

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**UZUN SÜRELİ SİLDENAFİL SİTRAT TEDAVİSİNİN
SIÇANLARDA KAVERNOZAL DOKU ÜZERİNE
İN VİVO VE İN VİTRO ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:
TAŞIFLAKSİ ETKİSİ VAR MI?**

Dr. Serdar Yüksel

**UZMANLIK TEZİ
OLARAK HAZIRLANMIŞTIR**

**ANKARA
2008**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**UZUN SÜRELİ SİLDENAFİL SİTRAT TEDAVİSİNİN
SIÇANLARDA KAVERNOZAL DOKU ÜZERİNE
İN VİVO VE İN VİTRO ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:
TAŞİFLAKSİ ETKİSİ VAR MI?**

Dr. Serdar Yüksel

**UZMANLIK TEZİ
OLARAK HAZIRLANMIŞTIR**

**TEZ DANIŞMANLARI
Prof. Dr. Fevzi Çakmak
Doç. Dr. Fazıl Tuncay Aki**

**ANKARA
2008**

ÖZET

Son yıllarda fosfodiesteraz inhibitörlerinin diyabetik hastalarda, radikal prostatektomi uygulanmış hastalarda ve erektil disfonksiyon riski yüksek olan hastalarda uzun süreli ve koruyucu olarak kullanılması tartışılmaktadır. (1, 2, 3) Yapılan bir çalışmanın verileri uzun süreli fosfodiesteraz inhibitörü tedavisinin taşiflaksiye neden olabileceğini düşündürmektedir. (4)

Bu çalışmanın amacı; hayvan modelinde, uzun süreli sildenafil sitrat tedavisinin sonuçlarını değerlendirmektir.

Erkek Sprague-Dawley cinsi ratlar kontrol grubu ve sildenafil sitrat tedavisi verilen grup olmak üzere randomize 2 gruba randomize edildi.

Tüm gruplardaki sıçanların in vitro maksimum intrakavernozal basınçları (ICP) (mmHg), maksimum ICP sırasında ölçülen sistemik kan basınçları (SKB) (mm Hg), intrakavernozal basınç eğrileri altında kalan alanları (EAA) (mmHg.sn) ölçüldü. Takiben tüm gruplar maksimum ICP, ICP/SKB, EAA değerleri açısından karşılaştırıldı.

Kontrol grubunun ortalama maksimum ICP değeri 55.51 ± 25.69 mmHg, ICP/SKB oranı 0.54 ± 0.20 , EAA $3206,52 \pm 1717,10$ mmHg.sn olarak ölçüldü. Sildenafil sitrat tedavisi verilen grubun ortalama maksimum ICP değeri 60.9 ± 17.06 mmHg, ICP/SKB oranı 0.73 ± 0.11 , EAA 3370.78 ± 966.04 mmHg.sn olarak ölçüldü.

Gruplar ICP, ICP/SKB, EAA değerleri açısından karşılaştırıldığında, ICP ve EAA değerlerinin sildenafil sitrat grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak fark saptanmadı ($p>0.05$). Sildenafil sitrat grubunda ICP/SKB oranları kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. ($p=0.025$)

Tüm gruptaki sıçanların kavernoza dokuları in vitro organ banyosunda asetilkoline (parasempatik), fenilefrine (sempatik), elektrik stimölasyonuna (ES) (nitinerjik) ve sodyum nitroprusside (SNP) ilişkin yanıtlar araştırıldı ve bu yanıtlara uzun süreli verilen sildenafil sitrat tedavisinin etkisi değeriendirildi.

Gruplar asetilkoline, fenilefrine, elektrik stimölasyonuna (ES) ve sodyum nitroprusside (SNP) ilişkin yanıtlar açısından karşılaştırıldığında, sildenafil sitrat verilen grupta kontrol grubuna göre fenilefrin, asetilkolin, ES yanıtlarının anlamlı olarak artmış olduğu saptandı ($p<0.05$). SNP'ye ilişkin gevşeme yanıt değerieleri sildenafil verilen grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında fark yoktu. ($p>0.05$)

Bu sonuçlar, uzun süreli sildenafil sitrat tedavisine karşı taşıflaksi oluşmadığı, kavernoza dokularda in vivo ve in vitro etkisinin azalmadığını buna karşılık sildenafil sitratın kavernoza düz kaslar üzerindeki gevşetici etkisinin devam ettiğini ve ereksiyon kapasitesini ile süresini arttırdığını göstermektedir.

ABSTRACT

In recent years, the treatment of diabetic, had an radical prostatectomy operated and have an high risk being erectile dysfunction patients with long term and low dose phosphodiesterase-5 has been discussed. (1, 2, 3) Some clinical investigations thought that long term sildenafil citrate treatment causes tachyphylaxis. (4)

The aim of the present study is, in an animal model, investigating of long term low dose sildenafil citrate treatments' results.

Male Sprague –Dawley rats were randomly divided into 2 groups: control group, sildenafil citrate group.

Maximal intracavernous pressure (ICP) (mmHg), systemic blood pressure (SBP) (mmHg) simultaneously when maximum ICP was recorded, area under the intracavernous pressure curve(EUC) (mmHg.sc) are monitored in all rats. Then all groups' ICP, ICP/SBP, EUC values were compared.

Mean maximal ICP value was 55.51 ± 25.69 mmHg, pressure ratio (ICP/SBP) was 0.54 ± 0.20 , EUC $3206,52 \pm 1717,10$ mmHg.sc were calculated in control group.

Mean maximal ICP value was 60.9 ± 17.06 mmHg, pressure ratio (ICP/SBP) was 0.73 ± 0.11 , EUC 3370.78 ± 966.04 mmHg.sc were calculated in sildenafil citrate group.

When all groups' ICP, ICP/SBP, EUC values were compared, In sildenafil citrate group, ICP and EUC values were higher than control group but there were no significant differences evaluated. ($p > 0.05$) In sildenafil citrate group, ICP/SBP values were significantly higher than control group. ($p = 0.025$)

The responses of the cavernous tissue strips mounted in organ chamber were tested against acetylcholine (parasympathomimetic), phenylephrine

(sympathomimetic), ES (nonadrenergic noncholinergic) and sodium nitroprusside (NO donor). The effect of long term sildenafil citrate treatment on these responses were also evaluated.

When all groups' acetylcholine, phenylephrine, ES, sodium nitroprusside responses were compared, in sildenafil citrate group phenylephrine, acetylcholine, ES responses were significantly higher than control group. ($p < 0.05$) There was no significant differences in sodium nitroprusside responses between sildenafil citrate group and control group. ($p > 0.05$)

Our results show that; tachyphylaxis do not occurs against long term low dose sildenafil citrate treatment, in vivo and in vitro effects on cavernosal tissue do not decrease, reverse this the relaxation effects on cavernosal smooth muscle still occurs and increases penile erection capacity and period.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

ÖZET	iii
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER.....	ix
TABLolar	x
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 Penisin Anatomisi.....	3
2.1.1 Penisin Arteryal Anatomisi.....	4
2.1.2 Penisin Venöz Anatomisi.....	4
2.1.3 Penisin Nöral Anatomisi.....	5
2.2 Ereksiyon Fizyolojisi.....	6
2.2.1 Ereksiyon Evreleri.	6
2.2.2 Ereksiyonun Moleküler Fizyolojisi.....	8
2.3 Ereksiyonun Santral Kontrolü.....	9
2.4 Ereksiyonun Periferik Kontrolü.....	11
2.4.1 Kontraktil (Antieretil) Mediatörler.	12
2.4.2 Relaksan (Eretil) Mediatörler	12
2.5 Eretil Disfonksiyon.....	13
2.5.1 Eretil Disfonksiyon Epidemiyolojisi.....	13
2.5.2 Eretil Disfonksiyon Etyolojisi.....	14
2.5.3 Eretil Disfonksiyon Tedavisi	15
2.6 Fosfodiesteraz Enzimi	15
2.7 Fosfodiesteraz Enzim İnhibitörleri	16
2.7.1 Sildenafil sitrat	16
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	18
3.1 Deney Hayvanları.....	18
3.2 Denek Grupları.	18
3.3 İn Vivo İntrakavernozal Basınç Ölçümü	19
3.4 İn Vitro Organ Banyosu Çalışmaları	20
3.4.1 Kastırıcı ve Gevşetici Ajanların Yanıtları.....	21

3.4.2. Elektriksel Stimulasyonla Oluşturulan Gevşeme Yanıtları.....	21
3.5 İstatistiksel Analiz.	23
3.6 Deneylerde Kullanılan İlaçlar.....	23
4. BULGULAR.....	24
4.1 İn vivo intrakavernozal Basınç Değerlendirilmesi	24
4.2 İn vitro organ Banyosu Sonuçları	27
4.2.1. Fenilefrine İlişkin Kontraktil Yanıtlar	27
4.2.2. Asetilkoline İlişkin Gevşeme Yanıtları.....	28
4.2.3. Elektriksel Stimulasyona İlişkin Gevşeme Yanıtları	29
4.2.4. SNP' ye İlişkin Gevşeme Yanıtları.....	30
5. TARTIŞMA	31
5.1 İn vivo intrakavernozal basınç sonuçlarının değerlendirilmesi	32
5.2 İn vitro organ banyosu sonuçlarının değerlendirilmesi	33
6. SONUÇ	36
7. KAYNAKLAR	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1	Korpus kavernozum ve spongiozumun görünümü	4
Şekil 2	Penisin arteryal ve venöz anatomisi	5
Şekil 3	Penisin nöral anatomisi.....	6
Şekil 4	Ereksiyon evreleri.....	8
Şekil 5	Ereksiyonun moleküler fizyolojisi.....	9
Şekil 6	Fosfodiesteraz Tip-5 Enzimin(PDE-5) yapısı.....	15
Şekil 7	Sildenafil'in kimyasal yapısı	17
Şekil 8	Sinir stimülasyonu (60 sn) sırasında intrakavernozal basınç(ICP) ve sistemik kan basıncı (SKB) değişimi.....	20
Şekil 9	Fenilefrine bağlı kümülatif kontraktıl yanıt eğrisi.....	22
Şekil 10	Fenilefrin ile prekontrakte edilen kavernöz dokunun SNP'ye ilişkin relaksasyon yanıt eğrisi	22
Şekil 11	Fenilefrin ile prekontrakte edilen kavernöz dokunun ES'ye ilişkin relaksasyon yanıt eğrisi	22
Şekil 12	Grupların maksimum intrakavernozal basınç grafiği	24
Şekil 13	Grupların ICP/SKB oran grafiği	25
Şekil 14	Grupların EAA grafiği.....	26
Şekil 15	Farklı gruplardan alınan korporal dokularda fenilefrine ilişkin kontraktıl yanıtlar	27
Şekil 16	Farklı gruplardan alınan korporal dokularda asetilkoline ilişkin kontraktıl yanıtlar	28
Şekil 17	Farklı gruplardan alınan korporal dokularda ES'ye ilişkin gevşeme yanıtları.....	29
Şekil 18	Farklı gruplardan alınan korporal dokularda SNP'ye ilişkin gevşeme yanıtları.....	30

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1 Denek Grupları.....	18
Tablo 2. Krebs Ringer Bikarbonat çözeltisinin içeriği.....	21
Tablo 3. Grupların Maksimum Intrakavernozal Basınç (mmHg) değerleri	24
Tablo 4. Grupların ICP/SKB oranları.....	25
Tablo 5. Grupların EAA (mmHg.sn) değerleri	26

1.GİRİŞ

Penil ereksiyon hemodinamiği beyin ve spinal kord yolağı ile düzenlenir. Lumbosakral pleksustan çıkan parasempatik ve sempatik sinir lifleri pelvik pleksusa katılır. Pelvik pleksustan çıkan ve prostatın posterolateralinde seyreden kavernoza sinirler penisin nöral inervasyonunu gerçekleştirir.

Nitrik oksit (NO) otonomik sinir sisteminde önemli bir nörotransmitördür. Seksüel stimülasyon ile nonadrenerjik nonkolinerjik sinir uçlarındaki, vasküler endotel hücrelerindeki nitrik oksit sentaz enzimleri aktive olur. NO, aktive olan nitrik oksit sentaz enzimleri tarafından L-arginin'den sentezlenir. Kavernoza düz kas hücrelerine diffüze olan NO, guanilat siklaz enzimini aktive ederek siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeyini artırır. cGMP, kavernoza dokudaki düz kasların gevşemesini sağlayarak, kavernoza dokuya gelen kan akım miktarını artırarak penisin ereksiyonunu sağlar. (5, 6)

Fosfodiesteraz tip 5 enzimi (PDE-5), cGMP ve siklik adenosin monofosfat (cAMP)'ı hidrolize edip GMP ve AMP'ye dönüşümünü sağlayarak penisin flaccid hale geçmesine neden olur. (7)

Sildenafil sitrat 1998 yılında erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Sildenafil sitratın korpus kavernoza da direkt gevşetici etkisi yoktur. Sildenafil sitrat, korpus kavernoza da cGMP degradasyonundan sorumlu, cGMP'ye spesifik PDE-5 enzimini inhibe eder.

Fosfodiesteraz tip 5 enzim (PDE5) inhibitörleri; NO aracılığı ile oluşan kavernoza düz kas relaksasyonunu kolaylaştırması, kavernoza dokunun düz kas hücrelerinde cGMP seviyesini artırıp relaksasyon sağlaması, nörovasküler dokuda meydana gelen hasar nedeniyle korpus kavernoza da oluşan apoptozisi, aşırı derecede kollajen depolanmasını engelleyip düz kas hücre kaybını ve fibrozisi önlemesi, penil arter ve venlerinde oluşan nörojenik kökenli damar

kontraksiyonlarını engellemesi nedeniyle erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılır. (8, 9, 10)

Taşiflaksi; sık tekrarlanan uygulamaya bağılı olarak görülebilen, dokunun, ilaca karşı verdiği cevabın azalması ya da ilaca karşı hızlı tolerans geliştirmesidir.

Birçok in vivo ve in vitro hayvan deneylerinde, sildenafil sitrat tedavisinin, sinir stimulasyonu ya da kimyasal ajanlar ile NO salınımı sağlanarak gerçekleştirilen ereksiyon cevabının süresini ve miktarını arttırdığı gösterilmiş olsada, El Galley ve arkadaşları sildenafil sitratın uzun süre kullanımının taşiflaksiye neden olduğunu ve zamanla etkisinin azaldığını ya da tamamen ortadan kalktığını ileri sürmüşlerdir. Ayrıca yetersiz yanıt nedeniyle hastaların %20'si doz arttırmış, %17'si ilacı bırakmıştır. (11)

Bu çalışmanın amacı uzun süreli sildenafil sitrat tedavisinin kavernoza dokusu üzerindeki in vivo ve in vitro etkisini değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER:

2.1 PENİSİN ANATOMİSİ:

Penis korpus kavernozum ve korpus spongiozum olmak üzere 2 temel yapıdan meydana gelir.

Penisin hacmini oluşturan ve ereksiyonu düzenleyen temel yapılar korpus kavernozumlardır.

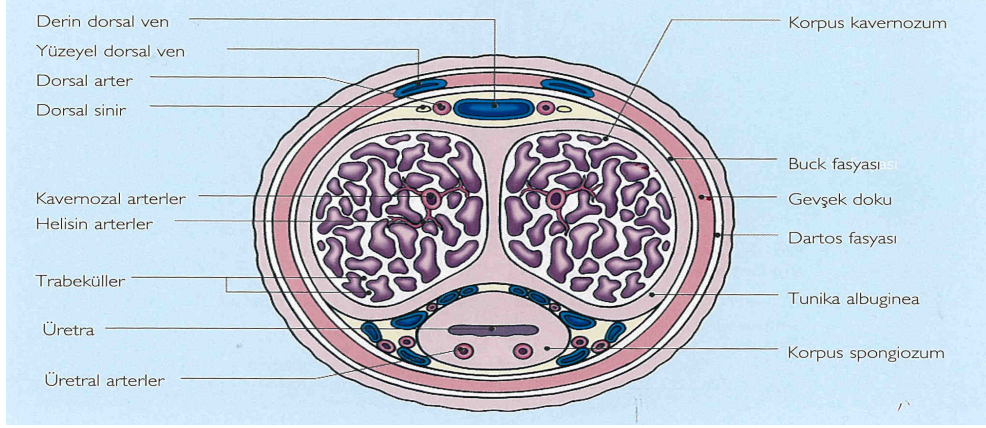
Her bir korpus elastik liflerden fakir, kollajen liflerden zengin tunika albuginea adı verilen fasyal bir kılıf ve Buck fasyası adı verilen kalın bir fibröz fasya ile çevrelenir.

Tunika albuginea; ereksiyonda içerdiği kollajen liflerinin imkan verdiği kadar genişler. Kendisini delen perforan (emisser) venleri sıkıştırıp venöz dönüşü engelleyerek ereksiyona katkıda bulunur. Tunika albuginea'nın oluşturduğu septal çıkıntılar korpus kavernozumların içinde birçok trabekül oluşturur. Bu trabeküller içinde erektile sinüsoidal doku yer alır.

Buck fasyası Tunika albuginea'nın dışında yer alır. Her iki kavernoza doku arasına girer ve kavernoza dokular ile spongioz doku arasında bir tabaka oluşturur. Bu fasya ereksiyonda sirkumfleks venleri ve derin dorsal veni sıkıştırarak rijiditeye katkıda bulunur.

Korpus spongiozum proksimal kısımda, bulbusu oluşturmak üzere genişler. Yukarıya doğru ürogenital diafram boyunca kıvrılır ve prostatın apeksine ulaşır.

Korpus spongiozum, korpus kavernoza oranla daha geniş sinüsoidal boşluklara sahiptir. Korpus spongiozumu çevreleyen tunika albuginea daha incedir. Spongiozum erektile yanıt yeteneğine sahip değildir.



Şekil 1. Korpus kavernoza ve spongiosumun görünümü

2.1.1. Penisin Arteryal Anatomisi:

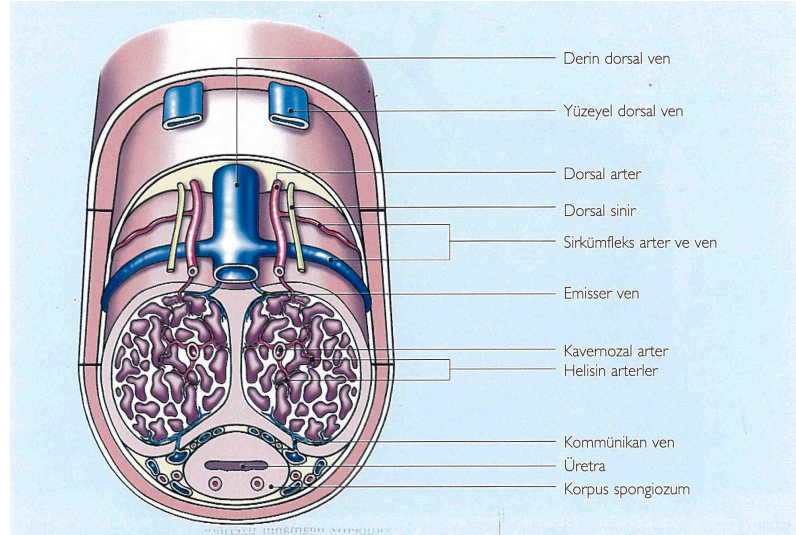
Penis internal iliak arterin dalı olan internal pudental arterden beslenir. Pelvis içinde; internal pudental arter, sakrotüberöz ligamanın üzerinden ve sakrospinöz ligamanın altından geçip, Alcock kanalında perineal arter dalını verdikten sonra kommon penil arter adını alır.

Kommon penil arter korpus kavernoza ulaşmadan önce bulbar, üretral, kavernoza dalları verir ve dorsal arter olarak devam eder. Tunika albugineayı delen kavernoza arter distale doğru uzanırken çok sayıda helisin dallar verir. Bu tribüyon şeklindeki düz kastan zengin damarlar doğrudan laküner boşluklara açılır.

2.1.2. Penisin Venöz Anatomisi:

Penis, yüzeysel venöz sistem, intermediate venöz sistem ve derin venöz sistem aracılığı ile drene edilir. Yüzeysel venler, penisin dorsolateral kısmında dartos fasyası içinde yüzeysel dorsal veni oluşturarak eksternal pudental vene dökülür. Intermediate venler Buck fasyasının içinde sirkumfleks ve emisser venleri oluşturur. Derin dorsal ven, sirkumfleks ve emisser venlerden kanı toplar ve periprostatik pleksusa drene olur. Derin venöz sistem krural ve kavernoza venlerden oluşur. Krural venler, derin

dorsal vene ya da periprostatik pleksusa katılan, kruralar arası boşlukta oluşan çok küçük venlerdir. Kavernöz cismin drenajını sağlayan kavernöz venler, spongioz cismi drene eden üretral venlerle birleşerek internal pudental vene drene olur.



Şekil 2. Penisin arteryal ve venöz anatomisi

2.1.3. Penisin Nöral Anatomisi:

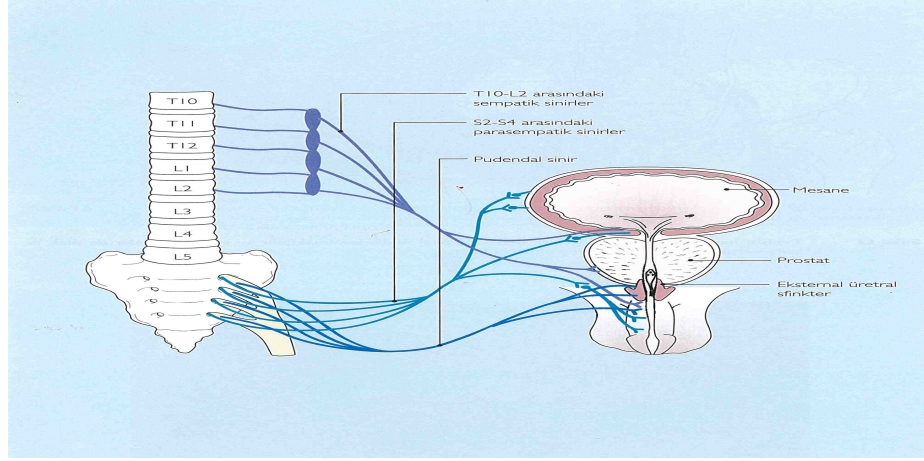
İkinci ve dördüncü sakral spinal segment aralığındaki (S2-4) parasempatik sinirler, onuncu torasik ikinci lumbal spinal segment aralığındaki (T10-L2) sempatik sinirler pelvik pleksusa katılır.

Kavernozal sinirler (Walsh sinirleri) pelvik pleksusun bir dalıdır. Sempatik ve parasempatik lifler taşır. Kavernozal sinir prostatın posterolateralinde seyreder. Ürogenital diafram içinden geçerek saat 5 ve 7 hizasında prostatik üretranın, saat 3 ve 9 hizasında membranöz üretranın yanından geçer.

Kavernozal sinir lifleri, kavernozal ve üretral arterler ile beraber korpus kavernozum ve korpus spongiozuma girerler. Kavernozal sinirlerin terminal dalları helisial arterleri ve trabeküler düz kasları inerve ederler. Pudental sinir, penil dorsal arterin lateralinde ilerler. Distale doğru pek çok ince dallar verir. Tunika albuginea'nın dorsumundaki, penis shaftının derisindeki ve glans penisteki

proprioseptif ve duyuşal sinir terminallerini inerve eder.

İşkiokavernöz ve bulbokavernöz kasların motor inervasyonunu pudental sinirin en son dalı olan dorsal sinir gerçekleştirir.



Şekil 3. Penisin nöral anatomisi

2.2 EREKSİYON FİZYOLOJİSİ

Korpus kavernozumun anatomisi, fizyolojisi ve erektil fonksiyonun nörolojik ve vasküler kontrolü ile ilgili bilgilerimizin artması erektil disfonksiyonun tanı ve tedavisinde önemli gelişmeler sağlamıştır.

2.2.1 Ereksiyon Evreleri:

A) Flask evre: Detümesandaki durumu yansıtır. Kavernöz arterden gelen kan akımı minimal olup yalnızca dokuyu besler. Sempatik etki altındadır ve kavernöz düz kas ile terminal arterioller kontraktedir.

B) Latent (Dolum) evresi: Erotik uyarıyla birlikte, sinirsel uyarılar kavernöz sinir uçlarından ve endotel hücrelerinden düz kas relaksanlarının salınımını sağlar. İnternal pudental arterde sistolik ve diastolik akım artar. Trabeküle düz kasların gevşemesi ile sinüzoidlerde kompliyans artar ve hızlı bir kan göllenmesi oluşur. Korpus kavernoza hem sistol hem de diastolde kan girer. Bu

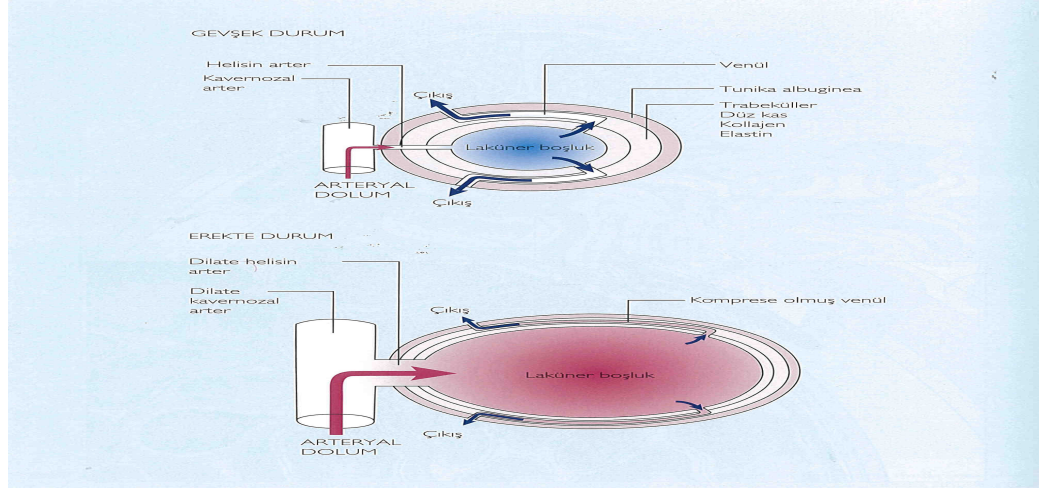
relaksanların etkisi erektil dokuyu besleyen arter ve arteriollerde dilatasyona ve penis kan akımında 25-60 kat artışa neden olur. Trabekül ile tunika albuginea arasındaki subtunikal venöz pleksus sıkışır ve venöz dönüş durur (veno-oklüzif mekanizma). Penisin boyu uzadığı için intrakavernozal basınç henüz artmamıştır. Bu faz kişinin arter yapısı ve penis hacmine bağlı olarak 30 saniye ile birkaç dakika sürer.

C) Tümesans evresi: Tam ereksiyon oluşana kadar intrakavernozal basınç sürekli artar. İntrakavernozal basınç arttıkça arteryal akım düşer ve intrakavernozal basınç diastolik basıncın üzerine çıkınca sadece sistolde kan girer. Kan, korpus kavernoza içinde hapsolür ve penis flask pozisyonundan ereksiyon durumuna geçer.

D) Tam ereksiyon evresi: İntrakavernozal basınç sistolik basıncın %85'ine kadar yükselir. (intrakavernözal basınç sistolik basınç değeri ne doğru yükselir ve 100 mm Hg değeri ne ulaşır). Venöz kanalların çoğu komprese olmuştur ve venöz akım durur. Kan gazları arteryal kandaki ne eşittir.

E) Rijid ereksiyon evresi: Mastürbasyon veya cinsel temas sırasında kavernoza sinir uyarımıyla tam ereksiyon sağlandıktan sonra pudental sinir uyarımıyla iskiokavernozal kaslar kasılır. İntrakavernözal basınç sistolik basıncın üzerine çıkar ve kavernoza arter içindeki akım durur.

F) Detümesans evresi: İnisyel detümesans evresinde; ejakülasyonla birlikte sempatik sistemde artan aktivite helisin arterlerde tonus artışına ve trabeküler kaslarda kasılmaya neden olur. Bu sayede intrakavernozal basınçta hafif bir artış olur. Veno-oklüziv mekanizma halen aktiftir. Yavaş detümesans evresinde; venöz dönüş kanallarının açılması ile birlikte intrakavernozal basınçta orta derecede azalma oluşur. Hızlı detümesans evresinde; arteryal akımın uyarılma öncesine gelmesi ve veno-oklüziv mekanizmanın inaktif hale gelmesi ile intrakavernözal basınç hızla düşer.



Şekil 4. Ereksiyon evreleri

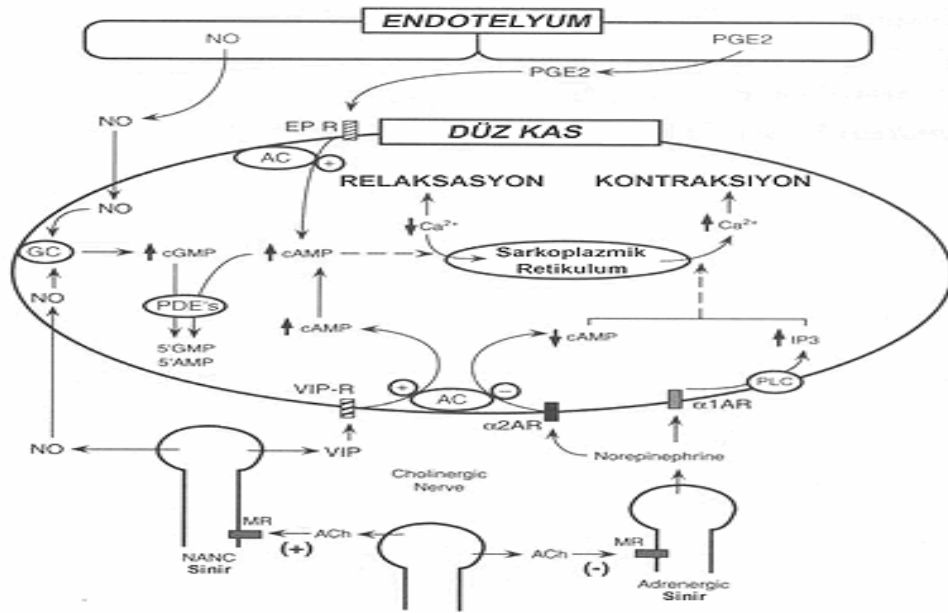
2.2.2 Ereksiyonun Moleküler Fizyolojisi

Aktin ve miyozinin (düz kasın kontraktıl proteinleri) relaksasyonu ve kontraksiyonu intrakavernosal kan akımını belirler. Bu proteinlerin fonksiyonları intraselüler sitoplasmik serbest kalsiyum tarafından sıkı bir biçimde kontrol edilir.

Nitrik oksit (NO); endotel hücrelerinde ve proerektıl parasempatik sinir uçlarında, ortamda ko-substrat olarak moleküler oksijene ve kofaktör olarak indirgenmiş NADPH, tetrahidrobiopterin (BH₄), flavin adenin dinükleotid (FAD) ve flavin adenin mononükleotid (FMN)'e gereksinim duyularak NO sentaz (NOS) tarafından L-argininden sentezlenir. Fizyolojik şartlarda insanda sinir hücreleri kaynaklı (nNOS), endotel kaynaklı (eNOS), makrofaj kaynaklı (iNOS) olmak üzere 3 çeşit NOS tespit edilmiştir.

Voltaj bağımlı kalsiyum kanalları ile hücre dışından hücre içine kalsiyum girişi ve sarkoplazmik retikulumda depolanan kalsiyumun salınması ile hücre içi kalsiyum hemostazı sağlanır. Hücre içi kalsiyum yükseldiğinde, kalsiyum kalmoduline bağlanır ve bu değişiklik miyozin hafif zincir kinazı (MHZK) aktive eder. Miyozinin adenozin trifosfat (ATP) ile fosforilasyonunu takiben, bu iki proteinin hafif zincirleri arasında bağlantılar (çapraz köprüler) oluşmakta ve bu

bağlantılar düz kasın kontraktıl tonusunu sağlayacak mekanizmayı oluşturmaktadır. Siklik adenosin monofosfatın (cAMP) veya siklik guanozin monofosfatın (cGMP) akümüasyonu ya da hücre zarının hiperpolarizasyonuna yol açan potasyum kanallarının aktivasyonu ile hücre içi kalsiyum değeri düştüğünde kalmodulin kalsiyumdan ayrılır. Bu durum, miyosin hafif zincirde defosforilasyona neden olur ve aktin-miyozin ayrılması meydana gelir ve sonuç sinüzoidal düz kas hücresinin relaksasyonudur. (12, 13)



Şekil 5. Ereksiyonun Moleküler Fizyolojisi

2.3 EREKSİYONUN SANTRAL KONTROLÜ

Cinsel dürtü ile yönlendirilen seksüel aktivite döngüsü birçok santral ve periferel nöronların kontrolü altındadır. Eksitasyon, plato, orgazm, rezolusyon olmak üzere dört fazda gerçekleşir.

Santral supraspinal sistemler temel olarak limbik sistemde (olfaktör nükleus, medial preoptik alan, nükleus assumbens, amigdal nükleus, hipokampus), hipotalamus ve onun paraventriküler ve ventromedial nükleuslarında lokalizedir. (14)

Hipokampus, hipotalamusun paraventriküler nükleusu (PVN) ve medial preoptik alan (MPA) cinsel fonksiyon ve penil ereksiyon kontrolünde rol oynayan en önemli integrasyon merkezleridir. (15)

Sıçanlarda dorsal penil sinir uyarılarak beyindeki elektriksel aktivitenin % 80'inin MPA'da olduğu gösterilmiştir. (16)

MPA'dan çıkan efferent yollar medial ön beyine ve oradan orta beyin tegmental bölgesine (substantia nigra yakınına) girer. Bu bölgelerdeki lezyonlara neden olan Parkinson hastalığı, multiple skleroz veya serebrovasküler olaylar bu iletinin bozulmasına ve bunun sonucunda erektil disfonksiyona neden olurlar. (16)

Dopamin

Erektil yanıtı ortaya çıkarmakta önemli olduğu bilinen paraventriküler nükleusta dopaminerjik yollar bulunmuştur. (17) Dopamin agonisti olan Apomorfin'nin hipotalamusun paraventriküler nükleusu ve medial preoptik alanda lokalize olan nöronları (D₂>D₁ nonselektif dopamin reseptör agonistleri) aktive ederek ereksiyonu uyardığı gösterilmiştir. (18, 19, 20)

Serotonin

Beyin sapında medial rafe nükleusta, hipotalamus, limbik sistem, neokorteks ve medulla spinaliste yedi çeşit serotonin (5HT= 5 hidroksi triptamin) reseptörü bulunur. 5-HT-1A reseptör agonisti ereksiyonu inhibe ederken, ejakülasyonu artırır. 5-HT-2 agonistleri ereksiyonu engellerken emisyonu ve ejakülasyonu uyarır. 5-HT-2C reseptörünün stimülasyonu ise ereksiyonu uyarır (18, 21, 22)

Norepinefrin

Norepinefrin salgılayan hücreler, beynin lokus sereleus, pons ve medullasında bulunur. Bu hücrelerin, hipotalamusun paraventriküler, supraoptik ve periventriküler nükleuslar, talamus ve neokorteks ile aksonal bağlantıları vardır. Santral norepinefrin iletiminin cinsel fonksiyon üzerine etkisi olduğu düşünülmektedir. (20)

Oksitosin

Erkek sıçanlarda hipotalamusun paraventriküler nukleusundan ektrahipotalamik beyin bölgesine ve spinal korda yönelen oksitosinerjik nöronların oksitosinle uyarılması, NO sentaz aktivasyonu ile ereksiyon cevabı olduğu gösterilmiştir. (23)

Prolaktin

Eretil disfonksiyon şikayeti olan hastalarda %1-5 oranında prolaktin yüksekliği görülür. Prolaktin seviyesinin yüksek olması LH salınımını azaltır ve sex hormon bağlayıcı globülin seviyesini düşürür. 5 α redüktaz enzimini inhibe eder. MPA'daki dopaminerjik aktiviteyi baskılar. Sonuç olarak serum testosteron seviyesini düşürür ve eretil disfonksiyona neden olur. (24)

2.4 EREKSİYONUN PERİFERAL KONTROLÜ:

Penisin nöral inervasyonu, parasempatik ve sempatik sinirler (kavernöz sinir içinde) ve somatik sinirler (pudental sinir içinde) ile sağlanır.

Periferik nörojenik kontrolde adrenerjik, kolinerjik, nonadrenerjik nonkolinerjik (NANK) lifler rol alır. Helisin arterler ve laküner boşlukları saran endotel hücreleri, sinusoidler nörotransmitterleri salgılayarak penis düz kas tonusunu kontrol eder.

2.4.1 Kontraktil (Antierekil) Mediatörler:

Noradrenalin (NA)

Penis düz kas kontraksiyonlarının ana düzenleyicileri α -1 adreno reseptörlerdir. Üç alt tipi de(α -1 a-b-d) insan korpus kavernozumlarında bulunur. Noradrenalin α -1 adreno reseptörleri; guanidin nükleotid bağlayıcı protein(G protein) aracılığı ile inositol trifosfat (IP3) ve diasilgliserol (DAG) kullanarak hücre içi kalsiyum düzeyinin artışına neden olmaktadır. Salınan NA penil damarlardaki hem α -adreno reseptörleri hem de β -adreno reseptörleri aktive eder. Fakat β -adreno reseptörlerinin konsantrasyonu α -adreno reseptörlere göre oldukça az olması nedeniyle helisin arterlerde ve korpus kavernozumda kontraksiyona neden olur. (20)

Endotelin

Endotel hücreleri tarafından salgılanan, güçlü vazokonstrüktör etkisi olan ve vasküler düz kasta mitojenik aktiviteyi arttıran bir peptittir. ET-A reseptörleri vasküler düz kas hücrelerinde bulunur. Vazokonstrüksiyon ve hücrel çoğalmayı indükler. ET-B reseptörleri ise endotelial hücrelerde yer alır. Endotel bağımlı relaksan faktörler ve prostasiklin ile vazodilatasyonu sağlar. (25)

Anjiotensin

Anjiotensin-1 anjiotensin konverting enzim tarafından Anjiotensin-2'ye dönüştürülür. İntrakavernoza dokuda konsantrasyonu artınca korpus kavernozumlarda kontraksiyona neden olur. (26)

2.4.2 Relaksan (Eretil) Mediatörler

Asetilkolin

Ereksiyon, S2-4 spinal segmentlerden köken alan parasempatik sinirlerdeki artmış sinirsel aktivite ile başlatılır. Preganglionik nörotransmitter olan asetilkolin; endotel hücrelerinden NO salınımını sağlar, presinaptik düzeyde adrenerjik sinir

inhibisyonu yapıp muskarinik reseptörleri uyarır, noradrenalin salınımını inhibe eder böylece peniste tūmesansa ve ereksiyona neden olur.

Düz kas hücrelerinde M_2 , endotel hücrelerinde ise M_3 hakimiyeti mevcuttur. Asetilkolin, sempatik sinirlerdeki presinaptik muskarinik reseptörler ile noradrenerjik vazokonstrüktör tonusu düzenler.

Vazoaktif İntestinal Peptid, Prostaglandinler ve diğerleri

Vazoaktif İntestinal Peptid (VIP) reseptörleri (tip1 ve 2) kavernoza dokuda yüksek konsantrasyonda bulunur. G protein aracılığı ile adenil siklazı stimüle eder ve hücre içi cAMP düzeyini artırır. cAMP, cAMP bağımlı protein kinazı aktive eder ve relaksasyon oluşturur. $PGF_{2\alpha}$, PGI_2 korpus kavernosum ve korpus spongiosumda kontraksiyona, PGE_1 ve PGE_2 ise relaksasyona neden olur. (27)

Pürinerjik mekanizmalar

Düz kas P_1 pürinoseptörleri adenoze yanıt vererek korpus kavernosumda gevşemeye neden olur. Endotel hücrelerinde ATP P_{2Y} reseptörleri ile korpus kavernosumda gevşemeye neden olur. (27, 28)

2.5 EREKTİL DİSFONKSİYON:

2.5.1 Eretil Disfonksiyon Epidemiyolojisi

Eretil disfonksiyon (ED); vajinal penetrasyonu sağlayacak nitelikte bir ereksiyonu oluşturmada ya da sürdürmede yetersizlik olarak tanımlanmıştır. Massachusetts Erkek Yaşlanma Çalışması'nda yaşları 40 -70 arasında değişen 1290 erkek katılmış ve erkeklerin %52'sinin çeşitli derecelerde eretil disfonksiyon şikayeti olduğu bildirilmiştir. Bunların %17.1'inde hafif derecede, %25.2'sinde orta derecede, %9.6'sında komplet (tam) eretil disfonksiyon saptanmıştır. 40 yaşındaki erkeklerde komplet eretil disfonksiyon %5 olarak bildirilirken, 70 yaşında bu oran %15' e çıkmıştır. (29)

Türk Androloji Derneği tarafından yapılan epidemiyolojik bir çalışmada, ülkemizde ED'li hastaların önemli bir kısmının 50 yaşın üstünde olduğu ve ED prevelansının, yaşla ve kronik hastalıklarla arttığı bildirilmiştir. Ayrıca 40 yaş üzeri erkeklerde hafif derecede ED %33.2; orta derecede ED %27.5; şiddetli derecede ED %8.5 ve toplamda ED prevelansı %69.2 oranında bulunmuştur. (30)

2.5.2 Erektıl Disfonksiyon Etyolojisi

Erektıl disfonksiyona yol açan nedeni bulmak için detaylı hikaye alınmalı, iyi bir fizik muayene ve tanısal tetkikler yapılmalıdır.

Sorumlu mekanizmalar;

- a. Psikojenik nedenler (libido azalması, aşırı inhibisyon, NO salınım bozukluğu)
- b. Nörojenik nedenler (sinir uyarımının başlayamaması ya da uyarının ulaşamaması)
- c. Hormonal nedenler (libido azalması, NO salınım bozukluğu)
- d. Vasküler nedenler (yetersiz arteryal akım ya da veno-oklüziv mekanizma yetersizliği)
- e. İlac kullanımına bağlı nedenler (santral süpresyon, libido azalması, vasküler yetmezlik)
- f. Yaşlanma ve diğer sistemik hastalıklar (nöronal ve vasküler sistemi etkileyen multifaktöryal nedenler)

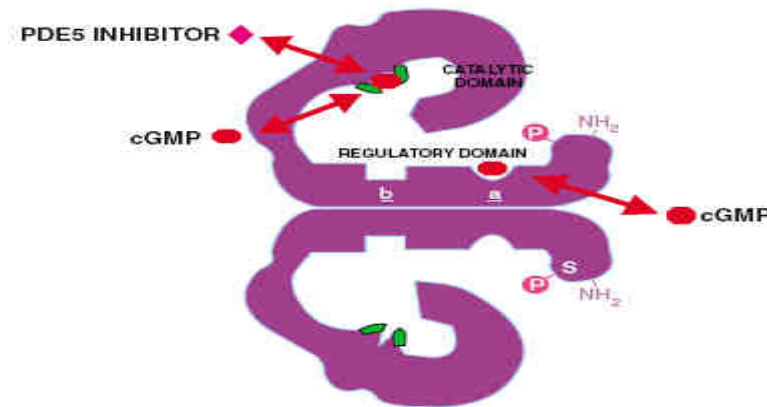
2.5.3 Erektıl Disfonksiyon Tedavisi:

En iyi tedavi yaklaşımı, en az invaziv olandan başlanıp daha invaziv tedavi seçeneklerine doğru ilerlemektir. İlk basamakta erektıl disfonksiyonun geriye döndürülebilir nedenlerinin modifikasyonu yer alır (Sigara içiminin bırakılması, diyabet ve hipertansiyon tedavisi, kilo kaybı ve egzersiz). Tedavi seçenekleri; psikoseksüel danışmanlık, medikal tedavi, vakum cihazları ve cerrahi tedavidir.

2.6 FOSFODİESTERAZ ENZİMİ:

Penis flask hale geçerken, cGMP ve cAMP fosfodiesteraz (PDE) enzimi ile GMP ve AMP'ye hidrolize olur. PDE enziminin katalitik ve regülatör olmak üzere 2 kısmı vardır. Regülatör kısmı amino terminalinde katalitik kısmı ise karboksil terminalinde yer alır. Regülatör kısmı tipleri, katalitik kısmı ise substrata özgü aktiviteyi belirler.

İnsan korpus kavernozumlarında PDE 1A, PDE 1B, PDE 1C, PDE 2A, PDE 3A, PDE 4A, PDE 4B, PDE 4C, PDE 4D, PDE 5A, PDE 7A, PDE 8A, PDE 9A fosfodiesteraz enzimlerinin mRNA'ları tespit edilmiştir. Bu enzimler arasında PDE3A ve PDE5A fonksiyonel açıdan en önemli enzimlerdir. (31)



Şekil 6. Fosfodiesteraz Tip-5 Enzimin(PDE-5) yapısı

2.7 FOSFODİESTERAZ ENZİM İNHİBİTÖRLERİ

Non spesifik ED tedavisinde en sık kullanılan ilaç, fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) enzim inhibitörleridir. Dünyada ve ülkemizde etkinliği ve güvenirliliği ispatlanmış 3 adet potent PDE5 inhibitörü mevcuttur

Bu inhibitörlerden sildenafil, daha sonra geliştirilen tadalafil ve vardenafil, cGMP'nin hücre içi seviyesini artırır. NO tarafından regüle edilen düz kas relaksasyonunu, vazodilatasyonu ve penil kan akımını arttırarak ereksiyonun uzamasını sağlar.

2.7.1 SİLDENAFİL:

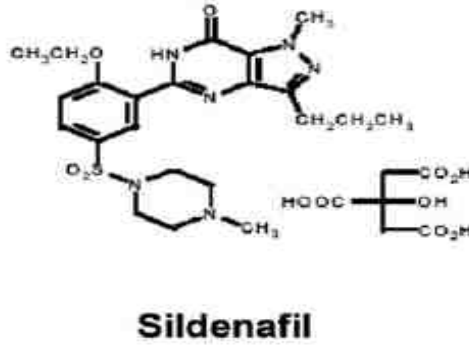
Erektile disfonksiyon tedavisinde ilk kullanıma sunulan PDE5 enzim inhibitörüdür. Oral yoldan alındıktan sonra plazma pik seviyesine 30-120 (ortalama 60) dakikada ulaşır. Çalışmalar etkisinin 14 dakikada başladığını yaklaşık 12 saat kadar sürdüğünü göstermektedir. Sildenafil yağlı yemeklerle alındığında emilim hızı azalır .Yarı ömrü 3-5 saat arasında değişir.

Sildenafil'in 25, 50, 100 mg dozları mevcuttur. Başlangıç optimal dozu 50 mg dır. Karaciğer ve böbrek yetmezliği durumlarında ve 65 yaş üzerindeki olgulara doz azaltılarak (25 mg dozda) başlanır.

Sildenafil, vücut içinde yaygın dağılım gösterir. Karaciğerde, sitokrom p450 enzim sistemi ile metabolize olur. Bu nedenle, sitokrom p450 enzim inhibitörü olan simetidin, eritromisin ve ketakonazol sildenafil metabolizmasını geciktirebilir. Sağlıklı gönüllülerde yapılan çalışmada, sitokrom p450 enzim inhibitörü alanlarda sildenafilin dozu 24. saatte, almayanlara oranla 2-8 kat daha yüksek bulunmuştur. İlginç olarak sildenafili sitokrom p450 enzim inhibitörü ile birlikte alanlarda yan etki oranları almayanlar ile benzerdir.

Sildenafilin, N-dezmetilasyonu reaksiyonu ile oluşan ve dolaşımda bulunan metabolitinin de PDE selektivitesi vardır. İn vitro şartlarda, sildenafilin %50'si kadar

güçlüdür. Metabolitinin plazmadaki konsantrasyonu, sildenafil konsantrasyonunun %40'ı kadardır. Sonuçta, sildenafilin farmakolojik etkinliğinin %20'sini metaboliti oluşturur



Şekil 7. Sildenafil'in kimyasal yapısı.

Sildenafilin %80'i feçes, %20'si idrar aracılığı ile atılır. Altmış beş yaşından büyük, karaciğer ve böbrek yetmezliği olan hastalarda 25 mg'dan başlanarak doz ayarlaması yapılması gereklidir.

Etkinliği doza bağımlı değişmektedir. Çalışmalar en iyi yanıtın 100 mg dozda olduğunu ve 4-6 kez kullanıldığında etkisinin maksimal olduğunu göstermektedir.

Global etkinliği hipertansif olgularda %70, radikal prostatektomili olgularda %42-72, eksternal radyoterapi alanlarda %66, brakiterapi uygulanan hastalarda %81, depresyon hastalarında %76, üst motor nöron lezyonlu olgularda %80 olarak bulunmuştur. Diyabetik olgularda etkinliği ise %51-56'dır. (32)Sildenafilin etkinliği ile ilgili yapılmış 21 plasebo kontrollü, randomize, çift kör çalışmanın metaanalizinde ortalama etkinlik %70 bulunmuştur. (33)

3.GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 DENEY HAYVANLARI

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yetiştirilen, toplam 14 adet Sprague-Dawley erkek sıçan kullanıldı. Çalışma zamanına kadar sıçanlara standart palet yem ve içme suyu verildi. Çalışma öncesi bütün sıçanlar muayene edilip enfeksiyon ya da başka patolojileri olanlar ayrıldı.

3.2 DENEK GRUPLARI

Sıçanlar her bir grupta 7 adet hayvan olmak üzere toplam 2 gruba ayrıldı.

Tablo 1. Denek Grupları

GRUP 1	Kontrol grubu
GRUP 2	Sildenafil grubu

Kontrol grubundaki sıçanların ağırlıkları 420 ± 46 gr, sildenafil sitrat grubundaki sıçanların ağırlıkları 407 ± 21 gr'dı. ($p>0.05$)

Kontrol grubu

Bu gruptaki 7 adet sıçana ksilazin (5 mg/kg, IP) ve ketaminle (15 mg/kg, IP) anestezi uygulandı. Takiben tüm sıçanların intrakavernozal basınçları (ICP) ve sistemik kan basınçları (SKB) ölçüldü. Deney sonunda bütün sıçanlar karbon monoksit ile sakrifiye edildi.

Sildenafil Grubu

Bu gruptaki 7 adet sıçana 90 gün boyunca PDE- tip 5 inhibitörü 1 mg/kg/gün dozunda 2 cc çözelti halinde gastrik gavaj yöntemi ile verildi. Gruptaki deney

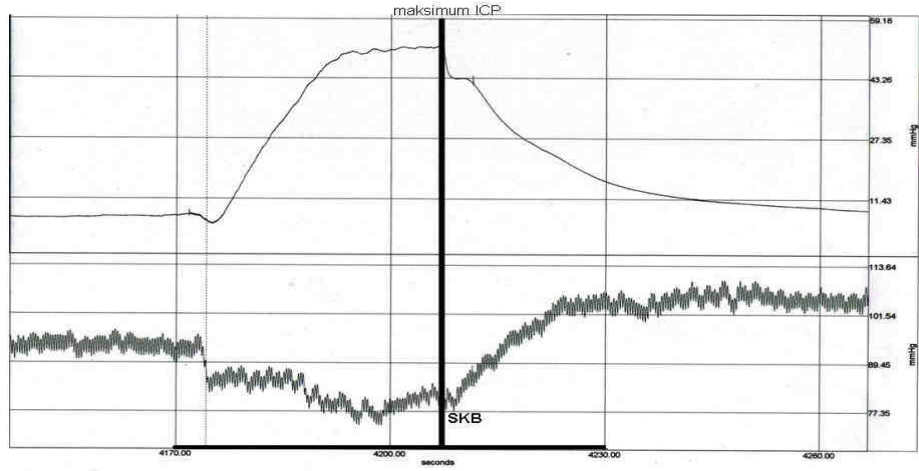
hayvanlarının 90 gün boyunca yem ve su alımları serbest bırakıldı. Takiben ksilazin (5 mg/kg, IP) ve ketaminle (15 mg/kg, IP) anestezi uygulanarak tüm sıçanların intrakavernozal basınçları (ICP) ve sistemik kan basınçları (SKB) ölçüldü. Deney sonunda bütün sıçanlar karbon monoksit verilerek sakrifiye edildi.

3.3 İN VİVO İNTRAKAVERNOZAL BASINÇ ÖLÇÜMÜ

Sıçanlar intraperitoneal anestezi ile uyutulduktan sonra çene altından yaklaşık 4-5 cm lik vertikal insizyonla açıldı. Troid, damarları korunarak serbestlendi ve çeneye doğru asıldı. Takiben nefes borusunun hemen lateralindeki kaslar diseke edilerek karotid arter bulundu, serbestlendi ve asıldı. Karotid arterde 2-3 mmlik kesi oluşturuldu. PE-50 tüp ile kanülize edilerek her sıçanın sistemik kan basıncı kaydedildi.

Abdomen orta hat insizyonla açıldı. Mesane çevre dokulardan serbestlendi. Sol vaz deferens bulunarak sıçanın sol omzuna doğru asıldı. Mesane, apeksinden klemp yardımı ile sol vaz deferens ile arasında 90 derece olacak şekilde sağa yatırıldı. Sol iliak arter ve venin medialinde, prostatın posterolateralinde seyreden kavernöz sinir bulundu. Skrotum orta hattın insize edilerek penisin tabanına ulaşıldı. Bulbokavernozal kas ile iskiokavernozal kaslar diseke edilerek kavernöz cisim ortaya kondu. Penis derisi sürkünsizyon insizyonu ile kesildi ve deglove edilerek korpus kavernozum ve korpus spongiozum ortaya kondu. İntrakavernöz basınç ölçmek için 23 G'luk skalp ven iğnesi polietilen (PE)-50 tüpüne bağlandı. İğne sol korpus kavernozumuna yerleştirildi.

Sol korpus kavernozumuna yerleştirilen kanül, basınç transduser ve amplifikatör ünitesine bağlanarak veriler bilgisayarda kayıt edildi. Elektrotların kablosu Grass S48 stimulatöre bağlandı ve stimulus kavernosol sinirlere direkt olarak (akım voltajı 2.5 - 5.0 - 7.5 -10 volt, pulse genişliği 30 ms, akım 1.5 mA, frekans 15 Hz) uygulandı.



Şekil 8. Sinir stimülasyonu (60 sn) sırasında intrakavernozal basınç (ICP) ve sistemik kan basınç (SKB) değişimi.

3.5 İN VİTRO ORGAN BANYOSU ÇALIŞMALARI

Kavernozal doku 8-10 mm boy, 2-3 mm genişliğinde hazırlandı. Krebs Ringer Bikarbonat Çözeltisi ile inkübe edildi ve bir ucu ipek iplik tutucuya, diğer ucu “Grass FTO3C force displacement transducer”a bağlandı. Stripler, Krebs solüsyonu içinde 20 ml’lik organ banyosuna konuldu.

Solüsyon %95 O₂, %5 CO₂ ile sürekli havalandırıldı ve 37±1 °C ve 1 gr gerim altında 1 saat dengelenmeye bırakıldı. Mekanik aktiviteler “MAY recorder equipment computer system” (COMMAT, Ankara, Türkiye) kullanılarak kaydedildi. Kavernöz doku striplerinin, elektriksel uyarı ve kastırma-gevşetme ajanlarına verdikleri cevaplar kaydedildi.

Tablo 2. Krebs Ringer Bikarbonat çözeltisinin içeriği

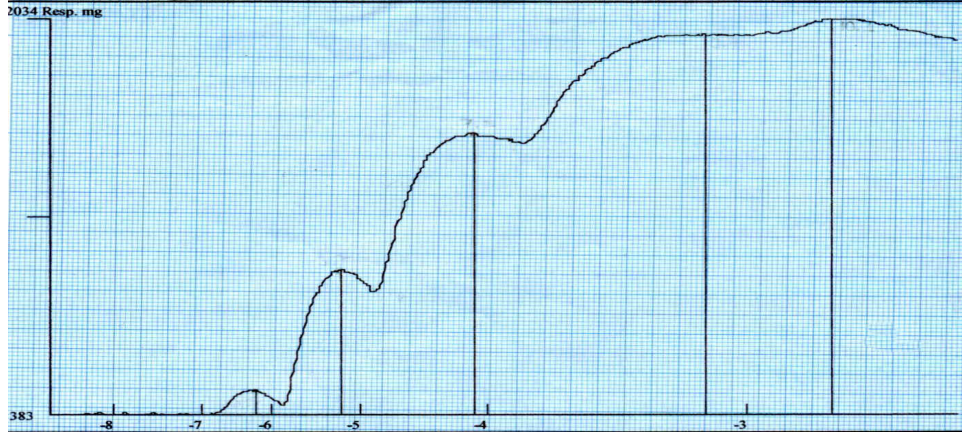
NaCl	118 mM/l
KCl	4.7 mM/l
NaH₂PO₄	1.2 mM/l
NaHCO₃	25 mM/l
MgSO₄·7H₂O	1.2 mM/l
Glukoz	11.1 mM/l
CaCl₂	2.5 mM/l

3.5.1 Kastırıcı ve Gevşetici Ajanların Yanıtları:

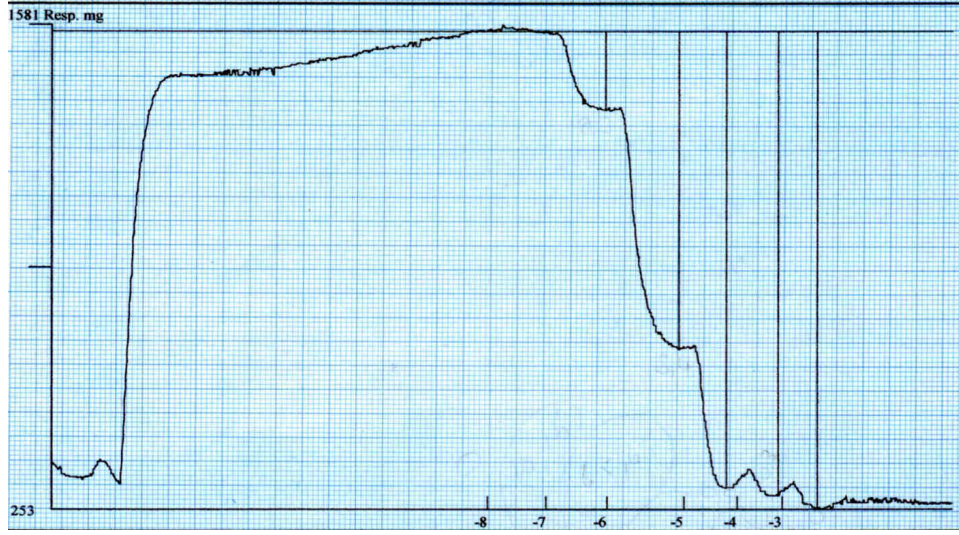
Dokunun noradrenerjik bir ajan olan fenilefrine ilişkin yanıtlarını araştırmak amacı ile fenilefrine (10^{-8} - 10^{-3} M) ilişkin kümülatif doz yanıt eğrisi çıkarıldı. Daha sonra, 10^{-5} M fenilefrin (sempatik uyarı) ile kıştırılan dokuda asetilkoline (parasempatik uyarı) (10^{-8} - 10^{-3} M) ve sodyum nitropruside (SNP) (10^{-8} - 10^{-3} M) ilişkin doz-yanıt eğrileri çıkarıldı. Her bir doz-yanıt cevapları arasında en az 15'er dakikalık iki inkübasyon süresi kadar beklenildi.

3.5.2 Elektriksel Stimulasyonla Oluşturulan Gevşeme Yanıtları

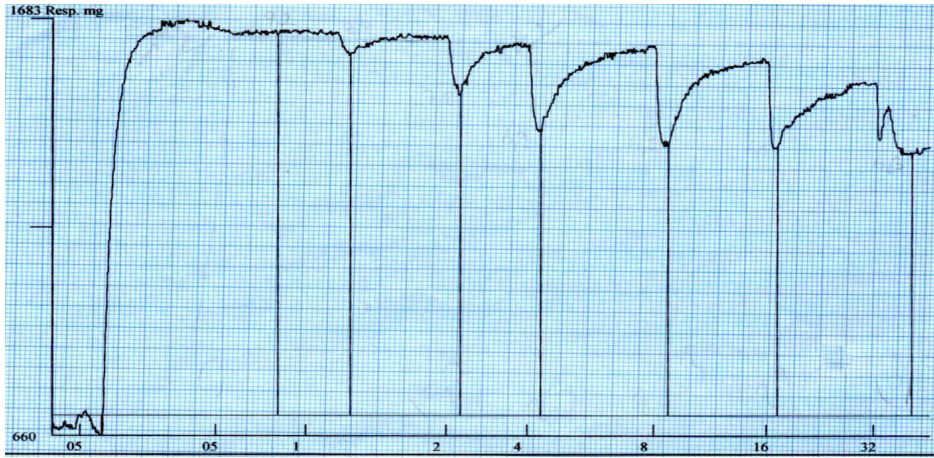
Elektriksel stimülasyon (ES), 2.5 mm çapında ve ring şeklinde, aralarında 1 cm aralık olan, iki paralel platin elektrod ile sağlandı. ES, dokuya, 60 V, 3 msec, 0.5 – 32 Hz, 15 saniye süreyle, her 3 dakikada bir olacak biçimde stimülatör (GRASS S44; Quincy, Mass, USA) kullanılarak sağlandı. Önce fenilefrin ile prekontraksiyondan sonra, 0.5 – 32 Hz frekansları arasında elektriksel stimulasyonun (nitriterjik uyarı) gevşeme yanıtları alındı.



Şekil 9. Fenilefrine bağlı kümülatif kontraktıl yanıt eğrisi



Şekil 10. Fenilefrin ile prekontrakte edilen kavernöz dokunun SNP'ye ilişkin relaksasyon yanıt eğrisi



Şekil 11. Fenilefrin ile prekontrakte edilen kavernöz dokunun ES'ye ilişkin relaksasyon yanıt eğrisi

3.6 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tüm gruplardaki sıçanlar maksimum intrakavernozal basınçları (ICP) (mmHg), maksimum ICP sırasında ölçülen sistemik kan basınçları (SKB) (mm Hg), intrakavernozal basınç eğrileri altında kalan alanlar (EAA) (mmHg.sn) hesaplandı. Takiben gruplar maksimum ICP, ICP/SKB, EAA değerleri arasında anlamlı fark olup olmadığını tayin etmek için karşılaştırıldı. Elektriksel stimulasyon ve konsantrasyon-yanıt eğrileri, mg kontraksiyonun, mg dokuya oranı kaydedildi. Elektriksel stimulasyon ve konsantrasyon yanıt eğrilerinin gruplar arasında farklı olup olmadığı araştırıldı. Bu çalışmada, çizelge ve şekillerde verilen tüm değerler belli sayıda (n=7) deney sonucunun ortalamasıdır. “Independent Samples t Test” için, $p < 0,05$ olduğunda anlamlı olarak kabul edildi.

İstatistik işlemler SPSS bilgisayar programı kullanılarak yapıldı.

3.7 DENEYLERDE KULLANILAN İLAÇLAR

Ketamin: Ketalar flakon 50 mg/ml (Eczacıbaşı İlaç ve Ticaret A.Ş.İstanbul) 15 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak anestezi sağlamak amacıyla uygulandı.

Ksilazin: Rompun flakon 23.32 mg/ml (Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti. İstanbul) 5mg/kg dozunda intraperitoneal olarak analjezi ve kas gevşetici olarak uygulandı.

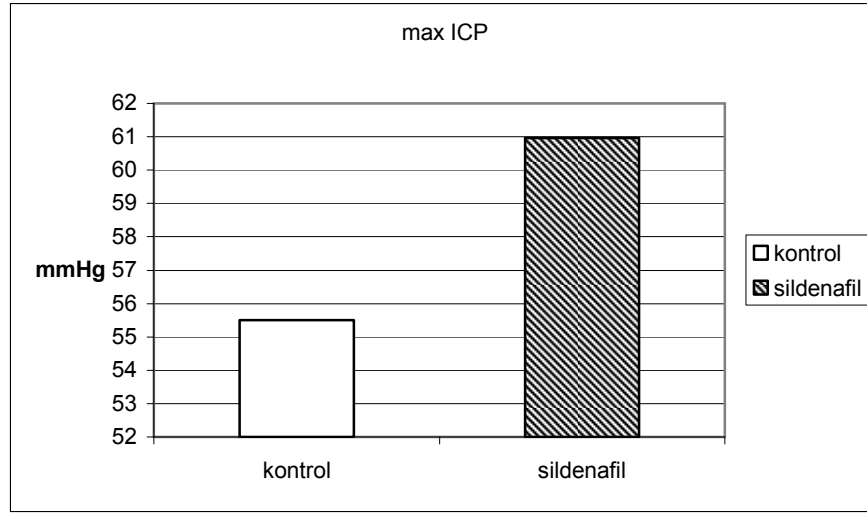
Sildenafil: Viagra 100 mg tablet (Pfizer İlaçları Ltd. Şti. İstanbul) Tabletler ezilerek suda süspansiyon haline getirilip 1 mg/kg/gün dozunda 2 cc çözeltiler halinde gastrik gavaj yöntemi ile verildi.

Organ banyosu için L-fenilefrin ve asetilkolin (Sigma - St. Louis, USA) sodyum nitroprussid (Merck - Germany) değişik konsantrasyonlarda kullanılmıştır

4. BULGULAR

4.1 İN VİVO İNTRAKAVERNOZAL BASINÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Kavernosal sinirlere stimülatör ile direkt olarak (2.5 - 5.0 - 7.5- 10 volt, 15 Hz frekans, 60 saniye) stimülasyon uygulandı. Tüm sıçanların maksimum ICP değerleri mmHg olarak ölçüldü.



Şekil 12. Grupların maksimum intrakavernozal basınç grafiği

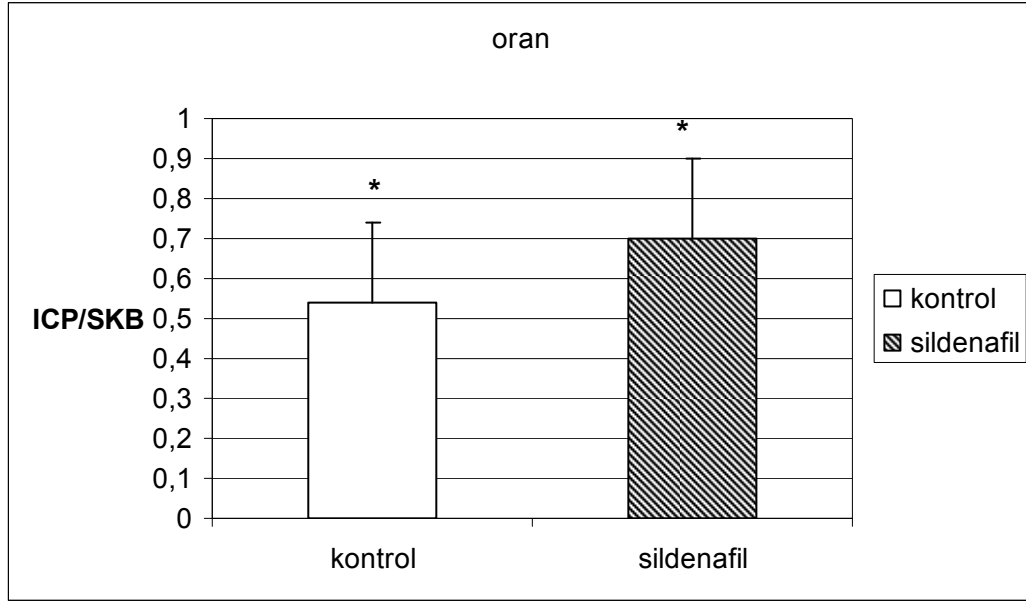
Kontrol grubunun ortalama maksimum ICP değeri 55.51 ± 25.69 mmHg, sildenafil sitrat tedavisi verilen grubun ortalama maksimum ICP değeri 60.9 ± 17.06 mmHg olarak ölçüldü. Sildenafil sitrat grubunun maksimum ICP değerleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak fark saptanmadı. ($p>0.05$) (Tablo 3)

Tablo 3. Grupların Maksimum Intrakavernozal Basınç (mmHg) değerleri

Gruplar	Maksimum ICP (mgHg)	
(1) Kontrol	55.51 ± 25.69	
(2) sildenafil	60.9 ± 17.06	p>0.05

Bulgular deneylerde elde edilen değerlerin ortalamasıdır ve ortalamalar, $\pm$ ortalamaların standart sapma değeri olarak verilmiştir.* $p<0,05$ kontrol grubuna göre anlamlılık (“Independent Samples t Test)

Tüm sıçanların, maksimum ICP değerlerinin, maksimum ICP sırasında ölçülen sistemik kan basınçları (SKB) (mm Hg)na oranı (ICP/SKB) hesaplandı.



Şekil 13. Grupların ICP/SKB oran grafiği

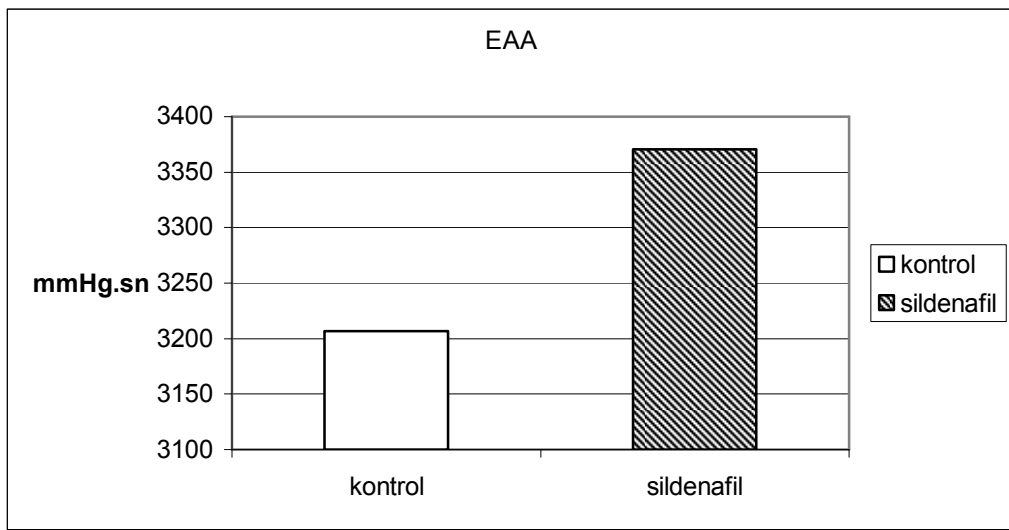
Kontrol grubunun. ICP/SKB oranı 0.54 ± 0.20 , sildenafil sitrat grubunun ICP/SKB oranı 0.73 ± 0.11 olarak ölçüldü. Gruplar ICP/SKB oranları açısından karşılaştırıldığında, sildenafil sitrat grubu oranlarının kontrol grubuna göre anlamlı yüksek olduğu görüldü. ($p=0.025$) (Tablo 4)

Tablo 4. Grupların ICP/SKB oranları

Gruplar	ICP/SKB	p
(1) Kontrol	$0.54 \pm 0.20^*$	
(2) Sildenafil	$0.73 \pm 0.11^*$	0.025

Bulgular deneylerde elde edilen değerlerin ortalamasıdır ve ortalamalar, $\pm$ ortalamaların standart sapma değeri olarak verilmiştir. **$p<0,05$ kontrol grubuna göre anlamlılık (“Independent Samples t Test)**

Kontrol grubunun EAA $3206,52 \pm 1717,10$ mmHg.sn, sildenafil sitrat tedavisi verilen grubun EAA 3370.78 ± 966.04 mmHg.sn olarak hesaplandı. Sildenafil sitrat grubunun maksimum ICP değerleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel fark saptanmadı. ($p>0.05$) (Tablo 5)



Şekil 14. Grupların EAA grafiği

Tablo 5. Grupların EAA değerleri

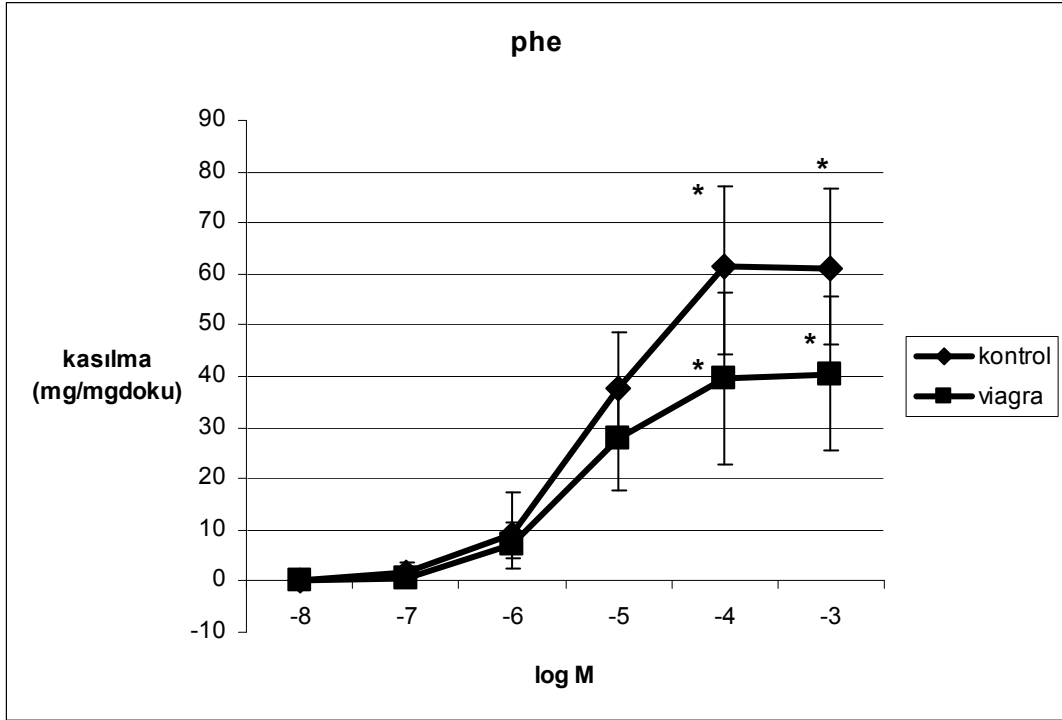
Gruplar	EAA (mmHg.sn)	P
(1) Kontrol	3206,52 $\pm$ 1717,10	
(2) Sildenafil	3370.78 $\pm$ 966.04	(p>0.05)

Bulgular deneylerde elde edilen değerlerin ortalamasıdır ve ortalamalar, $\pm$ ortalamaların standart sapma değeri olarak verilmiştir.* **$p<0,05$ kontrol grubuna göre anlamlılık (“Independent Samples t Test)**

4.2 İN VİTRO ORGAN BANYOSU SONUÇLARI

4.2.1 Fenilefrine İlişkin Kontraktil Yanıtlar

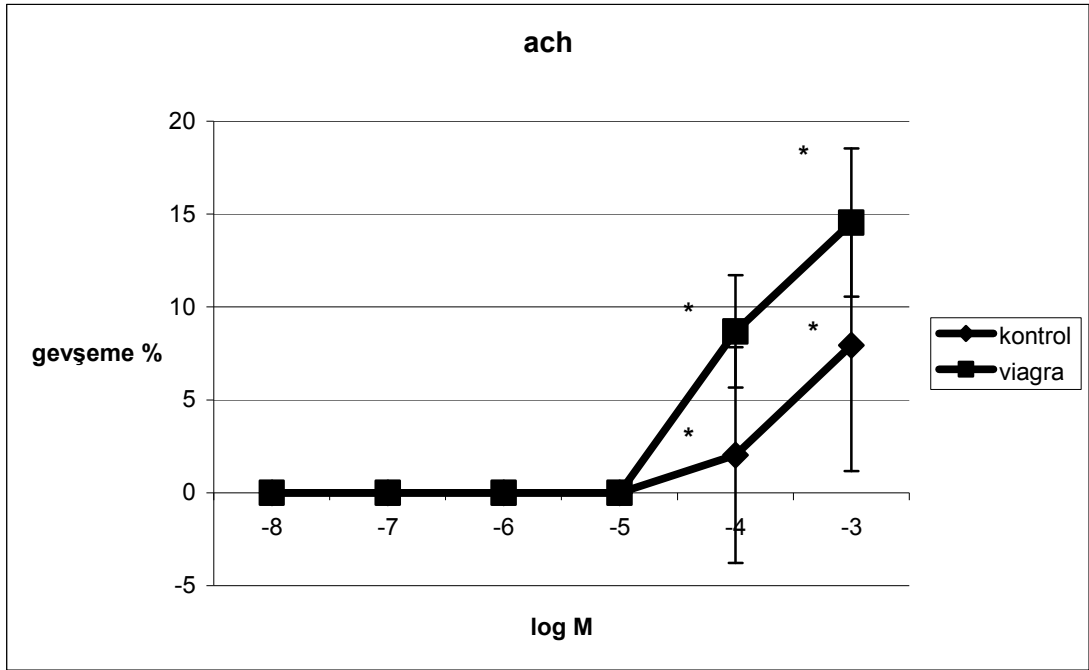
İzole organ banyosunda fenilefrinin (10^{-8} - 10^{-3} M) her grupta konsantrasyona bağımlı olarak kasılmalar oluşturduğu gözlemlendi. (Şekil 15) İzole korpus kavernosum dokularında, organ banyosunda kümülatif uygulanan fenilefrine ilişkin kontraktil yanıtlar, 'mg/mg doku' olarak hesaplanmıştır. Fenilefrine ilişkin kontraktil yanıt değerlerinin sildenafil sitrat grubunda kontrol grubuna göre yüksek konsantrasyonlarda anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. ($p<0.05$)



Şekil 15. Farklı gruplardan alınan korporal dokularda fenilefrine ilişkin kontraktil yanıtlar. Bulgular deneylerde elde edilen değerlerin ortalamasıdır ve ortalamalar, $\pm$ ortalamaların standart sapma değeri olarak verilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre anlamlılık ("Independent Samples t Test)

4.2.2 Asetilkoline İlişkin Gevşeme Yanıtları

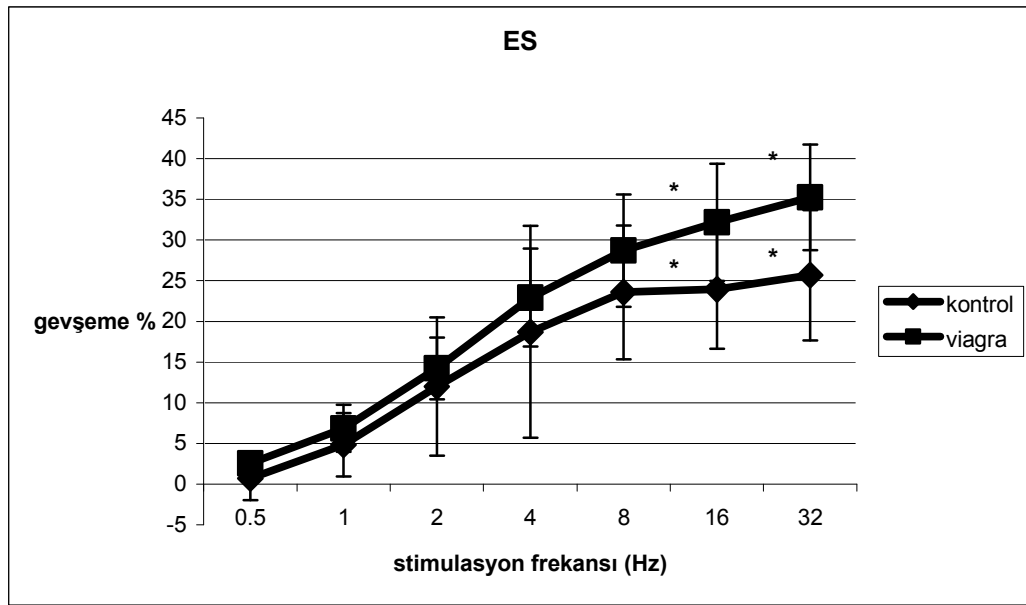
Sıçan korpus kavernosum striplerinde, asetilkolinle (10^{-8} - 10^{-3} M) stimule edilen endotel bağımlı gevşemeler, fenilefrin (10^{-5} M) ile oluşturulan prekontraksiyondan sonra araştırıldı. (Şekil 16) Asetilkoline ilişkin gevşeme yanıt değerlerinin sildenafil sitrat grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. ($p<0.05$)



Şekil 16. Farklı gruplardan alınan korporal dokularda asetilkoline ilişkin kontraktıl yanıtlar. Bulgular deneylerde elde edilen değerlerin ortalamasıdır ve ortalamalar, $\pm$ ortalamaların standart sapma değeri olarak verilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre anlamlılık ("Independent Samples t Test)

4.2.3 Elektriksel Stimulasyona İlişkin Gevşeme Yanıtları

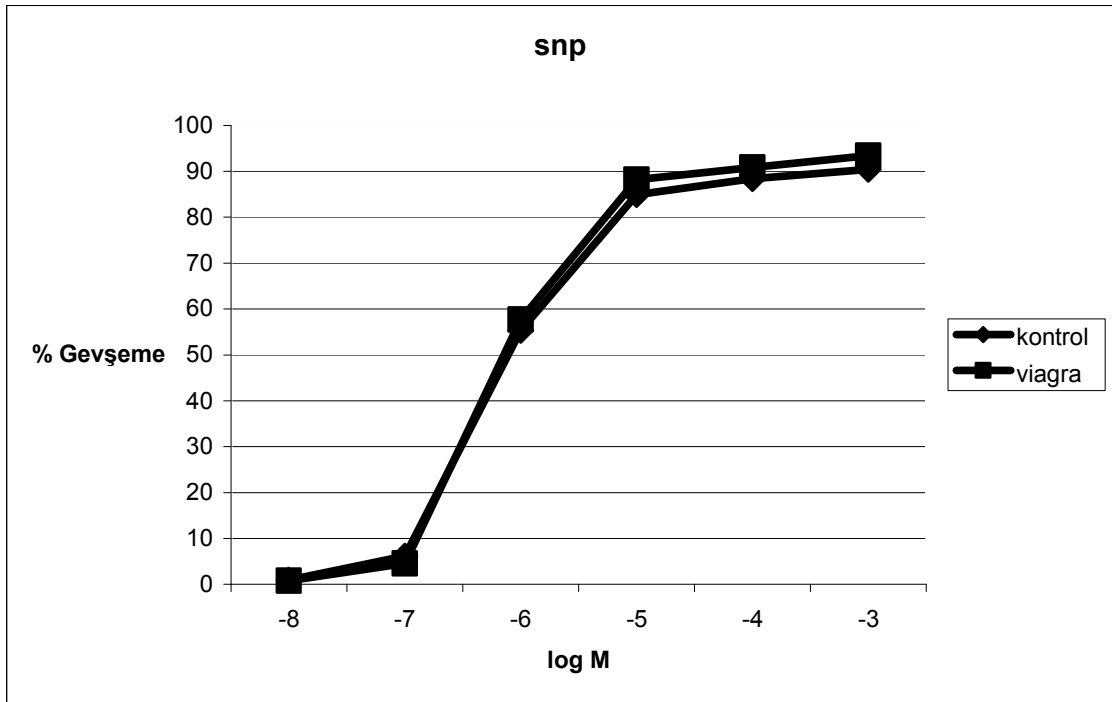
Korporal dokular, fenilefrin (10^{-5} M) ile prekontrakte edildikten sonra elektriksel stimulasyonla uyarıldıklarında, frekansa (0.5 – 32 Hz) bağlı olarak gevşeme yanıtları meydana geldiği gözlemlendi. (Şekil 17) ES'ye ilişkin gevşeme yanıt değerlerinin sildenafil sitrat grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. ($p<0.05$)



Şekil 17. Farklı gruplardan alınan korporal dokularda ES'ye ilişkin gevşeme yanıtları. Bulgular deneylerde elde edilen değerlerin ortalamasıdır ve ortalamalar, $\pm$ ortalamaların standart sapma değeri olarak verilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre anlamlılık ("Independent Samples t Test)

4.2.4 SNP'ye İlişkin Gevşeme Yanıtları

Korporal dokular, fenilefrin (10^{-5} M) ile prekontrakte edildikten sonra sodyum nitroprusside ilişkin (10^{-8} - 10^{-3} M) gevşetici yanıtlar elde edildi. (Şekil 18) SNP'ye ilişkin gevşeme yanıt değerleri açısından sildenafil sitrat verilen grupta kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark yoktu. ($p>0.05$)



Şekil 18: Farklı gruplardan alınan korporal dokularda SNP'ye ilişkin gevşeme yanıtları. Bulgular deneylerde elde edilen değerlerin ortalamasıdır ve ortalamalar, $\pm$ ortalamaların standart sapma değeri olarak verilmiştir. $p<0,05$ kontrol grubuna göre anlamlılık ("Independent Samples Test").

5. TARTIŞMA

Ereksiyonun başlaması ve sürdürülmesi nöral iletinin sağlam olmasına ve hücrel düzeyde gevşetici ve kastırıcı ajanlar arasındaki dengeye bağlıdır. Ereksiyon, erotik uyarı sonrasında NO ve cGMP aracılığı ile kavernozaal düz kasların relaksasyonu ile gerçekleşir. (9)

Sildenafil sitrat, PDE-5 enzimini inhibe ederek kavernozaal dokudaki cGMP'ın yıkılmasını engeller, düz kas relaksasyonunu sağlar ve kavernozaal dokuya gelen kan miktarını artırır ve organik ve non organik erektil disfonksiyon tedavilerinde kullanılabilir. (12)

Sildenafil sitrat tedavisinin ereksiyon fonksiyonları üzerine etkisini değerlendirmek için birçok deneysel çalışma yapılmıştır. Sağlıklı sıçanlara 10 µg/kg ve 30 µg/kg iv dozunda sildenafil sitrat verildiğinde kontrol grubuna göre ölçülen ICP değerlerinin ve ICP/SKB oranlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir. (34) Sağlıklı sıçanlara, elektrik stimülasyonu verilmeden, kavernozaal dokularına verilen sildenafil sitrat enjeksiyonu sonrasında ölçülen ICP, ICP/SKB oranlarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir. (35)

Gonzalgo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, venooklüzif hastalık, diabetes mellitus, geçirilmiş prostat cerrahisi, etiyolojik nedeni bilinmeyen nedenlerden dolayı erektil disfonksiyon şikayeti olan ve sildenafil sitrat tedavisi alan 197 hasta 2.5 yıl takip edilmiştir. Bu sürede sildenafil tedavisi almaya devam eden 79 hastanın kullanmayan hastalara göre IIEF skoru ve hayat kalitesi belirgin oranda daha yüksek olduğu belirtilmiştir. (36) Benzer bir çalışmada, radikal prostatektomi ve diabetes mellitus nedeniyle sildenafil tedavisi alan hastaların hayat kalitesi ve ereksiyon fonksiyonlarında belirgin iyileşme olduğu ifade edilmiştir. (37) Son zamanlarda radikal prostatektomi geçirmiş hastalarda ve ya erektil disfonksiyon riski yüksek olan hastalarda koruyucu olarak uzun süreli PDE 5 inhibitörleri önerilmektedir. (2, 3)

Buna karşılık El Galley ve arkadaşları uzun süreli fosfodiesteraz 5 inhibitörü kullanan hastalarda taşıflaksi gelişebileceği görüşünü ortaya atmıştır. Erektile disfonksiyon şikayeti nedeniyle sildenafil sitrat kullanan, 26-73 yaşları arasında 151 hasta ile yaptıkları çalışmada, hastaların %74'ünde başlangıçta tedaviye başarılı yanıt alındığı, 2 yıl sonunda hastalardan sadece %52'sinin ilaç tedavisine devam ettiği ortaya çıkmıştır. Tedaviyi bırakanlardan %17'si ilacın etkisinin olmaması nedeniyle ilacı bırakmıştır. Tedaviye devam eden hastalardan %20'si ise ilaç dozunu arttırmıştır. Bu taşıflaksinin nedeni olarak; akut ilaç uygulandığı zaman ortamda mevcut olan transmitterlerin aşırı salınımı ile ortamda yetersiz kalması, reseptörlerin aşırı uyarılması nedeniyle reseptör down regülasyonu ve reseptör hassasiyetinde azalma gibi fizyopatolojik durumlardan kaynaklanabileceğinin öne sürmüşlerdir. (4)

Bu çalışmada uzun süreli sildenafil kullanımının taşıflaksiye neden olup olmayacağı in vivo ve in vitro olarak araştırılmıştır.

5.1 IN VİVO İNTRAKAVERNÖZ BASINÇ SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada ortaya çıkan en önemli bulgulardan biri uzun süreli sildenafil verilen ratlarda ICP/SKB'nın kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunmasıdır ($p < 0.05$). ICP ve EAA sildenafil verilen ratlarda kontrol grubundan daha yüksek bulunmuş ama aradaki fark istatistiksel anlamlı düzeyde bulunmamıştır. Bunun nedeni sildenafil kullanan ratlarda ilaç nedeniyle sistemik kan basıncının daha düşük olmasıdır. Bu sonuç uzun süreli sildenafil sitrat kullanımının taşıflaksiye neden olmadığı gibi erektile fonksiyonlara pozitif katkısı olduğunu göstermektedir.

Literatürde sildenafil sitrat verilerek yapılan deneysel ve klinik çalışmalar bulunmaktadır.

Musicki ve arkadaşlarının farklı yaş gruplarındaki sıçanlarda yaptığı çalışmada; 20mg/kg dozunda sc yolla sildenafil tedavisi verilen ratlarda değerlendirilen detümesans zamanının genç ve yaşlı sıçanlarda yükselttiği

görülmüştür. Kronik sildenafil tedavisinden sonra sadece genç sıçanlarda PDE-5 miktarının arttığı görülmüştür.(38)

Diabetik sıçanlara 8 hafta boyunca 10 mg/kg dozunda PDE-5 inhibitörü verildiğinde; endotelial hücre/düz kas hücre oranı, ölçülen maksimum ICP değerleri kontrol grubuna göre daha yüksek, endotelin-1 ve TGF-beta 1 ekspresyonu ise kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur.(39, 40)

Bilateral kavernoza sinir hasarı oluşturulan sıçanlara dört gün boyunca verilen sildenafil tedavisinin; penil kan akımını artırarak ve penil doku hemostazını koruyarak penil ağırlıktaki azalmayı belirgin derecede azalttığı bulunmuştur. (41)

Yukardaki çalışmalar ışığında, sildenafil sitrat tedavisinin cevabsızlığa yola açmadığı gibi in vivo olarak ereksiyon fonksiyonlarına katkıda bulunur.

5.2 İN VİTRO ORGAN BANYOSU SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada, sildenafil sitrat grubunda kontrol grubuna göre fenilefrine kontraktıl yanıt değerleri anlamlı olarak daha düşük, elektrik stimülasyon ve asetilkoline bağlı gevşeme yanıtları anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). SNP yanıtları açısından gruplar arasında farklılık gösterilememiştir.

Asetilkolin ereksiyon fizyolojisine, endotel hücrelerinden NO salınımına ve presinaptik düzeyde muskarinik reseptörleri aktive ederek katkıda bulunur. (42) Denervasyon yapılan dokularda endotel fonksiyonları sağlam olması nedeniyle asetilkoline bağlı relaksasyon yanıtlarında anlamlı değişiklikler gözlenmemiştir. (43) Fakat endotel hasarı oluşan diabetik sıçanlarda asetilkolin yanıtlarında azalma olduğu gösterilmiştir. (44) BSH yapılan gruplara verilen sildenafil sitrat tedavisinin asetilkoline bağlı gevşeme yanıtlarını hücre içinde cGMP'nin yeterli oranda kalmasını sağlayarak gerçekleştirdiği öne sürülmüştür.(43) Bizim çalışmamızda sildenafil verilen sıçanlarda asetilkoline daha iyi yanıt alınması kronik sildenafil kullanımına bağlı reseptör desensitizasyonu veya mediatör eksikliği olmadığı gibi

uzun süreli fosfodiesteraz 5 kullanımının erektil fonksiyonlara katkısı olabileceğini göstermiştir.

Penisteki noradrenerjik sinirlerden salınan noradrenalin, postsinaptik α -adrenerjik reseptörleri aktive ederek, korporal düz kasın kontraksiyonunu sağlamakta ve flasiditenin korunmasına ve detümesansın oluşumuna yardımcı olmaktadır. (46) Kavernoza sinir hasarı yapılan sıçanlarda fenilefrine verilen maksimum kontraktıl yanıtlarda belirgin artış olduğu gösterilmiştir. PDE-5 inhibitörü kullanımının artmış fenilefrin kontraktıl yanıtlarını normal sıçanlardaki düzeylere getirmiştir. Oral sildenafil sitrat tedavisinin, intraselüler Ca seviyesini düzenleyerek artan fenilefrin kontraktıl yanıtlarını düzelttiği belirtilmiştir. (48) Bu çalışmada sildenafil verilen sıçanlarda fenilefrine yanıtların daha az bulunması uzun süreli sildenafil kullanımının erektil fonksiyon ve kavernoza düz kas üzerinde olumlu etki yapacağı sonucunu ortaya koymaktadır.

Sodyum nitropurisside; sıvı ile temas ettiğinde, endotel hücresinden bağımsız olarak, NO donörü gibi davranarak guanilat siklaz enzimini aktive eder. Guanilat siklaz enzimi inhibitörü verildiğinde SNP relaksasyon yanıtının tamamen ortadan kalktığı gösterilmiştir. (49) Kavernoza sinir hasarı oluşturulduktan sonra verilen sildenafil sitrat tedavisi, PDE-5 enzimini inhibe ederek ortamdaki cGMP konsantrasyonunun artırır ve SNP yanıtlarının düzelmesini sağlar. (50) BSH oluşturulan sıçanlardaki maksimum SNP dozlarına alınan yanıtların anlamlı derecede düşük olduğu ve bu düşüklüğün hücre içi NO/cGMP sistemindeki hasardan kaynaklandığı belirtilmiştir. (48) Diabetik sıçanlarla diabetik olmayan sıçanların endotelden bağımsız SNP'nin relaksasyon yanıtları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bunun nedeni olarak kavernoza düz kas fonksiyonlarının normal olması şeklinde yorumlanmıştır. (51,52, 53) Bu çalışmada SNP'ye verilen yanıtların 2 grup arasında farklı bulunamamasının nedeni SNP'nin endotelden bağımsız bir relaksan olması ve sağlıklı kavernoza dokuda sildenafilin etkisini perdelemesi sonucu olabilir.

Frekans değişkenli elektriksel uyarı (ES), organ banyosundaki dokunun nonadrenerjik ve nonkolinerjik uyarıya cevabını değerlendirmek için kullanılır. ES,

hücre içindeki NO konsantrasyonunu yükselterek dokunun verdiği relaksasyon yanıtında artışa neden olmaktadır.

Yaşlanma ve diyabete bağlı denervasyon durumlarında, arteriyel dokularda NOS içeriğinin azalması nedeniyle ES'ye ilişkin NO bağımlı relaksasyon yanıtlarında %70'lere varan oranlarda düşme olduğu rapor edilmiştir. (51,54) Sinir hasarı yapılan sıçanların ES'a verdikleri yanıtlarda belirgin azalma olduğu belirtilmiş ve bunun nedeninin sinir ucunda NO sentezinde ve/veya NO salınımındaki bozukluktan kaynaklandığı belirtilmiştir. (43)

Bu çalışmada kronik sildenafil sitrat tedavisi alan grupta ES'ye ilişkin relaksasyon yanıt değerlerinde gözlenen anlamlı yükseklik; elektriksel stimülasyon sonucu hücre içinde artan NO, kavernoza dokudaki cGMP miktarını arttırdığı, verilen sildenafil sitrat tedavisinin kavernoza dokudaki cGMP miktarını koruduğu şeklinde ifade edilebilir. Bir başka deyişle kronik sildenafil sitrat kullanımı ortamdaki mediatörlerin kullanımını artırıp gerektiği durumlarda yetersiz kalmasına yol açmadığı gibi bu grupta daha iyi sonuçlar alınması diabetik hastalar gibi bazı hasta gruplarında uzun süreli sildenafil kullanımının yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

Sodyum nitropurisside; sıvı ile temas ettiğinde, endotel hücresinden bağımsız olarak, NO donörü gibi davranarak guanilat siklaz enzimini aktive eder. Guanilat siklaz enzimi inhibitörü verildiğinde SNP relaksasyon yanıtının tamamen ortadan kalktığı gösterilmiştir. (46) Kavernoza sinir hasarı oluşturulduktan sonra verilen sildenafil sitrat tedavisi, PDE-5 enzimini inhibe ederek ortamdaki cGMP konsantrasyonunun artırır ve SNP yanıtlarının düzelmesini sağlar. (47) BSH oluşturulan sıçanlardaki maksimum SNP dozlarına alınan yanıtların anlamlı derecede düşük olduğu ve bu düşüklüğün hücre içi NO/cGMP sistemindeki hasardan kaynaklandığı belirtilmiştir. (48) Diabetik sıçanlarla diabetik olmayan sıçanların endotelden bağımsız SNP'nin relaksasyon yanıtları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bunun nedeni olarak kavernoza düz kas fonksiyonlarının normal olması şeklinde yorumlanmıştır. (51,52, 53) Bu çalışmada SNP'ye verilen yanıtların 2 grup arasında farklı bulunamamasının nedeni SNP'nin endotelden bağımsız bir relaksan olması ve sağlıklı kavernoza dokuda sildenafilin etkisini perdelemesi sonucu olabilir.

6. SONUÇ

Tüm bu sonuçlar uzun süreli sildenafil kullanımının bir duyarsızlık veya direnç neden olmadığını göstermiştir. Bununla birlikte sildenafil sitratın kronik kullanımının ereksiyon fonksiyonlarına in vitro ve in vivo gösterilen katkıları nedeniyle tedavi edici veya koruyucu olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

7. KAYNAKLAR

- 1) Goldstein I, Lue TF, Padma-Nathan H, Rosen RC, Steers WD, Wicker PA. Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. Sildenafil Study Group. N Engl J Med. 1998 May 14;338(20):1397-404
- 2) Goldstein I, Lue TF, Padma-Nathan H, Rosen RC, Steers WD, Wicker PA; Sildenafil Study Group. Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. 1998. J Urol. 2002 Feb;167(2 Pt 2):1197-203; discussion 1204.
- 3) Bivalacqua TJ, Usta MF, Champion HC, Leungwattanakij S, Dabish PA. Effect of combination endothelial nitric oxide synthase gene therapy and sildenafil on erectile function in diabetic rats. Int Jour. Imp. 2004;16:21-29
- 4) Rızk El G., Harry R., Rıyadh T, Thomas K., Clark H. Long term efficacy of sildenafil and tachyphylaxis effect. J Urol 2001;166:927-931
- 5) Chung AT, Strauss JD, Steers WD, Murphy RA. cGMP mediates corpus cavernosum smooth muscle relaxation with altered cross-bridge function. Life Sci 1998;63:185-94
- 6) Stief CG, Noack T, Andersson KE. Signal transduction in cavernous smooth muscle. World J Urol 1997;15:27-31
- 7) Padma-Nathan H, Giuliano F. Oral drug therapy for erectile dysfunction. Urol Clin North Am. 2001 May;28(2):321-34.
- 8) Zippe CD, Jhaveri FM, Klein EA, Kedia S, Pasqualotto FF, Kedia A, Agarwal A, Montague DK, Lakin MM. Role of Viagra after radical prostatectomy. Urology. 2000 Feb;55(2):241-5

- 9) Raina R, Lakin MM, Agarwal A, Sharma R, Goyal KK, Montague DK, Klein E, Zippe CD. Long-term effect of sildenafil citrate on erectile dysfunction after radical prostatectomy: 3-year follow-up. *Urology*. 2003 Jul;62(1):110-5.
- 10) Medina P, Segarra G, Vila JM, Domenech C, Martínez-León JB, Lluch S. Effects of sildenafil human penile blood vessels *Urology*. 2000 Sep 1;56(3):539-43.
- 11) Rızk El G., Harry R., Riyadh T, Thomas K., Clark H. Long term efficacy of sildenafil and tachyphylaxis effect. *J Urol* 2001;166:927-931
- 12) Knispel HH, Goessl C, Beckman R. Nitric Oxide mediates neurogenic relaxation induced in rabbit cavernous smooth muscle by electric field stimulation. *Urology* 1992;40:471-476
- 13) Burnett AL, Tillman SL, Chang TS, Epstein JI, Lowenstein CJ, Bredt DS, Snyder SH, Walsh PC. .Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the autonomic innervation of the human nç ratl*J Urol*. 1993 Jul;150(1):73-6.
- 14) Argiolas A, Melis MR The neurophysiology of the sexual cycle. *J Endocrinol Invest*. 2003;26(3 Suppl):20-2
- 15) Marson L, Platt KB, McKenna KE Central Nervous System innervation of penis as revealed by transneuronal transport of pseudorabies virus. *Neuroscience*. 1993 Jul;55(1):263-80.
- 16) Mallick HN, Manchanda SK, Kumar VM. Sensory modulation of the medial preoptic area neuronal activity by dorsal penile nerve stimulation in rats.. *J Urol*. 1994 Mar;151(3):759-62

- 17) Ganong WF Synaptic and junctional transmission. In Ganong WF(ed):Review of Medical Physiology, 19th ed. Stamford, Conn, Appleton&Lange 1999;80-112.
- 18) Heaton JP, Morales A, Adams MA, Johnston B, el-Rashidy R. Recovery of erectile function by oral administration of apomorphine. Urology. 1995 Feb;45(2):200-6.
- 19) Montorsi F, Perani D, Anchisi D, Salonia A, Scifo P, Rigioli P, Zaroni M, Heaton JP, Rigatti P, Fazio F. Apomorphine-induced brain modulation during sexual stimulation: a new look at central phenomena related to erectile dysfunction Int J Impot Res. 2003 Jun;15(3):203-9
- 20) Andersson KE . Pharmacology of erectile function and dysfunction. Urol Clin North Am. 2001 May;28(2):233-47
- 21) Ganong WF. Neural basis of instinctual behavior and emotions. In Ganong WF(ed):Review of Medical Physiology, 19th ed. Stamford, Conn, Appleton&Lange, 1999;244-254
- 22) Lue TF Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction and priapism. In Walsh PC (ed):Campell's Urology, 8th ed.Saunders, Elsevier 2002, p1591-1618.
- 23) Argiolas A, Melis MR. The role of oxytocin and the paraventricular nucleus in the sexual behaviour of male mammals.Physiol Behav. 2004 Nov 15;83(2):309-17.
- 24) Buvat J Hyperprolactinemia and sexual function in men: a short review. Int J Impot Res. 2003 Oct;15(5):373-7.

- 25) Khan MA, Calvert RC, Sullivan ME, Thompson CS, Mumtaz FH, Morgan RJ, Mikhailidis DP Normal and pathological erectile function: the potential clinical role of endothelin-1 antagonists *Curr Drug Targets*. 2000 Nov;1(3):247-60.
- 26) El Melegy NT, Ali ME, Awad EM Plasma levels of endothelin-1, angiotensin II, nitric oxide and prostaglandin E in the venous and cavernosal blood of patients with erectile dysfunction. *BJU Int*. 2005 Nov;96(7):1079-86.
- 27) Tong YC, Broderick G, Hypolite J ve Levin RM .Correlation of purinergic, cholinergic and functions in rabbit corporal cavernosal tissue. *Pharmacology* 1992;45:241-249
- 28) Fredholm BB, Abbracchio MP, Burnstock G, Dubyak GR, Harden TK, Jacobson KA, Schwabe U, Williams M. Towards a revised nomenclature for P1 and P2 receptors. *Trends Pharmacol Sci*. 1997 Mar;18(3):79-82.
- 29) NIH Consensus Conference (1993): impotence. *JAMA* 1997;270:83-90.
- 30) Akkus E, Kadioglu A, Esen A, Doran S, Ergen A, Anafarta K, Hattat H; Turkish Erectile Dysfunction Prevalence Study Group. Prevalence and correlates of erectile dysfunction in Turkey: a population-based study. *Eur Urol*. 2002 Mar;41(3):298-304
- 31) Lin CS, Lau A, Tu R ve Lue TF. Exprerssion of three isoforms of cGMP-binding cGMP-specific phosphodiesterase (PDE5) in human penile cavernosum. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Feb 16;268(2):628-35.
- 32) Goldstein I, Lue TF, Padma-Nathan H, Rosen RC, Steers WD, Wicker PA.Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. Sildenafil Study Group. *N Engl J Med*. 1998 May 14;338(20):1397-404

- 33) Goldstein I, Lue TF, Padma-Nathan H, Rosen RC, Steers WD, Wicker PA; Sildenafil Study Group. Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. 1998. J Urol. 2002 Feb;167(2 Pt 2):1197-203; discussion 1204.
- 34) Choi S, O'Connell L, Min K, Kim N.N, Munarriz, Goldstein I. Efficacy of vardenafil and sildenafil in facilitating penile erection in an animal model. J. Androl 2002;23:332-337.
- 35) Mcauley W.I, Kim N.N., Min K, Goldstein I. Intracavernosal sildenafil facilitates penile erection independent of the nitric oxide pathway. J Androl 2001;22:623-28.
- 36) Gonzalgo M, Brotzman M, Trock B, Geringer A, Burnet A. Clinical efficacy of sildenafil citrate and predictors of long term response. J urol 2003;170:503-6
- 37) Jarow JP, Burnett AL, Clinical efficacy of sildenafil citrate based on etiology and response to prior treatment. J Urol 1999: 162;722:
- 38) Thompson CS, Mumtaz FH, Khan MA, Wallis RM, Mikhailidis DP, Morgan RJ, Angelini GD, Jeremy JY. The effect of sildenafil on corpus cavernosal smooth muscle relaxation and cyclic GMP formation in the diabetic rabbit. Eur J Pharmacol. 2001 Aug 3;425(1):57-64
- 39) Hallen K, Wiklund NP, Gustafsson LE. Inhibitors of PDE 5 inhibit the nevre-induced release of nitric oxide from the rabbit corpus cavernosum British Journal of Pharmacology 2007: 150; 353-360
- 40) Musicki B, Champion HC, Becker RE, Liu T, Kramer MF, Burnett AL. Erection capability is potentiated by long-term sildenafil treatment: role of blood flow-induced endothelial nitric-oxide synthase phosphorylation Mol Pharmacol. 2005 Jul;68(1):226-32. Epub 2005 Apr 25.

- 41) Ferrini MG, Davila HH, Kovanecz I, Sanchez SP, Gonzalez-Cadavid NF, Rajfer J. Vardenafil prevents fibrosis and loss of corporal smooth muscle that occurs after bilateral cavernosal nerve resection in the rat. *Urology*. 2006 Aug;68(2):429-35.
- 42) Ahn GJ, Yu JY, Choi SM, Kang KK, Ahn BO, Kwon JW, Kang SK, Lee BC, Hwang WS. Chronic administration of phosphodiesterase 5 inhibitor improves erectile and endothelial function in a rat model of diabetes. *Int J Androl*. 2005 Oct;28(5):260-6
- 43) Ender Ö. Kavernözal nörotomi yapılan sıçanlarda sildenafil sitrat tedavisinin in vitro kavernözal düz kas yanıtlarına etkisi: Radikal prostatektomi sonrası erektil disfonksiyonu. 2003 Uzmanlık Tezi.
- 44) Zhang R, Wang Y, Zhang L, Zhang Z, Tsang W, Lu M, Zhang L, Chopp M Sildenafil (Viagra) induces neurogenesis and promotes functional recovery after stroke in rats. *Stroke*. 2002 Nov;33(11):2675-80.
- 45) Ahn GJ, Sohn YS, Kang KK, Ahn BO, Kwon JW, Kang SK, Lee BC, Hwang WS. The effect of PDE5 inhibition on the erectile function in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Impot Res*. 2005 Mar-Apr;17(2):134-41. Erratum in: *Int J Impot Res*. 2006 Nov-Dec;18(6):576
- 46) Hsieh GC, O'Neill AB, Moreland RB. YC-1 potentiates the nitric oxide/cyclic GMP pathway in corpus cavernosum and facilitates penile erection in rats. *Eur J Pharmacol* 2003; 458: 183-189.
- 47) Lue TF. Erectile Dysfunction. *New Eng J Med* 2000; 342: 1802-
- 48) Lagoda G, Jin L, Lehrfeld TJ, Liu T, Burnett AL FK506 and sildenafil promote erectile function recovery after cavernous nerve injury through antioxidative mechanisms. *J Sex Med*. 2007 Jul;4(4 Pt 1):908-16.

- 49) Andersson KE . Pharmacology of erectile function and dysfunction. Urol Clin North Am. 2001 May;28(2):233-47
- 50) Christ GJ, Melman A. Molecular studies of human corporal smooth muscle: implications for the understanding diagnosis and treatment of erectile dysfunction. Mol Urol 1997Jan;1:45-54
- 51) Gür S, Öztürk B, Karahan S.T. Impaired endothelium dependent and neurogenic relaxation of corpus cavernosum from diabetic rats: improvement with L-arginine. Urol Res 2000;28:14-19.
- 52) Gür S, Karahan T, Öztürk B, Badıllı M. Effect of ascorbic acid treatment on endothelium-dependent and neurogenic relaxation of corpus cavernosum from middle-aged non-insulin dependent diabetic rats.
- 53) Azadzoı KM, Saenz Tejada I. Diabetes mellitus impairs neurogenic and endothelium dependent relaxation of rabbit corpus cavernosum smooth muscle J Urol 1992;146:1587
- 54) Wang Y, Bukoski RD. Use of acute phenolic denervation to show the neuronal dependence of Ca induced relaxation of isolated arteries. Life Sci 1999; 64:887-94.