

49752

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

İZOLE TAVŞAN KORPUS KAVERNOZUMUNDA ADRENERJİK, KOLİNERJİK
VE NON-ADRENERJİK NON-KOLİNERJİK CEVAPLAR ÜZERİNDE UZUN
SÜRELİ TESTOSTERON KULLANIMININ ETKİLERİ

49152

DOKTORA TEZİ

Araş. Gör. Dr. Şahin YILDIRIM

Danışman Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Yusuf SARIOĞLU

SİVAS-1996



**Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosunun 05.01.1984 tarih ve 84/1
No'lu kararı ile kabul edilen tez yazma yönergesine göre hazırlanmıştır.**



TEŐEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında ve yetişmemde büyük emeği geçen değerli hocam Prof.Dr.Yusuf SARIOĞLU'na teŐekkür ederim.

Ayrıca, tez çalıŐmam sırasındaki katkılarından dolayı bölüm arkadaşlarım Yrd.Doç.Dr.Tijen UTKAN'a, Yrd.Doç.Dr.Tijen KAYA'ya, Yrd.Doç.Dr. A.Serdar SOYDAN'a ve Araş.Gör.Dr.Kemal YILDIRIM'a ve Merkezi Araştırma ve Deney Hayvanları Laboratuvar'ından Veteriner Hekim Yücel YALMAN'a teŐekkür ederim.

KISALTMALAR

| | |
|----------------|--|
| NANK | (Non-adrenerjik non-kolinerjik) |
| VIP | (Vazoaktif intestinal peptit) |
| EDRF | (Endotel kaynaklı gevşetici faktör) |
| NO | (Nitrik oksit) |
| L-NMMA | (L-N monometil arginin) |
| L-NOARG | (L-N nitroarginin) |
| EAU | (Elektriksel alan uyarısı) |
| NOS | (Nitrik oksit sentaz) |
| L-NNA | (N-nitro-L-arginin) |
| SIN-1 | (Linsidomin) |
| ET | (Endotelin) |
| L-NAME | (N ^G -nitro-L-arginin metilester) |
| DHT | (Dihidrotestosteron) |

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa No |
|---|----------|
| BÖLÜM I GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| BÖLÜM II GENEL BİLGİLER | 4 |
| II-1-Penis Erektıl Dokusu..... | 4 |
| II-2-Anatomi..... | 6 |
| II-3-Penis Ereksiyonunun Mekanizması..... | 6 |
| II-4-Aktivasyon Mekanizmaları..... | 7 |
| A-Miyojenik Aktivite..... | 7 |
| B-Adrenerjik Mekanizmalar..... | 8 |
| C-Kolinerjik Mekanizmalar..... | 9 |
| D-Non-Adrenerjik Non-Kolinerjik Mekanizmalar..... | 11 |
| II-5-Aktivasyon Mekanizmalarının İnhibisyonu..... | 16 |
| II-6-Sekstüel Hormonların Etkileri..... | 18 |
| BÖLÜM III ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMLER | 20 |
| III-1-Anestezi..... | 20 |
| III-2-İzole Tavşan Korpus Kavernozum Preparatlarının İnvitro Deneylere Hazırlanışı | 21 |
| III-3-Kasılma Cevapları..... | 22 |
| III-4-Gevşeme Cevapları..... | 23 |
| III-5-Deneyde Kullanılan Besleyici Solüsyon ve İlaçlar | 23 |
| III-6-Deney Sonuçlarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemler | 24 |
| BÖLÜM IV BULGULAR | 25 |
| IV-1-KCl Kasılma Cevapları..... | 25 |
| IV-2-Fenilefrin Kasılma Cevapları..... | 25 |
| IV-3-Karbakol Gevşeme Cevapları..... | 26 |
| IV-6-Elektriksel Alan Uyarısıyla Oluşturulan Gevşeme Cevapları..... | 28 |
| IV-5-Sodyum-Nitroprusiat Gevşeme Cevapları..... | 29 |
| BÖLÜM V TARTIŞMA VE SONUÇ | |
| ÖZET | 42 |
| KAYNAKLAR | 49 |

BÖLÜM I

GİRİŞ VE AMAÇ

Penis korpus kavernozum düz kas tonüsünü kontrol eden, adrenerjik, kolinerjik ve non-adrenerjik non-kolinerjik (NANK) olmak üzere üç nöroefektör sistem vardır(1,2). Penis ereksiyonu psikolojik faktörler, arteriyel, venöz, hormonal ve nörolojik faktörlerin etkileşmesi sonucu oluşan kompleks bir olaydır. Penis ereksiyonundaki en önemli hemodinamik olay, penis kan akımında artma ve buna bağlı olarak damar direncindeki azalmadır (3-5).

Korpus kavernozum trabeküler düz kasındaki adrenerjik sinirler insan ve maymunlarda histokimyasal olarak gösterilmiştir (6-10). Genellikle kabul edildiği gibi flaccid durumda penis düz kasları kasılıdır. Bu da esas olarak düz kaslı yapılar üzerindeki adrenerjik sinir uçlarından salıverilen noradrenalinin postsinaptik α -adrenoreseptörler üzerindeki etkisine bağlıdır. Penis damar ve korpus kavernozum düz kaslarının kasılı durumunu etkileyen miyojenik aktivite ve diğer kasıcı faktörler (prostanoidler, endotelinler gibi) yanında adrenerjik aktiviteninde önemli bir katkısı olduğu düşünülmektedir (1,10).

Korpus kavernozum dokusunda noradrenalin ve fenilefrin, kasılmaya neden olur. Kavernoöz dokudaki bu etkiye α adrenoseptör alt tiplerinin aracılık edebileceği bildirilmiştir. α_1 adrenoseptör agonisti fenilefrin ve α_2 adrenoseptör

agonisti klonidin, trabeküler dokuyu kasarlar (7,11-20). Noradrenalin ile kastırılmış trabeküler dokuyu α_1 adrenoseptör blokörü prazosin gevşetirken, α_2 adrenoseptör blokörleri rovolisin ve yohimbin gevşetmemiştir (1,13,18).

Hayvanlarda ve insanlarda yapılan çalışmalar, ereksiyonun sakral parasempatik yol aracılığı ile oluştuğunu göstermiştir (21). Ayrıca, radyoligant bağlama çalışmaları ile insan korpus kavernozum dokusunda muskarinik reseptörlerin varlığı gösterilmiştir (22,23). Bazı araştırmacılar, karbakol ve asetilkolinin, noradrenalin ile kastırılmış korpus kavernozum ve spongiozum preparatlarında gevşeme oluşturduğunu göstermişlerdir. Her iki dokuda da bu gevşetici etkinin, skopolamin ile bloke edilebildiği ve bu etkinin muskarinik reseptörler aracılığı ile olduğu gösterilmiştir (9,13,24,25)

Organik impotensli hastalarda, penis vazoaktif intestinal peptid (VIP) içeriğinin kontrollerden daha az olduğunun radyoimmünoessey ile gösterilmesi, diabetli hastalarda da penisdeki VIP'erjik aksonların azaldığının bulunması, ereksiyonun oluşmasında VIP'in ana nörotransmitter olduğunu düşündürmüştür (26,27). Bununla birlikte son çalışmalar, kavernoöz düz kası ile sinüzoid endotel hücreleri arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermiştir. Endotelyal hücrelerden, çeşitli dokularda, bir endotelyal kaynaklı gevşetici faktörün (EDRF) salgılandığı gösterilmiştir. Nitrik oksit (NO) olarak tanımlanan bu EDRF'nin sentezi, L-N-monometil arginin (L-NMMA) ve L-N-nitroarginin (L-NOARG) gibi L-arginin analoglarınca bloke edilmiştir. Ayrıca ekzojen verilen asetilkolinin gevşetici etkisinin, bu NO sentez inhibitörlerince bloke edildiği gösterilmiştir. Nörojenik olarak oluşturulmuş gevşemelere, esas olarak NO yada L-argininden oluşan NO benzeri bir maddenin aracılık edebileceği ileri sürülmüştür (28-31).

Penis ereksiyonunun oluşmasında, testosteron gibi androjenik steroidlerin de katkısının olabileceği düşünülmektedir. Testosteronun önemli fizyolojik

görevi, erkekte seks karakterlerinin gelişmesini ve sürdürülmesini sağlamaktır. Buna ilave olarak anabolik etkisi de bulunmaktadır. Erkeklerde libido (seksüel ilgi) ve seksüel davranış plazma testosteron düzeyleri ile ilişkili olmakla birlikte, normal seksüel ilgi ve aktivite için androjenlerin yeri kesin olarak bilinmemekte ve optimal fonksiyon için gerekli androjen miktarı kişiden kişiye değişmektedir (32). Erektile disfonksiyonu olan ve serum testosteron düzeyleri düşük bulunan bazı hastalarda, androjenle yerine koyma tedavisinden sonra erektil disfonksiyonlarda düzelme olduğu bildirilmiştir (32-35). Testosteronun bazı otonomik reseptörlerin dansitesi üzerinde çeşitli etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (36). Sıçanda serebral korteks ve ön hipofizde testosteron uygulanması, β reseptör dansitesini azaltırken, kastrasyon beta adreno reseptör dansitesini artırmıştır (36). Buna karşın böbrek ve overlerde testosteronun, β reseptör dansitesini artırdığını göstermişlerdir (36).

L-arginin/NO sisteminin, seks hormonları da dahil olmak üzere çeşitli faktörler tarafından etkilendiği gösterilmiştir (37). Penis erektil dokusundaki L-arginin/NO sistemi, seks hormonları tarafından etkilense de, bu hormonların etki yeri ve rolü henüz tam olarak bilinmemektedir (37). Buna karşılık testosteronun, seksüel davranışın kontrolündeki etki yerinin beyinde olduğu ve bunun ön beyinde yer alan anterior hipotalamik preoptik alan olduğu tanımlanmıştır (33). Kastre sıçanlarda, bu anterior hipotalamik preoptik alana testosteronun verilmesinin şiddetli seksüel davranışa neden olduğu ve testosteron etkisi için gerekli reseptörlerin çoğunu içerdiği tahmin edilmektedir (33).

Bu çalışmada, uzun süreli testosteron kullanımından sonra izole tavşan korpus kavernozumunda adrenerjik, kolinerjik ve nonadrenerjik nonkolinerjik (NANK) yanıtlar üzerindeki değişikliklerin araştırılması amaçlanmıştır.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

II-1-Penil Erektıl Dokusu

Ereksiyonda, sadece penis damarlanmasının değil, korporeal düz kaslarının da rolünün olduğunun düşünülmesi, erektil bozukluğun tedavisinde intrakorporeal tedavinin önemli olduğu sonucunu doğurmuştur (11,13,17,25,38-40).

İzole penis erektil doku ve arterlerinde, ilaçların etkisini ve nörotransmisyonu çalışmak için helisin arterler, derin dorsal penis arteri, korpus kavernozum, korpus spongiozum, helisin veni ile sirkumfleksis venleri kullanılmıştır (11,12,16,25,41).

İnsan penis erektil dokusunun elde edilmesinin sınırlı olması, nedeniyle insan dokusunda gösterilmiş mekanizmaların analizini yapmak için izole tavşan korpus kavernozum dokusu kullanılmıştır. Ayrıca diğer türlerin (köpek, sıçan, maymun v.b.) kullanımı ile de benzer bulgular elde edilmiştir (42-44).

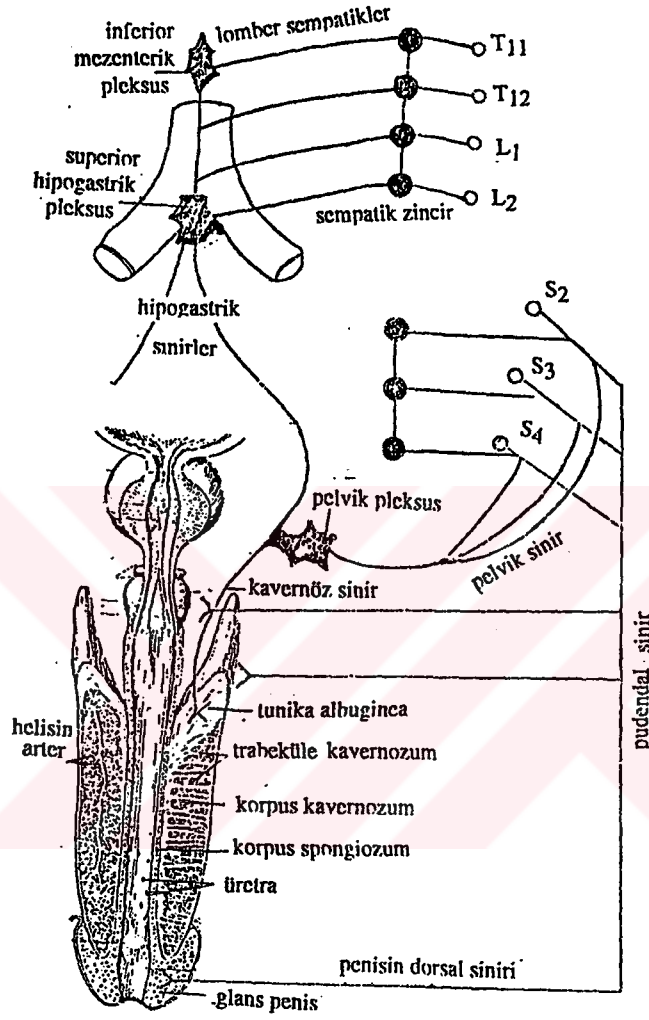
II-2-Anatomi

Penis, iki korpus kavernozum ve bir korpus spongiozumdan oluşur. Korpus kavernozumlar penis dorsalinde yer alırlar. Korpus spongiozum ise distalde glans penis olarak başlar ve penisin ventral yüzünde korpus kavernozumlar arasında seyreder. Korpus spongiozum içinden uretra geçer. Herbir korpus kavernozum tunika albuginea adlı kollajen liflerden zengin, elastik liflerden fakir bir kılıfla sarılıdır. Sinüzoidler düzensiz yapıda boşluklar olup, düz kas demetleri, elastik ve kollajen lifler, çok sayıda arteriol ve sinir içeren trabeküllerden oluşmuştur(45).

Penis, penil arterin terminal dallarıyla beslenir. Herbir yanda bulboüretal, dorsal ve kavernoöz arterleri verir. Ereksiyonun fizyolojisindeki en önemli arter kavernoöz arterdir. Korpus kavernozumlar içine tunika albuginayı delerek girer ve birçok dallara ayrılır. Bunlara helisin arterler denir. Bunlarda çok sayıda ince dallara ayrılır ve endarterleri oluştururlar. Penisin venöz drenajı derin dorsal ven içine olur (46). Penisin üç türlü innervasyonu vardır. Sempatik sinirleri T₁₁-L₂ seviyesinden, parasempatik lifler S₂-S₄ seviyesinden ve somatik sinirlerini nervus pudendalisten alır (21,46, Şekil 1).

II-3-Ereksiyonunun Mekanizması

Ereksiyon, santral sinir sistemi ile lokal faktörler arasındaki kompleks bir etkileşme sonucu oluşur (4). Penis ereksiyonundaki en önemli hemodinamik olay, damar direncindeki azalma ve buna bağlı olarak penis kan akımındaki artıştır (3-5). Penis normalde sempatik sistemin etkinliğinden dolayı gevşektir ve penil arteriol ve sinüzoidlerin düz kasları kasılıdır. Bu safhada korpus kavernozumuna sadece metabolik faaliyetlere yetecek kadar kan gider. Kanın sinüzoidlerden dışarı çıkışı subtunikal ventüllerden, emisleri venlere doğrudur. Ereksiyon sırasında



Şekil 1: Penisin anatomisi ve innervasyonu

parasempatik sinir aktivitesine bağlı olarak arteriyel ve sinüzoidlerin düz kaslarında gevşeme olur. Sonuçta direnç düşer ve arteriyel kan akımı artar. Sinüzoidlerin genişlemesi ile venüller, sinüzoid duvarı ve genişleme kapasitesi az olan tunika albuginea arasında sıkışır. Veno-oklüziv mekanizma olarak bilinen bu olay, venöz dışı akımı azaltır ve ereksiyon oluşur. Ereksiyonun sonunda helisin arteriyol ve sinüzoidlerdeki düz kasların tonusu artar. Sonuçta arteriyel akım azalır, sinüzoidler küçülür, venöz obstrüksiyon ortadan kalkar ve penis gevşek duruma geri döner (4).

II-4-Aktivasyon Mekanizmaları

A-Miyojenik aktivite

İnsan korpus kavernozum şeritlerinde spontan kontraktıl aktivitenin varlığı invitro çalışmalarla gösterilmiştir. Spontan aktivitenin, deneysel yaklaşıma ve preparatın hazırlanmasındaki farklılıklara bağlı olarak bunun değişebileceği bildirilmiştir (12,13,18,42,47,48).

Spontan aktivitenin, tetradotoksin, atropin yada fentolamin tarafından etkilenmemesi; ekstrasellüler kalsiyumsuz ortamda, kalsiyum kanal blokörleri ve K^+ kanal açıcısı pinasidilin ilavesiyle ortadan kalkması, miyojenik aktivite görüşünü desteklemektedir (47,49). Prostaglandin sentez inhibitörlerinin de spontan aktiviteyi ve bazal tonusu önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (50). Bu da, spontan aktivitenin oluşmasında ve devamında, stabil bir siklooksijenaz ürününün rolü olabileceğini göstermektedir. Spontan kontraktılitenin fizyolojik önemi henüz bilinmemektedir.

B-Adrenerjik Mekanizmalar

Korpus kavernozum trabeküler düz kasındaki, adrenerjik sinirler, insan ve maymun da histokimyasal olarak gösterilmiştir (7,9,51,52). Ayrıca radyoligant bağlama çalışmaları ile insan korpus kavernozumunda alfa ve beta adrenoseptörler saptanmıştır (53). Flasiit durumunda penis düz kasları kasılıdır. Bu da esas olarak düz kaslı yapılardaki adrenerjik sinir uçlarından salıverilen noradrenalinin etkisine bağlıdır (10). Helisin ve kavernoöz arterioller içinde de adrenerjik sinirlerin olduğunu gösterilmiştir (6-9).

α -Alfa-adrenoseptörler

Noradrenalin ve fenilefrin izole insan korpus kavernozum, spongiozum, penis arter ve ven preparatlarında konsantrasyona bağlı kasılmalara neden olur (7,11,12,14-20). Bu kasılma cevapları alfa adrenoseptör blokörleri tarafından bloke edilmiştir (7,11,13,54). Korpus kavernozum dokusu striplerinin elektriksel olarak uyarılması frekansa bağlı kasılmalar oluşturmuş ve bunlar alfa adrenoseptör blokörleri tarafından önlenmiştir (13). Elektriksel alan uyarısı (EAU) ve eksojen noradrenalin tarafından oluşan bu kasılmalar prazosin tarafından bloke edilmiştir (13,17). Bu da kasılmaların postsinaptik α_1 adrenoseptörler tarafından oluştuğu görüşünü desteklemektedir (13,24). α_1 adrenoseptör agonisti fenilefrin ve α_2 adrenoseptör agonisti klonidin, trabeküler dokuyu kasmışlardır. Klonidin, trabeküler dokuda fenilefrin ve noradrenaline göre zayıf etki göstermesine rağmen kavernoöz arterler de daha güçlü etki göstermiştir (13,15,18).

İnsan kavernoöz dokusunda α_1 adrenoseptörlerin, kavernoöz arterlerde ise α_2 adrenoseptörlerin, yoğunluğunun daha fazla olduğu ileri sürülmüştür (13,18) İnsan korporeal dokusunda her üç α_1 reseptör alt tipine ait mRNA'lar (α_{1A} , α_{1B} , α_{1C}) saptanmıştır (55). Korpus kavernozum içine penis ereksiyonu esnasında bir

alfa adrenoseptör agonistinin injeksiyonu detümensle sonuçlanmıştır. İdiyopatik veya farmakolojik oluşan priapizm adrenerjik agonistin intrakavernozal verilmesi ile tedavi edilmiştir (4). Alfa adrenoseptör blokörlerinin intrakavernozal verilmesi ereksiyon oluşturmuştur (56-60). Bir α_2 blokör olan idazoksanın intrakavernozal injeksiyonunun etkisinin olmadığını gösterilmesi kavernoöz dokuda α_1 reseptör alt tiplerinin fonksiyonel olarak dominant olduğu görüşünü desteklemektedir (58).

b-Beta-adrenoseptörler

İnsan penis dokusunda, korpus kavernozumun gevşemesine aracılık eden β adrenoseptörlerin varlığı saptanmıştır(14,13,54). Radyoligant bağlama çalışmaları ile insan korpus kavernozum dokusunda beta adrenoseptörlerin β_2 alt tipinde olduğu gösterilmiştir (13,61). Bununla birlikte otonom sinirlerin elektriksel uyarısı ile oluşan nörojenik inhibitör, cevap β adrenoseptör antagonistleri tarafından etkilenmemiştir (11,50). İnsanlarda, beta adrenoseptör agonistlerinin intrakavernozal injeksiyonu tümense neden olmuş fakat tam ereksiyon oluşturmamıştır (58).

C-Kolinerjik Mekanizmalar

Radyoligand bağlama (^3H quinuclidinyl benzilat) çalışmaları ile insan korpus kavernozum dokusunda, muskarinik reseptörlerin varlığı gösterilmiştir (22,23). Hayvanlarda sakral parasempatik sinirlerin uyarılması penil ereksiyonu ile sonuçlanmıştır (21,62,63). Bu bulgular, asetilkolinin penis kan damarları ve trabeküler düz kaslarının gevşetici nörotransmitteri olduğu ve kolinerjik sinirlerin, adrenerjik sinirlerin kasıcı etkilerine karşı bir ters etkileşim halinde olduğu görüşüne yol açmıştır (54). Kolinesteraz içeren sinirlerin varlığı insan ve hayvanların korpus kavernozum da tanımlanmıştır (9,7,27). Son zamanlarda Blanco ve arkadaşları, insan korpus kavernozum dokusundaki sinirlerde, kolin

"uptake"ini, asetilkolin sentezini ve asetilkolin salıverilmesini göstermişlerdir (64). Penil erektil aktivite üzerindeki muskarinik agonistler ve antagonistlerin etkileri ile ilgili çalışmalar uyumsuzluk göstermiştir (64). Araştırmacıların çoğu hayvanlarda atropinin penil arterine injeksiyonu ereksiyonu etkilemediğini bildirmişlerdir (66,67). Diğer bazı araştırmacılar ise muskarinik reseptör antagonistlerinin ereksiyonda kısmi bir azalma ve/veya tam bir blokaj yaptığını gözlemişlerdir (62). Gönüllü insanlarda atropinin intrakavernöz verilmesi penil ereksiyonunu önlememiştir (68). Bazı araştırmacılar hayvanlarda asetilkolinin yüksek dozlarda penis arterine verilmesinin erektil cevaba neden olmadığını bulmuşlardır (69,70). Başka bir çalışmada tavşan ve köpekler de asetilkolinin intrakavernöz injeksiyonu tam bir erektil cevapla sonuçlanmıştır (62). İnvitro çalışmalar karbakol ve asetilkolinin bazal gerilim üzerine etkilerinin olmadığını ancak noradrenalinle kastırılmış korpus kavernozum ve spongiozum preparatlarında gevşeme oluşturduklarını göstermişlerdir (12,13,24,25). Kolinerjik sinirlerin korpus kavernozumun düz kasının tonusunun kontrolunda direkt bir rolü olduğu ve diğer nöroefektör sistemlerle etkileşim gösterdiğini bildirmişlerdir (13,25,71). Hedlund ve arkadaşları insan korpus spongiozumundaki sinirlerde noradrenalinin elektriksel salıverilmesi üzerine muskarinik agonistlerin inhibitör bir etkisi olduğunu bildirmişlerdir (24). İlâveten, kolinerjik sinirlerin non-adrenerjik non-kolinerjik oluşan gevşemeleri artırdığı ve NANK sinirler üzerinde fasilatör etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (13,25,71).

D-Non-Adrenerjik Non-Kolinerjik Mekanizmalar

Son görüşlere göre ereksiyonun oluşmasında, noradrenalin aracılı tonsn nisbi azalmasının yanında, sinirlerden ve endotelyumdan salgılanan NANK bir transmitterin de katkısının olduğuna inanılmaktadır. İlk kez, sıçan anokoksigeus ve sığır retraktör penis kasında, NANK inhibitör innervasyonun varlığı gösterilmiştir (72,73). Bu kasların sinirlerinin, elektriksel uyarıya verdikleri yanıt, NO içeren nitrovazodilatrlerce taklit edilmiş, fakat yanıtın mediatörü henüz tespit edilememiştir (74). Penisin gevsek durumunu sağlayan, noradrenalinden başka kasıcı faktörlerin de olabileceği düşünülmektedir. Bu kasıcı ve gevşetici transmitterlerin etki mekanizmaları ve yapıları, tam olarak aydınlatılamamıştır (39).

a-Nitrik oksid

1980'den bu yana, asetilkolin ve diğer çeşitli ajanlar tarafından damar endotelinden gevşetici faktör(ler) salındığı bilinmektedir (75,76). Bu gevşetici faktörlerden birinin, L-arjininden sentez edilen nitrik oksid (NO) olduğu tanımlanmıştır (29,77-79). Aynı zamanda, NO'nun sinirlerden de salıverildiği bildirilmiştir. Asetilkolin verilmesi veya sinirlerin elektriksel uyarılmasına bağlı olarak NO salıverilmesi veya ilgili faktörlerin lokal salıverilmesi, korpus kavernozumda gevşeme sonucu ereksiyon oluşturmaktadır (25,48,80).

Son çalışmalarda, tavan ve insan korpus kavernozum dokusunda, hem asetilkolin ile ve hem de EAU ile oluşturulan gevemelerde, NO yada NO benzeri bir maddenin salınımının rolü olduğu gösterilmiştir (28-31,74,81,82). Sıçan ve tavan korpus kavernozum dokusunda, arjinini sitrlline dnttren önemli bir nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesi gösterilmiştir (83,84). Beyin nöronal dokularında olduğu gibi, tavan korpus kavernozumunda da, sitozolik olarak NOS'ın bir temel izoformu tanımlanmıştır (84). İmmünohistokimyasal olarak,

NOS'un sıçan penisinde var olduğu saptanmıştır (83). Penis dokusundaki NO'nun en önemli kaynağının nöronal doku olduğu düşünülmektedir. Endotel kaynaklı NOS'un, esas olarak membrana bağlı olmasına rağmen, nöronal kaynaklı NOS, tavşan korpus kavernozumunda da gösterildiği gibi, sitozolik yada solüblüdür (85). Ayrıca, izole korpus kavernozum dokusunun, elektriksel alan uyarısına verdiği gevşeme cevabının, endotelin tahrip edilmesinden sonra da elde edilmesine rağmen asetilkolin, bradikinin ve P maddesine verilen cevaplar ortadan kalkmıştır (25,48,80). N-nitro-L-arginin (L-NNA), L-NMMA ve N-nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) gibi L-arginin analogları tarafından asetilkolin ve elektriksel alan uyarısı ile oluşturulan gevşemelerin, güçlü bir şekilde inhibe edildiği gösterilmiştir (28-31,74,81,86-89). İzole insan korpus kavernozum preparatlarında, L-NNA bazal tonus üzerinde etkisiz bulunurken, gerek EAU'na ve gerekse noradrenalinle oluşturulan kasılmalarda artışa neden olmuştur (30,31). Bu da, kavernoöz dokunun pasif geriliminin, NO salınımına neden olmadığını, ancak, aktif kasılma sırasında NO salınımının devamlı olacağını göstermektedir. Bu nedenle, NO'nun yalnızca ereksiyon olayına değil, detumens durumunda da penis kan akımının kontrolüne katılabileceği öne sürülmektedir.

NO üretiminin oksijen basıncına da bağlı olduğu düşünülmektedir. Parsiyel oksijen basıncı 50 mmHg'nın altına düştüğü zaman, elektriksel olarak oluşturulan gevşemelerin hızlı bir şekilde inhibe edildiği ve penisin gevşek durumda iken oksijen basıncının önemli ölçüde azalmış olduğu saptanmıştır (90,91). Etkisini enzimatik yada nonenzimatik olarak NO aracılığıyla yapan nitrogliserin, sodyum nitroprusiyat, S-nitrozo-N-asetil penisilamin ve linsidomin (SIN-1) gibi vazodilatörlerin, insan ve tavşan korpus kavernozumunda konsantrasyona bağlı gevşemeler oluşturduğu bildirilmiştir (29-31,88,89,92). NO'nun oluşturduğu gevşemelerin, oksihemoglobin ve güçlü bir süperoksit anyon

üreticisi pyrogallol ile ortadan kaldırıldığı gösterilmiştir (88,89,92). Ancak, elektriksel uyarı ile oluşturulmuş gevşemelere veya NO salıvererek etki gösteren ajanların yaptığı gevşeme cevaplarına karşı, her zaman etkili bulunmamıştır (88,89,92). NO ve NO ile ilgili vazodilatörler, korpus kavernozum dokusunda oluşturdukları gevşemeleri, soluble guanilat siklaz enzimini uyararak dokudaki cGMP düzeyini arttırmak suretiyle meydana getirirler. Bu olay, ilk olarak tavşan korpus kavernozumunda gösterilmiştir (29). Araştırmacılar, cGMP fosfodiesteraz enziminin selektif olarak inhibe edilmesinin, elektriksel uyarı ile elde edilen gevşeme yanıtlarını artırdığını saptamışlardır (29,88,89). Bu bulgular, insan korpus kavernozum dokusunda da elde edilmiştir. NO'nun guanilat siklazı aktive edici etkisi, metilen mavisine duyarlı bulunmuştur (93,94). İzole tavşan korpus kavernozumunda, elektriksel uyarı ile oluşturulan gevşeme yanıtlarının metilen mavisi ile inhibe edildiği, ayrıca NO ve sodyum nitroprusiyatla oluşturulan gevşeme yanıtlarının 10^{-5} M konsantrasyondaki metilen mavisi ile kısa sürede inhibe olduğu bildirilmiştir (92). Ancak, elektriksel uyarı ve asetilkolin aracılı gevşeme yanıtları, 10^{-5} M konsantrasyonundaki metilen mavisi ile inhibe edilememiş, 5×10^{-4} ve 10^{-4} M konsantrasyondaki metilen mavisi ile, preparatın 60-90 dk banyo ortamında muamele edilmesinden sonra, bu cevapların önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır (95,96).

Penis venöz dışı akımındaki direncin kontrolünde, penis venlerinin rolü belli değildir. Deneysel veriler, bir aktif mekanizmanın, veno-oklüziv veya konstrüksiyon mekanizmalarının oluşumunda, korpus kavernozum ve venöz düz kaslarını, farklı olarak etkileyen mekanizmaların veya ajanların varlığını düşündürmektedir (97,98). Elektriksel uyarı ile korpus kavernozum dokusunda elde edilen inhibitör cevaplar penis venlerinde oluşmamıştır (92). Korpus

kavernozum preparatlarında endotele bağıli asetilkolin cevapları, L-NNA'ya ve oksihemoglobine duyarlı iken ven preparatlarında duyarlı bulunmamıştır (92).

Bu nöroefektör mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılamamakla beraber, korpus kavernozumda gevşeme yanıtının NO yada NO içeren bir madde aracılığıyla meydana gelebileceğini ve bu maddelerin penis damarlarında ve korpus kavernozumundaki gevşemelere aracılık eden ana transmitter olabileceği düşünülmüştür (99). Yapılan çalışmalarda, tavşanlarda ve sıçanlarda kavernöz sinirlerin uyarısı, köpekler de pelvik sinir uyarısının oluşturduğu gevşemeler, metilen mavisi, L-NNA tarafından inhibe edilirken, cGMP fosfodiesteraz inhibitörü tarafından artırılmıştır(100,101).

Eretil disfonksiyonlu erkeklerde, NO vericisi olan SIN-1'in intrakorporeal injeksiyonu ereksiyona yol açmıştır (102,103). Penis ereksiyonunda, L-arginin/NO yolağının rolünü destekleyen bir bulgu da, priapizmli bir hastada, metilen mavisinin intrakavernöz injeksiyonunun, detumens oluşturmasının gösterilmesidir (104). İmpotensli diabetik hastalardan alınan izole korpus kavernozum dokusunda, hem nörojenik, hem de endotele bağıli gevşemelerin bozulduğu bildirilmiştir (105). Bu durum, alloksan ile diabet oluşturulmuş tavşanlarda da gösterilmiştir (80).

Bu sonuçlara göre, impotensli diabetik hastalarda, endotelden bağımsız gevşeme oluşturan vazodilatörlerin, tedavide intrakavernozal injeksiyonu öngörülmektedir (105). İmpotent insanlarda, topikal nitrogiliserin ve SIN-1'in intrakavernöz uygulanması ile olumlu klinik sonuçlar elde edilmiştir (106-109).

ı-Endotelinler

Noradrenalinin sinaptik aralığa salıverilmesinin penisin gevşek duruma dönmesi için gerekli olduğu bilinmektedir. Penisin gevşek durumunu devam ettirmesi için, noradrenalinin ilave bir nörotransmitterle beraber salıverilip

salıverilmediği henüz açıklık kazanmamıştır (39). Endotelinlerin bu mekanizmaya bir katkısının olabileceği düşünülmektedir. Endotelin-1(ET-1)'e ait mRNA'nın varlığı, insan korpus kavernozum endotel hücre kültürlerinde saptanmıştır (1,110). Ayrıca, radyoligant bağlama çalışmaları ile, endotelinlerin korporeal hücre membranına yüksek afinite ile ve spesifik olarak bağlandığı gösterilmiştir. ET-1 için bağlanma yerleri, otoradyografi ile derin penis arterinde, sirkumfleksis venlerde ve kaverno dokunun her yerinde gösterilmiştir (111). Diğer taraftan, insan veya tavşan kaverno dokusunda, ET -1 antiserumu kullanılarak yapılan çalışmalarda, ET-1 için spesifik immünohistokimyasal lokalizasyon gösterilememiştir. Araştırmacılar, kaverno dokuda ET-1'in intrasellüler deposunun bulunmadığını, fakat ET'nin sentez edilip sürekli salınabileceğini öne sürmüşlerdir (111). ET-1'e ait monoklonal antikolar kullanılarak ET benzeri immünoreaktivite, endotelde daha fazla olmak üzere, trabeküler düz kasta da saptanmıştır(111). ET-1, insan korpus kavernozumunda (20,43,112,113), kaverno arterinde ve derin dorsal vende (113), ve penil sirkumfleks venlerinde (111) yavaş gelişen, uzun süren kasılmalara neden olmuştur. Benzer kasılmalar insan korpus kavernozum dokusunda, ET-2 ve ET-3 tarafından da, daha az oranda olmakla birlikte, oluşturulmuştur. Tavşan korpus kavernozumunun, ET-1 ile önceden muamele edilmesinin, noradrenalin tarafından oluşturulan kasılma cevaplarını artırdığı gösterilmiştir (43). Karbakol ve VIP ile etkili bir şekilde, ET-1 ile oluşturulmuş kasılmaları tavşan ve insan korpus kavernozum dokusunda inhibe etmiştir(fizyolojik antagonizma). Aynı şekilde, insan kaverno dokusundaki kasılmalar, transmural elektriksel uyarı, asetilkolin ve sodyum nitropurisiyat ile kolayca geri dönmüştür (110).

v- Vazoaktif intestinal peptit(VİP)

VİP'in; insan penil erektil dokusunda (yüksek konsantrasyonda), arter ve arterioller de, kavernoöz doku çevresindeki sinir sonlanmalarında ve sinir liflerinde var olduğu gösterilmiştir (5,9,12,51,114).

VİP'in, insan korpus kavernozumunda gevşetici etkisi vardır (12,21,114,115). İzole korpus kavernozum doku şeritlerinde, spontan kontraktıl aktivite ve elektriksel uyarılarla oluşturulan kasılmalar üzerine belirgin bir etkisi olmakla birlikte, noradrenalinle kasılmış preparatlar üzerine etkisi olmadığı bildirilmiştir (116-118). Vizüel stimülasyon veya intrakavernoöz papaverin injeksiyonu ile oluşturulan tumesens ve ereksiyon sırasında, önemli bir VİP salıverilmesi olduğu gösterilmiştir (119,120). Bununla birlikte hem organik, hem de psikojenik impotensli hastalarda, vazoaktif bileşiklerin bir çeşidi ile oluşturulan ereksiyon sırasında, VİP'in kavernoza ve periferal konsantrasyonu ölçülmüş ve kavernoza VİP konsantrasyonunda artma bulunmamıştır (121). İmpotensli ve diabetik impotensli hastalarda, kavernoöz düz kası ile sınırlar içinde, VİP benzeri immünoreaktivite de önemli bir azalma saptanmıştır (26,27).

VİP'in, penis ereksiyonunda ana nörotransmitter olduğu ve bu peptitdeki azalmanın impotens oluşumunda bir rolü olabileceği öne sürülmektedir (26). Ancak VİP'in, intrakavernoöz injeksiyonunun ereksiyon oluşturmaması, onun tek başına esas nöromediatör olmadığını, penis erektil dokularının gevşemesini sağlayan NANK bir mediatör olabileceğini göstermektedir(21,122,123).

II-5-Aktivasyon mekanizmalarının inhibisyonu

Korporeal düz kas hücrelerinin, elektrofizyolojik özellikleri ile ilgili bilgiler az olmakla birlikte, korpus kavernozum düz kas hücre kültürünün elektrofizyolojik araştırmaları ile, hücrelerde aksiyon potansiyeli tespit

edilememiştir (124). Düz kas hücrelerinin voltaj klamp analizi ile, Ca^{2+} duyarlı K^+ kanalının ve Cl^- kanalının varlığı bildirilmiştir (125).

Pinasidil, nikorandil ve kromakalim gibi K^+ kanal açıcıları, düz kas hücrelerinde K^+ kanallarını açıp, hücreleri hiperpolarize ederek gevşetici etki meydana getirirler (126). Bunun sonunda voltaja bağımlı kalsiyum kanalları kapanmaktadır. Pinasidil'in, izole korpus kavernozumda spontan kasılmaları önlediği, ve noradrenalinle ve elektriksel uyarı ile oluşan kasılmaları, gevşettiği bildirilmiştir (126-129). Ayrıca pinasidil, K^+ 'un düşük konsantrasyonları ile oluşturulmuş kasılmaları da deprese eder. Pinasidilinin izole tavşan korpus kavernozumundaki etkileri, insan dokusundakine benzemektedir. Ayrıca tavşan dokusunda pinasidilinin, kasılmış korpus kavernozum preparatındaki, ^{86}Rb efluksu üzerindeki etkileri selektif bir K^+ kanal(ATP'ye bağlı) blokörü olan glibenklamid ile bloke edildiği gösterilmiştir (128). Lemakalim, nikorandil veya pinasidilin, kedilere intrakavernöz olarak injekte edildiği zaman, doza bağımlı bir şekilde ereksiyonlara sebep olmuşlardır (129). Potasyum kanal açıcılarının, tek başına ya da diğer vazoaaktif ajanlarla birlikte, erektil disfonksiyonun tanı ve tedavisinde kullanılması, henüz açık değildir.

Kalsiyumsuz ortamda noradrenalin kasılma cevaplarının azalması fakat tam olarak kaybolmaması, α adrenoseptör uyarısı ile oluşan kasılmaların, kısmen intrasellüler Ca^{2+} 'a bağlı olduğunu göstermektedir (130). Kalsiyum kanal blokörleri olan verapamil, diltiazem ve nifedipin, noradrenalin cevaplarını, %50'den fazla olmamakla birlikte, deprese etmişlerdir (6). Elektriksel uyarıyla oluşan kasılma cevaplarının, kalsiyumsuz ortamda hızlı bir şekilde ortadan kalktığı gösterilmiştir (6). Beklenildiği gibi, kalsiyum kanal blokörleri, K^+ 'un yüksek konsantrasyonları ile oluşturulmuş kasılmaları inhibe etmiştir (6).

Verapamilin intrakavernöz injeksiyonunun, impotensin teşhis ve tedavisi için klinik bir öneme sahip olduğu ileri sürülmüştür (58).

II-6-Seksüel hormonların etkileri

Erkekteki temel androjen olan testosteron, esas olarak testiküler Leydig hücreleri tarafından salgılanır. Ayrıca adrenal kortektede çok az miktarda testosteron sentez edilir. İnsanlarda ve hayvanlarda seksüel güç hormonal dengeye bağlıdır. Bu hormonal dengesi için de hipotalamus, hipofiz ve gonadal aksın normal işlemesi gerekir (33). Testosteron, hedef hücrelerdeki etkisini hem direkt olarak hemde hücre içinde dihidrotestosterona (DHT) dönüştürerek yapar. Testosteron ve DHT, androjenik (erkek üreme organlarının ve sekonder seks karakterlerinin gelişimi) ve anabolik (kas, kemik, somatik doku gelişimi) etkiye sahiptir. Her iki androjenin de normal ereksiyonun fizyolojisi ve seksüel davranış için ihtiyaç duyulan düzeyleri ve rolleri henüz açıklanamamıştır.

Yapılan çalışmalarda erkeklerde libido (seksüel ilgi) ve seksüel davranış, plazma testosteron düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur. Erkek sıçanın kastrasyondan sonra, ejakülasyon kaybı ve cinsel temasın sıklığında bir azalma bulunmuştur. Bu fizyolojik fonksiyonların testosteronun yerine konulması ile düzeldiği bildirilmiştir(32,34). Ellis ve Grayhack, medikal ve cerrahi kastrasyon tedavisi uygulanan prostat kanserli 82 hastanın 16'sında seksüel fonksiyonların korunduğunu bulmuştur (33). Roen benzer şekil de prostat kanserli erkeklerde bilateral orşiektomiden sonra da ereksiyonların oluştuğunu bildirmiştir (33). Schiawi ve White düşük androjen düzeylerinin hem seksüel aktivitede hemde erektil yetenekte azalma oluşturduğunu bildirmişlerdir (33). Araştırmacılar hipogonadal bireylerde androjen replasman tedavisinin seksüel davranış ve aktivite üzerinde önemli bir etkisinin olduğunu, bu etkinin doza bağımlı olduğunu

ve plasebo ilaçlarla oluşturulamadığını bildirmişlerdir (33). Androjene bağlı diurnal ve nokturnal spontan ereksiyonların hipogonadizmde önemli ölçüde azaldığı ve androjenin yerine konması ile düzeldiği gösterilmiştir (32,33). Buna karşın, erotik uyarılarla oluşan ereksiyonlar androjen replasman tedavisinden etkilenmediği bildirilmiştir (33). Normal seksüel ilgi ve aktivite için, androjenlerin yeri kesin olarak bilinmemekle birlikte, bazal ve optimal fonksiyon için gerekli androjen miktarı henüz bilinmemektedir (32). Dolaşımdaki eşik üstü fazla testosteron artışlarının seksüel fonksiyonlar üzerinde ek bir etkisinin olup olmadığı bilinmemektedir. İzole insan korpus kavernozumunda, testosteronun kasıcı yada gevşetici etkisi bulunmamıştır (34).

Hiperprolaktinemi, tiroid hormon anomalileri, Cushing hastalığı ve akromegali gibi hormonal bozuklukla ilgili durumlarda, empotans oluştuğu bildirilmiştir(33).

BÖLÜM III

ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarından sağlanan 2.5-3 kg ağırlığında 34 adet albino erkek tavşan kullanıldı.

Tavşanlar dört gruba ayrıldı.

1.Grup:(kontrol)Kontrol grubu (n=10)

2.Grup:(1 aylık) Bir ay süreyle testosteron uygulanan grup (n=8) Testosteron propiyonat (sustanon) 10mg/gün i.m. tek dozda enjekte edildi.

3.Grup:(2 aylık)İki ay süreyle testosteron uygulanan grup (n=8) 10 mg/gün tek dozda im. testosteron verildi.

4.Grup:(2+2 aylık)İki ay süre ile testosteron uygulandıktan sonra, iki aylık bir ilaçsız interval uygulanan grup (n=8)

III-1-Anestezi:

Tavşanlar 35 mg/ kg tiopental sodyum i.v. verilerek anestezi sağlandıktan sonra, tüm gruplarda kasılma, gevşeme ve elektriksel alan uyarısı yanıtlarının araştırılması için penis eksizyonu gerçekleştirildi.

III-2-İzole Korpus Kavernozum Preparatlarının İnvitro Deneylere Hazırlanışı

Gerek kontrol, gerekse deney grubunda bulunan tavşanlardan anestezi altında zedelenmeden çıkarılan penis dokusu Krebs-bikarbonat solüsyonu içine alındı. Korpus kavernozum dokusunu elde etmek için etrafındaki cilt, cilt altı dokusu, üretra ve korpus spongiozum dokularından temizlendi. Korpus kavernozum dokusu dört eşit şerit halinde hazırlanarak her iki ucu ipek iplikle bağlandı. Hazırlanan şeritler % 95 O₂, % 5 CO₂ ile gazlandırılan 37 °C de ısıtılan Krebs-bikarbonat solüsyonu içeren 20 ml'lik organ banyosuna, bir ucu organ askısına diğeri Grass FT 03 Force-Displacement transdüsörüne bağlanarak yerleştirildi. Korpus kavernozum şeritleri 2 g ön gerilim altında her 15 dk da bir kez yıkanarak 1.5 saat dengelenmeye bırakıldı. Korpus kavernozum şeritlerinde kasılma ve gevşeme cevapları izometrik olarak kaydedildi.

İzole korpus kavernozum şeritleri organ banyosuna 124 mM konsantrasyonda ilave edilen KCl ile 30 dk depolarize edildi. KCl uygulanması, korpus kavernozum dokusunda, deney sırasında oluşması muhtemel olan spontan kasılmaları önlemek ve maksimum kontraktıl cevaplar elde etmek için uygulandı. Sonra yıkanan korpus kavernozum şeritleri kasıcı, gevşetici ilaçların ve elektriksel alan uyarısı uygulanması için dinlenmeye bırakıldı ve her 15 dk da bir yıkandı. Tüm deneylerde izole korpus kavernozum dokusu şeritlerinde sinüzoid endotelin sağlam olup olmadığını submaksimal fenilefrinle (10⁻⁵ M) kastırılmış şeritlerde tek doz asetilkolin (10⁻⁶ M) verilerek fonksiyonel olarak test edildi.

Elektriksel alan uyarısı Grass S 88 stimulatör ile uygulandı. Korpus kavernozum şeritleri organ banyosuna birbirine 6-8 mm uzaklığında paralel iki platin tel elektrot arasına vertikal olarak iki ucundan asıldı.

EAU'sı 10 volt (V), 0.8 ms, 2, 4, 8, 16, 32 Hz frekanslarında toplam 5 sn süreyle uygulandı. EAU sırasında NANK oluşturulan gevşemeyi açıklamak için banyo ortamına 5 μ M guanetidin ve 1 μ M atropin ilave edildi. Böylece elektriksel alan stimülasyonu ile elde edilen gevşeme cevaplarının sadece NANK aktivasyona bağlı olduğunu gösterdik.

EAU'nın etkisinin nörotransmitter aracılı olduğunu sodyum kanal blokörü olan Tetrodotoksin (TTx) (1 μ M) tarafından, kavernoöz düz kasın EAU'mı ile oluşan gevşemeyi ortadan kaldırması ile gösterilmiştir (93). Ayrıca, submaksimal fenilefrinle (10^{-5} M) kastırılmış ve EAU (10 V, 0.8 ms 8 Hz 5 sn) ile oluşturulan gevşeme cevabını takiben organ banyosuna L-NAME 3×10^{-5} M ilave edildi. Korpus kavernozum şeritlerinin yıkanması sonucunda dinlenim tonusuna geri döndü.

III-3-Kasılma Cevapları

KCl kasılma cevapları:

Kontrol ve deney gruplarından alınan korpus kavernozum dokusu kasıcı ve gevşetici ilaçlar ve EAU uygulanmadan önce 124 mM KCl ile organ banyosunda muamele edildi. KCl ile alınan kasılma cevapları mg olarak grafikleildi.

Fenilefrin kasılma cevapları:

Kontrol ve diğer deney gruplarından elde edilen korpus kavernozum şeritlerinde, fenilefrinin (10^{-8} - 3×10^{-4} M) kümülatif konsantrasyonda organ banyolarına ilavesi ile konsantrasyon-cevap eğrisi elde edildi. Her bir konsantrasyondaki kasılma cevabı dengeye eriştikten sonra bir üst konsantrasyona geçildi.

Kontrol ve deney grubunda fenilefrinle oluşturulan kasılmalar mg olarak grafiklendi.

III-4-Gevşeme cevapları

Sodyum nitroprusiat ve karbakol gevşeme cevapları

Agonistlere bağlı izole korpus kavernozum şeritleri submaksimal fenilefrinle ($10^{-5}M$) kasıldıktan sonra sodyum nitroprusiat (10^{-8} - $3 \times 10^{-5}M$) ve karbakol (10^{-10} - $10^{-5}M$) ile konsantrasyona bağlı gevşeme cevapları alındı. Herbir konsantrasyondaki gevşeme cevabı dengeye eriştikten sonra bir üst konsantrasyona geçildi. Kontrol ve deney gruplarındaki gevşeme cevapları fenilefrinin($10^{-5}M$) oluşturduğu kasılma üzerinden % gevşeme olarak grafiklendi.

EAU ile oluşturulan gevşeme cevapları

Kontrol ve deney grubundan elde edilen izole korpus kavernozum şeritleri submaksimal fenilefrin ($10^{-5}M$) ile kasıldı. Kasılma cevabı dengeye eriştikten sonra uygulanan EAU ile tüm frekanslarda (2,4,8,16,32) gevşeme cevapları alındı. Her frekansta oluşturulan gevşeme geri döndükten sonra diğer frekansa geçildi.

Elde edilen gevşemeler fenilefrinin ($10^{-5}M$) oluşturduğu kasılma üzerinden % gevşeme olarak grafiklendi.

III-5-Deneyde kullanılan besleyici solüsyon ve ilaçlar

Deneylerde kullanılan besleyici solüsyonun içeriği mM/ L olarak:
NaCl 118, KCl 4.7, CaCl₂ 2.5, NaHCO₃ 25, MgSO₄ 1.2, KH₂PO₄ 1.2,
Glukoz 11.

Deneylerde kullanılan ilaçlar:

Tiopental sodyum (pental sodyum)(İ.E. Ulugay)

Testosteron (sustanon)(Organon)

Atropin, Guanetidin, Fenilefrin Hidroklorür, Karbakol,

Na-nitropurisiyat, L-NAME (Sigma)

III-6-Deney sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan yöntemler

Deney sonuçları metin içinde aritmetik ortalama \pm standart hata olarak sunuldu. İki'den fazla grup arasında fark olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edildi. Gruplar arası farkın anlamlılığı Scheffe F testi ile araştırıldı ve p değerinin 0.05'den küçük olması halinde fark anlamlı olarak kabul edildi. Agonist ilaçların oluşturdukları maksimum cevabın %50'sini oluşturmak için gerekli konsantrasyonları (EK₅₀) her bir deneyin log-konsantrasyon-cevap eğrilerinden elde edildi ve aritmetik ortalama \pm standart hata olarak gösterildi. pD₂ değerleri aşağıdaki formüllere göre hesaplandı:

$$pD_2 = -\log(A) - \log(E_{maks} / E_A - 1)$$

(A)=Agonistin molar konsantrasyonu

E_{maks}=Agonistin oluşturduğu maksimum etki

E_A=Agonistin belirli bir konsantrasyonda oluşturduğu etki

Ayrıca ilaçların oluşturdukları maksimum etkileri her bir deneyden elde edilen verilerin Scatchard denkleminde uyarlanması ile çizilen grafiklerden saptandı.

$$Etki/Konsantrasyon = -1/EK_{50} \times Etki + E_{maks}/EK_{50}$$

BULGULAR IV

KASILMA CEVAPLARI

IV-1-KCl Kasılma Cevapları

124 mM KCl izole korpus kavernozum şeritlerinde kasılma meydana getirdi. 124 mM KCl ile elde edilen kasılma cevaplarının kontrol ve deney grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı saptandı (Şekil 2).

IV-2-Fenilefrin Kasılma Cevapları

İzole tavşan korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin konsantrasyona bağlı olarak (10^{-8} - 3×10^{-4} M) kasılma meydana getirdi. E_{maks} ve pD_2 değeri saptandı (Şekil 3).

a- Bir ay süreyle testosteron uygulanmasının etkileri

İlaç verildikten bir ay sonra alınan korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin konsantrasyon-cevap eğrisinin pD_2 ve E_{maks} değerinin kontrollerine göre anlamlı olarak değişmediği saptandı (Şekil 3, Tablo 1,2)

b-İki ay süreyle testosteron uygulanmasının etkileri

İki ay testosteron uygulanan tavşanlardan alınan korpus kavernozumdan elde edilen şeritlerde fenilefrin konsantrasyon-cevap eğrisinin kontrollere ve bir aylık gruba göre özellikle yüksek konsantrasyonlarda sola kaydığı pD_2 ve E_{maks}

değerinin arttığı saptandı. Ayrıca kasılma cevaplarının E_{maks} değeri kontrole ve bir aylık gruba göre anlamlı bir değişiklik gösterdiği saptandı ($p < 0.05$). pD_2 değerindeki artış anlamlı bulunmadı (Şekil 3, Tablo 1,2).

c- İki ay süreyle testosteron uygulandıktan sonra, iki aylık bir ilaçsız interval uygulanmasının etkileri

Dört ay sonra korpus kavernozum çıkarıldı. Hazırlanan şeritler fenilefrin konsantrasyon-cevap eğrisinin kontrollere, bir aylık ilaç uygulanan gruba göre sola kaydığı, pD_2 değerinin ve E_{maks} değerinin arttığı saptandı. Ancak sadece E_{maks} değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Fenilefrin kasılma cevaplarında ve E_{maks} değerinde iki aylık gruba göre artış olduğu ancak anlamlı bir değişiklik göstermediği saptandı (Şekil 3, Tablo 1,2).

GEVŞEME CEVAPLARI

IV-3-Karbakol gevşeme cevapları

İzole korpus kavernozum şeritlerinde submaksimal konsantrasyonda fenilefrin ($10^{-5}M$) ile kasıldıktan ve bu kasılma dengeye ulaştıktan sonra, karbakol organ banyosuna kümülatif (10^{-10} - $10^{-5}M$) ilavesi ile konsantrasyona bağlı gevşeme cevapları alındı. Herbir konsantrasyondaki gevşeme cevabı dengeye ulaştıktan sonra bir sonraki konsantrasyon ilave edildi. pD_2 ve E_{maks} değerleri saptandı (Şekil 4, Tablo 3,4).

Fenilefrinle kastırılmış korpus kavernozum şeritlerinde $10^{-6} M$ karbakol ile gevşeme cevabı elde edildi. Bu gevşeme cevabı dengeye ulaştıktan sonra, ortama ilave edilen $3 \times 10^{-5} M$ L-NAME karbakol gevşeme cevabını inhibe etti ve bazal tonusta artışa neden oldu.

a- Bir ay süreyle testosteron uygulanmasının etkileri

Testosteron verildikten bir ay sonra korpus kavernozum şeritlerinde karbakolün gevşeme cevaplarının kontrollere göre anlamlı olarak arttığı ve konsantrasyon-cevap eğrisinin sola kaydığı E_{maks} değerinin anlamlı olarak arttığı saptandı ($p<0.05$),(Tablo 3,4).

Kontrollerde 10^{-5} M konsantrasyonda maksimum %70 gevşeme cevabı gözlenirken bu cevabın bir aylıklarda aynı konsantrasyonda % 85 olduğu bulundu (Şekil 4).

b-İki ay süreyle testosteron uygulanmasının etkileri

İki ay sonraki deney hayvanlarından elde edilen korpus kavernozum şeritlerinde karbakolün gevşeme cevaplarının kontrollere göre anlamlı olarak arttığı konsantrasyon-cevap eğrisinin sola kaydığı ve E_{maks} değerinin arttığı saptandı ($p<0.05$) (Şekil 4, Tablo 3).

Bir aylık gruba göre anlamlı bir değişiklik göstermediği saptandı ($p>0.05$). Kontrollerde 10^{-5} M konsantrasyonda maksimum %70 gevşeme cevabı gözlenirken bu cevabın iki aylık testosteronlu grupta aynı konsantrasyonda %88 olduğu bulundu.

c-İki ay süreyle testosteron uygulandıktan sonra , iki aylık bir ilaçsız interval uygulanmasının etkileri

İki ay süreyle ilaç uygulandıktan sonra iki aylık bir ilaçsız interval uygulanan gruptan alınan korpus kavernozum şeritlerinde karbakol konsantrasyon-cevap eğrisinin kontrolere dönmediği maksimum gevşeme cevabının arttığı saptanmıştır.Bir aylık ve iki aylık gruba göre sağa kaydığı ve gevşeme cevabının azaldığı ancak anlamlı bir fark olmadığı saptandı (Şekil 4, Tablo 3).

IV-4-Elektriksel alan uyarısı ile oluşturulan gevşeme cevapları

Kontrol gruplardan alınan korpus kavernozum şeritlerinde submaksimal konsantrasyonda (10^{-5} M) fenilefrinle kasıldıktan ve bu kasılma dengeye ulaştıktan sonra, değişik frekanslarda EAU uygulanarak gevşeme cevapları alındı. Her frekansdaki gevşeme cevapları kaydedildi (Şekil 5). Submaksimal konsantrasyonda fenilefrinle kastırıldıktan sonra 8 Hz ile oluşturulmuş gevşeme cevabını takiben 3×10^{-5} M L-NAME'nin organ banyosuna ilavesi sonucu, oluşan gevşemede önemli bir azalma ve tonusta artış görüldü. Korpus kavernozum şeritlerinin yıkanması sonucunda dinlenim tonusuna geri dönüldü (Şekil 6).

a-EAU üzerine bir ay süreyle testosteron uygulanmasının etkileri

10^{-5} M fenilefrinle kasılmış korpus kavernozum şeritlerinde uygulanan bütün frekanslarda elde edilen gevşeme cevaplarının kontrollerine göre anlamlı olarak azaldığı saptandı ($p < 0.05$)(Şekil 5).

b-EAU üzerine iki ay süreyle testosteron uygulanmasının etkileri

İzole korpus kavernozum şeritlerinde submaksimal fenilefrinle (10^{-5} M) kastırıldıktan sonra EAU ile elde edilen gevşeme cevaplarının kontrollere göre anlamlı olarak azaldığı saptandı. Uygulanan tüm frekanslarda hem kontrollere hemde bir aylık gruba göre belirgin şekilde azaldı ($p < 0.05$) (Şekil 5).

c-EAU üzerine iki ay testosteron uygulandıktan sonra, iki aylık bir ilaçsız interval uygulanmasının etkileri

İki ay süreyle ilaç verildikten sonra iki aylık bir ilaç verilmeyen uygulama sonunda korpus kavernozum şeritlerinde EAU ile elde edilen gevşeme cevapları kontrollere dönmedi. Ancak iki aylık ilaç uygulanan gruptan belirgin olarak fazla gevşeme oluşturduğu ve bir aylık ilaç uygulanan gruba yaklaştığı saptandı (Şekil 5).

IV-5-Na-Nitroprusiyat gevşeme cevapları

Kontrol ve deney gruplarından elde edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrinle kastırıldıktan sonra sodyum nitroprusiyatın (10^{-8} - 3×10^{-5} M) organ banyosuna kümülatif ilavesi ile konsantrasyona bağlı olarak gevşeme meydana getirdi. Tüm gruplarda kontrollere göre Na-Nitroprusiyat gevşeme cevaplarında, pD_2 ve E_{maks} değerlerinde bir değişiklik saptanmadı (Şekil 7, Tablo 3,4).

Fenilefrin ile kastırılmış kontrol striplerde Na-Nitroprusiyatla gevşeme 10^{-5} M da %90 oluşturduğu bulundu.

Tablo 1: İzole Tavşan Korpus Kavernozum Şeritlerinde Fenilefrin E_{maks} (mg) Değerleri

| | Kontrol | n | 1 Aylık | n | 2 Aylık | n | 2+2 Aylık | n |
|-------------------|----------------|----------|----------------|----------|----------------|----------|------------------|----------|
| Fenilefrin | 2100 ± 214 | 8 | 2052 ± 281 | 9 | 2772.7 ± 248* | 8 | 3228.6 ± 285 * | 13 |

* Kontrol değerlerine göre P<0.05

Tablo 2: İzole Tavşan Korpus Kavernozum Şeritlerinde Fenilefrin pD₂ Değerleri

| | Kontrol | n | 1 Aylık | n | 2 Aylık | n | 2+2 Aylık | n |
|-------------------|----------------|----------|----------------|----------|----------------|----------|------------------|----------|
| Fenilefrin | 5.35 ± 0.04 | 8 | 5.16 ± 0.05 | 9 | 5.22 ± 0.7 | 8 | 5.26 ± 0.9 | 13 |

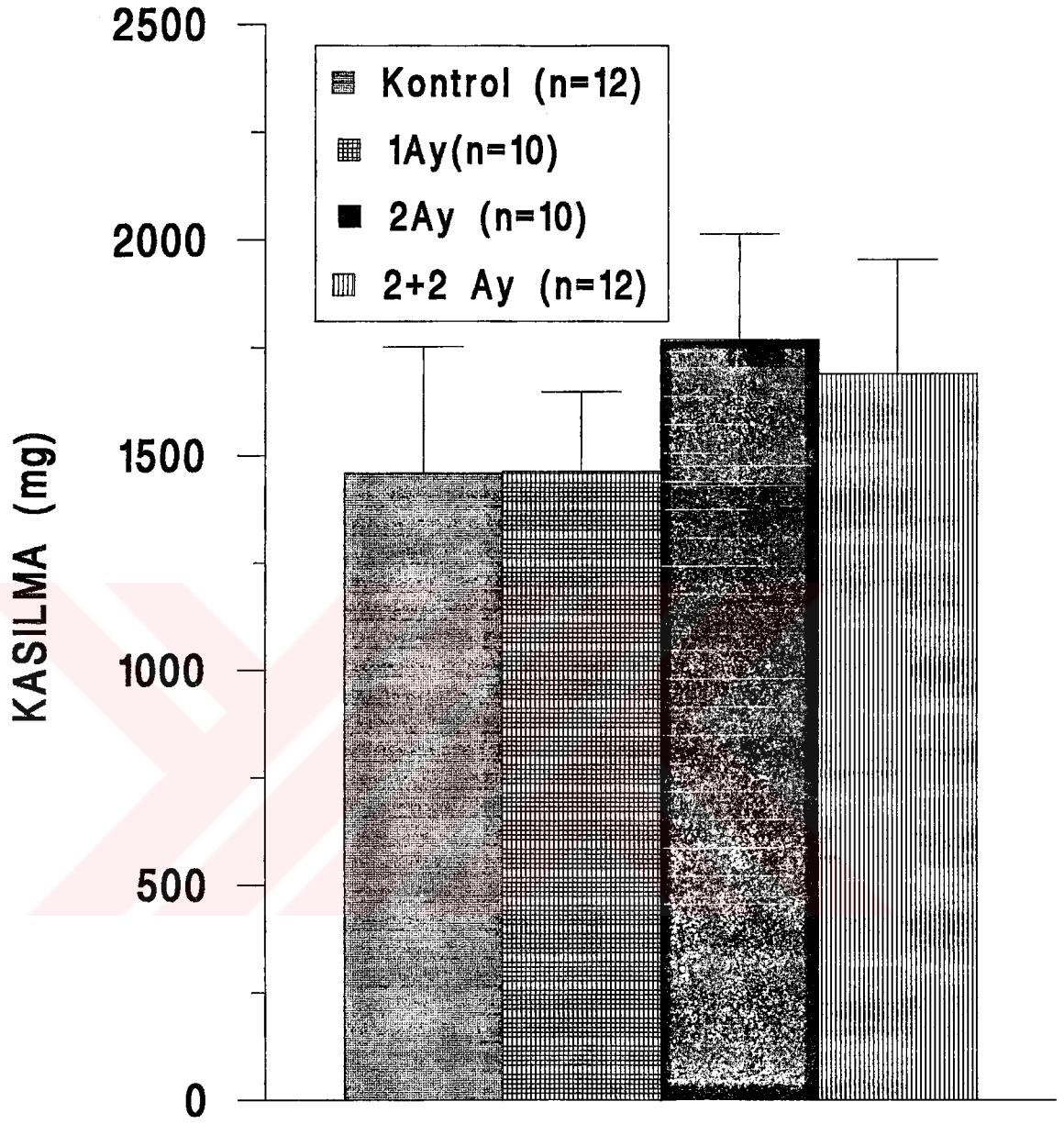
Tablo 3: İzole Tavşan Korpus Kavernozum Şeritlerinde Karbakol ve Sodyum nitropurisiyatın(SNP) E_{maks} (mg) Değerleri

| | Kontrol | n | 1 Aylık | n | 2 Aylık | n | 2+2 Aylık | n |
|----------|----------------|----------|----------------|----------|----------------|----------|------------------|----------|
| Karbakol | 1281.25 ± 286 | 8 | 1628 ± 208 * | 8 | 1555.5 ± 215* | 10 | 1390.8 ± 247 | 13 |
| SNP | 1441.6±231 | 8 | 1378.5 ± 223 | 8 | 1425.7 ± 241 | 12 | 1380.4±221 | 14 |

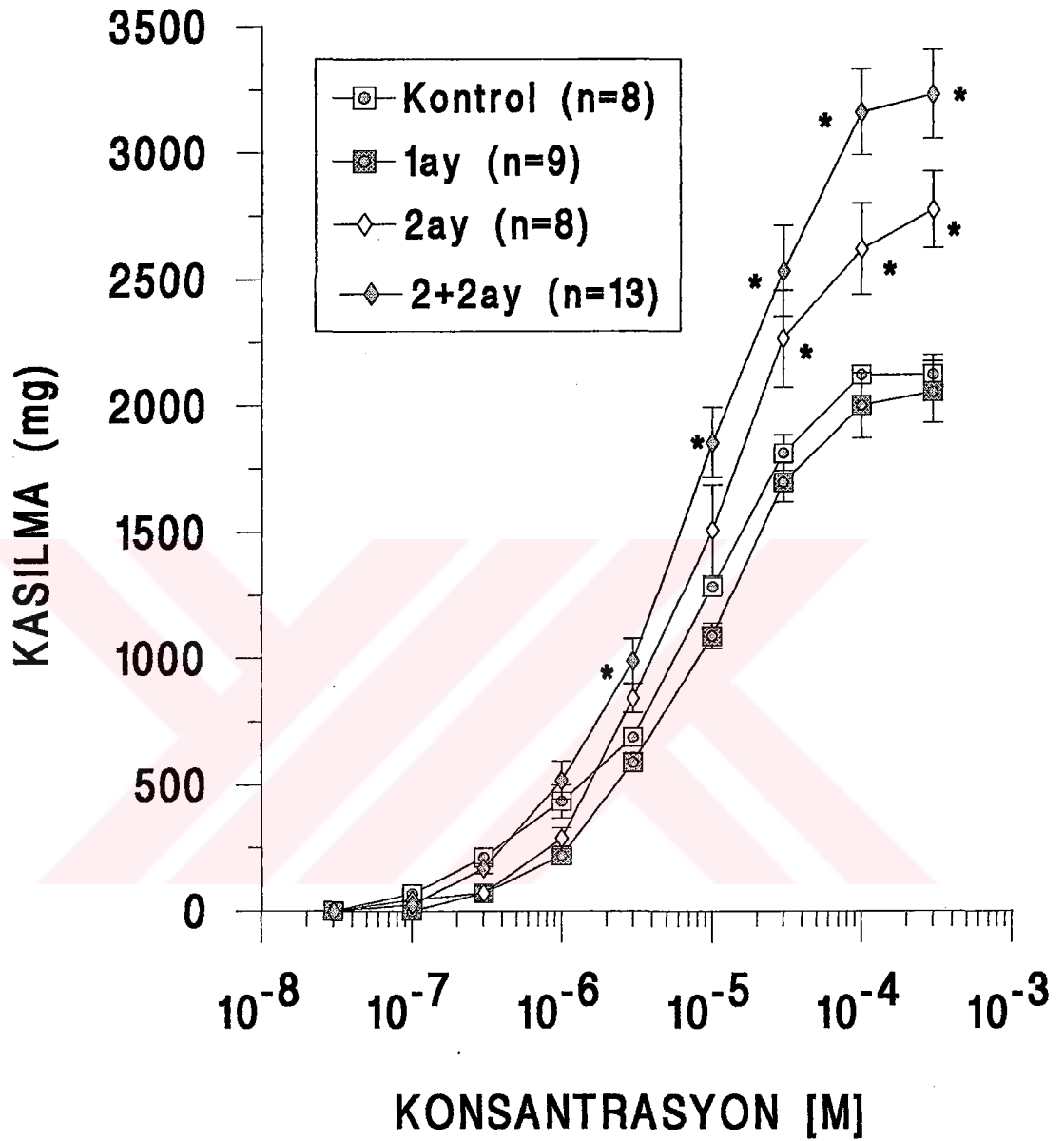
* Kontrol değerlerine göre P<0.05

Tablo 4: İzole Tavşan Korpus Kavernozum Şeritlerinde Karbakol ve Sodyum nitroprusiyatın(SNP) pD₂ Değerleri

| | Kontrol | n | 1 Aylık | n | 2 Aylık | n | 2+2 Aylık | n |
|----------|----------------|----------|----------------|----------|----------------|----------|------------------|----------|
| Karbakol | 7.3 ± 0.02 | 8 | 7.22 ± 0.07 | 8 | 7.49 ± 0.09 | 10 | 7.31 ± 0.06 | 13 |
| SNP | 6.1 ± 0.03 | 8 | 6.05 ± 0.05 | 8 | 6.0 ± 0.08 | 12 | 6.1 ± 0.07 | 14 |

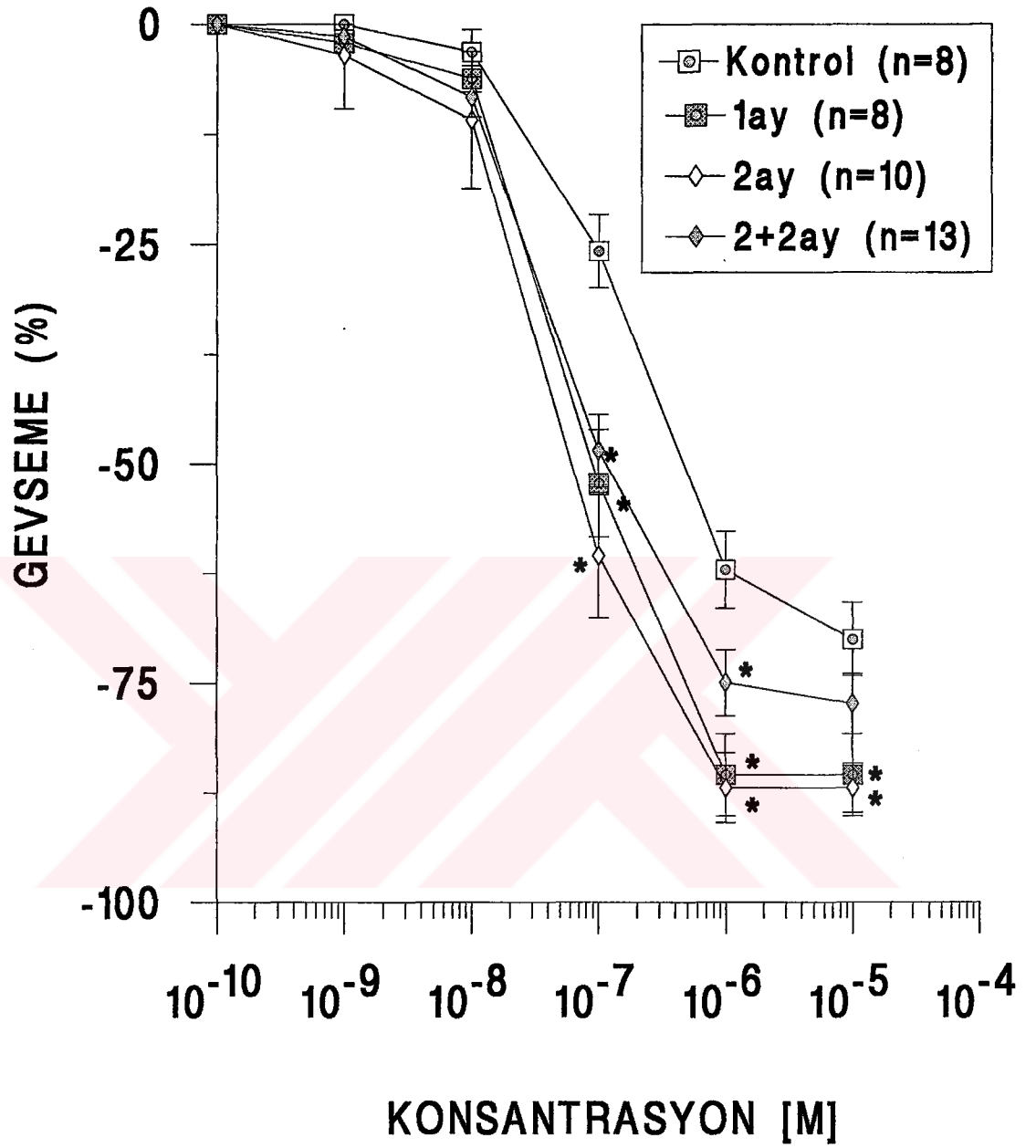


Şekil 2: İzole tavşan korpus kavernozum şeritlerinde 124 mM KCl kasılma cevapları

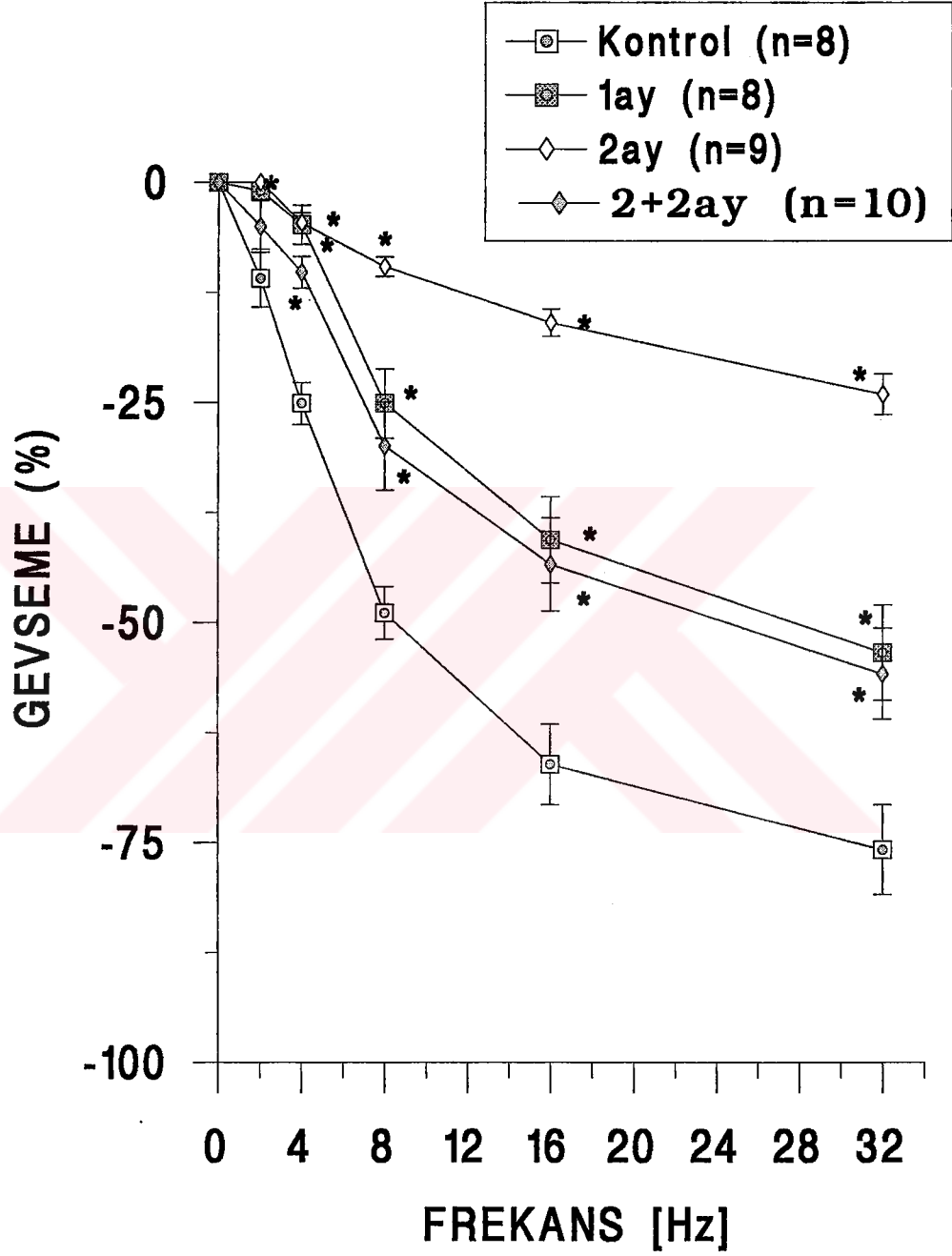


Şekil 3: İzole tavşan korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin konsantrasyon-cevap eğrileri

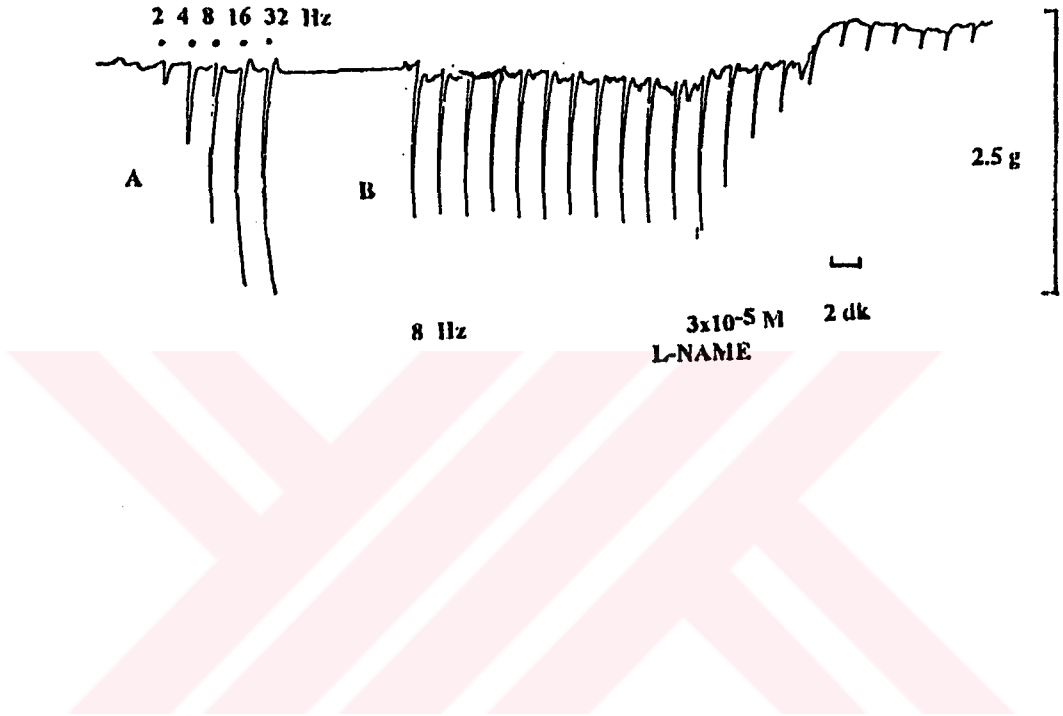
*Kontrol değerine göre $p < 0.05$



Şekil 4: 10^{-5} M fenilefrinle kastırılmış izole tavşan korpus kavernozum şeritlerinde karbakol konsantrasyon-cevap eğrileri
*Kontrol değerine göre $p < 0.05$



Şekil 5: 10^{-5} M fenilefrinle kastırılmış izole tavşan korpus kavernozum şeritlerinde elektriksel alan uyarısı ile oluşan gevşeme cevapları
*Kontrol değerine göre $p < 0.05$

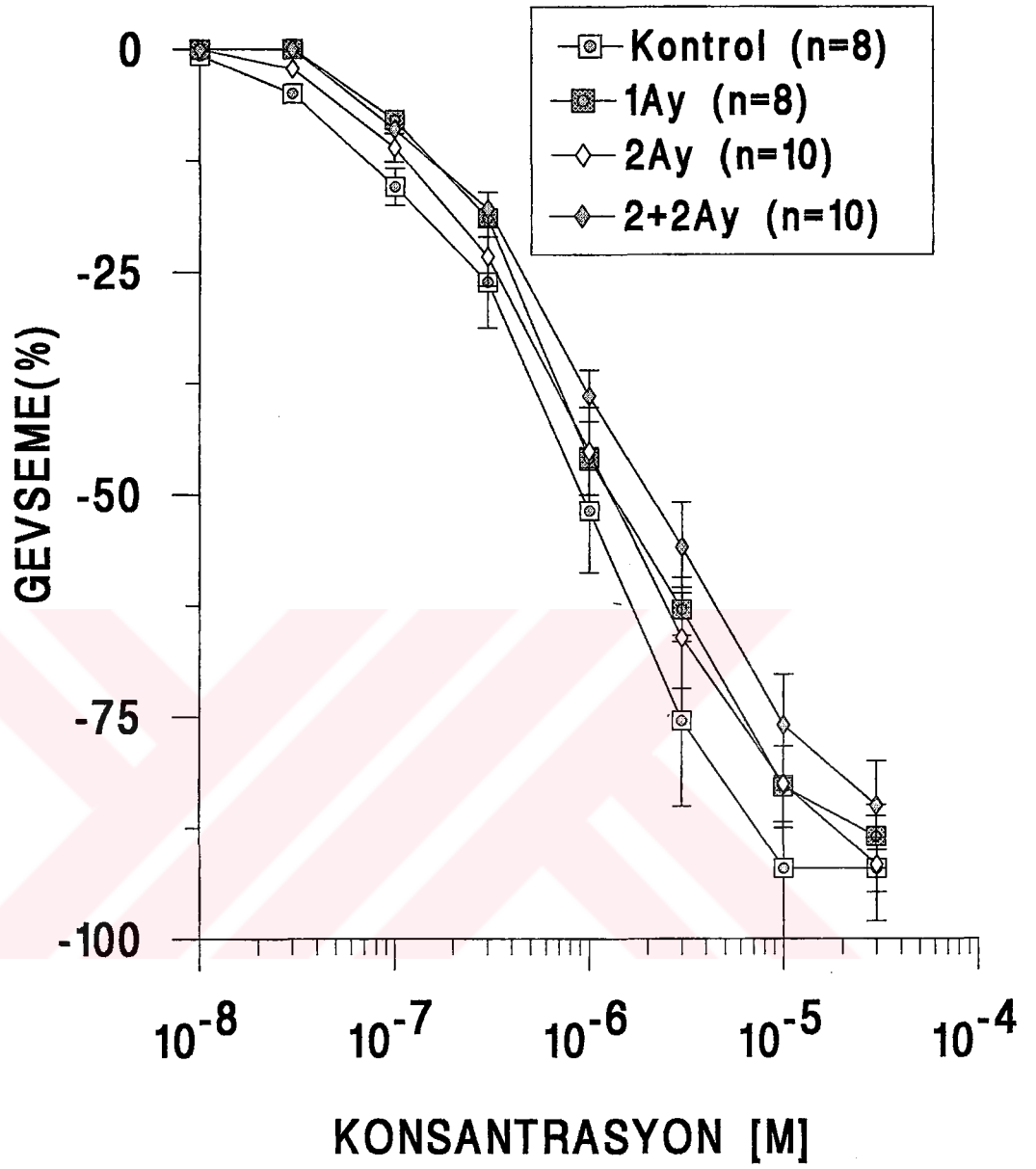


Şekil 6: A) 10^{-5} M fenilefrinle kastrılmış izole tavşan korpus kavernozumunda

elektriksel alan uyarısı ile oluşan frekans-cevap trasesi

B) Elektriksel alan uyarısı ile sabit frekansta (8Hz) oluşan gevşeme cevapları

ve 3×10^{-5} M L-NAME verilmesinin etkisi



Şekil 7: 10^{-5} M fenilefrinle kastırılmış izole tavşan korpus kavernozum şeritlerinde sodyum nitroprusiat konsantrasyon-cevap eğrileri

BÖLÜM V

TARTIŞMA VE SONUÇ

Penis korpus kavernozum düz kas tonusunu kontrol eden üç nöroefektör sistem olduğu bilinmektedir (1,2). Penis ereksiyonu hormonal, arteriyel, venöz, nörolojik ve psikolojik faktörlerin etkileşmesi sonucu oluşan kompleks bir olaydır. Ereksiyondaki ana hemodinamik olay, penis kan akımında artma ve buna bağlı olarak damar direncindeki azalmadır(3-5).

Penis ereksiyonunun oluşmasında, testosteron gibi androjenik steroidlerin katkısının olabileceği düşünülmektedir. Erkeklerde (libido) seksüel ilgi ve seksüel davranış plazma testosteron düzeyleri ile ilişkili olmakla birlikte normal seksüel ilgi ve aktivite için androjenlerin yeri kesin olarak bilinmemekte ve optimal fonksiyon için gerekli androjen miktarı kişiden kişiye değişmektedir(32,33).

Bu çalışmada uzun süreli testosteron kullanımının izole korpus kavernozumda adrenerjik, kolinerjik ve NANK yanıtları üzerindeki etkileri araştırıldı.

İzole tavşan korpus kavernozum şeritlerinde, KCl ile elde edilen kasılma cevabı ve sodyum nitroprusiat ile elde edilen gevşeme cevabı bir aylık testosteron uygulanması, iki aylık testosteron uygulanması ve iki aylık testosteron uygulanan

iki aylık ilaçsız interval uygulanan gruplarda kontrollerine göre anlamlı bir değişiklik göstermedi.

Membran depolarize edici bir madde olan KCl'ün voltaja bağımlı Ca^{++} kanallarının açılmasına neden olduğu ve bu kanallar aracılığı ile Ca^{++} infoklusunu takiben kasılmaya neden olduğu bildirilmiştir (131). Sodyum nitroprusiatın gevşetici etkisinde bir çok mekanizma rol oynar. Potasyum kanallarını açmak suretiyle ve ayrıca membranda elektrojenik sodyum pompasını aktive ederek düz kas hücrelerinde hiperpolarizasyon, reseptörle çalışan kalsiyum kanallarından Ca^{++} girişinin inhibisyonu ve hücrede nitrik oksit salıvermek suretiyle solubl guanilat siklaz- sGMP sistemini aktive ettiği bildirilmiştir (131). Bununla birlikte başka bir çalışmada papaverin ve sodyum nitroprusiat ile oluşan gevşemenin endotelden bağımsız olduğu ve L-NMMA tarafından etkilenmediği bildirilmiştir (132).

Bu çalışmada KCl ve sodyum nitropurisiyat ile elde edilen kasılma ve gevşeme cevaplarına göre, testosteron uygulanmasını takiben düz kasın kasılma ve gevşeme mekanizmalarında bir değişiklik meydana gelmediği sonucuna ulaşılmıştır.

Bir çok araştırmacı trabeküler düz kasında, kavernöz ve helisin arterde adrenerjik sinirlerin olduğunu göstermiştir (6,8,9,11). Penisin gevşek durumunun esas olarak noradrenalin salıverilmesi ile sağlandığı bildirilmiştir (10,17). Noradrenalinin, trabeküler düz kaslar, kavernöz ve helisin arterler üzerindeki etkilerine postsinaptik α adrenoseptörlerin aracılık ettiği ve salıverilmesinde presinaptik α_2 adrenoseptörler aracılığıyla olduğu kabul edilmektedir (24,10,17). Fenilefrin ve noradrenalin penil arter ve venlerin de korpus kavernozum ve spongiozum şeritlerinde, konsantrasyona bağlı kasılmalara neden olmuştur (2,8,10,13,15-20). Bir α_1 agonisti olan fenilefrin ve α_2 agonisti olan klonidin

trabeküler dokuyu kasmışlardır. Fenilefrin ve noradrenalin, klonidine göre daha güçlü kasıcı cevaplar oluşturmuştur (15,17,20). Fakat kavernöz arter şeritlerinde klonidinin, fenilefrin ve noradrenaline göre daha güçlü kasıcı etkisinin olduğu bildirilmiştir (15). Noradrenalinle kastırılmış trabeküler dokuda α_1 adrenoseptör blokörü olan prazosinin gevşeme oluşturduğu, selektif α_2 adrenoseptör blokörü yohimbin ile bu gevşeme cevaplarının oluşturulamadığı gösterilmiştir (15). Kavernöz arter şeritlerinde noradrenalinle oluşturulmuş kasılmaları rovolisin ve prazosin eşit olarak gevşetmiştir (15). Trabeküler dokuda, elektriksel alan uyarısı ile oluşturulan kasılmaları inhibe etmede, prazosin rovolisinden daha güçlü bulunmuştur (15,19). Bu bulgular insan kavernöz dokusunda α_1 'lerin yoğun olduğunu, kavernöz arterlerde ise α_2 'lerin yoğun olduğunu düşündürmektedir (15,17,19,20). Sirkümfleks venlerde ve derin dorsal penis venlerinde de α_1 ve α_2 adrenoseptörlerin olabileceği ileri sürülmüştür (18,42). Diabetik hastalarda fenilefrine karşı hem artmış hemde azalmış duyarlılık bulunduğu, diabetik impotensli hastalarda ise kavernöz doku şeritlerinin fenilefrine karşı duyarlılığında bir fark bulunmadığı bildirilmiştir (50).

Schiavi ve White düşük androjen düzeylerinin hem seksüel hem de erektil yetenekte azalma oluşturduğunu ve hipogonadal bireylerde androjen replasmanının seksüel davranış ve aktivite üzerine önemli bir etkisi olduğunu göstermiştir (33). Ayrıca bazı otonomik reseptörlerin dansitesi üzerine testosteronun çeşitli etkileri olduğu bildirilmiştir (36). Tavşanlara 14 gün testosteron propiyonat verilen bir çalışmada fenilefrin ve noradrenalinin kasılma cevaplarının arttığı, kastrasyon grubunda ise bu kasılma cevapların azaldığı gösterilmiştir (133).

Bu çalışmada, bir aylık testosteron uygulanan grupta fenilefrin kasılma cevaplarında belirgin bir değişiklik saptanmadı. İki aylık testosteron uygulanan

grupta fenilefrine karşı duyarlık artışı ve maksimum cevaplarda önemli bir artış saptanmış. İki aylık testosteron uygulandıktan sonra, iki aylık ilaçsız interval uygulanan grupta fenilefrin cevapları kontrole dönmedi ve kasılma cevaplarında hem kontrole hem de iki aylık gruba göre önemli bir artış saptandı. Fenilefrin kasılma cevaplarındaki bu bulgular korpus kavernozum düz kas hücreleri üzerindeki postsinaptik yerleşimli α_1 reseptör yoğunluğundaki bir artış sonucu olabilir. İki aylık testosteron uygulandıktan sonra, iki aylık ilaçsız interval uygulanan grupta fenilefrin cevaplarının kontrole dönmemesi testosteronun etkisinin devam ettiğini düşündürmektedir.

İnsan korpus kavernozum dokusunda muskarinik reseptörlerin varlığı, radyoligant bağlama çalışmaları ile gösterilmiştir (22,23). Karbakol ve asetilkolinin, izole korpus spongiozum ve kavernozum dokusunda, noradrenalinle oluşturulan kasılmalar üzerine konsantrasyona bağlı gevşemeler yaptıkları ve bazal gerilim üzerine etkilerinin olmadıkları gösterilmiştir (14,15,24,25). Skopolamin ile her iki dokudaki bu gevşetici etkinin inhibe edilmesi, bu gevşetici etkiye muskarinik reseptörlerin aracılık ettiğini göstermektedir (25). Ayrıca asetilkolin tarafından oluşturulan gevşeme cevaplarının endotel harabiyeti sonucu ortadan kalktığı da gösterilmiştir (25). Bu da, vasküler dokularda olduğu gibi gevşeme cevabının damar endotelinden salıverilen bir gevşetici faktör/faktörler aracılığıyla oluştuğunu göstermektedir (15). Tümesensin, eksitatör adrenerjik nörotransmisyonun kolinerjik sinirlerce baskılanması sonucu erektil düz kasın gevşemesi ile oluştuğu görüşünü destekleyen çalışmalar yapılmıştır (24). Karbakolün, konsantrasyona bağlı olarak korpus spongiozum şeritlerinde, adrenerjik sinirlerin elektriksel uyarısı ile [3 H]noradrenalinin salıverilmesini azalttığı ve muskarinik reseptör blokörü olan skopolaminin ise, konsantrasyona bağlı bir şekilde [3 H]noradrenalin salıverilmesini arttırdığı gösterilmiştir (24).

Diabetik impotensli hastalarda [³H]asetilkolinin sentez ve salıverilmesinin azaldığı ve bundan dolayı diabetik impotent hastaların korpus kavernozumunda kolinerjik sinirlerdeki nöropatik durumunun erektil disfonksiyondan sorumlu olabileceği bildirilmiştir(134). Parasempatik aktivitenin adrenerjik sinir uçları üzerindeki muskarinik reseptörleri stimüle etmesi ile noradrenalin salıverilmesinin inhibisyonu ve muskarinik reseptörler aracılığıyla endotelden salıverilen bir gevşetici faktör/ faktörler aracılığıyla oluşan gevşemenin, penis ereksiyonuna sebep olduğu düşünülmektedir (24). Erkek sıçanda kastrasyondan sonra, ejakülasyon kaybı, cinsel temasının sıklığında azalma ve sonunda da seksüel teması devam ettirici davranışta azalma olduğunu gösterilmiştir (33). Bu fizyolojik fonksiyonların testosteronun yerine konması ile düzeldiği bildirilmiştir (33). Tavşanlara 14 gün testosteron verilmesinden sonra izole tavşan korpus kavernozum da asetilkolin cevaplarının arttığı bulunmuştur (133). Başka bir çalışmada 4 gün 17β-estradiol verilen tavşanların izole femoral arterlerinde asetilkolinin endotele bağlı gevşemeleri arttırdığı gösterilmiştir (135). Ayrıca asetilkolin, bradikinin ve P maddesi ile korpus kavernozumda oluşturulan gevşemelerin endotele bağlı olduğu, insan ve tavşan kavernöz dokusunda endoteli tahrip ederek veya L-NMMA veya metilen mavisi kullanarak gevşemelerin inhibe edilmesiyle gösterilmiştir (132).

Bu çalışmada testosteron tedavisini takiben karbakol cevaplarının artmış olduğu saptandı. İzole edilmiş korpus kavernozum şartlarında fenilefrinle submaksimal bir kasılma sağlandıktan sonra ortama karbakol ilavesiyle gevşeme oluştu. Bu gevşeme dengeye ulaştıktan sonra ortama eklenen NO-sentetaz inhibitörü L-NAME ile bu gevşeme bloke edildi ve bazal tonusta artış saptandı. Karbakolün, bu gevşetici etkisini, endotel kaynaklı bir madde aracılığıyla yaptığını göstermektedir. Bir aylık ve iki aylık testosteron uygulanan gruplarda

karbakol gevşeme yanıtlarının artmış olması, korpus kavernozum düz kası üzerindeki muskarinik reseptör yoğunluğundaki bir artış sonucu olabilir. Ayrıca testosteron korpus kavernozum sinüzoid endotel hücrelerinden EDRF'nin üretim ve salıverilmesini aktive veya korpus kavernozum düz kas hücrelerinin EDRF'ye cevap vermesini arttırmış olabilir. İki aylık testosteron uygulandıktan sonra iki aylık ilaçsız bir interval bırakılan grupta gevşeme cevaplarının kontrole tam olarak dönmemesi, testosteronun, uzun süre kullanılması sonucu reseptör yoğunluğundaki yaptığı artışın veya endotelde EDRF üretim ve salıverilme mekanizmaları üzerindeki etkisinin devam ettiğini düşündürülebilir.

NANK inhibitör innervasyonun varlığı ilk olarak sıçan anokoksigeus ve sığır retraktör penis kaslarında saptanmıştır (73,74). Sıçan anokoksigeus kasının sinirlerinin elektriksel uyarısı ile oluşan cevabın, NO içeren nitrovazodilatörlerce taklit edildiği gösterilmiştir (75). Korpus kavernozum dokusunda, yalnızca endotelden NO salıveren veya diğer ajanların uygulanmasından sonra değil, aynı zamanda sinirlerin elektriksel uyarımı ile de gevşemelerin oluştuğu saptanmıştır (25,49,74). Sıçan ve tavşan korpus kavernozum dokusunda, [³H]arginini [³H]sitruline dönüştürebilen önemli bir NOS aktivitesi gösterilmiştir (84). NOS'ın, beyin sinir dokusunda olduğu gibi tavşan korpus kavernozum dokusunda da varlığı gösterilmiştir. Ayrıca NOS'ın immünohistokimyasal olarak sıçan penisinde de olduğu saptanmıştır (85). Tavşan korpus kavernozumunda endotel kaynaklı NOS'ın membrana bağlı, buna karşılık nöronal NOS'un ise sitozolik yani solübl olduğunun saptanması, penisteki NO'nun esas kaynağının nöronal NO olduğunu göstermiştir (86). Korpus kavernozum şeritlerinde, EAU'na bağlı gevşeme cevaplarının, endotel hasarından sonrada oluşabildiği buna karşılık asetilkolin, bradikinin ve P maddesine bağlı gevşeme cevaplarının ortadan kalktığı gösterilmiştir (25,49,74). İnsan ve tavşan korpus kavernozumunda nitrogliserin, sodyum nitropurisiyat, S-

nitrozo-N-asetilpenisilinamin ve SIN-1 gibi vazodilatörlerin enzimatik yada nonenzimatik yolla NO salıvererek konsantrasyona bağlı gevşemeler oluşturdukları gösterilmiştir (29-31,89,90,93). NO ya da NO ile ilgili nitrovazodilatörlerin, korpus kavernozum gevşemesini solübl guanilat siklaz enzimini uyararak yaptığı bilinmektedir. Bu bulgular hem tavşan hem de insan korpus kavernozum dokusunda doğrulanmıştır (29,89,90).

İmpotensli diabetik hastalarda, izole korpus kavernozum dokusunda hem nörojenik hem de endotele bağlı gevşemelerin bozulduğu gösterilmiştir (106). Hiperkolesterolemide de, tavşan korpus kavernozum düz kasındaki, endotel aracılı gevşemenin bozulduğu bildirilmiştir (136). Kastrasyondan sonra NANK sinir aracılı gevşemelerin tavşan korpus kavernozum dokusunda arttığı gösterilmiştir (137). Androjenlerle östrojenler arasındaki dengede bir değişikliğe neden olan kastrasyon ile oluşturulan hormonal değişiklik, NO'nun sentez ve salıverilmesini stümüle ya da adrenerjik sinirlerden noradrenalin salıverilmesini suprese edebilir fakat bu etkinin mekanizması bilinmemektedir. İn vitro çalışmalar, hormonal faktörlerin korpus kavernozum dokusundaki sinirlerin EAU ile oluşan cevapları etkileyebileceğini bildirmişlerdir (39,137). L-NNA, L-NMMA ve L-NAME gibi L-arginin analoglarının, asetilkolin, karbakol ve elektriksel alan uyarısı ile oluşturulan kavernöz doku gevşemesini inhibe ettiği saptanmıştır (29-31,81). L-NNA'nın elektriksel alan uyarısı ile noradrenaline bağlı kasılmaları artırdığı gösterilmiştir(31). EAU ile elde edilen gevşemelerin tetradotoksin ile ortadan kalkması, gevşeme cevaplarının sinir uyarısına bağlı olduğunu gösterir (93). Ayrıca adrenerjik nöron blokörü guanetidini ve muskarinik reseptör blokörü atropin varlığında EAU ile elde edilen gevşemelerin 3×10^{-5} M L-NAME ilave edilmesi ile belirgin şekilde azalması ve tonusta artış olması bu gevşemelerin nitrejenik sinirler aracılığıyla olduğunu göstermektedir.

Testosteron verilmesi iki aylık grupta belirgin olmak üzere diğer gruplarda da gevşemeleri azaltmıştır. Testosteron nöronal NO'nun sentez ve saliverilmesini azaltabilir. İki aylık ilaç uygulandıktan sonra iki aylık ilaçsız interval bırakılan grupta da gevşeme tamamen kontrole dönmemiştir. Bu testosteronun etkilemiş olduğu düşünülen mekanizmalar üzerindeki etkisinin tamamen kalkmamış olduğunu ve etkisinin devam ettiğini düşündürmektedir.

Sonuçta, uzun süreli testosteron uygulanmasının düz kasın kasılma ve gevşeme fonksiyonlarında bir değişiklik oluşturmadığı korpus kavernozumda KCl kasılma ve sodyum nitroprusiat gevşeme cevaplarının değişmemesiyle gösterilmiştir. Buna karşın, fenilefrin, karbakol ve EAU ile oluşan cevaplardaki değişiklikler, testosteronun adrenerjik, kolinerjik ve NANK sistemleri muhtemelen reseptör düzeyinde değişikliklerle etkilediğini göstermektedir.

ÖZET

Eretil disfonksiyonu olan ve plazma testosteron düzeyleri düşük bulunan bazı hastalarda androjenle yerine koyma tedavisinden sonra eretil disfonksiyonlarda düzelme görüldüğü bildirilmiştir. Ayrıca testosteronun bazı otonomik reseptörlerin dansitesi üzerinde çeşitli etkilere sahip olduğu, L-Arginin/NO sisteminin seks hormonları da dahil olmak üzere çeşitli faktörler tarafından etkilendiği gösterilmiştir.

Bu çalışmada uzun süreli testosteron kullanımının penis korpus kavernozumunun gevşemesi ve kasılması üzerine olan etkileri araştırıldı.

Tavşanlar dört gruba ayrıldı. Kontrol grubu, bir aylık testosteron uygulanan grup, iki aylık testosteron uygulanan grup ve iki aylık testosteron uygulandıktan sonra iki aylık ilaçsız bir interval bırakılan gruba ayrıldı. Gerek kontrol, gerekse deney grubunda bulunan tavşanlardan anestezi altında zedelenmeden çıkarılan penis dokusu çevre dokulardan temizlendi ve korpus kavernozum şeritleri hazırlandı. Hazırlanan şeritler Krebs-bikarbonat solüsyonu içeren 20 ml'lik organ banyosuna asıldı. 2 gr ön gerilim altında 1.5 saat dengelenmeye bırakıldı. Kasılma ve gevşeme cevapları izometrik olarak kaydedildi.

KCl, fenilefrin, karbakol, EAU, Na-Nitroprusiat, L-NAME, uygulandı. Korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin 2 aylık ve 2 aylık ilaç uygulanan ve 2 aylık ilaçsız bir interval bırakılan grupta kontrollere göre konsantrasyona bağlı kasılmalarda belirgin artış oluşturdu. Karbakol 1 aylık ve 2 aylık grupta belirgin bir gevşeme yaparken, iki aylık ilaçlı ve iki aylık ilaçsız interval bırakılan grupta gevşeme cevaplarını tamamen kontrole döndürmedi. EAU ile oluşturulan gevşemelerde 1 aylık, 2 aylık ve 2 aylık ilaç uygulanan ve 2 aylık ilaçsız bir interval bırakılan grupta anlamlı olarak azalma saptandı. Na-Nitroprusiat ile oluşan gevşemelerde kontrol ve deney grupları arasında anlamlı bir değişiklik bulunmadı.

Bu sonuçlar göstermektedir ki, testosteronun adrenerjik, kolinerjik ve NANK cevapları, postsinaptik düzeyde reseptör sentezini etkileyerek veya presinaptik olarak sinir etkinliğini değiştirerek ya da L-arginin /NO sistemini etkileyerek değiştirebilir.

ABSTRACT

It has been reported that erectile dysfunction in some patients with low serum testosterone improved after androgen replacement therapy. The testosterone has been reported to have various effects on the density of some autonomic receptors. The L-arginine/ NO system may be modulated by several factors, including sexual hormones.

In this study, we was to investigated the effect of long-lasting testosterone therapy on the contractile and the relaxant responses corpus cavernosum.

Male rabbits used in this study were divided into four groups. Group 1 served as control; while group 2 were injected testosterone propionate 10mg/day intramuscular (i.m) for 1 month; group 3 were injected testosterone propionate 10mg/day i.m for 2 months, and group 4 were given testosterone propionate 10mg/gün i.m for 2 months followed by 2 months non-drug period.

Corpus cavernosum excised from rabbits and dissected to obtain corpus cavernosum strips. These strips were mounted under 2 g resting tension in a 20 ml organ bath containing Krebs'-bicarbonate solution and equilibrated for 2 hours. Phenylephrine responses significantly increased in group 3 and group 4 compared to control group. These phenylephrine responses did not return to control values in group 4. Carbachol responses significantly increased in group 2 and group 3 compared to control group. These carbachol responses decreased, but did not returned to control values in group 4. Relaxation responses obtained by electrical field stimulation decreased in all experimental groups compared with the control.

These results suggest that testosterone may bring about some changes on the functions of adrenergic, cholinergic and NANC nerves by changing the receptor density or stimulation of the synthesis and/or release of NO.

KAYNAKLAR

- 1-Saenz De Tejada I., Carson M.P., et. al. Role of endothelin, a novel vasoconstrictor peptide, in the local control of penile smooth muscle. *J. Urol.* 141:222A,1989.
- 2-Pickard R.S., King P., et. al. Corpus cavernosal relaxation in impotent men. *Br. J. Urol.* 74:485-491, 1994.
- 3-Heaton J.P.W. Synthetic nitrovasodilators are effective, in vitro, in relaxing penile tissue from impotent men: the findings and their implications. *Can J. Physiol. Pharmacol.* 67: 78-81, 1989.
- 4-Lue T.F., Tanagho E.A. Physiology of erection and pharmacological management of impotence. *J. Urol.* 137:829-836, 1987.
- 5-Shirai M., Maki A., Takanami M. et. al. Content and distribution of vasoactive intestinal polypeptide(VIP) in cavernous tissues of human penis. *Urology* 35: 360-363, 1990.
- 6-Shirai M., Sasaki K., Rikimaru A. Histochemical investigation on the distribution of adrenergic and cholinergic nerves in human penis. *Tohoku J. Exp. Med.* 107:403-404, 1972.
- 7-Benson G.S., McConnell J. et. al. Neuromorphology and neuropharmacology of the human penis. *J. Clin. Invest.* 65: 506-513, 1980.
- 8-McConnell J., Benson G.S. Innervation of human penile blood vessels. *Neurourol. Urodyn.* 1: 199-210, 1982.
- 9-Gu J., Polak J.M. et. al. Peptidergic innervation of the human male genital tract. *J. Urol.* 130:368-391, 1983.
- 10-Costa P., Soulie-Vassal M.L., Sarrazin B., Rebillard X., Navratil H., Bali J.P. Adrenergic receptors on smooth muscle cells isolated from human penile corpus cavernosum. *J. Urol.* 150: 859-863, 1993.

- 11-Adaikan P.G., Karim S.M.M. Adrenoceptors in the human penis. *J. Auton. Pharmacol.* 1:199-203, 1981.
- 12-Andersson K.E., Hedlund H. et. al. Relaxation of isolated human corpus spongiosum induced by vasoactive intestinal polypeptide, substance P, carbachol and electrical field stimulation. *World J. Urol.* 1:203-208, 1983.
- 13-Hedlund H., Andersson K.E. Comparison of the responses to drugs acting on adrenoceptors and muscarinic receptors in human isolated corpus cavernosum artery. *J. Auton. Pharmacol.* 5:81-88, 1985.
- 14-Imagava A., Kimura K. et. al. Effect of moxislyte hydrochloride on isolated human penile corpus cavernosum. *Life Sci.* 44:619-623, 1991.
- 15-Kimura K., Kawanishi Y. et. al. Assessment of the alpha-adrenergic receptors in isolated human and canine corpus cavernosum tissue. *Int. J. Impotence Res.* 1: 85-189, 1989.
- 16-Kirkeby H.J., Forman A. et. al. Alfa-adrenoceptor function in isolated penile circumflex veins from potent and impotent men. *J. Urol.* 142:1369-1371, 1989.
- 17-Saenz De Tejada I., Kim N. et. al. Regulation of adrenergic activity in penile corpus cavernosum. *J. Urol.* 142:1117-1121, 1989.
- 18-Christ G.J., Maayani S. et. al. Pharmacological studies of human erectile tissue: characteristics of spontaneous contractions and alterations in alfa-adrenoceptor responsiveness with age and disease in isolated tissues. *Br. J. Pharmacol.* 101:375-381, 1990.
- 19-Christ G.J., Stone B., Melman A. Age-dependent alterations in the efficacy of phenylephrine-induced contractions in vascular smooth muscle from the corpus cavernosum of impotent men. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 69:909-913, 1991.

- 20-Christ G.J., Schwartz C.B. et. al. Kinetic characteristics of alfa1-adrenergic contractions in human corpus cavernosum smooth muscle. *Am. J. Physiol.* 263:H15-H19, 1992.
- 21- Adakain P.G., Kottegoda S.R., Ratnam S.S. Is vasoactive intestinal polypeptide the principal transmitter involved in human penile erection? *J. Urol.* 135: 638-640, 1986.
- 22-Godec C.J., Bates H. Cholinergic reseptors in corpora cavernosa. *Urology* 24:31-33,1984.
- 23-Traish A.M., Carson M.P. et. al. Characterization of muscarinic acetylcholine receptors in human penile corpus cavernosum: studies on whole tissue and cultured endothelium. *J. Urol.* 144:1036-1040, 1990.
- 24-Hedlund H., Andersson K.E., Mattiasson A. Pre- and postjunctional adreno and muscarinic reseptor functions in the isolated human corpus spongiosum urethrae. *J. Auton. Pharmacol.* 4:241-249, 1984.
- 25-Saenz De Tejada I., Blanco R. et. al. Cholinergic neurotransmission in human corpus cavernosum.I.Responses of isolated tissue. *Am. J. Physiol.* 254:H468-472, 1988.
- 26-Gu J., Polak J.M. et. al. Decrease of vasoactive intestinal polypeptide(VIP) in the penises from impotent men. *Lancet* 2:315-318, 1984.
- 27-Lincoln J., Crowe R. et. al. Changes in the VIPergic, cholinergic and adrenergic innervation of human penile tissue in diabetic and non-diabetic impotent males. *J.Urol.*137:1053-1959, 1987.
- 28-Knispel H.H., Goessl C., Beckman R. Nitric oxide mediates relaxation in rabbit and human corpus cavernosum smooth muscle. *Urol.Res.*20:253-257, 1992.

- 29- Ignarro L.J., Bush P.A. et. al. Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 170:843-850, 1990.
- 30-Holmquist F., Hedlund H., Andersson K.E. L-NG-nitro arginine inhibits non-adrenergic, non-cholinergic relaxation of human isolated corpus cavernosum. *Acta Physiol. Scand.* 141:441-442, 1991.
- 31-Holmquist F., Andersson K.E., Hedlund H.: Characterization of inhibitory neurotransmission in the isolated corpus cavernosum from rabbit and man. *J.Physiol.(Lond.)* 449:295-311, 1992.
- 32-Bhasin S. Clinical review 34: Androgen treatment of hipogonadal men. *J. Clin. Endocr. Metab.* 74: 1221-1225, 1992.
- 33-Dale McClure R. Endocrine evaluation and therapy of erectile dysfunction. *Urologic Clinics of North America* 15: 53-64, 1988.
- 34-O'Carroll R., Bancroft J. Testosterone therapy for he sexual interest and erectile dysfunction in men: A controlled study. *British Journal of Psychiatry* 145:146-151, 1984.
- 35-Morales A., Johnston B., Heaton J.W.P., Clark A. Oral androgens in the treatment of hypogonadal impotent men. *The Journal of Urology* 152:1115-1118, 1994.
- 36-Anderson G.F., Susan P.N.: The response of autonomic receptors to castration and testosterone in the urinary bladder of the rabbit. *The Journal of Urology* 140:885-889, 1988.
- 37-Anderson K.E. Clinical pharmacology of potassium channel openers. *Pharmacol Toxicol.* 70: 244-254, 1992.
- 38-Krane R.J., Goldstein I., Saenz DeTejada I., Impotence. *N.Engl.J.Med.*321:1648-1659, 1989.

- 39-Andersson K.E. and Holmquist F. Mechanisms for contraction and relaxation of human penile smooth muscle. *Int.J. Impotence Res.*2:209-225, 1990.
- 40-Adaikan P.G., Lau L.C. et. al. Physio-pharmacology of human penile erection- autonomic/nitroergic neurotransmission and receptors of the human corpus cavernosum. *Asian Pac.J.Pharmacol.*6:213-227, 1991.
- 41-Fontaine J., Schulman C.C., Wespes E. Postjunctional alpha-1- and alpha-2- like activity in human isolated deep dorsal vein of the penis. *Br.J.Pharmacol.*89:493, 1987.
- 42-Holmquist F., Andersson K.E. et. al. K⁺channel openers for relaxation of isolated penile erectile tissue from rabbit. *J.Urol.*144:146-151, 1990.
- 43-Holmquist F., Andersson K.E., Hedlund H. Actions of endothelin on isolated corpus cavernosum from rabbit and man. *Acta Physiol.Scand.*139:113-122, 1990.
- 44-Broderick G., Hypolite J., Levin R.M. In-vitro contractile response of the rabbit corpus cavernosa to field stimulation and autonomic agonists and antagonists:a qualitative study. *Neurourol.Urodyn.*10:507-515, 1991.
- 45-Goldstein A.M.B., Padma-Nathan H. The microarchitecture of the intracavernosal smooth muscle and the cavernosal fibrous skeleton. *J.Urol.*144:1144-1146, 1990.
- 46-Banya Y., Ushiki T. et. al. Two circulatory routes within the human corpus cavernosum penis:a scanning electron microscopic study of corrosion casts. *J.Urol.*142:879-883, 1989.
- 47-Holmquist F., Andersson K.E., and Hedlund H. Effects of pinacidil on isolated human corpus cavernosum penis. *Acta Physiol.Scand.*138:463-469, 1990.
- 48-Kimoto Y., Kessler R., Constantinou C.E. Endothelium dependent relaxation of human corpus cavernosum by bradykinin. *J.Urol.*144:1015-1017, 1990.

- 49-Fovaeus M., Andersson K.E., Hedlund H.** Effects of some calcium channel blockers on isolated human penile erectile tissue. *J.Urol.*138:1267-1272, 1987.
- 50-Christ J.G., Maayani S., Valcic M., Melman A.** Pharmacological studies of human erectile tissue: characteristics of spontaneous contractions and alterations in α -adrenoceptor responsiveness with age and disease in isolated tissues. *Br. J. Pharmacol.* 101: 375-381, 1990.
- 51-Polak J.M., Gu J., Mina S. Bloom S.R.** Vipergic nerves in the penis. *Lancet* 2:217-219, 1981.
- 52-Steers W.D., Mc Connell J., Benson G.S.** Anatomical localization and some pharmacological effects of vasoactive intestinal polypeptide in human and monkey corpus cavernosum *J. Urol.* 132: 1048-1093, 1984.
- 53-Andersson K.E., Holmoquist F., Wagner G.** Pharmacology of drugs used for treatment of erectile dysfunction and priapism. *Int. J. Impotence Res.* 3:155-172, 1991.
- 54-Carati C.J., Goldie R.G., Warton A., et. al.** Pharmacology of the erectile tissue of canine penis. *Pharmacol Res Comm* 17:951, 1985.
- 55-Price DT., Schwinn D.A., Kim J.H. et. al.** Alpha adrenergic receptor subtype mRNA expression in human corpus cavernosum (abstr.287). *J.Urol.* 149:285A, 1993.
- 56-Brindley G.S.** Cavernosal alpha-blokade and human penile erection. *J. Physiol. (Lond.)* 342:24, 1983.
- 57-Brindley G.S.** Cavernosal alpha-blokade: a new technique for investigating and treating erectile impotence. *Br. J. Psychiatry* 143:332-337, 1983.
- 58-Brindley G.S.** Pilot experiments on the actions of drugs injected into the human corpus cavernosum penis. *Br.J. Pharmacol.* 87: 495-500, 1986.

- 59-Blum M.D., Bahnson R.R., Porter T.M., Carter M.F. Effect of local alpha-adrenergic blockade on human penile erection. *J. Urol.* 134: 479-481, 1985.
- 60-Buvat J., Lemaire A., Buvat-Herbaut M., Marcolin G. Safety of intracavernous injections using an alpha-blocing agent. *J. Urol.* 141: 1364-1367, 1989.
- 61-Dhabuwala C.B., Ramakrishna V.R., Erson G.F.: Beta adrenergic receptors in human cavernous tissue. *J.Urol.* 133:721-723, 1985.
- 62-Anderson P.O., Bjornberg J., Bloom S.R., et. al. Vasoactive intestinal polypeptide in relation to penile erection in the cat evoked by pelvic and hypogastric nerve stimulation. *J. Urol.* 138:419, 1987.
- 63-Anderson P.O., Bloom S.R., Mellander S. Haemodynamics of pelvic nerve induced penile erection in the dog: possible mediation by vasoactive intestinal polypeptide. *J. Physiol* 350:209, 1984.
- 64-Blanco R., Saenz de Tejada I., Goldstein I., et. al. Uptake of [3H]-choline and synthesis and release of [3H]acetylcholine in human corpus cavernosum. *Surg Forum* 37:635, 1986.
- 65-Adaikan P.G., Karim S.M.M., Kottegoda S.R., Ratnam S.S. Cholinergic receptors in the corpus cavernosum muscle of the human penis. *J. Auton. Pharmacol.* 3:107-111, 1983.
- 66-Brindley G.S., Craggs M.D. Effect of atropine on the urinary bladder of the baboon and of man. *J. Physiol* 256:55, 1976.
- 67-Carati C.J., Creed K.E., Keogh E.J.H. Autonomic control of penile erection in the dog. *J. Physiol* 384:525, 1987.
- 68-De Meyer J.M., De Sy W.A. Intracavernous injection of noradrenaline in interrupt erections during surgical interventions. *Eur. Urol.* 12: 169-170, 1986.
- 69-Dorr L.D., Brody M.J. Hemodynamic mechanisms of erection in the canine penis. *Am. J. Physiol.* 213:1526, 1967.

- 70-Henderson V.E., Repke M.H.** On the mechanism of erection. *Am. J. Physiol.* 106:441,1933.
- 71-Klinge E., Sjostrand NO.** Suppression of the excitatory adrenergic neurotransmission a possible role of cholinergic nerves in the retractor penis muscle. *Acta Physiol. Scand.* 100: 368-376, 1977.
- 72-Gillespie J.S.** The rat anococcygeus muscle and its response to nerve stimulation and to some drugs. *Br. J. Pharmacol.* 45:404-416, 1972.
- 73-Klinge E. Sjöstrand N.O.** Contraction and relaxation of the retractor penis muscle and the penile artery of the bull. *Acta Physiol.Scand.(Suppl)* 420:1-88, 1974.
- 74-Knispel H.H., Goessel C., Beckmann R.** Basal and acetylcholine-stimulated nitric oxide formation mediates relaxation of rabbit cavernous smooth muscle. *J. Urol.* 146: 1429-1433, 1991.
- 75-Furchgott R.F., Zawadski J.V.** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature(Lond.)* 288:373-376, 1980.
- 76-Furchgott R.F.** The role of endothelium in the responses of vascular smooth muscle to drugs. *Annu.Rev.Pharmacol.Toxicol.*24:175-197, 1984.
- 77-Palmer R.M.J., Ferrige A.G. Moncada S.** Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature(Lond.)* 327:524-526, 1987.
- 78-Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A.** Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. *Biochem. Pharmacol.* 38:1709-1715, 1989.
- 79-Moncada S.** The L-arginine: nitric oxide pathway. The 1991 ulf von Euler Lecture. *Acta Physiol. Scand.* 145: 201-227, 1992.

80-Azadzoï K.M., Saenz de Tejada I. Diabetes mellitus impairs neurogenic and endothelium-dependent relaxation of rabbit corpus cavernosum smooth muscle. *J. Urol.* 148:1587-1591, 1992.

81-Knispel H.H., Goessl C., Beckman R. Nitric oxide mediates neurogenic relaxation induced in rabbit cavernous smooth muscle by electric field stimulation. *Urology* 40: 471-476, 1992.

82-Kim N., Azadzoï K.M. et. al. A nitric oxide-like factor mediates nonadrenergic-noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle. *J.Clin.Invest.*88:112-118, 1991.

83-Burnett A.L., Lowenstein C.J. et. al. Nitric oxide:a physiologic mediator of penile erection. *Science* 257:401-403, 1992.

84-Bush P.A., Gonzalez N.E., Ignarro L.J. Biosynthesis of nitric oxide and citrulline from L-arginine by constitutive nitric oxide synthase present in rabbit corpus cavernosum. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*186:308-314, 1992.

85-Forstermann U., Schmidt H.H.H.W. et. al. Isoforms of nitric oxide synthase. *Biochem. Pharmacol.* 42:1849-1857, 1991.

86-Pickard R.S., Powell P.H., Zar M.A. The effect of inhibitors of nitric oxide biosynthesis and cyclic GMP formation on nerve-evoked relaxation of human cavernosal smooth muscle. *Br.J.Pharmacol.* 104:755-759, 1991.

87-Rajfer J., Aronson W.J. et. al. Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum on response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission. *N.Engl.J.Med.* 326:90-94, 1992.

88-Bush P.A., Aronson W.J. et. al. Nitric oxide is a potent relaxant of human and rabbit corpus cavernosum. *J.Urol.*147:1650-1655, 1992.

- 89-Bush P.A., Aronson W.J. et. al.** Comparison of nonadrenergic, noncholinergic and nitric oxide-mediated relaxation of corpus cavernosum. *Int.J.Impotence Res.*4:85-93, 1992.
- 90-Kim N., Vardi Y. et. al.** Oxygen tension regulates erection by modulating nitric oxide production in corpus cavernosum. *Int.J.Impotence Res.*4:A3, 1992.
- 91-Kim N., Vardi Y. et. al.** Oxygen tension regulates the nitric oxide pathway. Physiological role in penile erection. *J.Clin.Invest.*91:437-442, 1993.
- 92-Kirkeby H.J., Svane D. et. al.** Role of the L-arginine/nitric oxide pathway in relaxation of isolated human penile cavernous tissue and circumflex veins. *Acta Physiol.Scand.*1993.
- 93-Martin W., Villani G.M. et. al.** Selective blockade of endothelium-dependent and glyceryl trinitrate-induced relaxation by haemoglobin and by methylene blue in the rabbit aorta. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*232:708-716, 1985.
- 94-Waldman S.A., Murad F.** Cyclic GMP synthesis and function. *Pharmacol.Rev.*39:163-196, 1987.
- 95-Wolin M.S., Chfery P.D. et. al.** Methylene blue inhibits vasodilatation of skeletal muscle arterioles to acetylcholine and nitric oxide via the extracellular generation of superoxide anions. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*254:872-876, 1990.
- 96- Marczin N., Ryan U.S., Catravas J.D.** Methylene blue inhibits nitrovasodilator and endothelium-derived relaxing factor-induced cyclic GMP accumulation in cultured pulmonary arterial smooth muscle cells via generation of superoxide anion. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 263: 170-179, 1992.
- 97-Crati C.J., Creed K.E., Keogh E.J.** Vascular changes during erection in the dog. *J. Physiol* 400: 75-88, 1986.

98-Aoki H., Takagane H., Matsuzaka J., et. al. Quantitative analysis of outflow pathway of corpora cavernosa by pressure flow technique. *J. Urol.* 141: 645-650, 1989.

99-Holmquist F., Stief C.G., Jonas U., Andersson K.E. Effect of the nitric oxide synthase inhibitor N^{G} -nitro-L-arginine on the erectile response to cavernous nerve stimulation in the rabbit. *Acta Physiol Scand.* 143: 299-304, 1991.

100-Finberg J.P.M., Vardi Y. Evidence for a role of EDRF in penile erection. *Br. J. Pharmacol.* 102: 82p, 1991.

101-Trigo-Rocha F., Aronson W.J. et. al. Nitric oxide and cyclic guanosine monophosphate: mediators of pelvic nerve-stimulated erection in dogs. *Am.J.Physiol.* 264:H419-H422,1993.

102-Stief C.G., Holmquist F. et. al. Preliminary report on the effect of the nitric oxide(NO) donor SIN-1 on human cavernous tissue in vivo. *World J.Urol.* 9:237-239,1991.

103-Stief C.G., Holmquist F. et. al. Preliminary results with the nitric oxide donor linsidomine chlorhydrate in the treatment of human erectile dysfunction. *J.Urol.* 148:1437-1440,1992.

104-Steers W.D., Selby J.B. Use of methylene blue and selective embolization of the pudendal artery for high flow priapism refractory to medical and surgical treatments. *J.Urol.* 146:1361-1363, 1991.

105- Sanz de Tejada I., Goldstein I., Azadzo K., Krane R.J., Cohen R.A. Impaired neurogenic and endothelium-mediated relaxation of penile smooth muscle from diabetic men with impotence. *N. Engl. J Med.* 320:1025-1030, 1989.

106-Claes H., Baert L. Transcutaneous nitroglycerin therapy in the treatment of impotence. *Urol. Int.* 44: 309-312, 1989.

- 107-Heaton J.P.W., Morales A., Owen J., et. al. Topical glyceryl trinitrate causes measurable penile arterial dilatation in impotent men. *J. Urol.* 143:729-731, 1989.
- 108-Owen J.A., Saunders F., Harris C., Fenemore J., et. al. Topical nitroglycerin : a potential treatment for impotence. *J. Urol.* 141: 546-548, 1989.
- 109-Meyhoff H.H., Rosenkilde P., Bodker A. Non-invasive management of impotence with transcutaneous nitroglycerin. *Br. J. Urol.* 69: 88-90, 1992.
- 110-Saenz de Tejada I., Carson M.P., De Las Morenas A., Goldstein I., Traish A.M. Endothelin: localization, synthesis, activity and receptor types in human penile corpus cavernosum. *Am. J. Physiol.* 261: H1078-H1085, 1991.
- 111-Holmquist F., Kirkeby H.J., Larsson B., Forman A., Andersson K.E.: Functional effects binding sites and immunolocalization of endothelin-1 in isolated penile tissues from man and rabbit. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 261:795-802, 1992.
- 112-Holmquist F., Persson K. , Garcia-Pascual A., Andersson K.E. Phospholipase C activation by endothelin-1 and noradrenaline in isolated penile erectile tissue from rabbit. *J.Urol.*147:1632-1635, 1992.
- 113-Lau L.C., Adaikan P.G., Ratnam S.S. Effect of endothelin-1 on the human corpus cavernosum and penile vasculature. *Asia Pacific J. Pharmacol.* 6:287-292,1991.
- 114-Willis E.A., Ottesen B., Wagner G., Sundler F., Fahrenkrug J. Vasoactive intestinal polypeptide(VIP) as a putative neurotransmitter in penile erection. *Life Sci.* 33: 383-391. 1983.
- 115-Larsen J.J., Ottesen B., Fahrenkrug J., Fahrenkrug L. Vasoactive intestinal polypeptide(VIP) in the male genito-urinary tract, concentration and motor effect. *Invest. Urol.* 19:211-213, 1981.

- 116-Kirkeby H.J., Fahrenkrug J., Holmquist F., Ottesen B. Vasoactive intestinal polypeptide(VIP) and peptide histidine methionine(PHM) in human penile corpus cavernosum tissue and circumflex veins: localization and in vitro effects. *Eur. J. Clin. Invest.* 22:24-30, 1992.
- 117-Willis E., Ottesen B., Wagner G., Sundler F., Fahrenkrug J. Vasoactive intestinal polypeptide(VIP) as a possible neurotransmitter involved in penile erection. *Acta Physiol. Scand.* 113:545-547, 1981.
- 118-Piccard R.S., Powel P.H., Zar M.A. Evidence against Vasoactive intestinal polypeptide as the relaxant neurotransmitter in human cavernosal smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 108: 497-500, 1993.
- 119-Virag R., Ottesen B., Fahrenkrug J., Wagner G. Vasoactive intestinal polypeptide release during penile erection in man. *Lancet* 2: 1166, 1982.
- 120-Ottesen B., Wagner G., Virag R., Fahrenkrug J. Penile erection: possible role for vasoactive intestinal polypeptide as a neurotransmitter. *Br. Med. J. (Clin. Res.)* 288: 9-11, 1984.
- 121-Kiely E.A., Blank M.A., Bloom S.R., Williams G. Studies on intracavernosal VIP levels during pharmacologically induced penile erections. *Br. J. Urol.* 59: 334-339, 1987.
- 122-Kiely E.A., Bloom S.R., Williams G. Penile response to intracavernosal vasoactive intestinal polypeptide alone and in combination with other vasoactive agents. *Br. J. Urol.* 64: 191-194, 1989.
- 123-Roy J.B., Petrone R.L., Said S. A clinical trial of intracavernous vasoactive intestinal peptide to induce penile erection. *J. Urol.* 143: 302-304, 1990.
- 124-Weston A.H., Abbott A. New class of antihypertensive acts by opening K⁺ channels. *Trends Pharmacol. Sci.* 8:283-284, 1987.

- 125**-Christ G.J., Spray D.C., Melman A., Brink P. Electrophysiological studies of ion channels in cultured human corporal smooth muscle cells in culture. *Int. J. Impotence Res.* 4 (Suppl. 2):A40, 1992.
- 126**-Cook N.S. The pharmacology of potassium channels and their therapeutical potential. *Trends Pharmacol. Sci.* 9:21-28, 1988.
- 127**-Hamilton T.C., Weston A.H. Cromakalim and pinacidil: novel drugs which open potassium channels in smooth muscle. *Gen. Pharmacol.* 20:1-9, 1989.
- 128**-Quast U., Cook N.S. Moving together : K⁺ channel openers and ATP-sensitive K⁺ channel. *Trends Pharmacol. Sci.* 10:431-435, 1989.
- 129**-Hellstrom W.J.G., Wang R., Kadowitz P.J., Domer F.R. Potassium channel agonists cause penile erection in cats. *Int. J. Impotence Res.* 4:35-43, 1992.
- 130**-Kimura K., Hashine K., Tamura M., Kawanishi Y., Imagawa A. Alpha receptor and prostaglandin receptor-operated calcium channels in human corpus cavernosum. *Int. J. Impotence Res.* 2(Suppl.1):17, 1990.
- 131**- Kayaalp, S.O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. cilt:II, 6. b.s., Ankara. Feryal Matbaacılık, 1992, s:1137-1207
- 132**-Azadzoï K.M., Kim N., Brown M.L., et.al. Endotelium-derived nitric oxide and cyclooxygenase products modulate corpus cavernosum smooth muscle tone. *J. Urol.* 147:220-225, 1992.
- 133**-Katsuyuki B. Effects of testosterone on smooth muscle in the isolated rabbit corpus cavernosum penis. *Nippon-Hinyokika-Gakkai-Zasshi* 84(10): 1783-1790, 1993.
- 134**-Blanco R., Saenz De Tejada I., Goldstein I. et. al. Dysfunctional penile cholinergic nerves in diabetic impotent men. *J. Urol.* 144:278-280, 1992.

135-Gisclard V., Miller M.V., Vanhoutte M.P. Effect of 17β -estradiol on endothelium-dependent responses in the rabbit. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 244: 19-22, 1988.

136-Azadzoi KM., Saenz de Tejada I. Hypercholesterolemia endothelium-dependent relaxation of rabbit corpus cavernosum smooth muscle. *J. Urol.* 146:238-240, 1991.

137-Andersson K.E., Holmquist F., Bodker A. Castration enhances NANC nerve-mediated relaxation in rabbit isolated corpus cavernosum. *Acta Physiol Scand* 146: 405-406, 1992.

