms implicated in atherosclerosis-induced erectile dysfunction in rabbits. *Atherosclerosis.* 2002 Jun;162(2):355-62
7. Toda J, Ayajiki K, Okamura T. Nitric oxide and penile erectile function. *Pharm. Therap* 106(2005) 233-266.
8. Dai Q, Silverstein AD, Davies MG, Hagen P, Donattucci CF, Annex BH. Systemic basic fibroblast growth factor induces favorable histological changes in the corpus cavernosum of hypercholesterolemic rabbits. *J Urol* 2003; 170, 664-668.
9. Dean RC, Lue TF. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction. *Urol Clin N Am* 32 (2005) 379-395.
10. Kirby M, Jackson G, Simonsen U. Endothelial dysfunction links erectile dysfunction to heart disease. *Int J Clin Pract* 2005,59,2,225-229.
11. Kaiser DR, Billups K, Mason C, Wetterling R, Lundberg JL. Impaired brachial artery endothelium-dependent and –independent vasodilation in men with erectile dysfunction and no other clinical cardiovascular disease. *JACC* 2004; 43,2:179-84
12. Junqueira LC, Jose C Temel *Histoloji* 2006 (Çeviri: Prof.Dr. Yener AYTEKİN) Nobel Kitabevi S:215-226
- 13- Şan.M Endotel ve Sistemlerimiz 2005 Printaş Basım A.Ş S:2-7
- 14-Torun E., Bayram F., Endokrin Bir Organ olarak Endotel ve Endotelinin Hipertansiyondaki Rolü *Erciyes Tıp Dergisi* 2613.126-131 2004 S: 127
- 15- Christie M.Ballantyne, M.D. James H.O’Keefe, Jr., M.D. Antonio M. Gotto, Jr., M.D., D.Phil. (Çeviri Editörü Prof Dr. Vedat Sansoy) 2006 S:1
- 16- Ersöz M. Dr. Lipoprotein Bozuklukları ve Tedavi Yaklaşımları (Gizben Tanıtım Lmt .Şti.) S: 62-72
- 17- Junqueira LC, Jose C Temel *Histoloji* 2006 (Çeviri: Prof.Dr. Yener AYTEKİN) Nobel Kitabevi S:216
- 18- Junqueira LC, Jose C Temel *Histoloji* 2006 (Çeviri: Prof.Dr. Yener AYTEKİN) Nobel Kitabevi S:208-209
- 19- Paker Ş. *Histoloji* S:78
- 20- Şan M. Endotel ve Sistemlerimiz 2005 Bölüm-1 S:7
- 21-Dzau VJ. Tissue Angiotensin and Pathobiology of Vasculer Disease. *A Unifying Hypothesis Hypertension* 2001 ;37 :1047-1052
- 22- Palmer RM, Ashton DS, Moncada S: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988; 333: 664–666

- 23- Arnold WP, Mittal CK, Katsuki S, Murad F: Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3', 5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74: 3203–3207
- 24- Weksler BB, Marcus AJ, Jaffe EA: Synthesis of prostaglandin I₂ (prostacyclin) by cultured human and bovine endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74:3922–3926
- 25- Garland CJ, Plane F, Kemp BK, Cocks TM: Endothelium-dependent hyperpolarization: a role in the control of vascular tone. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16:23–30
- 26- Simari RD, San H, Rekhter M, Ohno T et al: Regulation of cellular proliferation and intimal formation following balloon injury in atherosclerotic rabbit arteries. *J Clin Invest* 1996; 98: 225–235
- 27- Levin ER: Endothelins. *N Engl J Med* 1995; 333: 356–363.
- 28- Haynes WG, Webb DJ: Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet* 1994; 344: 852–854.
- 29- Pigazzi A, Heydrick S, Folli F, Benoit S et al. Nitric oxide inhibits thrombin receptor-activating peptide-induced phosphoinositide 3-kinase activity in human platelets. *J Biol Chem* 1999; 274: 14368–14375
- 30- Freiman PC, Mitchell GG, Heistad DD, Armstrong ML et al. Atherosclerosis impairs endothelium-dependent vascular relaxation to acetylcholine and thrombin in primates. *Circ Res* 1986; 58: 783–789.
- 31- Cooke JP, Singer AH, Tsao P, Zera P et al. Antiatherogenic effects of L-arginine in the hypercholesterolemic rabbit. *J Clin Invest* 1992; 90: 1168–1172.
- 32- Zeiher AM, Drexler H, Saurbier B, Just H: Endothelium-mediated coronary blood flow modulation in humans: effects of age, atherosclerosis, hypercholesterolemia and hypertension. *J Clin Invest* 1993; 92: 652–662.
- 33- Adams MR, Robinson J, McCredie R, Seale JP et al. Smooth muscle dysfunction occurs independently of impaired endothelium-dependent dilation in adults at risk of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 123–127.
34. Cernacek P, Stewart DJ: Immunoreactive endothelin in human plasma: marked elevations in patients in cardiogenic shock. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 161:562–567.
- 35- Shichiri M, Hirata Y, Ando K, Emori T, Ohta K, Kimoto S, Ogura M, Inoue A, Marumo F: Plasma endothelin levels in hypertension and chronic renal failure. *Hypertension* 1990; 15: 493–496.
- 36- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-142.
- 37-M. Ballantyne, MD. James H.O'Keefe, JR. M Dantonio, M. Gotto, JR., M DD.Phill. Dislipideminin Temel İlkeleri Çeviri Dr. Vedat SANSOY 2006
- 38-Cem HEPER MD. Multidisipliner Kardiyoloji 2002 Nobel Tıp Kitap Evi
- 39- ŞAN.M Prof.Dr. Endotel ve Sistemlerimiz 2005 Printaş Basım A.Ş Bölüm 6 S:127
- 40- Herbert C. Stryer. Natural History and Histological Classification of Atherosclerotic Lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 2000, 20: 1177–1178
- 41- Mendelsohn ME, Karas RH.The protective effects of estrogen on the cardiovascular system.*N Engl J Med.*; 1999 Jun 10, 340(23):1801-1811.
- 42- Schieken RM.The management of the family at high risk for coronary heart disease. *Cardiol Clin.*; 1989 May; 7(2):467-77,
- 43- Türk kardiyoloji derneği. Koroner kalp hastalığından korunma ve tedaviye ilişkin ulusal kılavuz. III. Baskı, 1998.

- 44- Cox D.A. and Cohen M.L.: Effects of oxidized low density lipoprotein on vascular contraction and relation. Clinical and Pharmacological implications in atherosclerosis, Pharmacological Review, 1996; 48 (1), 3-15.
- 45- Goodman and Gilman's ; The pharmacological Basis of Therapeutics, 10 ed, Hardman G,J. And Limbird L.E.2001
- 46- Alison Blair, Philip W. Shaul, Ivan S. et al. Smart: Oxidized Low Density Lipoprotein Displaces Endothelial Nitric-oxide Synthase (eNOS) from Plasmalemmal Caveolae and Impairs eNOS Activation. The Journal Of Biological Chemistry; 1999Vol. 274, No. 45, Issue of November 5, pp. 32512–32519
- 47- Kubes P, Suzuki M, Granger DN: Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. Proc Natl Acad Sci USA: 1991; 88: 4651–4655.
- 48- De Caterina R, Libby P, Peng HB, Thannickal VJ et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. J Clin Invest, 1995; 96: 60–68.
- 49-Marks DS, Vita JA, Folts JD, Keaney JF Jr et al. Inhibition of neointimal proliferation in rabbits after vascular injury by a single treatment with a protein adduct of nitric oxide. J Clin Invest 1995; 96: 2630–2638
- 50- Grag UC, Hassid A: Nitric oxide (NO) and 8-bromo-cyclic GMP inhibits mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. J Clin Invest 1989, 83: 1974–1978.
- 51- Fukuo K, Inoue T, Morimoto S, Nakahashi T et al. Nitric oxide mediates cytotoxicity and basic fibroblast growth factor release in cultured vascular smooth muscle cells. J Clin Invest , 1995; 95: 669–672
- 52- Mendelsohn ME, O'Neill S, George D, Loscalzo J: Inhibition of fibrinogen binding to human platelets by S-nitroso-N-acetylcysteine. J Biol Chem 1990; 265:19028–19034.
- 53- Stamler JS, Vaughan DE, Loscalzo J: Synergistic disaggregation of platelets by tissue-type plasminogen activator, prostaglandin E1, and nitroglycerin. Circ Res 1989; 65: 796–804
- 54- Simari RD, San H, Rechter M, Ohno T et al: Regulation of cellular proliferation and intimal formation following balloon injury in atherosclerotic rabbit arteries. J Clin Invest 1996; 98: 225–235.
- 55- Garcia-Cardena F, Fan R, Stern DF, Liu J et al: Endothelial nitric oxide synthase is regulated by tyrosine phosphorylation and interacts with caveolin-1. J Biol Chem 1996; 271: 27237–27240.
- 56- Rubanyi GM: The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. J Cardiovasc Pharmacol 1993; 22: S1–S14.
- 57- Adams MR, Kinlay S, Blake GJ, Orford JL et al: Atherogenic lipids and endothelial dysfunction: mechanisms in the genesis of ischemic syndrome. Annu Rev Med 2000; 51: 149–167.
- 58- Kumar Cotron Robins Basic Pathology Çeviri. Prof.Dr. Uğur ÇEVİKBAŞ Temel Patoloji S.282-286
- 59- Fishman AP: Endothelium: a distributed organ of diverse capabilities. Ann NY Acad Sci 1982; 401: 1–8.
- 60-Kuehel Color Atlas of cytology, histology and microscopic anatomy 2003 S.
- 61- Moncada S, Higgs EA. Molecular mechanisms and therapeutic strategies related to nitric oxide. FASEB J 1995; 9: 1319-1330.
- 62- Burnett al, Lowenstein Cj, Bredt DS, Chang TS et al. Nitric oxide: a physiologic mediator of penile erection. Science 1992; 257: 401-403.

- 63- Burnett AI, Tillman SL, Chang TSK, Epstein JI, Lowenstein CJ, Bredt DS, Snyder SH, Walsh PC. Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the autonomic innervation of the human penis. *J Urol* 1993; 150: 73-76.
- 64- Celtek S, Moncada S. Modulation of noradrenergic responses by nitric oxide from inducible nitric oxide synthase. *Nitric Oxide*, 1997; 1: 204-210.
- 65- Hedlund P, Ny L, Alm P, Andersson KE. Cholinergic nerves in human corpus cavernosum and spongiosum contain nitric oxide synthase and heme oxygenase. *J Urol*, 2000; 164: 868- 875.
- 66- Ignarro LJ, Bush PA, Buga Gm, Wood KS, Fukoto JM, Rajfer J. Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990; 170:843-850.
- 67- Leone Am, Wiklund NP, Hokfelt T, Brundin L, Moncada S. Release of nitric oxide by nerve stimulation in the human urogenital tract. *Neuroreport*, 1994; 5: 733-736.
- 68- Holmquist F, Stief CG, Jonas U, Andersson KE. Effects of the nitric oxide synthase inhibitor NG-nitro-L-arginine on the erectile response to cavernous nerve stimulation in the rabbit. *Acta Physiol Scand*, 1991; 143: 299-304.
- 69- Finberg JP, Levy S, Vardi Y. Inhibition of nerve stimulation-induced vasodilatation in corpora cavernosa of the pithed rat by blockade of nitric oxide synthase. *Br J Pharmacol*, 1993; 108: 1038-1042
- 70- Rees DD, Palmer RM, Moncada S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989; 86: 3375-3378.
- 71- Hurt KJ, Musicki B, Palese MA, Crone JK, Becker RE, Moriarty JL, Snyder SH, Burnett AL. Akt-dependent phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase mediates penile erection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 4061-4066.
- 72- Hobbs AJ. Soluble guanylate cyclase: the forgotten sibling. *Trends Pharmacol Sci*, 1997; 18: 484-491
- 73- Bush PA, Gonzalez NE, Ignarro LJ. Biosynthesis of nitric oxide and citrulline from L-arginine by constitutive nitric oxide synthase present in rabbit corpus cavernosum. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992; 186: 308-314.
- 74- Dahiya R, Trigo-Rocha F, Brock G, Narayan P, Lue TF. Sodium nitroprusside and neurostimulation cause increased levels of cyclic guanosine monophosphate and not cyclic adenosine monophosphate during canine penile erection. *Biochem Mol Biol Int*, 1993; 29: 167-173
- 75- Celtek S, Kasakov L, Moncada S. Inhibition of nitrenergic relaxations by a selective inhibitor of the soluble guanylate cyclase. *Br J Pharmacol*, 1996; 118: 137-140.
- 76- Celtek S, Moncada S. Nitrenergic control of peripheral sympathetic responses in the human corpus cavernosum: a comparison with other species. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997; 94: 8226- 8231.
- 77- Paul, B., Masih, I., Deopujari, J., and Charpentier, C. Occurrence of resveratrol and pterostilbene in age-old darakchasa, an Ayurvedic medicine from India. *J. Ethnopharmacol.* 1999; 68, 71–76.
- 78- Jiang JL, Li NS, Li YJ, Deng HW. Probuocol preserves endothelial function by reduction of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor level. *Br J Pharmacol*. 2002 Mar; 135(5):1175-1182)
- 79- Turk JR, Henderson KK, Vanvickle GD, Watkins J, Laughlin MH. Arterial endothelial function in a porcine model of early stage atherosclerotic vascular disease. *Int J Exp Pathol.* 2005 Oct;86(5):335-45.

80- Ryu JK, Cho CH, Shin HY, Song SU, Oh SM, Lee M, Piao S, Han JY, Kim IH, Koh GY, Suh JK. Combined angiotensin-1 and vascular endothelial growth factor gene transfer restores cavernous angiogenesis and erectile function in a rat model of hypercholesterolemia. *Mol Ther*. 2006 Apr;13(4):705-15.

81- Waldkirch E, Uckert S, Yildirim H, Sohn M, Jonas U, Stief CG, Andersson KE, Hedlund P. Cyclic AMP-specific and cyclic GMP-specific phosphodiesterase isoenzymes in human cavernous arteries--immunohistochemical distribution and functional significance. *World J Urol*. 2005 Dec;23(6):405-10. Epub 2005 Nov 15.

82- Byrne RR, Henry GD, Rao DS, Huynh TT, Phippen AM, Annex BH, Hagen PO, Donatucci CF. Vascular endothelial growth factor restores corporeal smooth muscle function in vitro. *J Urol*. 2001 Apr;165(4):1310-5.

83- Jackson G. Erectile dysfunction: a marker of silent coronary artery disease. *Eur Heart J*. 2006 Nov;27(22):2613-4.

84- Escrig A, Gonzalez-Mora JL, Mas M. Nitric oxide release in penile corpora cavernosa in a rat model of erection. *J Physiol*. 1999 Apr 1;516 (Pt 1):261-9.

85- Juźwiak S, Wójcicki J, Mokrzycki K, Marchlewicz M, Białecka M, Wenda-Różewicka L, Gawrońska-Szklarz B, Droździk M. Effect of quercetin on experimental hyperlipidemia and atherosclerosis in rabbits. *Pharmacol Rep*. 2005 Sep-Oct;57(5):604-9.

86- B Srilatha, PG Adaikan*, SC Ng and S Arulkumaran. Elevated low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) enhances proerectile neurotransmission in the corpus cavernosum. *International Journal of Impotence Research* (1999) 11, 159-165.

87- Liang Y, Fang M, Li J, Yew DT. Immunohistochemical localization of endothelial isoform (eNOS) in human cerebral arteries and the aorta. *Int J Neurosci*. 2006 Dec;116(12):1403-17.