



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**  
**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**STREPTOZOTOSİN İLE İNDÜKLENEN  
DİYABETİK SIÇANLARDA GELİŞEN EREKTİL  
DİSFONKSİYON ÜZERİNE CDP-KOLİN VE  
METABOLİTLERİ İLE YAPILAN TEDAVİNİN  
OLASI ETKİSİ**

**Yeşim HAMURTEKİN**

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Fügen AKTAN**

**ANKARA**

**2019**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**STREPTOZOTOSİN İLE İNDÜKLENEN  
DİYABETİK SIÇANLARDA GELİŞEN EREKTİL  
DİSFONKSİYON ÜZERİNE CDP-KOLİN VE  
METABOLİTLERİ İLE YAPILAN TEDAVİNİN  
OLASI ETKİSİ**

**Yeşim HAMURTEKİN**

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Fügen AKTAN**

**İKİNCİ DANIŞMAN**

**Dr. Öğr. Üyesi Aslı KOÇ**

**ANKARA**

**2019**

## ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Streptozotosin İle İndüklenen Diyabetik Sıçanlarda Gelişen Erektile Disfonksiyon Üzerine Cdp-Kolin Ve Metabolitleri İle Yapılan Tedavinin Olası Etkisi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezitimüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırmatarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Yeşim HAMURTEKİN

Tarih: 10/05/2019

İmza:


## KABUL VE ONAY

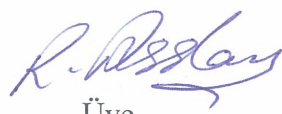
Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Biyokimya Anabilim Dalında  
Yeşim HAMURTEKİN tarafından hazırlanan  
“Streptozotosin İle İndüklenen Diyabetik Sıçanlarda Gelişen Erektile Disfonksiyon  
Üzerine Cdp-Kolin Ve Metabolitleri İle Yapılan Tedavinin Olası Etkisi”  
adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından  
DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 10/05/2019

  
Jüri Başkanı  
Prof. Dr. Zeliha BÜYÜKBİNGÖL  
(Ankara Üniversitesi)

  
Üye  
Prof. Dr. Fügen AKTAN  
(Ankara Üniversitesi)

  
Üye  
Prof. Dr. Asuman SUNGUROĞLU  
(Ankara Üniversitesi)

  
Üye  
Doç. Dr. Rana ARSLAN  
(Anadolu Üniversitesi)

  
Üye  
Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN  
(Anadolu Üniversitesi)

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet AKAN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## İÇİNDEKİLER

İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	ix
Çizelgeler	x
<b>1.GİRİŞ</b>	1
1.1.PenisinAnatomisi	2
1.2. Ereksiyonun Santral Kontrolü	4
1.3. Ereksiyonun Periferal Kontrolü	4
1.4. Ereksiyonun Fizyolojisi	5
1.4.1. Ereksiyonun Moleküler Fizyolojisi	6
1.5. Nitrik Oksitin (NO) Yapısı ve Özellikleri	9
1.5.1. Nitrik Oksit Sentaz (NOS)'un Yapısı ve Özellikleri	10
1.6. Diyabet ve Erektile Disfonksiyon	14
1.6.1. Diyabete Bağlı ED'de Oksidatif Stresin Rolü	14
1.7. CDP-kolin'in Genel Özellikleri	16
1.7.1.CDP-kolin'in Yapısı ve Sentezi	16
1.7.2. CDP-kolin'in Metabolizması	17
1.7.3. Dışarıdan Verilen CDP-kolin'in Periferik Dokularda ve Beyin Dokusundaki Dağılımı	18
1.7.4. CDP-kolin'in Metabolitleri	19
1.7.5. CDP-kolin'in Etkileri	23
1.7.6. CDP-kolin'in Kullanım Alanları	25
<b>2.GEREÇ VE YÖNTEM</b>	28
2.1. Kullanılan Gereçler	28
2.1.1. Malzemeler	28
2.1.2. Kimyasal Maddeler	29
2.2. Deney Hayvanları	30
2.3.Diyabetin Oluşturulması	31
2.4. Beden Ağırlıkları ve Kan Şekeri Seviyelerinin Takip Edilmesi	31
2.5. CDP-Kolin ve Metabolitlerinin Enjekte Edilmesi	32
2.6. İn Vivo Deneyler	33
2.7. İn Vitro Deneyler	36
2.8. Griess Yöntemi ile Nitrit Tayini	37
2.9. Western Blot Analizi	38
2.10. İstatistikselAnaliz	40
<b>3. BULGULAR</b>	41
3.1. Beden Ağırlıkları ve Kan Şekeri Değerleri	41
3.2. İn Vivo Çalışma Sonuçları	43
3.3. İn Vitro Çalışma Sonuçları	73
3.4. Nitrit Tayini Sonuçları	76
3.5. Western Blot Analizine Göre eNOS Sonuçları	77

<b>4. TARTIŞMA</b>	79
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	86
<b>ÖZET</b>	87
<b>SUMMARY</b>	88
<b>KAYNAKLAR</b>	89
<b>EKLER</b>	105
Ek 1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul	105
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	107



## ÖNSÖZ

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, gelecekteki mesleki hayatımda bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli danışmanım Prof. Dr. Fügen AKTAN'na ve eş danışmamın Dr. Öğr. Üyesi Aslı KOÇ'a teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum. Yine çalışmamda konu, kaynak ve yöntem açısından bana sürekli katkı sağlayarak yol gösteren kıymetli hocam Prof. Dr. Serap GÜR'e, Prof. Dr. İsmail Hakkı ULUS'a da sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez projemde in vivo deneylerimi yapmama yardım eden Dr. Öğr. Üyesi Didem YILMAZ'a, istatistiksel analizleri yapmama yardım eden Dr. Öğr. Üyesi Çağatay BÜYÜKUYSAL'a teşekkürü borç bilirim. Biyokimya anabilim dalı olarak her daim yanımda olan Prof. Dr. Zeliha BÜYÜKBİNGÖL'e, Dr. Öğr. Üyesi Arzu KARABAY'a, Doç. Dr. Filiz BAKAR ATEŞ'e, Dr. Ecem KAYA SEZGİNER'e teşekkür ederim.

Eğitimim ve kendimi geliştirmem adına bana güvenen, referans olan, hiçbirzaman yardımlarını esirgemeyen sayın dekanım Prof. Dr. Fethi ŞAHİN ve eşi, Prof. Dr. Gönül ŞAHİN'e sonsuz teşekkürlerimi iletiyorum.

Doktora yapmama vesile olan, bunun için maddi ve manevi olarak her daim yanımda olan kayınvalidem Hanife HAMURTEKİN'e, kayın babam Erdal HAMURTEKİN'e, benim nazımı çekip, destek olan kızkardeşim Berna KARADENİZ eşi Yakup KARADENİZ'e ve sevgili aileme sonsuz teşekkür ediyorum.

Her daim arkamda olan, değerli bilgilerini benimle paylaşan, bana kıymetli zamanımı ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle, faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen hayat arkadaşım Doç. Dr. Emre HAMURTEKİN'e çok teşekkür ediyorum. Son olarak iyi ki var dediğim oğlum Ege HAMURTEKİN, sizleri çok seviyorum.

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ACh	: Asetilkolin
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
ADMA	: Endojen Asimetrik Dimetilarjinin
ADP	: Adenozin Difosfat
ALS	: Amyotrofik Lateral Skleroz
AMP	: Adenozin Monofosfat
ATP	: Adenozin Trifosfat
BH <sub>4</sub>	: Tetrahidrobijopterin
BSAP	: Birleşik Sinir Aksiyon Potansiyeli
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CCT	: Fosfokolin Sitidil Transferaz
CDP-kolin	: Sitidin-5'-Difosfat Kolin
CMP	: Sitidinmonofosfat
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
cNOS	: Konstitutive Nitrik Oksit Sentaz
CTP	: Sitidin-5'-Trifosfat
DM	: Diabetes Mellitus
EAA	: Eğri Altındaki Alan
ED	: Erektile Disfonksiyon
eNOS	: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
FAD	: Flavin Adenin Dinukleotid
FMN	: Flavin Mono Nukleotid
GH	: Büyüme Hormonu
Glut 2	: Glukoz Taşıyıcı 2
GMP	: Guanozin Monofosfatı
HC-3	: Hemikolinium-3
ICP	: İntrakavernozal Basınç (Intracavernosal pressure)
iNOS	: Inducible Nitrik Oksit Sentaz
KK	: Korpus Kavernozum
KS	: Korpus Spongiozum

LH	: Luteinizan Hormon
MAP	: Sistolik Kan Basıncı (Mean Arterial Pressure)
MPA	: Medial Preoptik Alan
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NEDA	: Naftiletilediamin
NMDAR	: Anti-N-Methyl-D-Aspartate
nNOS	: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PDE	: Fosfodiesteraz
PRL	: Prolaktin
PVDF	: Poliviniliden Diflorid
RIPA	: Radioimmunoprecipitation Assay Buffer
ROS	: Reaktif Oksijen Radikalleri
STZ	: Streptozotosin
TSH	: Tiroid Uyarıcı Hormon
VACht	: Vesiküler Kolin Taşıyıcıları
VIP	: Vazoaktif Intestinal Peptid

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 1.1.</b> Penis düz kası kasılmasının moleküler mekanizması	7
<b>Şekil 1.2.</b> Kavernoza düz kas gevşemesi	9
<b>Şekil 1.3.</b> NO sentezi	11
<b>Şekil 1.4.</b> Damar duvarında NO'nun oluşumu ve etki mekanizması	12
<b>Şekil 1.5.</b> CDP-kolin'in molekül yapısı	16
<b>Şekil 1.6.</b> Kennedy yolağı aracılığı ile CDP-kolin sentezi; CMP: Sitidinmonofosfat, ATP: Adenozin trifosfat, ADP: Adenozin difosfat, Rib: Riboz, P: Fosfat grubu	17
<b>Şekil 1.7.</b> CDP-kolin'in metabolizması	18
<b>Şekil 1.8.</b> Kolin'in moleküler yapısı	19
<b>Şekil 1.9.</b> Sitidin'in molekül yapısı	22

## ÇİZELGELER

<b>Çizelge 3.1.</b> Deney sıçanlarının ağırlıkları ve kan şekeri değerlerindeki değişiklikler	41
<b>Çizelge 3.2.</b> Koline ait ICP ölçümlerinin median ve p değerleri.	57
<b>Çizelge 3.3.</b> Koline ait ICP/MAP ölçümlerinin median ve p değerleri.	58
<b>Çizelge 3.4.</b> CDP-koline ait ICP ölçümlerinin median ve p değerleri.	71
<b>Çizelge 3.5.</b> CDP-koline ait ICP/MAP ölçümlerinin median ve p değerleri.	71



# 1. GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM), prevalansı giderek artan ve tüm dünyada halk sağlığını tehdit eden kronik bir hastalıktır. Diyabetin sebep olduğu en önemli etkilerden biri erektil disfonksiyon (ED) olup, diyabetli bireylerin yaklaşık %75'inde ED saptandığı belirtilmektedir (Feldman ve ark., 1994). ED, ereksiyon oluşturmama veya ereksiyonu devam ettirememe durumudur (Anafarta, 2000; Nusbaum, 2000). Diyabetik erkeklerde ED'ye olan yatkınlık,diyabet olmayanlara göre 10-15 yıl erken başlar ve aynı zamanda, ED'ye sahip olma olasılığının 3 kat daha fazla olduğu çalışmalarla gösterilmiştir (Feldman ve ark., 1994). Diyabetik hastalarda ED'nin, erkeklerde herhangi bir yaşam riski oluşturmadığı ancak hastanın hayat kalitesini önemli ölçüde değiştirdiği bilinen bir gerçektir.

Diyabetin patofizyolojisinde rol oynayan faktörlerin öncelikleri farklı olsa da, ED'nin Tip 1 ve Tip 2 diyabetli erkeklerde, günümüzde önemli bir klinik komplikasyon olduğu gösterilmiştir (Andersson ve ark., 2015). Seksüel fonksiyonlar, ürogenital sistem fizyolojisinin önemli bir komponenti olduğundan, diyabete bağlı ED ve buna bağlı gelişen seksüel fonksiyon bozuklukları hayatı tehdit eden bir durum olmamakla birlikte, hastanın yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen bir sorun olarak görülmektedir (Agaba ve ark., 2017).Diyabete bağlı gelişen ED'de çeşitli patofizyolojik olayların katkısı birçok çalışma ile ortaya konulmuştur. Bunlar arasında çeşitli fonksiyon bozukluklarını içinde bulunduran endotelial disfonksiyon, diyabete bağlı gelişen nöropati ve hipogonadizm gelmektedir (Andersson ve ark., 2015). Diğer taraftan, günümüzde diyabete bağlı oluşan ED için çeşitli farmakolojik ve cerrahi tedavi yöntemleri bulunmaktadır (Padma-Nathan ve ark., 1997). Ayrıca, diyabete bağlı gelişen ED bugün birinci sıra ilaçlar olan fosfodiesteraz (PDE)-5-inhibitörleri ile tedaviye istenen yanıtları vermediğinden (Carson, 2000) daha etkin ve daha güvenli farmakolojik tedavi arayışları sürmektedir.

Kolin, nörotransmitter asetilkolin'in ön maddesidir (Clark ve ark, 1997). Yapılan çalışmalar, kolin düzeylerinin artırılmasının asetilkolin salıverilmesini ve

beyin asetilkolin düzeylerini artırdığını (D'Orlando ve Sandage, 1995), buna bağlı olarak da kolinerjik nörotransmisyonunda artışa yol açtığını (Dixon ve ark., 1997) ve buna uyan fonksiyonel değişiklikler ortaya çıkardığını göstermektedir (Baskaya ve ark., 2000; Leon-Carrion ve ark., 2000). Sitidin-5'-difosfat kolin (CDP-kolin, sitikolin), vücudumuzda doğal olarak meydana gelen nükleotid yapısında bir bileşiktir (Rao ve Hatcher, 2005). Günümüze kadar CDP-kolin'in etkileri hem deney hayvanlarında hem de insanlarda yapılan birçok çalışma ile araştırılmıştır (Petkov ve ark., 1993). CDP-kolin, iyi tolere edilen ve yan etki profili açısından güvenli bir ajan olarak, serebral iskemi, travmatik beyin hasarı ve bellek fonksiyonları üzerindeki yararlı etkileri çok sayıda gönüllü ve hasta grupları üzerinde gösterilmiş olan bir moleküldür (Petkov ve ark., 1993). Dışarıdan CDP-kolin uygulanmasının beyinde asetilkolin düzeylerinde artışa neden olduğu (Bruhwylers ve ark., 1998), membran yapısını koruduğu (Teather ve Wurtman, 2003), kardiovasküler ve endokrin sistem üzerinde etkileri olduğu ve birçok deneysel ağrı modelinde de analjezik ve antihiperalezik etkiler oluşturduğu deney hayvanlarında gösterilmiştir (Gurun ve ark., 2009). CDP-kolin dışarıdan uygulandığında, vücutta hızla kolin ve sitidine hidroliz edilmektedir (Lopez ark., 1987). Oral yolla verilen CDP-kolin ile, sıçanlarda plazmada kolin ve sitidin düzeylerinin arttığı (Cohen ve Wurtman 1976; Wurtman ve ark., 2000) görülmüş ve ayrıca CDP-kolin'in diğer bir metaboliti olan sitidin'in de deney hayvanlarında kan basıncını artırıcı, antidepresan ve analjezik etkileri olduğu saptanmıştır (Carlezon ve ark., 2002; Savcı ve ark., 2002).

### **1.1. Penisin Anatomisi**

Erkek genital organı olan penis, cinsel ve idrar boşaltmak için iki kısımdan oluşur. Penisin anatomisi incelendiğinde içinde üç silindir barındırdığı görülür. Bunların ikisi korpus kavernozum (KK), biri ise idrarın, testislerde ve üretra da üretilen spermlerin ve ikincil seks organlarında üretilen meni sıvısının boşaltılmasını sağlayan korpus spongiozum (KS)'dur. Ayrıca bu yapıları koruyan, kollajen liflerden zengin, elastik liflerden fakir, elastik kıvamda bir zar olan, tunica albuginea ile sarılıdır (Lue, 2000; Russell ve Nehra, 2003).

Tunika albuginea, ereksiyonda genişler. Kendisini geçen perforan (emisser) venleri sıkıştırıp venöz dönüşü engelleyerek ereksiyona yardımcı olur. Tunika albuginea da bulunan septal çıkıntılar her iki korpus kavernozum da birçok trabekül oluşturur. Bu trabeküller, erektil sinüsoidal dokuya sahiptir ve bu trabeküllerin iç yüzeyi endotel ile kaplıdır (Hsu ve ark., 1992).

Buck fasyası tunika albuginea'nın dışında yer alır, sağ-sol 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. Bulbusu oluşturmak için korpus spongiozum proksimal kısımda genişler. Yukarıya doğru ürogenital diafram boyunca kıvrılır ve prostatın apeksine ulaşır. Korpus kavernoza göre korpus spongiozum, daha geniş sinüsoidal boşluklara sahiptir. Korpus spongiozunu çevreleyen tunika albuginea daha incedir. Penis, internal iliak arterin kollarından biri olan internal pudental arter ile kanlanmaktadır. Pelvis içinde; internal pudental arter, sakrotüberöz ligamanın üstünden ve sakrospinöz ligamanın altından geçip, alcock kanalında perineal arter kolunu verdikten sonra kommon penil arter adını alır. Kommon penil arter korpus kavernoza varmadan önce bulbar, üretral, kavernoza kollar verir ve dorsal arter olarak devam eder. Tunika albuginea üzerinden geçen kavernoza arter distale doğru uzanırken çok sayıda düz kastan zengin helisin dallar verir. Bu damarlar doğrudan vakuollerden oluşan boşluklara açılır. Penisin yüzeysel venöz sistemi, intermediate ve derin venöz sistem aracılığı ile drene edilir. Derin venöz sistem krural ve kavernoza venlerden oluşmuştur. Kavernoza cismin drenajını sağlayan kavernoza venler, spongioz cismi drene eden üretral venlerle birleşerek internal pudental vene drene olurlar (Campbell Üroloji, 2005; Panchatsharam ve Zito 2018; Russell ve Nehra, 2003).

Kavernoza sinirler (Walsh sinirleri) pelvik pleksusun bir dalıdır. Bu sinirler sempatik ve parasempatik lifler taşır. Kavernoza sinir prostatın posterolateralinde devam eder; intrakavernoza basınç ölçümü için bu alana elektriksel stimulyasyon uygulanır. İkinci ve dördüncü sakral spinal segment aralığındaki (S2-4) intermediolateral nukleuslardan gelen parasempatik sinirler, onuncu torasik ikinci lumbar spinal segment aralığındaki (T10-L2) torakolumbar bölgeden gelen sempatik

sinirlerin oluşturduğu presakral sinir (nervus hipogastrikus) pelvik pleksusa katılır. Kavernoza sinir lifleri, üretral ve kavernoza arterlerle beraber korpus spongiozuma ve korpus kavernozum girerler. Kavernoza sinirlerin terminal dalları trabeküler düz kasları ve helisial arterleri inerve ederler (Dean ve Lue, 2005; Lue, 2000).

## **1.2. Ereksiyonun Santral Kontrolü**

Cinsel uyarı ile yönlendirilen seksüel aktivite döngüsü, birçok santral ve periferik nöronların denetimi altındadır. Hipokampus, hipotalamusun paraventriküler nükleusu ve medial preoptik alan (MPA) penil ereksiyon ve cinsel fonksiyon kontrolünde rol oynayan en önemli integrasyon merkezleridir (Marson ve ark., 1993). MPA'dan çıkan efferent yollar medial ön beyine ve oradan orta beyin tegmental bölgesine (substantia nigra yakınına) girer. Bu bölgelerdeki lezyonlara neden olan multiple skleroz, parkinson hastalığı veya serebrovasküler olaylar bu iletinin bozulmasına ve buna bağlı olarak ED'ye sebep olurlar (Mallick ve ark., 1994).

Eretil yanıtı ortaya çıkarmakta önemli olan paraventriküler nükleusta dopaminerjik yollar bulunmuştur (Anderson, 2001c; Ganong, 1999). Ayrıca santral noradrenalin aracılı iletiminin de cinsel fonksiyon üzerine etkisi olduğu düşünülmektedir (Anderson, 2001a). Yapılan çalışmalar, erkek sıçanlar da oksitosinerjik nöronlarının oksitosinle uyarılması, NO sentaz (NOS) aktivasyonu ile ereksiyonun oluşturduğunu göstermiştir (Andersson, 2001b). Diğer taraftan, ED olan hastalardaprolaktin düzeyinin yüksek olduğu vurgulanmıştır, prolaktin seviyesinin yüksek olması ise LH salınımını azaltır ve seks hormon bağlayıcı globülin seviyesini düşürür (Buvat, 2003; Palmer, 1999).

## **1.3. Ereksiyonun Periferik Kontrolü**

Penil ereksiyonu, otonomik sinir sistemin kontrolü altındadır. Proeretil sakral parasempatik yollar, sempatik yollar ise anti-eretil mekanizmaları yönetir.

Nitrenjrik sinirler ve endotel hücresler, peniste NO salınması ile, siklik guanozin monofosfat (cGMP) üretmek üzere guanilat siklazı aktive eder ve intraselüler Ca<sup>2+</sup> azalmasına sebep olur, buna bağlı olarakta gevşeme gerçekleşir. Penisin nöral innervasyonu, somatik sinirler (pudental sinir içinde), sempatik ve parasempatik sinirler (kavernöz sinir içinde) ile sağlanır. Periferik nörojenik kontrolde ise adrenerjik, kolinerjik ve nitrenjrik lifler rol alır (Lue, 2000).

#### 1.4. Ereksiyonun Fizyolojisi

Flask, latent (dolum), tümesans, tam, rigid ve detümesans olmak üzere altı evrede ereksiyon fizyolojisi tamamlanır. Flask evrede, kavernöz arterden gelen kan minimal düzeyde olup yalnızca dokuyu besler. Bunlar sempatik etki altındadır ve kavernöz düz kas ile terminal arterioller kontraktedir. Latent (dolum) evresinde ise cinsel uyarılmayla birlikte, sinirsel uyarılar kavernöz sinir uçlarından ve endotel hücrelerinden NO salınımını gerçekleştirir. İnternal pudental arterde sistolik ve diastolik akım yükselir. Trabekül düz kasların gevşemesi ile sinüzoidlerde hızlı bir kan göllenmesi gerçekleşir. KK'a hem sistolden hem de diastolden kan girer. Penisin boyu uzadığı için intrakavernözal basınç (ICP) henüz artmamıştır. Tümesans evresinde tam ereksiyon oluşana kadar ICP sürekli olarak artar. ICP arttıkça arteriyel kan akımı düşer ve ICP diastolik basıncın üzerine çıkınca KK'a sadece sistolden kan girer. Kan, KK içinde hapsolür ve penis flask pozisyonundan ereksiyon durumuna geçer. Tam ereksiyon evresinde ICP yükselir. Aynı zamanda bu evrede venöz kanalların çoğu komprese olmuş, venöz akım durmuş ve kan gazları arteriyel kandakine eşit hale gelmiştir. Rigid ereksiyon evresinde, kavernöz sinir uyarımıyla tam ereksiyon sağlandıktan sonra pudental sinir uyarımıyla iskiokavernöz kaslar kasılır. Bu evrede ICP sistolik basıncın üzerine çıkar ve kavernöz sinir içindeki akım durur. Detümesans evresinde ise ejakülasyonla birlikte sempatik sinir sistemde artan fonksiyon helisin arterlerde tonus artışına ve trabeküler kaslarda kasılmaya neden olur. Böylece ICP'de hafif bir artış olur. Venoklüziv mekanizması halen aktiftir. Yavaş detümesans evresinde, venöz dönüş kanallarının açılması ile birlikte ICP'de orta derecede azalma oluşur. Hızlı detümesans evresinde, arterial akımın uyarılma öncesine gelmesi ve venoklüziv mekanizması hâlâ aktiftir.

oklüziv mekanizmanın inaktif hale gelmesi ile ICP hızla düşer (Dean ve Lue, 2005; Ralp, 2005).

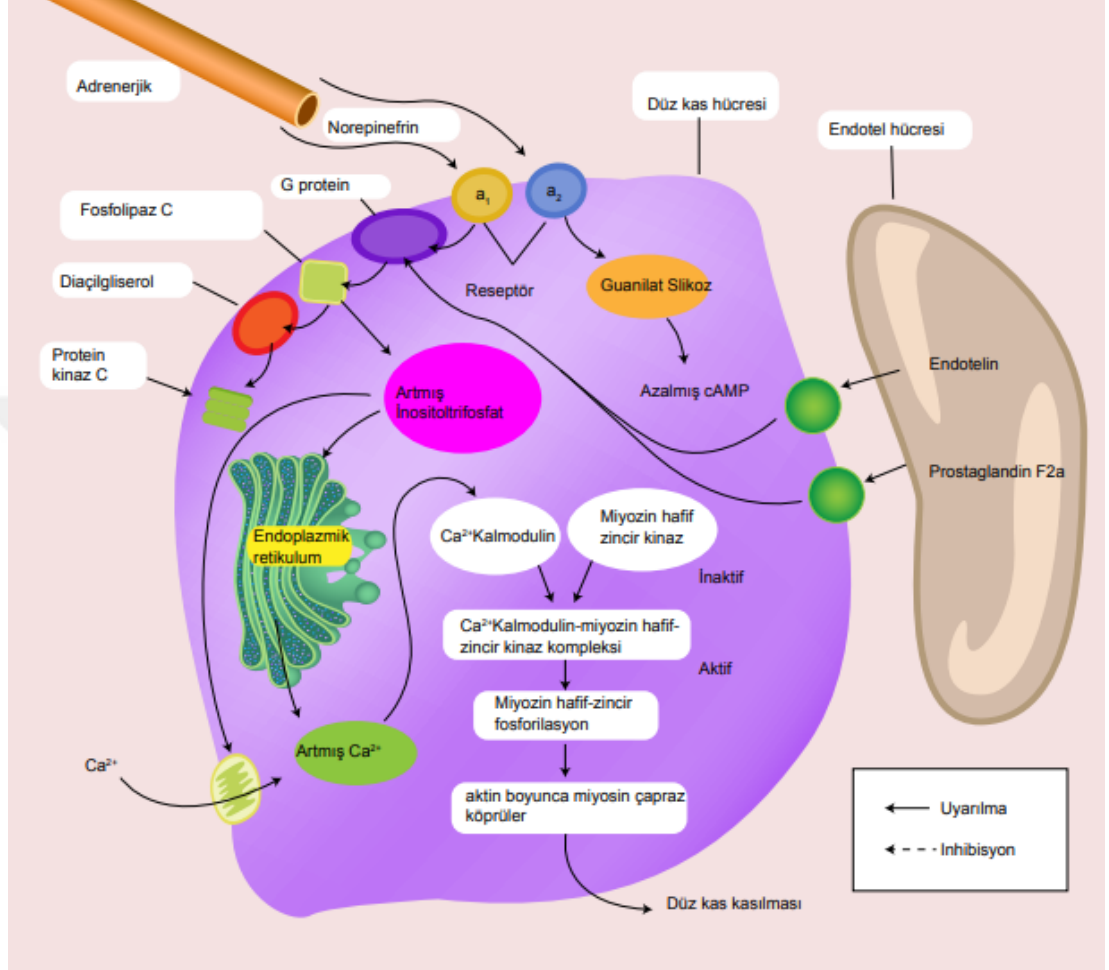
#### 1.4.1. Ereksiyonun Moleküler Fizyolojisi

Düz kas kasılma ve gevşeme hücresel serbest  $Ca^{2+}$  tarafından düzenlenir. Sinir uçlarından noradrenalin, endotelden endotelin ve prostaglandin  $F2\alpha$ ; düz kastaki endotel aktif reseptörlerden diaçilgliserol ve inositol trifosfatı artırarak, sarkoplazmik retikulumdan  $Ca^{2+}$  salınmasını sağlar. Buna bağlı olarak düz kas hücre duvarındaki  $Ca^{2+}$  kanallarının açılmasıyla, ekstraselüler aralıktan  $Ca^{2+}$  girişi sağlanır. Miktarı artan  $Ca^{2+}$ , kalmoduline bağlanır ve miyozin-hafif zincirinde değişimlere sebep olur. Ayrı olarak, hafif zincir fosforilasyonu, ATP'den kasılma için gereken enerjiyi üreten miyozin ATPazı aktive eder (Dean ve Lue, 2005).

Hücrel  $Ca^{2+}$ , bazal seviyeye düştüğünde,  $Ca^{2+}$ 'a duyarlı yolak devreye girer. Bir diğer mekanizma, hücrel  $Ca^{2+}$ 'u etkilemeden kasılmayı sağlayan,  $Ca^{2+}$  duyarlılığını artıran G-protein-bağlı eksitator reseptörler üzerinden gerçekleşir. Bu yolak, küçük, monomerik G protein olan, Rho kinazı aktive eden RhoA'yı içerir. Aktif hale gelmiş Rho-kinaz, düz kas regülatör ünitesi olan, kontraktıl tonusu sağlayan miyofilamentlerin defosforillenmesini önleyen miyozin fosfatazın inhibe olmasına neden olur. Düz kasın gevşemesi ile birlikte sarkoplazmik retikulumdan serbest  $Ca^{2+}$  azalması olur. Kalmodulin  $Ca^{2+}$ 'dan ayrılır ve miyozin hafif zincir kinaz inaktive hale geçer. Miyozin, miyozin hafif-zincir fosfataz ile defosforillenir, aktin filamentlerinden ayrılır ve kas gevşeme durumuna geçer (Lue, 2000).

Düz kas gevşemesi için gereken ikincil ulaklar siklik adenozin monofosfat (cAMP) ve siklik guanizin monofosfat (cGMP)'dir. cAMP ve cGMP G bağımlı protein kinazları aktive eder ve iyon kanalları, bazı proteinlerin fosforillenmesini sağlar. Bunun sonucunda ise 1) potasyum kanallarının açılması ve hiperpolarizasyon 2) endoplazmik retikulumdan intraselüler  $Ca^{2+}$ 'un geri alınması 3) voltaj duyarlı  $Ca^{2+}$  kanallarının inhibisyonu ve  $Ca^{2+}$  girişinin blokajı gerçekleşir. Tüm bunların sonucu

olarak, hücre serbest  $Ca^{2+}$ 'da azalma ve düz kasta gevşeme görülür (Dean ve Lue, 2005) (şekil 1.1).



Şekil 1.1. Penis düz kası kasılmasının moleküler mekanizması (Lue, 2000)

#### 1.4.1.1. Kontraktil (anti-erektile) Mediyatörler

$\alpha$ -1 adreno-reseptörleri, penis düz kas kontraksiyonlarının ana düzenleyicileridir. İnsan KK'larında üç alt tipi ( $\alpha$ -1a,b,d) bulunur. Guanidin nükleotid bağlayıcı protein (G protein) aracılığı ile inositol trifosfat ve diacylglycerol kullanarak hücre içi  $Ca^{2+}$  düzeyinin artışına noradrenalin  $\alpha$ -1 adreno-reseptörleri neden olmaktadır (Gratzke ve ark., 2010; Madamanchi, 2007).

Endotelin, endotel hücreleri tarafından salgılanan güçlü vazokonstrüktör etkisi olan bir peptittir. Vasküler düz kas hücrelerinde ET-A reseptörleri bulunur ve endotelin bu reseptörlere bağlanarak G-bağımlı protein aracılığı ile vazokonstrüksiyon ve hücresel çoğalmayı indükler (Khan ve ark., 2000).

Anjiotensin 2, KK düz kas kontraksiyonuna neden olan bir hormondur. Anjiotensin 1, anjiotensin dönüştürücü enzim tarafından anjiotensin 2'ye dönüştürülür. İntrakavernozal dokuda anjiotensin 2 konsantrasyonu artınca KK'larda kontraksiyona neden olur (Comitter ve ark., 1997).

#### **1.4.1.2. Relaksan (Eretil) Mediatörler**

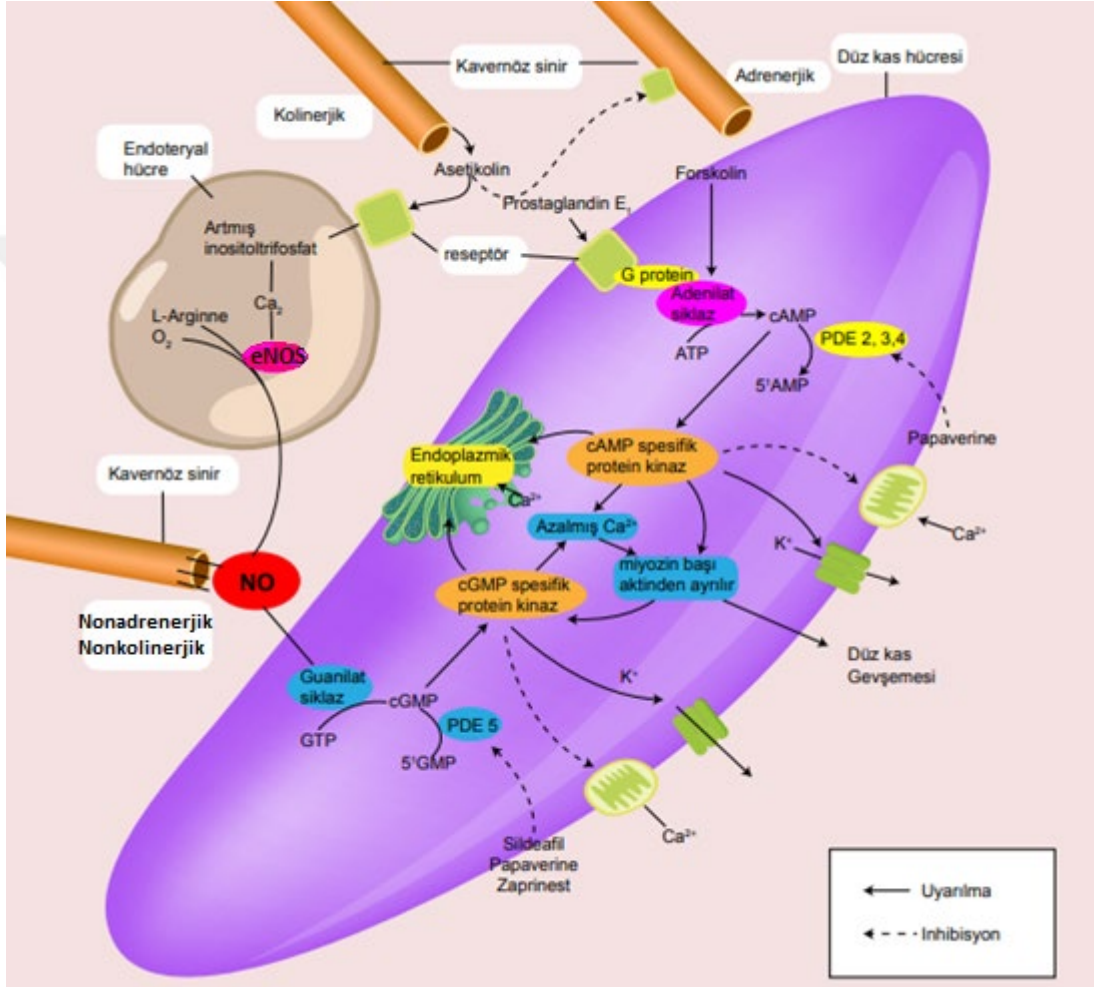
Ereksiyon, S2-4 spinal segmentlerden köken alan parasempatik sinirlerde artan sinirsel aktivite ile başlatılır. NO, asetilkolin, vazoaktif intestinal peptit reseptörleri(VIP), P1 pürinoreseptörleri ve endotel hücrelerinde ATP P2Y reseptörleri KK'da gevşemeye neden olurlar.

Asetilkolin, pregangliyonik bir nörotransmitterdir ve endotel hücrelerinden NO salınımını sağlar, presinaptik düzeyde adrenerjik sinir inhibisyonu yapıp muskarinik reseptörleri uyarır, noradrenalin salınımını inhibe eder böylece peniste tümesansa ve ereksiyona neden olur (Burnett ve ark., 1992).

Vazoaktif İntestinal Peptid (VIP) reseptörleri (tip 1 ve 2) penil eretil 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 (El Melegy ve ark.,2005). Düz kas da P1 pürinoseptörleri adenoze yanıt vererek, endotel hücrelerinde ise ATP, P2Y reseptörlerine bağlanarak KK'da gevşemeye neden olur (Tong ve ark., 1992, Fredholm ve ark., 1997).

Gevşemeden sorumlu ana kimyasal mediyatör NO'dir. Normal endotel fonksiyonunda, NO'nun vazodilatör etkisi, RhoA/Rho-kinaz aracılı vazokonstriksiyon

ile denge halindedir ve vasküler tonusu sağlamaktadır. Normal ereksiyonda, NO biyoyararlanımı ile vazokonstriktör fonksiyon arasındaki denge ve reaktif oksijen parçalarının oluşumu önem taşır. Patolojik durumlarda, NO'nun superoksit anyonu ile reaksiyonu sonucu artan peroksinitrit seviyesi, NO'nun pro-oksidant etkilerini açığa çıkarır (Gratzke ve ark., 2010) (şekil 1.2).



Şekil 1.2. Kavernozaal düz kas gevşemesi (Lue, 2000)

### 1.5. Nitrik Oksitin (NO) Yapısı ve Özellikleri

NO•, oksijensiz ortamda oldukça stabil ve suda eriyebilen lipofilik özelliğe sahip, atmosferik ve zehirli bir gazdır (Aktan, 2004). Serbest radikal olmasından dolayı yarı ömrü kısadır (Moncada ve ark., 1989; Palmer ve ark., 1989). NO•, bilinen en düşük

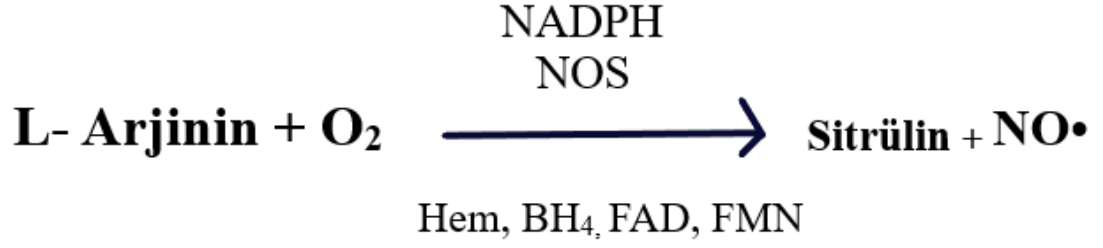
molekül ağırlıklı, düşük konsantrasyonlardayken, oksijen varlığında dahi stabilitesini koruyabilen, reaktif (biyoaktif) memeli hücresi sekresyon ürünüdür (Bryan, 2015).NO• düşük konsantrasyonlardayken toksik etkiye sahip değildir ve önemli fizyolojik işlevlerin gerçekleşmesinde rol alır.

Oksijenle oksitlenen NO• kısa sürede NO<sub>2</sub>- (nitrit) ve NO<sub>3</sub>- (nitrat) oluşturur. NO•'deki çiftlenmemiş elektron, oksijen ve azot atomları üzerinden 'rezonans stabilitesi' sağlar ve reseptöre bağlanmadan kolay bir şekilde membranlardan hücre içine geçebilir (Cooper, 2000; Lowenstein ve ark., 1994; Yallampalli ve ark., 1994). Bu özelliklere bağlı olarak NO• ideal bir haberci molekülüdür (Lowenstein ve ark., 1994). Bunlara ek olarak, ortamda su ve oksijen bulunduğu zaman yarı ömrü 3-20 saniye gibi kısa bir süreye sahiptir, dolayısı ile kolay bir şekilde oksitlenir buna bağlı olarak NO•, bir dizi nitrojen oksitlerine (NO<sub>x</sub>) dönüşebilir (MD, 1999). NO•, bir elektron alarak nitroksil anyonuna (NO<sup>-</sup>), bir elektron kaybederek nitrozonyum kationuna (NO<sup>+</sup>) dönüşebilir (Grisham, 1997; Hughes, 1999).

Düşük konsantrasyondaki NO•'nun hemoglobine bağlanma affinitesi oksijene göre oldukça yüksektir. NO•; hemoglobinin oksijen formunda ise önce NO<sub>2</sub>(nitrit)'e sonra da NO<sub>3</sub>(nitrat)'a oksitlenir (Hegesh ve Sniloah, 1982; Helms ve Kim-Shapiro, 2013).

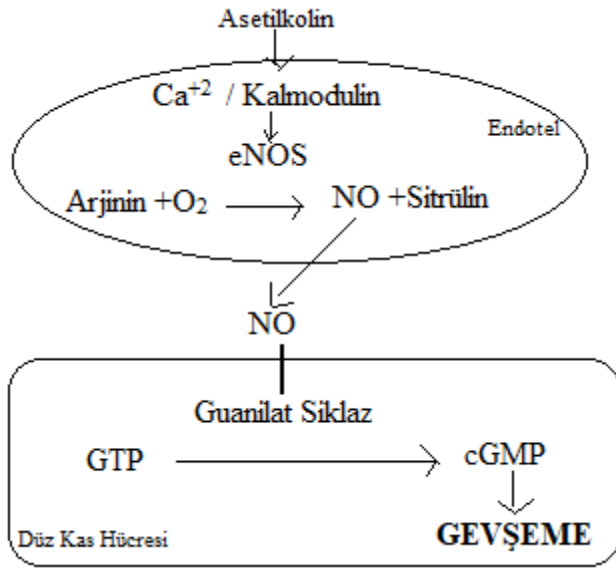
### **1.5.1. Nitrik Oksit Sentaz (NOS)'un Yapısı ve Özellikleri**

Nitrik oksit, nitrik oksit sentaz enziminin (NOS) üç farklı izoformu tarafından, L-argininden sentezlenir (Knowles ve Moncada, 1994; Yallampalli ve ark., 1994). Tüm izoformlar, L-arginini substrat olarak alır ve NADPH ve moleküler oksijen kosubstratlar olarak kullanılır. FAD (flavin adenin dinukleotid), FMN (flavin mono nukleotid) ve BH<sub>4</sub> (tetrahidrobiyopterin), tüm izoformlar tarafından kofaktör olarak kullanılır (Aktan, 2004; Förstermann ve Sessa, 2012; Marletta, 1993) (şekil 1.3).



Şekil 1.3.NO sentezi

Nitrik oksit sentaz, yapısal ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz olmak üzere iki izoformdan oluşur. Yapısal nitrik oksit sentaz,  $\text{Ca}^{+2}$ 'a bağımlı olarak uyarılır. Endotel hücreleri (Knowles ve Moncada, 1994; Moncada ve ark., 1991), ürogenital sistem dokuları (Bachmann ve Mundel, 1994; Cook ve Sullivar, 1991), santral ve periferik sinir sistemi nöronları (Hua ve AMY, 1994; Olesen ve ark., 1994), adrenal korteks ve medulla hücreleri (Palacios ve ark., 1989), trombositler (Muuruganandam ve Mutus, 1989; Salvemini ve ark., 1989), uterus ve barsak interstiyumunda bulunmaktadır (Chwalisz ve ark., 1996; Stark ve Szurszewski, 1992). Hücre içindeki kalsiyum düzeyini artıran her türlü reaksiyon, yapısal nitrik oksit sentazın aktifleşmesini sağlar ve NO sentezlenmesine neden olur (şekil 1.4). Ancak kalsiyumun artışına sebep olan uyarı kesildiğinde, koşullara bağlı olarak hücre içi  $\text{Ca}^{+2}$  düzeyleri azalır, enzim aktivitesi ortadan kalkar ve  $\text{NO}\bullet$  sentezi de durur. Bu nedenle yapısal nitrik oksit sentaz, biyolojik sistemlerde düşük miktardaki  $\text{NO}\bullet$  sentezden sorumludur. Yapısal nitrik oksit sentazbulunduğu hücrelerde daima mevcuttur ancak  $\text{Ca}^{+2}$  düzeyi yükselinceye kadar inaktif durumdadır (Moncada ve ark., 1991).



Şekil 1.4. Damar duvarında NO'nun oluşumu ve etki mekanizması (Çekmen ve ark., 2001)

#### 1.5.1.1. Endotelial Nitrik Oksit Sentaz (eNOS)

Yapısal nitrik oksit sentaz izoformunda olup,  $Ca^{+2}$ 'a bağımlı olarak uyarılır. Düz kasların gevşemesinde rol alarak kan akış hızını, kan basıncını, kalp kasının kasılmasını düzenler (Bassenge, 1994; Drexler ve ark., 1992). Trombositlerin agregasyonlarını ve adezyonu inhibe eder (Muuruganandam ve ark., 1989; Salvemini ve ark., 1989). Endotel hücrelerinde, vasküler düz kas hücrelerinde antiproliferatif etkiye sahiptir (Garg ve Hassid, 1989).

#### 1.5.1.2. Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (nNOS)

nNOS, beyinde, spesifik nöronlarda, yapısal olarak eksprese edilir. Enzim aktivitesi, kalsiyum ve kalmodülin tarafından regüle edilir (Förstermann ve Sessa, 2012). Nöromodülatör olarak, santral sinir sisteminde görev alır. nNOS'un aktivasyonu Anti-N-methyl-D-aspartate (NMDAR) aracılı  $Ca^{+2}$  girişine bağlıdır. Presinaptik uçtan salgılanan glutamat, postsinaptik uçtaki hücrenin NMDA reseptörlerine bağlanır ve nNOS'u aktiveştirilir. Glutamat merkezi sinir sistemindeki temel uyarıcı nörotransmitterdir. Glutamatın etkisiyle, (glutamat NMDA

reseptörlerine bağlanır), presinaptik uçtan salgılanan postsinaptik uçtaki hücrenin NOS'ü aktifleştirilir (Çekmen ve ark., 2001; Zhou ve ark., 2018; Durate ve ark., 1991; Hua ve AMY, 1994;).

nNOS'in fizyolojik fonksiyonları öğrenme, hafıza, nörogenezdir. Merkezi sinir sisteminde (MSS) nNOS tarafından salgılanan NO sinaptik iletinin uzun dönem regülasyonuna neden olur. Ayrı MSS'de kan basıncının merkezi regülasyonunda yer alır (Arami ve ark., 2017). nNOS ekspresyonundaki değişiklikler Parkinson, alzheimer, Amyotrofik lateral skleroz (ALS), anksiyete, inme gibi hastalıklarda saptanmıştır (Zhou ve ark., 2018).

### **1.5.1.3. İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS)**

NOS'un bu izoformu genellikle hücrede mevcut değildir. Bakteriyal lipopolisakkaritler, sitokinler ve diğer ajanlarca bu izoform hücrede eksprese edilir (Aktan, 2004; Förstermann ve Sessa, 2012). Bu uyarılma transkripsiyonel induksiyon yoluyla olmaktadır (Moncada ve ark., 1991). iNOS başta makrofajlar (monosit, histiyosit, kupfer hücreleri vs.) olmak üzere PMNL (polimorfonükleer lökosit)'ler (Mc Call ve ark., 1991; Green ve ark., 1990), damar düz kasları (Marletta, 1993), astrosit (Synder,1992), damar endoteli (Marletta, 1993), hepatositler (Stadler ve ark., 1991), ve kondrositler (Palmer ve ark., 1993) tarafından üretilebilir. Enzim uyarıldığı zaman, yapısal (konstitüf) NOS formdaki gibi NO• üretimi kısa süreli değildir, günlerce devam edebilir. Özellikle spesifik olmayan immünitede önemli göreve sahiptir. Mantar, virüs (Croen, 1993), bakteri (Dunlap ve ark., 1994), ve tümör hücreleri (Kwon ve ark., 1991) ile protozoonlara (Liew ve ark., 1990) sitotoksik veya sitostatik etki oluşturur. İnflamatuvar ve otoimmün hastalıklar (transplantin reddi, artritis, multipl sklerozis, astma vb.) da önemli rol alır (Francis ve ark., 1993).

## 1.6. Diyabet ve Erektıl Disfonksiyon

ED için risk faktörleri arasında yaşlanma, ateroskleroz, diyabet, hipertansiyon, sigara ve dislipidemi bulunmaktadır. Bu faktörler oksidatif streste artışa neden olur ve kavernoza endotel hücreleri hasarlanır ve bunun sonucunda ED gelişir (Saenz de Tejada ve ark., 1989).

Diyabet, santral sinir sistemi fonksiyonlarında, periferik sinir aktivitesinde, düz kas kasılmasında, fizyolojik fonksiyonlarda, endotel hücre fonksiyonlarında, androjen sekresyonu gibi bir çok patofizyolojik değişikliklere neden olarak ED gelişimini hızlandırdığı görülmektedir (Galiano ve ark., 2010). ED, diyabette görülen vasküler komplikasyonlardan biridir. Diyabet tanısı konulan hastaların %20'sinde ED şikayetleri görülmüş ve aynı zamanda ED şikayetiyle başvuran hastaların da %12'sine diyabet tanısı konulmuştur (Whitehead ve ark., 1990). Nathan ve ark.'nın (1986) çalışmasında, diyabetik hastalarda kavernoza düz kas hasarı gözlemlendiği bildirilmiştir. Hiperglisemi kavernoza dokuda oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres aracılı nörovasküler değişiklikler diyabetik erkeklerde ED'nin gelişiminde önemli bir rol oynar (Saenz de Tejada ve ark., 1989). Kouidrat ve ark. (2017) diyabetli erkeklerde ED artmasının kardiovasküler risk değerlendirmesinin bir parçası olduğunu bildirmişlerdir.

### 1.6.1. Diyabete Bağlı ED'de Oksidatif Stresin Rolü

ED'nin patofizyolojik mekanizmasında oksidatif stresin rolü üzerine birçok araştırma yapılmıştır (Musicki ve ark., 2005; Agarwal ve ark., 2005). ED riski hipertansiyon ve diyabet gibi hastalıklarda reaktif oksijen radikalleri (ROS) seviyesinin artışına bağlı olarak artar. Preklinik çalışmalarda ED ve ROS'un oluşumu arasında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Agarwal ve ark., 2005).

Diyabetik ED'nin patofizyolojik mekanizmasında rol oynayan önemli mekanizmalardan biri diyabette görülen oksidatif strestir. Süperoksit ve peroksinitrit

(ONOO<sup>-</sup>) düzeyinin artışı kavernoza kas gevşemesi için gerekli olan NO konsantrasyonunu azaltır. ED'nin iki önemli nedeni; akut hastalıkta azalan NO düzeyi ve uzun süreli endotel hasarıdır. Diyabetik ED neden olan diğer iki mekanizma ise protein kinaz C aktivasyonu ve ileri derecede glikozillenmiş son ürünlerinin oluşumudur. Protein kinaz C, çeşitli hücresel olayları modüle eden bir enzimdir. Protein kinaz C seviyesinin artması, ROS seviyesinin artışı ve değişen NO düzeyi ile ilişkilidir (Musicki ve ark., 2005).

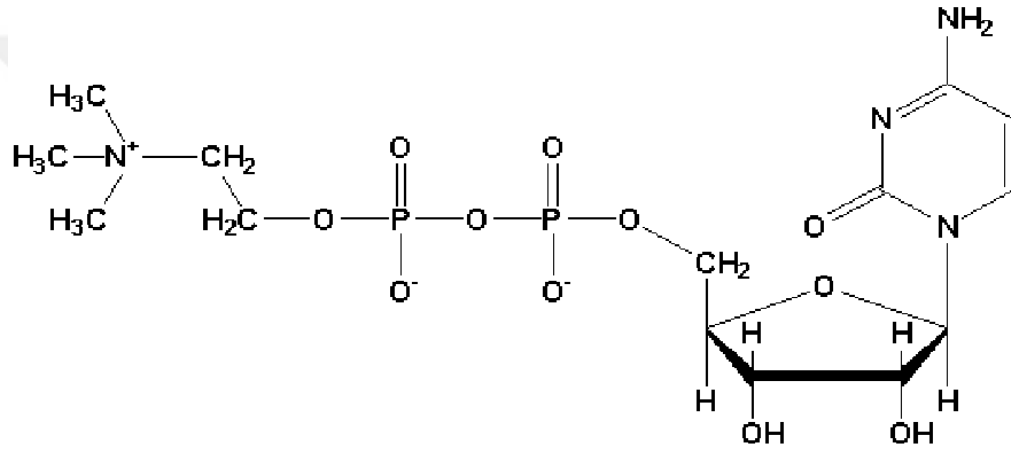
NO ve ROS arasındaki etkileşim, ED'nin patofizyolojik sürecinden sorumlu olan önemli mekanizmalarından biridir (Burnett ve ark., 1992). Vasküler hastalıklarda görülen endotel hasar artış nedeniyle NO konsantrasyonundaki değişiklik, ED'nin önemli nedenleri arasındadır. Araştırmalara göre, NO yokluğu veya NO üretiminde azalma ED'ye yol açan patofizyolojik bir süreçtir. NO azalması ile bozulan erektil yanıt arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (Agarwal ve ark., 2005).

NO konsantrasyonunun diyabetik hayvanlarda azalmasını etkileyen faktörler: NO yıkımının artması, NOS kenetsizlenmesi, endojen asimetrik dimetilarginin (ADMA) tarafından NOS inhibisyonudur. NOS, NO oluşturabilmek için, substratı olan L-arjinin ve ko-faktörü olarak BH<sub>4</sub>'e gereksinim duyar. Ancak bunların yokluğunda eNOS için kenetsizlenme gerçekleşebilir. Bağlanamama durumunda, normal bir reaksiyonda subünitenin redüktaz kısmından, diğer bir subünitenin oksijenaz kısmına akan elektronlar, L-arjinin yerine moleküler oksijene doğru akarlar ve NO yerine O<sup>2</sup> oluştururlar. NO scavenging artışı (süpürülmesinin artışı) ve BH<sub>4</sub> oksidasyonu ile, inaktif formların oluşması, buduruma eşlik eder (Xia ve Zweier, 1997; Vasquez-Vivar ve ark., 1998). Plazmadaki artmış endojen kompetitif NOS inhibitörü ADMA seviyesi pek çok hiperglisemik hayvan modelinde ve diyabette NO'nun azalması ile ilişkilendirilmiştir (Knecht ve ark., 1992). NADPH oksidaz aktivitesi, O<sup>2</sup> oluşumuna neden olmakla beraber, eNOS kenetsizlenmesinde de önemli bir rol oynuyor olabilir. eNOS kenetsizlenmesi yüksek ADMA seviyeleri ve NADPH oksidaz aktivitesi, diyabetik hayvan modellerinde oluşan erektil disfonksiyonda hala araştırılması gereken konular arasında yer almaktadır.

## 1.7. CDP-kolin'in Genel Özellikleri

### 1.7.1. CDP-kolin'in Yapısı ve Sentezi

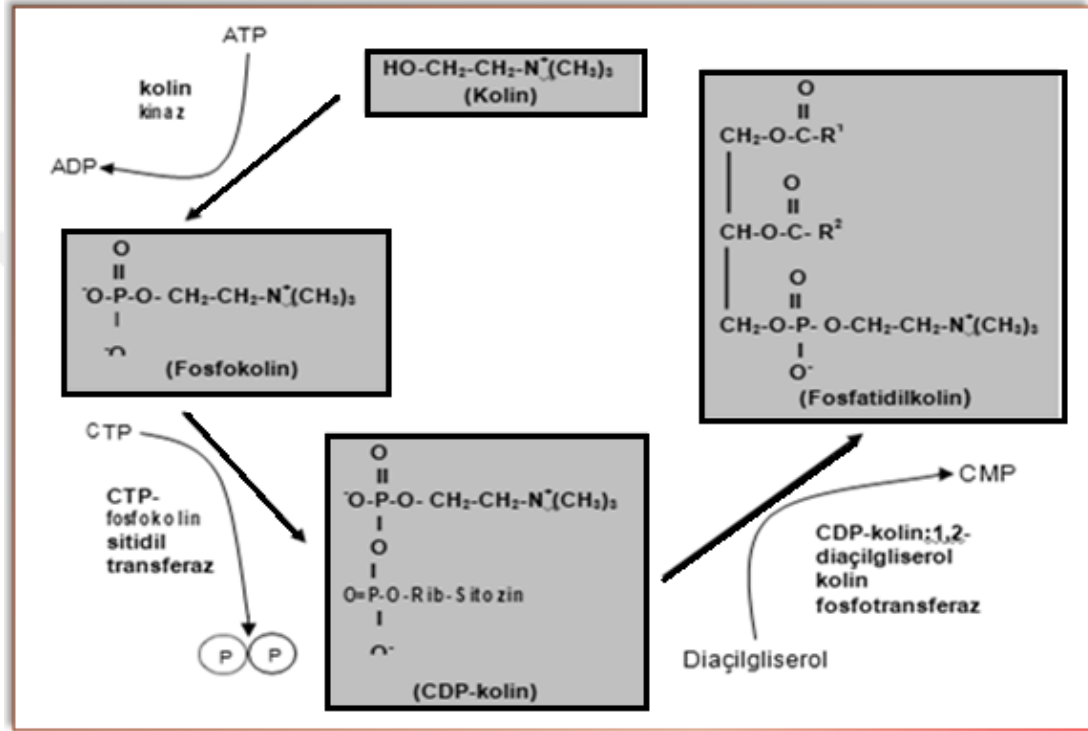
CDP-kolin, vücudumuzda doğal olarak sentezlenen endojen bir bileşiktir. 488.33 g molekül ağırlığı olan bileşik nükleotid yapısındadır ve hücre metabolizmasında önemli rol oynar (şekil 1.5) (Weiss 1995).



Şekil 1.5.CDP-kolin'in molekül yapısı (Iulia ve ark., 2017)

CDP-kolin, “Kennedy yolağı” nda bir ara ürün olarak sentezlenir ve membran fosfolipidlerinden fosfatidilkolinin yapısına katılır (Weiss, 1995;Lakher ve Wurtman, 1987). “Kennedy yolağı” 1956 yılında Kennedy ve Weiss tarafından tanımlanmıştır (Kennedy ve Weiss, 1956). Kolinden fosfatidilkolin oluşumu üç temel basamakta meydana gelir (şekil 1.6). Yolağın ilk basamağında; kolin kinaz enzimi geri dönüşümlü bir reaksiyonla kolini fosforile edilerek fosfokoline dönüştürür. İkinci basamağında ise fosfokolin ile sitidin-5'-trifosfat (CTP), CTP: fosfokolin sitidil transferaz (CCT) enzimi aracılığı ile reaksiyona girerek CDP-kolin'i oluşturur. Aynı zamanda bu basamak Kennedy yolağının hız kısıtlayıcı basamağıdır. Üçüncü ve son basamakta; CDP-kolin'in fosfokolin grubu, sitidindifosfokolin: 1,2-diaçilgliserol kolin fosfotransferaz enzimi ile diaçilgliserole aktarılarak fosfatidilkolin sentezi gerçekleşir (Sundler ve Akesson,1975; Wientzek ve ark., 1987; Miller ve Hook,

1989). Kolin, sitidin, orotik asit gibi ön maddelerin verilmesi ile CDP-kolin miktarının arttırılabildiği durumlarda ya da doğrudan CDP-kolin'in verilmesi ile fosfatidilkolin sentezinin artışı sağlanmakta (Lopez-Coviella ve ark. 1995; Savci ve Wurtman, 1995; Haines ve Tokmakjian, 1987), bu da CDP-kolin verilerek hücre membranlarının onarılmasının veya yenilenmesinin mümkün olabileceğini göstermektedir.

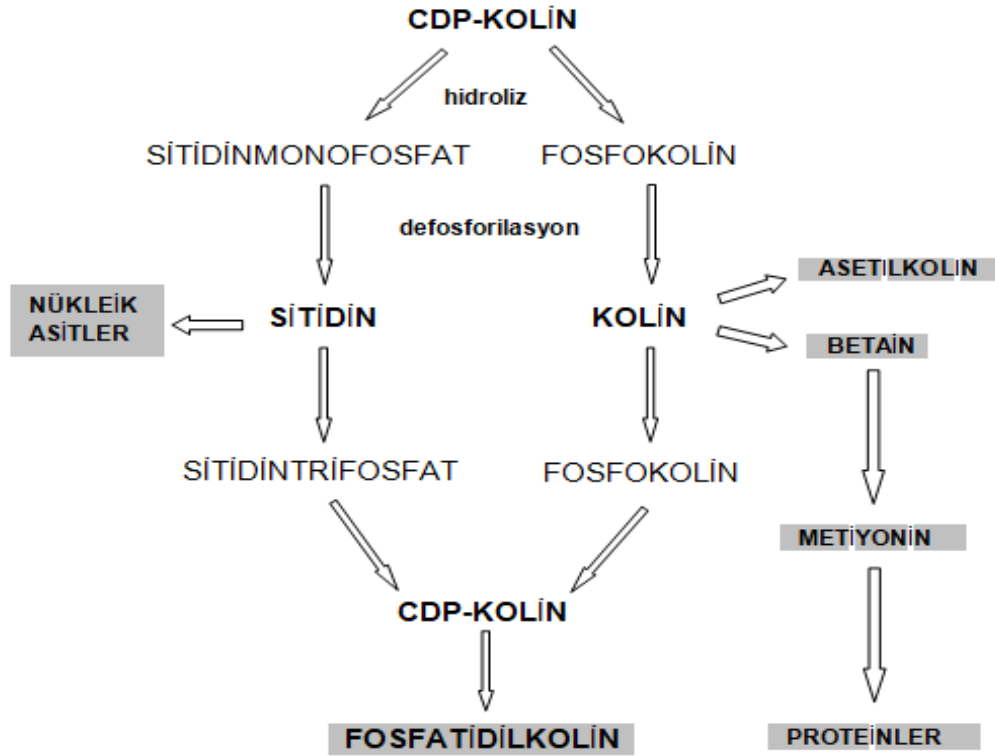


Şekil 1.6. Kennedy yolağı aracılığı ile CDP-kolin sentezi; CMP: Sitidinmonofosfat, ATP: Adenozin trifosfat, ADP: Adenozin difosfat, Rib: Riboz, P: Fosfat grubu (Kennedy, Weiss 1956)

### 1.7.2. CDP-kolin'in Metabolizması

CDP-kolin hücre membranında yerleşik fosfodiesterazlar tarafından, in vivo koşullarda, hızla sitidinmonofosfat ve fosfokoline hidroliz edilir. Reaksiyonun bir sonraki aşamasında bu iki molekülün defosforilasyonu sonucu sitidin ve kolin açığa çıkar. Öte yandan bu iki molekülün hücre içine alınmasıyla hücre içinde CDP-kolin'in yeniden sentezlenmesini sağlanırken, aynı zamanda kendilerine ait etkilere de aracılık ederler (şekil 1.7). Sitidin bir pirimidin nükleozidi olup hücre içinde nükleik asitler ve proteinlerin yapısına katılır ve buna ek olarak hücre içinde sitidin, sitidintrifosfata

dönüşür ve membran fosfatidilkolin yapısına kolin katılımını artırır (G-Coviella and Wurtman, 1992). Kolin, hücre membranlarında fosfatidilkolin, sfingomyelin ve plazmalojenlerin polar alt ünitesini oluşturur. Ayrıca metiyonin sentezine betain üzerinden katkıda bulunurken, nörotransmitter asetilkolin sentezinde de asetilasyon yolağına da girer.



Şekil 1.7.CDP-kolin'in metabolizması (Hamurtekin, 2007)

### 1.7.3. Dışarıdan Verilen CDP-kolin'in Periferik Dokularda ve Beyin Dokusundaki Dağılımı

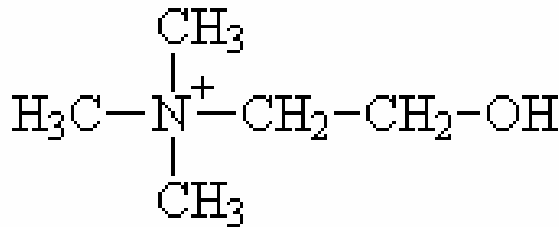
Molekül yapısı nedeniyle oral yolla verilen CDP-kolin'in değişikliğe uğramadan absorbe edilmesi güçtür. Bu nedenle oral yolla verilmesini takiben emilim öncesi ya da emilim sırasında parçalanarak hızla aktif metabolitleri olan kolin ve sitidine dönüşür. Radyoizotop işaretli CDP-kolin'in oral yolla verilmesini takiben 30 dakika sonra midede ölçülen radyoaktivitenin büyük çoğunluğunun CDP-kolin'e ait olduğu gösterilirken, bağırsaktaki radyoaktivitenin ise daha çok kolin ve sitidin fraksiyonuna

ait olduğu bulunmuştur. Bu bulgu sitikolinin, hızlı bir şekilde intestinal mukozada kolin ve sitidin fraksiyonlarına ayrıldığını göstermektedir (Yashima ve ark., 1975). Ayrıca yapılan çalışmalarda, oral yolla CDP-kolin uygulanması sonrası, sıçanlarda plazma kolin ve sitidin düzeylerinin anlamlı düzeyde arttığı gösterilmişken (Lopez-Coviella ve ark., 1995; Paroni ve ark., 1985), insanlarda ise plazma kolin ve üridin düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir (Wurtman ve ark., 2000). İntraserebroventriküler yolla uygulanan CDP-kolin'in de hipotalamusta ve lateral serebral ventrikülde kolin düzeyini arttırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Savci ve ark., 2002). Çalışmalardan elde edilen bulgular, CDP-kolin'in diğer hücre tiplerinde olduğu gibi, sinir hücrelerinde de, sitidin ve kolin olarak ayrı ayrı alındığını, takiben CDP-kolin ile diğer moleküllerin sentezinde kullanıldığını düşündürmektedir.

#### 1.7.4. CDP-kolin'in Metabolitleri

##### 1.7.4.1. Kolin

Kolinerjik nörotransmitter asetilkolinin ön maddesi olan kolin, molekül ağırlığı 105 g olan hidrofilik bir moleküldür (şekil 1.8). Kolin, bütün hücre membranlarında mevcuttur ve buralarda fosfatidilkolin ve sfingomyelinin polar subünitini oluşturur. Kolin, diyetle bulunması gereken temel gıdalardan olup beyin gelişimi ve fonksiyonu açısından kritik role sahiptir (Zeisel, 1997 ve 2004). Vücudun ihtiyacı olan kolin, diyetle alınabildiği gibi, hücre membranında bulunan fosfatidilkolinden de birkaç yol ile sentezlenebilir.



Şekil 1.8. Kolin'in moleküler yapısı (Ulus ve Cansev, 2010)

Fosfatidilkolinin vücuttaki kolin molekülünün ana deposu ve kaynağı olduğu söylenebilir. Fosfatidilkolinden olan sentez, başlıca karaciğer ve böbrekte olurken, çok sınırlı bir şekilde beyin nöronlarında da olabilir (Blusztajn ve Wurtman, 1983; Zeisel, 1985).

Sentezlenen veya dışarıdan diyetle alınan kolin dolaşıma geçerek bütün vücuda dağılır. Kolinin kan-beyin bariyerinden geçişi son derece hızlı olmaktadır. Bu geçiş, kapiller endotelde yerleşik olan bir taşıyıcı sistem ile gerçekleşmektedir. Bu taşıyıcı sistem iki yönlü çalışmaktadır ve normal koşullarda kolin ile doyurulmamış durumdadır. Metabolik enerjiye ihtiyaç duymadan çalışan bu sistem bir konsantrasyon gradiyenti oluşturmaz. Bu nedenle, dolaşımdaki kolin konsantrasyonu dışarıdan kolin verilerek artırılmadıkça net kolin akışının yönü beyinden kana doğrudur (Blusztajn ve Wurtman, 1983). Ancak dolaşımdaki kolin konsantrasyonu artırılırsa beyindeki kolin konsantrasyonunda da artış meydana gelmektedir (Cohen ve Wurtman, 1975; Köppen ve ark., 1993).

Dolaşımdan, beyinde ekstrasellüler aralığa geçen kolinin nöron içine alınması başlıca iki sistem aracılığı ile olmaktadır:

Yüksek afiniteli transport sistemi ile sodyum iyonuna bağımlı olarak çalışan ve hemikolinium-3 (HC-3) tarafından bloke edilen bir transport sistemidir. Fizyolojik plazma ve beyin kolin konsantrasyonlarında bu sistem doyurulmuş durumdadır ( $K_m$ : 0.1-10  $\mu M$ ). Kolinerjik nöronlarda asetilkolin sentezinde kullanılan kolin, presinaptik terminallerde yerleşik yüksek afiniteli kolin transport sistemi ile geri alınmaktadır ve bunun da asetilkolin sentezinde hız sınırlayıcı basamak olduğu düşünülmektedir (Blusztajn ve Wurtman, 1983; Okuda ve Haga, 2000).

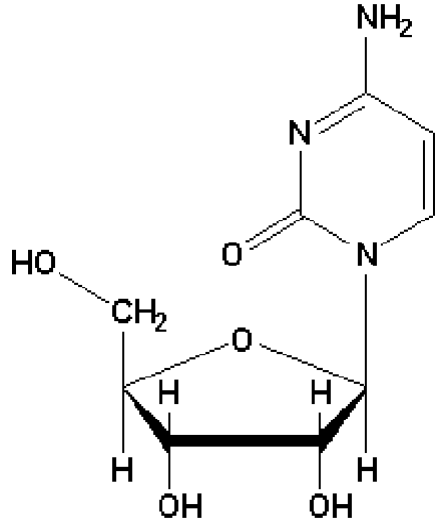
Düşük afiniteli transport sistemi ile  $K_m$  değeri daha yüksek olan (30- 100  $\mu M$ ), sodyum bağımlı olmayan ve normal şartlarda doyurulmamış olan bu transport sistemi kolinerjik nöron gövdelerinde yerleşiktir. Esas olarak fosfatidilkolin ve diğer fosfolipidler için gerekli olan kolin desteğini sağlar. Yüksek afiniteli transport isteminden farklı olarak insan dokularında yaygın olarak bulunur. Enterositler,

hepatositler, plasental doku, mitokondri ve sinaptozomlarda karakterize edilmiştir (Allen ve Lockman,2003).

Kolin, nörotransmitter asetilkolinin hem ön maddesidir hem de yıkım ürünüdür. Asetilkolin, kolinasetiltransferaz enziminin katalizlediği bir reaksiyon aracılığı ile kolin ve asetil CoA'nın birleşmesi sonucu meydana gelir. Kolinden asetilkolin sentezleyen kolin asetiltransferaz enzimi, fizyolojik koşullarda doyurulmamış durumdadır. Bu koşullarda enzim, kapasitesinin oldukça altında çalışmaktadır (Blusztajn ve Wurtman, 1983). Bu nedenle beyin kolin konsantrasyonlarını arttıran tedaviler, nöronların asetilkolin sentez hızını da arttırabilirler. Yapılan çalışmalarla, dolaşımdaki kolin düzeyi artırıldığında, beyindeki kolin (Cohen ve ark., 1975, Köppen ve ark., 1993) ve asetilkolin düzeylerinde (Cohen ve Wurtman, 1976; Hirsch ve Wurtman, 1978) artış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca beyin dilimlerinde ve in vivo mikrodializ çalışmalarında, kolin düzeylerinin arttırılması, asetilkolin salıverilmesinde de artış yaratmıştır (Buyukuysal ve ark., 1995; Köppen ve ark., 1997). Sonuç olarak da kolinerjik iletide artış meydana getirmektedir (Ulus ve ark., 1977; Scally ve ark., 1978). Kolinerjik iletideki artış da buna uyan fonksiyon değişikliklerini bereberinde getirmektedir (Savci ve ark., 1996a; Savci ve ark., 1996b; Arslan ve ark., 1991).

#### **1.7.4.2. Sitidin**

Sitidin, nükleozid yapısında olan bir moleküldür (şekil 1.9). Nükleozidlere fosfat grubunun eklenmesi ile nükleotidler oluşur. Nükleotidler enerji metabolizmasının önemli elemanlarıdır, koenzimlerin yapısal kısımlarını oluştururlar, metabolik düzenleyici ve sinyal molekülleri olarak görev yaparlar.



Şekil 1.9.Sitidin'in molekül yapısı (Hamurtekin, 2007)

Sitidin, CDP-kolin'in hem yıkım ürünlerinden biri hem de sentezine katılan bir ön maddedir. Ayrıca sitidinin membran fosfatidilkolinine kolin eklenmesini artırarak membran fosfolipid sentezini artırdığı hücre kültürlerinde ve sıçan beyin dilimlerinde gösterilmiştir (Savci ve ark., 1995; G-Coviella ve Wurtman, 1992). Yapılan çalışmalarda üridinin de, sitidin trifosfata dönüşerek CDP-kolin sentezine katılabildiği ve dolaylı yoldan membran fosfolipid sentezine katkıda bulunabildiği gösterilmiştir (Richardson ve ark., 2003; Wurtman ve ark., 2000).

Yapılan in vivo çalışmalarda dışarıdan verilen sitidinin, deney hayvanlarında bazı etkiler oluşturabildiği gösterilmiştir. Laboratuvarda yapılan ve merkezi yolla uygulanan CDP-kolin'in sıçanlarda kan basıncı üzerine olan etkilerinin araştırıldığı çalışmada intraserebroventriküler yolla uygulanan sitidin, hemorajik şok oluşturulmuş sıçanlarda kan basıncında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış meydana getirdiği gözlemlenmiştir (Savci ve ark., 2002). CDP-kolin'in antidepresan etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise intraperitoneal yolla enjekte edilen CDP-kolin sıçanlarda zorlu yüzme testinde anlamlı bir etkiye neden olmazken, metabolitleri olan sitidin ve kolinin intraperitoneal yolla uygulanması zıt etkilere neden olmuştur. Söz konusu çalışmada sitidin sıçanlarda antidepresan etki gösterirken, kolin ise sitidinin aksine prodepresan etki göstermiştir (Carlezon ve ark., 2002).

### **1.7.5. CDP-kolin'in Etkileri**

#### **1.7.5.1. CDP-kolin'in Asetilkolin Sentezi ve Kolinerjik Sistem Üzerine Olan Etkileri**

Belirtildiği gibi, dışarıdan verilen CDP-kolin hızla sitidin ve koline metabolize olarak plazma kolin düzeylerinde artışa yol açmaktadır (Lopez-Coviella ve ark 1995; Babb ve ark., 1996). Kolini beyine taşıyan transport sistemleri normal şartlarda doyurulmamış olduğu için, dolaşımdaki kolin düzeylerindeki artış beyin kolin düzeylerinde de artışa neden olmaktadır (Cohen ve Wurtman, 1975; Hirsch ve ark., 1978). Yapılan çalışmalarda da intravenöz olarak verilen CDP-kolinin, plazma ve beyin kolin düzeylerini arttırdığı saptanmıştır (Savci ve ark., 2003). Ayrıca intraserebroventriküler yolla uygulanan CDP-kolin de beyin kolin düzeylerinde artış görülmüştür (Savci ve ark., 2002). Başka bir çalışmada da intraperitoneal yolla CDP-kolin uygulamasının, beyinde dorsal hipokampus ve neokortekste ekstrasellüler asetilkolin düzeylerinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (Dixon ve ark., 1997). Sonuç olarak bir kolin vericisi olan CDP-kolin, dışarıdan verildiğinde plazma ve beyindeki kolin düzeylerinde artışa yol açmakta ve bununla birlikte asetilkolin sentezini de arttırmaktadır. Bu artışları takiben kolinerjik iletide artma ve buna uyan fonksiyon değişiklikleri ortaya çıkarmaktadır (Cavun ve ark., 2004; Savci ve ark., 2002).

#### **1.7.5.2. CDP-kolin'in Membran Fosfolipidleri Üzerine Olan Etkileri**

Kolin, membran fosfolipidlerinden fosfatidilkolinin yapısına katılır. Plazmada düzeyi yükselen sitidin de hücre içinde sitidintrifosfata dönüşür ve membran fosfatidilkolin yapısına kolin katılımını artırır (G-Coviella ve Wurtman, 1992). Yapılan çalışmalar, dışarıdan CDP-kolin verildiğinde beyinde fosfatidilkolin ile birlikte fosfatidilserin ve fosfatidiletanolamin seviyelerinde de artış olduğunu göstermiştir (Lopez-Coviella ve ark., 1995). Ayrıca oral yolla verilen CDP-kolin'in

fosfolipaz A2 enziminin aktivasyonunu inhibe ederek fosfatidilkolin yıkımını azalttığı, böylece membran yapısını koruduğu da gösterilmiştir (Arrigoni ve ark., 1987).

### **1.7.5.3. CDP-kolin'in Kardiyovasküler Sistem Üzerine Olan Etkileri**

Kolinerjik sistem, kardiyovasküler düzenlemede önemli rol oynamaktadır. Beyindeki kolinerjik aktivitenin artışı kan basıncı artışı üzerine etkilidir (Arslan ve ark., 1991; Guarini ve ark., 1989; Ulus ve ark., 1995). CDP-kolin'in kardiyovasküler sistem üzerine olan etkileri incelenmiş ve merkezi veya periferik yolla CDP-kolin uygulanmasının normal ve hipotansif koşullarda kan basıncını arttırdığı gösterilmiştir (Cansev ve ark, 2007; Savci ve ark., 2002, Savci ve ark., 2003). Ayrıca CDP-kolin'in, hemorajik şok oluşturulmuş anestezi altındaki hayvanlarda, süperior mezenterik arter ve renal arter kan akımını artırdığı ve bu hayvanlarda yaşam oranlarını yükselttiği gösterilmiştir (Yılmaz ve ark., 2006).Yapılan çalışmalarda CDP-kolin'in miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine olan etkileri araştırılmış, intravenöz yolla uygulanan CDP-kolinin miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarında kardiyoprotektif etki ortaya çıkardığı görülmüştür (Coskun, 2014).

### **1.7.5.4. CDP-kolin'in Endokrin Sistem Üzerine Olan Etkileri:**

Hipotalamo-hipofizer sistem yoğun kolinerjik innervasyona sahiptir. Hem insanlarda hem de hayvanlarda yapılan çalışmalarda CDP-kolin'in endokrin sistem üzerine etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. İnsanlarda intravenöz yolla CDP-kolin uygulaması serum büyüme hormonu (GH) seviyelerini yükseltmiş, prolaktin (PRL) seviyelerini ise azaltmıştır (Matsuoka ve ark., 1978; Ceda ve ark., 1991). Yapılan çalışmalarda sıçanlara intraserebroventriküler yollaverilen CDP-kolin, normal koşullarda plazma adrenokortikotropik hormon (ACTH) düzeylerini artırmış, uyarılmış koşullarda ise tiroid uyarıcı hormon (TSH), luteinizan hormon (LH) ve GH düzeylerinde ek artışlar meydana getirmiştir

(Cavun ve Savcı, 2004). Buna ek olarak intraserebroventriküler ve intravenöz yolla uygulanan CDP- kolin, plazma katekolamin ve vazopresin düzeylerinde de artışa yol açmıştır (Cavun ve ark., 2004; Savci ve ark., 2002; Savci ve ark., 2003). Ayrıca sıçanlara intraperitoneal yolla CDP-kolin uygulaması serum insülin, plazma glukagon ve katekolamin düzeylerinde anlamlı artışlara sebep olduğu gösterilmiştir (Cansev ve ark., 2003).

#### **1.7.6. CDP-kolin'in Kullanım Alanları**

CDP-kolin yan etkisi az, güvenlik aralığı geniş olan güvenli bir ilaçtır. Hayvanlarda ve insanlarda yapılan çalışmalarda toksisite ve yan etki profili oldukça düşük bulunmuştur (Lozano Fernandez, 1983; Romero ve ark., 1983). CDP-kolin'in günümüzde ilaç olarak kullanıldığı veya kullanılma potansiyelinin bulunduğu alanlar:

Serebral iskemi ve hipoksi, iskemik veya hipoksik koşullarda, membran fosfolipidlerinden fosfatidilkolin yıkımı ortaya çıkar. Hücre membranında fosfatidilkolin içeriği azalırken serbest yağ asidi salınımı artar (Adibhatla ve ark., 2002; Muralikrishna Adibhatla ve Hatcher 2006). Çeşitli serebral iskemi modellerinde, dışarıdan CDP-kolin verildiğinde, fosfatidilkolin sentezini arttırdığı, başta araşidonik asit olmak üzere serbest yağ asitlerinin salınımının önlendiği gösterilmiştir (Rao ve ark., 1999; Trovarelli ve ark., 1981). Ayrıca CDP-kolin'in iskemik koşullarda ortaya çıkan kardiyolipin ve sfingomyelin kayıplarını koruduğu, glutatyon sentezi ile glutatyon redüktaz aktivitesini stimüle ettiği, lipid peroksidasyonunu azalttığı,  $Na^+ / K^+$  ATPaz aktivitesini yenilediği de gösterilmiştir (Adibhatla ve Hatcher, 2002). Bu nöroprotektif etkilerin oluşmasında fosfolipaz A2 aktivasyonunun engellenmesi önemli bir rol oynamaktadır (Adibhatla ve Hatcher, 2002; Arrigoni ve ark., 1987). CDP-kolin, beyin fosfatidilkolin düzeylerini serebral iskemi sonrası artmış fosfolipaz A2 aktivitesini azaltarak korumayı başarmıştır (Adibhatla ve Hatcher, 2003; Adibhatla ve ark., 2006). Bununla birlikte CDP-kolin uygulaması fosfatidilkolin sentezinde hız kısıtlayıcı basamakta rol alan

CTP:CCT enziminin aktivitesindeki kaybı azaltarak iskeminin neden olduğu fosfatidilkolin düzeylerindeki azalmayı önlemiştir (Adibhatla ve ark., 2004). Dolayısıyla dışarıdan verilen CDP-kolin'in gerek deneysel serebral iskemi ve hipoksi modellerinde gerekse klinikte iskemik ve hipoksik beyin hasarına neden olan akut ve kronik serebrovasküler hastalıklarda ödem ve infarkt miktarını azalttığı, nörolojik defisitleri geri döndürdüğü gösterilmiştir (Kakihana ve ark., 1988; Warach ve ark., 2000).

Kafa travmaları, CDP-kolin uygulamasının bazı deneysel modellerde kafa travmalarına bağlı oluşan beyin ödemi azalttığı ve semptomlarda düzelmeye yarattığı bildirilmiştir (Baskaya ve ark., 2000; Dixon ve ark., 1997). Klinik çalışmalarda da kafa travmalı hastalarda CDP-kolin verilen grubun motor, bilişsel ve psikolojik fonksiyonlarının çok daha hızlı düzeldiği ve hastanede yatış sürelerinin kısaldığı rapor edilmiştir (Calatayud ve ark., 1991; Leon-Carrion ve ark., 2000).

Öğrenme ve hafızanın geliştirilmesinde, CDP-kolin'in öğrenme ve bellek fonksiyonları üzerinde de olumlu etkileri olduğu hem hayvan modellerinde hemde insanlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Agut ve Ortiz, 1991).

Nörodejeneratif hastalıklar, membran fosfolipidlerinden fosfatidilkolin sentezinde bir ara ürün olan CDP-kolin'in nöron koruyucu etkisi nedeniyle alzheimer ve multiinfarktdemans gibi nörodejeneratif hastalıklarda kullanımının yararlı olacağına dair bulgularda mevcuttur (Amenta ve ark., 2001, Alvarez ve ark., 1999). Diğer durumlar ise CDP-kolin uygulamasının parkinson hastalarında (Agnoli ve ark., 1982; Eberhardt ve ark., 1990), ayrıca ambliyopi (Campos ve ark., 1995) ve glokom (Grieb ve Rejdak, 2002, Parisi ve ark., 1999) gibi bazı göz bozukluklarında yararlı olabileceğine dair çalışmalar mevcuttur.

Kolinerjik sistemin, ereksiyon fizyolojisinde, muskarinik ve nikotinik reseptörler aracılığı ile oldukça önemli bir rol oynadığı ve bu mekanizmanın nitrik oksid sentezi ile ilişkili olduğu görülmüştür (Koshimura ve ark., 1990; Toda ve Okamura, 2003).

Diyabete bağlı gelişen ED'de nöropatinin önemli rolü olduğu bilinmektedir. Öte yandan, kolin uygulamasının sıçanlarda sinir hasarına bağlı gelişen bazı nörofizyolojik fonksiyonları düzelttiği deney hayvanlarında gözlemlenmiştir (Koppen ve ark., 1997; Marshall ve Wurtman, 1993). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda dışarıdan verilen CDP-kolin ve metabolitleri olan kolinin ve sitidinin, ED üzerindeki etkilerini araştıran çalışmaların yeterli olmadığı saptanmıştır. Bu ön bulgular ışığında çalışmamızdaki amaç, diyabetik sıçanlarda, CDP-kolin ve yıkım ürünleri olan kolin ve sitidin tedavisinin ED üzerindeki etkilerini araştırmaktır.



## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Kullanılan Gereçler

#### 2.1.1. Malzemeler

- MAY recorder equipment computer system (Commat Ltd. Ankara, TÜRKİYE)
- Veri kayıt ve analiz sistemi (MP35 Biopac Student Lab Pro, Data Acquisition System)
- Gaz tüpü ( %95 Oksijen, %5 karbondioksit)
- Kaba terazi (Scaltec, SBA 61 Heiligenstadt, ALMANYA)
- Hassas terazi (Scaltec, SBA 31 Heiligenstadt, ALMANYA)
- Otomatik pipetler (Eppendorf, Hamburg, ALMANYA)
- Pipet uçları (10ul, 200ul ve 1000ul)
- pH metre (Mettler Toledo MP220; İSVİÇRE)
- -80 °C Derin dondurucu (Heto)
- Sıvı azot tankı
- Buz makinası (Hosizaki Ice Maker, JAPONYA)
- Cam ve plastik malzemeler
- Cerrahi makas ve pensler
- Enjektörler (Farklı boyutlarda)
- Cerrahi flaster
- 4F üretral katater
- 5F üretral katater
- 3.0 krome kat-güt
- PE-240 tüp

- Santrifüj cihazı (Sigma)
- -20°C'lik derin dondurucu (Bosch)
- Otomatik pipetler (Axygen)
- Manyetik karıştırıcı (Wisestir)
- Vorteks cihazı (Velp Scientifica)
- Mikroplak okuyuculu spektrofotometre (Multiskan GO, ThermoScientific)
- Mini protean elektroforez ve transfer sistemi (Biorad), Güç kaynağı (Biorad)
- Western görüntüleme cihazı (LI-COR Odyssey Imaging System)

### 2.1.2. Kimyasal Maddeler

- Sıçan yemi (Purina, Gebze, TÜRKİYE)
- Dietileter (Riedel, ABD)
- Ketamin (Ketalar, Pfizer, TÜRKİYE)
- Krebs çözeltisi (Standart); KCl, 4,7 mmol/l; NaCl, 113 mmol/l; NaHCO<sub>3</sub>, 16,3 mmol/l; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,4 mmol/l; MgSO<sub>4</sub>, 0,6 mmol/l; CaCl<sub>2</sub>, 2,5 mmol/l ve glukoz, 7,7 mmol/l
- KCl (potasyum klorür) (Merck, ALMANYA)
- Absolü etanol (Riedel, 32221, Sigma-Aldrich, ABD)
- Asetilkolin (Sigma, St. Louis, ABD)
- Fenilefrin (Sigma, St. Louis, ABD)
- Sodyum nitroprussid (Sigma, St. Louis, ABD)
- Heparin (Nevparin 25000 IU, Mustafa Nevzat, TÜRKİYE)
- İzotonik Sodyum klorür solüsyonu 1000 ml (İ.E. ULAGAY, İstanbul TÜRKİYE)
- Povidon iyot (İyoderm, Biosel, TÜRKİYE)

- Formalin (Riedel-de Haen, ALMANYA)
- Ksilen (Merck, ALMANYA)
- Triton X-100
- Anti- eNOS primer mouse antikoru (BD)
- Anti-mouse IgG sekonder antikoru (Biotin Conjugate)
- Kemilüminesans görüntüleme ajanı (Milipore)
- RIPA lizis tamponu (Cell signaling)
- Proteaz inhibitör kokteyli (Cell signalling)
- Akrilamid (Sigma)
- Bisakrilamid (Scharlau)
- Tween 20 (Scharlau)
- Amonyum persülfat (APS, Sigma)
- Tetraetilmetilendiamin (TEMED, Scharlau)
- Glisin (Biorad)
- Tris bazı (Sigma)
- Metanol (Milipore)
- Bromfenol mavisi (Cell signalling)
- Ditiyotritol (DTT, Cell signalling)
- Sodyum nitrit (Sigma)
- Naftiletildiamin (NEDA)(Sigma)
- Sülfanilamide(Sigma)
- Ortofosforik asit

## 2.2. Deney Hayvanları

300-310 g ağırlığında, wistar türü 16 haftalık erkek sıçanlar, Ankara Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilmiştir. Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınan 07/06/2017 tarihli 2017-12-99 karar sayılı izinle deneylere başlanmıştır. Sıçanların bakımları Ankara

Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmokoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarındaki özel bölümde (oda sıcaklığı  $20\pm 1$  °C, aydınlık 07.00-19.00 saatleri arası, karanlık 19.00-07.00 saatleri arası) yapılmıştır. Toplamda 36 adet sıçan kullanılmış olup bunların 6 tanesi CDP-kolin verilen kontrol grubu, 6 tanesi kolin verilen kontrol grubu, 6 tanesi sitidin verilen kontrol grubu, 6 tanesi CDP-kolin verilen diyabet grubu, 6 tanesi kolin verilen diyabet grubu ve son 6 tanesi ise sitidin verilen diyabet grubu olarak ayrılmıştır.

### **2.3. Diyabetin Oluşturulması**

Streptozosin yapısının glukoz benzemesinden dolayı glukoz taşıyıcı 2 (Glut 2) ile pankreasın beta hücrelerine alınarak, burada deoksiribonükleikasitte alkilenmeye neden olarak hücre ölümüne yol açar (Eleazu ve ark., 2013). Streptozosin uygulanan sıçanlarda 8. hafta sonunda insulin salınmadığı için açlık kan şekeri yükselir. Buna göre çalışmamızda diyabet, 50 mg/kg streptozosin (STZ)'in kuyruk veninden enjekte edilmesiyle oluşturulmuştur. Kan şekerleri, diyabet indüksiyonundan 4 gün sonra ölçülmüş, kan şekeri seviyesi 250 mg/dL'nin altında olan sıçanlar deneye dahil edilmemiştir. Diyabet süresi 8 hafta olup, bu süreyi takiben deney sıçanları cerahi işlem için hazır hale getirilmiştir (Zhang ve ark., 2018; Erbaş, 2015).

### **2.4. Beden Ağırlıkları ve Kan Şekeri Seviyelerinin Takip Edilmesi**

Sağlıklı ve diyabet olan sıçanların beden ağırlıkları ölçülmüş, STZ enjeksiyonuna bağlı olarak, ani hipoglisemi riskine karşın, sıçanlara 3 gün boyunca % 5 oranında glukoz, içme suyuna karıştırılarak verilmiştir. Diyabetin indüksiyonundan 4 gün sonra sıçanların kan şekeri değerleri, kuyruk veninden kan örneği alınarak değerlerine bakılmış ve 2 hafta sonra ölçüm tekrar yapılmıştır. 8. hafta sonunda son ölçüm, deneyler öncesinde uygulanmıştır. Bu ölçümler kaydedilerek, kan şekeri düzeylerinin takibi yapılmıştır. Accu-Check Go Roche şeker ölçüm cihazı ve bu cihazın stripleriyle kan şekeri seviyeleri ölçülmüştür.

## 2.5. CDP-Kolin ve Metabolitlerinin Enjekte Edilmesi

CDP-kolin sağlıklı ve diyabetik sıçanlara tek doz intrakavernöz yolla 200, 400 ve 600 mikromol/kilogram ( $\mu\text{mol/kg}$ ) dozlarında uygulanmıştır. CDP-kolin için seçilen bu dozlar daha önceki çalışmalarda sıçanlara uygulanan ve farmakolojik etkileri gösterilen dozlardır (Ilcol YO ve ark., 2007; Cansev ve ark., 2007; Cansev ve ark., 2008). Literatürlerde, CDP-kolin oral (Romero ve ark, 1983; Lozano, 1983) ve intravenöz (Savci ve ark, 2003), intraperitoneal (Ilcol YO ve ark., 2007, Cansev ve ark., 2007 ve 2008) yollarla uygulanmış, güvenirligi ve farmakolojik etkileri deney hayvanlarında ve insanların da çalışılmıştır. Elde ettiğimiz bilgilere göre, kavernoöz içi ilk defa uygulanacak olan CDP-kolin ve metabolitleri için literatürde daha önce denenmiş bir doz veya doz aralığı bulunmadığından, çalışmamızda literatürlerde uygulanmış oral ve parenteral dozlar dikkate alınarak seçilmeye çalışılmıştır. Bunu yaparken, gözlemlenen biyolojik etkinin doza bağımlı olarak artış gösterebilmesi, CDP-kolin'in metabolizması sonrası plazma kolin ve sitidin düzeylerinde CDP-kolinin uygulanan dozlarına bağlı uyumlu artış gösterebilmesi ve son olarak da belirgin bir yan etki veya toksik etki ortaya çıkarmayan doz aralığının olması oluşturmuştur. Buna göre, CDP-kolin için 200, 400 ve 600  $\mu\text{mol/kg}$  dozları, hem doza-bağımlı artan belli bir biyolojik etki çıkarabilmesi (Ilcol YO ve ark., 2007, Cansev ve ark., 2007 ve 2008), hem de CDP-kolin uygulanmasını takiben 5 dakika sonrası alınan kan örneklerinde kolin ve sitidin düzeylerinde, CDP-kolinin uygulanan dozu ile orantılı artış göstermesi çalışmamızda CDP-kolin için 200-600  $\mu\text{mol/kg}$  doz aralığını seçmemize neden olmuştur. Bu doz aralığı yaklaşık olarak, 100-325 mg/kg CDP-kolin uygulanmasına denk gelmektedir. Daha önce yapılan çalışmalar da sıçanlara 150 mg/kg CDP-kolin oral yolla 30 gün boyunca uygulanmış ve incelenen dokularda toksisite belirtilerine rastlanmamıştır (Romero ve ark., 1983). Ayrıca, 60-80 yaş grubundaki insanlarda 600 mg/gün dozunda uygulanan CDP-kolin, bu hastaların sadece %5 kadarında ve çoğu gastrointestinal ağırlıklı yan etkiler olacak şekilde güvenli bulunmuştur (Lozano, 1983). CDP-kolinin sıçanlara oral yolla 14 gün boyunca 2000 mg/kg dozunda verilmesi çok iyi tolere edilmiştir (Schauss ve ark., 2009). Ayrıca, akut intravenöz enjeksiyon sonrası LD<sub>50</sub> dozu sıçanlarda 4150 mg/kg ve oral dozu ise 8000 mg/kg olarak bildirilmiştir (Grieb, 2014). Dolaşımdaki 10-130  $\mu\text{M}$  kolin

dozlarının kalpten asetilkolin saliverilmesini artırabildiğini ve kolinerjik iletiyi güçlendirebildiğini göstermiştir (Dieterich ve ark., 1978; Meyer, 1986; Ilcol ve ark., 2003). Çalışmamızda kavernoöz doku ve kan kolin düzeylerini ölçmemiş olmakla birlikte, 200-600 µmol/kg CDP-kolin dozlarının intraperitoneal uygulama sonrası dolaşımında yaklaşık olarak 50-150 µM kolin dozlarına, dolayısıyla kolinerjik inervasyonu artırmaya yetecek konsantrasyonlara ulaştığı bilinmektedir (Cansev ve ark., 2007). Sonuç olarak, çalışmamızda intrakavernoöz yolla uygulanan 100-325 mg/kg doz aralığı, CDP-kolin için güvenli ve dozla artan biyolojik etki ve yine doza bağımlı şekilde artan plazma kolin ve sitidin düzeyleri gösterebilen doz aralığıdır. Bu bilgiler doğrultusunda, 200 µmol/kg CDP-kolin (109,2 mg/kg) 200 µL tuzlu su içinde çözünüp 5mL'lik enjektöre alınıp, sıçanın penisinin sağ krurasına yerleştirilmiştir. Bu uygulama için, 250 U/ml heparin içeren polietilen tüpe (PE-50) bağlı 25G iğne kullanılmıştır. Aynı işlem 400 µmol/kg CDP-kolin (218.4 mg/kg) ve 600 µmol/kg CDP-kolin (327.6 mg/kg) için de uygulanmıştır. Literatürlerde yapılan çalışmalarda 200, 400 ve 600 µmol/kg kolin sıçanlara uygulanmış (Cansev ve ark., 2008; Ilcol YO ve ark., 2007; Ilcol YO ve ark., 2008), ancak bizim çalışmamızda uygulan bu dozlar sonrasında sıçanların kan basınçlarında belirgin düşüğe bağlı olarak kayıplar meydana gelmesinden dolayı çalışmalarımıza daha düşük dozlar olan 100, 150 ve 200 µmol/kg kolin dozlarıyla devam edilmiştir. Kolin; 100 µmol/kg (14 mg/kg), 150 µmol/kg (21 mg/kg), ve 200 µmol/kg (28 mg/kg) tek doz olarak, 200 µL tuzlu su içinde çözünüp 5mL'lik enjektöre alınıp, sıçanın penisinin sağ krurasına yerleştirilmiştir. Sitidin dozu da aynı şekilde önceki çalışmalardaki dozlar dikkate alınarak seçilmiştir (Ilcol YO ve ark., 2007; Ilcol YO ve ark., 2008). Sitidin, 200 µmol/kg (48.6 mg/kg), 400 µmol/kg (97.2 mg/kg) ve 600 µmol/kg (145.8 mg/kg) tek doz olarak tuzlu su içinde çözünerek CDP-kolinde ve kolin de uygulandığı şekilde sıçanlara verilmiştir.

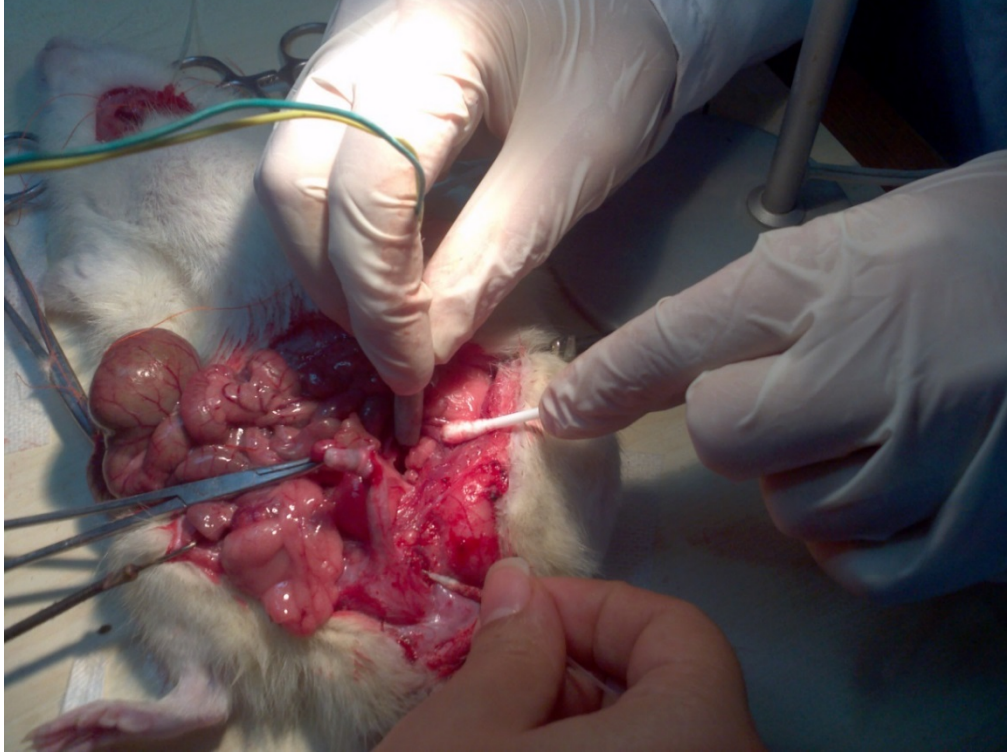
## 2.6. İnVivo Deneyleler

Sağlıklı ve diyabetik sıçanlar, ketamin (50 mg/kg, i.p.) ve ksilazin (5 mg/kg, i.p.) ile anesteziyi takiben, arteriyel kan basıncı (mean arterial pressure, MAP), karotid

arterin hafifçe kesilmesinin ardından polietilen kateter (PE-50) ile kanüle edilerek ölçülmüştür.

Bir sinir lifi çeşitli çaplarda, dolayısıyla farklı iletim hızlarına sahip aksonlardan oluşabilmektedir. Kavernoöz sinir de, başta kolinerjik (asetilkolin salıveren), adrenerjik (noradrenalin salıveren) ve nitrejik (nitrik oksit salıveren) olmak üzere çeşitli sinir liflere sahip olduğu için (Andersson ve ark., 2000; Andersson ve Stief, 1997) sinire uygulanan elektriksel uyarılar sonrası alınan aksiyon potansiyeli yanıtı bu çeşitli liflerin oluşturduğu aksiyon potansiyellerinin toplamı olan birleşik sinir aksiyon potansiyeli (BSAP) olarak ölçülmektedir. En yüksek uyarı şiddeti (volt cinsinden), en yüksek amplitüdü olan BSAP alınan uyarı şiddeti olarak değerlendirilir. Bu uyarı şiddetinin üzerindeki uyarı şiddetlerindeki sinir uyarılmaları BSAP değerlerinde daha fazla bir amplitüd artışına ve daha fazla bir fizyolojik yanıtı neden olmamaktadır (The McGill Physiology Virtual Lab 2019; Higher Education Inc... 2019) Bu önbilgilerden hareketle çalışmada, maximum kavernoöz sinir uyarı şiddeti 7.5 V olup; bu uyarı şiddeti, kavernoöz sinirdeki tüm farklı sinir liflerinin uyarılabilmesine olanak tanımış ve dolayısıyla amplitüdü en yüksek BSAP değerlerini alabilmemizi sağlamıştır. Maksimum elektriksel uyarı şiddeti olan 7.5 V değeri daha önce kavernoöz sinir uyarılması sonrası deney sıçanlarında erektil disfonksiyonun değerlendirildiği diğer çalışmalar dikkate alınarak seçilmiştir (Yan ve Lu, 2016; Gur ve ark., 2018; Kim ve ark., 2016). Bu ön bilgilerin ışığında çalışmamızda, 7.5 V'tan daha düşük uyarı olan 5 (orta) ve 2.5 V (düşük) uyarı şiddetlerinde uygulayarak benzer durumu gözlemlenilmiştir. Çalışmamızda, sağ ve sol kavernoöz sinirler arasında olası bir anatomik varyasyonu ve fizyolojik yanıt farklılıklarını ortadan kaldırmak için her deney sıçanı için sağ ve sol kavernoöz sinirler sırasıyla elektriksel olarak uyarılmıştır (Yılmaz ve ark., 2014). Bu bilgilere bağlı olarak; sıçanların ICP (mmHg) değerleri penisin sağ krurasına yerleştirilmiş, bir diğer kateter ile monitörize edilmiştir. Kateterler, 25G iğne kullanılarak, 250 U/ml heparin ile yıkanmıştır. Ereksiyon oluşturup penis içindeki basıncı (ICP) (mmHg) ölçmek amacıyla, öncelikle major pelvik gangliyon ve kavernoöz sinir tanımlanmış ve ardından, prostatın arkasından aşağı ilerlenmiştir. Her iki taraftaki kavernoöz sinire, iki uçlu elektrot yerleştirilmiştir (şekil 2.1). Bu elektrot ile, sırasıyla sağ ve sol kavernoöz sinirler sinyal uyarılmıştır

(7.5, 5.0 ve 2.5 V ve 1.5 Hz, 30 ms) (Yılmaz ve ark., 2014). MAP ve ICP (mmHg) basınç dönüştürücüsü kullanılarak sürekli olarak ölçülmüştür. Her uyarılma 7.5 V ile başlatılıp total ICP (mmHg), eğri altında kalan alanın (eğri altındaki alan, EAA, mmHg/s) hesaplanmasıyla elde edilmiş, sonrasında 5.0 ve 2.5 V şiddetindeki uyarılmalar ile devam edilerek aynı sıçandan total ICP (mmHg) değerleri alınmıştır (Yılmaz-Oral ve ark., 2017). 200  $\mu$ mol/kg CDP-kolin uygulanmasını takiben, total ICP (mmHg) ve ICP/MAP değerleri kaydedildikten sonra, ICP (mmHg) değerinin tekrar bazal seviyesine düştüğünün gözlemlenmesini takiben, kavernoöz dokuya yerleştirilen kanül tuzlu su ile yıkandıktan sonra aynı işlemler 400 ve 600  $\mu$ mol/kg CDP-kolin için tekrarlanmıştır. CDP-kolinin bütün dozları uygulandıktan sonra, sıçanlar karbondioksit solutularak öldürülmüş ve sıçanların korpus kavernosum dokuları in vitro deneyler için organ banyosuna asılmıştır. Aynı işlemler, kolin ve sitidinin değişen dozları için de tekrarlanmıştır. Ayrıca, penil dokular, hemen sıvı nitrojende dondurularak western blot çalışmalarında kullanılmak üzere -80 °C dondurucuya alınmıştır.



**Şekil 2.1.** Kavernoöz sinir uyarılışı ile intrakavernoöz basıncın (ICP) ölçülmesi.

## 2.7. İn Vitro Deneyler

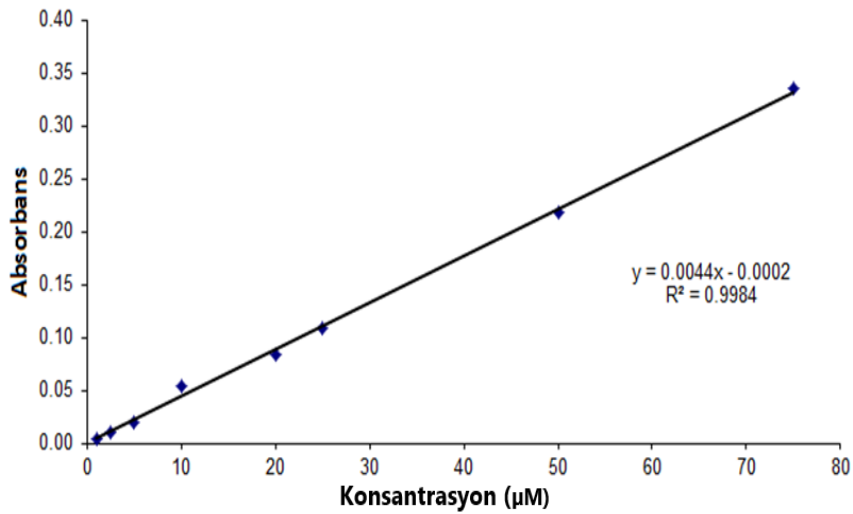
Tüm sıçanlarda, izometrik basınç, organ banyosu çalışması ile ölçülmüştür. Anestezinin ardından korpus kavernoza dokusu çıkarılıp Krebs-bikarbonat çözeltisi içeren, ( $m\mu =$  KCl: 4.7,  $KH_2PO_4$ : 1.0, NaCl:118.1,  $NaHCO_3$ : 25.0,  $MgSO_4$ : 1.0,  $CaCl_2$ : 2.5 ve glukoz: 11.1) % 95  $O_2$  - %5  $CO_2$  ile sürekli havalandırılması için cam petriye koyulmuştur. Kavernoza doku striplerinin (1x1x9mm) 20 ml'lik organ banyosuna monte edilmiş (Bir ucu elektrot kancasına diğer ucu da güçlü dönüştürücüye bağlı bir tele, 1g dinlenme gerilimi altında bağlanarak) 60 dakika boyunca 37 °C'de dokular dengelenmeye bırakılmıştır (şekil 2.2). "MAY recorder equipment computer system" (COMMAT, Ankara, Türkiye) ile mekanik aktiviteler kaydedilmiştir. Fenilefrin ile kastırılan dokuların asetilkolin (ACh), CDP-kolin, kolin ve sitidin ( $10^{-8}$ - $3M$ ) ile gevşeme yanıtları alınmıştır. Asetilkolinin endotel dokusu sağlam olan izole damarda gevşemeye neden olduğu bilinmektedir. Burada endotel dokusunda mevcut kolinerjik reseptörler aracılığı ile NO salıverilmesini sağlayarak yapmaktadır (Kayaalp, 2012).



Şekil 2.2. İn vitro deneyler için kullanılan organ banyosu sistemi

## 2.8. Griess Yöntemi ile Nitrit Tayini

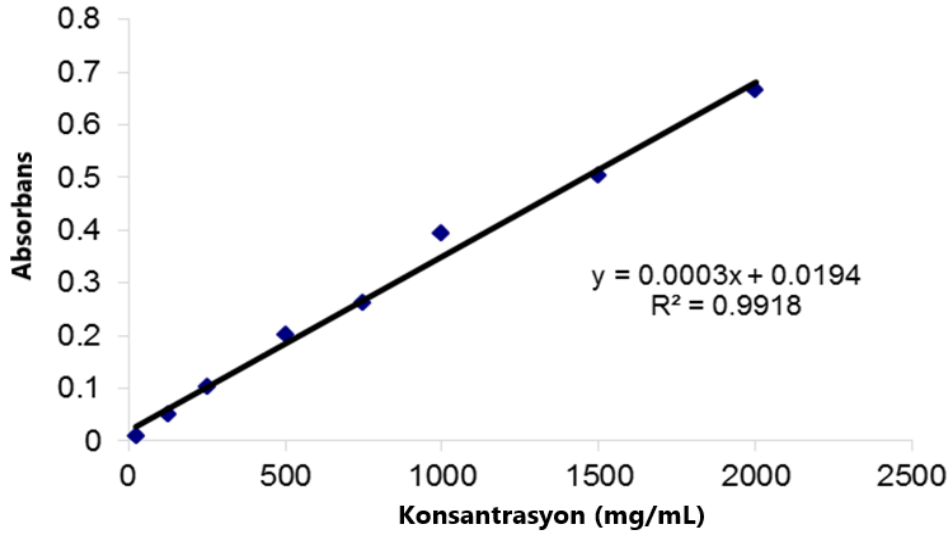
Penis dokularında nitrit miktarının belirlenmesi amacıyla griess metodu uygulanmıştır. Penis dokuları, sıvı azotta phosphate buffered saline (PBS) içinde homojenize edildikten sonra lizatlar buz içerisinde 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Örnekler 4°C'de 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatantlar toplanmıştır. Standart grafiğini çizmek için; distile su içinde 6.9 g sodyum nitrit çözülerek 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanan 1 M stok çözeltilerden hareketle standart çözeltiler (1-75 mikromolar) hazırlanmıştır. Griess reaktifi için; 0.5 g sülfanilamide, 2.5 ml ortofosforik asit (O-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) ile çözülüp 50 ml distile su ile tamamlanarak sülfanilamide reaktifi hazırlanmıştır. Naftiletilediamin (NEDA) reaktifi için 2.5 ml ortofosforik asit (O-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) içerisinde 0.05 g naftiletilediamin (NEDA) çözülüp 50 ml distile su ile tamamlanmıştır. Taze hazırlanan Sülfanilamide/NEDA solüsyonları 1:1 oranında karıştırılarak griess reaktifi oluşturulmuştur. Standart ve örnek çözeltiler eşit hacimlerde karıştırılarak, 10 dakika bekletildikten sonra oluşan renk reaksiyonu 550 nm'de spektrofotometre de ölçülmüştür (Karabay ve ark., 2015). Dokulardaki nitrit konsantrasyonları, hazırlanan standart grafikten yararlanılarak belirlenmiştir (şekil 2.4). Çalışmamızda bu sonuçlar mg protein başına nitrit miktarı olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 2.3. Nitrit Standart Grafiği

## 2.9. Western Blot Analizi

Penis dokularında eNOS protein ekspresyonunun belirlenmesi amacıyla, western blot analizi yapılmıştır. Bu amaçla, öncelikle penis dokusu homojenize edilmiş ve total lizatlar elde edilmiştir. Bunun için porselen havan kullanılarak sıvı azot varlığında penis dokuları homojenize edilmiş ve ependorf tüplere alınmıştır. Daha sonra üzerlerine buz soğukluğunda proteaz inhibitör kokteyli içeren radioimmunoprecipitation assay buffer (RIPA) tamponu eklenmiş ve bir sonraki adımda lizatlar buz içerisinde 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra örnekler 4°C’de 12000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiş ardından süpernatantlar toplanmış ve western blot analizi için -80°C’ye kaldırılmıştır. Bir sonraki aşamada, doku lizatlarının bikinkoninik asit metodu ile protein miktar tayini yapılmıştır. Bu aşamada ise, 2000 µg/ml konsantrasyondaki sığır serum albumininden hareketle standart çözeltiler, 1X RIPA tamponu içerisinde (25-1500 µg/ml), hazırlanmış ve kör olarak 1X RIPA tamponu kullanılmıştır. Çalışma solüsyonu, bikinkoninik asit kitindeki A ve B ajanlarının 50:1 oranında karıştırılması ile hazırlanmıştır. 200’er µl çalışma solüsyonundan 96’lık plaktaki kuyucuklara ilave edilmiş, standartlardan ve dilüe edilmiş örneklerden herbir kuyucuğa 25’er µl ilave edilmiştir. Daha sonra 96’lık plak 37°C’de 30 dakika inkübasyona bırakılmış ve ardından 562 nm’de absorbans ölçümü yapılmıştır (Cengiz T ve ark., 2017). Oluşturulan standart eğri yardımı ile her bir örnek için protein konsantrasyonu µg/ml cinsinden hesaplanmıştır (şekil 2.4).



Şekil 2.4. Protein Standart Grafiği

Protein miktarları eşit olarak hazırlanan örneklere (30 µg protein) yükleme tamponu ilave edilmiştir. Örnekler 95°C'de 4 dakika kaynatılarak denatüre edilmiş ve denature olan örnekler, hedeflenen proteinlerin molekül ağırlıklarına (kda) göre %7,5'luk poliakrilamid jelde, elektroforez tamponu varlığında 100 voltta yürütülmüştür. Jelde bulunan proteinlerin poliviniliden diflorid (PVDF) membrana transferi için ilk olarak PVDF gözeneklerinin açılması için 30 saniye metanolde bekletilmiş ardından jelde yürütülen proteinlerin, PVDF membrana transferi 100 voltta, 70 dakika süresince transfer tamponu varlığında yapılmıştır. Transfer aşamasından sonra, membranlar, 1X PBS içerisinde hazırlanmış %5 (a/h) süt tozu içerisinde 90 dakika boyunca inkübe edilmiş ve daha sonra 1X PBS içerisinde yıkanmıştır. Sonraki aşamada membranlar PBS içerisinde hazırlanan eNOS primer mouse antikoru ile 4°C'de gece boyu inkübe edilmiştir. Takiben membranlar üç kez % 0,1 tween-20 içeren PBS ile yıkanmış ve membran, PBS-tween-20 içerisinde 1:1000 oranında dilüe edilmiş anti mouse sekonder antikoru ile 1 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmeye bırakılmıştır. Sonrasında ise üç kez % 0,1 tween-20 içeren PBS ile yıkamanın ardından, membran üzerinde ilgilenilen proteinler, kemilüminesans ajanı ile görünür hale getirilmesinden sonra ilgili proteinlerin ekspresyonunun analizi için image J programı kullanılmıştır.

## 2.10. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizlerinde SPSS ve Excel paket programları kullanılmıştır. Çalışmadaki sürekli değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler medyan, minimum ve maksimum değerleriyle verilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiş ve normal dağılım göstermeyen değişkenlerin bağımlı iki grup karşılaştırmalarında Wilcoxon testi kullanılmıştır. Western Blot ve nitrit tayini deneylerinde ise kontrol grubu ile CDP-kolin, kolin ve sitidin uygulanan grupların arasındaki farklılıklar StatistiXL programı ile One Way Anova varyans analizi testi kullanılarak yapılmış, çalışmadaki tüm istatistiksel karşılaştırmalarda p değeri 0,05'in altındaki sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Beden Ağırlıkları ve Kan Şekeri Değerleri

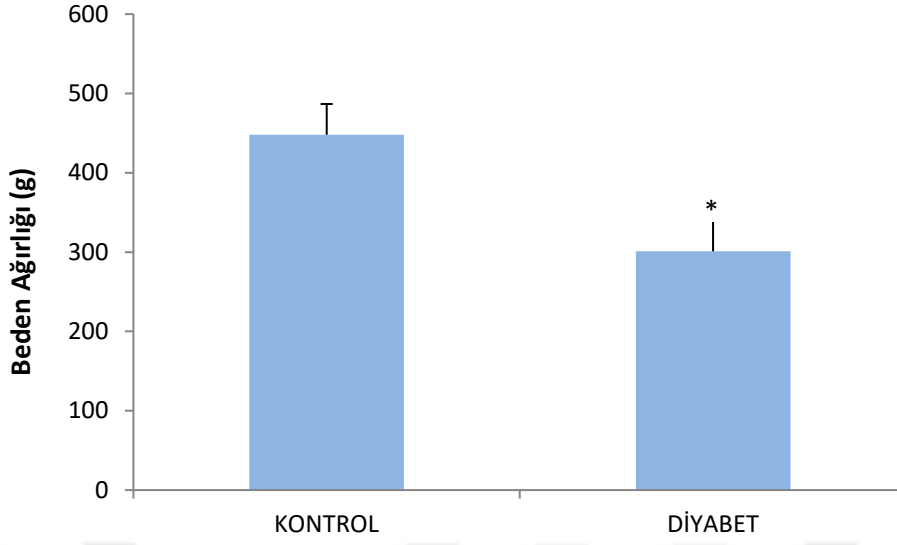
Streptozotosin enjeksiyonunu takiben daha önceki çalışmalarda, 8. hafta sonunda diyabetin bir komplikasyonu olarak erektil disfonksiyon olduğu gözlenmiştir (Zhang ve ark.,2018). Bizim çalışmamızda da önceki benzer çalışmalarla paralellik gösterecek şekilde, streptozotosini takiben 8 hafta beklenmiş ve erektil disfonksiyonun ortaya çıktığı saptanmıştır. Bu nedenle, sıçanlar 8. hafta sonunda tekrar tartılmış, diyabete bağlı kilo değişimi gözlenmiş ve çalışmada uygulanacak CDP-kolin, kolin ve sitidin miktarları ağırlık başına ( $\mu\text{mol/kg}$ ) değişen dozlarda uygulanmıştır. Sıçanların açlık kan şekeri değerleri, buldukları kafesten alınıp yem bulunmayan ayrı bir kafese konulmasını takiben 2 saat sonra ölçülmüştür. Tüm gruptaki sıçanların, beden ağırlığı ve kan şekeri değerlerindeki değişiklikler toplu olarak çizelge 3.1, şekil 3.1 ve şekil 3.2’de gösterilmiştir.

**Çizelge 3. 1.** Deney sıçanlarının ağırlıkları ve kan şekeri değerlerindeki değişiklikler.

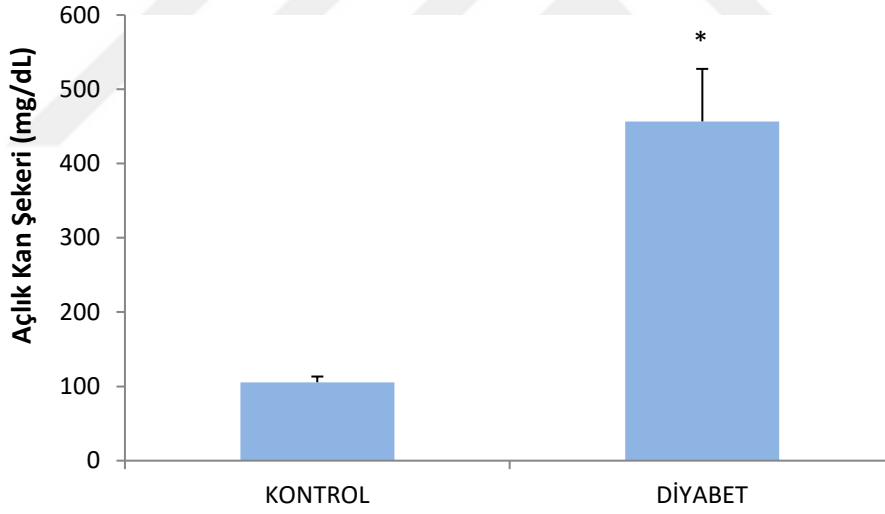
	<b>K</b>	<b>D</b>
<b>Beden ağırlığı (g)</b>	445,0 $\pm$ 38,7	297,2 $\pm$ 46,34*
<b>Kan şekeri (mg/dL)</b>	104,6 $\pm$ 7,69	461,4 $\pm$ 70,69*

Grup isimleri, kontrol (K), diyabetik (D) olarak kısaltılmıştır.

\*p<0,001; kontrol grubuna göre



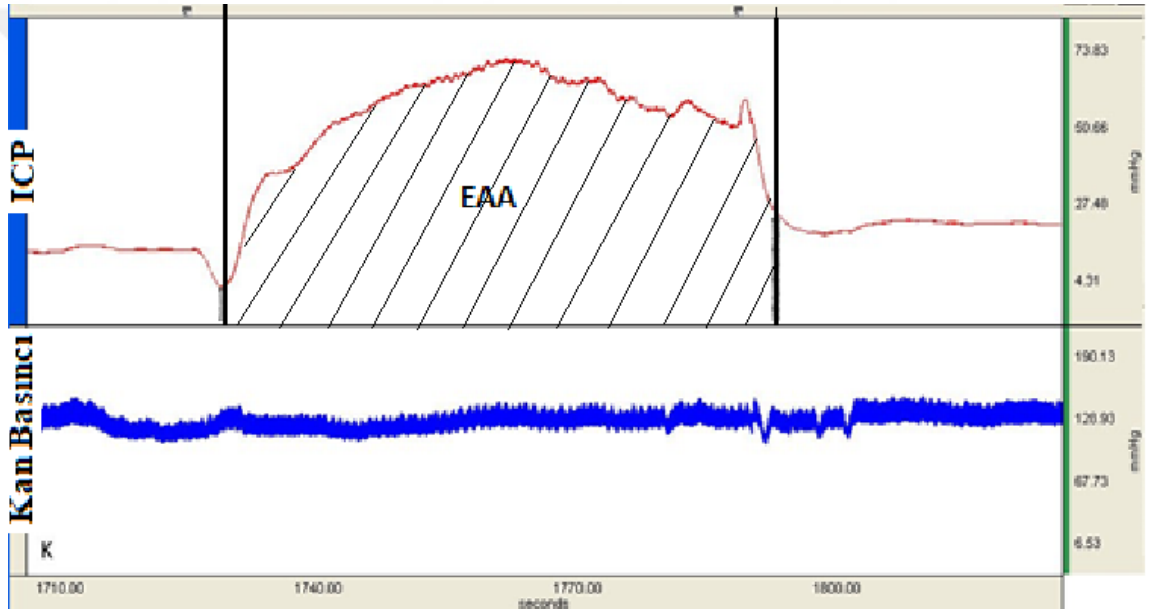
**Şekil 3.1.** Kontrol ve Diyabetik Sıçanların Beden Ağırlığı Grafiği.  
Sıçanların beden ağırlıkları streptozotosin enjeksiyonu sonrası 8. haftada ölçülmüştür.  
\* $p < 0,001$ ; kontrol grubuna göre



**Şekil 3.2.** Kontrol ve Diyabetik Sıçanların Açlık Kan Şekeri Değerlerindeki Değişim Grafiği.  
\* $p < 0,001$ ; kontrol grubuna göre

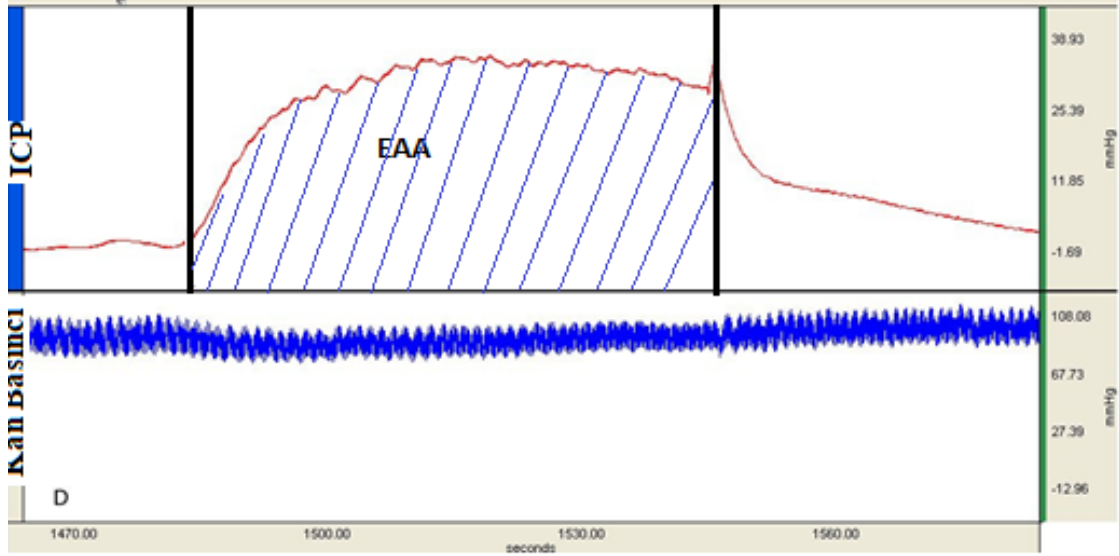
### 3.2. İn Vivo Çalışma Sonuçları

Sağlıklı ve diyabetik sıçanların anestezi altında ICP (mmHg)değerleri alınmış ve bu ICP (mmHg) değerleri karotid arterden alınan MAP değerlerine bölünerek, her bir grup için ICP/MAP değerleri hesaplanmıştır (şekil 3.3 ve şekil 3.4). Çalışmamızda kontrol ve diyabet gruplarına ayrı ayrı CDP-Kolin (200, 400 ve 600  $\mu\text{mol/kg}$ ), kolin (100, 150 ve 200  $\mu\text{mol/kg}$ ) ve sitidin (200, 400 ve 600  $\mu\text{mol/kg}$ ) intrakavernöz yolla enjekte edilmiş ve verilen dozları takiben 7.5 V, 5.0 V ve 2.5 V şiddetinde sağ ve sol kavernoöz sinir elektrot ile uyarılarak ICP (mmHg) ve ICP/MAP değerleri alınmıştır.



**Şekil 3.3.** Sağlıklı sıçanlardan elde edilen intrakavernöz (ICP) (mmHg) ve arteryel kan basınçlarına (MAP) ilişkin trase örneği.

EAA: Şekilde iki çizgi arasındaki trasenin altında kalanın hesaplanması sonucu ICP (mmHg) değeri elde edilir.



**Şekil 3.4.** Diyabetik sıçanlardan elde edilen intra kaverno (ICP)(mmHg) ve kan basınçlarına (MAP) ilişkin traseler.

EAA: Şekilde iki çizgi arasındaki trasenin altında kalanın hesaplanması sonucu ICP (mmHg) değeri elde edilir.

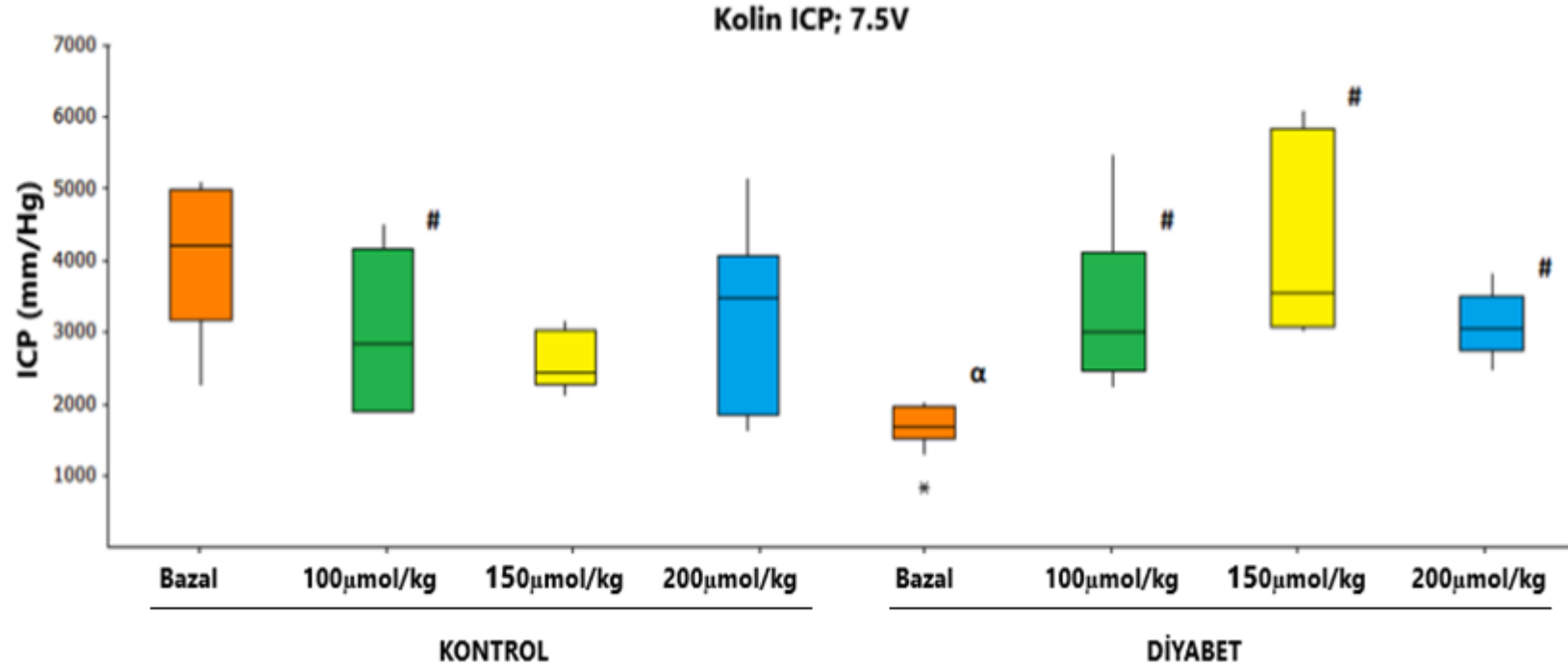
Literatürlerde yapılan çalışmalarda 200, 400 ve 600  $\mu\text{mol/kg}$  kolin sıçanlara uygulanmış (Cansev ve ark., 2008; Ilcol YO ve ark.,2008; Ilcol YO ve ark.,2007), ancak bizim çalışmamızda uygulan bu dozlar sonrasında sıçanların kan basınçlarında belirgin düşüşe bağlı olarak kayıplar meydana gelmesinden dolayı çalışmalarımıza daha düşük dozlar olan 100, 150 ve 200  $\mu\text{mol/kg}$  kolin dozlarıyla devam edilmiştir.

Kolin enjeksiyonu yapılacak diyabetik sıçanların, enjeksiyonlar öncesi kavernoöz sınırları 7.5 V şiddetinde uyarıldığında elde edilen ICP (mmHg) değerleri kontrol grubu (diyabetik olmayan) ile karşılaştırıldığında, diyabetik grubun istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterdiği belirlenmiştir [ICP: Median, Diyabetik: 1682(820-2042), Kontrol: 4202(2256-5113),  $p<0,001$ ].

Kavernoöz sınırlar 7.5 V şiddetinde uyarıldığında, kontrol grubunda 100  $\mu\text{mol/kg}$  kolin, ICP değerlerini bazal değerlerine oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaltırken ( $p<0,028$ ), diğer dozlar (150 ve 200  $\mu\text{mol/kg}$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermemiştir (150 ve 200  $\mu\text{mol/kg}$ 'in sırasıyla;  $p<0.068$ ,  $p<0.139$ ).

Kolin, diyabetik sıçanlara uygulandığında, 7.5 V şiddetindeki uyarılma sonrası, kolinin tüm dozlarında ICP (mmHg) değerleri başlangıç değerlerine göre sağlıklı sıçanlarda gözlenenenden farklı şekilde artış istatistiksel olarak anlamlıdır (100, 150 ve 200  $\mu\text{mol/kg}$  için sırasıyla;  $p<0.012$ ,  $p<0.043$  ve  $p<0.043$ ) (şekil 3.5 ve çizelge3.2).



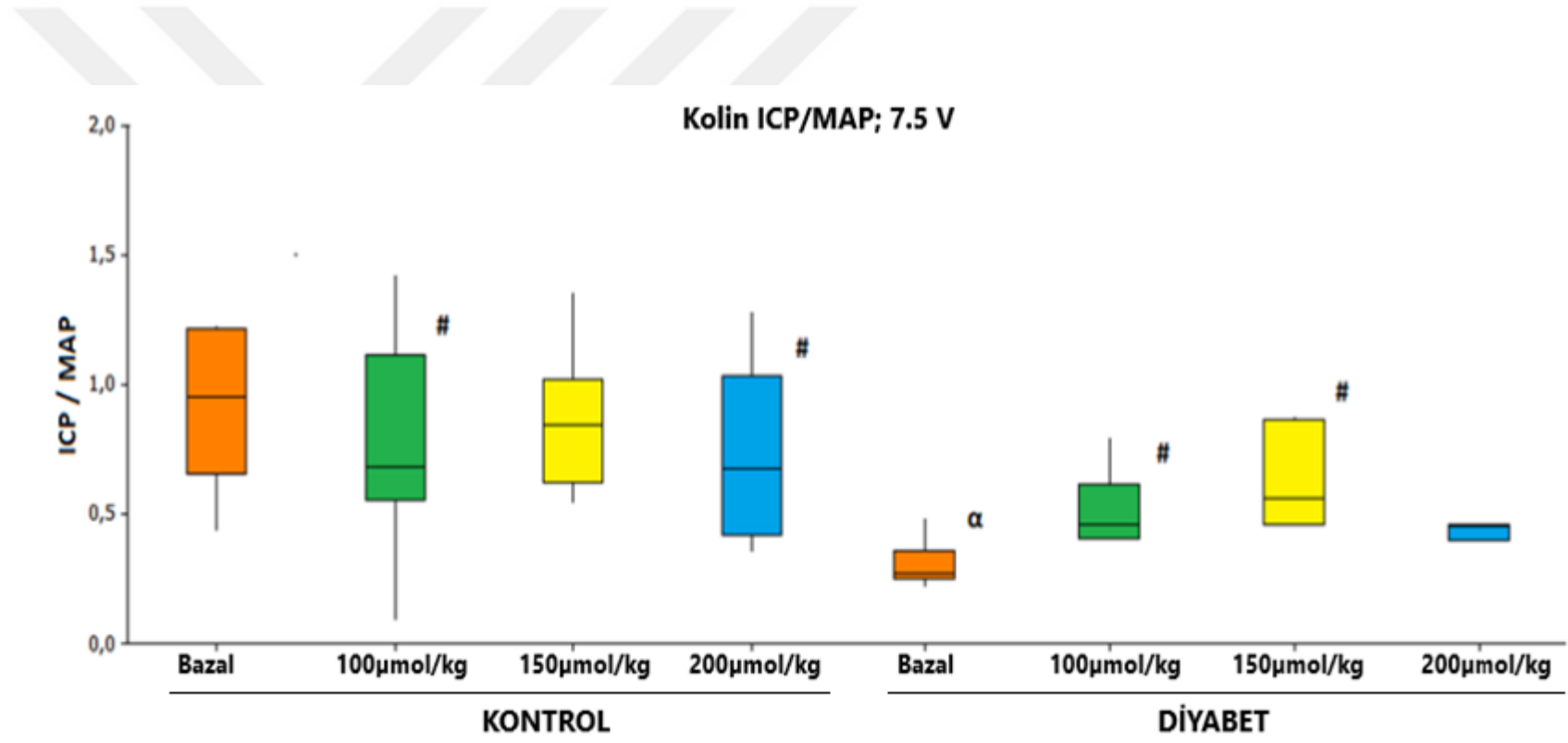


**Şekil 3.5.** 7.5 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP (mmHg) değerleri grafiği.  
<sup>#</sup> $p < 0.05$ , bazal değerlerine göre,  
<sup>α</sup> $p < 0.001$ , kontrol grubunun bazal değerlerine göre

Kolin enjeksiyonu yapılacak diyabetik sıçanların, enjeksiyonlar öncesi kavernoöz sınırları 7.5 V şiddetinde uyarıldığında elde edilen ICP/MAP değerleri kontrol grubu (diyabetik olmayan) ile karşılaştırıldığında, diyabetik grubun istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterdiği belirlenmiştir [ICP/MAP: Median, Diyabetik: 0.3200 (0.214-0.488), Kontrol: 0.9544 (0.43-1.23)].

7.5 V şiddetindeki uyarılmalarda kontrol grubunda 100 ve 200  $\mu\text{mol/kg}$  dozlarda ICP/MAP değerlerinde anlamlı bir düşüş gözlenirken (sırasıyla,  $p<0.028$  ve  $p<0.038$ ), 150  $\mu\text{mol/kg}$  dozunda bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

7.5 V şiddetindeki uyarılmalarda diyabetli grupta ICP/MAP değerlerinde ise 100 ve 150  $\mu\text{mol/kg}$  kolin dozları istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterirken (sırasıyla  $p<0.012$  ve  $p<0.043$ ), 200  $\mu\text{mol/kg}$  dozunda artış olmakla birlikte bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p<0.138$ ) (şekil 3.6 ve çizelge 3.3).



**Şekil 3.6.** 7.5 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP/MAP değerleri grafiği.

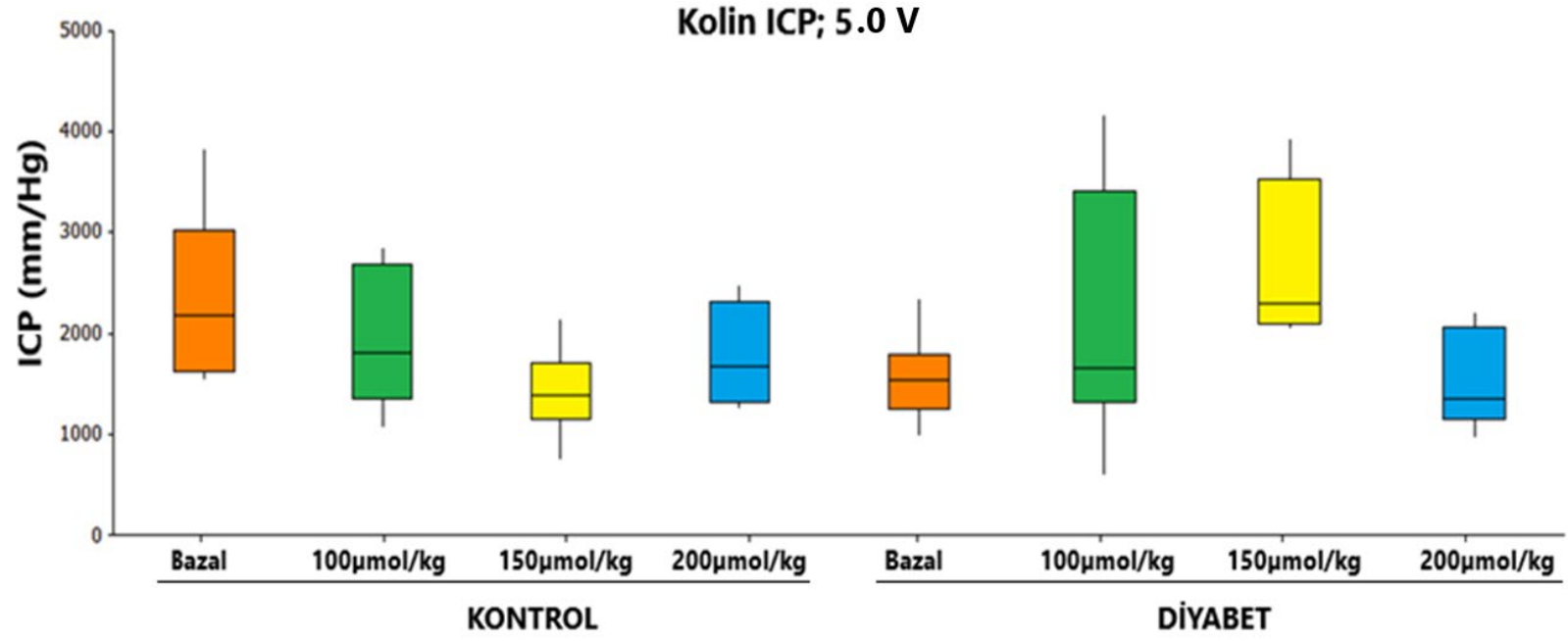
# $p < 0.05$ , bazal değerlerine göre

<sup>a</sup> $p < 0.05$ , kontrol grubunun bazal değerlerine göre

Kolin enjeksiyonu yapılacak diyabetik sıçanların, enjeksiyonlar öncesi kavernöz sinirleri 5.0 V orta şiddette uyarıldığında elde edilen ICP (mmHg) değerleri kontrol grubu (diyabetik olmayan) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p<0.027$ ).

Kontrol grubundaki orta şiddetteki 5.0 V uyarılmalarda ICP (mmHg) değerlerinde kolinin uygulanan tüm dozlarında istatistiksel olarak anlamlılık yoktur (100, 150 ve 200  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için sırasıyla  $p<0.08$ ,  $p<0.068$ ,  $p<0.144$ ).

Diyabetik gruptaki 5.0 V orta şiddet uyarılmada, ICP (mmHg) değerleri kolinin uygulanan tüm dozlarında başlangıç değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir (100, 150 ve 200  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için  $p<0.263$ ,  $p<0.068$ ,  $p<0.60$ ) (Şekil 3.7ve Çizelge 3.2).

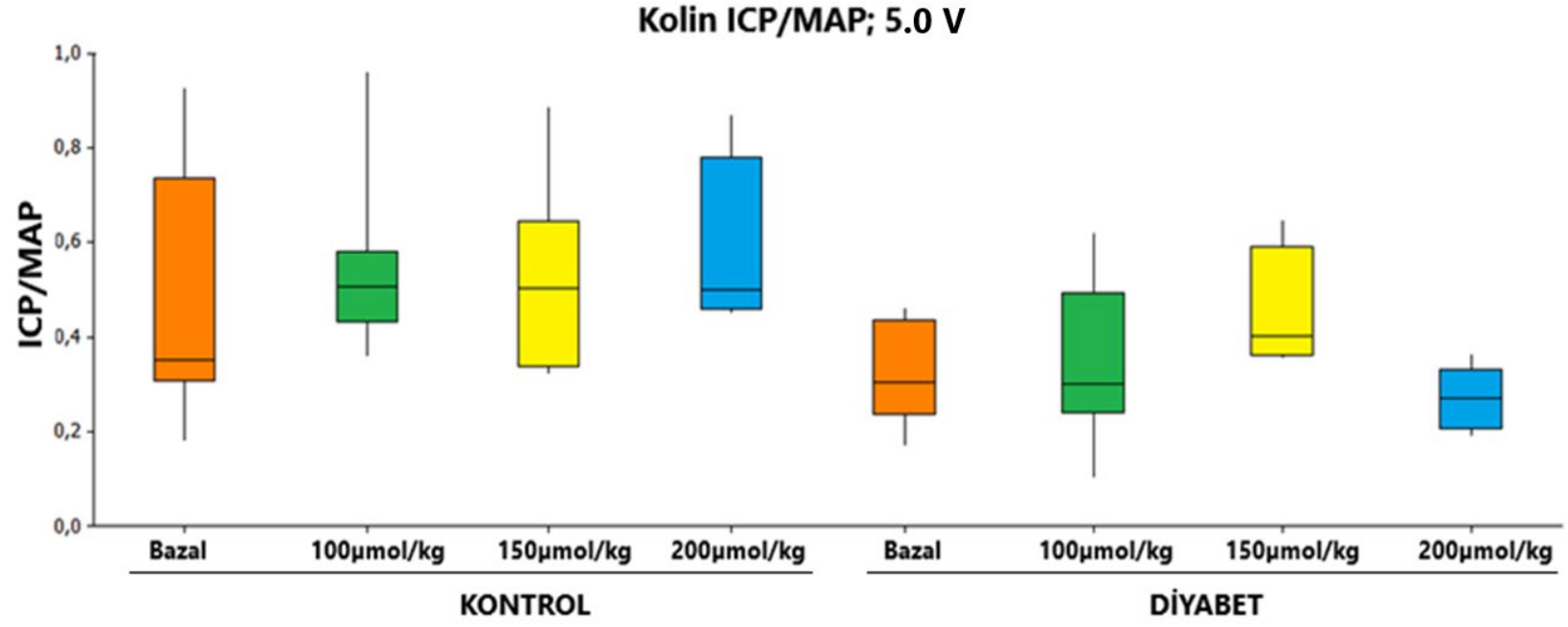


Şekil 3.7. 5.0 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP (mmHg) değerleri grafiği.

Kolin enjeksiyonu yapılacak diyabetik sıçanların, enjeksiyonlar öncesi kavernoöz sinirleri 5.0 V orta şiddetinde uyarıldığında elde edilen ICP/MAP değerleri kontrol grubu (diyabetik olmayan) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmamıştır ( $p<0.131$ ).

Kontrol grubundaki 5.0 V uyarılmalarda ICP/MAP değerlerinde kolinin uygulanan tüm dozlarında istatistiksel olarak anlamlılık taşımamaktadır (100, 150 ve 200  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için  $p<0.5$ ,  $p<1.0$ ,  $p<1.0$ ).

Diyabetik 5.0 V uyarılma şiddetinde ise ICP/MAP değerleri kolinin uygulanan tüm dozlarında başlangıç değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir (100, 150 ve 200  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için  $p<0.575$ ,  $p<0.144$ ,  $p<0.463$ ) (şekil 3.8 ve çizelge 3.3).

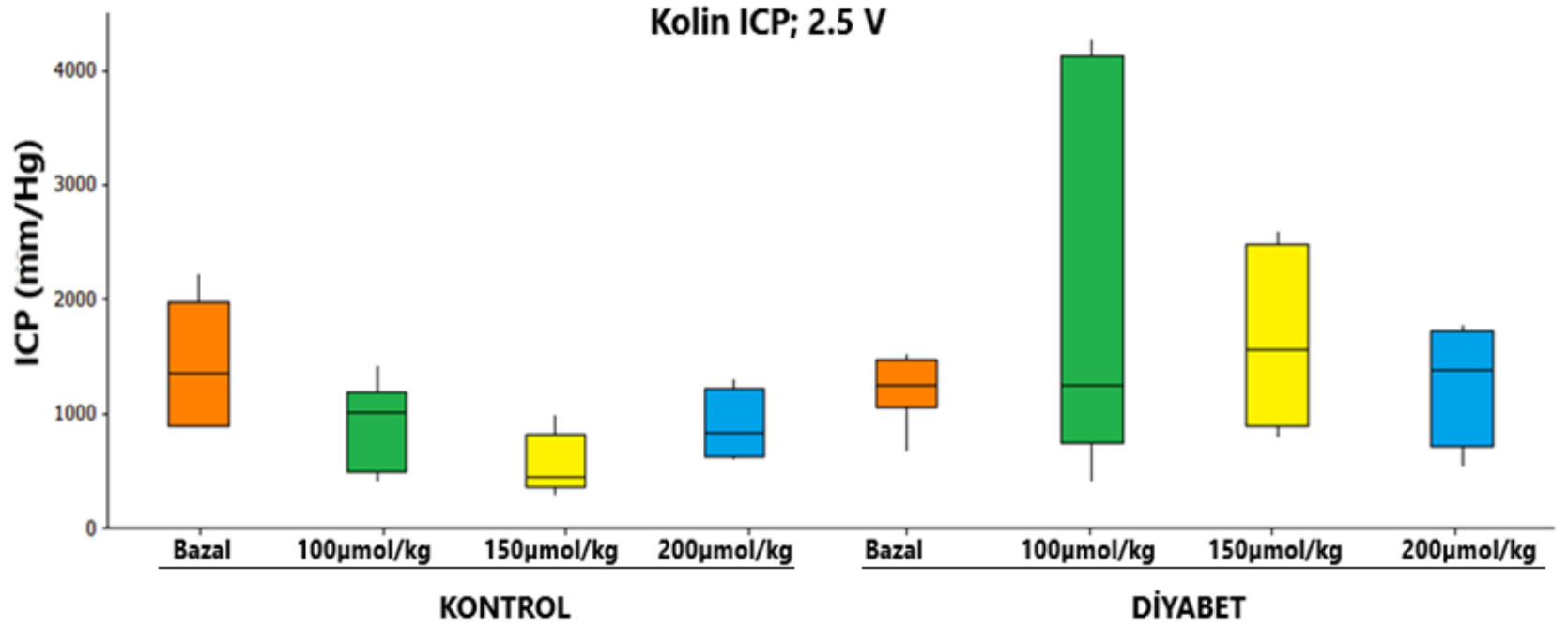


Şekil 3.8. 5.0 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP/MAP değerleri grafiği.

Kolin enjeksiyonu yapılacak diyabetik sıçanların, enjeksiyonlar öncesi kavernoöz sinirleri 2.5 V şiddetinde uyarıldığında elde edilen ICP (mmHg) değerleri kontrol grubu (diyabetik olmayan) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmamıştır ( $p<0.57$ ).

Kontrol grubundaki düşük şiddetteki 2.5 V uyarılmalarda ICP (mmHg) değerlerinde kolinin uygulanan tüm dozlarında istatistiksel olarak anlamlılık görülmemiştir (100, 150 ve 200  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için  $p<0.285$ ,  $p<0.655$ ,  $p<1.0$ ).

Diyabetik gruptaki 2.5 V uyarılma şiddetinde ise ICP (mmHg) değerleri kolinin uygulanan tüm dozlarında başlangıç değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildir (100, 150 ve 200  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için  $p<0.225$ ,  $p<0.138$ ,  $p<0.465$ ) (şekil 3.9 ve çizelge 3.2).

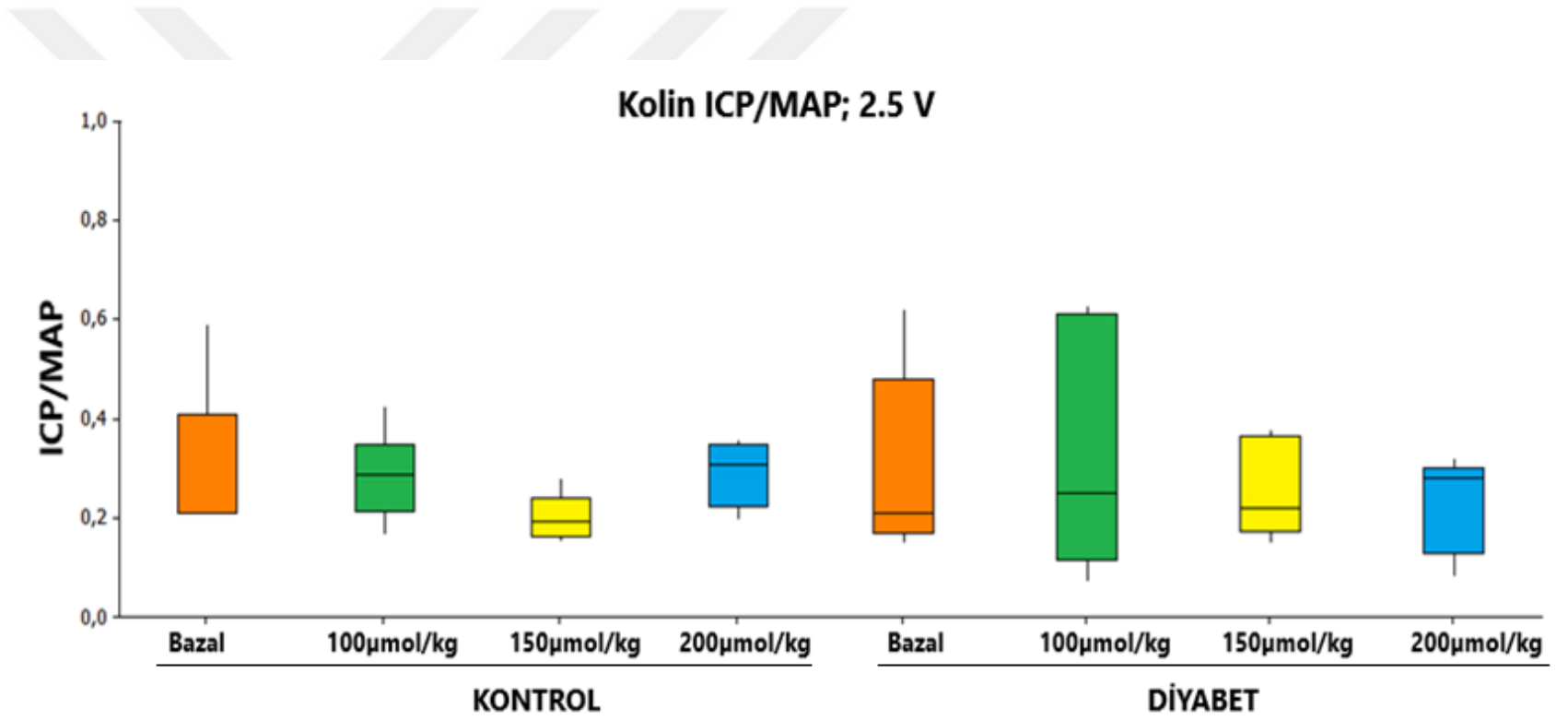


Şekil 3.9. 2.5 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP (mmHg) değerleri grafiği.

Kolin enjeksiyonu yapılacak diyabetik sıçanların, enjeksiyonlar öncesi kavernoöz sinirleri 2.5 V şiddetinde uyarıldığında elde edilen ICP/MAP değerleri kontrol grubu (diyabetik olmayan) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmemiştir ( $p<0.935$ ).

Kontrol grubundaki 2.5 V uyarılmalarda ICP/MAP değerlerinde kolinin uygulanan tüm dozlarında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır (100, 150 ve 200  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için  $p<0.285$ ,  $p<0.655$ ,  $p<1.0$ ).

Diyabetik 2.5 V uyarılma şiddetinde ise ICP/MAP değerleri kolinin uygulanan tüm dozlarında başlangıç değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir (100, 150 ve 200  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için  $p<0.225$ ,  $p<0.138$ ,  $p<0.465$ ) (şekil 3.10 ve çizelge 3.3).



Şekil 3.10. 2.5 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP/MAP değerleri grafiği.

Kolinin kontrol ve diyabet gruplarındaki bazal (herhangi bir doz uygulanmayan) ve artan dozlara göre (100, 150 ve 200 µmol/kg) 7.5, 5 ve 2.5 V'daki ICP, ICP/MAP değerleri çizelge 3.2 ve 3.3 'de verilmiştir.

**Çizelge 3. 2.** Koline ait ICP (mmHg) ölçümlerinin median (min-max) ve p değerleri.

<b>KOLİN ICP</b>					
		<b>BAZAL</b>	<b>100 µmol/kg</b>	<b>150 µmol/kg</b>	<b>200 µmol/kg</b>
<b>KONTROL</b>	<b>7.5 V</b>	4202,50 (2256-5113)	2829,00 (1868-4506) <b>p:0,028*</b>	2444,00 (2097-3175) <b>p:0,068</b>	3469,00 (1615-5157) <b>p:0,139</b>
	<b>5.0 V</b>	2176,00 (1535-3833)	1809,50 (1067-2849) <b>p:0,080</b>	1383,50 (748-2151) <b>p:0,068</b>	1680,00 (1246-2486) <b>p:0,144</b>
	<b>2.5 V</b>	1348,00 (869-2226)	1003,00 (401-1432) <b>p:0,285</b>	448,00 (285-1000) <b>p:0,655</b>	828 (598-1305) <b>p:1,00</b>
<b>DIYABET</b>	<b>7.5 V</b>	1682,00 (820-2042)	2994,00 (2219-5477) <b>p:0,012*</b>	3549,00 (2993-6113) <b>p:0,043*</b>	3054,00 (2455-3840) <b>p:0,043*</b>
	<b>5.0 V</b>	1536,00 (983-2345)	1655,00 (587-4178) <b>p:0,263</b>	2304,00 (2046-3928) <b>p:0,068</b>	1343,00 (967-2218) <b>p:0,60</b>
	<b>2.5 V</b>	1242,00 (663-1532)	1253,00 (394-4391) <b>p:0,225</b>	1560,00 (783-2601) <b>p:0,138</b>	1387,00 (537-1789) <b>p:0,465</b>

7.5, 5.0 ve 2.5 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP (mmHg) değerleri tablosu.

\* $p < 0.05$ , bazal değerlerine göre.

**Çizelge 3. 3.** Koline ait ICP/MAP ölçümlerinin median (min-max) ve *p*değerleri.

		<b>KOLİN ICP/MAP</b>			
		<b>BAZAL</b>	<b>100 µmol/kg</b>	<b>150 µmol/kg</b>	<b>200 µmol/kg</b>
<b>KONTROL</b>	<b>7.5 V</b>	0,95445 (0,43-1,233)	0,68326 (0,09-1,42) <b>p:0,028*</b>	0,84518 (0,541-1,36) <b>p:0,068</b>	0,67416 (0,35-1,28) <b>p:0,038*</b>
	<b>5.0 V</b>	0,35065 (0,18-0,93)	0,50729 (0,357-1,0) <b>p:0,5</b>	0,50373 (0,322-0,89) <b>p:1,0</b>	0,49934 (0,448-0,873) <b>p:1,0</b>
	<b>2.5 V</b>	0,2100 (0,208-0,59)	0,28571 (0,164-0,427) <b>p:1,0</b>	0,19231 (0,152-0,281) <b>p:0,655</b>	0,30766 (0,196-0,357) <b>p:0,59</b>
<b>DIYABET</b>	<b>7.5 V</b>	0,3200 (0,214-0,488)	0,4600 (0,40-0,80) <b>p:0,012*</b>	0,5600 (0,453-0,88) <b>p:0,043*</b>	0,45263 (0,39-0,46) <b>p:0,138</b>
	<b>5.0 V</b>	0,3050 (0,17-0,462)	0,29948 (0,10-0,62) <b>p:0,575</b>	0,40355 (0,355-0,65) <b>p:0,144</b>	0,27088 (0,19-0,365) <b>p:0,463</b>
	<b>2.5 V</b>	0,2100 (0,15-0,62)	0,2500 (0,15-0,62) <b>p:0,498</b>	0,2200 (0,15-0,38) <b>p:0,225</b>	0,2800 (0,08-0,32) <b>p:0,225</b>

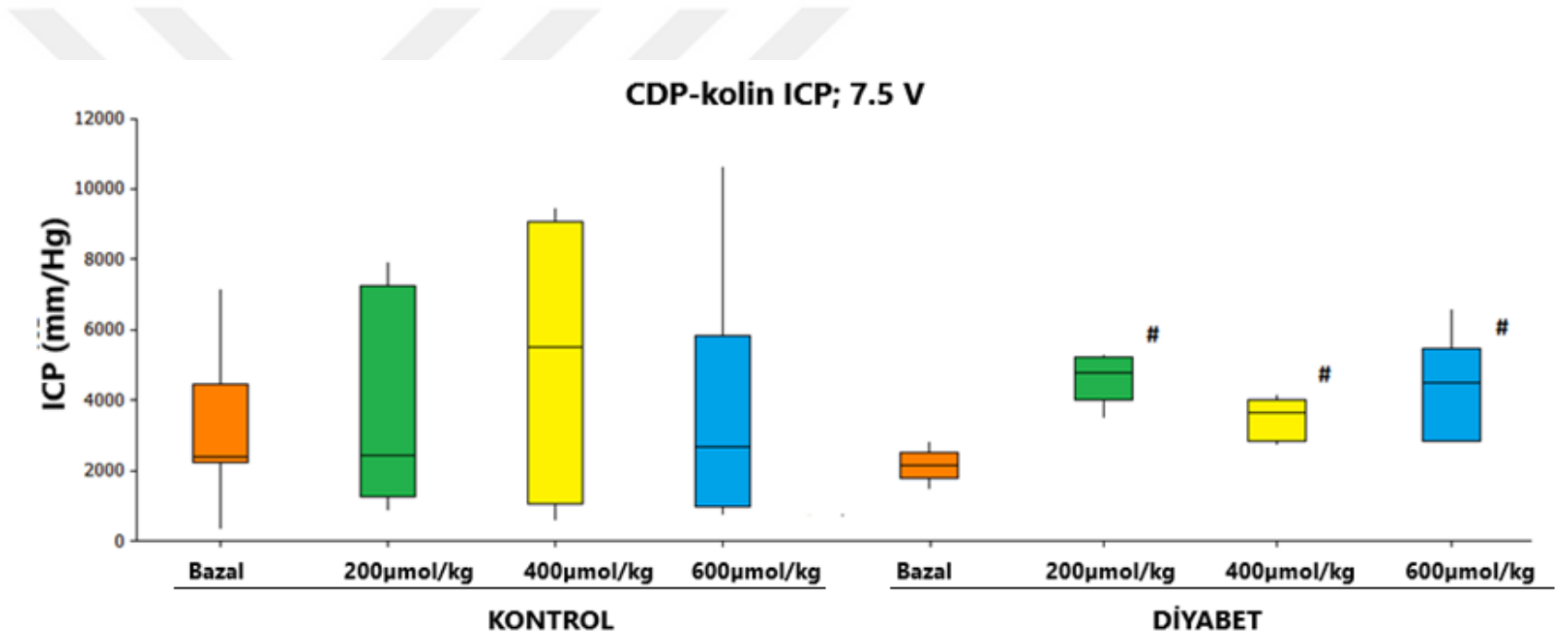
7.5, 5.0 ve 2.5 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP/MAP değerleri tablosu

\**p* <0.05, bazal değerlerine göre.

CDP-kolin enjeksiyonu yapılacak diyabetik sıçanların, enjeksiyonlar öncesi kavernoöz sinirleri 7.5 V şiddetinde uyarıldığında elde edilen ICP (mmHg) değerleri kontrol grubu (diyabetik olmayan) ile karşılaştırıldığında, diyabetik grubun azalma göstermesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir [ICP: Median, Diyabetik: 2090 (1439-2758), Kontrol: 2403 (334-7188), *p*=0.141.].

Kavernöz sinirler 7.5 V şiddetinde uyarıldığında kontrol grubunda CDP-kolinin uygulanan tüm dozları, ICP (mmHg) değerlerini bazal değerlerine oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde değiştirmemiştir (200, 400 ve 600 µmol/kg dozları için sırasıyla  $p<0.753$ ,  $p<0.128$  ve  $p<0.345$ ).

CDP-kolin diyabetik sıçanlara uygulandığında, 7.5 V şiddetindeki uyarılma sonrası, CDP-kolinin tüm dozlarında ICP (mmHg) değerleri başlangıç değerlerine göre sağlıklı sıçanlarda gözlenenenden farklı şekilde istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir (200, 400 ve 600 µmol/kg için sırasıyla;  $p<0.028$ ,  $p<0.018$  ve  $p<0.018$ ) (şekil 3.11 ve çizelge 3.4).

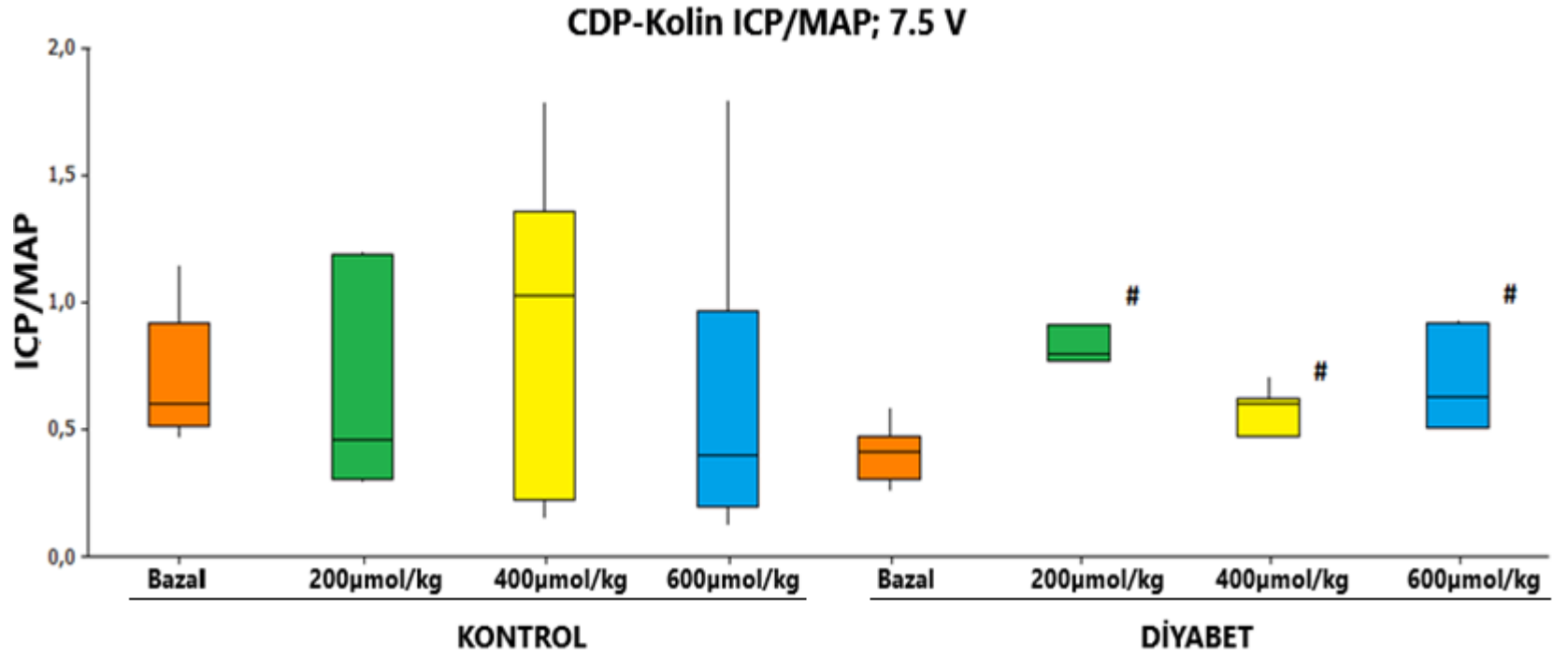


**Şekil 3.11.** 7.5 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda CDP-kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP (mmHg) değerleri grafiği. # $p < 0.05$ , bazal değerlerine göre

CDP-kolin enjeksiyonu yapılacak diyabetik sıçanların, enjeksiyonlar öncesi kavernöz sınırları 7.5 V şiddetinde uyarıldığında elde edilen ICP/MAP değerleri kontrol grubu (diyabetik olmayan) ile karşılaştırıldığında, diyabetik grubun azalma göstermesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir [ICP/MAP: Median, Diyabetik: 0.415 (0.258-0.59), Kontrol: 0.6038 (0.463-1.15),  $p=0.05$ ].

Kavernöz sınırlar 7.5 V şiddetinde uyarıldığında kontrol grubunda CDP-kolinin uygulanan tüm dozları, ICP/MAP değerlerinde de istatistiksel olarak anlamlı şekilde değişmemiştir. (200, 400 ve 600  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için sırasıyla  $p<0.600$ ,  $p<0.446$  ve  $p<0.753$ ).

CDP-kolin diyabetik sıçanlara uygulandığında, 7.5 V şiddetindeki uyarılma sonrası ICP/MAP değerleri tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır (200, 400 ve 600  $\mu\text{mol/kg}$  için sırasıyla;  $p<0.028$ ,  $p<0.018$  ve  $p<0.028$ ) (şekil 3.12 ve çizelge3.5).



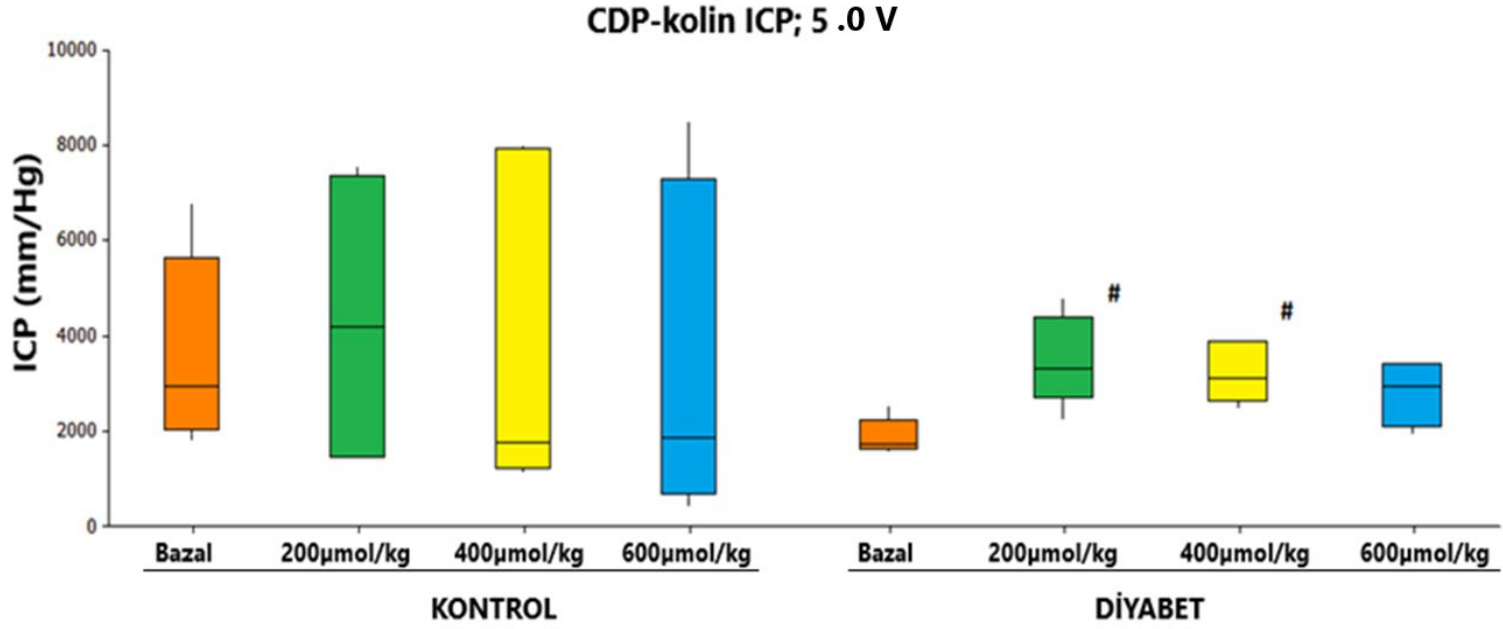
**Şekil 3.12.** 7.5 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda CDP-kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP/MAP değerleri grafiği.

# $p < 0.05$ , bazal değerlerine göre

CDP-kolin enjeksiyonu yapılacak diyabetik sıçanların, enjeksiyonlar öncesi kavernöz sinirleri 5.0 V orta şiddetinde uyarıldığında elde edilen ICP (mmHg) ve değerlerinde de kontrol grubu (diyabetik olmayan) ile karşılaştırıldığında istatistiksel bir azalma saptanmamıştır ( $p<0.030$ ).

Kontrol grubunda orta şiddetteki 5.0 V uyarılmalarda da ICP (mmHg) değerlerinde CDP-kolinin uygulanan tüm dozlarında istatistiksel olarak anlamlılık görülmemiştir (200, 400 ve 600  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için  $p<0.465$ ,  $p<0.893$ ,  $p<0.715$ ).

CDP-kolin diyabetik sıçanlara uygulandığında, ICP (mmHg) değerleri 5.0 V uyarılma şiddetinde ise ICP (mmHg) değerleri 200 ve 400  $\mu\text{mol/kg}$  dozlarında anlamlı bir artış göstermiştir (200 ve 400  $\mu\text{mol/kg}$  CDP-kolin için  $p<0.043$ ) (şekil 3.13 ve çizelge 3.4).

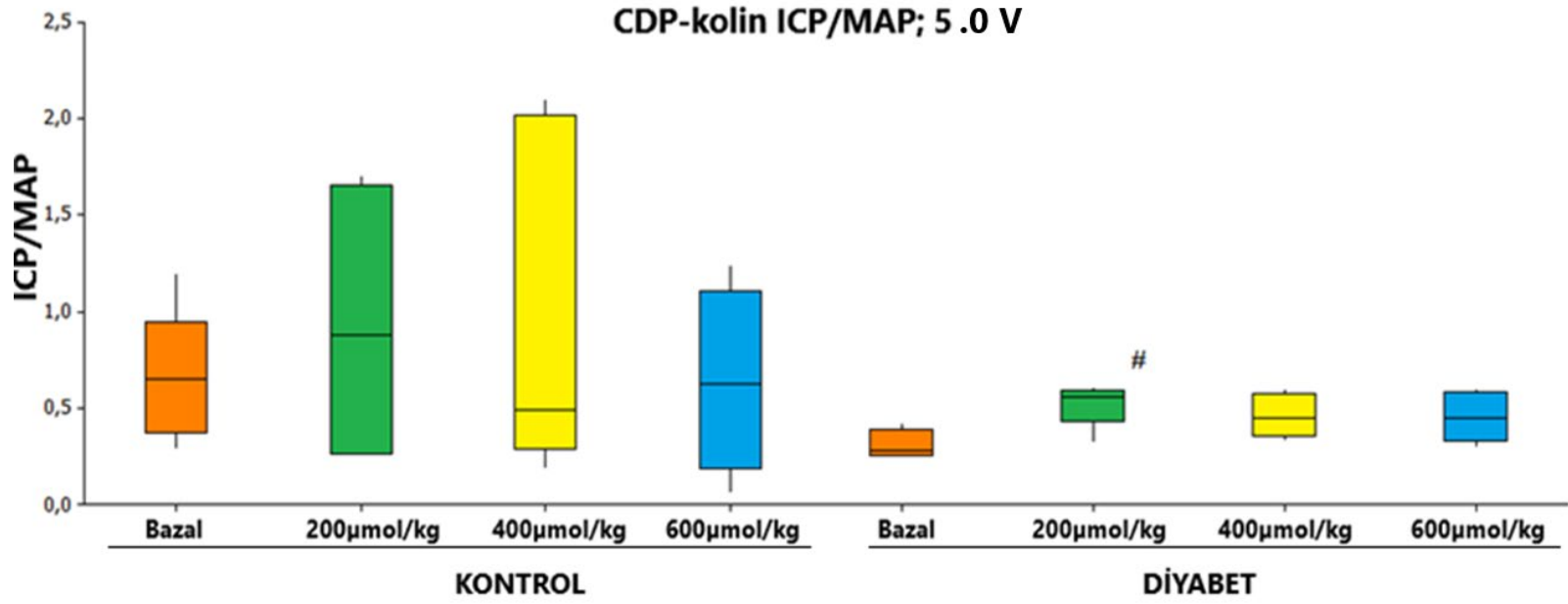


**Şekil 3.13.** 5.0 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda CDP-kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP (mmHg) değerleri grafiği.  
#  $p < 0.05$ , diyabet bazal değerlerine göre

CDP-kolin enjeksiyonu yapılacak diyabetik sıçanların, enjeksiyonlar öncesi kavernoöz sinirleri 5.0 V şiddetinde uyarıldığında elde edilen ICP/MAP değerlerinde de kontrol grubu (diyabetik olmayan) ile karşılaştırıldığında istatistiksel bir azalma saptanmamıştır ( $p<0.010$ ).

Kontrol grubunda orta şiddetteki 5.0 V uyarılmalarda da ICP/MAP değerlerinde CDP-kolinin uygulanan tüm dozlarında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır (200, 400 ve 600  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için  $p<0.465$ ,  $p<0.225$ ,  $p<0.715$ ).

CDP-kolin diyabetik sıçanlara uygulandığında, ICP/MAP değerleri 5.0 V'ta uyarılmada istatistiksel artış sadece 200  $\mu\text{mol/kg}$  CDP-kolin için gözlenmiştir ( $p<0.043$ ) (şekil3.14 ve çizelge 3.5.).

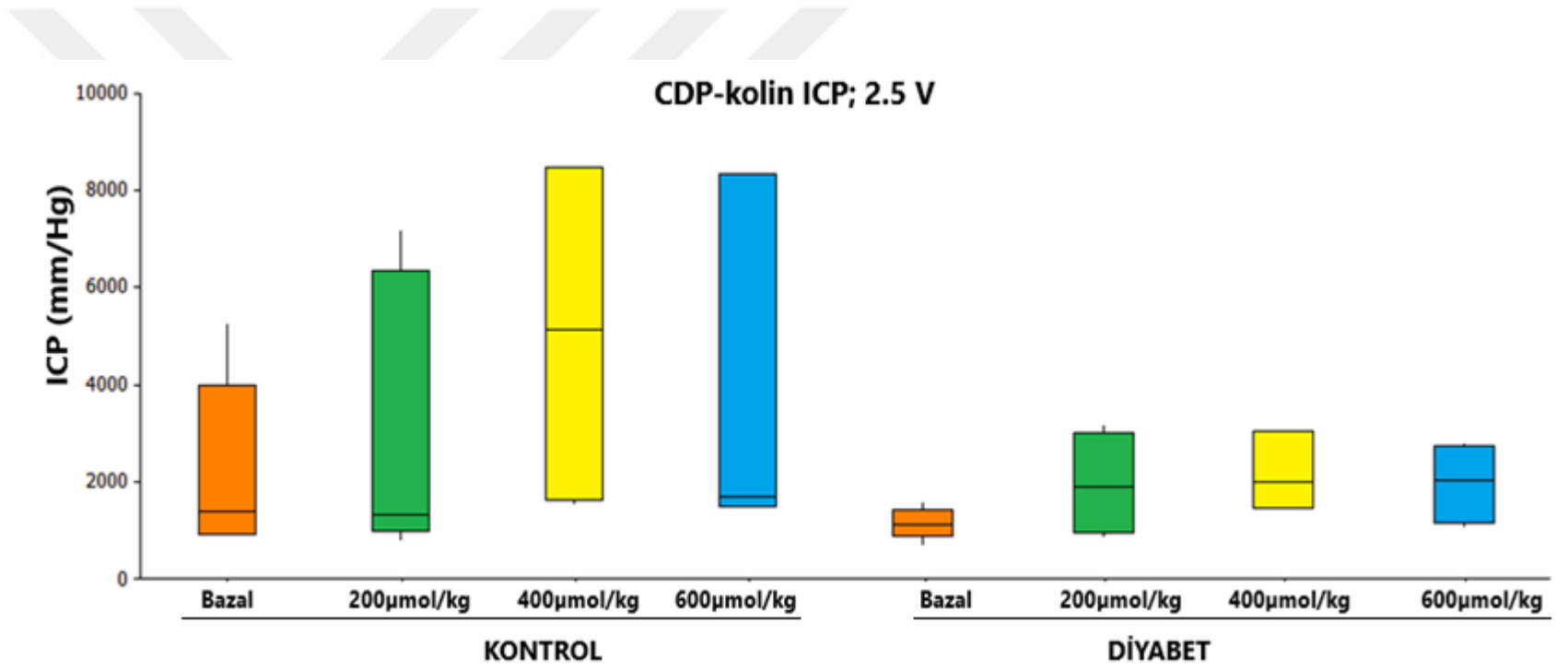


**Şekil 3.14.** 5.0 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda CDP-kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP (mmHg) değerleri grafiği.  
<sup>#</sup>  $p < 0.05$ , diyabet bazal değerlerine göre

CDP-kolin enjeksiyonu yapılacak diyabetik sıçanların, enjeksiyonlar öncesi kavernoöz sinirleri 2.5 V şiddetinde uyarıldığında elde edilen ICP (mmHg) değerlerinde de kontrol grubu (diyabetik olmayan) ile karşılaştırıldığında istatistiksel bir azalma saptanmamıştır ( $p<0.485$ )

Kontrol grubunda daha düşük şiddetteki 2.5 V uyarımlarda da ICP (mmHg) değerlerinde CDP-kolinin uygulanan tüm dozlarında istatistiksel olarak anlamlılık görülmemiştir (200, 400 ve 600  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için  $p<0.08$ ,  $p<0.068$ ,  $p<0.109$ ).

CDP-kolin diyabetik sıçanlara uygulandığında, ICP (mmHg) değerleri 2.5 V uyarılma şiddetinde, tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmamıştır (200, 400 ve 600  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için  $p<0.273$ ,  $p<0.109$ ,  $p<0.144$ ) (şekil 3.15 ve çizelge 3.4).

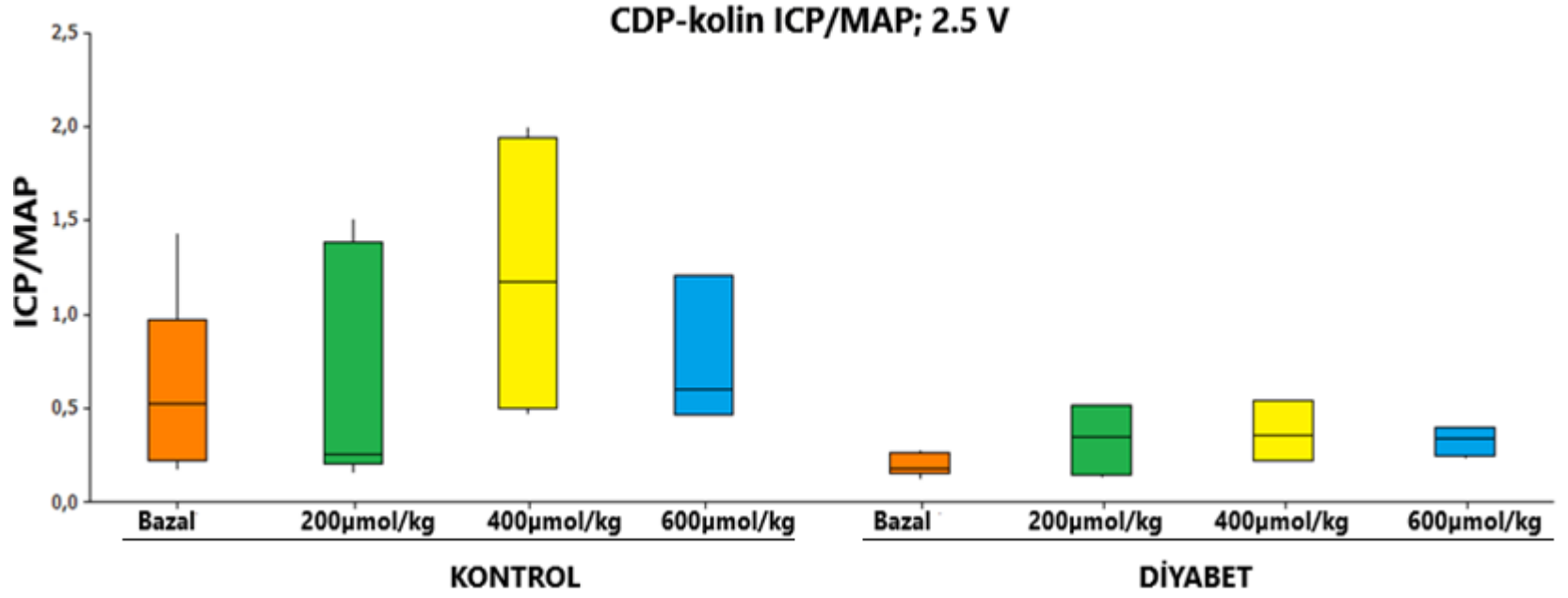


Şekil 3.15. 2.5 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda CDP-kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP (mmHg) değerleri grafiği.

CDP-kolin enjeksiyonu yapılacak diyabetik sıçanların, enjeksiyonlar öncesi kavernoöz sinirleri 2.5 V şiddetinde uyarıldığında elde edilen ICP/MAP değerlerinde kontrol grubu (diyabetik olmayan) ile karşılaştırıldığında istatistiksel bir azalma olmamıştır ( $p<0.41$ ).

Kontrol grubunda daha düşük şiddetteki 2.5 V uyarılmalarda ICP/MAP değerlerinde CDP-kolinin uygulanan tüm dozlarında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır (200, 400 ve 600  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için  $p<0.5$ ,  $p<0.068$ ,  $p<0.109$ ).

CDP-kolin diyabetik sıçanlara uygulandığında, ICP/MAP değerleri 2.5 V uyarılma şiddetinde, tüm dozlarda anlamlı bir değişiklik göstermemiştir (200, 400 ve 600  $\mu\text{mol/kg}$  dozları için  $p<0.273$ ,  $p<0.109$ ,  $p<0.068$ ) (şekil 3.16 ve çizelge 3.5).



Şekil 3.16. 2.5 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda CDP-kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP/MAP değerleri grafiği.

CDP-kolinin kontrol ve diyabet gruplarındaki bazal ve artan dozlara göre (200, 400 ve 600 µmol/kg) 7.5, 5.0 ve 2.5 V'daki ICP, ICP/MAP değerleri çizelge 3.4 ve 3.5'de verilmiştir.

**Çizelge 3. 4.** CDP-koline ait ICP (mmHg) ölçümlerinin median (min-max) ve *p* değerleri.

<b>CDP-KOLİN ICP</b>					
		<b>BAZAL</b>	<b>200µmol/kg</b>	<b>400 µmol/kg</b>	<b>600 µmol/kg</b>
<b>KONTROL</b>	<b>7.5 V</b>	2403 (334-7188)	2431 (845-7951) <b>p:0,753</b>	5511 (564-9487) <b>p:0,128</b>	2679 (749-10678) <b>p:0,345</b>
	<b>5.0 V</b>	2941,00 (1806-6801)	4193,00 (1420-7567) <b>p:0,465</b>	1764,00 (1109-8006) <b>p:0,893</b>	1859,00 (400-8990) <b>p:0,715</b>
	<b>2.5 V</b>	1389 (867-5283)	1329 (765-7208) <b>p:0,08</b>	5136 (1517-8507) <b>p:0,068</b>	1690 (1491-8358) <b>p:0,109</b>
<b>DIYABET</b>	<b>7.5 V</b>	2090 (1439-2758)	4668 (3413-5186) <b>p:0,028*</b>	3564 (2658-4074) <b>p:0,018*</b>	4393 (2737-6470) <b>p:0,018*</b>
	<b>5.0 V</b>	1552 (1393-2294)	2965 (2010-4314) <b>p:0,043*</b>	2798 (2214-3541) <b>p:0,043*</b>	2651 (1733-3072) <b>p:0,068</b>
	<b>2.5 V</b>	1117 (661-1600)	1885 (848-3178) <b>p:0,273</b>	2004 (1463-3050) <b>p:0,109</b>	2022 (1042-2801) <b>p:0,144</b>

7.5, 5.0 ve 2.5 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda CDP-kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP (mmHg) değerleri tablosu.

\**p* < 0.05, bazal değerlerine göre

**Çizelge 3. 5.** CDP-koline ait ICP/MAP ölçümlerinin median (min-max) ve *p* değerleri

<b>CDP-KOLİN ICP/MAP</b>					
		<b>BAZAL</b>	<b>200µmol/kg</b>	<b>400 µmol/kg</b>	<b>600 µmol/kg</b>
<b>KONTROL</b>	<b>7.5 V</b>	0,60382 (0,463-1,15)	0,46 (0,29-1,2) <b>p:0,6</b>	1,03 (0,15-1,79) <b>p:0,446</b>	0,40 (0,12-1,8) <b>p:0,753</b>
	<b>5.0 V</b>	0,65 (0,29-1,2)	0,87806 (0,26-1,71) <b>p:0,465</b>	0,4954 (0,19-2,103) <b>p:0,225</b>	0,6271 (0,06-1,24) <b>p:0,715</b>
	<b>2.5 V</b>	0,5238 (0,17-1,43)	0,25 (0,15-1,51) <b>p:0,5</b>	1,17 (0,46-2,0) <b>p:0,068</b>	0,6 (0,46-1,21) <b>p:0,109</b>
<b>DIYABET</b>	<b>7.5 V</b>	0,415 (0,258-0,59)	0,80 (0,77-0,911) <b>p:0,028*</b>	0,60 (0,465-0,711) <b>p:0,018*</b>	0,63 (0,51-0,93) <b>p:0,028*</b>
	<b>5.0 V</b>	0,27 (0,24-0,42)	0,56 (0,32-0,61) <b>p:0,043*</b>	0,44 (0,32-0,63) <b>p:0,08</b>	0,45 (0,29-0,62) <b>p:0,068</b>
	<b>2.5 V</b>	0,175 (0,12-0,27)	0,34 (0,128-0,52) <b>p:0,273</b>	0,35 (0,22-0,54) <b>p:0,109</b>	0,337 (0,23-0,4) <b>p:0,068</b>

7.5, 5.0 ve 2.5 V şiddetinde sinir uyarılmasında, artan dozlarda CDP-kolin uygulamasının kontrol ve diyabet grubundaki ICP/MAP değerleri tablosu.

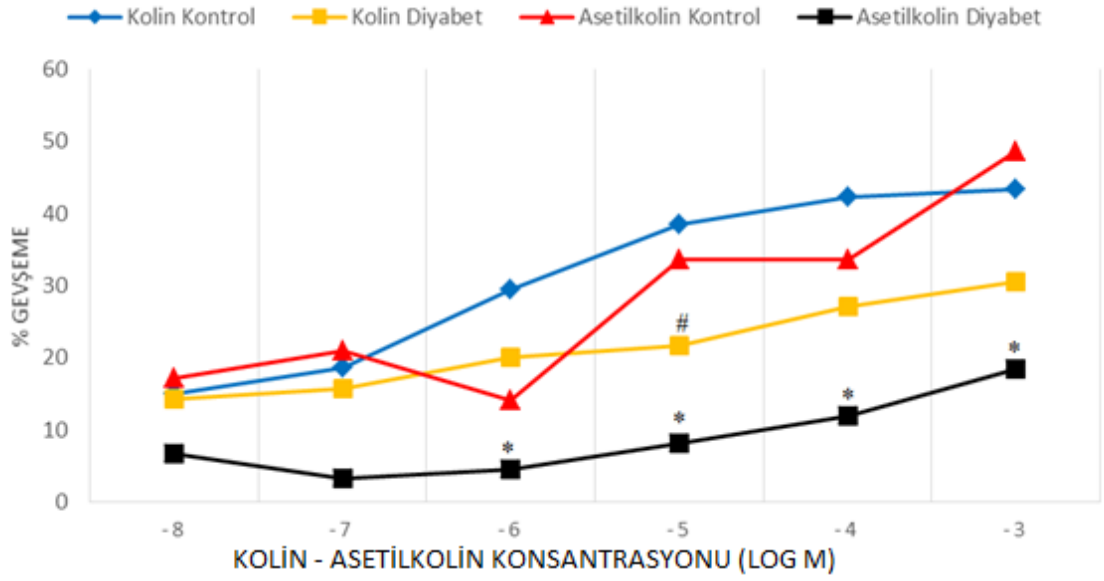
\**p* <0.05, bazal değerlerine göre

Sitidin uygulandığında, 7.5 V, 5.0 V ve 2.5 V şiddetindeki uyarılmalarda sitidinin verilen tüm dozlarında (200, 400 ve 600 µmol/kg) hem kontrol de hem de diyabet grubunda ICP (mmHg) ve ICP/MAP değerlerinde herhangi bir istatistiksel olarak anlamlılık görülmemiştir.

### 3.3. İn Vitro Çalışma Sonuçları

İn vivo çalışmaları takiben sakrifiye edilen sıçanların korpus kavernozum dokusu izole edilip, kavernoza dokü stripleri (1x1x9 mm), bir ucu elektrot tutucusuna diğer ucu da güçlü dönüştürücüye bağlı bir tele, 1 g dinlenme gerilimi altında bağlanmış şekilde 20 ml'lik organ banyosuna monte edilerek 60 dakika boyunca 37 °C'de dokular dengelenmeye bırakılmıştır. Akabinde fenilefrin ( $10^{-5}$ M) ile prekontraksiyonundan sonra, kolin, CDP-Kolin, sitidin ve asetilkolin  $10^{-8}$  -  $10^{-3}$ M dozlarında gevşeme yanıtları alınmıştır.

Fenilefrin ( $10^{-5}$ M) ile prekontraksiyonu takiben asetilkolin ile ( $10^{-8}$  -  $10^{-3}$ M) elde edilen gevşeme yanıtları kontrol ve diyabetik sıçanların dokularında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık göstermiş, bu konsantrasyonlarda asetilkolin diyabetik sıçanlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede daha az gevşeme daha az olmuştur (sırasıyla;  $p<0.03$   $p<0.01$ ,  $p<0.01$  ve  $p<0.003$ ) (şekil 3.17-19). Ayrıca, kolin uygulanan kontrol sıçanlarda diyabetik sıçanlar ile karşılaştırıldığında daha belirgin gevşeme yanıtlarına neden olmakla birlikte, istatistiksel anlamlılık sadece kolinin  $10^{-5}$  M konsantrasyonunda saptanmıştır ( $p<0.041$ ). Kontrol ve diyabetik sıçanlarda kolin, asetilkolin ile elde edilen gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak bir değişikliğe neden olmamıştır (şekil 3.17).

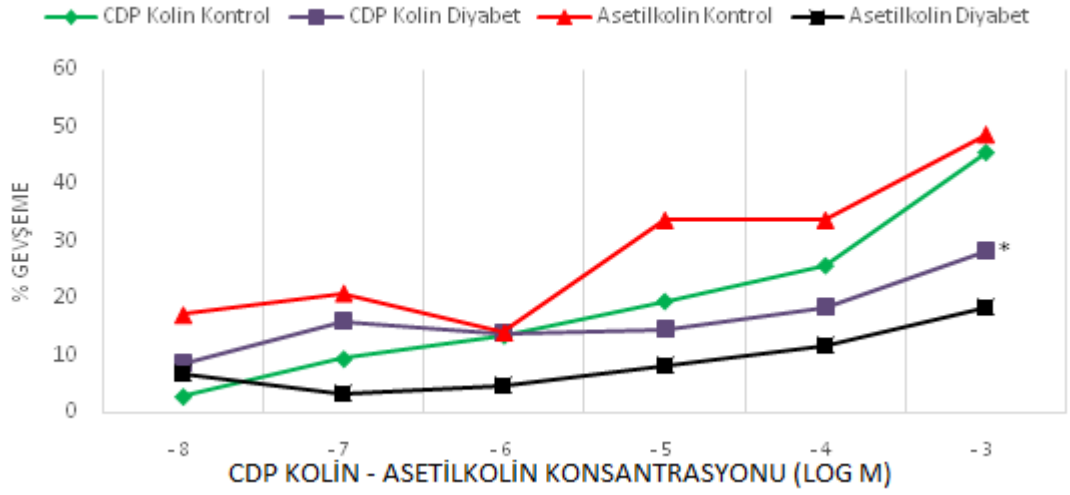


**Şekil 3.17.** Kontrol ve diyabetik gruplarından izole edilen korpus kavernosum düz kas dokusunun fenilefrin ile prekontraksiyonundan sonra kolin ve asetilkolin uygulamasına ilişkin % gevşeme yanıtları

\* $p < 0.05$ , asetilkolin uygulaması sonrası diyabetik sıçanlarda sağlıklı sıçanlara göre gevşeme yanıtı,

# $p < 0.05$ , kolin uygulaması sonrası diyabetik sıçanlarda sağlıklı sıçanlara göre gevşeme yanıtı.

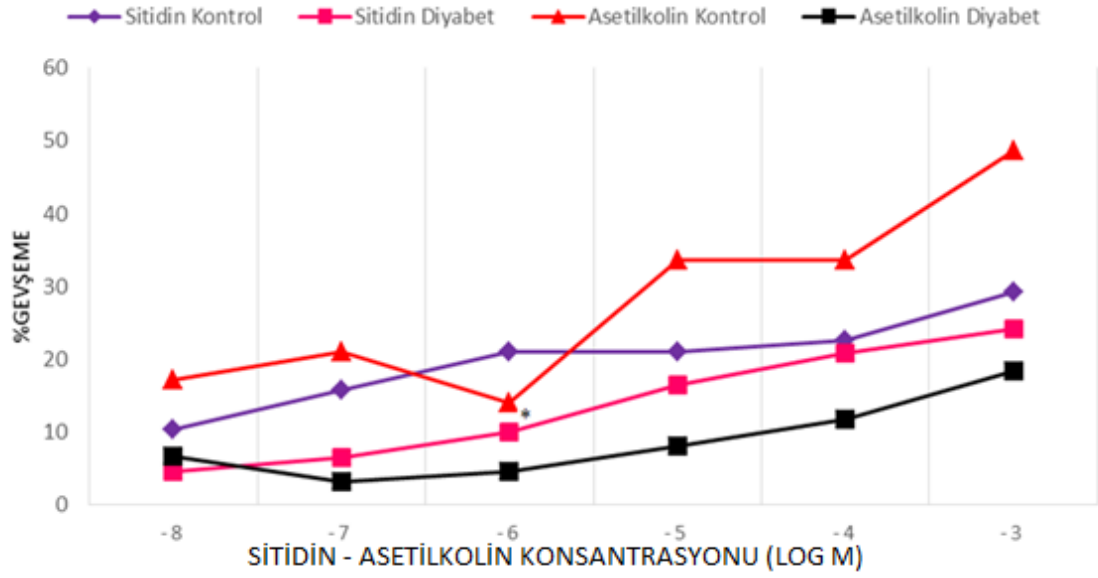
CDP-kolin verilen sıçanlarda, kontrol sıçanlar diyabetik sıçanlar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir değişikliğe neden olmamış, benzer şekilde kontrol sıçanlarda CDP-kolin, uygulanan tüm konsantrasyonlarda asetilkolin ile karşılaştırıldığında anlamlılık göstermezken, diyabetik sıçanlarda ise CDP-kolin ile sadece en yüksek konsantrasyonda ( $10^{-3}$  M) asetilkoline göre istatistiksel olarak anlamlı gevşeme yanıtı alınmıştır ( $p < 0.043$ ) (şekil 3.18).



**Şekil 3.18.** Kontrol ve diyabetik gruplarından izole edilen korpus kavernosum düz kas dokusunun fenilefrin ile prekontraksiyonundan sonra CDP-kolin ve asetilkolin uygulamasına ilişkin % gevşeme yanıtları

\* $p < 0.05$ , diyabetik sıçanlarda CDP-kolin uygulaması sonrası asetilkoline göre gevşeme yanıtı

Sıçanlara sitidin uygulandığında, kontrol sıçanlar diyabetik sıçanlar ile karşılaştırıldığında sadece  $10^{-6}$  M konsantrasyonda istatistiksel olarak bir değişikliğe neden olmuşken ( $p < 0.031$ ), kontrol sıçanlarda sitidinin tüm konsantrasyonları ile ve benzer şekilde diyabetik sıçanlarda sitidinin tüm konsantrasyonları ile asetilkolin gevşeme yanıtları arasında istatistiksel bir fark gözlemlenmemiştir (şekil 3.19).

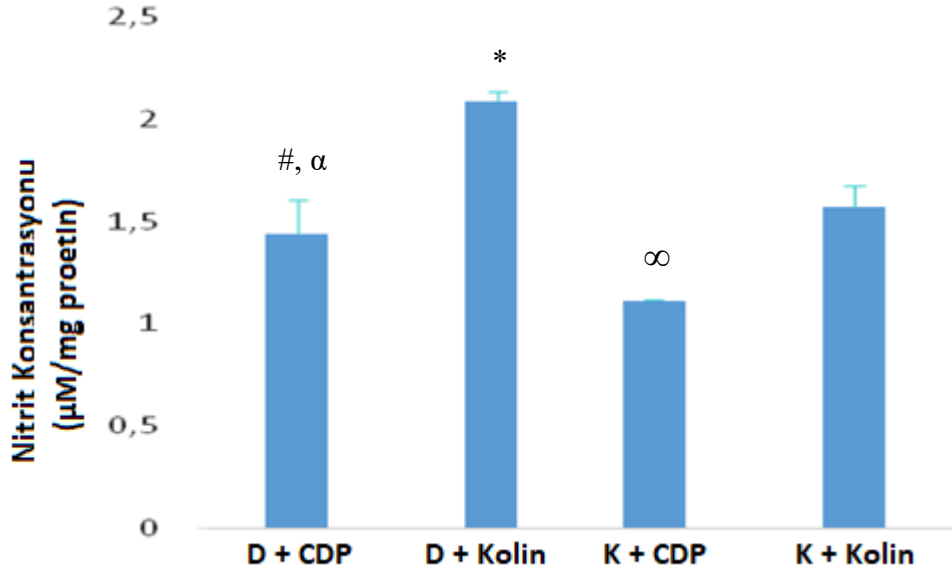


**Şekil 3.19.** Kontrol ve diyabetik gruplarından izole edilen korpus kavernosum düz kas dokusunun fenilefrin ile prekontraksiyonundan sonra sitidin ve asetilkolin uygulamasına ilişkin % gevşeme yanıtları.

\* $p < 0.05$ , sitidin uygulaması sonrası diyabetik sıçanlarda kontrol sıçanlara göre gevşeme yanıtı

### 3.4. Nitrit Tayini Sonuçları

Griess yöntemiyle ölçülen penil dokudaki nitrit düzeyleri, diyabetik sıçanlara CDP-kolin uygulanması nitrit düzeyleri, kontrol grubuna CDP-kolin uygulananlara kıyaslandığında diyabetik grupta istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ( $p < 0.01$ ). Diyabetik gruba verilen kolin, kontrol grubuna verilen kolinle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık taşımaktadır ( $p < 0.001$ ). Diyabetik gruba verilen kolinle diyabetik gruba verilen CDP-kolin karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür ( $p < 0.001$ ). Kontrol gruba verilen CDP-kolin, kontrol grubuna verilen kolinle kıyaslandığında, kolin verilen gruptaki nitrit miktarlarının daha fazla olduğu istatistiksel olarak anlamlı görülmüştür ( $p < 0.001$ ) (şekil 3.20).



Şekil 3.20. Kontrol ve diyabetik sıçanlarda Griess yöntemiyle nitrit/protein miktar tayini grafiği.

D; diyabet, K;kontrol

# p<0.01, diyabetik CDP-kolin, kontrol CDP-koline göre;

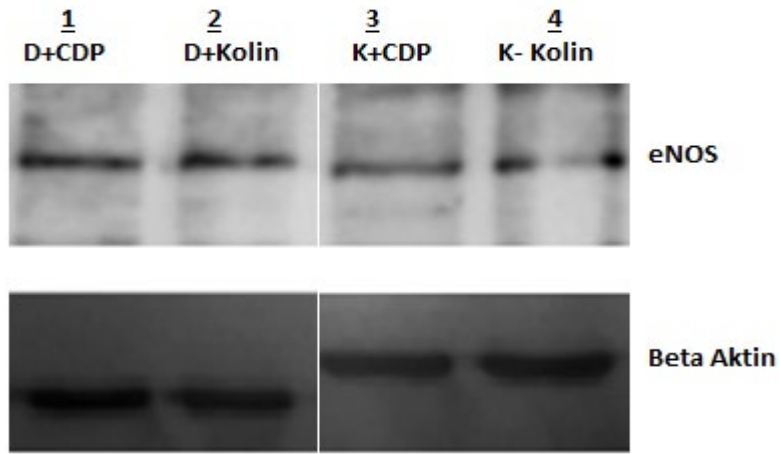
\*p<0.001, diyabetik kolin, kontrol koline göre;

<sup>a</sup>p<0.001, diyabetik CDP-kolin, diyabetik koline göre

<sup>∞</sup>p<0,001, kontrol CDP-kolin, kontrol kolin göre karşılaştırıldığında.

### 3.5. Western Blot Analizine Göre eNOS Sonuçları

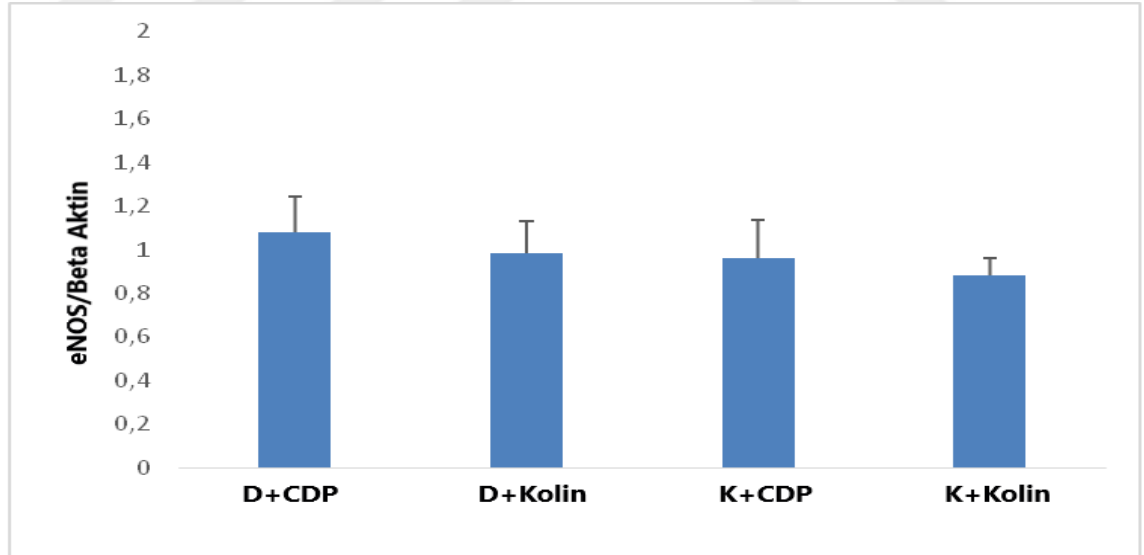
Kontrol ve diyabetik sıçanlardan alınan penis dokularından Western Blot yöntemi ile eNOS miktarı tayin yapılmıştır (şekil 3.21). Diyabet, kontrol sıçanlara göre penil doku eNOS değerlerini anlamlı derecede değiştirmemiştir ( $p<0.208$ ). Diyabetik sıçanlara CDP-kolin ve kolin uygulanması ile kontrol grubuna CDP-kolin ve kolin verilen gruplar kıyaslandığında, eNOS değerleri istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. Benzer şekilde, gruplar kendi içerisinde kıyaslandığında kontrol sıçanlarda da, diyabetik sıçanlarda da CDP-kolin ve kolin, eNOS değerlerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (şekil 3.22).



**Şekil 3.21.** Kontrol ve diyabetik sıçanlardan alınan penis dokuları kullanılarak western blot yöntemiyle elde edilen eNOS'a ilişkin bantlar.

- 1 CDP-kolin veilen diyabetik sıçanlara ait bantlar
- 2 Kolin verilen diyabetik sıçanlara ait bantlar
- 3 CDP-kolin verilen kontrollere ait bantlar
- 4 Kolin verilen kontrollere ait bantlar

Dansitometrik analizine göre eNOS ve  $\beta$ -aktin'e ait grafik şekil 3.22' de verilmiştir.



**Şekil 3.22.** Kontrol ve diyabetik sıçanların penis dokularına ait eNOS/Beta aktin protein miktarları grafiği. D; diyabet, K; kontrol

## 4. TARTIŞMA

Kolin, nörotransmitter asetilkolin'in ön maddesidir (Clark ve ark., 1997). Yapılan çalışmalar, kolin düzeylerinin artırılmasının asetilkolin salınmasını ve beyin asetilkolin düzeylerini artırdığını (D'Orlando ve Sandage Bw, 1995; Warach ve ark., 2000), buna bağlı olarak da kolinerjik iletide artışa yol açtığını (Dixon ve ark., 1997) ve buna uyan fonksiyonel değişiklikler ortaya çıkardığını göstermektedir (Baskaya ve ark., 2000; Leon-Carrion ve ark., 2000). CDP-kolin vücudumuzda doğal olarak meydana gelen nükleotid yapısında bir bileşiktir (Agut ve Ortiz, 1991). Bu bilgilere bağlı olarak CDP-kolin ve kolin, kolinerjik iletide değişikliklere yol açabilmektedir. Kolinerjik sistemin ereksiyon fizyolojisinde (Maire ve Wutman, 1985) oldukça önemli bir rol oynadığı ve kolinerjik sistem ile ereksiyon fizyolojisi arasındaki ilişkide nitrik oksid sentezinin aracılığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Koshimura ve ark., 1990). Bu doğrultuda sağlıklı ve diyabetik sıçanların sağ ve sol kavernoöz sinirlerine (ereksiyona neden olan sinirsel lifleri) yüksek (7.5 V) şiddette elektriksel uyarı ile ereksiyona neden olan bütün sinirleri, orta (5.0 V) ve düşük (2.5 V) şiddetle ereksiyonda rol oynaması muhtemel daha yüzeysel bazı sinir liflerini elektriksel olarak uyararak kavernoöz içi basıncını ölçerek CDP-kolinin ve metabolitlerinin etkisini araştırdık.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular, sağlıklı deney sıçanlarında intrakavernoöz yolla, değişen dozlarda kolin uygulamasının kavernoöz sinirin farklı şiddetlerde uyarılması sonrası, ICP değerlerinde azalmaya neden olduğunu göstermektedir. ICP değerlerinde saptanan bu düşüş, yüksek şiddetteki (7.5 V) uyarılmada bazal değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlılık taşımaktadır (kolin 100 µmol/kg için). Ancak orta şiddetteki (5.0 V) ve düşük şiddetteki (2.5 V) kavernoöz sinir uyarılmalarında bu anlamlılık kaybolmaktadır. Kolin uygulaması sonrası ICP/MAP değerlerinde de benzer bir durum saptanmış, 7.5 V ile uyarılmada bazal değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş gözlenmiştir. İn vitro deneylerde ise kavernoöz dokunun fenilefrinle kasılmasını takiben, kolinin uygulanan tüm konsantrasyonlarında ( $10^{-8}$ – $10^{-3}$  M) asetilkolin ile sağlanan gevşeme yanıtları

karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir. Bununla birlikte asetilkolin ile benzer (artan konsantrasyonla orantılı ve asetilkolin ile istatistiksel bir fark olmadan) bir gevşeme modeli gösterdiği saptanmıştır. Daha önce yapılan bir çok çalışma, kolin uygulanmasının kolinerjik nöronlardan asetilkolin sentezini ve salınmasını ortaya koymuştur (Koppen ve ark., 1997; Marshall ve Wurtman 1993; Buyukuysal ve ark., 1995; Koshimura ve ark., 1990). Dolayısıyla bu bilgilerin ışığında, kolinin lokal olarak asetilkolin sentezi ve doku düzeyini artırarak bir gevşeme yanıtına yol açtığı düşünülebilir. Bunun yanında, in vivo ve in vitro çalışmaların sonuçlarını birlikte değerlendirildiğinde, kolin uygulanmasının sağlıklı sıçanlarda kavernoöz sinir uyarılması sonrası ICP ve ICP/MAP değerlerinin düşmesine ise başka nöronal mekanizmaların aracılık ettiği düşünülmektedir. Tavşan ve köpeklerde intrakavernoöz asetilkolin enjeksiyonu çeşitli derecelerde ereksiyona yol açmış (Sjöstrand ve Klinge, 1979; Valji Ve Bookstein, 1987), ek olarak maymunlarda intrakavernoöz yolla uygulanan asetilkolin de çeşitli dozlarda verildiğinde doza bağımlı şekilde intrakavernoöz basınçlarda artışa, penil tümesansa ve pudendal arterde kan akımında artışa yol açmıştır (Stief ve ark., 1989). Geçmişte yapılan in vitro çalışmalar incelendiğinde, asetilkolinin veya muskarinik reseptör agonistlerinin kavernoöz doku düz kaslarında gevşeme yaptığını gösteren bulgular olduğu gibi (Carati ve ark 1987; Hedlund ve Andersson, 1985), hiç bir etki yapmadığını veya çok belirgin olmayan kasılma cevapları oluşturduğu (Benson ve ark., 1980) veya tam tersine kasılma cevapları oluşturduğu da görülmektedir (Klinge ve Sjöstrand, 1977). Bütün bunlar birlikte düşünüldüğünde, asetilkolinin ön maddesi olarak nitelendirilebileceğimiz kolinin, sağlıklı sıçanlarda intrakavernoöz yolla uygulanması sonrası düşen ICP/MAP ve/veya ICP değerleri, bu açıdan intrakavernoöz asetilkolin enjeksiyonu ile elde edilen daha önceki verilerle tam uyum göstermemektedir. Dolayısıyla kolin enjeksiyonu sonrası ortaya çıkan ICP/MAP ve/veya ICP değerlerindeki azalmanın, kolinin kavernoöz dokuda muhtemel bir asetilkolin konsantrasyonu artışına bağlı olmadığı, daha çok ereksiyonu azaltmaya yönelik çalışan başka mekanizmalar üzerinde direkt olarak veya noradrenerjik sistem gibi başka nöronal veya nörovasküler sistemleri etkileyerek indirekt olarak ortaya çıktığı düşünülebilir. Bu olası nöronal mekanizmaların, kolin uygulaması sonrası dokuda artması muhtemel asetilkolin düzeylerinin neden olabileceği gevşeme yanıtlarına

baskın gelerek, toplamda zıt yönde ICP ve ICP/MAP düzeylerinde azalma yanıtına neden olması muhtemeldir. Kavernoöz sinir uçlarında kolini nöron içine alarak, takiben asetilkolin sentezine yönlendiren vesiküler kolini taşıyıcılarının (VACHT, vesicular acetylcholine transporter) varlığı gösterilmiş olsa da (Hedlund ve ark., 1999), çalışmamızda uygulamış olduğumuz kolini dozları sonrası kavernoöz dokuda asetilkolin salınmasında ve konsantrasyonunda ne gibi değişiklikler yaptığı bilinmemektedir.

Bununla birlikte, kolinin bazı konsantrasyonlarında, kolinerjik, muskarinik ve nikotinik reseptörler üzerinde direkt etki gösterdiği yapılan bazı çalışmalar ile gösterilmiştir (Speth ve Yamamura, 1979; Ulus ve ark., 1988; Papke ve ark., 1996; Alkondon ve ark., 1997). Kolini uygulanan konsantrasyonlarda nikotinik reseptörler aracılığı ile noradrenalin çıkışında artışa yol açması ve salınan noradrenalinin de kavernoöz düz kaslarda kontraksiyona bağlı kavernoöz içi basınç değerlerinde azalmaya neden olabileceğinin olası mekanizmalar arasında olduğunu düşünülmektedir. Diğer taraftan kolini uygulanması sonrası sempatoadrenal sistem aracılığı ile plazma noradrenalin düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir (Cansev ve ark., 2008). Kolini bu direkt etkisine ek olarak, kolini uygulaması sonrası ortaya çıkması muhtemel sistemik kardiyovasküler ve/veya lokal kan akımı değişikliklerine bağlı olarak reflex noradrenerjik aktivasyonun da elde ettiğimiz sonuçlarda rol oynaması olasıdır. Çünkü sistemik yolla kolini uygulanması sonrası sıçanlarda kan basıncında ve kalp hızında azalma daha önce yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Cansev ve ark. 2008). Stief ve ark. (1989)' da çalışmalarında intrakavernoöz asetilkolin sonrası ortaya çıkan üç fazlı etkide, başta ve sondaki penil tenses fazları arasındaki penil kontraksiyonu noradrenerjik sistemdeki reflex artışa bağlamışlardır (Starke, 1977; Stief ve ark., 1989). Ek olarak, belli konsantrasyonlarda nikotinik reseptör agonisti gibi davranabilen kolini (Alkondon ve ark., 1997) yukarıdaki etkisinde direkt nikotinik reseptörlerin aracılığı da olası bir mekanizmadır. Nikotin uygulanması izole penil arterlerinde, izole penil venleri ve korpus kavernosum dokularının bir çoğunda hexamethonyum ve prazosin ile bloke olabilen kasılma cevapları oluşturmuştur (Hayasida ve ark., 1996). Nikotinin, penis venöz damarlarda oklüzyonu engelleyerek veya arterial kan akımını azaltarak, bunlara ek olarak da kavernoöz düz kas gevşemesini engelleyerek ereksiyonu azaltabildiği gösterilmiştir (Junemann ve ark., 1991, Rosen

ve ark., 1991). Benzer şekilde nikotin infüzyonu hamsterlarda asetilkolin ile indüklenen arteriolar gevşemeyi engellemiş (Toda ve Toda, 2010) ve asetilkolin ile uyarılan NO çıkışını da bozmuştur (Toda ve Toda, 2010). Bu durumda, kolinin sağlıklı sıçanlarda intrakavernöz basınç değerlerini düşürmesi, mekanizmanın nöronal yollar aracılığı ile gerçekleştiğini ve bu etkide de kolinin direkt veya indirekt yolla yaptığı vazodilatör değişikliklerin de katkısı olabileceğini düşünülmektedir.

Çalışmamızın bir diğer bulgusu ise CDP-kolinin yıkım ürünlerinden biri olan kolin, sağlıklı sıçanlarda ICP ve ICP/MAP değerlerini düşürürken, CDP-kolinin 200, 400 ve 600 µmol konsantrasyonlarda uygulanması durumunda bir düşüş gözlenmemiştir. İn vitro çalışmamızda da kolin ile aynı konsantrasyonlarda CDP-kolin uygulanması asetilkolin ile elde edilen gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Bununla birlikte, CDP-kolinin artan konsantrasyonlarına paralel artan bir gevşeme yanıtı izlenmiştir. Bu açıdan CDP-kolin ile elde edilen gevşeme yanıtları bir miktar asetilkolin ile elde edilen gevşeme yanıtlarına benzerlik göstermektedir. Buradan yola çıkılarak, CDP-kolin'in kolin metaboliti üzerinden penil dokuda asetilkolin sentez ve salınmasını artırarak bu gevşeme yanıtlarını oluşturması muhtemeldir. Yapılan çalışmalarda, intravenöz (Savci ve ark., 2003) ve intraserebroventriküler (Savci ve ark., 2002) yolla verilen CDP-kolinin beyinde kolin düzeylerini artırabildiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, koline benzer şekilde sistemik yolla CDP-kolin uygulanması sonrası, beyinde asetilkolin düzeylerinde artışın olduğu vurgulanmıştır (Dixon ve ark., 1997). Ancak in vivo deneylerde CDP-kolin, sağlıklı sıçanlarda ereksiyon fizyolojisinde belirgin bir değişikliğe yol açmamış görünmektedir. CDP-kolin metabolizması sonrası sadece kolin değil kolin ile beraber başka metabolitlerinde ortaya çıktığı belirtilmektedir (Hamurtekin, 2007). Aynı zamanda bu metabolitlerin birbirinden çok farklı hatta zıt farmakolojik etkileri olabildiği gösterilmiştir. Örnek olarak, kolin intraperitoneal yolla verildiğinde deney sıçanlarında kan basıncını düşürürken, CDP-kolin ve CDP-kolin'in diğer bir metaboliti olan fosfokolin kan basıncında tam tersine artışa neden olmaktadır (Cansev ve ark., 2008). CDP-kolinin bir metaboliti olan sitidin sıçanlarda zorlu yüzme testinde antidepresan etki ortaya çıkarırken, kolin ise aksine depresyon yapıcı bir etki meydana getirdiği, CDP-kolinde ise belirgin bir etki gözlemlenmediği belirtilmektedir

(Carlezon ve ark., 2002). CDP-kolinin intrakavernöz yolla verilmesi sonrası kavernöz basınçlardaki birbirine zıt yönde etki eden çeşitli metabolitlerden kaynaklanabilir. Nitrit/protein miktarlarına bakıldığında sağlık sıçanlarda hem CDP-kolin, hem de kolin sonrası nitrit miktarlarında artış olduğu görülmüştür. CDP-kolin ve kolin, her ikisinde NO çıkışında artışa sebep olmalarına rağmen, sağlıklı sıçanlarda kolin uygulamasının ICP ve ICP/MAP değerlerini düşürmesi, CDP-kolinin ise anlamlı bir değişikliğe yol açmaması, CDP-kolin ve kolinin, özellikle kolinin tetiklediği korpus kavernozumunu kasıcı nöronal mekanizmaların, NO'ın kavernöz basıncı artırıcı etkisinin üzerine çıkarak onu baskıladığı düşünülebilir

Çalışmamızın diğer bir bulgusu ise, intrakavernöz yolla kolin ve CDP-kolin uygulanmasının diyabetik sıçanlarda erektil disfonksiyon üzerinde düzeltici etki göstermiş olmasıdır. Öncelikle diyabetik sıçanlarda, sağlıklı sıçanlara kıyasla kavernöz içi basınçlar anlamlı derecede daha düşük saptanmıştır. Bu bulgularımız, diyabetin kendisinin ICP ve/veya ICP/MAP değerlerinde azalmaya neden olduğunu gösteren önceki çalışmalar ile uyum göstermektedir (Yılmaz-Oral ve ark 2017; Bai ve An, 2015; Wang ve ark., 2015). Diyabetik hastalarda erektil disfonksiyon sağlıklı bireylere nazaran daha sık görülmesinin nedeni (Li ve ark., 2016) nöropati, oksidatif stres, endotel disfonksiyonu ve buna bağlı endotel hücre içi sinyal hasarları, düz kas gevşemesinde bozulma ve de özellikle NO sentezinde azalma diyabete bağlı artan erektil disfonksiyon riskinde rol oynamasıdır. (Cellek ve ark., 2013; Castela ve Costa, 2016). Çalışmamızın sonuçları, diyabetik sıçanlarda kolinin ve CDP-kolinin intrakavernöz yolla uygulanması sonrası diyabete bağlı düşen ICP ve ICP/MAP değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede artışa yol açtığını, dolayısıyla erektil disfonksiyonu düzeltme yönünde çalıştığını göstermektedir. Bununla birlikte, in vitro organ banyosunda diyabetik sıçanlarda kolinin asetilkolin ile ortaya çıkan gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik yapmadığı, CDP-kolinin ise sadece uygulanan en yüksek molar konsantrasyonda ( $10^{-3}$  M) asetilkolin ile ortaya çıkan gevşemede anlamlı bir artışa neden olduğu saptanmıştır. Ancak, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, asetilkolin ile alınan yanıtlar ile karşılaştırıldığında diyabetik sıçanlarda hem kolin hem de CDP-kolin uygulamasının sağlıklı sıçanlarda gözlenenenden biraz daha fazla gevşeme yanıtları oluşturduğu ve bu yanıtların yine

sağlıklı sıçanlardaki gibi artan konsantrasyonla artış göstererek asetilkolin ile alınan yanıtta paralellik gösterdiği söylenebilir. Dolayısıyla, hem kolin hem de CDP-kolinin in vitro çalışmalarda diyabetik sıçanlarda oluşturduğu etki, sağlıklı sıçanlardakine benzer şekilde ve yine lokal asetilkolin düzeylerinde artışa veya direkt kolinerjik reseptörler üzerindeki olası etkisi üzerinden açıklanabilir. Diyabete bağlı erektil disfonksiyonda asetilkolin aracılı kavernoöz gevşemenin azaldığı bilinmektedir (Nunes ve ark., 2011, Ohmasa ve ark., 2011). İn vivo sonuçlar ile organ banyosu sonuçları arasındaki bu farklılık bize kolin ve CDP-kolin'in diyabetik sıçanlarda ortaya çıkan erektil disfonksiyonu düzeltici etkisinde (ICP ve ICP/MAP düzeylerindeki artış) lokal etkilerden daha çok nörovasküler mekanizmaların aracılık ettiğini göstermektedir. Kavernoöz sinir 7.5 V şiddetinde uyarıldığında bu etki belirgin iken daha düşük şiddetteki uyarılmalarda etkinin kaybolması, nöronal mekanizmaların aracılık ettiğine işaret göstermektedir. Diyabet ile ortaya çıkan nöropatik hasar da diyabete bağlı gelişen erektil disfonksiyonda önemli bir aracı olarak kabul edilmektedir (Costabile, 2003). CDP-kolin'in nöroprotektif etkileri uzun süreden beri çalışılmakta ve bilinmektedir (Hurtado ve ark., 2011). Ancak CDP-kolinin ve metaboliti olan kolinin çalışmamızda uygulandığı şekilde tek dozda veya kısa sürede diyabete bağlı gelişen nöropatiyi düzelterek kavernoöz içi basınçlarda artışa yol açması pek muhtemel görünmemektedir. CDP-kolin'in nöron koruyucu veya tamir edici etkileri, ilaç kronik olarak uygulandığında (Kamei ve ark., 2008) veya uzun sürede (Aslan ve ark., 2011; Caner ve ark., 2012) gözlemlenmiştir. CDP-kolin ve metabolitlerinin sistemik yolla kronik olarak uygulanması sonrası ereksiyon fizyolojisindeki olası değişikliklerin ve bu değişikliklerde rol oynaması muhtemel aracı mekanizmaların incelenmesi daha sonra yapılacak çalışmalarda planlanmıştır.

Ereksiyon fizyolojisinde nitrik oksit çok önemli bir yer tutar. Seksüel uyarı sırasında nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) aktivasyonunun aracılık ettiği nöronal nitrik oksit oluşumu ile ortaya çıkar. Bu da komşu kavernoöz düz kaslarda hücre içi cGMP düzeylerinde artışa neden olarak düz kas gevşemesine ve buna bağlı olarak ereksiyona neden olur (Burnet ve ark., 1992; Hedlund ve ark., 2000; Andersson, 2001; Castela ve Costa, 2016). Artan kan akımı sonrası uyarılan endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) da endotel kaynaklı NO miktarında artışa neden olarak benzer moleküler

mekanizmalar ile kavernöz dokuda düz kas gevşemesi ortaya çıkar (Castela ve Costa, 2016; Hurt ve ark., 2002). Diyabetik erektil disfonksiyon patofizyolojisinde nöropati ve endotelial disfonksiyon gibi çeşitli nedenlerden dolayı endotelial NO ve nöronal NO biyoyararlanımında azalma önemli bir yer tutmaktadır (Thorve ve ark., 2011; Celtek ve ark., 2013; Castela ve Costa, 2016). Çalışmamızda diyabetik sıçanlarda kolin uygulanması sonrası, nitrit/protein miktarlarındaki artış dokuda NO düzeylerindeki artışa işaret etmektedir. NO metabolitleri olan nitrit ve nitrat moleküllerinin doku tayinleri doku NO düzeyleri için bir gösterge olarak kabul edilir (Zhang ve ark., 2011). Çalışmamızın diğerk bir bulgusu CDP-kolin ve kolin moleküllerinden hiçbirinin eNOS miktarlarında anlamlı bir değışikliğe neden olmadığıdır. Dolayısıyla dokuda artan NO miktarının endotelial NO'dan çok nöronal kaynaklı olduğunu düşündürmektedir. Daha önceki çalışmalar kolin uygulanmasının muskarinik reseptörler aracılığı ile nNOS miktarının artırdığını göstermiştir (Carriere ve El-Fakahany, 2000). Bütün bu bulgular birlikte düşünöldüğünde, CDP-kolin'in bir metaboliti olan kolin'in muhtemelen nNOS aktivasyonu aracığı ile diyabete bağılı azalan doku NO düzeylerini yükselterek, diyabete bağılı gelişen erektil disfonksiyonda düzelmeye neden olması muhtemeldir.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızın sonuçları göstermektedir ki, intrakavernöz yolla enjekte edilen kolin ve CDP-kolin, diyabete bağlı olarak düşmüş ICP ve ICP/MAP değerlerinde anlamlı artışa neden olmaktadır. Bu düzeltici etkinin lokal ve direkt bir etkiden çok, ereksiyonda rol oynayan nöronal mekanizmalarla, asetilkolin aracılığı ile ya da direkt olarak nöronal NO miktarını artırarak gerçekleştirilmesi muhtemeldir. Bu çalışma ile CDP-kolin ve önemli bir metaboliti olan kolinin intrakavernöz yolla uygulanmasının sağlıklı ve diyabetik sıçanlarda çok karmaşık olan ereksiyon fizyolojisindeki etkilerinin incelenmesi temel amaç olarak planlanmış, bu etkilere aracılık eden mekanizmaların ilerde çeşitli reseptör antagonistleri kullanılarak, doku kolin ve asetilkolin tayinleri yapılarak, diğer moleküler biyokimyasal çalışmalarda da net olarak ortaya konulması planlanmıştır. Ayrıca, CDP-kolin ve metabolitleri, diyabetik sıçanlar ile sağlıklı sıçanlara sistemik ve intrakavernöz yolla kronik olarak uygulanarak, bu nöron koruyucu moleküllerin sistemik ve kronik uygulama sonrası etkilerinin araştırılması ilerde yapılması planlanan çalışmalar arasındadır.

## ÖZET

### **Streptozotosin İle İndüklenen Diyabetik Sıçanlarda Gelişen Erektıl Disfonksiyon Üzerine CDP-Kolin Ve Metabolitleri İle Yapılan Tedavinin Olası Etkisi**

Diyabete bağlı gelişen ED’de nöropati önemli role sahip olup, sinir liflerinin ve endotel yapısının bozulmasına bağlı olarak ereksiyon gerçekleştirilememektedir. Öte yandan, kolin uygulamasının sıçanlarda sinir hasarına bağlı gelişen bazı nörofizyolojik fonksiyonları düzelttiği gözlemlenmiştir. Ayrıca CDP-kolin, serebral iskemi, travmatik beyin hasarı ve bellek fonksiyonları üzerindeki yararlı etkileri kanıtlanmış bir molekül olup metabolitleri olan kolin ve sitidin de sinir sistemi üzerine önemli etkilere sahiptir. Günümüze kadar yapılan çalışmalardışıarıdan verilen CDP-kolin ve metabolitleri olan kolinin ve sitidinin, ED üzerindeki etkilerini araştırmaçalışmaların yeterli olmadığıısaptanmıştır. Bu ön bulgular ışığında çalışmamızda, diyabetik sıçanlardaCDP-kolin ve yıkım ürünleri olan kolin, sitidin tedavisinin ED üzerindeki etkilerini araştırdık. Bu amaçla, çalışmamızda streptozotosin (50 mg/kg) enjekte ederekdiyabet oluşturduğumuzsıçanlara ve sağlıklı sıçanlara CDP-kolin ve metabolitleri olan kolin, sitidin belli konsantrasyonlarda akut olarak kavenöz dokuya enjekte edildikten sonra in vivo ICP, ICP/MAP değerleri alınmıştır. Verilen CDP-kolinin ve kolinin düşük doz konsantrasyonlarda diyabetik sıçanlarda düzeltici etkisi gözlenirken sitidine ait düzeltici bir etki görülmemiştir. İn vitro çalışmalarda ise organ banyosuna asılan korpus kavernozum dokusunun fenilefrinle kasılmasını takiben CDP-kolin ve metabolitlerine ait gevşeme yanıtları, asetilkolinle yapılan gevşemeye göre istatistiksel olarak anlamlılık sağlamamıştır. Biyokimyasal olarak yaptığımız penis dokudaki nitrit miktar tayininde ise CDP-kolin ve metabolitlerine ait nitrit miktarını artırdığı istatistiksel olarak anlamlı çıkmış olmasına rağmen artan nitrit düzeylerinde eNOS’un rolünün belirgin olmadığı gözlemlenmiştir.

Çalışmamızdaki bulgulara dayanarak CDP-kolinin ve metaboliti olan kolinin ED üzerine düzeltici etkisini tespit etmiş bulunmaktayız. Ancak bunu hangi mekanizma ile yaptığını anlayabilmek için ileriki dönem çalışmalarımızda, farmakolojik antagonist çalışmalar ve diğer moleküler biyokimyasal çalışmalarla daha net birşekilde ortaya konması planlanmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** CDP-Kolin, Erektıl Disfonksiyon, Kolin

## SUMMARY

### **Possible Effect of Treatment with Cdp-Choline and Metabolites on Erectile Dysfunction Developed in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats**

Diabetes-induced neuropathy plays an important role in ED and sufficient erection can't be supported due to the impairment in nerve fibers and endothelial structure. It has been observed that choline administration can ameliorate the neurophysiological functions due to nerve injury. Additionally, beneficial effects of CDP-choline have been proven in cerebral ischemia, traumatic brain injury and learning-memory functions and its metabolites choline and cytidine, shows important effects on nervous system. To our knowledge, the studies searching for the effects of exogenously administered CDP-choline and choline on erectile dysfunction are not sufficient. In the light of these previous data, we have searched the effects of CDP-choline and its metabolites choline and cytidine on ED in diabetic rats. For this purpose, we recorded the ICP and ICP/MAP values following the acute intracavernosal injection of different doses of CDP-choline, choline and cytidine to healthy and diabetic rats induced by streptozotocin (50 mg/kg) injection. Ameliorating effect of CDP-choline and choline in low concentrations in diabetic rats has been observed; however cytidine did not show any effect. Relaxation responses of corpus cavernosum tissues following the contractions with phenylephrine in organ bath to CDP-choline and its metabolites were not statistically significant when compared with the acetylcholine-induced relaxation responses in in-vitro studies. Although the increase in nitrite levels with CDP-choline and its metabolites were statistically significant in biochemical nitrite assays performed in penile tissues; role of eNOS in the increase of nitrite levels were not prominent.

Based on the findings of our study, we have found the CDP-choline and metabolically correcting effect on the ED, but in the future, our work will be clarified with pharmacological antagonist studies and other molecular biochemical studies in order to understand the mechanism by which it works.

**Keywords:** CDP-Choline, Choline, Erectile Dysfunction

## KAYNAKLAR

- ADIBHATLA RM, HATCHER JF (2002). Citicoline mechanisms and clinical efficacy in cerebral ischemia. *J Neurosci Res.*, **70**(2):133-9
- ADIBHATLA RM, HATCHER JF (2003). Citicoline decreases phospholipase A2 stimulation and hydroxyl radical generation in transient cerebral ischemia. *J Neurosci Res.*, **73**(3):308-15
- ADIBHATLA RM, HATCHER JF, DEMPSEY RJ (2004). Cytidine-5'- diphosphocholine affects CTP-phosphocholine cytidyltransferase and lyso-phosphatidylcholine after transient brain ischemia. *J Neurosci Res.*, **76**(3):390-6
- ADIBHATLA RM, HATCHER JF, LARSEN EC, CHEN X, SUN D, TSAO FH (2006). CDP-choline significantly restores phosphatidylcholine levels by differentially affecting phospholipase A2 and CTP: phosphocholine cytidyltransferase after stroke. *J Biol Chem.*, **281**(10):6718-25
- AGABA PA, OCHEKE AN, AKANBI MO, GIMBA ZM, UKEAGBU J, MALLUM BD, AGABA EI (2017). Sexual Functioning and Health-related Quality of Life in Men. *Niger Med J.* **58**(3):96-100.
- AGARWAL P, LOH SK, LIM SB, SRIRAM B, DANIEL ML, YEO SH, HENG D (2005). Two-year neurodevelopmental outcome in children conceived by intracytoplasmic sperm injection: prospective cohort study. **112**(10):1376-83
- AGNOLI A, RUGGIERI S, DENARO A, BRUNO G (1982). New strategies in the management of Parkinson's disease: a biological approach using a phospholipid precursor (CDP-choline). *Neuropsychobiology*, **8**(6):289- 96
- AGUT J, ORTIZ JA (1991). Age-related changes in memory and their pharmacologic modulation. *Ann N Y Acad Sci.*, **640**:295-7
- AKTAN F (2004). iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sci.* **25**;75(6):639-53.
- ALLEN DD, LOCKMAN PR (2003). The blood-brain barrier choline transporter as a brain drug delivery vector. *Life Sci.*, **73**(13):1609-15.
- ALKONDON M, PEREIRA EF, CORTES WS, MAELICKE A (1997). Albuquerque EX. Choline is a selective agonist of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors in the rat brain neurons. *Eur J Neurosci.* **9**(12):2734-42.
- ALVAREZ XA, MOUZO R, PICHEL V, PEREZ P, LAREDO M, FERNANDEZ-NOVOA L, CORZO L, ZAS R, ALCARAZ M, SECADES JJ, LOZANO R, CACABELOS R (1999). Double-blind placebo-controlled study with citicoline in APOE genotyped Alzheimer's disease patients. Effects on cognitive performance, brain bioelectrical activity and cerebral perfusion. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.*, **21**(9):633-44

- AMENTA F, PARNETTIL, GALLAI V, WALLIN A (2001). Treatment of cognitive dysfunction associated with Alzheimer's disease with cholinergic precursors. Ineffective treatments or inappropriate approaches? *Mech Ageing Dev.*, **122**(16):2025-40
- ANAFARTA K. (2000). Penil ereksiyon ve empotans: *Klinik Andrology*, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 337-373.
- ANDERSSON KE, STIEF CG (1997). Neurotransmission and the contraction and relaxation of penile erectile tissues. *World J Urol.* **15**(1):14-20.
- ANDERSSON KE, HEDLUND P, ALM P (2000). Sympathetic pathways and adrenergic innervation of the penis. *Int J Impot Res.* 12 Suppl **1**:S5-12.
- ANDERSSON KE (2001)a. Pharmacology of erectile function and dysfunction. *Urol Clin North Am.* **28**(2):233-47
- ANDERSSON KE (2001)b. Pharmacology of Penile Erection. *Pharmacol Rev* **53**:417-450.
- ANDERSSON KE (2001)c. Neurophysiology/pharmacology of erection. *Int J Impot Res.* 13 Suppl **3**:S8-S17.
- ANDERSSON DP, EKSTROM U, LEHTIHET M (2015). Rigiscan Evaluation of Men with Diabetes Mellitus and Erectile Dysfunction and Correlation with Diabetes Duration, Age, BMI, Lipids and HbA1c. *PLoS One.* **17**;10(7)
- ARAMI KM, JAMEIE B, MOOSAVI SA (2017). Neuronal nitric oxide synthase.
- ARRIGONI E, AVERET N, COHADON F (1987). Effects of CDP-choline on phospholipase A2 and cholinephosphotransferase activities following a cryogenic brain injury in the rabbit. *Biochem Pharmacol.*, **36**(21):3697- 700
- ARSLAN BY, ULUS IH, SAVCI V, KIRAN BK (1991). Effects of intracerebroventricular injected choline on cardiovascular functions and sympathoadrenal activity. *J Cardiovasc Pharmacol.*, **17**(5):814-21
- ASLAN E, KOCAELI H, BEKAR A, TOLUNAY S, ULUS IH (2011). CDP-choline and its endogenous metabolites, cytidine and choline, promote the nerve regeneration and improve the functional recovery of injured rat sciatic nerves. *Neurol Res.*, **33**(7): p. 766-73.
- BABB SM, APPELMANS KE, RENSHAW PF, WURTMAN RJ, COHEN BM (1996). Differential effect of CDP-choline on brain cytosolic choline levels in younger and older subjects as measured by proton magnetic resonance spectroscopy. *Psychopharmacology*, **127**(2):88-94
- BACHMANN S, MUNDEL P (1994). Nitric oxide in the kidney: Synthesis, localisation and function. *Am. J Kidn Dis.*; **24** (1): 112-29.
- BAGDAS D, SONAT FA, HAMURTEKIN E, SONAL S, GURUN MS (2011). The antihyperalgesic effect of cytidine-5'-diphosphate-choline in neuropathic and inflammatory pain models. *Behav Pharmacol.* **22**(5-6):589-98.

- BAI Y, AN R (2015). Resveratrol and sildenafil synergistically improve diabetes- associated erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci.* **15**;135:43-8.
- BASKAYA MK, DOGAN A, RAO AM, DEMPSEY RJ (2000). Neuroprotective effects of citicoline on brain edema and blood-brain barrier breakdown after traumatic brain injury. *J Neurosurg.*, **92**(3):448-52
- BENSON GS, MCCONNELL J, LIPSHULTZ LI, CORRIERE JN JR, WOOD J (1980). Neuromorphology and neuropharmacology of the human penis: an in vitro study. *J Clin Invest.* **65**(2):506-13.
- BLUSZTAJN JK, WURTMAN RJ (1983). Choline and cholinergic neurons. *Science.* **12**; **221**(4611):614-20.
- BASSENGE E (1994). Coronary vasomotor responses: role of endothelium and nitrovasodilators. *Cardiovascular Drugs and Therapy (USA)* **8**(4): 601-10.
- BRUHWYLER J, LIEGEOIS JF, GECZY J (1998). Facilitatory effects of chronically administered citicoline on learning and memory processes in the dog. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **22**(1):115-28
- BRYAN NS (2015). Nitric oxide enhancement strategies. *Future Sci OA.* **1**;1(1):FSO48.
- BURNETT AL, LOWENSTIEN CJ, BRETT DS (1992). Nitric oxide a physiologic mediator of penile erection. *Science*; **257**: 401- 3.
- BUVAT J (2003). Hyperprolactinemia and sexual function in men: a short review. *Int J Impot Res.* **15**(5):373-7.
- BUYUKUYSAL RL, ULUS IH, AYDIN S, KIRAN BK (1995). 3,4-Diaminopyridine and choline increase in vivo acetylcholine release in rat striatum. *Eur J Pharmacol*, **281**(2): p. 179-85
- CALATAYUD MALDONADO V, CALATAYUD PEREZ JB, ASO ESCARIO J (1991). Effects of CDP-choline on the recovery of patients with head injury. *J Neurol Sci.*, **103** Suppl: S15-8
- CAMPBELL, HE (2005). Clinical monograph for drug formulary review: erectile dysfunction agents. *J Manag Care Pharm.*, **11**(2): p. 151-71.
- CAMPBELL-WALSH UROLOGY: 8. baskı, s.:74-s.:1593
- CAMPOS EC, SCHIAVI C, BENEDETTI P, BOLZANI R, PORCIATTI V (1995). Effect of citicoline on visual acuity in amblyopia: preliminary results. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.*, **233**(5):307-12
- CANER B, KAFA MI, BEKAR A, KURT MA, KARLI N, CANSEV M, ULUS IH, (2012). Intraperitoneal administration of CDP-choline or a combination of cytidine plus choline improves nerve regeneration and functional recovery in a rat model of sciatic nerve injury. *Neurol Res.*, **34**(3): p. 238-45.

- CANSEV M (2003). CDP-kolin'in Kardiyovasküler, Metabolik ve Nöroendokrin Etkileri (Uzmanlık Tezi) Bursa: Uludağ Üniversitesi.
- CANSEV M, YILMAZ MS, ILCOL YO, HAMURTEKIN E, ULUS IH (2007). Cardiovascular effects of CDP-choline and its metabolites: involvement of peripheral autonomic nervous system. *Eur J Pharmacol.* **22**;577(1-3):129-42.
- CANSEV M, ILCOL YO, YILMAZ MS, HAMURTEKIN E, ULUS IH. (2008) Peripheral administration of CDP-choline, phosphocholine or choline increases plasma adrenaline and noradrenaline concentrations. *Auton Autacoid Pharmacol.* **28**(1):41-58.
- CARATI CJ, CREED KE, KEOGH EJ (1987). Autonomic control of penile erection in the dog. *J Physiol.* **384**:525-38.
- CARLEZON WA, PLIAKAS AM, PAROW AM, DETKE MJ, COHEN BM, RENSHAW PF (2002). Antidepressant-like effects of cytidine in the forced swim test in rats. *Biol Psychiatry*, **51**(11):882-9
- CARRIERE JL, EL-FAKAHANY EE. (2000) Choline is a full agonist in inducing activation of neuronal nitric oxide synthase via the muscarinic M1 receptor. *Pharmacology.* **60**(2):82-9.
- CARSON CC (2000). 3rd. Erectile dysfunction: diagnosis and management with newer oral agents. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. Oct;**13**(4):356-60.
- CASTELA Â, COSTA C (2016). Molecular mechanisms associated with diabetic endothelial-erectile dysfunction. *Nat Rev Urol.* **13**(5):266-74.
- CAVUN S, SAVCI V (2004). CDP-choline increases plasma ACTH and potentiates the stimulated release of GH, TSH and LH: the cholinergic involvement. *Fundam Clin Pharmacol.*, **18**(5):513-523
- CAVUN S, SAVCI V, ULUS IH (2004) Centrally injected CDP-choline increases plasma vasopressin levels by central cholinergic activation. *Fundam Clin Pharmacol.*, **18**(1):71-77
- CEDA GP, CERESINI G, DENTI L, MAGNANI D, MARCHINI L, VALENTI G, HOFFMAN AR (1991). Effects of cytidine 5'-diphosphocholine administration on basal and growth hormone-releasing hormone- induced growth hormone secretion in elderly subjects. *Acta Endocrinol (Copenh)*. **124**(5):516-20
- CELLEK S, CAMERON NE, COTTER MA, MUNEER A (2013). Pathophysiology of diabetic erectile dysfunction: potential contribution of vasa nervorum and advanced glycation endproducts. *Int J Impot Res*, **25**(1): p. 1-6.
- CENGİZ T, KAYA E, ORAL DY, OZAKCA I, BAYATLI N, KARABAY AZ, ENSARI TA, KARAHAN T, YILMAZ E, GUR S (2017). Intracavernous Injection of Human Umbilical Cord Blood Mononuclear Cells Improves Erectile Dysfunction in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J Sex Med.*; **14**(1):50-58.
- CHWALISZ K, BUHIMSCHI I, GARFIELD RE (1996). Role of NO in obstetric. *Prenat Neonat Med*; **1**: 292-328.

- CLARK WM, WARACH SJ, PETTIGREW LC, GAMMANS RE, SABOUNJIAN LA (1997). A randomized dose-response trial of citicoline in acute ischemic stroke patients. *Neurology* **49**(3):671-678.
- COHEN EL, WURTMAN RJ (1975). Brain acetylcholine: increase after systemic choline administration. *Life Sci.*, **16**(7):1095-102
- COHEN EL, WURTMAN RJ (1976). Brain acetylcholine: control by dietary choline. *Science*, **191**(4227):561-2
- COMITER CV, SULLIVAN MP, YALLA SV, KIFOR I. (1997) Effect of angiotensin II on corpus cavernosum smooth muscle in relation to nitric oxide environment: in vitro studies in canines. *Int J Impot Res.* Sep;**9**(3):135-40.
- COOK T, SULLIVAN R (1991). Glomerular nitrite synthesis in insitu immune complex glomerulonephritis in the rat. *Am. J. Pathol.*; **139**: 1047-52.
- COOPER GM (2000). *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd edition.
- COSKUN C, AVCI B, YALCIN M, YERMEZLER A, YILMAZ MS, SAVCI V (2014). Protective effect of CDP-choline on ischemia-reperfusion-induced myocardial tissue injury in rats. *Ir J Med Sci.* **183**(4):539-48.
- COSTABILE RA (2003). Optimizing treatment for diabetes mellitus induced erectile dysfunction. *J Urol.* **170**(2 Pt 2):S35-8; discussion S39.
- CROEN KD (1993). Evidence for an antiviral effect of NO. *J Clin Invest*; **91**: 2446-52.
- ÇEKMEN MB, TURGUT M, TÜRKÖZ Y, AYGÜN AD, GÖZÜKARA EM. (2001) Nitrik oksit (NO) ve nitrik oksit sentaz (NOS)'in fizyolojik ve patolojik özellikleri. *T Klin J Pediatr* , **10**
- DEAN RC, LUE TF (2005). Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction, *Urol Clin North Am.* **32**(4):379-v
- DIXON CE, X MA, MARION DW (1997). Effects of CDP-choline treatment on neurobehavioral deficits after TBI and on hippocampal and neocortical acetylcholine release. *J Neurotrauma.* **14**(3): p. 161-9.
- D'ORLANDO KJ, SANDAGE BW JR. (1995) Citicoline (CDP-choline): mechanisms of action and effects in ischemic brain injury. *Neurol Res.* **17**(4):281-4.
- DREXLER H, ZEIHNER AM, MEINZERK H (1992). Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolemic human. *J Clin Invest*; **90**: 1248-53.
- DUNLAP NE, BENJAMIN HW, BRILES ED (1994). The intracellular nature of salmonella infection. *Macrophage*; **18**: 303-12.
- DURATE ID, LORENZETTI BB, FERREIRA SH (1991). Peripheral analgesia and activation of NO-cGMP pathway. *Eur J Pharmacol*; **206**: 163-4.

- EBERHARDT R, BIRBAMER G, GERSTENBRAND F, RAINER E, TRAEGER H (1990). Citicoline in the treatment of Parkinson's disease. *Clin Ther.*, **12**(6):489- 95
- EL MELEGY NT, ALI ME, AWAD EM (2005). 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.* **96** (7):1079-86.
- ELEAZU CO, ELEAZU KC , CHUKWUMA S, ESSIEN UN (2013). Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, **12**:60
- ERBAŞ O (2015). Experimental diabetes model, *FNG & Bilim Tıp Dergisi*, **1**(1):40-42
- FELDMAN HA, GOLDSTEIN I, HATZICHRISTOU DG, KRANE RJ, MCKINLAY JB (1994). Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Urol*; **151**:54-61
- FORSTERMANN U, SESSA WC (2012). Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J.* **33**(7):829-37, 837a-837d NO
- FRANCIS MC, ALLEN N, MIZEL JB, ALBINA DE, (1993). Suppression of arthritis by an inhibitor of NOS. *J Exp Med*; **178**:749- 54.
- FREDHOLM BB, ABBRACCHIO MP, BURNSTOCK G, DUBYAK GR, HARDEN TK, JACOBSON KA, SCHWABE U, WILLIAMS M. (1997). Towards a revised nomenclature for P1 and P2 receptors. *Trends Pharmacol Sci.* Mar; **18**(3):79-82.
- GALIANO M, PIGNOT G, COSTA C, VALLANCIEN G, VIRAG R, (2010) Erectile dysfunction and cavernosal endothelial cells. *Prog Urol.* **20**(3):188-93.
- GANONG WF (1999). Synaptic and junctional transmission. In Ganong WF(ed): *Review of Medical Physiology*, 19th ed. Stamford, Conn, Appleton&Lange ;80-112.
- GARG UC, HASSID A (1989). Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest.* **83**(5):1774-7.
- G-COVIELLA IL, WURTMAN RJ (1992) Enhancement by cytidine of membrane phospholipid synthesis. *J Neurochem.*, **59**(1):338-43
- GRATZKE C, ANGULO J, CHITALEY K, DAI YT, KIM NN, PAICK JS, SIMONSEN U, UCKERT S, WESPES E, ANDERSSON KE, LUE TF, STIEF CG (2010). Anatomy, physiology, and pathophysiology of erectile dysfunction. *J Sex Med.* **7**(1 Pt 2):445-75.
- GREEN SJ, MELTZER MS, HIBBS JB JR, NACY CA (1990). Activated macrophages destroy intracellular *Leishmania major* amastigotes by an L-arginine-dependent killing mechanism. *J Immunol.* **144**(1):278-83.
- GRIEB P, REJDAK R (2002). Pharmacodynamics of citicoline relevant to the treatment of glaucoma. *J Neurosci Res.*, **67**(2):143-8

- GRIEB P (2014). Neuroprotective properties of citicoline: facts, doubts and unresolved issues. *CNS Drugs*. **28**(3):185-93.
- GUARINI S, TAGLIAVINI S, FERRARI W, BERTOLINI A (1989). Reversal of haemorrhagic shock in rats by cholinomimetic drugs. *Br J Pharmacol.*, **98**(1):218-24
- GUR S, SIKKA SC, CHANDRA S, KOKA PS, AGRAWAL KC, KADOWITZ PJ, HELLSTROM WJ (2008). Alfuzosin attenuates erectile dysfunction in rats with partial bladder outlet obstruction. *BJU Int.* **102**(11):1651-7.
- GURUN MS, SAVCI V, ULUS IH, KIRAN BK (1997). Centrally administered choline increases plasma prolactin levels in conscious rats. *Neurosci Lett.*, **232**(2):79-82
- GURUN MS, PARKER R, EISENACH JC, VINCLER M. (2009) The effect of peripherally administered CDP-choline in an acute inflammatory pain model: the role of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor. *Anesth Analg.* **108**(5):1680-7.
- HAINES DS, TOKMAKJIAN SD (1987). Actions of dietary orotic acid on liver synthesis of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in rats. *Biochem Cell Biol.*, **65**(2):105-11.
- HAMDORF G, CERVOS-NAVARRO J (1990). Study of the effects of oral administration of CDP-choline on open-field behaviour under conditions of chronic hypoxia. *Arzneimittelforschung*, **40**(5):519-22
- HAMURTEKIN E, GURUN MS (2006). The antinociceptive effects of centrally administered CDP-choline on acute pain models in rats: the involvement of cholinergic system. *Brain Res.* **30**;1117(1):92-100.
- HAMURTEKIN E (2007). Cdp-Kolin'in Analjezik Etkisi Ve Etkiye Aracilik Eden Mekanizmalar. *Uzmanlık tezi.*
- HAUBRICH DR, WANG PF, CLODY DE, WEDEKING PW (1975). Increase in rat brain acetylcholine induced by choline or deanol. *Life Sci.*, **17**(6): p. 975-80.
- HAYASHIDA H, FUJIMOTO H, YOSHIDA K, TOMOYOSHI T, OKAMURA T, TODA N (1996). Comparison of neurogenic contraction and relaxation in canine corpus cavernosum and penile artery and vein. *Jpn J Pharmacol.* **72**(3):231-40.
- HEDLUND H, ANDERSSON KE (1985). Comparison of the responses to drugs acting on adrenoceptors and muscarinic receptors in human isolated corpus cavernosum and cavernous artery. *J Auton Pharmacol.* **5**(1):81-8.
- HEDLUND P, ALM P, ANDERSSON KE (1999). NO synthase in cholinergic nerves and NO-induced relaxation in the rat isolated corpus cavernosum. *Br J Pharmacol.* **127**(2):349-60.
- HEDLUND P, NY L, ALM P, ANDERSSON KE (2000). Cholinergic nerves in human corpus cavernosum and spongiosum contain nitric oxide synthase and heme oxygenase. *J Urol.* **164**(3 Pt 1):868-75.

- HELMS C, KIM-SHAPIRO DB (2013). Hemoglobin-mediated nitric oxide signaling. *Free Radic Biol Med.* **0**: 464–472.
- HIGHER EDUCATION, BIOPAC SYSTEMS, Inc (2019). PRO Lesson A03 – Compound Action Potential: Nerve Conduction. Erişim Adresi: <https://www.biopac.com/wp-content/uploads/a03.pdf>.
- HIRSCH MJ, WURTMAN RJ (1978). Lecithin consumption increases acetylcholine concentrations in rat brain and adrenal gland. *Science*, **202**(4364):223-5
- HSU GL, BROCK GB, MARTINEZ-PINEIRO L, NUNES L, HEYDEN BV, LUE TF (1992). The three-dimensional structure of the tunica albuginea: anatomical and structural levels. *Int J Impot Res* **4**: 117-13
- HUA WAN, YU AMY. (1994) Nitric oxide synthase in motor neurons after axotomy. *The J Histochem and cytochem*; **42**(4): 451-7.
- HUGHES MN (1999). Relationships between nitric oxide, nitroxyl ion, nitrosonium cation and peroxynitrite. *Biochim Biophys Acta.* **5**;1411(2-3):263-72.
- HURT KJ, MUSICKI B, PALESE MA, CRONE JK, BECKER RE, MORIARITY JL, SNYDER SH, BURNETT AL (2002). Akt-dependent phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase mediates penile erection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Mar **19**;99(6):4061-6.
- HURTADO O, LIZASOAIN I, MORO MÁ (2011). Neuroprotection and recovery: recent data at the bench on citicoline. *Stroke.* **42**(1 Suppl):S33-5.
- ILCOL YO, CANSEV M, YILMAZ MS, HAMURTEKIN E, ULUS IH. (2007) Intraperitoneal administration of CDP-choline and its cholinergic and pyrimidinerbic metabolites induce hyperglycemia in rats: involvement of the sympathoadrenal system. *Arch Physiol Biochem.* **113**(4-5):186-201.
- ILCOL YO, CANSEV M, YILMAZ MS, HAMURTEKIN E, ULUS IH (2008). Peripheral administration of CDP-choline and its cholinergic metabolites increases serum insulin: muscarinic and nicotinic acetylcholine receptors are both involved in their actions. *Neurosci Lett.* **24**;431(1):71-6.
- IULIA C, RUXANDRA T, COSTIN LB, LILIANA-MARY V (2017). Citicoline - a neuroprotector with proven effects on glaucomatous disease. *Rom J Ophthalmol.* Jul-**61**(3):152-158.
- JUNEMANN KP, AUFENANGER J, KONRAD T, PILL J, BERLE B, PERSSON-JUNEMANN C, ALKEN P (1991). The effect of impaired lipid metabolism on the smooth muscle cells of rabbits. *Urol Res.* **19**(5):271-5.
- KAKIHANA M, FUKUDA N, SUNO M, NAGAOKA A (1988). Effects of CDP- choline on neurologic deficits and cerebral glucose metabolism in a rat model of cerebral ischemia. *Stroke*, **19**(2):217-22

- KAKIHANA M, IL KK, OKUNAKA T, FURUKAWA K, HIRANO T, KONAKA C, KATO K, EBIHARA Y (1999). Early Detection of Bronchial Lesions Using System of Autofluorescence Endoscopy (SAFE) 1000. *Diagn Ther Endosc.* **5**(2): 99–104.
- KAMEI J, OHSAWA M, MIYATA S, ENDO K, HAYAKAWA H (2008). Effects of cytidine 5'-diphosphocholine (CDP-choline) on the thermal nociceptive threshold in streptozotocin-induced diabetic mice. *Eur J Pharmacol.* **19**;598(1-3):32-6.
- KARABAY AZ, KOC A, GURKAN-ALP AS, BUYUKBINGOL Z, BUYUKBINGOLE E (2015). Inhibitory effects of indole  $\alpha$ -lipoic acid derivatives on nitric oxide production in LPS/IFN $\gamma$  activated RAW 264.7 macrophages. *Cell Biochem Funct.*;33(3):121-7.
- KENNEDY EP, WEISS SB (1956). The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipides. *J Biol Chem.*, **222**(1):193-214
- KHAN MA, CALVERT RC, SULLIVAN ME, THOMPSON CS, MUMTAZ FH, MORGAN RJ, MIKHAILIDIS DP (2000). Normal and pathological erectile function: the potential clinical role of endothelin-1 antagonists *Curr Drug Targets.*1(3):247-60.
- KAYAALP O (2012). Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Pelikan Yayınevi, 13. Baskı, s.:648
- KIM KS, BAE WJ, KIM SJ, KANG KH, KIM SK, CHO HJ, HONG SH, LEE JY, KIM SW (2016). Improvement of erectile dysfunction by the active peptide from *Urechis unicinctus* by high temperature/pressure and ultra - wave assisted lysis in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Int Braz J Urol.* **42**(4):825-37.
- KLINGE E, SJOSTRAND NO (1977). Suppression of the excitatory adrenergic neurotransmission; a possible role of cholinergic nerves in the retractor penis muscle. *Acta Physiol Scand.* **100**(3):368-76.
- KNECHT K, FEATHER M, BAYNES J (1992). Detection of 3-deoxyfructose and 3-deoxyglucosone in human urine and plasma: evidence for intermediate stage of the Maillard reaction in vivo. *Archives Biochemistry Biophysics* **294**, 130–137
- KNOWLES RG, MONCADA S (1994). Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J.*; **298**: 249-58.
- KOSHIMURA K, MIWA S, LEE K, HAYASHI Y, HASEGAWA H, HAMAHATA K, FUJIWARA M, KIMURA M, ITOKAWA Y (1990) Effects of choline administration on in vivo release and biosynthesis of acetylcholine in the rat striatum as studied by in vivo brain microdialysis. *J Neurochem.* **54**(2):533-9.
- KOUIDRAT Y, PIZZOL D, COSCO T, THOMPSON T, CARNAGHI M, BERTOLDO A, SOLMI M, STUBBS B, VERONESE N (2017). High prevalence of erectile dysfunction in diabetes: a systematic review and meta-analysis of 145 studies. *Diabet Med.* **34**(9):1185-1192.
- KOPPEN A, KLEIN J, HOLLER T, LOFFELHOLZ K (1993). Synergistic effect of nicotinamide and choline administration on extracellular choline levels in the brain. *J Pharmacol Exp Ther.*, **266**(2):720-5

- KOPPEN A, KLEIN J, ERB C, LOFFELHOLZ K (1997). Acetylcholine release and choline availability in rat hippocampus: effects of exogenous choline and nicotinamide. *J Pharmacol Exp Ther.* **282**(3):1139-45.
- KWON NS, STUEHR DS, NATHAN CF. (1991) Inhibition of tumor cells ribonucleotide reductase by nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun*; 179: 442-8.
- LAKHER MB, WURTMAN RJ (1987). Molecular composition of the phosphatidylcholines produced by the phospholipid methylation pathway in rat brain in vivo. *Biochem J.* **244**(2):325-30
- LEON-CARRION J, DOMINGUEZ-ROLDAN JM, MURILLO-CABEZAS F, DEL ROSARIO DOMINGUEZ-MORALES M, MUNOZ-SANCHEZ MA (2000) The role of citicholine in neuropsychological training after traumatic brain injury. *NeuroRehabilitation*, **14**(1):33-40
- LIEW FY, LY Y, MILLOTT S (1990). TNF-alpha induced macrophage leishmanicidal activity is, mediated by nitric oxide from Larginine. *Immunology*; **71**: 556-9.
- LOPEZ G-COVIELLA I, AGUT J, VON BORSTEL R, WURTMAN RJ (1987). Metabolism of cytidine (5<sup>?</sup>)-diphosphocholine (cdp-choline) following oral and intravenous administration to the human and the rat. *Neurochem Int.* ;**11**(3):293-7.
- LOPEZ-COVIELLA I, AGUT J, SAVCI V, ORTIZ JA, WURTMAN RJ (1995). Evidence that 5<sup>?</sup>-cytidinediphosphocholine can affect brain phospholipid composition by increasing choline and cytidine plasma levels. *J. Neurochem.*, **65**:889-894
- LOWENSTEIN CJ, DINERMAN JL, SNYDER SH. (1994). Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann. Intern. Med*; **120**: 227- 37.
- LOZANO FERNANDEZ R (1983). Efficacy and safety of oral CDP-choline. Drug surveillance study in 2817 cases. *Arzneimittelforschung*, **33**(7A):1073-80
- LUE TF (2000). Erectile Dysfunction. *The New England Journal of Medicine*. June 15
- LUE TF, BRANT WO, SHINDEL A, BELLA AJ (2000). Sexual Dysfunction in Diabetes. [www.endotext.org](http://www.endotext.org)
- MADAMANCHI A (2007).  $\beta$ -Adrenergic receptor signaling in cardiac function and heart failure. *MJM* **10**(2):99-104
- MAIRE JC, WURTMAN RJ (1985) Effects of electrical stimulation and choline availability on the rele. ase and contents of acetylcholine and choline in superfused slices from rat striatum. *J Physiol. (Paris)*, **80**(3):189-95
- MALLICK HN, MANCHANDA SK, KUMAR VM (1994). Sensory modulation of the medial preoptic area neuronal activity by dorsal penile nerve stimulation in rats.. *J Urol.* **151**(3):759-62.
- MARLETTA MA (1993). Nitric oxide synthase structure and mechanism. *The J. Biol. Chem.* **268** (17): 12231-4.

- MARSON L, PLATT KB, MCKENNA KE (1993). Central Nervous System innervation of penis as revealed by transneuronal transport of pseudorabies virus. *Neuroscience*. **55**(1):263-80.
- MARSHALL DL, WURTMAN RJ (1993). Effect of choline on basal and stimulated acetylcholine release: an in vivo microdialysis study using a low neostigmine concentration. *Brain Res*. **3**;629(2):269-74.
- MATSUOKA T, KAWANAKA M, NAGAI K (1978). Effect of cytidine diphosphate choline on growth hormone and prolactin secretion in man. *Endocrinol Jpn*, **25**(1):55-7
- MC CALL TB, FEELISCH M, PALMER RMJ MONCADA S (1991). Identification of N-iminoethyl-L-ornithine as an irreversible inhibitor of NOS in phagocytic cells. *Br J Pharmacol*; **102**: 234-8.
- [MD-12] CLEAN AIR TECHNOLOGY CENTER. (1999) Nitrogen Oxides (NOx), Why and How They Are Controlled EPA-456/F-99-006R
- MILLER BE, HOOK GE (1989). Regulation of phosphatidylcholine biosynthesis in activated alveolar type II cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **1** (2):127-136
- MILLS TM, WIEDMEIER VT, STOPPER VS (1992). Androgen maintenance of erectile function in the rat penis. *Biol Reprod*. **46**(3):342-8.
- MOBLEY DF, KHERA M, BAUM N (2017). Recent advances in the treatment of erectile dysfunction. *Postgrad Med J*. **93** (1105):679-685.
- MONCADA S, PALMER RMJ, HIGGS EA (1989). Biosynthesis of nitric oxide from L-arginin: A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem pharmacol* **38**:1709-15.
- MONCADA S, PALMER RMJ, HIGGS A (1991). Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharm Rev*; **43**: 109-41.
- MUSICKI B, KRAMER MF, BECKER RE, BURNETT AL (2005). Inactivation of phosphorylated endothelial nitric oxide synthase (Ser-1177) by O-GlcNAc in diabetes-associated erectile dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **102**(33):11870-5.
- MURALIKRISHNA ADIBHATLA R, HATCHER JF (2006). Phospholipase A2, reactive oxygen species, and lipid peroxidation in cerebral ischemia. *Free Radic Biol Med.*, **40**(3):376-87
- MUURUGANANDAM A, MUTUS B (1989). Isolation of nitric oxide synthase from human platelets. *Biochem Biophys Res Commun*; **165**: 802-9.
- NATHAN DM, SINGER DE, GODINE JE, PERLMUTER LC (1986). Non-insulin- dependent diabetes in older patients. Complications and risk factors. *Am J Med*; **81**:837-42.
- NUNES KP, TOQUE HA, CALDWELL RB, CALDWELL RW, WEBB RC. (2011) Extracellular signal-regulated kinase (ERK) inhibition decreases arginase activity and improves corpora cavernosal relaxation in streptozotocin (STZ)-induced diabetic mice. *J Sex Med*. **8**(12):3335-44.

- NUSBAUM MR (2000). Erectile dysfunction: prevalence, etiology and major risk factors. *J Am Osteopath Assoc*, **102**: 1-6
- OHMASA F, SAITO M, TSOUNAPI P, DIMITRIADIS F, INOUE S, SHOMORI K, SHIMIZU S, KINOSHITA Y, SATOH K (2011). Edaravone ameliorates diabetes-induced dysfunction of NO-induced relaxation in corpus cavernosum smooth muscle in the rat. *J Sex Med.* **8**(6):1638-49.
- OKUDA T, HAGA T (2000). Functional characterization of the human high-affinity choline transporter. *FEBS Lett.*, **484**(2):92-7
- OLESEN J, THOMSEN LL, IVERSEN H (1994). Nitric oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches. *Trend Pharmacol Sci Engl*; **15**(5): 149-53.
- PADMA-NATHAN H, HELLSTROM WJG, KAISER FE, LABASKY RF, LUE TF, NOLTEN WE, NORWOOD PC, PETERSON CA, SHABSIGH R, TAM PY, PLACE V, GESUNDHEIT N (1997). Treatment Of Men With Erectile Dysfunction With Transurethral Alprostadil. *The New England Journal of Medicine.* 336-1
- PALACIOS M, KNOWLES RG, PALMER RJM AND MONCADA S (1989). Nitric oxide from L-arginine stimulates the soluble guanylatecyclase in adrenal glands. *Biochem Biophys Res Commun*; **165**: 802-9.
- PALMER RMJ, MONCADA S (1989). A novel citrulline-forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*; **158**: 348-52
- PALMER RMJ, HICKERY MS, CHARLES IG (1993). Induction of NOS in human chondrocytes. *Biochem Biophys Res Com*; **193**(1): 398-405.
- PALMER BF (1999). Sexual dysfunction in uremia. *J Am Soc Nephrol.* **10**(6):1381-8.
- PANCHATSHARAM PK, ZITO PM (2018). Physiology, Erection.. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; Oct 27
- PARISI V, MANNI G, COLACINO G, BUCCI MG (1999). Cytidine-5'-diphosphocholine (citicoline) improves retinal and cortical responses in patients with glaucoma. *Ophthalmology*, **106**(6):1126-34
- PAPKE RL, BENCHERIF M, LIPPIELLO P (1996). An evaluation of neuronal nicotinic acetylcholine receptor activation by quaternary nitrogen compounds indicates that choline is selective for the alpha 7 subtype. *Neurosci Lett.* **9**;213(3):201-4.
- PARONI R, CIGHETTI G, DEL PUPPO M, KIENLE MG (1985). Evidence for a different metabolic behaviour of cytidine diphosphate choline after oral and intravenous administration to rats. *Pharmacol Res Commun.*, **17**(9):805-829
- PETKOV VD, KEHAYOV RA, MOSHARROF AH, PETKOV VV, GETOVA D, LAZAROVA MB, VAGLENOVA J (1993). Effects of cytidine diphosphate choline on rats with memory deficits. *Arzneimittelforschung*, **43**(8):822-8

- RAHMAN H, JHA MK, KIM JH, NAM Y, LEE MG, GO Y, HARRIS RA, PARK DH, KOOK H, LEE IK, SUK K (2016). Pyruvate Dehydrogenase Kinase-mediated Glycolytic Metabolic Shift in the Dorsal Root Ganglion Drives Painful Diabetic Neuropathy. *J Biol Chem.* **291**(11): 6011–6025
- RALPH DJ (2005). Normal erectile function. *Clin Cornerstone.*; **7**(1):13-8.
- RAO AM, HATCHER JF, DEMPSEY RJ (1999). CDP-choline: neuroprotection in transient forebrain ischemia of gerbils. *J Neurosci Res.*, **58**(5):697- 705
- RAO AM, HATCHER JF (2005). Cytidine 5'-Diphosphocholine (CDP-Choline) in Stroke and Other CNS Disorders. *Neurochem Res.* **30**(1): 15–23.
- RICHARDSON UI, WATKINS CJ, PIERRE C, ULUS IH, WURTMAN RJ (2003). Stimulation of CDP-choline synthesis by uridine or cytidine in PC12 rat pheochromocytoma cells. *Brain Res.*, **971**:161-167
- ROMERO A, GRAU T, SACRISTAN A, ORTIZ JA (1983). Study of subacute toxicity of CDP-choline after 30 days of oral administration to rats. *Arzneimittelforschung*, **33**(7A):1035-8
- ROSEN MP, GREENFIELD AJ, WALKER TG, GRANT P, DUBROW J, BETTMANN MA, FRIED LE, GOLDSTEIN I (1991). Cigarette smoking: an independent risk factor for atherosclerosis in the hypogastric-cavernous arterial bed of men with arteriogenic impotence. *J Urol.* **145**(4):759-63.
- RUSSELL S, NEHRA A (2003). The physiology of erectile dysfunction. *Herz.* **28**(4):277-83.
- SAENZ DE TEJADA I, GOLDSTEIN I, AZADZOI K, KRANE RJ, COHEN RA (1989). Impaired neurogenic and endothelium-mediated relaxation of penile smooth muscle from diabetic men with impotence. *N Engl J Med.*; **320**:1025-30.
- SALVEMINI D, DENUCCI G, GRYGLEWSKI RJ (1989). Human neutrophils and mononuclear cells inhibit platelet aggregation by releasing a nitric oxide-like factor. *Proc Natl Acad Sci USA*; **86**: 6328-32.
- SAVCI V, WURTMAN RJ (1995). Effect of cytidine on membrane phospholipid synthesis in rat striatal slices. *J Neurochem.*, **64**(1):378-84
- SAVCI V, GURUN S, ULUS IH, KIRAN BK (1996)a Intracerebroventricular injection of choline increases plasma oxytocin levels in conscious rats. *Brain Res.*, **709**(1):97-102
- SAVCI V, ULUS IH (1996)b Central choline reverses hypotension caused by alpha-adrenoceptor or ganglion blockade in rats: the role of vasopressin. *Eur J Pharmacol.*, **311**:153-161
- SAVCI V, CAVUN S, GOKTALAY G, ULUS IH (2002). Cardiovascular effects of intracerebroventricularly injected CDP-choline in normotensive and hypotensive animals: the involvement of cholinergic system. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.*, **365**(5):388-98
- SAVCI V, GOKTALAY G, CANSEV M, CAVUN S, YILMAZ MS, ULUS IH (2003). Intravenously injected CDP-choline increases blood pressure and reverses hypotension in


- haemorrhagic shock: effect is mediated by central cholinergic activation. *Eur J Pharmacol.*, **468**(2):129-139
- SCALLY MC, ULUS IH, WURTMAN RJ (1978). Choline administration to the rat increases urinary catecholamines. *J Neural Transm.*, **43**(2):103-112
- SCHAUSS AG, SOMFAI-RELLE S, FINANCSEK I, GLAVITS R, PARENT SC, ENDRES JR, VARGA T, SZUCS Z, CLEWELL A (2009). Single- and repeated-dose oral toxicity studies of citicoline free-base (choline cytidine 5'-pyrophosphate) in Sprague-Dawley rats. *Int J Toxicol.* **28**(6):479-87.
- SJOSTRAND NO, KLINGE E (1979). Principal mechanisms controlling penile retraction and protrusion in rabbits. *Acta Physiol Scand.* **106**(2):199-214.
- SPETH RC, YAMAMURA HI (1979). On the ability of choline and its analogues to interact with muscarinic cholinergic receptors in the rat brain. *Eur J Pharmacol.* **58**(2):197-201.
- STADLER J, BILLIAR TR, CURRAN RD (1991). Effect of exogenous and endogenous nitric oxide on mitochondrial respiration of rat hepatocytes. *Am J Physiol* ; **260**:C910-6.
- STARK ME, SZURSZEWSKI JH (1992). Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic fuction disease. *Gastroenterology* **103**: 1928-49.
- STARKE K. (1977) Regulation of noradrenaline release by presynaptic receptor systems. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* **77**:1-124
- SUNDLER R, AKESSON B (1975). Biosynthesis of phosphatidylethanolamines and phosphatidylcholines from ethanolamine and choline in rat liver. *Biochem J.*, **146**(2):309-15
- STIEF C, BENARD F, BOSCH R, ABOSEIF S, NUNES L, LUE TF, TANAGHO EA (1989). Acetylcholine as a possible neurotransmitter in penile erection. *J Urol.* **141**(6):1444-8.
- SYNDER SH (1992). Nitric oxide and neurons. *Curr. Opin. Neurobiol*; **2**: 323-38.
- TEATHER LA, WURTMAN RJ (2003). Dietary cytidine (5')-diphosphocholine supplementation protects against development of memory deficits in aging rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **27**(4):711-7
- The McGill Physiology Virtual Lab, Compound Action Potential. Erişim Adresi: <http://www.medicine.mcgill.ca/physio/vlab/CAP/character.htm>
- TODA N, OKAMURA T (2003). The Pharmacology of Nitric Oxide in the Peripheral Nervous System of Blood Vessels. *Pharmacol Rev* **55**:271–324
- TODA N, TODA H. (2010) Nitric oxide-mediated blood flow regulation as affected by smoking and nicotine. *Eur J Pharmacol.* **649**(1-3):1-13.
- TONG YC, BRODERICK G, HYPOLITE J VE LEVIN RM. (1992). Correlation of purinergic, cholinergic and functions in rabbit corporal cavernosal tissue. *Pharmacology*; **45**:241-249.

- TROVARELLI G, DE MEDIO GE, DORMAN RV, PICCININ GL, HORROCKS LA, PORCELLATI G (1981). Effect of cytidine diphosphate choline (CDP-choline) on ischemia-induced alterations of brain lipid in the gerbil. *Neurochem Res.*, **6**(8):821-33
- THORVE VS, KSHIRSAGAR AD, VYAWAHARE NS, JOSHI VS, INGALE KG, MOHITE RJ (2011). Diabetes-induced erectile dysfunction: epidemiology, pathophysiology and management. *J Diabetes Complications.*, **25**(2): p. 129-36.
- ULUS IH, HIRSCH MJ, WURTMAN RJ (1977). Trans-synaptic induction of adrenomedullary tyrosine hydroxylase activity by choline: evidence that choline administration can increase cholinergic transmission. *Proc Natl Acad Sci USA*, **74**(2):798-800
- ULUS IH, MILLINGTON WR, BUYUKUYSAL RL, KIRAN BK (1988). Choline as an agonist: determination of its agonistic potency on cholinergic receptors. *Biochem Pharmacol.* **37**(14):2747-55.
- ULUS IH, ARSLAN BY, SAVCI V, KIRAN BK (1995). Restoration of blood pressure by choline treatment in rats made hypotensive by haemorrhage. *Br J Pharmacol.*, **116**(2):1911-7
- ULUS IH, CANSEV M (2010). Kolin'in Merkezi ve Periferik Kolinergic Nöronlarda ve Kolinergic İletimdeki İşlevi. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* Cilt: 1, Sayı: 2,
- VALJI K, BOOKSTEIN JJ (1987). The veno-occlusive mechanism of the canine corpus cavernosum: angiographic and pharmacologic studies. *J Urol.* **138**(6):1467-70.
- VASQUEZ-VIVAR, J., KALYANARAMAN, B., MARTASEK, P., HOGG, N., MASTERS, B. S. & KAROUI, H (1998). Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **95**, 9220–9225
- WANG L, XU Y, LI H, LEI H, GUAN R, GAO Z, XIN Z (2015). Antioxidant icariside II combined with insulin restores erectile function in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *J Cell Mol Med.* **19**(5):960-9
- WARACH, S., L. C. PETTIGREW, J. F. DASHE, P. PULLICINO, D. M. LEFKOWITZ, L. SABOUNJIAN, K. HARNETT, U. SCHWIDERSKI, R. GAMMANS, AND I. CITICOLINE (2000). Effect of citicoline on ischemic lesions as measured by diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *Annals of Neurology* **48**(5):713–722.
- WEISS GB (1995). Metabolism and actions of CDP-choline as an endogenous compound and administered exogenously as citicoline. *Life Sci.*, **56**(9): p. 637-60.
- WHITEHEAD ED, KLYDE BJ, ZUSSMAN S, SALKIN P (1990). Treatment alternatives for impotence. *Postgrad Med*; **88**:139-49,152.
- WIENTZEK M, MAN RY, CHOY PC (1987). Choline glycerophospholipid biosynthesis in the guinea pig heart. *Biochem. Cell Biol.*, **65** (10):860-868
- WURTMAN RJ, REGAN M, ULUS IH, YU L (2000). Effect of oral CDP-choline on plasma choline and uridine levels in humans. *Biochem. Pharmacol.*, **60**:989-992

- XIA Y, ZWEIER, JL (1997). Direct measurement of nitric oxide generation from nitric oxide synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94**, 12705–12710
- YALLAMPALLI DVM, SMITH MB, SHARON MS (1994) .Steroid hormones modulate the production of NO and cGMP in the rat uterus. *Endocrinology*; **134**(4):1971-4.
- YAMAMOTO M, SHIMIZU M, OKAMIYA H (1990). Pharmacological actions of a new TRH analogue, YM-14673, in rats subjected to cerebral ischemia and anoxia. *Eur J Pharmacol.*, **181**(3):207-14
- YAN JF, LU BD (2016). [Intracavernosal pressure measurement technology in the animal model of erectile dysfunction]. *Zhonghua Nan Ke Xue.* **22**(4):352-5.
- YASHIMA K, TAKAMATSU M, OKUDA K (1975). Intestinal absorption of cytidine diphosphate choline and its changes in the digestive tract. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, **21**(1):49-60
- YILMAZ MS, YALCIN M, SAVCI V (2006). Cytidine 5'-diphosphocholine restores blood flow of superior mesenteric and renal arteries and prolongs survival time in haemorrhaged anaesthetized rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.*, **33**(5-6):415-20
- YILMAZ D, BAYATLI N, UN O, KADOWITZ PJ, SIKKA SC, GUR S (2014). The effect of intracavernosal avanafil, a newer phosphodiesterase-5 inhibitor, on neonatal type 2 diabetic rats with erectile dysfunction. *Urology.* **83**(2):508.
- YILMAZ-ORAL D, BAYATLI N, GUR S (2017). The Beneficial Effect of Fesoterodine, a Competitive Muscarinic Receptor Antagonist on Erectile Dysfunction in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Urology.* **107**:271.e1-271.e7.
- ZEISEL SH (1985). Formation of unesterified choline by rat brain. *Biochim Biophys Acta*, **835**(2):331-343
- ZEISEL SH (1997). Choline: essential for brain development and function. *Adv Pediatr.*, **44**:263-95
- ZEISEL SH (2004). Nutritional importance of choline for brain development. *J Am Coll Nutr.*, **23**(6 Suppl):621S-626S
- ZHANG W, WANG Y, YANG Z, QIU J, MA J, ZHAO Z, BAO T (2011). Antioxidant treatment with quercetin ameliorates erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Biosci Bioeng.* **112**(3):215-8.
- ZHANG JL, HUI Y, ZHOU F, HOU JQ (2018 ). Neuroprotective effects of melatonin on erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int Urol Nephrol.* **21**.
- ZHOU QG, ZHU XH, NEMES AD, ZHU DY (2018). Neuronal nitric oxide synthase and affective disorders. *IBRO Rep.* **5**:116-132.

## EKLER

### Ek 1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı



T.C.  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI**

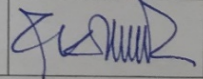
**TOPLANTI TARİHİ** : 05/09/2018  
**TOPLANTI NO** : 2018-17  
**DOSYA NO** : 2017-68  
**KARAR NO** : 2018-17-113

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Serap GÜR'ün yaptığı, araştırmacı olarak Uzm. Bio. Yeşim HAMURTEKİN ve Ecz. Didem YILMAZ ORAL'ın katıldığı "Streptozotosin ile İndüklenen Diabetik Sıçanlarda Gelişen Eretil Disfonksiyon Üzerine CDP-kolin ve Metabolitleri ile Yapılan Tedavinin Olası Düzeltici Etkisi" başlıklı araştırma projesi Kurulumuzun 07/06/2017 tarih ve 2017-12-99 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Proje Yürütücüsü Prof. Dr. Serap GÜR'ün 30.07.2017 tarih ve 23797 sayılı dilekçesiyle Kurulumuza yapmış olduğu başvuruda, söz konusu araştırma projesinin yürütücülüğünün Prof. Dr. Fügen AKTAN'a devredilmesi talep edilmektedir.

Prof. Dr. Serap GÜR'ün söz konusu dilekçesi Kurulumuz tarafından değerlendirilmiş olup, 2018-16-104 sayılı karar ile adı geçen projenin Üniversitemiz Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiş olması sebebiyle proje yürütücülüğü değişikliğinin ilgili Koordinatörlük tarafından yapılmasını takiben Kurulumuza başvurulmasının uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Serap GÜR'ün 31.07.2018 tarihli dilekçesinde söz konusu projenin BAP tarafından desteklenmediği belirtilmiş ve proje yürütücüsü değişikliği talebi yinelenmiştir. Kurulumuz, söz konusu dilekçeyi Üniversite Senatosunun 12/2/2016 tarihli toplantısında 430/3642 sayılı kararı ile kabul edilen ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu'nun 19/2/2016 tarih ve 42 sayılı kararı ile onaylanan "Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi"nin 11. maddesinin 5. fıkrası kapsamında değerlendirmiş ve 07/06/2017 tarih ve 2017-12-99 sayılı kararıyla onaylanan "Streptozotosin ile İndüklenen Diabetik Sıçanlarda Gelişen Eretil Disfonksiyon Üzerine CDP-kolin ve Metabolitleri ile Yapılan Tedavinin Olası Düzeltici Etkisi" başlıklı araştırma projesinin yürütücüsünün Prof. Dr. Fügen AKTAN olarak değiştirilmesinin, uygun olduğuna oy birliğiyle karar vermiştir.

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof. Dr. M. Taner KARAOĞLU (Başkan)	Viroloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	

Adres: Ankara Üniversitesi Rektörlüğü 06100 - Tandoğan/ANKARA Telefon : 0 (312) 212 60 40 / 2101 Faks : 0 (312) 212 60 49

Prof. Dr. Tanju ÖZÇELİKAY (Başkan Vekili)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E	<i>Tanju</i>
Prof. Dr. Nuri YİĞİT (Üye)	Zooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof. Dr. Fatin CEDDEN (Üye)	Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	E	<i>Fatin</i>
Prof. Dr. Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü	Ziraat Fakültesi	K	<i>Mine</i>
Prof. Dr. Emine DEMİREL YILMAZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	<i>Emine</i>
Doç. Dr. Gülnur GÖLLÜ BAHADIR (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	<i>Gülnur</i>
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet SAĞLAM (Üye)	Cerrahi Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Dr. Öğr. Üyesi Atilla ÖZGÜR (Üye)	Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	<i>Atilla</i>
Uzm. Vet. Hek. Atilla İŞGÖREN (Üye)	Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı	Tıp Fakültesi	E	
Dr. Vet. Hek. Gürbüz ERTÜRK (Üye)	Active Veteriner Sağlık Merkezi	Serbest	E	<i>Gürbüz</i>
Uzm. Vet. Hek. Hüseyin DEDE (Üye)	Veteriner Hekimler Derneği	Serbest	E	<i>Hüseyin</i>
Fatma Aysun COŞKUN (Üye)	İktisat	Serbest	K	<i>Aysun</i>

## ÖZGEÇMİŞ

### I. Bireysel Bilgiler

**Adı:** Yeşim  
**Soyadı:** HAMURTEKİN  
**Doğum Yeri ve Tarihi:** Erciş, 01.06.1985  
**Uyruğu:** T.C.  
**Medeni Durumu:** Evli  
**İletişim Adresi:** Eczacılık Fakültesi, Doğu Akdeniz Üniversitesi, KKTC  
**Telefon:** 03926301642

### II. Eğitim Bilgileri

Lisans: Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, 2009

Yüksek lisans: Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, 2014

**Yabancı Dili:** İngilizce

### III. Bilimsel İlgi Alanları

#### Yayın ve Posterler:

1. 2015, Hamurtekin Y, Öztürk B, Baysal A, Relation between lipid peroxidation and body mass index(bmi), percentage body fat (pbf) and visceral fat area (VFA). (IJBCS) 2015; 4(1): 51-58
2. 2017, Hamurtekin Y, Yılmaz Oral D, Hamurtekin E, Gur S, Aktan F, Effect of intracavernous choline injections on erectile dysfunction in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. Poster presentation in 2nd International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS-2017) Congress in Ankara in Turkey, P95 in abstract book
3. 2018, Küme T, Mercan F, Topsakal H, Karakukcu C, Şeneş M, Pınar A, Gürler M, Kalafat H, Ünal B, Verstraete AG, Hamurtekin Y, Aydınlı A, Şenol Y, Eğin ME, Cihan A, Kazancı EG, Gümüş E. Assessment of the results of a three-year program for National Standardization and Quality Improvement of Medical Laboratories on Drug of Abuse Testing by the Ministry of Health in Turkey. Drug Test Anal. 2019 Feb;11(2):215-222.

4. 2018, Hamurtekin Y, Nouilati A, Demirbatır C, Hamurtekin E. The contribution of serotonergic receptors and nitric oxide systems in the analgesic effect of acetaminophen: An overview of the last decade. Turk J Pharm.
5. 2019, Yilmaz-Oral D, Kaya-Sezginer E, Askin D, Hamurtekin Y, Gur S. Mirabegron, A Selective  $\beta_3$ -Adrenoceptor Agonist Causes an Improvement in Erectile Dysfunction in Diabetic Rats. Exp Clin Endocrinol Diabetes.

