

T.C.
Sağlık bakanlığı
Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Üroloji Klinięi
řef:Doç. Dr. Ahmet Yaser Müslümanoğlu

EREKTİL DİSFONKSİYONLU HASTALARDA
ENDOTELYAL NİTRİK OKSİD SENTETAZ GEN
POLİMORFİZMİ

(Uzmanlık Tezi)

Dr. ERKAN ERKAN

İSTANBUL 2003

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca her türlü teorik ve pratik bilgi ve deneyimi bizimle paylaşan ve daha da önemlisi fikir ve görüşleriyle mesleki ve sosyal ufkumun genişlemesinde büyük payı olan değerli hocam Doç. Dr. Ahmet Yaser Müslümanoğlu'na sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım

Bu çalışmanın yapılmasında öncü fikirlerin sahibi olan ve bu konuda değerli vaktini ve birikimini benimle paylaşmaktan çekinmeyen sayın hocam Prof. Dr. Ateş Kadioğlu'na teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleştirilmesinde kendi imkan ve zamanlarını feda eden, başta Doç. Dr. Uğur Özbek ve Dr. Fahri Akbaş olmak üzere, DETAE çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Androlojiye olan ilgimin büyüyen artmasını sağlayan, bu konuda bana öncülük yapan ve her konuda desteğini hissettiren Op. Dr. Erkan Merder'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İhtisasım boyunca pek çok şeyi paylaştığım hocalarım, uzmanlarım, asistan arkadaşlarım ve kliniğin diğer tüm üyelerine teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi aileme şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Erkan Erkan

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ ve AMAÇ	4
GENEL BİLGİLER	5
PENİSİN ANATOMİSİ	5
Penisin Arteriyel Sistemi	6
Penisin Venöz Drenajı	8
Erektıl Doku ve İntrakavernözal Hemodinami	8
Penisin Lenfatik Drenajı	10
Penisin Nöroanatomisi	11
Otonomik İnnervasyon	11
Parasempatik Akım	11
Sempatik Akım	11
Somatik İnnervasyon	11
Motor Sinirler	11
Duyusal sinirler	11
Potansiyel Proerektıl Yollar	12
EREKSİYONUN FİZYOLOJİSİ	13
Ereksiyonun Hemodinamiği	13
Düz Kas Fizyolojisi	16
Ereksiyonun Nörofizyolojisi	17
Ereksiyonun Santral Kontrolü	17
Ereksiyonun Periferik Kontrolü	22
Periferik Nöromediatörler	23
Proerektıl Nöromediatörler	23
Antierektıl Mediatörler	24
Nitrik Oksid ve Nitrik Oksid Sentetaz	27
Düz Kas Gevşemesinde NO ve cGMP	32
Kolinergik, Adrenergik ve NANK Nörotransmisyonun Kavernözal Etkileşimi	33
Düz Kas Kasılması ve Gevşemesinin Moleküler Mekanizması	33
İyon Kanalları	34
Fosfodiesterazlar	36
Hücreler Arası İletişim	37
EREKTİL DİSFONKSİYON	38
Prevalans ve Epidemiyoloji	38
Sınıflandırma ve Etyoloji	40
Fizyopatoloji	46
Arteriyel ED	46
Venöz (Kavernözal) ED	47
Tanı	49
Anamnez	50
Fizik Muayene	51
Biyokimyasal testler	51
Nörolojik değerlendirme	51
Nökturnal Ereksiyonların Değerlendirilmesi	52
Vasküler Değerlendirme	52
Vasküler Değerlendirmede Kullanılan Testler	53

Farmakotest	53
PPDU	53
Kavernözometri	54
Kavernözografi	54
Anjiografik Tetkikler	54
Tedavi	55
ED’de Gen Tedavisinin Geleceği	57
GEREÇ VE YÖNTEM	60
Hasta ve Kontrol Grubu	60
Teknik Metod	61
Genetik İnceleme	61
Gereçler	61
Yöntemler	63
Periferik Kandan DNA İzolasyonu	63
DNA Konsantrasyonu ve Saflığının Ölçümü	64
eNOS PCR’ı	64
PCR Ürünlerinin Agaroze Jel Elektroforezi	65
İstatistiksel Analiz	65
BULGULAR	66
TARTIŞMA	70
SONUÇ	73
KAYNAKLAR	74

GİRİŞ VE AMAÇ

Eretil disfonksiyon (ED); günümüzde ürolojinin önemli konularından biridir. Bunun önemli nedenlerinden biri , modernleşen ve iyileşen yaşam şartlarına bağlı olarak ortalama insan ömrünü uzaması ve dolayısıyla yaşam konforuna yönelik patolojilerin giderek gündemde daha fazla yer almasıdır. Yaşlılıkla insidansı artan ED de bu nedenle giderek daha fazla ilgi çeken bir konu haline gelmektedir.

ED, erkek popülasyonunda etkilediği hasta sayısı itibarıyla önemli bir sorundur. Yapılan çalışmalarda 30-70 yaş arası erkeklerde ED prevalansı %52 olarak bulunmuştur (1). Türkiye’de yapılan bir çalışmada ise bu oran %68’dir (2).

ED’nin fizyolojisinde, nitrik oksit-siklik guanilat monofosfat (NO-cGMP) yolunun ortaya çıkarılması, ED’nin tanı ve tedavisine önemli katkılarda bulunmuştur. Son yıllarda özellikle tedaviye yönelik olarak yapılan araştırmaların büyük bir kısmı, temel olarak bu yolu hedef almaktadır. Sildenafil vb. diğer fosfodiesteraz inhibitörleri bu konudaki en güncel örneklerdir.

Kavernöz endotelinden salgılanan NO, ereksiyonun sağlanmasında temel mediatördür. NO, CGMP üretimiyle başlayan bir seri olaylar dizisi ile kavernöz düz kasında gevşemeye yol açmakta ve sonuç olarak ereksiyonu sağlamaktadır. NO; nitrik oksit sentetaz (NOS) enzim sisteminde L-argininden üretilmektedir. Ereksiyonun istenen düzeyde oluşması için NOS’un değişik dokularda üretilen 3 alt tipinin, nöronal NOS (nNOS), indüklenabilir NOS (iNOS) ve endotelial NOS (eNOS), koordine bir şekilde çalışması gerekir.

Bunların içinde anahtar rolü üstlenen eNOS enzim sisteminin gerekli ve yeterli olarak çalışmasında, bu enzimatik proteinlerin üretiminin düzenlenmesinde kromozomal düzeyde sorumlu olan, 7. somatik kromozom üzerindeki endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) geni önemlidir. Bu genin polimorfizminin, kodlanan enzimatik sistemin amino asit yapı ve içeriğinde farklılık yarattığı ve aktivitesini etkilediği bildirilmiştir (3).

Vücutta, eNOS aktivitesinin önemli olduğu diğer organlardaki vasküler sistemlerde; eNOS gen polimorfizminin eNOS yapı ve aktivitesini etkileyerek vasküler düz kas gevşemesini etkilediği ve koroner arter hastalığı (KAH), hipertansiyon (HT) ve pulmoner ödem gibi bazı bozuklukları tetiklediği veya şiddetini artırdığı bazı çalışmalarla ortaya konmuştur (3,4,5). Bu bulgular, ereksiyonun temel mediatörü olan NO’nun üretim ve fonksiyonuna etkisi açısından eNOS gen polimorfizminin ED’deki önemini gündeme getirmektedir.

Bu çalışmadaki amacımız , vasküler ED’li hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda , eNOS gen polimorfizmini araştırarak, ED’nin oluşum süreci ve şiddetinde eNOS gen polimorfizminin olası rolünü belirlemektir.

GENEL BİLGİLER

PENİSİN ANATOMİSİ

Penis, silindirik şekilli bir çift kavernöz cisim ve bir adet spongiöz (süngerimsi) cisimden oluşur. Bu cisimlerin arasında gevşek ciltaltı dokusu ve ciltle kaplı olan üretra bulunur. Kavernöz cisimler proksimalde simfizis pubise yapışık olup, bunların proksimal uzantılarına krus denir. İki kavernöz cisim arasında distal $\frac{3}{4}$ 'lük bölümde septum bulunur. Septum dorsal kenarda pektiniform septum ile perfore olur ve bu iki kavernöz cisim arasında kanın serbest geçişine izin verir. Kruşlar proksimalde kör olarak sonlanırken, distalde glansa açılırlar. Her 3 cisim de tunika albuginea ile çevrilidir (şekil 1) (6).

Penisin tabakaları:

Penis dıştan içe ; cilt, yüzeysel tabaka (dartos ve colles fasyaları), tela subfacialis (Eberth), derin tabaka (Buck fasyası), tunika albuginea ile spongiöz ve kavernöz cisimlerden oluşur.

Penis gövdesini çevreleyen cilt, korona bölgesinde smegma salgılayan glandüler yapılar hariç, yağ dokusu, glandüler eleman ve kıl folikülü içermez. Cilt, dartos fasyasına gevşek olarak yapışır ve yağ dokusunun da olmamasıyla son derece elastik bir yapı halindedir.

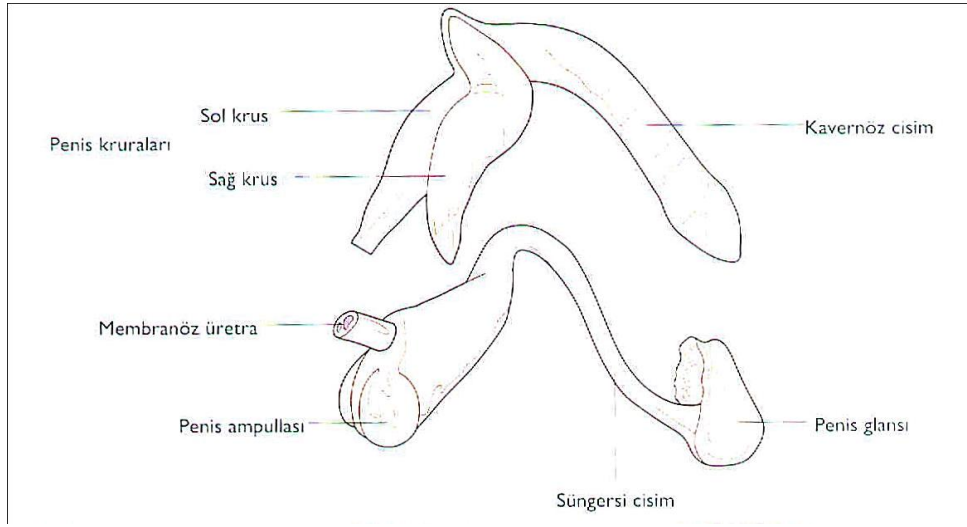
Dartos fasyası kasık ve perinenin yüzeysel fasyasının devamıdır , posteriorde Colles fasyası olarak belirir, iskiokavernöz ve bulbospongiöz kasları çevreler. Yüzeysel penil arter ve venler bu gevşek ve mobil tabaka içindedir.

Tela subfacialis (Eberth), dartos ve colles fasyalarının altında ince bir yağ dokusu olup penis kökünde belirgindir ve kavernöz arter, ven ve sinirin ekstrakorporeal kısmını çevreler.

Buck fasyası; sert ve elastik bir tabakadır. Her iki kavernöz cismi beraber, spongiöz cismi ise ayrı olarak sarar ve perineal yüze uzanır. Altında derin dorsal ven, arter ve sinir vardır. Yüzeyde iskiokavernöz ve bulbokavernöz kasların fasyası, derinde ise tunika albuginea ile yapışıktır. Glans penis proksimalinde sulkus hizasında tunika albuginea ile birleşir.

Tunika albuginea; en derin tabakadır, her iki kavernöz cismi ve spongiöz cismi ayrı ayrı olarak sarar. Penise fleksibilite, rijidite ve güç sağlayan bir yapıdır (7,8). Kavernöz cismi çevreleyen t. albuginea 2 ana tabakadan oluşur. Sirküler liflere sahip iç tabaka kavernöz dokuyu barındırır ve destekler. Bu tabakadan içeri yayılan septal uzantılar bu destekte önemli rol oynar. Dış tabakanın lifleri longitudinal seyrederek, glans penisten proksimal krusa kadar uzanarak ramus pubis inferiora bağlanır. Spongiöz cisimde ise dış tabaka ve septal uzantılar bulunmaz. Bu ereksiyon sırasında daha düşük basınçlı bir yapı sağlar. Histolojik olarak tunika düzensiz yerleşimli bir elastik ağ ve bunu üzerindeki kollajen liflerden oluşur (7).

Kavernöz cisim; bir çift süngerimsi, silindirik yapıdır. Proksimal ucu puboiskial kemiğin altından 2 ayrı yapı halinde köken alır ama pubik arkın altında birleşerek glansa kadar devam ederek tutunur. İki kavernöz cisim arasındaki septum tam değildir. Kavernöz cisimler; t. albuginea, septum, intrakavernöz uzantılar, intrakavernöz fibröz ağ ile periarteriyel ve perinöral fibröz kılıftan oluşan bir fibröz iskelet tarafından desteklenir (7). Tunikanın içinde yer alan birbiri ile bağlantılı sinüzoidler düz kas trabeküllerince ayrılır. Kavernöz sinir uçları ve helisin arterler bu kas dokusu ile bağlantılıdır. Sinüzoidler endotel hücrelerle kaplıdır.



Şekil 1: Penisin Yapısı.

Penisin Arteriyel Sistemi

Penisin arterleri iki kaynaktan gelir:

- 1) Yüzeysel arteriyel sistem (eksternal pudental arterden)
- 2) Derin arteriyel sistem (internal pudental arter)

Yüzeysel arteriyel sistem; Penis cildi ve prepusyumun yüzeysel kısmını kanlandırır.

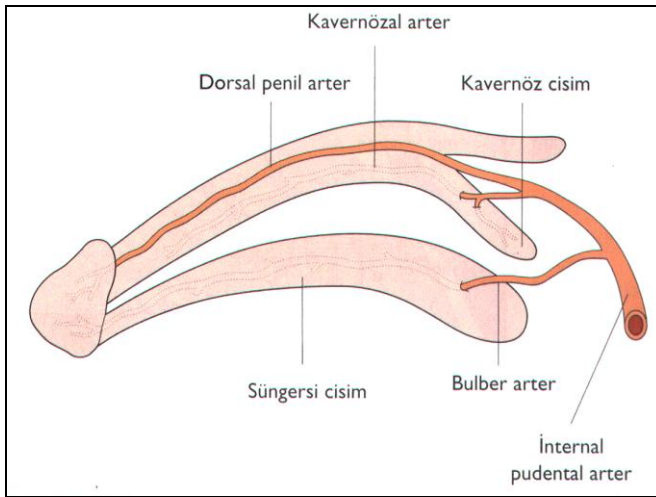
Femoral arterden dallanan eksternal pudental arter yüzeysel penil arter dalını verir. Penis kökünün her iki lateralinde simetrik olarak giriş yapan ve uzunlamasına seyreden bu arter koronal sulkusta derin sistem ile anastomoz yapar.

Derin arteriyel sistemi ise internal iliak arterin bir dalı olan internal pudental arter oluşturur. Bunun dışında eksternal iliak, obturator, vezikal ve femoral arterlerden gelen aksesuar dallar da olabilir. Her iki internal pudental arter simetrik olarak Alcock kanalında perineye bir dal verdikten sonra penil arter adına alır ve 3 dala ayrılır: Dorsal arter, bulboüretral arter ve kavernöz arter (şekil 2) (6,9).

Bulboüretral arter int. pudental arterden çıkan ilk dal olup bulbus, spongiöz cisim ve glansı kanlandırır. Kavernöz krusun dorsomedialinde, kavernöz venin lateralindedir. Proksimal krural bileşkede kavernöz cisme girer. Distale doğru seyri sırasında birçok helisin arter isimli dallar verir. Helisin arterler trabeküler erektil dokuyu ve sinuzoidleri kanlandırır. Bu arterler penis flask halde iken kasılı ve boğumlu, penis ereksiyonda iken ise düz ve genişlemiş halde bulunur.

Dorsal arter, penis dorsolateralinde glansa kadar seyrederek, medialde dorsal vene lateralde dorsal sinire komşudur. Glans, dorsal arterden beslenir. Dolayısıyla ereksiyon sırasında kavernöz arter kavernöz cisimde rijitite sağlarken dorsal arter de glanst dolgunluk ve hacim artışı sağlar.

Distalde internal pudental arterin bu üç dalı tekrar birleşir ve koronal sulkus düzeyinde vasküler bir halka oluşturur.



Şekil 2: Penisin Arterleri.

Özetle penisin temel arteri, internal iliak arterin dalı olan internal pudental arterdir. Bu arter hem penisin beslenmesinden hem de ereksiyondan sorumludur. İnternal pudental arter perineal dalı verdikten sonra, penil arter adını alır ve ramus pubisin medial kenarında uzanarak bulber ve üretral dalları verir. Ardından sirkümfleks ve kavernöz arter dallarını verdikten sonra, derin dorsal venin her iki lateralinde dorsal ven adını alarak ilerler ve sonlanır. Dorsal ven, esas olarak glans penis ve kavernöz cismi drene eder. Cilt ve prepsiyumu ise temel olarak yüzeysel penil arter besler. Kavernöz arter sıklıkla penil arterin bir dalı olmakla birlikte, bazen aksesuar pudental arter gibi değişik arterlerden de çıkabilir. Bu arter direkt olarak kavernöz cismin içinde orta hatta seyrederek. Bu sırada kavernöz boşluklara helisin arter adıyla çok sayıda dal verir.

Penisin Venöz Drenajı

Her 3 korpusun venöz drenajı tunika albugenianın hemen altında periferik sinüzoidlerden ince venüller olarak başlar. Subtunikal venüler pleksusu oluştururlar ve emisser ven olarak tunikayı delerek çıkarlar.

Yüzeyel, intermediat ve derin venöz sistem olarak 3 ven sistemi vardır.

Yüzeyel ven sistemi penil cilt, prepusyum ve subkutan dokudan çıkan çok sayıda yüzeyel ven tarafından oluşturulur. Bunlar Yüzeyel fasya altında seyrederek tek veya iki yüzeyel dorsal ven olarak birleşir ve safenöz ve/veya eksternal süperfisiyel pudendal vene dökülür

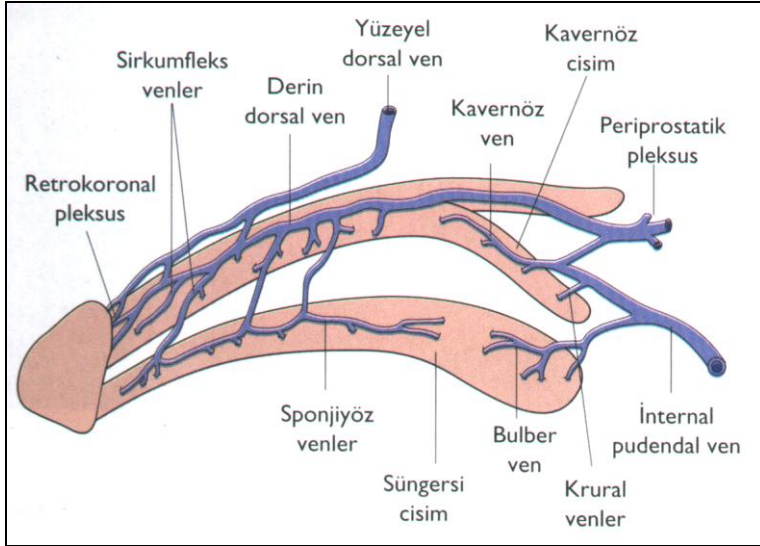
İntermediat sistem Buck fasyası altında bulunan, derin dorsal ven ile sirkümfleks venleri kapsar. Bu venler glans, spongiöz cisim ve kavernöz cismin distal 2/3'lük kısmının venöz drenajını sağlar. Glanstan çıkan çok sayıda küçük ven retrokoronal pleksus yolu ile derin dorsal vene dökülür. Korpuslarda emisser venler sirkümfleks venlerle birleşir. Bunlar Buck fasyası altında ilerleyip oblik olarak derin dorsal vene dökülür. derin dorsal ven, suspansuar ligament ve puboprostatik ligamentler arasından geçtikten sonra prostatik pleksusla birleşir ve internal pudendal vene dökülür.

Derin ven sistemi ise krural, bulber ve kavernözal venlerden oluşur. Bu venler spongiöz cisim ve kavernözal yapıların daha çok proksimal kısmının venöz drenajını sağlar ve emisser ven olarak direkt kavernöz venlere dökülür. Subalbugineal venüler pleksusu oluşturan kılcal damarlar da daha sonra emisser venlere dökülerek ikinci bir derin venöz dolaşım sağlar. Kavernöz venler, kruslar hizasında ana kavernöz veni/venleri oluşturur. Bunlar İnternal pudendal vene , oradan da internal iliak vene dökülürler (şekil 3) (6,10).

Erektile Doku ve İntrakavernözal Hemodinami

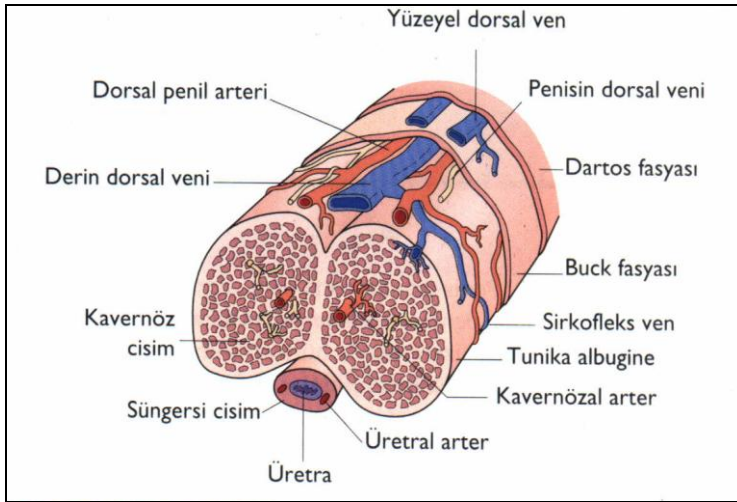
Korpus kavernözünün fibröz iskeleti tunika albugineanın yüzeyel liflerinin yanı sıra, sirküler liflerinin oluşturduğu intrakorporeal kollajen sütunlar ile periarteriyel ve perinöral fibröz kılıflarla oluşturulmaktadır. İntrakavernöz düz kaslar da bu yapıya katkıda bulunur. Bu intrakavernöz iskelet ereksiyon sırasında incelen tunikaya önemli destek sağlar.

Erektile dokunun kan akımı dorsal, kavernöz ve bulboüretal arterler ile sağlanır. Kavernöz arter korpus kavernözünün içinde ereksiyonu sağlayan ve direkt olarak sinüzoidlere açılan helisin arterler dışında kavernöz dokuyu besleyen başka dallar da verir. Helisin arterlerin genişlemesiyle sinüzoidal boşlukları dolduran kanın drenajı, postkavernöz venüllere, subalbugineal pleksusa ,oradan da emisser venlere doğru olur. Emisser venler de sirkümfleks venlere ve derin dorsal vene doğru devam eder (6,7).



Şekil 3: Penisin venöz drenajı.

Ereksiyonda, arteriolar ve sinüzoidal düz kaslar gevşer, kavernöz boşluk ve kavernöz cisim genişler, tunika albuginea gerginleşir. Bunun sonucunda; subalbugineal venöz pleksus üzerinde basınç oluşur, venöz dönüşü azalarak ve ereksiyonun devamı sağlanır.



Şekil 4: Penisin yapısal anatomisi

Spongiöz cismin sinüzoidal boşlukları, özellikle glans peniste olmak üzere daha geniştir ve daha az kas kitlesi içerir. Ayrıca kendisini çevreleyen tunika albuginea daha incedir ve emisser ven içermez. Glans peniste tunikal kılıf hiç yoktur ve sinüzoidlerle yüzeysel epidermis arasında çok az fibröz doku bulunur.

Eleman	Fonksiyon
Kavernöz Cisim	Spongiöz cisim ve glansı destekler
Tonika albuginea	Eretil dokuyu sarar ve korur Kavernöz cismin rijititesini sağlar Veno-oklüzif mekanizmaya katkıda bulunur
Düz Kas	Sinuzoidlere olan kan giriş-çıkışını düzenler
İskiokavernöz Kas	Distale kan pompalıyarak ereksiyonu hızlandırır Rijit ereksiyon fazında rijititeye katkı sağlar
Bulbokavernöz Kas	Bulbusa baskı yaparak semenin atılımına yardım eder
Spongiöz Cisim	Basınç yaparak semenin üretradan atılımına yardım eder
Glans	Penisin dışı organlarla teması sırasında yastık görevi yaparak teması yumuşatır Duyusal algı yolu ile ereksiyonu ve cinsel tatmini artırır Konik şekli ile koitusu kolaylaştırır

Tablo 1: Ereksiyon sırasında penil elemanların fonksiyonu

Bu farklılıklar, ereksiyon sırasında spongiöz dokunun kavernöz doku kadar rijit olmamasına neden olur (11). Ereksiyon sırasında penil elemanların fonksiyonu tablo1’de özetlenmiştir.

Penisin Lenfatik Drenajı

Penis cildinin lenfatik drenajı subinguinal ve süperfisyal inguinal lenfatiklere, glans penis ve spongiöz cismin lenfatik drenajı ise femoral üçgenden derin inguinal lenfatiklere olur.

Penisin Nöroanatomisi

Penisin hem otonom (parasempatik ve sempatik) hem de somatik (duyusal ve motor) innervasyonu vardır.

A. Otonomik İnnervasyon :

1. Parasempatik Akım : Ana proerektıl yol parasempatik sistem içindedir. Parasempatik lifler medulla spinalisin intermediolateral kolonundan Sakral 2-4 (S2-4) seviyesinde çıkar. Bu lifler daha sonra iki dal halinde seyreder. Bunlardan parasempatik lifleri taşıyan nervus erigenti (pelvik sinir), somatik lifleri taşıyan ise pudendal sinir adını alır. N. erigenti'nin çoğunluğunu parasempatik lifler oluşturmakla birlikte , çok az miktarda sakral sempatik lifler de içerir. Bu lifler n. erigenti tarafından pelvik pleksusa taşınır.
2. Sempatik Akım: Antierektıldir. Sempatik sinirler, spinal kordun torakal 12 ve lomber 2 (T12-L2) spinal seviyelerinden preganglionik sempatik nöronlarla başlar ve paravertebral sempatik zincir ile süperior hipogastrik pleksusa , oradan da hipogastrik sinirler olarak pelvik pleksusa ulaşırlar.

Pelvik pleksus ürogenital sistem ile rektumun arasında her iki tarafta pelvik fasyanın içinde bulunan 4-5 cm boyutunda bir sinir ağıdır. Burada Parasempatik ve sempatik lifler kavernoöz siniri oluştururlar. Kavernoöz sinirler pelvik pleksustan ayrılarak bilateral olarak prostatın posterolateralinden saat 5-7 hizasından geçip membranöz üretra seviyesine ulaşır, bu noktada saat 3-9 hizasından ürogenital diyaframı geçerek spongiöz ve kavernoöz cisme girerek, erektıl dokular içinde minör dallara ayrılırlar. Bu minör dallar helisin arterleri ve erektıl dokuyu innerve eder.

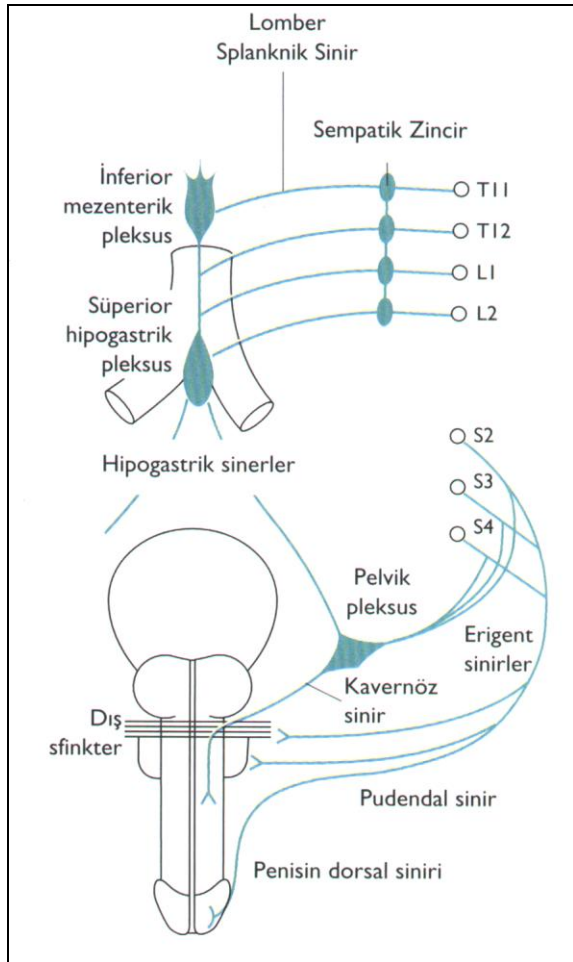
B. Somatik İnnervasyon :

1. Motor sinirler : Somatik motor sinir S2-4 segmentler arasındaki merkezden, ön boynuzdaki nükleus Onuf'dan çıkar ve pudendal sinire katılarak iskiokavernoöz ve bulbokavernoöz kasları innerve eder. İskiokavernoöz kasın kasılması rijit ereksiyon fazına katkıda bulunurken, bulbokavernoöz kasın ritmik kasılması ejakulasyonu sağlar.
2. Duyusal sinirler : Pudendal sinir motor dalları verdikten dorsal penil sinir olarak penis dorsolateralinde seyreder ve glansa kadar ulaşarak innervasyon yapar. Böylece

penis derisi ve glanstaki reseptörlerden çıkan uyarılar Pudental sinir içinde S2-4'deki merkeze gelirler. (9,11,12).

Penisin duysal sinirlerinin özel karakteristikleri vardır; Glans penisin reseptör yoğunluğu vücudun diğer bölümlerinden daha yüksektir ve sinirlerin çoğunun uçları serbesttir. Fizyolojik açıdan glansın reseptörleri, karşıt özellikleri içeren kılsız deri ile karşılaştırıldığında yüksek bir dokunma ve düşük bir ağrı eşiğine sahiptir. Duyu eşiği, penetrasyonda olduğu gibi ısı ile birlikte değişebilmektedir. Afferent uyarılar asıl olarak dorsal penil sinir ve pudental sinir içindeki Aδ ve C lifleriyle taşınır (8).

C. Potansiyel Prorektıl Yollar : Mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte hipogastrik sinirle taşındığı düşünülmektedir.



Şekil 5: Penis sinir innervasyonu

EREKSİYONUN FİZYOLOJİSİ

Ereksiyonun Hemodinamiği

Penil ereksiyon, sinir sistemiyle (santral, spinal, periferik) lokal faktörlerin (sinüzoidal düz kaslar ve endotel) arasındaki etkileşimler sonucunda gelişen nörotransmitterlerin aracılık ettiği hemodinamik bir olaylar zinciridir.. Bu zincirde özellikle kavernoözal düz kas dokusu ile arteriol ve arterial duvardaki düz kas dokuları anahtar rol üstlenir. Normal ereksiyon iki fonksiyonun entegrasyonuna bağlıdır (14).

- 1) Kavernoözal arter ve trabeküler düz kasların tam gevşemesiyle sinüzoidal boşluklara kan girişinin artması
- 2) Gevşeyen ve dolan sinüzoidal boşlukların tunika albugineanın altındaki subtunikal venülleri sıkıştırması ve fibroelastik tunika albugineayı gererek emisser venleri de komprese etmesi

Bu durumda penisin ilk dolumu için arteriyel ve trabeküler genişleme gerekirken kavernoöz cisim içindeki basıncın artması yani rijit ereksiyon için venöz dönüşün engellenmesi gerekmektedir. Venöz dönüşün engellenmesi için bu mekanik fonksiyon dışında başka mekanizmaların da rol oynadığı öne sürülmüştür (15).

Aktif Venöz Kasılma: Özellikle emisser venler etrafında Nöropeptid Y bulunmakta ve aktif venöz kasılmaya neden olarak katkıda bulunmaktadır.

Trombosit tıkaçları: Elektron mikroskobu ile yapılan bazı çalışmalar, arter ve venlerin çevresinde polster isimli kas yastıkları olduğunu ve bunların sinerjistik kasılma ve gevşemeleri ile tımesans ve detımesansa katkıda bulunduğunu düşündürmektedir.

Perineal Çizgili Kasların Kasılması: Ereksiyonun rijiditesini artırmada venöz dönüşü engelleyerek katkıda bulunurlar. Buna başta iskiokavernoöz ve bulbokavernoöz kaslar olmak üzere tüm perine taban kasları katılır.

Penis flask durumdayken intrensek düz kas tonusu ve adrenerjik tonik deşarja bağlı olarak sinüzoidal düz kaslar belirli bir tonusla kontrakte haldedir. Bu durum yüksek periferik dirence ve dolayısıyla sadece doku beslenmesini sağlayacak düzeyde düşük arteriyel akıma yol açar.

Artmış arteriyel akım, sinüzoidal relaksasyon ve artmış venöz dönüş rezistansı penil ereksiyon için gerekli temel olaylardır. Cinsel uyarılma üzerine, sinir impulsları, kavernoöz sinir uçlarından bir takım nörotransmitterler ve penisteki endotel hücrelerden gevşetici faktörlerin salınmasına yol açar. Bunlar da erektıl dokuyu besleyen arter ve arteriollerdeki düz kasların gevşemesine neden olur. Sonuçta penisteki kan akımı artar ve trabeküler düz kasların gevşemesi de sinüzoidlerin kompliyansını artırır. Genişleyen sinüzoidler ile tunika albuginea arasına sıkışan subtunikal venüller, venöz dönüşün kesilmesine neden olur . Sonuçta arteriyel

ve venöz akım arasındaki denge arteriyel yönünde artar ve penis ereksiyona geçer. Detümesansa geçiş ise uyarının sona ermesi ve sempatik aktivasyonun geri dönmesiyle nörotransmitter salınımının durması ve ikincil mesajcıların fosfodiesteraz (PDE)lar tarafından yıkılması ile olur. Trabeküler düz kasın kasılması venöz dönüşün açılmasına neden olur ve penis yeniden flask hale döner (şekil 6,7).

Tom Lue ve ark. tarafından ereksiyonun 8 fazı tanımlanmıştır (16):

0) Flask Faz: Bu dönemde sempatik sistem baskındır. Trabeküler düz kas hücreleri kontrakte ve arteriyel kan akımı 15 cm/sn'nin altındadır. Sinüzoidler boş ve kan gazı değerleri sistemik venöz kan değerlerine yakındır.

1) Doluş Fazı: Parasempatik uyarı ile arteriyel dilatasyon ve kan akımı artışı olur. Trabeküler relaksasyonla sinüzoidler dolmaya başlar fakat intrakavernözal basınç hala düşüktür. Peniste uzama başlar.

2) Tümesans Fazı: İntrakavernözal basınç artmaya devam ederek diastolik basıncın üzerine çıkar, bu nedenle sadece sistolde dolmaya devam eder. Sinüzoidler genişler ve subtunikal venöz pleksusa bası yapmaya başlar. Penis maksimal uzunluğa ulaşır.

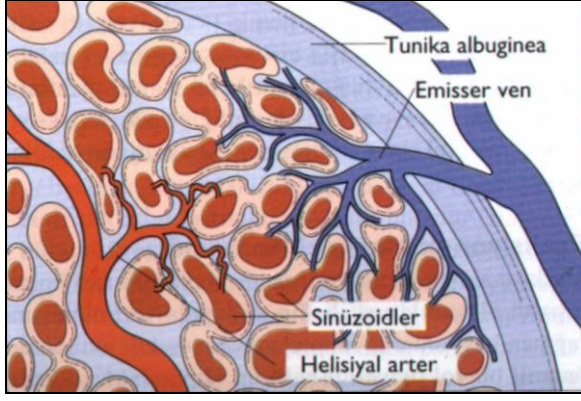
3) Tam Ereksiyon Fazı: İntrakavernözal basınç sistolik basıncın %90'ına kadar artmaya devam eder. Arteriyel akım azalır ama yine de flask fazdakinden fazladır. Sinüzoidler genişleyerek subtunikal venöz pleksusa daha fazla baskı yapar. Kan gazı değerleri arteriyel kan değerlerine benzer seviyededir.

4) Rijit Ereksiyon fazı: Pudental sinirin etkisi altında iskiokavernöz kasın kasılmasıyla intrakavernözal basınç sistolik basıncın üzerine çıkar. Kavernözal arter akımı kesilir ancak bu dönem kısa sürdüğü için iskemi veya nekroz oluşmaz.

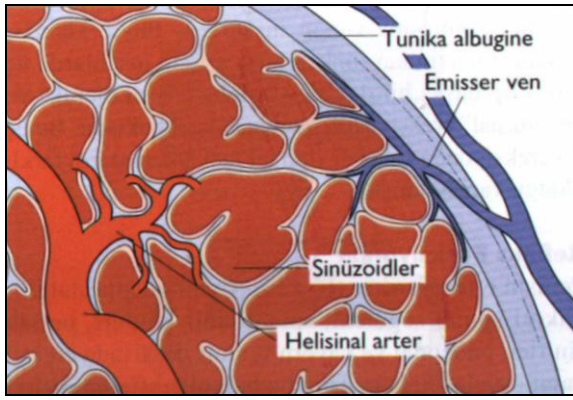
5) Başlangıç Detümesans Fazı: Muhtemelen kapalı venöz dönüşü karşı sempatik uyarıyla oluşan geçici intrakavernözal basınç değişimleri görülür.

6) Yavaş Detümesans Fazı: Trabeküler düz kaslar kasılır, helisin arterioller daralır, intrakavernözal basınç düşer, subtunikal venler üzerindeki bası azaldığı için venöz dönüş artar.

7) Hızlı Detümesans Fazı: Sempatik uyarı, artmış venöz dönüş ile birlikte arteriyel akım ve intrakavernözal basınçta hızlı bir düşüşe neden olur. Sonunda penis flask hal alır.



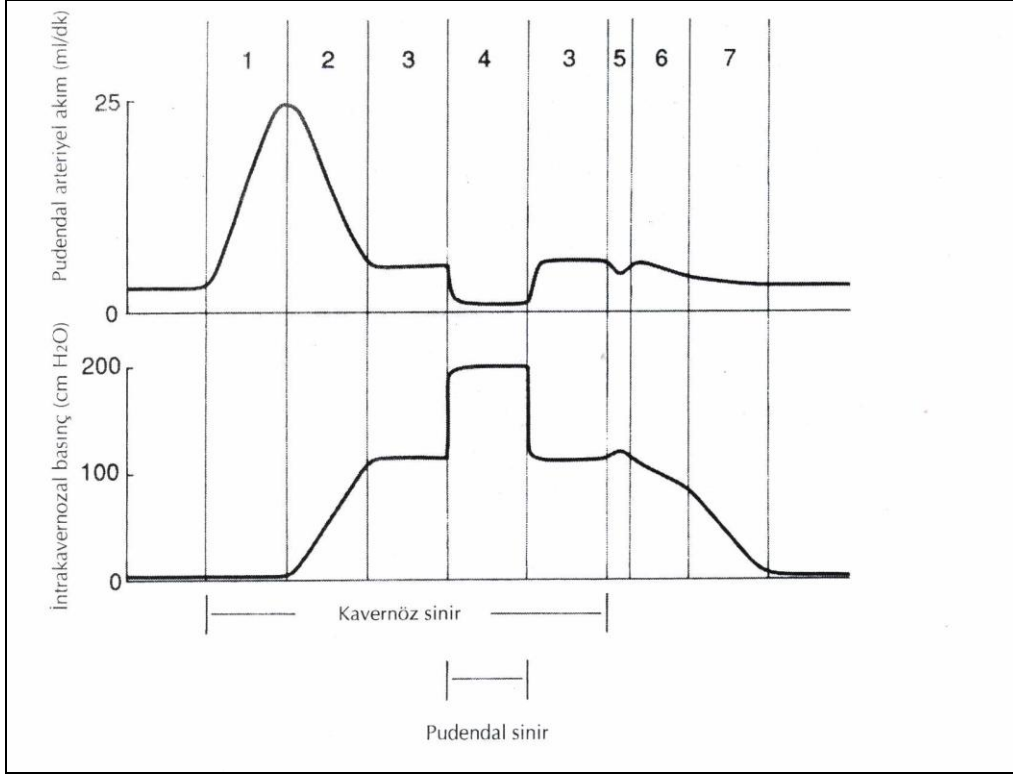
Şekil 6: Penis flask haldeyken; Penil düz kas kontrakte, kavernoza sinüzoidler boş, emisser venler açık ve helisinal arterler daralmıştır.



Şekil 7 : Penis ereksiyon halindeyken; Penil düz kas gevşemiş, kavernoza sinüzoidler dolu, helisinal arterler geniş ve emisser venler sıkışmıştır.

Ereksiyon sırasında spongiöz cisim ve glansın hemodinamiği kavernöz cisimden farklılık gösterir. Arteriyel kan akımı benzer şekilde artmasına rağmen basınç kavernöz cisimdeki 1/2-1/3'ü kadardır. Bunun nedeni spongiöz cisimde tunika albugineanın daha ince olması ve glansta hiç olmaması, dolayısıyla kavernöz cisimdeki gibi etkin venöz bası yapmamasıdır.

Tam ereksiyon fazında derin dorsal ven ve sirkümfleks venlerin Bucks fasyası ve kavernöz cisim tarafından komprese edilmesi ile glansta belirgin tümşans sağlansa da, glans ve spongiöz cisim bu fazda temelde büyük bir arteriovenöz şant olarak işlev görür. Rijit ereksiyon fazında, iskiokavernöz ve bulbokavernöz kasların spongiöz cismi ve penil venleri kompresyonu ile glans ve spongiöz cisimdeki basınç artar (16).



Şekil 8: Penil ereksiyon ve detümesans fazlarında kan akımı ve intrakavernöz basınç değişiklikleri

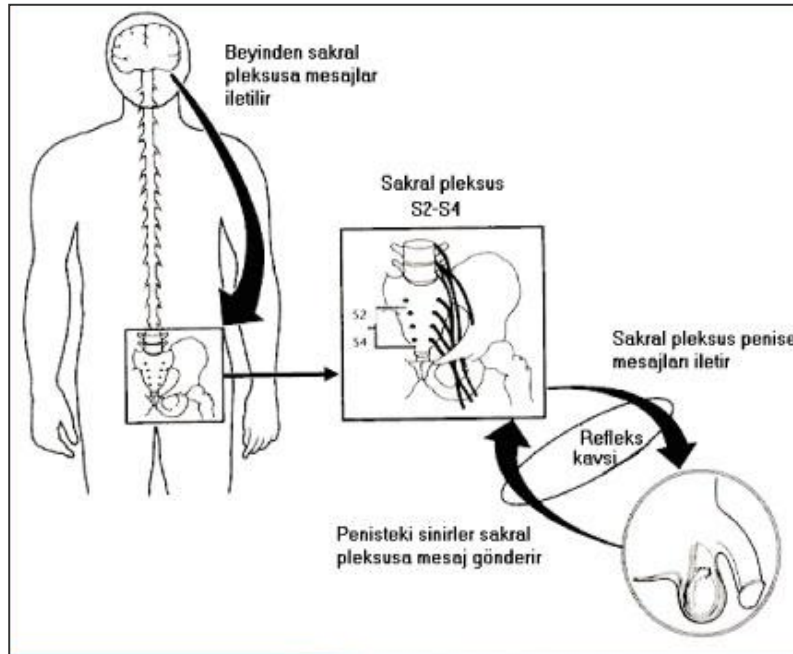
Düz Kas Fizyolojisi

In vivo ve in vitro olarak spontan kavernoözal düz kas kasılması olmaktadır. Mandrek, tavşan kavernoöz cisimde membran potansiyal dalgalanmalarının eşlik ettiği 6-30 kontraksiyon/dakika frekanslı spontan mekanik aktivite göstermiştir (17). Yarnitsky ve ark. yaptıkları bir insan çalışmasında spontan ve aktivite uyarmalı olarak iki çeşit elektriksel aktivite bulmuştur (18). Levin ve ark. in vivo yaptıkları bir çalışma ile hücre içi enerjinin başta artıp sonradan azaldığını düşündürecek şekilde, spontan kontraktıl aktivitenin hücre içi kalsiyumun fazik artışı ve NADH/NAD oranının bifazik değişimi ile paralellik gösterdiğini bildirmiştir (19). Italiano ve ark. ise penisin fazik kasılmasının Na-K-ATPaz enzimi üzerinden olduğunu, dinlenme tonusunun ise prostoglandin F2 α salınımı ile endotel tarafından sağlandığını öne sürmüştür (20). Düşük frekanslı uyarı ile hücre içi kalsiyum ve tonus azalmakta, yüksek frekanslı uyarım ile ise tonus ve hücre içi kalsiyum artmaktadır. Genelde farmakolojik ajanlara verilen cevap hücre içi kalsiyum ile ilişkilidir: Örneğin fenilefrin kas kontraksiyonu ve hücre içi kalsiyum artışı yaparken, nitroprussid tersine sebep olmaktadır. Di Santo ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada kavernoöz cisimdeki düz kas hücrelerinin tonik kasılma karakterli aort kasları ile fazik karakterli mesane düz kasının arasında bir miyozin izoform kompozisyonuna sahip olduğunu rapor etmiştir (21).

Ereksiyonun Nörofizyolojisi

Ereksiyonun Santral Kontrolü

Ereksiyonun nörofizyolojisi özellikle son yıllardaki çalışmalarda nispeten aydınlatılmışsa da özellikle merkezi mekanizmalar hala soru işaretleri ile doludur. Beyin, genel olarak spinal ereksiyon merkezleri üzerinde düzenleyici etki yapar. Hipotalamus ve limbik sistem, ventral talamus, tegmentum, lateral substansia nigra, ventrolateral pons ve medulla bu önemli merkezlerin başlıcalarıdır. Yapılan hayvan çalışmaları, özellikle hipotalamustaki medial preoptik alan (MPOA) ve paraventriküler çekirdek ile hippokampusun , seksüel fonksiyon ve penil ereksiyon için önemli entegrasyon merkezleri olduğunu ortaya koymaktadır. Bu merkezlerden çıkan lifler , penisi innerve eden spinal merkezlere uzanmaktadır. Bu alanın elektro-uyarımı ereksiyonu uyarırken, lezyonları seksüel güdüyü azaltmaktadır. Marson ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada sıçanda kavernoöz cisme enjekte edilen psödorabies virüsüne pelvik gangliondan spinal kord, beyin kökü ve hipotalamusa kadar olan sinirlerde de rastlanması bu merkezlerle kavernoöz cismin sinirsel ilişkisini desteklemektedir (22). MPOA'dan çıkan efferent sinirler medial ön beyin demetlerine ve orta beyin tegmental bölgeye girmektedir. Nitekim bu alanlardaki lezyonlar da (Örneğin Parkinson hastalığı, serebrovasküler olaylar) ED ile belirgin olarak ilişkili bulunmuştur (23).



Şekil 9: Ereksiyonda rol oynayan sinirsel uyarı yolu

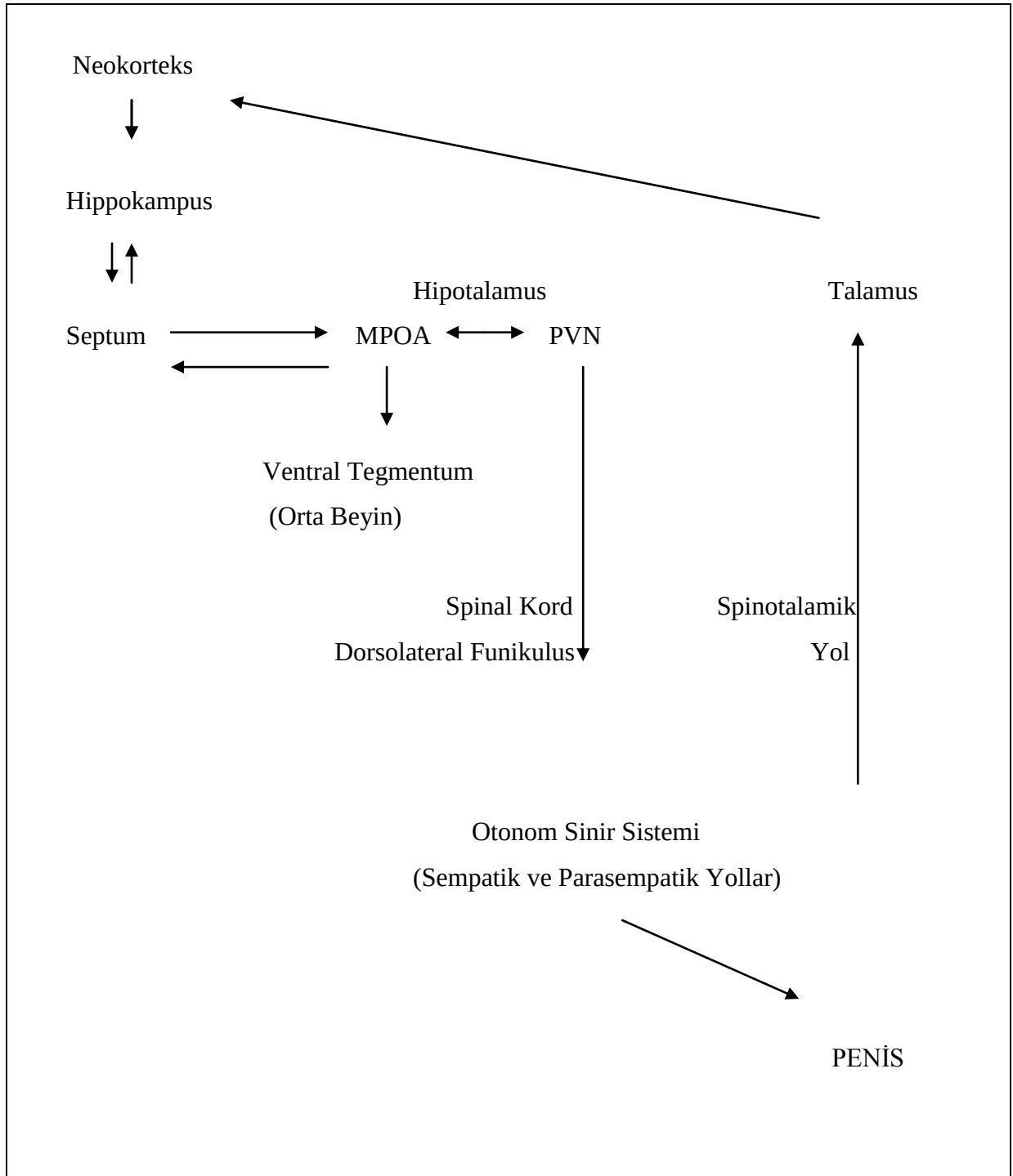
MPOA'da aralarında dopamin, norepinefrin ve serotoninin de olduğu bir çok nörotransmitter tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar dopaminerjik ve adrenerjik reseptörlerin

seksüel dürtüyü artırdığı, serotonin reseptörlerinin ise azalttığını öne sürmektedir. Klinik gözlemler de dopaminerjik uyarının libidoyu artırdığını ve ereksiyonu kolaylaştırdığını göstermektedir. Bunun önemli bir kanıtı , dopaminerjik mekanizma üzerinden etki eden apomorfinin dopaminerjik D1 ve D2 reseptörlerini uyararak ereksiyon sağlamasıdır.

MPOA'daki $\alpha 2$ -adrenoreseptörlerin aktivasyonu seksüel dürtüyü azaltır. Nitekim bir $\alpha 2$ -adrenoreseptör antagonisti olan yohimbin ED'nin tedavisinde yıllardır sınırlı da olsa kullanılmaktadır. Artmış prolaktin seviyelerinin dopaminerjik antagonizma mekanizmasıyla seksüel fonksiyonu baskılamaktadır. Sıçanlarda paraventriküler bölgeye enjekte edilen oksitosinin ereksiyona neden olması proerektıl olduğunu düşündürür. Yine insanlarda melanosit stimulan hormonun (MSH) benzer etkisi vardır (23).

<u>Seviye</u>	<u>Bölge</u>	<u>Fonksiyon</u>
Önbeyin	medial amydala	seksüel motivasyon kontrolü
	Stria terminalis	
	Piriform korteks	seksüel dürtü kontrolü (lezyonu halinde hiperseksüalite)
	Hippokampus	penil ereksiyonda yer alır
	Sağ insula ve alt frontal korteks	görsel seksüel uyarıda artmış aktivite
Hipotalamus	MPOA	seksüel partneri tanıma, hormona ve duyuusal verilerin entegrasyonu
	PVN	penil ereksiyonun desteklenmesi (lumbosakral spinal merkeze oksitosin nöron uyarımı ile)
Beyin Kökü	nukleus	
	paragigantoselülaris	penil ereksiyon inhibisyonu (lumbosakral spinal sinirlere ve internöronlara serotonerjik nöronlar yolu ile)
	A5 katekolamin hücre grubu,	
	Lokus coeruleus	perineal çizgili kaslara giden ön boynuz motor nöronların noradrenerjik inervasyonu
Orta Beyin	periakvaduktal gri cisim	seksüel uyarıların değerlendirilmesi

Tablo 2. Seksüel Fonksiyonda Yer Alan Beyin Merkezleri



Şekil 8: Ereksiyonda Yeralan Ana Santral Yollar

Özetle bulbus (Nukleus paragigantoseleülaris) ve hipotalamus (Paraventriküler nükleus- PVN- ve median preoptik alan –MPOA-) ereksiyonun sempatik ve parasempatik kontrolünde rol alır. MPOA refleks ereksiyonların supraspinal olarak ayarlanmasında rol oynar. Korteks penil orjinli duysal verileri alır. Bu çekirdeklerden çıkan birçok inen yol penisi innerve eden spinal çekirdekler içine uzanır. Bu yollarda rol alan nörotransmitterler olasılıkla; katekolaminler, 5-hidroksitriptamin (Serotonin), γ -amino butirik asit (GABA), oksitosin,

Transmitter	Reseptör	İkincil Mesajcı	Seksüel/Eretil Davranışa Yaptığı Farmakolojik Etki
Dopamin	D1	Adenilat siklazı aktifler ($\uparrow$ cAMP $\rightarrow$ uyarıcı)	artırır
	D2	Adenilat siklazı inhibe eder ($\downarrow$ cAMP $\rightarrow$ inhibitör)	?
Epinefrin (beyin sapı, özellikle medullada)	$\alpha 1$ (postsinaptik)	($\uparrow$ hücre içi Ca)	İnhibe eder
Norepinefrin (En yoğun lokus ceruleusta)	$\alpha 2$ (pre-ve postsinaptik)	Adenilat siklazı inhibe eder ($\downarrow$ cAMP $\rightarrow$ inhibitör)	İnhibe eder
Serotonin	5HT _{1A} 5HT _{1B} 5HT _{1C} 5HT _{1D} 5HT ₂	$\downarrow$ cAMP $\downarrow$ cAMP $\uparrow$ fosfotidilinositol yıkımı 5HTC1-C'ye benzer Hücreye Na ve Ca girişi $\uparrow$	Artırır/inhibe eder Artırır/inhibe eder Artırır(direkt uyarımı ereksiyona neden olur Ereksiyonu İnhibe eder, emisyon ve ejakulasyona yardımcı olur Artırır/inhibe eder
Asetilkolin (somatik ve viseral çekirdeklerde)	Ach Nikotinik Muskarinik	G-protein üzerinden etkir	Artırır
Enkefalinler			İnhibe eder (oksitosinerjik inhibisyon ile)
GABA	GABA _A GABA _B	C1 kanallarını açar, diğer nörotransmitterlerin salınımı $\downarrow$	İnhibe eder
Oksitosin			Artırır
Prolaktin			İnhibe eder (MPOA'da dopaninerjik antagonizma)

Tablo 3:Penil ereksiyonda rol alan santral nörotransmitterler

prolaktin, melanosit uyarıcı hormon (MSH), adrenokortikotropin (ACTH) ve afyon alkaloidleridir.

Medulla Spinalis penis ve ilgili çizgili kaslara giden afferent parasempatik, sempatik ve somatik yolların çıkış kaynağı ve glanstan ya da yukarı merkezlerden gelen uyarıların dağıtım istasyonudur. Dolayısıyla refleks arkın tamamlanması MS'deki ereksiyon merkezinin sağlam olmasına bağlıdır.

Fonksiyonel olarak 3 ayrı ereksiyon tipi vardır.

Refleks Ereksiyon: Genital bölgenin taktıl uyarımı ile oluşur. Bu afferent uyarılar sırasıyla dorsal penil sinir, pudental sinir, oradan spinal ereksiyon merkezine, daha sonra da duyuşal algı merkezine ulaşır. Efferent otonomik nükleus uyarımı kavernöz ve dorsal sinirlerle penise ulaştırılarak ereksiyon sağlanır. Bu tip ereksiyon üst spinal kord hasarı olan hastalarda varlığını devam ettirir.

Psikojenik Ereksiyon: Fantezi veya görsel-işitsel uyarılardan kaynaklanır. Bu uyarılar beyindeki düzenleyici merkezlerde değerlendirilir ve efferent uyarı olarak spinal ereksiyon merkezlerine (T11-L2 ve S2-4) , oradan da penise iletilerek ereksiyon sağlanır.

Nokturnal Ereksiyon: Çoğunlukla uykunun REM döneminde her normal erkekte olan siklik ereksiyonlardır REM uykusu normal uykunun %40'ını oluşturur. Bu dönemde 3-79 yaş arası erkeklerde 3-6 kez, 10-15 dakika süren, rigiditesi normal ereksiyonları %70'ine ulaşan ereksiyonlar meydana gelir. Oluşumunda, mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte penil kan akımını ve dolayısıyla beslenmeyi artırması nedeni ile santral faktörlerin yanında lokal faktörlerin de rol oynuyor olabileceği öne sürülebilir. Aynı zamanda uykuda azalmış supraspinal inhibisyonun da noktürnal ereksiyonların oluşumunda kısmen düzenleyici etkisi olduğu iddia edilmektedir. Yapılan çalışmalarda insanlarda REM uykusu sırasında pontin alanda, amigdalada ve ön cingulate girusta metabolik aktivitenin arttığı, prefrontal ve parietal kortekste ise azaldığı görülmüştür. REM uykusunun tetikleyici mekanizmasının pontin retiküler oluşumda olduğu düşünülmektedir. REM uykusu sırasında lateral pontin tegmentumdaki kolinerjik nöronlar aktifleşirken; coeruleustaki adrenerjik, ortabeyindeki serotonerjik nöronlar inaktif kalmaktadır. Bu REM sırasındaki noktürnal ereksiyonlardan sorumlu olabilir (23).

Ereksiyonun Periferik Kontrolü

Erektile sürecin gerçekleşmesinde penis içindeki vasküler olayları etkileyen hüneral, sinirsel ve lokal faktörler kompleks bir denge halindedir. En temel değışiklikler ise her ikisi de düz kas tonusu tarafından belirlenen arterioler dilatasyon ve trabeküler gevşemedir. Düz kas tonusu kontraktile ve gevşetici faktörler arasındaki dengeyle belirlenir ve bu faktörlerin yalnız dolaşımsal ve nöronal nitelikte olmayıp aynı zamanda lokal olarak endotelden kaynaklandığı artık daha iyi bilinmektedir.

Kavernöz cisme ve penise giden arterlerin düz kas fibrilleri hücre içi Ca^{2+} 'un azalması ile gevşer. Bu gevşeme hem penise giden kan debisinin artmasını hem de sinüzoidal alanların genişlemesini sağlar. CAMP ve CGMP gibi hücre içi mesajcılar düz kas fibrillerini ve hücre içi Ca hareketlerini etkileyen mediatörler, kas fibrilleri arasında son derece hızlı iyon değışimi sağlayabilen gap bileşkeler, erektile dokuyu gerçek bir fonksiyonel sinsityum durumuna getirir. En önemlisi nitrik oksit (NO) olan non-adrenerjik ,non-kolinerjik (NANC) nöromediatörler kavernöz sinirlerdeki parasempatik nöronlarda sentezlenir ve düz kas fibrillerini etkilerler. NO, cGMP'nin hücre içi konsantrasyonunu artırır. Proerektile mediatörlerden ACh , kalsitonin gen ilişkili protein (CGRP) veya substans P, endotel hücrelerinde NO sentezi ve salınımını artırarak etki gösterir. Karşı etki olarak sempatik sinir sistemi nöromediatörlerinden noradrenalin, nöropeptid Y ve endotel kaynaklı endotelin, kavernöz düz kas fibrillerinin kontraksiyonunu provoke eder ve antierektile etki oluşturur (24).

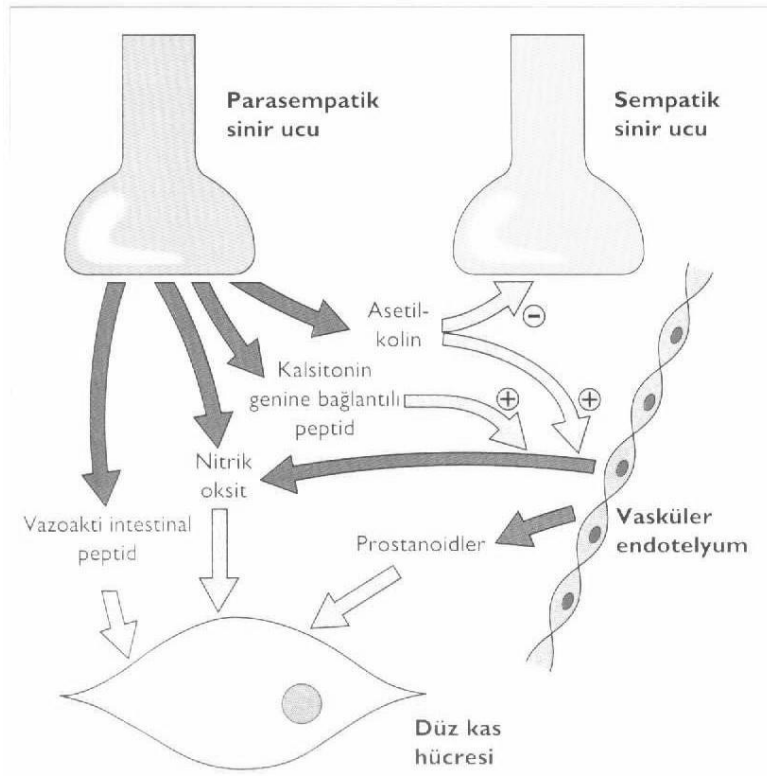
Diğer yandan yetersiz oksijenasyon cGMP sentezlenmesini önleyip, TGF- β yoluyla kollajen sentezini artırıp, kavernöz cisimde fibrozise zemin hazırlar (24).

Ereksiyonun gerçekleşmesinde lokal süreci başlatan ilk olay kavernöz sinir uçlarından salınan NO ve ACh'nin salınımıdır. Bunlar hem direkt olarak düz kas dokusuna etki ederken hem de kavernöz endotel dokuyu uyarır ve diğer lokal mediatörlerin yanında ereksiyonun en önemli mediatörü olan endotelial nitrik oksidin (eNO) salınımını sağlarlar. Bundan sonra asıl rolü alan eNO, siklik guanilat monofosfat (cGMP) üzerinden etki yaparak düz kas hücre içi kalsiyumu azaltarak kas gevşemesini ve dolayısıyla ereksiyonun oluşumunu sağlar.

Periferik Nöromediatörler

Proerektıl nöromediatörler

- a. *Asetilkolin (Ach)*: Kolinerjik sistemin mediatörüdür. Ach'nin ereksiyondaki net etkisi endotel hücrelerinden NO salgılatmaktır (25). Ach aynı zamanda sempatik sinir uçlarından NA salınımını da inhibe eder (26).
- b. *Vazoaktif İntestinal Polipeptid (VIP)* : cAMP konsantrasyonunu artırır (25). Bunun yanında yapılan bazı çalışmalar VIP'in etkisini NO üzerinden gösterdiğini ortaya koymaktadır.
- c. *Nitrik Oksit (NO)* : Organizmadaki ana düz kas gevşetici mediatördür. Hem endotelden hem de nitrejik sinir uçlarından sentezlenip salınır. NO L-Argininden NO sentetaz enzimi aracılığıyla olur. NO, guanozin trifosfat (GTP)tan siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşturan guanilat siklaz enzimini aktive eder.
- d. *Kalsitonin Geni Bağımlı Peptid (CGRP)* : Kavernöz cisimdeki bazı sinir uçlarında bulunan, doğrudan düz kas gevşeterek kan akımını artıran mediatördür.
- e. *Pitüiter Adenilat Siklaz Aktive Edici Polipeptid (PACAP)* : VIP benzeri ancak zayıf bir mediatördür.
- f. *Substans-P* : Kavernöz sinir liflerinde bulunan proerektıl bir ajandır.
- g. *Prostoglandin E1 (PgE1) ve ATP* : PgE1 adenilat siklazı aktive ederek ATP'den cAMP oluşumunu sağlar.



Şekil 12: Düz kas gevşemesinde rol alan mediatörler.

Antieretil nöromediatörler

Noradrenalin (NA) : Adrenerjik sistemin mediatörüdür. Günümüzdeki genel kanı noradrenalinin penil flasidite ve detümesansı sağlayan temel nörotransmitter olduğudur. Kavernoza dokuda ve damarlarda α ve β reseptörler vardır. Yapılan reseptör çalışmaları α -adrenoreseptörlerin β -adrenoreseptörlerden en az 10 kat daha yoğun olduğunu göstermektedir. Yakın zamanda yapılan bazı çalışmalar sempatik kaynaklı kontraksiyonun, presinaptik α_2 -adrenoreseptörlerce düzenlendiği ve postsinaptik α_{1a} -, α_{1b} - ve α_{1c} - adrenoreseptör aktivasyonu ile yöneltildiğini öne sürmektedir, α reseptörlerin görevleri düz kas kasılması yani detümesanstır. β reseptörler ise düz kas gevşemesi yani ereksiyonda rol oynarlar. Böylece sempatik uyarının sonucu detümesans olur. Total bloke olması sonucunda ise ereksiyon olur. Penisin istirahatte sürekli gevşek kalması NA salınımına bağlıdır.

Nöropeptid Y (NPY): Organizmanın tümünde sempatik sinir uçlarında NA ile birlikte bulunur.

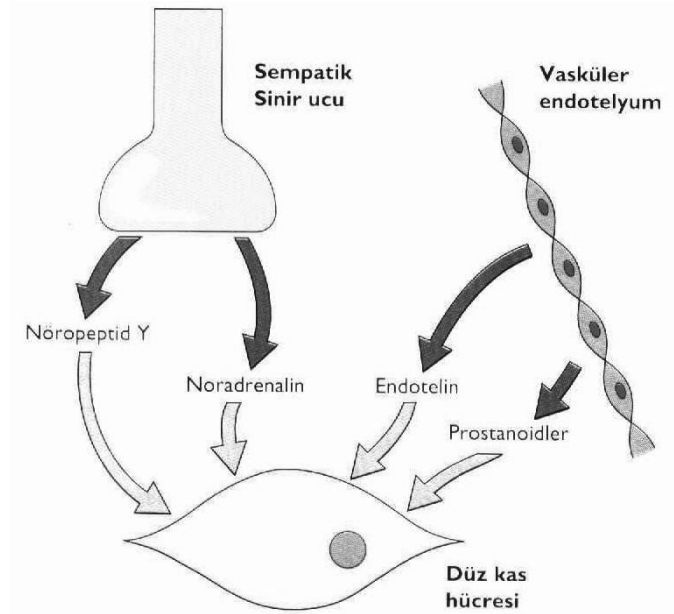
Endotelin yada Endotelden derive kontraktıl faktör (EDCF): Bilinen en güçlü vazokonstriktördür. Endotelden salınır. Kavernözal düz kas fibrillerini kasar. NA ile sinerjistik çalışır (27, 28).

Tromboksan A₂

Prostoglandin F_{2α}

Lökotrienler

Anjiotensin 2



Şekil 13: Penil düz kas kasılmasında rol alan mediatörler.

Özetle intrakorporeal düz kasın flask durumu şu üç olaya bağlanmaktadır;

- İntrinsek miyojenik aktivite
- Adrenerjik nörotransmisyon
- Endotel kökenli kontraktıl faktörler (Endotelin, Prostoglandin F_{2α})

Diğer yandan ereksiyon sonrası detümesansın oluşması NO salınımının kesilmesine, ikincil mesajcılarda fosfodiesterazlarca (PDE) yıkılmasına ve ejakulasyon sırasındaki sempatik deşarjına bağlı olabilir (29).

Mediatör	Kaynak	Hedef	Etki	Klinik Uygulama
ACh	Sinir Fibrili	Endotel Sinir Fibrili	↑ NO	
VIP	Sinir Fibrili	Düz kas hücresi	↑ cAMP	
NO/EDRF	Sinir Fibrili endotel	Düz kas hücresi	↑ cGMP	Vasopotin
PACAP CGRP Substans P	Sinir Fibrili	Endotel	↑ NO	CGRP
ATP	Sinir Fibrili		gevşeme	
NA	Sinir Fibrili	Düz kas hücresi	↑ Ca	Fentolamin Moksisilat
Nöropeptid Y	Sinir Fibrili	Düz kas hücresi	↑ Ca	
Endotelin-1	endotel	Düz kas hücresi	↑ Ca	
cAMP	Düz kas hücresi	Düz kas hücresi	↓ Ca	PG _{E1}
cGMP	Düz kas hücresi	Düz kas hücresi	↓ Ca	
PDE	Düz kas hücresi	Düz kas hücresi	↓ cAMP ve cGMP	

Tablo 5: Ereksiyonda rol alan önemli periferik mediatörler

Nitrik Oksid ve Nitrik Oksid Sentetaz:

NO, cGMP üzerinden potent bir periferik vasküler düz kas gevşetici olarak 1979'da tanımlanmıştır (30). Günümüzdeki ortak görüş, NANK nörotransmisyonundan ve endotelden salınan NO'nun ereksiyonu sağlayan temel nörotransmitter olduğudur.

NO, hem hücre içi hem de hücre dışında düzenleyici işlev gören küçük reaktif bir serbest radikal moleküldür. Yarı ömrü, 2-5 saniyedir. Nörotransmitter, parakrin madde ve otokoid olarak fonksiyon görmek üzere hücre zarından serbestçe geçebilir. Birçok hücrel işlem; endotel, trombosit, vasküler düz kas hücreleri, nöronlar ve diğer NO üreten hücrelerden salınan NO tarafından düzenlenmektedir.

NO'nun nörotransmisyon, vasküler tonusun düzenlenmesi, penil ereksiyon, bağışıklık sisteminin düzenlenmesine katkı, patojen ve tümöral hücrelere karşı sitotoksikite bir çok önemli sistemik ve lokal olayda rolü vardır. NO'nun bu direkt etkilerinin yanında, düz kas hücrelerinin proliferasyonunu ve kollajen sentezini engellediği de gösterilmiştir (31,32). Özellikle dolaşım sistemi açısından NO'nun vazodilatör etki gösterdiği, bölgesel kan akımını ve sistemik kan basıncını düzenlediği, endotele yönelik olarak da ateroskleroza önleyici etki yaptığı bilinmektedir (33,34).

Vücutta birçok dokuda NO sentezlenmektedir. NO, endojen L-argininden nitrik oksit sentetaz (NOS) enzim sistemi tarafından sentezlenir. İşlev sonrasında ise NO hızlı bir şekilde kararlı ve inaktif olan nitrit ve nitrat son ürünlerine okside edilir. Hemoglobin NO'yu inaktive eder.

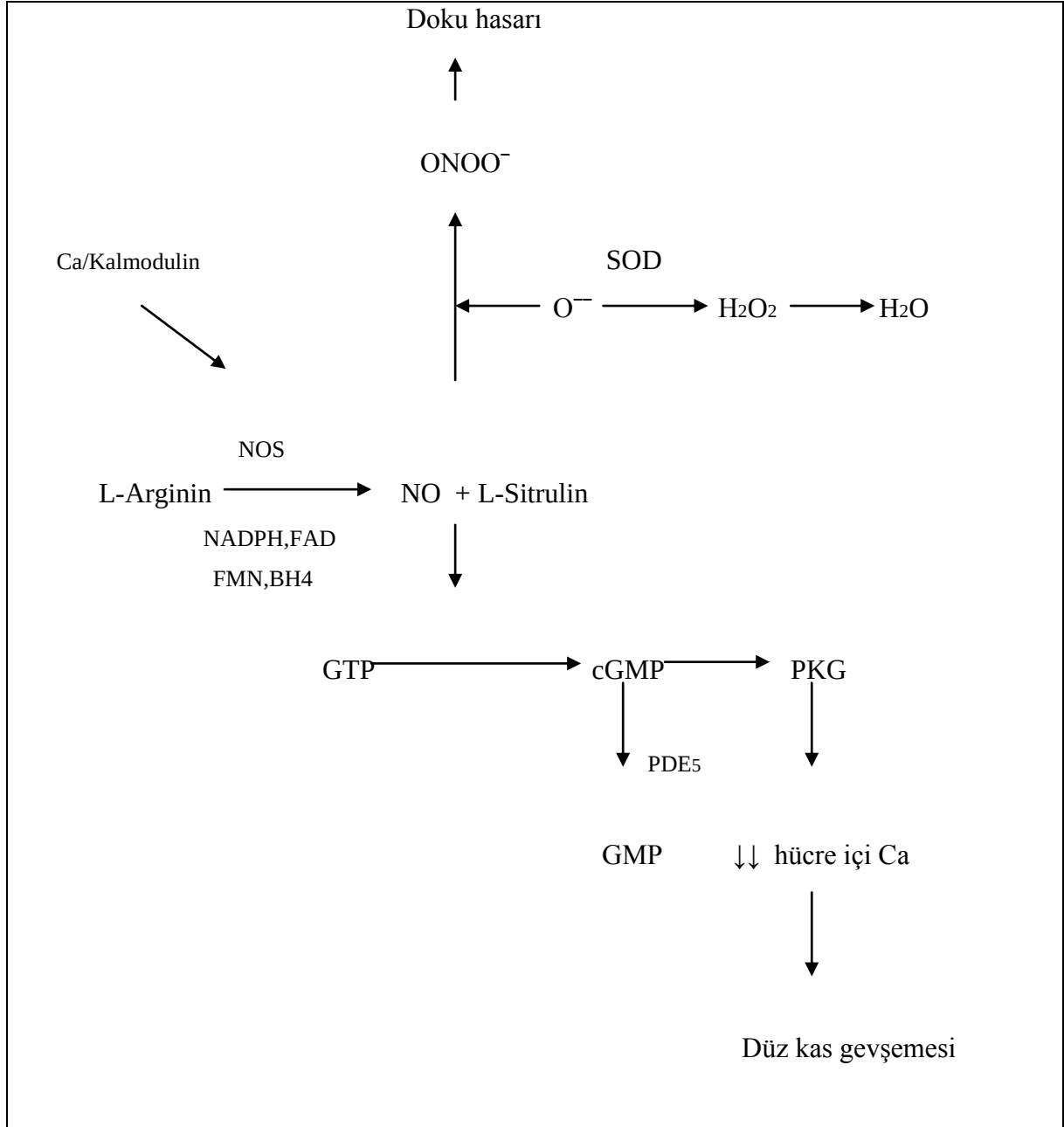
NO'nun en önemli fizyolojik hedefi soluble guanilat siklaz enziminin hem grubudur. Düz kas hücrelerine geçen NO guanilat siklazı uyararak GTP'nin cGMP'ye dönüşümünü sağlar. Artan cGMP de protein kinazı ve iyon kanallarını aktif hale getirir. Sekestrasyon ve hücre dışına çıkarılma yolu ile hücre içi Ca azalır ve gevşeme sağlanır. CGMP'nin fizyolojik etkisi 3'5' bağının PDE tarafından hidrolize edilmesi ile sonlandırılır.

3 farklı NOS formu vardır (35).

- nöronal (nNOS veya NOS-1)
- indüklenebilir (iNOS veya NOS-2)
- endotelyal (eNOS veya NOS-3)

eNOS ve nNOS; ACh ve bradikinin gibi hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu artıran ajanlarca aktiflenir. Makrofajlar ve immün hücrelerde bulunan iNOS ise sitokinlerce uyarılır; Ca ve kalmoduline bağımlı değildir ve yeni protein sentezine ihtiyaç duyar. NOS'un üzerinde NADPH, FAD, FMN ve tetrahidrobiopterin gibi kofaktör ve prostetik gruplar için bağlanma

alanları içeren birçok düzenleyici bölüm vardır. Hücrede eNOS esas olarak hücre membranına bağlı bulunurken nNOS sitozolde bulunur. Üç NOS izoformu aminoasit dizilişi bakımından %50 benzerlik gösterir. NOS, N-metil-L-arginin, N-nitro-L-arginin ve N-amino-L-arginin gibi L-arginin analoglarınca inhibe edilebilir (36,37,38).



Şekil 11: NO'un biyolojik aktivitesi.

Vücutta NO konsantrasyonu düzenli olarak düşük seviyelerde dalgalanmalar gösterir ve eNOS ve nNOS tarafından kontrol edilir (39). Bu iki enzimin sentezi posttranskripsiyonel seviyede kontrol edilirken, iNOS uygun uyarı veya nükleer faktör Kappa B (NF-κB) gibi

transkripsiyonel faktörlere cevap olarak sentezlenir (39). Bu sentezi temelde tetikleyen NF- κ B'ye cevap veren elemanların iNOS promotor gen bölgesini aktive etmesidir. Bu aktivasyon sonucunda enfeksiyon, enflamasyon veya vasküler travma durumlarında diğer iki NOS formunun ürettiğinin 100-1000 katı kadar NO üretimi sağlanır. Ne var ki, iNOS , Ca ve uyarıcı ajanlardan bağımsız çalıştığı için, aktivitesi daha uzundur. Buna bağlı olarak, iNOS'un ürettiği NO seviyesi, fizyolojik sınırların üstündedir ve hücrel süperoksit anyon ($O_2^{\cdot -}$) varlığında bu oldukça toksik olan peroksinitrit molekülünün oluşmasına neden olur. Bunun sonucunda da hücrede lipid peroksidasyonu , DNA fragmentasyonu, plazma antioksidanlarının azalması ve protein hasarı ve endotelial düz kas gevşemesinin engellenmesi gibi yollarla hücrel hasar yaratabilir. Peroksinitrit oluşumu; süperoksit ile süperoksit dismutaz (SOD) üretimi ve NO üretimi/harcanması arasındaki dengeye bağlıdır. Sonuç olarak, düşük konsantrasyondaki NO , hücrel fonksiyonları pozitif olarak düzenlerken, yüksek konsantrasyon hücre üzerinde toksik etkiler yaratabilir (39). Enflamatuvar uyarı ile üretim dışında akciğer epiteli ve böbreğin distal tübülleri gibi yerlerde de süregelen bir iNOS aktivitesi vardır.

eNOS: Yapı, Fonksiyon ve Aktivasyon

eNOS 134 kD'luk iki benzer monomerden oluşan bir dimerdir ve tam olarak fonksiyonel olabilmesi için dimerik formda olması gerekir. Monomerleri kodlayan gen 7q35-36 kromozomu üzerinde bulunur ve 21 kb'lik 26 ekson taşır.

Enzimin dimerik hale gelmesi hem molekülünün bağlanması ile başlar; hemin yokluğunda enzim monomer halde kalır. Dimerik hale geçince enzime tetrahidrobiopterin (BH₄) bağlanması mümkün olur ve dimer kararlı hale gelir. Kararlı hale geçiş aynı zamanda çinko iyonlarına da bağlıdır (40). Dimerin fonksiyonel aktivitesi bağlanan BH₄ molekülünün sayısına bağlıdır. BH₄ bağlanmamış bir dimer $O_2^{\cdot -}$ üretebilirken, bir BH₄ molekülü bağlanmış eNOS dimeri hem $O_2^{\cdot -}$ hem de NO üretir. Yüksek seviyede BH₄ varlığı ise doymuş bir dimer yaratarak sadece NO sentezleyen bir enzim oluşmasını sağlar.

Monomerlerin fonksiyonel olarak farklı olan iki kısmı vardır; katalitik bölümü ihtiva eden N-terminal oksijenaz (amino asit 1-491) ve NADPH, FAD ve FMN için bağlanma bölümüm olan redüktaz (amino asit 492-1205).

Enzimin hücre içindeki net yeri belirsizdir. Golgi cisimciği, plazma membranı ve en çok da plazmalemmal kaveolada bulunduğu tespit edilmiştir. Kaveolada kaveolin adlı kaplayıcı proteinle sarılı olan eNOS inaktif haldedir. Hücre içi serbest kalsiyumun artması ile enzim bu

proteinden sıyrılır ve aktif hale gelir ve serbest kalsiyumu düzeyi düşene kadar aktif kalır. Aktive olmuş enzim ortamda L-arginin, oksijen ve NADPH oldukça üretim yapar.

Her ne kadar eNOS enzimi bazal bir düzeyde üretilse de hipoksi , östrojen gibi hormonlar , yükseltgenmiş düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ve mekanik güç gibi faktörler bazal ekspresyonu etkileyebilir (41,42,43,44).

İnsanda eNOS Gen Polimorfizmleri

İnsanlarda eNOS geninin 3 değişik polimorfik varyasyonu aydınlatılmıştır. İntron 18’de , Ala27Cys, ve intron 23’de, Glu10Thr, tek nükleotid değişimi bulunmuştur. Bunun yanında intron 4, 12 ve 23’de değişken tekrarları vardır. Bunların sonucunda normal fonksiyonel bir enzim oluşsa da polimorfizmler transkripsiyon ve işlev hızlarında değişime sebep olabilmektedir. İntron 13’de polimorfizmi olan bireylerde artmış koroner arter hastalığı riski olduğu, intron 4’de polimorfizmi olan bireylerde ise artmış diyabetik nefropati riski olduğu saptanmıştır (45,46).

Promotor bölgede 3 tek nükleotid değişimi saptanmıştır; Thr786Cys, Ala922Gly ve Thr1468Ala. Bu polimorfizmlerin transkripsiyonu ve dolayısıyla enzim seviyelerini değiştirebildiği saptanmıştır. Thr786Cys polimorfizmi miyokard enfarktüsü ve diyabet ile ilişkili bulunmuştur (46,47).

Aydınlatılan son polimorfizm ise ekson 7’nin açık okuma bölümünde, Glu298Asp değişimi olarak saptanmıştır. Bu polimorfizmin sonucunda proteinin primer yapısında ve fonksiyonunda değişim olur. Bazı çalışmalarda bu polimorfizmin hipertansiyon, koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (48,49).

eNOS aktivitesinin teröpatik yönlendirilmesi

İnsanlarda ve çeşitli deneysel modellerde hipertansiyon , hiperkolesterolemi ve ateroskleroz gibi hastalıklarda bozulmuş eNOS aktivitesi ve endotelial disfonksiyon görülebilmektedir. Dolayısıyla eNOS aktivitesinin artırılması bu patolojilerin giderilmesi veya şiddetinin azaltılmasında olumlu etki yaratacaktır.

L-arginin veya BH4 gibi substrat veya ko-faktörler verilmesi ile NO üretiminde ya da molsidomin veya gliseril nitrat gibi direkt NO sağlayıcıların verilmesi ile NO kullanımında artış sağlanabilir. Bu tip ajanların kullanımının vasküler patolojili klinik olgularda iyileşme sağlamaktadır.

ENOS ekspresyonunun ve aktivitesinin sağlanmasının bir diğer yolu gen transferidir. ENOS geninin özgül bölgelere transferi lokal olarak eNO yararlılığını artırabilir. Bu viral veya

non-viral vektörlerle yapılabilir. Günümüzde oldukça eNOS gen transferi oldukça umut verici bir yöntem olmaya adaydır. Yapılan deneysel çalışmalar eNOS gen transferinin hipertansiyon, iskemi, reperfüzyon hasarı ve ateroskleroz gibi patolojilerin yanında ED’de de eNO artışı sağlayarak yarar gösterdiğini ortaya koymaktadır (50,51,52,53).

Enzim aktivitesini dolaylı yollardan artırmak da mümkündür. Yüksek LDL seviyeleri NOS aktivitesini etkileyebildiği için, LDL seviyelerinin düşürülmesi yarar sağlayabilir. Dahası, LDL sentezleyici enzimlerin inhibisyonu, direkt olarak membran eNOS aktivitesini ve kararlılığını etkilemektedir (54). Ayrıca östrojenler de eNOS aktivitesini artırmaktadır (55). Bu durum, premenopozal kadınlarda düşük ateroskleroz insidansının ve postmenopozal kadınlarda östrojen tedavisinin muhtemel koruyucu etkisini açıklamada yardımcı olabilir.

<i>Tanım</i>	<i>eNOS</i>	<i>nNOS</i>	<i>iNOS</i>
Kromozom	7	12	17
Yapı	homodimer	Homodimer	Homodimer
Molekül ağırlığı	135 kDa	155 kDa	130 kDa
cDNA büyüklüğü	4,4 kb	10,0 kb	4,1 kb
Düzenleme	Ca/Kalmodulin	Ca/Kalmodulin	Gen transkripsiyonu
Kofaktörler	NADPH, FAD, FMN, BH4, Hem	NADPH, FAD, FMN, BH4, Hem	NADPH, FAD, FMN, BH4, Hem
Uyaran	ACh, bradikinin, ATP, ADM, proliferasyon, stres	Nöro-uyarıcı aminoasitler, östrojen	IL-1, TNF- α , NF- κ B, IFN, endotoksin, doku hasarı
NO Üretimi	Düşük (pM)	Düşük (pM)	Yüksek (μ M)
Hücre Tipleri	Endotel hücreleri, düz kas hücreleri	Nöronlar, iskelet kas hücreleri, kalp kası	Endotel hücreleri, makrofajlar, birçok hücre tipi

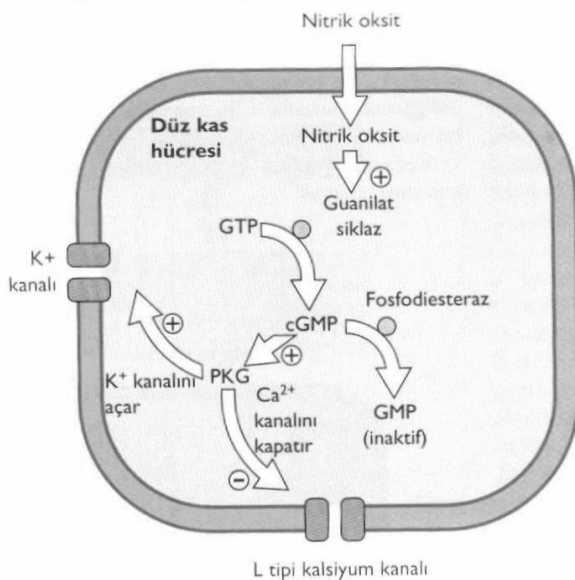
Tablo 4: eNOS izoformlar ve özellikleri

Düz Kas Gevşemesinde NO ve cGMP

Peniste sinir uçlarından veya endotelden salınan NO düz kasa geçer ve cGMP üretmesi için soluble guanilat siklazı aktifler. Bunun devamında cGMP-spesifik protein kinaz aktiflenir, fosforilasyon ve hafif zincir miyozin kinaz inaktive edilir. Bu da aktin ve miyozinin ayrılmasına ve düz kas gevşemesine yol açar. CGMP ve CGMP-spesifik protein kinaz aynı zamanda K kanallarını aktive ederek hiperpolarizasyona ve voltaj-bağımlı kalsiyum kanallarının kapanmasına ve sonuç olarak hücre içi kalsiyumun azalmasına neden olur. Yapılan bir çalışma, NO'nun cGMP'den bağımsız olarak NA-K-ATPaz kanallarının açılmasını uyardığını ve dolaylı olarak hiperpolarizasyona neden olduğunu göstermiştir (56). Çalışmalar cGMP'nin düz kas hücresi için cAMP'ye göre daha potent işlev gösterdiğini ortaya koymaktadır(23). Nörotransmitterlere cevap olarak cGMP'nin artışı hücrede eriyik veya partikül halindeki guanilat siklazın aktivasyonu ile sağlanmaktadır. Soluble guanilat siklaz (sGC) 77,5 ve 705 kD'luk alt birimleri olan bir heterodimerdir. Yapılan bir fare çalışmasında cGMP/cGMP-protein kinaz I'in penil ereksiyon için temel fizyolojik sinyal ileti yolu olduğu ve cAMP'nin aynı işlevi göremediği gösterilmiştir (57).

Bir diğer potent erektile nörotransmitter vazoaktif intestinal polipeptid(VIP)'tir. Yapılan çalışmalarda VIP uyarımı ile oluşturulan düz kas gevşemesinin NO sentez blokerleri ile antagonize edilmesi, VIP'in NO üzerinden etki yaptığını ve sinerjik davrandığını ortaya koymaktadır (58).

Bunların dışında K kanalları üzerinden işlev gören gevşetici faktör, cGMP üzerinden etkiyen bir NO dışı faktör ve prostoglandinler de ereksiyon için potansiyel moleküller olarak kabul edilmektedir.



Şekil 14: Düz kas hücresinde nitrik oksidin etkileri.

Kolinerjik, Adrenerjik ve NANK Nörotransmisyonun Kavernöz Etkileşimi:

ACh adrenerjik nöronların presinaptik reseptörlerine etki yaparak NE salınımında rol oynar. Prostaglandin E1 de bu salınımı inhibe eder. Ters şekilde adrenerjik nöronlarda α_2 presinaptik reseptörler üzerinden NO salınımına etki yapar. NOS aktivitesini ve NO salınımını artıran bazı faktörler belirlenmiştir. Oksijen, androjen, kronik L-arginin kullanımı ve tekrarlayan intrakavernöz prostoglandin E1 enjeksiyonu bunlardan bazılarıdır. Kastrasyon, denervasyon, hiperkolasterolemi ve diyabet ise NOS aktivitesinde azalma ile ilişkilidir. Aynı zamanda değişik NOS formları arasında da etkileşim söz konusudur. Örneğin, farelerde penise Transforming Growth Faktör- β_1 (TGF- β_1) enjeksiyonu ile iNOS seviyesi artarken nNOS aktivitesinin azaldığı, yine nNOS “knock out” yapılan farelerde eNOS seviyesinin anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir (59,60).

Düz Kas Kasılması ve Gevşemesinin Moleküler Mekanizması:

Düz kas gevşemesi ve kasılması sitozolik (sarkoplazmik) serbest Ca^{2+} tarafından düzenlenmektedir. Düz kas kasılmasını uyaran bir sinyal, sitozolik serbest Ca^{2+} 'da 120-270nM'den 500-700 nM'e doğru geçici bir artışa neden olur (61). Artmış seviyede Ca^{2+} , kalmoduline bağlanır ve kalmodulinin miyozin hafif-zincir kinaz ile etkileşime girmesi için yapısında değişiklik sağlar. Ortaya çıkan aktivasyon, miyozin hafif zincirin fosforilasyonunu katalize ederek, miyozin başının aktin üzerine hareketini ve sonuç olarak kuvvetin gelişmesini sağlar. Hafif zincirin fosforilasyonu aynı zamanda ATP'yi hidrolize ederek kas kontraksiyonu için enerji üreten miyozin ATPaz'ı da aktive eder (61).

Düz kas gevşemesi sarkoplazmadaki serbest kalsiyumun düşmesine bağlıdır. Bunun gerçekleşmesi ile kalmodulin miyozin hafif zincir kinazdan ayrılır ve onu inaktif hale getirir. Miyozin hafif zincir fosfatazca defosforillenir ve aktin filamentten ayrılır. Böylece düz kas gevşemesi olur. Bunun yanında bazı araştırmacılar NO-cGMP yolunun sadece bu kaskadı başlatmakla kalmayıp aynı zamanda direkt olarak aktin-mitozin hareketini de azalttığını öne sürmektedir (62).

Düz kas gevşemesinde rol oynayan ikincil mesajcılar, cAMP ve cGMP'dir. Bunlar kendilerine bağımlı çalışan protein kinazları aktive eder ve belli protein ve iyon kanallarının fosforile edilmesini sağlarlar. Bunun sonucunda: (1) K kanalları açılarak hiperpolarizasyon, (2) hücre içi Ca^{2+} 'un endoplazmik retikuluma depolanması, (3) voltaj bağımlı Ca^{2+} kanallarının inhibisyonu ile hücre içine Ca^{2+} girişinin engellenmesi sağlanır. Bunların sonucunda sitozolik serbest Ca^{2+} düşer ve düz kas gevşemesi meydana gelir.

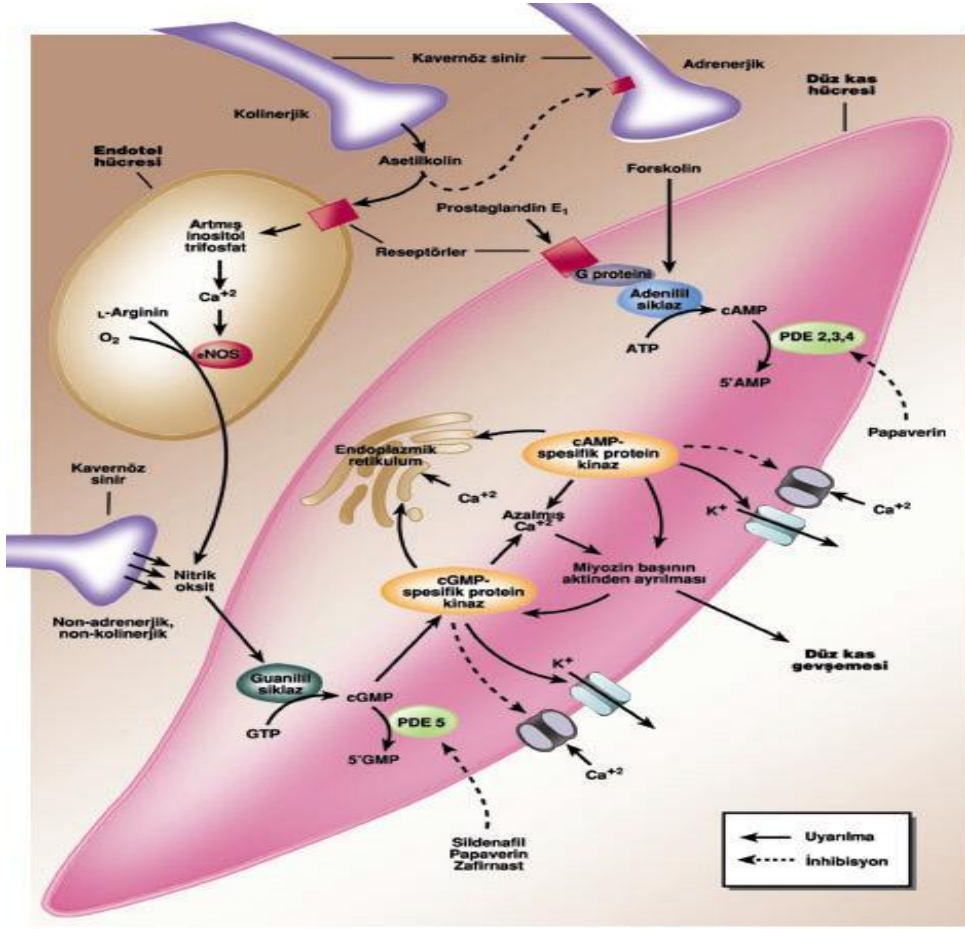
Ayrıca son dönemde yapılan çalışmalarda Rho-Kinaz adı verilen ve kas kontraksiyonu sırasında hücre içinde kontraktıl birimlerin kalsiyuma duyarlılığını artıran bir enzim sisteminin varlığı ortaya konmuştur (63). Rho-kinaz hücre içi $[Ca]^{2+}$ 'a bağlı olmadan çalışabilmektedir. Rho-kinaz α_1 -adrenoreseptör gibi kasılmayı uyarıcı reseptörlerle bağlantılı RhoA adlı monomerik bir G-proteince aktive edilmektedir. Aktive olan bu enzim, düz kas miyozin fosfatazı, düzenleyici bölümünü fosforile ederek inhibe etmekte ve miyoflamentlerin Ca^{2+} 'a olan duyarlılığını artırmaktadır. Yapılan çalışmalarda bu enzim sisteminin inhibisyonunun endojen ve egzogen NA kaynaklı kavernöz düz kas kasılmasını antagonize ederek ereksiyon sağladığını ortaya koymaktadır. Bu inhibitörlerin nitretrjik (NO-cGMP) yol üzerinden etkilemeleri, PDE- inhibitörlerinden fayda görmeyen nitretrjik fonksiyon kaybı olan ED'li hastalarda alternatif , bağımsız bir tedavi seçeneği olabilir.

İyon Kanalları

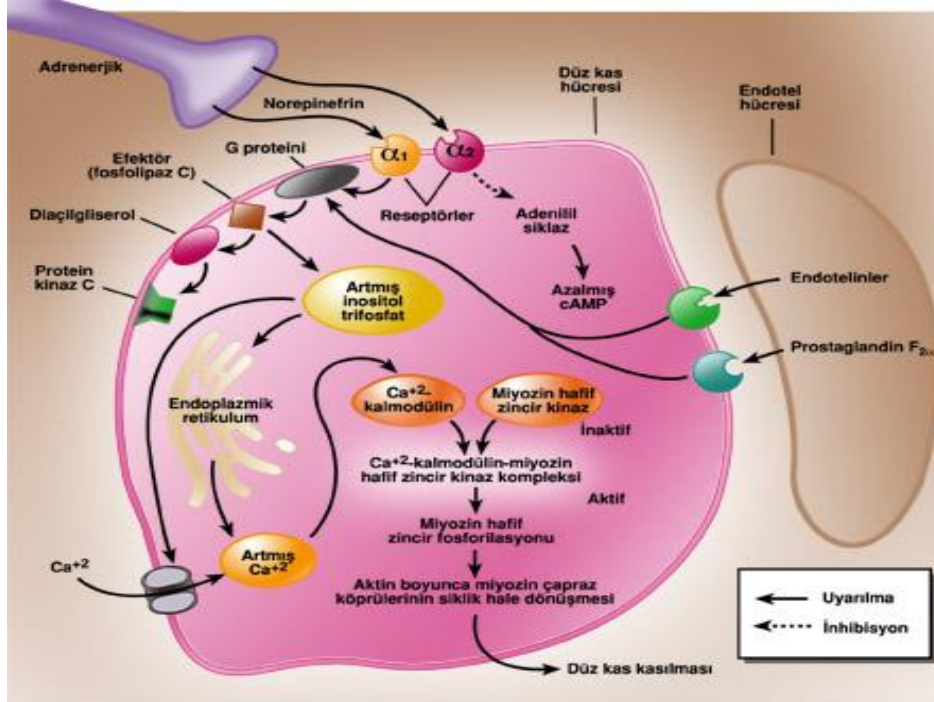
Genelde 4 temel tip iyon kanalı vardır.

- *Eksternal Ligand Kanalları*: Bunlar spesifik hücre dışı moleküllere açılır (ör. ACh) .
- *İnternal Ligand Kanalları*: Hücre içi moleküllerin uyarımı ile açılır veya kapanır (Ör. ATP).
- *Voltaj Bağımlı kanallar*: Membran potansiyelindeki değişime bağlı olarak açılırlar (Ör. Na, K ve Ca kanalları).
- *Mekanik Kanallar*: Mekanik basınca bağlı olarak açılırlar.

Düz kas hücresinde çizgili kasta olduğu gibi T-tübül sistemi veya gelişmiş bir sarkoplazmik retikulum yoktur. Dolayısıyla kontraksiyon için hücre dışı Ca^{2+} önemlidir ve aksiyon potansiyelle plazma membranını geçerek hücre içine alınması gerekir. Ca^{2+} giriş ve çıkışını düzenleyen 3 transmembran proteinin varlığı bilinmektedir: Ca^{2+} kanalları en temel içe akım düzenleyicisidir. Ca^{2+} -Na⁺ değişim kanalları ve Ca^{2+} -ATPaz kanalları kas hücresinden Ca^{2+} çıkışını düzenlerler. Kavernöz düz kas hücrelerinde voltaj bağımlı L-tip (uzun süreli, yavaş Ca^{2+} kanalları) Ca^{2+} kanallarının varlığı belgelenmiştir. Christ ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada fenilefrin ve endotelin uyarımlı kas kontraksiyonu sırasında Ca^{2+} girişinin yanı sıra hücre içi Ca^{2+} 'un da mobilize olduğu, fakat KCl uyarımlı kontraksiyon sırasında ise sadece Ca^{2+} kanallı içe akım olduğu gözlenmiştir (64).



Resim 15: Düz kas gevşemesinin mokeküler mekanizması.



Şekil 16: Düz kas kasılmasının mokeküler mekanizması.

Yapılan çalışmalarda en az 4 çeşit K kanalının varlığı bildirilmiştir (64).

- 1) *Kalsiyuma duyarlı K Kanalları (Ör. Maksi-K)*
- 2) *Metabolik olarak düzenlenen K kanalları (Ör. K_{ATP})*
- 3) *Gecikmiş Düzeltici K kanalları*
- 4) *Hızlı gecici A akımı K Kanalları(I_A)*

Kalsiyuma duyarlı K kanalları cAMP üzerinden düz kas gevşemesinde rol oynadığı günümüzde bilinmektedir. ACh ve nitroprussid verilmiş kavernoöz düz kas hücrelerinde intrasitozolik kalsiyumun azaldığı ve K iletiminde değişim olduğu gösterilmiştir. Bunların yanında kavernoöz düz kasta gerilmeye duyarlı klorid kanallarının varlığını gösteren çalışmalar vardır (65).

Hücre içi Ca ve membran depolarizasyonu ile aktive olan maks-K kanalları hemen her hücre tipinde bulunur. Bu kanallar voltaja bağlı K kanalları grubunda olduğu gibi altı hidrofobik alana sahiptir. Bunun yanında hücre içi kalsiyuma duyarlı dört bölge vardır.

Kas kontraksiyonu ile membran depolarizasyonu ve hücre içi kalsiyum artar. Bu da maks-K kanalını aktive eder ve açık kalma süresini artırır. Hücre dışına K çıkışı olur. Bu da ardışık olarak hiperpolarizasyona ve gevşemeye sebep olur. Yapılan bir çalışmada PG_{E1} 'in kültürdeki kavernoöz düz kas hücrelerinde maks-K kanal aktivitesini ve açık kalma süresini artırdığı gözlenmiştir (66).

K_{ATP} Kanalları; kavernoözal düz kas tonusunun bir diğer önemli düzenleyicisidir. İki tip K_{ATP} kanalı bilinmektedir. Pınasidilin ile kanal aktive olurken (düz kas gevşemesi), glibenklamid ile inhibe olmaktadır (kasılma).

Fosfodiesterazlar

Flask hale dönüşte, cGMP, kendisine oldukça spesifik olan fosfodiesteraz (PDE) tip 5 tarafından GMP'ye hidrolize edilir. PDE ailesinin en az 17 gen tarafından kodlandığı bilinen 11 tipi vardır. Her bir PDE'nin 275 aminoasitlik, C-terminalinde bulunan katalitik bölgesi vardır. N-terminali ise düzenleyici birimler vardır ve tipler arasında farklılık gösterir. Bunlar Ca/kalmodulin, cGMP bağlanma bölümleri ile membran lokalizasyon ve fosforilasyon birimleridir.

PDE'lerin 11 tipinden, tip 5,6 ve 9 sadece cGMP'ye özgüdür. Tip 1, 2, 3, 10 ve 11 hem cAMP hem de cGMP'yi; tip 7 ve 8 sadece cAMP'yi hidrolize eder. Her ne kadar PDE₂, -3 ve -4 kavernoöz cisimde bulunsun da, fizyolojik ereksiyon sırasında Tip 5 ile karşılaştırıldığında anlamlı bir rolleri yoktur (67).

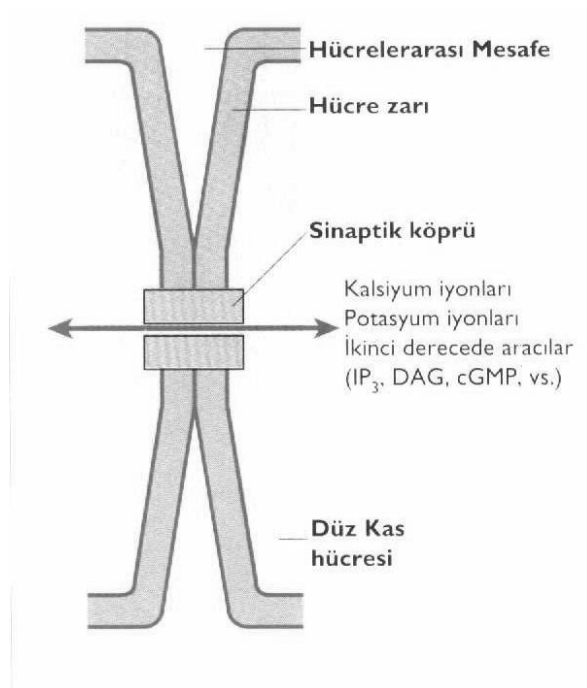
Kavernöz cisimde PDE5'in 3 alt tipi klonlanmıştır. Bunun yanında vücutta; trombosit, akciğer, serebellum, spinal kord, iskelet kası, kalp, plasenta, pankreas, bağırsak, aort ve adrenal bezde de varlığı bildirilmiştir (68).

Hücreler Arası İletişim

Ereksiyon ve detümesans sırasında senkronize gevşeme ve kasılma olması için kavernöz düz kas hücreleri arasında bir iletişimin olması gereklidir. Kavernöz düz kastaki sinir innervasyonunun dağılımına oranla , oldukça gelişmiş bir kavernozal senkronun olması başka faktörlerin varlığının araştırılmasını sağlamıştır. Günümüzde yapılan çalışmalarda komşu düz kas hücreleri arasında gap bileşkelerin varlığı ortaya konmuştur (64).

Bu hücreler arası kanallar Ca gibi iyonların ve ikincil habercilerin değişimine olanak sağlamaktadır. Bu kanalların ana elemanı konneksin 43 isimli bir proteindir. Bu protein ise 4 transmembran (M1-M4) bölüm, 2 ekstraselüler loop ve 3 intrasitoplazmik parçadan oluşur. Konneksin gen ailesine ait 18 kadar izoform tanımlanmıştır. Bu izoformların ağırlığı 26-56 kDa arasında değişir ve zincir yapısına göre α ve β alt gruplarına ayrılır.

Gap bileşkeler, plazma membranının özelleşmiş bölümleri olup komşu hücreleri doğrudan birbirine bağlayan düşük dirençli transmembran kanallar içerir. İki semikanalın hücreler arası aralıkta birleşmesi bir kanal birimini (konnekson) oluşturur. Altı konneksin ise bir semi kanalı meydana getirir (69).



Şekil 17: Sinaptik köprünün yapısı.

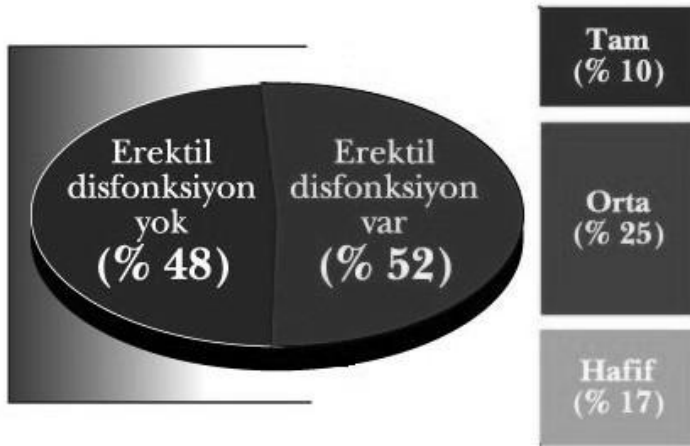
EREKTİL DİSFONKSİYON

Prevalans ve Epidemiyoloji

Erektile disfonksiyon; 1992’de National Institute of Health (NIH) konsensus toplantısında seksüel ilişki için gerekli olan penil ereksiyonun oluşturulmasında ve devam ettirilmesinde yetersizlik olarak tanımlanmıştır (70).

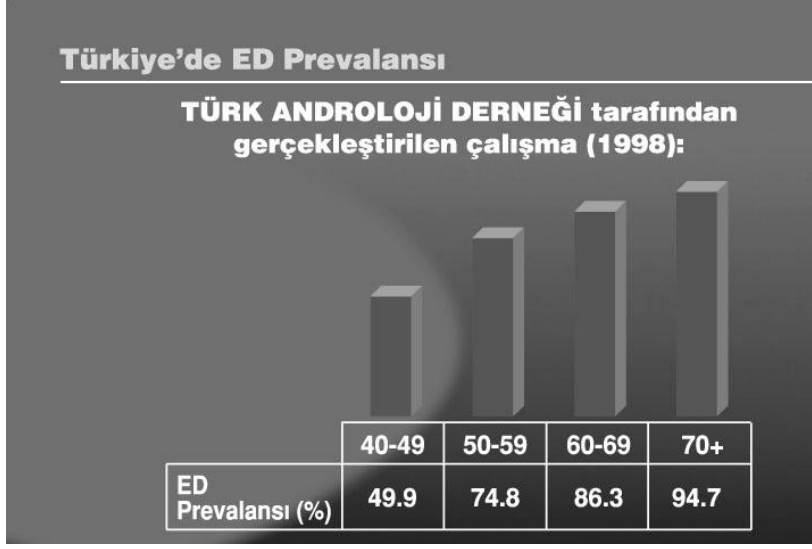
Yapılan çalışmaların birçoğunda ED’nin yaş ile yüksek oranda ilişkili olduğu görülmektedir(1). Yaş diğer tıbbi problemlerden çok daha fazla oranda ED’ye sebep olmaktadır. Bu ilk olarak Masters ve Johnson tarafından ortaya konmuştur. Bu durum daha sonra yapılan çalışmalarla da onaylanmıştır(1).

Epidemiyolojik çalışmaların en güncel ve en kapsamlı yapıları Feldman’ın 1987-1989 yılları arasında yapılan ve 1994’de yayınlanan Massachusetts Erkek Yaşlanma Çalışması (MMAS)’dır. 40-70 yaşları arasındaki 1290 erkeği kapsayan çalışmanın sonucunda ED % 52 olarak bulunmuştur. Bunların %17’si hafif, %25’i orta, %10’u ise ağır ED olarak tanımlanmıştır. Aynı çalışmada şiddeti göz önüne alınmadığında, ED 40 yaş için % 39, 70 yaş için % 67 olarak bulunmuştur (1).



**Şekil 18: Massachusetts çalışmasına göre
40-70 yaş arası erkeklerde ED prevalansı.**

Ülkemizde Türk Androloji Derneği Erektile Disfonksiyon Prevalans Çalışma Grubu tarafından ED ile ilgili yapılan benzer bir çalışmada ise; 1982 olgu değerlendirmeye alınmış ve sonuçta 40 yaşın üzerindeki erkeklerin %69.2'sinin ED sorunuyla karşı karşıya geldikleri saptanmış ve ED prevalansının yaşlanma ile arttığı ortaya konmuştur(12). Bu çalışma grubunda tam , orta derece ve hafif ED oranları sırasıyla %8,5, %27,5 ve %33,2 olarak bulunurken, %30,8'lik olgu ED tariflememiştir (2).



Şekil 19: Türkiye’de ED’nin yaş gruplarına göre prevalansı .

Sınıflandırma ve Etyoloji

ED için birçok sınıflandırma yapılabilir. Bunların bazıları etyolojiye dayanırken bazıları da ereksiyonun nörovasküler fazlarına dayanır. Tablo 2’de Uluslararası Empotans Araştırma Derneği(ISIR)’nin önerdiği sınıflandırma sunulmuştur.

Organik
1. Vasküler
A. Arteryel
B. Kavernoza
C. Mikst
2. Nörojenik
3. Anatomik
4. Endokrinolojik
Psikojenik
1. Genel Tip
A. Genel Duyarsızlık
B. Genel İnhibisyon
2. Durumsal (Kişisel) Tip
A. Partner ile İlişkili
B. Performansla ilişkili
C. Psikolojik Stres ve Adaptasyonel

Tablo 6: ISIR’ın önerdiği ED sınıflaması

Bir çok sistemik hastalık ve iyatrojenik sebep (cerrahi müdahale ve ilaç kullanımı) ED’ye neden olabilir. ED’ye neden olan bu durumlar Tablo 7, 8 ,9,10 ve 11’de gösterilmiştir .

Tip	Mekanizma
Psikojenik	Predizpozan faktörler Ağırlaştırıcı faktörler İdame ettirici Faktörler
Hormonal	Hipogonadizm Hiperprolaktinemi Hipertiroidi Hipotiroidi
Nörojenik	Ereksiyonun santral Kontrolünde bozulma Omurilikte desendan erektojenik uyarıların kesintiye uğraması Pelvis içinde Sakral parasempatik Uyarımın bozulması
Arteriyel	ateroskleroz Travma İyatrojenik
Venöz	Primer venöz Anomaliler Cerrahiye Sekonder Venöz Bozukluklar Tunika albuginea Bozuklukları Kavernözal Disfonksiyon
İyatrojenik	İlaca bağlı Cerrahi Radyoterapi

Tablo 7: ED'deki fizyopatolojik mekanizmalar

Alan	Örnekler
Merkezi Sinir Sistemi	Multiple Skleroz Multiple Sistem Atrofisi Parkinson Hastalığı Alzheimer Hastalığı Temporal Lob Epilepsi
Spinal Kord	Travma Multiple Skleroz Spina Bifida Siringomiyeli Kombine Kord Dejenerasyonu Spinal Kord Kompresyonu
Periferik Sistem ve Kauda Ekuina	Pelvik Sinirlerin Cerrahi Travması Periferik Nöropati (Alkoloizm, DM, Amiloidoz) Pelvis Sinirlerine Radyasyon Travması Pelvis Kırıkları İntervertebral Disk Prolapsusu Kauda Ekuina Lezyonu

Tablo 8: Nörojenik ED nedenleri

Sistemik Hastalıklar	Ateroskleroz Diyabetes Mellitus Sistemik Hipertansiyon Koroner Arter Hastalığı Skleroderma Kronik Renal Yetersizlik Kronik KC yetersizliği
Nörojenik Hastalıklar	Epilepsi (özellikle temporal lobe epilepsisi) Serebro-vasküler Hastalık Multipl Skleroz Guillain-Barre Sendromu Arnold-Chiari Sendromu Parkinsonizm Alzheimer Hastalığı
Otoimmün Hastalıklar	AIDS Poliglandüler otoimmün Hastalık
Solunum Yolu Hastalıkları	Kronik Obstruktif AC Hastalığı (KOAH)
Endokrin Hastalıklar	Hipertroidizm Hipotroidizm Hipogonadizm Hiperprolaktinemi Hiperöstrojenizm Hemokromatozis
Penil Faktörler	Peyronie Hastalığı Epispadias Post-priapizm Veno-oklüziv Disfonksiyon
Beslenme Bozuklukları	Protein Malnutrisyonu Çinko Eksikliği
Hematolojik Hastalıklar	Orak Hücreli Anemi Lösemiler
İnfeksiyon Hastalıkları	Bruselloz Tüberküloz Tripanosomiazis

Tablo 9: Erektile Disfonksiyonun Medikal Nedenleri

Nörolojik Cerrahi	Kafa travması/cerrahisi Spinal kord travması/cerrahisi
Vasküler Cerrahi	Aorta-İliak bypass Aorta-Femoral bypass Pelvik kaçak sendromu
Gastroenterolojik Cerrahi	Abdomino-perineal rezeksiyon Proktokolektomi Pelvik eksentrasyon Alt anterior rezeksiyon
Retroperitoneal Cerrahi	Retroperitoneal Lenf Nodu Diseksiyonu (RPLND)
Pelvik Cerrahi	Pelvik veya perineal travma Pelvik radyasyon Pelvik lenfadenektomi Pelvik eksentrasyon
Ürolojik Cerrahi	Prostata I-125 implantasyonu (Brakiterapi) Açık Prostatektomi Radikal Prostatektomi Perineal Prostatektomi Sistoprostatektomi Perineal Üretroplasti Bilateral Orşiektomi
Endoüroloji	Transüretral Üretrotomi Transüretral Sfinkterektomi Transüretral Prostatektomi (TUR-P)

Tablo 10 : Erektile Disfonksiyonun Cerrahi Nedenleri

Antidepresanlar	Siklik Antidepresanlar (İmipramin, Klomipramin, Amitriptilin, Nortriptilin) MAO İnhibitörleri (Fenelzin, Tranilsipromin) Heterosiklik Antidepresanlar (Trazodon) Lityum karbonat Selektif Serotonin Reuptake İnhibitörleri (SSRI) (Sertralin, Fluoksetin, Paroksetin, Fluvoksamin)
Antipsikotikler (Nöroleptikler)	Fenotiazinler (Klorpromazin, Flufenazin, Tioridazin) Tioksantinler Butirofenonlar
Anksiyolitikler	Benzodiazepinler
Antihipertansifler	Sempatolitikler ; Santral Etkili Ajanlar (Metildopa, Klonidin) Periferik Etkili Ajanlar (Rezerpin, Guanetidin, Guanedrel, Labetolol, Timolol) β -Bloklerler (Propranolol, Pindolol, Atenolol, Metoprolol, Labetolol, Timolol) α -Bloklerler (Prazosin, Terazosin, Alfuzosin, Doksazosin) Kalsiyum Kanal Blokeri (Verapamil)
Kardiyovasküler İlaçlar	Digoksin Antidisritmik İlaçlar (Disopramid) Antihiperlipidemik İlaçlar (Klofibrat) Gemfibrozil
İlaç Suistimali	Narkotikler (Eroin, Kodein, Metadon, Marihuana) Kokain Amfetaminler Alkol Barbitüratlar Nikotin
Kemoterapötik İlaçlar	Alkilleyici Ajanlar (Klorambusil, Siklofosamid) Diğer (Prokarbazin, Vinblastin)
Diüretikler	Tiazidler Karbonik Anhidraz İnhibitörleri Spironolakton
H ₂ Reseptör Bloklerleri	Simetidin Ranitidin Proton Pompa İnhibitörleri (Omeprazol)
Hormonal Ajanlar	Antiandrojenler (Flutamid, Siproteron Asetat) Östrojen ve Progesteronlar Kortikosteroidler 5- α Redüktaz İnhibitörleri (Finasterid) LHRH/GnRH Agonistleri (Löprolid, Goserelin, Buserelin) Ketokonazol
Diğer İlaçlar	Metoklopramid Antikonvulzanlar Opioidler Antikolinerjik İlaçlar (Disopramid) Alkol Baklofen Tütün NSAİD (İndometazin)

Tablo 11: Erektile Disfonksiyona Neden Olan İlaçlar

Fizyopatoloji

Ereksiyonun oluşması için arteriollerin ve kavernöz cismin düz kaslarında relaksasyon olması, penise gelen kan akımının artması, kanın penis içinde hapsedilmesi gerekmektedir. Bu sistemin sağlıklı çalışması için arteriyel, venookluzif, nöral ve hormonal sistem sağlam olmalıdır. Dolayısıyla bu sistemlere zarar veren tüm lokal veya sistemik patolojiler ED'ye sebep olabilir.

Arteryel ED

Arteryel hastalık penise gelen kan akımını kısıtlayarak ED'ye neden olur. Gelişmiş ülkelerde bunun en sık nedeni aterosklerozdur. Aterosklerotik ve travmatik arteryel bozukluklar hipogastrik-kavernöz-helisin arter dallanmasında kan azalması ile sinüzoidlere gelen kan debisi ve perfüzyon basıncı azalır. Bu durum, maksimal ereksiyon zamanını uzatır ve penil rijiditeyi azaltır. Arteryel ED hastalarının çoğunda azalmış penil perfüzyon genel aterosklerotik sürecin bir bileşenidir. Bu durum rölatif olarak iskemi ve kavernoza oksijenizasyonda bozukluk yaratır. Bu da belirli bir süreç sonrası arteryel yetmezliğe, kombine düz kas ve venookluzif disfonksiyonun eklenmesine neden olur. ED ve koroner arter hastalığının insidans ve ortaya çıkış yaşı arasında paralellik görülmektedir (71). Hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara kullanımı, diyabet, künt perineal ve pelvik travma ve pelvik radyasyon arteryel yetmezlikle ilgili önemli risk faktörleridir (72,73). Penil arter veya kavernöz arterin fokal stenozu, en sık olarak sürekli perineal künt travmaya maruz kalan genç hastalarda görülmektedir (örneğin bisiklete binme) (74).

<u>Nedenler</u>	<u>Örnekler</u>
Ateroskleroz	Sistemik Hastalık Segmental Hastalık
İyatrojenik	Aortoiliak cerrahi Renal transplantasyon Radyoterapi
Travma	Pelvis Kırığı Künt perineal Travma
Çeşitli	Priapizm sonrası Pelvik emboli Pelvik kaçak Sendromu

Tablo 12: Arteryel ED nedenleri

Venöz (Kavernözal) ED

Eretil süreçte venooklüzif mekanizma esastır ve bunun normal olarak fonksiyon görmesi için yeterli arteryel akım , normal bir kavernözal düz kas gevşemesi ve normal tunikal fonksiyon gereklidir. Venooklüzif disfonksiyon vasküler ED'nin önemli nedenlerinden olup, belirli patofizyolojik durumlara bağılı olabilir:

- 1- Kavernöz cismin drene olmasına neden olan büyük venöz kanalların varlığı veya ortaya çıkması
- 2- Subtunikal veya emisser venlerin yeterince komprese edilememesine neden olan dejeneratif değişiklikler (Peyronie hastalığı, yaşlanma ve diyabet), veya tunika albugineanın travmatik hasarı (penil fraktür). Peyronie hastalığında, tunikanın esnekliğini yitirmesi emisser venlerin kapanmasına engel olur(75).
- 3- Trabekül, kavernöz düz kas ve endotelin fibroelastik bileşenlerinin yapısal değişimi
- 4- Yetersiz nörotransmitter (NO, ACh) salınımı olan veya aşırı adrenerjik deşarj olan kişilerde yetersiz trabeküler düz kas gevşemesi, sinüzoidal genişlemenin sınırlı olmasına ve devamında subtunikal venlerin yetersiz kompresyonuna neden olabilir (76).
- 5- Venöz şantların varlığı: Priapizmin cerrahi tedavisi sonrasında kalıcı olarak kavernözoglanüler veya kavernözospongial şantlar oluşabilir.

Fibroelastik Bileşenler: Diyabet, hiperkolesterolemi, vasküler hastalık, penil travma veya yaşlanma nedeni ile kollajen birikimi artar ve elastik lifler azalır. Bu, penil sinüzoidlerde kompiyans kaybına neden olabilir (77). Bu kanıyı güçlendiren bir çalışmada peniste elastik liflerin yüzdesi normal erkeklerde %9 iken, venöz kaçaklı hastalarda %5, arteryel hastalıklı olanlarda ise % 4,3 olarak bulunmuştur (78).

Düz Kas: Korporal düz kas ereksiyonu sağlayan vasküler olayları kontrol ettiğinden, düz kas içeriğini ve ultrastrüktürel yapısının değişimi erekil cevabı etkiler. Yapılan çalışmalarda normal potent erkeklerde penil düz kas dokusunun venöz ve arteryel ED'li kişilere göre daha fazla olduğu görülmüştür (79). Özellikle vasküler ve nörojenik ED'de hasarlı kas dokusu primer sebebin etkisini artırmaktadır (80).

İyon kanalları kas dokusunun işlevinde önemlidir. ED'li hastalarda maks-K kanallarının yapısal değişiminin gözlenmesi; K kanallarının fonksiyon ve düzenlenmesindeki bozukluğun azalmış hiperpolarizasyon kapasitesi, değişen Ca dengesi ve yetersiz kas gevşemesi ile ilişkili olabileceğini ortaya koymaktadır(65). Bunun yanı sıra hiperkolesterolemi, iskemi ve sinir innervasyonunun kesilmesi de kas hücrelerinin gevşemesini etkilemektedir.

Gap bileşekler senkronize ve koordine bir erektıl yanıt için gereklidir. Ciddi arteryel bozukluklarda hücre membranları arasında kollajen birikimi nedeni ile hücrel temas azalır ve gap bileşekler gerektiği gibi hücreler arası iletişimi sağlayamaz (81).

Özellikle düz kas gevşemesini sağlayan vazoaktif ajanlar salgılaması nedeni ile endotel kas gevşemesinde anahtar rol oynar.

Fizyopatoloji	Tip	Örnek
Anormal venöz kanallar	Primer Sekonder	Doğumsal Priapizm cerrahisi Tekrarlayan darlık cerrahisi sonrası
Venooklüzif disfonksiyon	Anormal düz kas fonksiyonu Düz kas tonus kaybı T. Albuginea disfonksiyonu	Aşırı sempatik tonus İskemi Hiperkolesteremi İskemi Yaşlanma Peyronie Hastalığı İskemi Yaşlanma

Tablo 13: Venöz ED fizyopatolojisine önemli faktörler

Tanı

ED'nin tanısında standart bir algoritim oluşturmak oldukça zorlaşmıştır çünkü son yıllarda oral farmakoterapilerin geliştirilmesi ile tam bir tanısal çalışma yapmadan direkt olarak amaca (ereksiyona) yönelik tedavilerin kullanımı sıklaşmıştır. Bu daha önceden rutin yapılan tanısal çalışmaların ileri testler olarak tanımlanmasına neden olmuştur. Bu nedenle 1999'da Paris'te yapılan 1. Uluslararası Erektik Disfonksiyon Konsultasyon toplantısında tanı çalışmaları çeşitli sınıflara ayrılmıştır (Tablo 14).

Temel Değerlendirme ve Testler:

- Tam bir anamnez (seksüel, medikal, psikososyal)
- ED değerlendirme skala/formları (IIEF vb.)
- Tam bir sistemik ve genitoüriner fizik muayene

Yapılması önerilen tanısal testler:

- Açlık kan şekeri veya glikozile hemoglobin (HbA1c)
- Lipid profili
- Serum testesteron seviyesi

Opsiyonel tanısal testler:

- Psikolojik ve/veya psikiyatrik konsultasyon
- Laboratuar çalışmaları (Prolaktin, Luteinizing hormon, tiroid-stimulan hormon, tam kan sayımı, idrar analizi)

Özel değerlendirme ve Tanı Testleri

- Derinlemesine psikoseksüel ve ilişki değerlendirmesi
- Psikiyatrik değerlendirme
- Nokturnal penil tūmesans ve rijidite (NPTR) değerlendirmesi
- Vasküler Tanı Araçları (Farmakopenil Doppler Ultrasonografi (FPDU), Kavernozometri vb.)
- Özel endokrinolojik testler
- Nörofizyolojik Testler

Tablo 14: ED değerlendirme ve tanı çalışmaları

Klinisyen açısından hangi tanısal değerlendirme yöntemleri seçilirse seçilsin, bu çalışmalar;

- ED'nin medikal ve psikoseksüel sebebinin tanımlayabilmeli
- ED'nin ciddiyetinin ve geri döndürülebilirliğini belirleyebilmeli
- Ulaşılan tanıya ve hasta-partner isteğine uygun tedavi seçeneğine ışık tutmalıdır.

Anamnez

Öncelikli amaç, sebebin psikojenik/organik ayrımının yapılmasıdır. Organik ED genellikle artan bir süreçken, psikojenik ED genellikle akutur. Zaman zaman normal ereksiyonların olması, özellikle sabah sertliği, eşine ya da özel bir partnere karşı ED olması psikojenik ED'yi düşündürür. Bunların yanında hastanın seksüel, psikososyal hayatı, ilişkileri sorgulanmalı, partneri hakkındaki düşünceleri öğrenilmelidir.

Önceki ameliyatlara ve hastalıkları (travma, pelvik cerrahi, kardiyovasküler cerrahi, epilepsi, diyabet vb.), sürekli kullanılan ilaçlar (Antiepileptikler, antihipertansifler, diüretikler, antiandrojenler) sigara, alkol ve uyuşturucu alışkanlıkları sorulmalıdır.

Eretil Disfonksiyon Skalaları:

Hastaların semptomlarının şiddetini standardize etmek ve verilen tedavinin başarısının hasta gözüyle belirlemek amacı ile hastalarca yapılan anketler özellikle son 10 yıldır klinik pratiğe yerleşmiştir. Bunların en sık olarak kullanılan ve kabul edileni Rosen ve ark.'nın ortaya koyduğu Ereksiyon İşlevi Uluslararası Değerlendirme Formu (IIEF) ve Kısa Erkek Cinsel Fonksiyon Envanteri (BMSFI)'dir (82).

Günümüzde en sık kullanılan anket olan IIEF; erekil fonksiyon, orgazmik fonksiyon, cinsel istek, ilişki tatmini ve toplam tatmin konularını sorgulayan 15 sorudan oluşur.

IIEF'in Eretil fonksiyon alanıyla ilgili sorular	
1. Son 4 hafta içindeki cinsel faaliyetleriniz sırasında peniste sertleşme ne sıklıkta oldu?	
2. Son 4 hafta içinde cinsel uyarılmayla oluşan sertleşmelerin ne kadarlık bir kısmı cinsel ilişkiyi sağlayacak düzeydeydi?	
3. Son 4 hafta içindeki cinsel ilişki girişimlerinde hazneye giriş ne sıklıkta mümkün oldu?	
4. Son 4 hafta içindeki cinsel ilişkiler sırasında sertliği ne sıklıkta devam ettirebildiniz?	
5. Son 4 hafta içindeki cinsel ilişkileri tamamlamak için sertleşmeyi sürdürmekte ne kadar zorlandınız?	
15. Son 4 hafta içinde sertleşme sağlama ve devam ettirme konusunda kendinize güveninizi nasıl değerlendiriyorsunuz?	
Puanlama: her zaman:5, çoğunlukla:4, bazen:3 nadiren:2, hemen hemen hiç:1, hiç cinsel ilişki olmaması:0	

Eretil Fonksiyon Alanı Puanı*	Eretil Disfonksiyonun Sınıflanması
1-10	Ağır
11-16	Orta
17-21	Hafif-orta
22-25	Hafif
26-30	ED yok

Tablo 16: IIEF skoruna göre ED şiddetinin sınıflandırılması

Tablo 17: IIEF'in erekil fonksiyonu sorgulayan soruları

Fizik Muayene (FM)

Hastanın genel FM’de postür, kıl ve yağ dağılımı, kas kitlesi incelenmeli, kardiovasküler muayenede özellikle kan basıncı ve periferik nabızlara dikkat edilmelidir. Nörolojik muayenede duyu ve motor sistemler sorgulanmalı, refleksler kontrol edilmelidir.

Genital muayenede özellikle penis şekil ve boyutu, testisler önem taşır. Dikkatli bir FM ile Peyronie hastalığı ve Hipospadias gibi anomalilerin yanında, hipogonadizm düşündüren bulgular saptanabilir.

Biyokimyasal Testler :

Diyabeti değerlendirmek için ; açlık kan şekeri (AKŞ), ateroskleroz için; kan yağları, hemogram, üre, kreatin ve karaciğer fonksiyon testlerine (KCFT) bakılmalıdır. Hormonal değerlendirme için; gerekli hastalarda lüteizan hormon (LH), folikül stimulan hormon (FSH), Testesteron ve prolaktine (PRL) bakılır.

Nörolojik Değerlendirme :

Bu değerlendirme sakral bölgenin motor, duysal ve refleks muayenesini içerir. Klinik muayene tamamlandıktan sonra olası nörolojik hasarın tipine göre uygun testler yapılır.

Santral sinir sistemi lezyonu düşünülen hasta grubunda; motor ve duysal fonksiyonları değerlendirmek için, manyetik stimülasyon ve somatosensoryel potansiyel ölçümleri, polinöropati ile uyumlu anamnez veren hastalarda; alt ekstremité sinir iletimi, EMG ve ısı çalışmaları, aşağı spinal lezyonlar ve pelvik hastalığa bağlı penil innervasyon kusuru düşünülen hastalarda; sfinkter kas EMG’si, BCR, dorsal sinir iletimi ve genital bölgenin manyetik stimülasyonu önerilmektedir.

Laboratuvar Testleri :

A. Motor Testler:

1. EMG
2. Manyetik Stimülasyon

B. Duysal Testler :

1. Penil Biotezyometri :
2. Termal Test
3. Uyarılmış Potansiyel Testleri
 - a. Dorsal Sinir İletim Hızı
 - b. Sakral İletim Hızı (SEP)

c. Genitoserebral İletim Zamanı

4. Kavernözal Düz Kasların Elektriksel Aktivitesinin Ölçümü (SPACE)

C. Refleksler:

Bulbokavernöz Refleks (BCR)

D. Otonomik Testler :

1. Sempatik Cilt Yanıtı (SSR)

2. Kavernöz cismin EMG ile tetkiki

Nokturnal Ereksiyonlar ve Değerlendirilmesi :

Nokturnal Penil Tümesans ve Rigidite (NPTR)

Pul Testi

Snap-Gauge Testi

Rigiscan Monitörü

Vasküler Değerlendirme

Eretil proses başlıca üç faza ayrılır. Bunlar arteryal cevap fazı, tümesans fazı ve eretil cevap fazı olup her fazın kendine ait patolojisi ve tanı testleri vardır.

Arteryal Cevap Fazı : Helisin arterlerin düz kaslarının gevşemesiyle başlar ve sistemik arteryal basınç ile intrakavernözal basınç arasında fark kavernöz sinuzoidlere doğru kanın akmasıyla sonuçlanır. Bu fazın değerlendirilmesi ; Farmako-Penil Dupleks Ultrasonografi (PPDU) ile ölçülen maksimal sistolik akım hızı (PSV), sistolik yükselme zamanı (SRT) ve bu ikisinden bulunan akselerasyon zamanı (AT), kavernözometri ile ölçülen kavernöz arter okluziyon basıncı, yüksek kavernöz oksijen basıncı ve Tc99 sintigrafi ile yapılabilir. Günümüzde PSV'nin referans değerleri için tam bir konsensus yoktur ve klinisyenlere göre PSV normal alt limiti 20-35 cm/sn değerleri arasında değişmektedir (83). Arteryal cevap genel olarak kullanılan vazoaktif ajana ve dış faktörlere bağlı değildir.

Tümesans Fazı : Arteryal akım venöz akımı aştığı zaman arteryal cevap tümesansa yol açar. Bu fazın değerlendirilme kriterleri ; penisin uzunluğu ve çevresidir.

Eretil Cevap Fazı : Trabeküler düz kasların tam gevşemesi ile birlikte intrakavernöz basıncın artması, subtunikal venüllerin tunika albugineaya doğru sıkışmasına yol açar. Trabeküler düz kas tonusu kavernöz cisimdeki venöz akım rezistansını düzenler. Venooklüziv mekanizma, PPDU ile ölçülen diastol sonu akım hızı (EDV) ve rezistans index (RI) ve sintigrafi ile ölçülen Xenon –133 wash out çalışması ile değerlendirilir. Eretil cevabın klinik parametreleri; ereksiyon açısı, buckling gücü, ve rigiscan ile ölçülen radyal rijitedir.

Vasküler değerlendirmede kullanılan testler

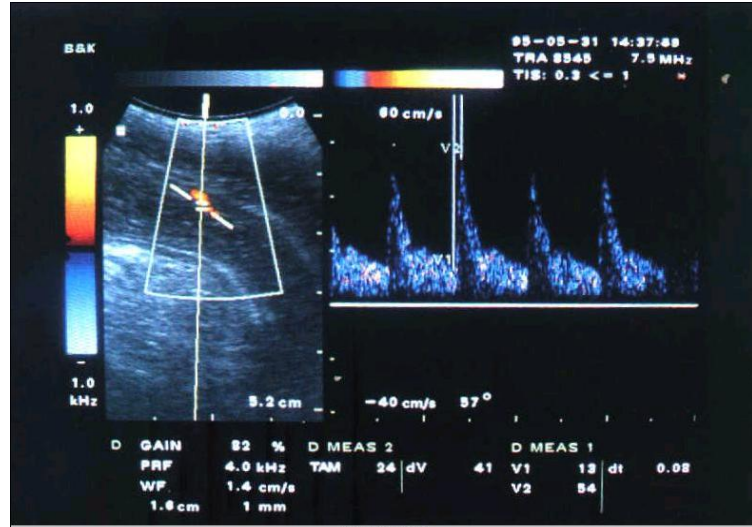
Farmakotest

Erektile disfonksiyonun tanısında vazoaetif ajanların intrakavernözale enjeksiyonu (ICI) ile farmakolojik olarak oluşturulabilen ereksiyon, bu testin temelini oluşturur. ICI'da kullanılan maddeler ; PgE1, papaverin ve fentolamindir. Farmakotestin tanısale doğruluğunu artırmak için çeşitli metodlar vardır;1) Yüksek başlangıç dozu veya dozun tekrarı 2) Senkronize olarak Doppler Ultrasonografi yapılması 3) Hastanın kendini uyarması veya turnike uygulaması ile erektile cevabın artırılması

Farmako-penil Dupleks Ultrasonografi (PPDU)

Arteriyel ED'da internal iliak arteriyografi ve venöz ED'da kavernözometri ve kavernözografi ideal tanı yöntemleridir. Günümüzde komplike hastalar değerlendirilmesinde intrakavernöz farmakotest ve Dupleks Doppler ultrasonografiden oluşan penil kan akım çalışması en güvenilir ED değerlendirme yöntemidir.

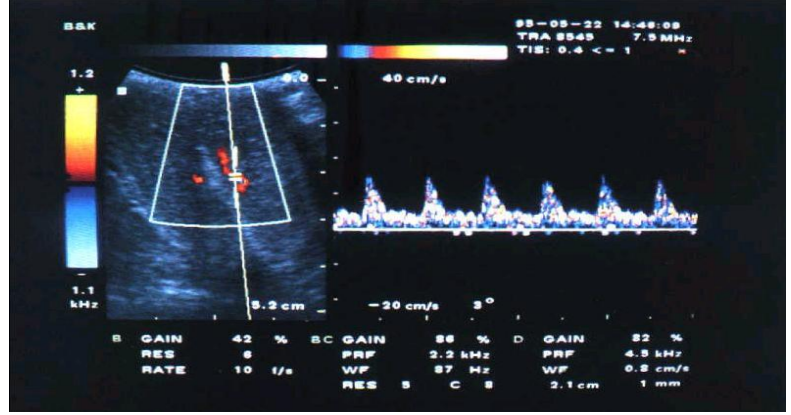
Normal PPDU parametreleri	
PSV	>20-35 cm/sn
SRT	<110 milisaniye
EDV	<5 cm/sn
RI	1,0



Tablo18: Normal PPDU parametreleri. Şekil 20: Normal penil arterin renkli dupleks taraması.

Teknik: Enjeksiyon öncesi yapılan kesitlerde B-mod ile kavernöz yapılar, tunika albuginea incelenir, Peyronie plakları araştırılır. Bu sırada proksimal penil şaftta ve longitudinal projeksiyonda kavernöz kan akımı ölçülebilir. Bu, sempatik tonusa, hastanın endişesine ve oda sıcaklığına bağlı olarak değişebilir ama bu ölçüm enjeksiyon sonrası için öngörü sağlamaz. Daha sonra ilaç direk kavernozum cisme enjekte edilir. Vazoaetif maddelerin intra

kavernozal enjeksiyonu ereksiyonun psikoerotik ve nörolojik faktörleri devre dışı bırakarak ereksiyonu gerçekleştirir. Kavernöz arterler çoğunlukla penis kökünde septuma yakın orta hatta ölçülür. Sonra Renkli Doppler USG ile prob kavernöz arterlerin üzerinde doğru aksiyel açı (40-50) ile sabitlenerek akselerasyon zamanı, maksimal sistolik akım hızı (PSV), diastol sonu akım hızı (EDV) kaydedilen akım trasesinden tekrar ölçülür (84).



Şekil 21: Arteriyel yetersizliği gösteren renkli dupleks taraması (Azalmış PSV ve dalga konfigürasyonunda baskılanma).

Kavernozometri

Venookluziv disfonksiyonu olan erkeklerde venookluziv yetersizliğinin derecesinin ve lokalizasyonunun değerlendirilmesinde primer testtir.

Kavernözografi

Venookluziv disfonksiyonda kaçığın yerini saptamak için yapılır.

Anjiyografik Tetkikler

Selektif pudental anjiyografi penisin arteriyel yapısının araştırılmasında altın standarttır.

Tedavi

Son 30 yılda ED tedavisinde büyük değişiklikler olmuştur. Tedavi seçenekleri 1970’lerde psikoseksüel terapi ve penil protezden ibaretken, 1980’lerde revaskülarizasyon, vakum cihazları ve intrakavernözal enjeksiyon tedavisi ortaya çıkmış, 1990’larda ise transüretal ve oral ilaç tedavisi kullanıma girmiştir (Tablo 19). Güncel klinik kullanıma giren son ilerlemeler ise erektil fonksiyonda NO-cGMP yolunun aydınlatılması ve PDE inhibitörü olan oral tedavilerin geliştirilmesidir.

1. ED Tedavisinde Kullanılan Oral ve Topikal Ajanlar

Endokrin Bozukluklar	Testesteron preperatları Bromokriptin Dehidroepiandrosteron
Ereksiyon Bozuklukları	Sildenafil Verdenafil Tadanafile Yohimbin L-Arginin Minoksidil Trazodon Apomorfin Nitrogliserin Fentolamin PgE1
Libido Bozuklukları	L-Deprenil Quineloran Testesteron
Ejekülasyon Bozuklukları	Selektif Serotonin re-uptake inhibitörleri (Bupropion, Fluoksetin, Klomipramin)

Tablo 19: Erektile disfonksiyon tedavisinde kullanılan oral ve topikal ilaçlar.

2. İntrakavernözal Farmakoterapi (ICI) : ED yakınması olan bütün hastalar ICI tedavisi için adaydır. ICI, ED’nin hem tanı hem de tedavisinde kullanılan en önemli yöntemdir. ICI tedavisinin amacı; hastanın yeterli cinsel ilişki kurması için yeterli derecede ve en az 30-60 dk süren bir ereksiyon sağlamasıdır.

3. Yardımcı Yöntemler : Vakum Ereksiyon Cihazları; negatif basınç oluşturarak ereksiyon oluşturlar. Penis köküne yerleştirilen boğucu bandaj 30 dk'dan fazla tutulmamalıdır.

4. ED Tedavisinde Cerrahi Yöntemler :

Penil Protezler : İlk çalışmalar 1930 yılında başlamış, 1968'de silikon implantlar ve 1972'de ilk şişirilebilir protezler kullanılmaya başlanmıştır (85). Penil protezler primer olarak ereksiyon oluşturmamayan veya cinsel ilişki kuramayacak kadar penil deformitesi olan hastalarda uygundur. 1992'de yapılan NIH konsensus toplantısında minimal invaziv seçeneklerin her zaman öncelikli olacağı ve tüm alternatifleri deneyen ve fayda görmeyenlerde uygun olacağı kabul edilmiştir (86).

Arteryal ED'de Tedavi : Penil revaskülarizasyonun amacı ; penise gelen kan akımını artırmaktır. İlk kez 1972'de tarif edilmiş ve yapılmıştır.

Venookluzif ED'de Venöz Cerrahi: Kavernozal venookluzif disfonksiyonu belirlenen hastalarda venöz rezistansı artırmak amacıyla yapılan yaklaşımlardır. 1908'den beri yapılmaktadır.

ED’de Gen tedavisinin Geleceği:

ED’nin tedavisinin tarihsel süreci incelendiğinde son yıllarda yaşanan tanısal ve teröpatik gelişmelerin hastaların büyük bir kısmına tedavi imkanı sağladığını görmekteyiz. Buna karşın bu tedavi yöntemlerinin, değişik oranlarda yan etki, komplikasyon ve kontraendikasyonları mevcuttur. Bundan dolayı gelecekte geliştirilecek tedavi rejimlerinin daha az yan etkili ve daha az invaziv tedaviler olması beklenmektedir. Bu bağlamda, gen terapisi ve büyüme faktörlerinin kullanımı güvenilir ve minimal invaziv yöntemler olarak görülmektedir (87).

Somatik gen transferi , tedavi sağlamak amacıyla ,uygun tipte hücreye in vivo veya in viro yollardan , o hücrenin gen ekspresyonunda değişikliğe neden olacak gen materyalinin (RNA veya DNA) nakledilmesidir. Geçmişte gen tedavisi ile etyolojisinde genetik hata olan hastalıkların genetik bileşenlerinin tedavisi amaçlanmaktaydı. Günümüzde ise, herhangi bir fizyolojik işleyişin gerçekleşmesinde kilit rol oynayan ve çeşitli hastalıklarda düzeyleri düştüğü bilinen protein veya faktörlerin gen nakli sonrası konak hücrelerce yeniden üretilmesi ve eksik olan birimin yerine konması yoluyla ortaya çıkacak teröpatik etki üzerinde durulmaktadır. Bunun yanında bazı mutant gen ekspresyonlarının antagonize edilmesi de olasıdır. Gen tedavisinin başarılı olması için; üretimi amaçlanan proteini kodlayan genin olması, hedef gene uygun bir vektör ile konak hücreye nakledilmesi ve konak hücrenin nakledilen genetik materyal ile negatif bir etkileşime girmemesi gerekir (87).

Başarılı bir gen tedavisinin en önemli şartlarından biri, gen naklinin sağlayacak uygun vektör veya araçların olmasıdır. Günümüzde bu amaçla halen non-viral araçlar (çıplak DNA, plazmid DNA ve lipozomlar), adenovirüsler, adeno-associated virüsler ve retrovirüsler kullanılmaktadır. İdeal bir vektör; etkili bir transdüksiyon ve uzun süreli gen ekspresyonu sağlayan, enfeksiyon, immünolojik reaksiyon veya konak hücre mutasyonu gibi yan etkileri olmayan özelliklerde olmalıdır (87). Non-viral vektörler hemen hemen hiç yan etki yapmamalarına rağmen düşük oranda nakil ve ekspresyon sağlayabilmektedir. Viral vektörler ise bu açığı kapatabilmekle birlikte, immünolojik yan etkiler açısından şüphe uyandırmaktadır. Dolayısıyla halen uygun bir vektör arayışı vardır.

Gen tedavisi ilk gündeme geldiğinde özellikle kardiovasküler hastalıkların için önerilmiştir (88). ED patofizyolojisinde vasküler faktörlerin önemli rol oynaması bu tedavi yönteminin ED’ye de uyarlanabileceğini düşündürmüştür. Kardiovasküler sistemin yapısal özelliği nedeni ile gen tedavilerinin hedef bölgeye ulaşmaları nispeten zordur, bu da sistemik yan etki olasılığını artırır. Halbuki, ED tedavisinde hedef organ (penis) lokalizasyonu ve yapısı uygun olduğu için benzer sakıncalar minime indirilebilir. Yine gen tedavisi ile bir diğer problem hedef hücrelerin büyük kısmının transfekte edilme gerekliliğidir. Buna karşılık peniste sadece

belli grup hücrelerin transfekte olması teröpatik etki için yeterli olacaktır. Peniste belli bir hücreye gen naklinin yapılması gap bileşkeler sayesinde tüm penise yayılabilecektir. Bunun yanında korpus kavernözüm düz kas hücrelerinin nispeten düşük turn-over oranı da tedavi edici genin hedef hücrede uzun süre eksprese edilmesi ve etkinliğin uzun süre devam etmesini sağlayacaktır.

Düz kas gevşemesini sağlayan sinyal ileti yoluna etkili molekül ve enzimler, ED’de gen tedavisinin potansiyel hedefleridir. Bu konuda ilk gen tedavisi 1997’de Garban ve ark.’ca gerçekleştirilmiş ve iNOS geni ile kodlanmış çıplak DNA molekülünün yaşlı ratlarda erektile fonksiyonu iyileştirdiği gösterilmiştir (89). Benzer bir çalışmayı nNOS ile yapan Rehman da intrakavernözal basınç artışı olduğunu ortaya koymuştur (90). Christ, maksil-L kanallarını kodlayan hSlo cDNA naklinin yaşlı ve diyabetik ratlar erektile fonksiyon üzerine olumlu etkilerini bildirmiştir (91). Wessels 1999’da yaptığı çalışmada genetik olarak modifikasyon uygulanan endotelial hücrelerin nakledildikleri rat kavernöz cisminde 2 hafta boyunca değişmeden eksprese edildiğini göstermiştir (92).

Bakırcıoğlu ve ark.’nın yaptığı önemli bir çalışmada nörojen ED yapılan ratların kavernöz cisme enjekte edilen “Adeno associated Virus (AAV)” ve “Brain Derived Neurotrophic factor (BDNF)” ile tedavi edilmesi, bu genlerin pelvik ganglionda nNOS sentezleyen nöronların dejenerasyonunu engellediği, penil dokuda da bu nöronları rejenere ettiğini düşündürmüştür (93). Yine Lee ve ark., travmatik arteriyel ED’li ratlarda Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) nakli ile tedavi sağlamıştır (94). Magee de Adenovirüs(AV)- nNOS gen nakli ile benzer sonuçlar elde etmiştir (95). Başka bir grubun yaptığı bir seri çalışmada ise, adenovirüs üzerinden nakledilen eNOS ve SOD genlerinin yaşlı ratlarda uyaranlar yanıt olarak oluşan intrakavernözal basıncı artırdığı ve dolayısıyla erektile fonksiyonu iyileştirdiği görülmüştür. Çalışmada enzimler sırasıyla 1 ay ve 1,5 ay süreyle kavernöz cisimde eksprese edildi (96). Bu grubun yaptığı bir diğer önemli çalışmada diyabetik rat modellerinde eNOS düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gösterilerek eNOS gen naklinin diyabetik ratlarda ED üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda gen nakli sonrası eNOS gen ekspresyonunun penil dokuda arttığı, buna başlı olarak NO ve cGMP düzeylerinin de anlamlı olarak yükseldiği tespit edildi. Bu tedaviye sildenafil tedavisinin eklenmesiyle intrakavernözal basınç artışı ile birlikte ereksiyon sürelerinin de uzatılabildiği gösterildi (53). Bu, kombine eNOS gen terapisi ve sildenafil tedavisinin tek başına sildenafille yanıtız hastalarda önemli bir alternatif olabileceğinin habercisidir. Yine aynı grubun yaptığı bir diğer çalışmada; Rho Kinazın aktivatörü olan RhoA’nın inhibitörü double (-) RhoA mutant

(T19Nr_hA) geninin AAV yoluyla penise nakli diyabetik ratlarda ereksiyonu anlamlı olarak artırmıştır (97).

Sonuç olarak, gen terapisi gelecekte ED'nin tedavisinde önemli bir seçenek olabilecektir. Özellikle penil dokuya tek enjeksiyonla nakledilen genlerin 2-3 ay süre ile dokuda eksprese ediliyor olması tedavinin önemli bir avantajıdır. Diğer yandan nakil için kullanılacak vektörlere bağlı olası etkiler hala araştırma konusudur.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta ve Kontrol Grubu:

Bu çalışma Ocak 2003 ile Haziran 2003 tarihleri arasında Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Androloji polikliniğine ED yakınması ile başvuran 52 ile 68 yaş arasındaki 30 erkek hasta ile ED sorunu tariflemeyen 25 gönüllü erkek ile yapıldı. Hasta ve kontrol grubunda; düzenli cinsel yaşamları olma şartı arandı.

Çalışma grubunun tamamında kapsamlı bir medikal ve psikoseksüel öykü alındı ve fizik muayeneleri yapıldı. Fizik muayenede özellikle dış genital organlar, sekonder seks karakterleri ve penil deformiteler değerlendirildi..

Hastalara genel kan biyokimya değerlendirmesi (hemogram, karaciğer fonksiyon testleri, kreatin, kolesterol ve trigliserid), hormonal değerlendirme (prolaktin ve testesteron) ve diyabetik değerlendirme (AKŞ ve HbA1c) yapıldı.

Çalışmaya alınan hastalara ATL 6000 USG cihazı ile 7,5 Hz prob kullanılarak Farmako-Penil Dupleks Ultrasonografi (PPDU) yapıldı ve penil vasküler sistem değerlendirildi. Tüm PPDU incelemeleri aynı klinisyence standart tekniklere uygun olarak yapıldı.

Hastalara; hastaların kendi kendine uyguladığı 15 soruluk Ereksiyon İşlevi Uluslararası Değerlendirme İndeksi (International Index of Erectile Function) (IIEF) uygulandı. IIEF'deki özellikle erektile fonksiyonu sorgulayan 1., 2., 3., 4., 5. ve 15. sorulara verilen cevaplar değerlendirildi, sonuçlar;

- Hiç yada hemen hemen hiç ; 1 puan
- Nadiren (yarıdan azı) ; 2 puan
- Bazen (yarısında) ; 3 puan
- Çoğunlukla (yarıdan fazlası); 4 puan
- Hemen hemen hepsinde ; 5 puan üzerinden skorlandırıldı.

Bu 6 sorunun toplamında 25 veya altında skor alanlar ED'li olarak kabul edilirken, 26 veya üstünde skor belirtenler erektile fonksiyon açısından sağlıklı olarak değerlendirildi.

Hastalar için ;

Çalışmaya alınma kriterleri :

- Subjektif olarak ED şikayeti ile androloji polikliniğine başvurmuş olması
- En azından son altı aydır bir cinsel partnerinin olması
- Yapılan PPDU'da objektif olarak vasküler (arteryel/venöz/mikst) patoloji saptanmış olması

Çalışmadan çıkarılma kriterleri :

- Ereksiyonu anlamlı derecede bozan penil deformitesi olması
- Majör psikiyatrik bozukluk olması

Kontrol grubu için;

Çalışmaya alınma kriterleri:

- Geçmişte veya halen ED şikayetinin olmaması
- IIEF formu erektil fonksiyon skorunun 26 veya üzerinde olması

Bu kriterlere uyanlar hasta ve kontrol grubu üyelerinden CaEDTA'lı tüpe 4 cc periferik kan alınarak genetik inceleme yapıldı.

Çalışma öncesi tüm çalışma grubuna araştırmanın içeriği ve amacı anlatılarak onayları alındı.

Teknik Metod

Genetik İnceleme

Gereçler

Enzimler:

Taq DNA polimeraz (MBI)

Proteinaz K (Boehringer-Mannheim)

Kimyasallar:

Agaroz (Promega)

Akrilamid

Amonyum asetat

Amonyum klorid

Amonyum persülfat

Asetik asit

Brom fenol mavisi

Etanol

Etidyum bromid

EDTA

Hidrojen korid

Ksilen siyanol

Sodyum hidroksit

Sodyum karbonat

Sodyum klorid

Sodyum sitrat

Tris baz

Tris HCl

Kullanılan tampon ve çözeltiler

DNA izolasyon çözeltileri:

RBCL (eritrosit parçalama solüsyonu) pH 7.4;

0.15 M NH_4Cl

0,01 M KHCO_3

0,01 M EDTA (pH 8.0)

WBL (beyaz hücre parçalama solüsyonu);

0.1 M NaCl

0.025 EDTA (pH 8.0)

Amonyum asetat solüsyonu;

9.5 M NH_4Ac (sterilizasyon için 0.2 mikronluk filtreden geçirilir)

TE tamponu (pH 7.4)

10 mM Tris HCl

1 mM EDTA pH 8.0 (+20°C)

SDS stok solüsyonu

10% (w/v)

0.2–0.45 μm membran ile filtre edilmiş

Elektroforez solüsyonları:

Yükleme tamponları

6 X agaroz jel yükleme tamponu : % 0.25 bromfenol mavisi, % 30 gliserol

2 X denatüre edici PAG yükleme tamponu : % 0.25 bromfenol mavisi, % 0.25 ksilen siyanol, % 95 formamid

Etidyum bromid stok solüsyonu

10mg/ml

50 X TAE

2 M tris-asetat

0.05 M EDTA (pH 8.0)

Kullanılan Cihazlar:

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) cihazı Perkin Elmer 480

Çalkalamalı su banyosu

Stratalinker UV cross-linker

Hibridizasyon fırını

CCD kamera-bilgisayar donanımı

Isı kontrollü sirkülatörlü dikey elektroforez

Yatay elektroforez

UV transilimünatör

Yatay çalkalayıcı

Yöntemler

Periferik kandan DNA izolasyonu

1. 4 ml EDTA'lı periferik kan 50 ml'lik falkon tüpüne aktarılarak üzerine 1:3 oranında (30 ml) eritrosit lizis tamponu eklendi. +4⁰C'de 20 dakika bekletilip, 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
2. Örnek santrifüjden alınarak üzerindeki supernatant atıldı. Pelet süspanse edildi ve üzerine 20 ml eritrosit lizis tamponu eklendi. Tekrar 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve supernatan atıldı.
3. Pelet tamamen suspanse edilip üzerine 500 µl SDS (%10'luk), 50 µl proteinaz K (20mg/ml) ve 9.4 ml WBL (White Blood-Cell Lysis) tamponu eklenerek 55⁰C'de gece boyu bekletildi.
4. İnkübasyon sonrası üzerine 3700 µl Amonyum-asetat (9.5 M) eklenip iyice karıştırıldı.
5. Kurutma işlemi ile kalan alkol uçuruldu. Elde edilen DNA'nın miktarına göre 100-300 µl kadar TE (Tris-EDTA) tamponu eklenerek 55⁰C'de 1 saat bekletilerek 4⁰C'de muhafaza edildi. 3000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Üstteki temiz kısım alınarak yeni bir falkon tüpe aktarıldı, pelet atıldı.
6. Supernatanın üzerine 20 ml etanol eklendi ve DNA'nın toplanması beklendi. DNA alınarak bir Eppendorf tüpe aktarıldı ve üzerine 1 ml %70 etanol koyuldu. Maksimum hızda santrifüjde 10 dakika çevrilerek DNA çöktürüldü ve supernatan atıldı.

DNA konsantrasyonu ve saflığının ölçümü

- Stok DNA tüpünden 5 µl örnek alındı ve 1.5 ml'lik eppendorf tüpe aktarıldı.
- Üzerine 495µl su eklenerek 1/100 oranında sulandırıldı.
- Örneğin spektrofotometrede 260 ve 280 nm ultraviyole dalgaboyunda absorpsiyon değerleri okundu.
- DNA miktarı formüle göre hesaplandı:
- Konsantrasyon = 100 (sulandırma) x 50 (sabit) x OD₂₆₀ = ng/µl DNA
- OD 260/280 >1.8 RNA, < 1.8 protein kontaminasyonu olarak değerlendirildi.

eNOS PCR'ı

ENOS genotipleri oligonükleotid primerleri (sense: 5' AGGCCCTATGGTAGTGCCTTT-3' ; antisense 5'-TCTCTTAGTGCTGTGGTCAT-3' Prizma® Laboratuvar ürünleri limited, İstanbul) kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile belirlendi. Bu primerler 7. kromozomdaki eNOS geni intron 4 pozisyonunun 27 baz çifti (bp) direkt tekrarları idi.

primerlerin dizisi

forward-5'-GGCCCTATGGTAGTGCCTTT-3'

reverse- 5'- TCTCTTAGTGCTGTGGTCAT-3'

primerler	1 mM
dNTP's	0.2 mM
10x Tampon (MBI)	1x
MgCl	2.0 mM
DMSO	%10
Taq (MBI)	0.5 U
DNA	100 ng

Toplam 50 µL'lik; 500ng genomik DNA, her bir DNA primerinden 10 pmol , 0.2 mM dNTP, 0.5U Taq DNA polimeraz (MBI Fermentas Inc., New York, NY), 5 µL PCR tampon çözeltisi (500 mmol/L KCl, 100mmol tri-hidroksimetil- aminometan klorit ve %0.8 Nonidet P40; MBI Fermentas Inc.) içeren solüsyon ile tepkime meydana getirildi.

Termalsiklus (PCR cihazı Perkin Elmer® Cetus DNA Termal Cycler 480, USA ve Eppendorf® Mastercycler Personal 5332, Germany) işleminde sırasıyla aşağıda belirtilen sıcaklık, süre ve devirlerde denaturasyon işlemi uygulandı.

94°C	5'	
94°C	1'	} 35X
55°C	1'	
72°C	1'	
72°C	5'	

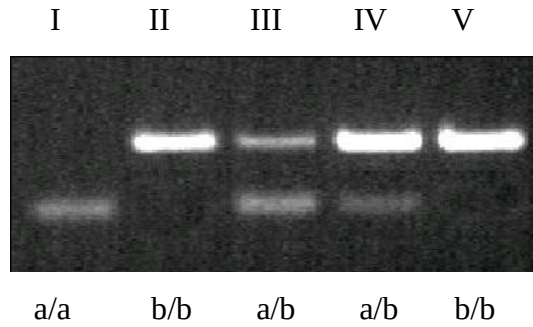
The PCR ürünleri 3% agaroz jel elektroforez kullanılarak analiz edildi ve ethidium bromide boyası ile görüntülendi.

PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi

Toplam 25µl hacimde gerçekleştirilen reaksiyondan kontrol amacı ile 20µl alınarak 6x agaroz yükleme tamponu ile karıştırıldı. % 4'lük agaroz jelle PUC-Mix (MBI) size marker ile birlikte yüklenen PCR ürünleri, 70 miliamper akımda yaklaşık 4 saat yürütüldü. UV ışık altında CCD kamera ile görüntüler bilgisayara aktarıldı.

Bu inceleme sonucunda 7.kromozom üzerindeki eNOS geninin intron 4'deki tek nükleotid tekrarı ile oluşan iki allel çeşidi belirlendi.

Büyük allel , eNOS4b, 5 tandem 27 bp tekrarı içerirken, eNOS4a 4 tekrar dizi içermektedir. PCR ürünlerinin büyüklüğü eNOS4a ve eNOS4b için sırasıyla 393 bp ve 420 bp idi.



Şekil 22: eNOS geni intron 4'ün polimorfizminin genotiplemeesi.

İstatistiksel Analiz:

İstatistiksel değerlendirmede SSPI programı ile Ki-kare ve Student-T testi kullanılmıştır. Hasta ve kontrol grubu arasında allel frekansları ve genotiplerinin karşılaştırılmasında uygun ki-kare testi kullanılırken, Demografik özelliklerin karşılaştırılmasında student-t testi kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan PPDU ile kanıtlanmış vasküler ED'li hastalarda ve IIEF skolasına göre ED sorunu olmayan kontrol grubunda eNOS4a/b polimorfizm sıklığı araştırıldı. Büyük allel, eNOS4b, 27 bp'lik 5 tandem tekrarı taşıırken, eNOS4a aynı dizinin 4 tekrar taşıyordu. Genomik DNA'nın PCR analizi sırasıyla eNOS4b için 420 bp'lik, eNOS4b için ise 393 bp'lik fragman sağladı. Çalışmada a ve b genotiplerinin varlığı temel alınarak hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldı.

Hasta grubunun ortalama yaşı 58,7±9,97 (39-74) iken, kontrol grubunda 56,4±7,5 (47-72) idi. Hastaların ortalama şikayet süresi 3,6±3,0 (1-10) yıl, AKŞ 127,9±49,9 (79-296) mg/dL, total kolestrol düzeyi 174,0±53,0 (116-320) mg/dL, trigliserid düzeyi 158,2±101,8 (76-542) mg/dL olarak bulundu. Hastalardan 19'una hormonal analiz yapıldı; ortalama testesteron düzeyi 5,6±1,6 (4,11-10,4) ng/mL, prolaktin düzeyi ise 5,8±1,5 (3,0-9,0) ng/mL olarak bulundu. Tüm hastalarda prolaktin ve testesteron düzeyleri normal sınırlardaydı.

	Kontroller (n=25)	Hastalar (n=30)	P
Yaş	56,44±7,58	58,70±9,97	0,357
Kolestrol	167,41±41,90	189,90±53,12	0,092
Glukoz	101,96±17,29	127,63±49,91	0,018
Trigliserid	118,96±42,2	158,23±101,89	0,078
IIEF Skoru	27,4±1,9	14,7±3,7	<0,001
HT (+) (n) (-) (n)	6 19	14 16	0,099
DM (+) (n) (-) (n)	2 23	11 19	0,023
KAH (+) (-)	0 25	7 23	0,029
Sigara içenler (n) İçmeyenler (n)	16 9	12 18	0,133

Tablo 20: Çalışma grubunun demografik Özellikleri

Tamamına PPDU yapılan hastaların; 19’unda venöz, 5’inde mikst, 6’sında ise arteriyel vasküler patoloji saptandı. Ortalama PSV $32,6 \pm 12,1$ (14-64) cm/sn, EDV ise $8,7 \pm 4,7$ (1-20) cm/sn idi. Hastalarda ortalama IIEF skoru $14,7 \pm 3,7$ (5-21) olarak bulunurken, bu skorlamaya göre hastaların 5’i ağır, 14’ü orta ,11’i ise hafif-orta ED tarifledi. Kontrol grubunda ise Çalışma grubunun genel demografik özellikleri tablo 2’de gösterilmiştir.

Hasta grubunda ortalama AKŞ, IIEF skoru, diyabet ve koroner arter hastalığı sıklığı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ($p=0,018$, $p=<0,001$, $p=0,023$, $p=0,029$).

	eNOS Genotipleri				eNOS alelleri		
	<i>b/b</i> <i>n (%)</i>	<i>a/b</i> <i>n (%)</i>	<i>a/a</i> <i>n (%)</i>	<i>P</i>	<i>b</i> <i>n (%)</i>	<i>a</i> <i>n (%)</i>	<i>P</i>
Hasta (n=30)	17 (56,6)	11 (36,6)	2 (6,6)	0,163	45 (75,0)	15 (25,0)	0,138
Kontrol (n=25)	19 (76,0)	6 (24,0)	0 (0,0)		44 (88,0)	6 (12,0)	

Tablo 21: Hasta ve kontrol grubunda eNOS genotip ve alellerinin dağılımı

Hasta grubunda sayısal ve yüzdesel olarak eNOS4a/b genotipi ve eNOS4a alleli daha fazla olmasına rağmen, bu istatistiksel olarak anlamlı farka ulaşmamıştır (Tablo 21).

	eNOS Genotipleri			eNOS alelleri	
	<i>b/b</i> <i>n (%)</i>	<i>a/b</i> <i>n (%)</i>	<i>a/a</i> <i>n (%)</i>	<i>b</i> <i>n (%)</i>	<i>a</i> <i>n (%)</i>
Venöz (n=19)	10 (52,3)	7 (36,8)	2 (10,5)	27 (71,0)	11 (29,0)
Mikst (n=5)	4 (80,0)	1 (20,0)	0 (0,0)	9 (90,0)	1 (10,0)
Arteriyel (n=6)	3 (50,0)	3 (50,0)	0 (0,0)	9 (75,0)	3 (25,0)

Tablo 22: Hasta grubunda vasküler patoloji tipine göre eNOS genotipler ve alellerinin dağılımı

Vasküler patolojinin tipi gözönüne alındığında, her tipte benzer oranlarda polimorfizme rastlandı (Tablo 22). Olgu sayısı yetersiz olduğu için istatistiksel değerlendirme yapılmadı.

IIEF Skoru	Venöz N (%)	Mikst N (%)	Arteriyel N (%)
Ağır (n=5)	2 (40,0)	1 (20,0)	2 (40,0)
Orta (n=14)	12 (85,7)	1 (7,1)	1 (7,1)
Hafif-Orta (n=11)	5 (45,4)	3 (27,2)	3 (27,2)

Tablo 23: Hasta grubunda ED ciddiyetinin vasküler patolojiye göre dağılımı

ED'nin şiddetine göre sınıflandırma yapıldığında ağır ve hafif-orta ED her üç grupta da benzer orandayken, orta şiddette ED'nin büyük bir kısmının venöz tip olduğu gözlemlendi. Yine eNOS polimorfizmi baz alınarak yapılan karşılaştırmada ağır ED'lilerin önemli bir kısmında (%80) eNOS4a/b genotipi olduğu belirlendi. Hasta sayısı yetersiz olduğu için istatistiksel değerlendirme yapılmadı.

ED Şiddeti	eNOS Genotipleri		
	b/b n (%)	a/b n (%)	a/a n (%)
Ağır (n=5)	1 (20,0)	4 (80,0)	0 (0,0)
Orta (n=14)	9 (64,2)	3 (21,4)	2 (14,2)
Hafif-Orta (n=11)	7 (63,6)	4 (36,4)	0 (0,0)

Tablo 24: ED şiddetine göre eNOS genotip ve allellerinin dağılımı

Tüm çalışma grubu bir arada incelendiğinde genotipler arasında genel olarak demografik özellikler açısından anlamlı fark olmadığı, sadece heterozigot genotipli (eNOS4a/b) grupta diyabet sıklığının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazla olduğu izlendi (Tablo 25).

	eNOS Genotipleri			
	<i>b/b</i> (n:36)	<i>a/b</i> (n:17)	<i>a/a</i> (n:2)	<i>P</i>
Yaş	57,4±8,86	57,7±9,3	61±12,7	0,822
Kolestrol	175,8±49,4	187,7±5,12	186,0±7,7	0,436
Glukoz	114,6±39,7	121,6±44,2	91,5±9,1	0,742
Trigliserid	130,9±67,4	159,5±110,4	146,5±30,4	0,246
IIEF Skoru	21,6±6,6	18,7±7,6	14,5±0,7	0,097
HT (+) (n) (-) (n)	10 26	8 9	2 0	0,127
KAH (+) (n) (-) (n)	3 33	3 14	1 1	0,219
DM (+) (n) (-) (n)	5 31	7 10	1 1	0,042
Sigara içenler (n) içmeyenler(n)	17 19	8 9	2 0	0,922

Tablo 25: Tüm çalışma grubunda demografik özelliklere göre eNOS genotip dağılımı

	eNOS Genotipleri			eNOS alelleri	
	<i>b/b</i> (n)	<i>a/b</i> (n)	<i>a/a</i> (n)	<i>b</i> (n)	<i>a</i> (n)
Hasta (n=30)	7	2	0	16	2
Kontrol (n=25)	14	4	0	32	4

Tablo 26: Risk Faktörleri (DM,HT ve KAH) olmayan hasta ve kontrol grubunda eNOS genotip ve alellerinin dağılımı

TARTIŞMA

Bu çalışmayı yaparken ana amacımız ED’li hastalarda eNOS enzimini kodlayan genin polimorfizmini araştırmak ve eNOS gen polimorfizminin ED ile ilişkisini değerlendirmektir. Çalışmamızda bu amaçla, ilk olarak Wang ve ark.’ca tanımlanan 7. kromozomdaki eNOS4 gen polimorfizmi araştırıldı (98).

ED ve eNOS gen polimorfizmi ile ilgili ilk klinik çalışma 1999’da Park ve ark.ca yapılmış ve 93 ED’li hasta ile 84 sağlıklı kontrolde “angiotensin converting enzim” (ACE) ve eNOS gen polimorfizmleri araştırılarak ED ile olan ilişkileri değerlendirilmeye çalışılmıştır (99). Bu çalışmada, bizim çalışmamızda olduğu gibi 7. kromozomdaki eNOS geninin 4. intronundaki 27 kb’lık tandem tekrarı ile oluşan gen polimorfizmi incelendi. Park ve ark.’nın yaptığı çalışmada ED’li grupta eNOS4b/b, eNOS4b/a ve eNOS4a/a genotiplerinin yüzdesi sırasıyla %78, %21 ve %1 olarak bulunurken, kontrol grubunda aynı genotipler sırasıyla %74, %25 ve %1 olarak bulundu. Bu sonuçlarla ED ve eNOS gen polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulamadıklarını belirttiler. Bizim çalışmamızda ise ED’li grupta eNOS4b/b, eNOS4b/a ve eNOS4a/a genotiplerinin yüzdesi sırasıyla %56,6, %36,6 ve %6,6 olarak bulunurken, kontrol grubunda bu yüzdeler sırasıyla %76, %24 ve %0 olarak bulundu. Kontrol grubunda genotip yüzdelerimiz Park ve ark.’nın çalışması ile uyumlu iken, ED grubu açısından genotipler arasında belirgin yüzde farkları vardı. ED için risk olabileceğini öne sürdüğümüz eNOS4b/a ve eNOS4a/a genotipleri çalışmamızda daha yüksek olarak bulundu (%25 ve %1’e karşı %36,6 ve %6,6).

Diğer yandan Park ve ark., çalışmalarının diğer kısmı olan ACE geni genotipleme sonucunda ise, bu gene ait polimorfizmin ED grubunda istatistiksel olarak daha yüksek olduğunu tespit ettiler. Park ve ark.’nın çalışmasında hastalar, bizim çalışmamızda olduğu gibi PPDU, rutin biyokimya ve hormonal analiz ile değerlendirildi. Çalışma grupları bizimkine göre daha genç idi (Hasta ort. yaşı:51±4, kontrol ort. yaşı:48,3 ±3). ED’nin primer sebebini ortaya çıkarmak için çalışma gruplarında, ED’ye altyapı hazırlayabilecek diyabet, hipertansiyon ve miyokard infarktüsü gibi klinik vasküler patolojili hastalara yer vermediler. Fakat hastalarının %32’si, kontrollerinin ise %28’i sigara kullanıyordu. Bizim çalışmamızda ise kanıtlanmış vasküler patolojili olgu bulmadaki zorluk nedeni ile HT, DM ve koroner arter hastalığı gibi risk faktörlerine sahip ED’li hastaları çalışmaya dahil etme durumunda kaldık. Bu risk faktörlerini barındırmayan az sayıdaki olgu grubu (18 sağlıklı ve 9 hasta), karşılaştırıldığında ise sağlıklı ve hasta grup arasında hiçbir fark olmadığını gözledik. Zira

eNOS4b/a ve eNOS4a/a genotipli olguların sayısı hasta grubunda 7 ve 2 iken, sağlıklı grupta 14 ve 4 idi.

Hasta grubumuzda vasküler patolojilerin önemli bir kısmı venöz tip grubundaydı. Literatürde ise arteriyel ED vasküler sebeplerin başında gelmektedir. Bu, hasta grubumuzun kendine has bir özelliği olmasının yanında, diyabetik hasta oranının da çalışma grubumuzda fazla olmasının bir sonucu olabilir. Zira diyabetik ED'nin patofizyolojisinde otonom nöropati, kavernöz arter yetmezliği ve psikojen sebeplerin yanında; venooklüziv disfonksiyon da diyabetik ED'nin ana fizyopatolojik mekanizmalarındandır. Penis dokusunda (tunica albugenia ve korpus kavernoza) biriken ileri derecede glikolize olmuş son ürünler pek çok diyabetik komplikasyonda rol oynamakta olup, bunların penil NOS izoenzimlerini regüle ederek NO aktivitesini azalttığı ve endotele bağımlı gevşemeyi kısıtladığı gösterilmiştir (100). Diyabetik farelerde, penisteki NOS aktivitesinin artmış olduğu ancak, NO'nun farmakolojik etkisinin yetersiz olduğu gösterilmiştir (101).

Hasta grubunda ED'nin IIEF sonuçlarına göre yapılan şiddet sınıflandırmasında 5 hastada ağır, 14 hastada orta, 11 hastada ise hafif-orta ED saptandı. Bu sınıflandırmada özellikle dikkati çeken ağır ED'lilerde eNOS4b/a genotipinin belirgin olarak yüksek (n:4, %80) olmasıydı. Bu da eNOS4b/a genotipinin var olan vasküler patolojinin ağırlaşmasına katkı sağlamış olabileceğini düşündürmektedir. İlginç şekilde eNOS4a/a genotipine orta ED'li hastalarda (n:2, %14,2) rastlanırken, diğer gruplarda bu genotip görülmedi. Bu yüzden gerek genel populasyon gerekse genel hasta grubu yüzdesinden yüksek olması bu genotipin ayrı bir risk faktörü olabileceği sorusunu beraberinde getirmektedir.

Türk populasyonunda daha önce eNOS4 polimorfizmi ile yapılan en güncel çalışma Çine ve ark.'a aittir (102). Bu çalışmada myokard enfarktüsü hastalarda eNOS polimorfizmi araştırılarak sağlıklı kontrollerle karşılaştırılmış ve normal türk populasyonunu temsil edebilecek bilinen KAH risk faktörü olmayan sağlıklı kontrol grubunda eNOS4a ve eNOS4a allelleri; %90,4 ve %9,6, eNOS4b/b, eNOS4b/a ve eNOS4a/a genotipleri ise sırasıyla %81,4 ve %18 ve %0,6 olarak bulundu. Benzer özellikler taşıyan bizim kontrol grubumuzda ise eNOS4a ve eNOS4a allelleri; %81 ve %18, eNOS4b/b, eNOS4b/a ve eNOS4a/a genotipleri ise sırasıyla %76, %24 ve %0 idi. Sonuç olarak kontrol grubu genotipleri normal Türk populasyonu ile uyumlu oranda idi.

ED hastalarında polimorfizm genotipleme konusunda yapılan çalışmalar oldukça sınırlı olduğu halde diğer koroner arter hastalığı, diyabet ve hipertansiyon gibi sistemik, vasküler bileşenli patolojilerle ilgili oldukça fazla çalışma vardır(33,34,44,46,47,48,49). Bu çalışmalarda eNOS polimorfizminin diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak bu patolojiler için risk

faktörü olduğu iddia edilmektedir. Fakat şunu göz önünde bulundurmak gerekir ki, eNOS geninin değişik polimorfizm tipleri vardır ve her polimorfizm tipi değişik hastalıklar için risk faktörü olabilmektedir. Örneğin intron 13’de polimorfizmi olan bireylerde artmış koroner arter hastalığı riski olduğu, intron 4’de polimorfizmi olan bireylerde ise artmış diyabetik nefropati riski olduğu saptanmıştır (45,46). Bunların yanında aydınlatılan son polimorfizm olan ekson 7’nin açık okuma bölümündeki Glu298Asp değişimi sonucunda proteinin primer yapısında ve fonksiyonunda değişim olur. Literatürde özellikle son dönemde çalışmalarda bu polimorfizmin hipertansiyon, koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (48,49). Dolayısıyla aynı vasküler histopatolojik değişimlerin olduğu ED’de de bu polimorfizmler benzer sonuçlar ve risk yaratabilir.

Anlaşılabacağı gibi eNOS geninde polimorfizm olmasının yanında genin hangi bölgesinde olduğu da önemlidir. Çünkü bu polimorfizmin hücresel düzeyde yaratacağı cevap ve sonuç patolojinin oluşumunda ve ortaya çıkmasında önemli rol oynayacaktır (49).

Çalışmamızda ana hedefimiz belirtildiği gibi eNOS gen polimorfizminin araştırılması idi fakat sebep sonuç ilişkisi sorgulanacak olursa bir sonraki adımın polimorfizmin yanında senkronize olarak eNOS, NO ve cGMP düzeylerinin belirlenmesi ve polimorfizm ile bunlar arasında direkt bir ilişkinin kurulması olacaktır.

SONUÇ

ED konusunda özellikle son 10 yılda açığa çıkarılan yeni bilgiler ve oral farmakoterapiler bu konuya olan bakışı ve güncel pratiği oldukça etkilemiştir. Yine son yıllarda genetik bilimi ve teknolojisinin ilerlemesi ve erektil disfonksiyon alanına girişi ile, bundan sonraki adım genetik tedaviler pratiğe girişi ve risk gruplarının belirlenmesi olacaktır. Özellikle riskli populasyonun belirlenmesi ve erken önlemler alınmasına yönelik olarak yaptığımız çalışmada eNOS4 gen polimorfizmi ile ED arasındaki bir ilişkisi tespit edilmedi. Fakat Hipertansiyon koroner arter hastalığı gibi ED'ye zemin olabilecek ve ED ile ortak hücresel ve moleküler mekanizmaları paylaşan patolojilerle olan ilişkisi düşünülecek olursa, ED'lilerde eNOS gen polimorfizmi konusunda yüksek sayıda ve risk faktörlerinden arındırılmış olgulardan oluşan kontrollü prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Feldman H.A., Goldstein I., Hatzichristou D.G., Krane R.J. and McKinlay J.B.: Impotence and its medical and psychological correlates: Results of Massachusetts male aging study. J. Clin. Epidemiol, 1994;151:54-61.
2. Türk Erektile Disfonksiyon Prevalans Çalışma Grubu (Akkuş E., Kadioğlu A., Esen A., Ergen A., Doran Ş., Sungur M.Z., Yılmaz T., Anafarta K., Hattat H.) : 16. Ulusal Üroloji Kongresi özet kitapçığı P-218.
3. Tesaro M., Thompson W.C., Rogliani P., Qi L., Chaudhary P.P., Moss J.: Intracellular processing of endothelial nitric oxide synthase isoforms associated with differences in severity of cardiopulmonary diseases: Cleavage of proteins with aspartate vs. glutamate at position 298. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 97, Issue 6, 2832-2835, March 14, 2000
4. Benjafeld A.V., Morris J.: association analyses of Endothelial Nitric Oxide Synthase gene Polymorphisms in essential Hypertension. Am. Jour. Of Hypertension, 2000;13:994-998
5. Persu A., Stoenoiu M.S., Mesain T.: Modifier effect of ENOS in autosomal dominant polycystic kidney disease. Hum. Molecular Genet. 2002,11:229-241
6. Tanagho EA: Anatomy of the lower urinary tract. In: Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, Vaughan ED, eds: Campbell's Urology, 7th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, p 99-123, 1998.
7. Goldstein I., Padma N., : The microarchitecture of the intracavernosal smooth muscle and the cavernosal fibrous skeleton. J. Urol., 1990,144: 1144
8. Hsu G.L., Brock G., Martinez-Pierro L.: Anatomy and strength of the tunica albuginea : its relevance to penile prosthesis extrusion. J. Urol. 1994; 151:1205-1208
9. Jordan G.H., Schlossberg S.M., Devine C.J.: Surgery of penis and urethra Campbell's Urology, 7th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1998, p. 3316
10. Aboseif SR, Breza J, Lue TF and Tanagho EA: Penile venous drainage in erectile dysfunction: anatomical, radiological and functional considerations. Br J Urol, 1989; 64:183
11. Breza J., Aboseif S., Lue T.: Anatomy of the penis. Atlas of The urol. Clin. North Am., 1993, 1:9

12. Breza J, Aboseif SR, Orvis BR, et al: Detailed anatomy of penile neurovascular structures: surgical significance. J Urol, 141:437, 1989.
13. Eardley I, Sethia K: Erektel Disfonksiyon: Güncel araştırma ve tedavi. Mosby International LTD 1998. S: 8
14. Lue T.F., Tanagho E.A.: Physiology of erection and pharmacological management of impotence. J Urol, 137:829-836, 1987.
15. Kadioğlu A., Tellaoğlu S. (Editörler): Erkek Seksüel Disfonksiyonu, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 2000 s.82-84
16. Lue T.F.: Physiology of erection and pathophysiology of erectile dysfunction and priapism In: Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, Vaughan ED, eds: Campbell's Urology, 8th ed. Philadelphia: WB Saunders Company. 2003 Vol.2, 1595
17. Mandrek K.: Electrophysiological methods in smooth muscle physiology: Corpus cavernosum in vitro . World J. Urol. 1994;12:262-265
18. Yarnitsky D., Sprecher E., Barilan Y., Vardi Y.,: Corpus cavernosum electromyogram: Spontaneous and evoked electrical activities. J. Urol. 1995;153:653-654
19. Levine R.M., Hypolite J., Broderick G.A.: Comparative studies on intracellular calcium and NADH fluorescence of the rabbit corpus cavernosum: Neuro-urol. Urodyn. 1994;13:609-618
20. Italiano G., Calabro A., Spini S.: Functional response of cavernosal tissue to distension. Urol. Res. 1998;26:39-44
21. DiSanto M.E., Wang Z., Menon C.: Expression of myosin isoforms in smooth muscle cells in the corpus cavernosum penis . Am. J. Physiol. 1998;275:C976-C987
22. Marson L., Platt K.B., McKenna K.E.: Central Nervous System innervation of the penis as revealed by the transneuronal transport of pseudorabies virus. Neuroscience 1993;55:280
23. Lue T.F.: Physiology of erection and pathophysiology of erectile dysfunction and priapism In: Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, Vaughan ED, eds: Campbell's Urology, 8th ed. Philadelphia: WB Saunders Company. 2003 Vol.2, 1597-1618
24. Kadioğlu A., Tellaoğlu S. (Editörler): Erkek Seksüel Disfonksiyonu, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 2000 s.51-58
25. Saenz de Tajeda I, Kim N, Lagan I, Krane RJ, Goldstein I: Regulation of adrenergic activity in penile corpus cavernosum. J Urol, 1989;142:1117-1121

26. Dail WG, Moll MA, Weber K: Localization of vasoactive intestinal polypeptide in penile erectile tissue and in the major pelvic ganglion of the rat. *Neuroscience*, 1983; 10:1379-1386
27. Lau LC, Adaikan PG, Ratnam SS: Effect of endothelin-1 on the human corpus cavernosum and penile vasculature. *Asia Pacific J Pharmacol*, 1991; 6:287-292,
28. De Groat WC, Booth AM: Neural control of penile erection. In: *Nervous control of the urogenital system*. CA Maggi (ed). Switzerland: Harwood Academic Publishers. 1993; p:467-524
29. Anderson K., Wagner G.: Physiology of penile erection . *Physiol. Rev.* 1995; 75:191-236
30. Gruetter C.A., Barry B.K., McNamara D.B.: Relaxation of bovine coronary artery and activation of coronary arterial guanylate cyclase by nitric oxide, nitroprusside and a carcinogenic nitrosamine. *J. Cyclic Nucleotide Res.* 1979; 5: 211-224
31. Radomski M.W., Palmer R.M., Moncada S.: Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet* 1987; 2:1057-1058
32. Garg U.C., Hassid A.: Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromocyclic guanosine monophosphate inhibits mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J. Clin. Invest.* 1989; 83: 1774-1777
33. Dusting G.J.: Nitric oxide in coronary artery disease, roles in atherosclerosis, myocardial infarction and heart failure. *EXS* 1996; 76: 33-35
34. Dusting G.J.: Nitric oxide in cardiovascular disorders. *J. Vasc. Res.* 1995; May-June: 32 (3): 141-143
35. Nathan C., Xie Q.W.: Nitric oxide synthases. Roles, tolls and controls. *Cell* 1994; 78: 915-918
36. Moncada S.: The L-arginine-nitric oxide pathway. *Acta Physiol. Scand.* 1992; 145: 201-227
37. Moncada S., Higgs A.: The L-arginine-nitric oxide pathway. *N. Eng. J. Med.* 1993; 329: 2002-2012
38. Marsden P.A., Heng H.H., Scherer S.W.: Structure and chromosomal localization of human constitutive endothelial nitric oxide synthases gene. *J. Biol. Chem.* 1993; 15:268 (23): 17478-17488
39. Bivalacqua T.J., Champion H.C., Hellstrom W.J.G.: Implications of nitric oxide synthases isoforms in the pathophysiology of Peyronie's disease. *Int. J. Imp. Res.* 2002; 14: 345-352

40. Albecht E., Stagemen C., Heeringa P., Henning R.H., Van Goor H.: Protective role of endothelial nitric oxide synthase. *J. Pathol.* 2003; 199: 8-17
41. Hoffman A., Gloe T., Pohl U.: Hypoxia-induced upregulation of eNOS gene expression is redox-sensitive: a comparison between hypoxia and inhibitors of cell metabolism. *J. Cell Physiol.* 2001; 188: 33-44
42. Ruehlman D.O., Mann G.E.: Rapid non-genomic vasodilator actions of oestrogens and sex steroids. *Curr. Med. Chem.* 2000; 7:533-541
43. Ramasamy S., Parthasarathy S., Harrison D.G.: regulation of endothelial nitric oxide synthase gene expression by oxidized linoleic acid. *J. Lipid Res.* 1998; 39: 268-276
44. Ziegler T., Silacci P., Harrison V.J.: Nitric oxide synthase expression in endothelial cells exposed to mechanical forces. *Hypertension* 1998; 32: 351-355
45. Stangl K., Cascorbo I., Laule M.: High CA repeat numbers in intron 13 of endothelial nitric oxide synthase gene and increased risk of coronary artery disease. *Harmacogenetics* 2000; 10: 133-140
46. Zanchi A., Moczulski D.K., Hana L.S., Wantman L.: Risk of advanced diabetic nephropathy in type 1 diabetes is associated with endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. *Kidney Int.* 2000; 57: 405-413
47. Nakayama M., Yasue H., Yoshimura M.: T(-786)→C mutation in the 52 flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with myocardial infarction, especially without coronary artery stenosis. *Am. J. Cardiol.* 200; 86: 628-634
48. Miyamoto Y., Saito Y., Kajiyama N.: Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism is positively associated with essential hypertension. *Hypertension* 1998; 32: 3-8
49. Nassar B.A., Bevin L.D., Johnstone D.E.: Relationship of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene and early-onset coronary artery disease. *Am. Heart J.* 2001; 142 586-589
50. Alexander M.Y., Brosnan M.J., Hamilton C.A.: Gene transfer of endothelial nitric oxide synthase improves nitric oxide-dependent endothelial function in a hypertensive rat model. *Cardiovasc. Res.* 1999; 43:798-807
51. Ooboshi H., Ibayashi S., Heistad D.D., Fujiyama M.: Adenovirus mediated gene transfer to cerebral circulation. *Mech. Ageing Dev.* 2000; 116:95-101

52. Bivalacqua T.J., Usta M.F., Champion H.C., Kadwitz P.J., Hellstrom W.J.G.: Gene transfer of endothelial nitric oxide synthase partially restores nitric oxide synthesis and erectile function in streptozocin diabetic rats. *J.Urol*, 2003 (basımda)
53. Bivalacqua T.J., Usta M.F., Champion H.C., Leungwattanakij S., dabisch P., Kadwitz P.J., Hellstrom W.J.G.: Effect of combination of endothelial nitric oxide synthase gene therapy and sildenafil on erectile function on diabetic rats. *Int. J. Of Imp. Res.* 2003;
54. Laufs U., Liao J.K.: post-transcriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase mRNA stability by Rho GTPase. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 24266-24271
55. Hisomoto K., Ohmichi M., Kurachi H.: Estrogen induces the Akt-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. . *J. Biol. Chem.* 2001; 276:3459-3467
56. Gupta S., Moreland R.B., Munarriz R.: Possible role of Na-K-ATPase in the regulation of human corpus cavernosum smooth muscle contractility by nitric oxide. *Br. J. Pharmacol.* 1995; 116: 2201
57. Hedlund P., Aszodi A., Pfeifer A.:Erectile dysfunction in cyclic GMP-dependent kinase I-deficient mice. *Proct. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 97: 2349-2354
58. Kim Y.C., Kim J.H., Davies M.G.:Modulation of vasoactive intestinal polypeptide (VIP)-mediated relaxation by nitric oxide and prostanoids in the rabbit corpus cavernosum. *J.Urol.* 1995; 153: 807-810
59. Bivalacqua T.J., Diner E.K., Novak T.E.: A rat model of Peyronie's disease associated with a decrease in erectile activity and an increase in inducible nitric oxide synthase protein expression. *J. Urol.* 2000; 163: 1992-1998
60. Burnett A.L., Nelson R.J., Calvin D.J.: Nitric oxide-dependent penile erection in mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Mol. Med.* 1996; 2: 288-296
61. Walsh M.P.: The Ayerst Award Lecture 1990. Calcium-dependent mechanisms of regulation of smooth muscle contraction. *Biochem. Cell biol.* 1991; 69: 771-800
62. Chuang A.T., Strauss J.D., Steers W.D., Murphy R.A.: cGMP mediates corpus cavernosum smooth muscle relaxation with altered cross-bridge function. *Life Sci.* 1998; 63: 185-194
63. Rees R.W., Ziessen T., Ralph D.J., Kell P., Moncada S., Celletk S.:Human and rabbit cavernosal smooth muscle cells Express Rho-kinase. *Int. J. Imp. Res.* 2002; 14:1-7
64. Christ G.J., Brink P.R., Melman A., Spray D.C. :The role of gap junctions and ion channels in the modulation of electrical and chemical signals in human corpus cavernosum smooth muscle. . *Int. J. Imp. Res.* 1993; 5: 77-96

65. Fan S.F., Christ G.J. Brink P.R., Melman A.: A stretch-sensitive Cl⁻ channel in human corpus cavernosum myocytes. *Int. J. Imp. Res.* 1999; 11:1-7
66. Christ G.J., Zhao J.W.: Expression and significance of the Maxi-K(Kca) potassium channel subtype in human corporal smooth muscle. *FEBS J.*1997; 11: A197
67. Ballard S.A., Gingell C.J., Tang K.: Effect of sildenafil on the relaxation of human corpus cavernosum tissue in vitro and on the activities of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes. *J. Urol.* 1998; 159: 2164-2171
68. Lin C.S., Lau A., Tu R., Lue T.F.: Expression of three isoforms of cGMP-binding cGMP-specific phosphodiesterase (PDE5) in human penile cavernosum. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 268: 628-635
69. Kadioğlu A., Tellaoğlu S. (Editörler): Erkek Seksüel Disfonksiyonu, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 2000 s.67-
70. NIH: NIH Consensus Conference. Impotence. NIH Consensus Development Panel on Impotence. *JAMA*, 1993;270:83.
71. Michal V., Ruzbarsky V.: Histological changes in the penile arterial bed with aging and diabetes. In zorgniotti A.W., Rossi G. (eds) :vasculogenic impotence : Proceedings on the First International Conference on corpus cavernosum Revascularization. Springfield, Ill, Charles C. Thomas,1980,pp 113-119
72. Hsieh J.T., Muller S.C., Lue T.F.: The influence of blood flow and blood pressure on penile erection. *Int. J. Imp. Res.* 1989; 1: 35-42
73. Rosen M.P., Greenfield A.J., Walker T.G.: arteriogenic Impotence I Findings in 195 impotent men examined with selective internal pudendal angiography. *Radiology* 1990; 174: 1043-1048
74. Levine F.J., Greenfield A.J., Goldstein I.: Arteriographically determined occlusive disease within the hypogastric –cavernous bed in impotent patients following blunt perineal and pelvic trauma. *J. Urol.* 1990; 144: 1147-1153
75. Metz P., ebbehøj J., Uhrenholdt A.: Peyronie's disease and erectile failure. *J. Urol.* 1983; 130: 1103-1104
76. Christ G.J., Maayani S., Valcic M., Melman A.: Pharmacological studies of human erectile tissue : Characteristics of spontaneous contractions and alterations in alpha-adrenoceptor responsiveness with age and disease in altered tissues. *Br. J. Pharmacol.* 1990; 101: 375-381
77. Cerami A., Vlassara H., Brownlee M.: Glucose and aging . *Sci Am.* 1987; 256: 90-96

78. Sattar A.A., Wespes E., Schulman C.C.: Computerized measurement of penile elastic fibers in potent and impotent men. *Eur. Urol.* 1994; 25: 142-144
79. Sattar A.A., Wespes E., Schulman C.C.: Comparison of antidesmin and antiactin staining for the computerized analysis of cavernous smooth muscle density. *Br. J. Urol.* 1996; 77: 266-270
80. Mersdorf A., Goldsmith P.C., Diederichs W.: Ultrastructural changes in impotent penile tissue: a comparison of 65 patients. *J. Urol.* 1991; 145: 749-758
81. Persson C., Diederichs W., Lue T.F.: Correlation of altered penile ultrastructure with clinical arterial evaluation. *J. Urol.* 1989; 142:1462-1468
82. Rosen R.C., Riley A., Wagner G.: The international index of erectile function (IIEF): A multidimensional scale for assesment of erectile dysfunction. *Urology* 1997; 49: 822-830
83. Lue T.F.: Evaluation and non surgical management of erectile dysfunction and priapism In: Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, Vaughan ED, eds: *Champbell's Urology*, 8th ed. Philadelphia: WB Saunders Company. 2003 Vol.2, 1640
84. Kadioğlu A., Tellaoğlu S. (Editörler): *Erkek Seksüel Disfonksiyonu*, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 2000 s.116-121
85. Yamaguchi Y, Kumamoto Y: Etiological analysis of male diabetic erectile dysfunction with particular emphasis on findings of vascular and neurological examinations. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi*, 1994 Oct;85(10):1474-1483
86. NIH: NIH Consensus Conference. Impotence. NIH Consensus Development Panel on Impotence. *JAMA*, 1992; 270: 83.
87. Bivalacqua T.J., Hellstrom W.J.G.: Potential applications of gene therapy for the treatment of erectile . *J. Androl.* 2001; 22:183-190
88. Champion H.C., Bivalacqua T.J., D'Sousa F.M.: Gene transfer of endothelial nitric oxide synthase to the lung of the Mouse in vivo. Effect on agonist-induced and flow-mediated vascular responses. *Circ. Res.* 1999; 84: 1422-1432
89. Garban H., Marquez D., Magee T.: Cloning of rat and human inducible penile nitric oxide synthase. Application for gene gene therapy of erectile dysfunction. *Biol. Reprod.* 2000; 7: 93-109
90. Rehman J., Christ G., Melman A.: enhancement of physiologic erectile function with nitric oxide synthase gene therapy. *J. Urol.* 1997; 157: 782A

91. Christ G., Rehman J., Day N.: Intracavernosal injection of hSlo cDNA in rat produces physiologically relevant alterations in penile function. *Am. J. Physiol.* 1998; 275: H600-H608
92. Wessels H., Williams S.K.: Endothelial cell transplantation into the corpus cavernosum. Moving towards cell-based gene therapy. *J. Urol.* 1999; 162: 2162-2164
93. Bakırcıoğlu M.E., Lin C.S., Fan P., Sievert K.D., Kan Y.W., Lue T.F.: The effect of adeno-associated virus mediated brain derived neurotrophic factor in an animal model of neurogenic impotence. *J. Urol.* 2001; 165: 2103-2109
94. Lee M.C., El-Sakka Al, Graziottin T.M., Ho H.C., Lin C.S., Lue T.F.: The effect of vascular endothelial growth factor on a rat model of traumatic arteriogenic erectile dysfunction. *J. Urol.* 2002; 167: 761-767
95. Magee T.R., ferini M., garban H.J., vernet D.: Gene therapy of erectile dysfunction in rat with penile neuronal nitric oxide synthase. *Biol. Reprod.* 2002; 67: 20-28
96. Bivalacque T.J., Champion H.C., Mehta Y.S.: Adenoviral gene transfer of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) to penis improves age related erectile dysfunction in rat. *Int. J. Imp. Res.* 2000; 12 Suppl. 3: 8-17
97. Bivalacque T.J., Usta M.F., Chitale C.J., Champion H.C.: Adeno-associated gene transfer of dominant negative RhoA improves erectile function in streptozocin diabetic rats. *Biochem Biophys. Res. Com.* 2003;
98. Wang W.L., Sim A.S., Badenhop R.F.: A smoking-dependent risk of coronary artery disease associated with a polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene. *Nat. Med.* 1996; 2(1):41-45
99. Park J.K., Wim W., Kim S.W., Koh G.Y., Park S.K.: Gene-polymorphisms of angiotensin converting enzyme and endothelial nitric oxide synthase in patients with erectile dysfunction. *Int. J. Imp. Res.* 1999; 11: 273-276
100. Seftel AD. Advanced glycation end product in human penis: Elevation in diabetic tissue, site of deposition and possible effect through iNOS or eNOS. *Urology* 1997; 50:1016-1026
101. Southam E., Gartwaite J.: The NO-cGMP signalling pathway in rat brain. *Neuropharmacology* 1993; 32:1267-1277