

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PARSİYEL MESANE OBSTRÜKSİYONLU
SIÇANLARDA HİDROJEN SÜLFÜR DONÖRÜ
SODYUM HİDROJEN SÜLFİT VE FOSFODİESTERAZ 5
İNİHİBİTÖRÜ TADALAFİL TEDAVİSİNİN EREKTİL
DİSFONKSİYON ÜZERİNE ETKİSİ

Didem YILMAZ ORAL

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Serap GÜR

Bu araştırma TÜBİTAK'ın SBAG-116S813 proje numarası ile desteklenmiştir

ANKARA

2018

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Parsiyel Mesane Obstrüksiyonlu Sıçanlarda Hidrojen Sülfür Donörü Sodyum Hidrojen Sülfid Ve Fosfodiesteraz 5 İnhibitörü Tadalafil Tedavisinin Eretil Disfonksiyon Üzerine Etkisi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı:

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakoloji Anabilim Dalında
Didem YILMAZ ORAL tarafından hazırlanan
“Parsiyel Mesane Obstrüksiyonlu Sıçanlarda Hidrojen Sülfür Donörü Sodyum
Hidrojen Sülfid Ve Fosfodiesteraz 5 İnhibitörü Tadalafil Tedavisinin Erektıl
Disfonksiyon Üzerine Etkisi” adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ / OY
ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.



İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	x
1.GİRİŞ	1
1.1. Alt Üriner Sistem Semptomları (AÜSS) / Benign Prostatik Obstrüksiyon (BPO) ve Erektile Disfonksiyon (ED)'ni prevelansı	1
1.2. Prostat Bezi	3
1.3. Benign Prostat Hiperplazisi (BPH)	3
1.4. Benign Prostat Büyümesi (BPE)	4
1.5. Benign Prostatik Obstrüksiyon (BPO)	4
1.6. Mesane Boşaltım Fonksiyonu	5
1.7. AÜSS	5
1.8. Günümüzde AÜSS/BPH Tedavisi	6
1.8.1. α_1 -Adrenerjik Reseptörleri ve Antagonistleri	6
1.8.1.1. Terazosin	7
1.8.1.2. Doksazosin	7
1.8.1.3. Tamsulosin	8
1.8.1.4. Alfuzosin	8
1.8.1.5. Silodosin	8
1.8.1.6. α_1 -Adrenerjik Reseptör Antagonistlerinin Yan Etkileri	9
1.8.2. 5α -Redüktaz İnhibitörleri	10
1.8.2.1. Finasterid	11
1.8.2.2. Dutasterid	11
1.8.2.3. 5α -Redüktaz İnhibitörlerinin Yan Etkileri	12
1.8.3. Fosfodiesteraz 5 İnhibitörleri (PDE-5i)	12
1.9. Penis Ereksiyonunun Mekanizması	14
1.10. AÜSS'ye Bağlı Gelişen ED'ye İlişkin Teoriler	15
1.10.1. Azalan Nitrik Oksit Sintaz (NOS)/NO Düzeyleri	16
1.10.2. Artan İskemi	16
1.10.3. Otonom Sinir Sisteminin Hiperaktivitesi	17
1.10.4. Endotelin-1 ve Rho-kinaz Aktivitesinde Artış	18
1.11. Hidrojen sülfür (H_2S)	18
1.12. Amaç	20
2.GEREÇ VE YÖNTEM	21
2.1. Kullanılan Gereçler	21
2.1.1. Malzemeler	21
2.1.2. Kimyasal Maddeler	22
2.2. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması	24
2.3. PBOO'nun Oluşturulması	24

2.4. Tadalafil ve NaHS Tedavisi	25
2.5. <i>İn Vivo</i> deneyler	26
2.5.1. Metabolik kafes ölçümleri	26
2.5.2. Kavernoöz İçi Basıncının (ICP) ve Ortalama Arter Basıncı (MAP) Değerlerinin Ölçülmesi	26
2.6. <i>İn Vitro</i> Deneyler	27
2.7. Masson's Trichrome Boyama	28
2.8. Immunohistokimyasal Deneyler	29
2.9. Western Blot Analizi	30
2.10. Apoptozun Belirlenmesi	31
2.11. cGMP Ölçümü	32
2.12. Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü	32
2.13. H ₂ S Ölçümü	33
2.14. İstatistiksel Analiz	33
3.BULGULAR	34
3.1. Deney Hayvanlarının Beden Ağırlıkları	34
3.2. Total Mesane Ağırlıkları	34
3.3. Metabolik Kafes Ölçümü Sonuçları	35
3.4. <i>In Vivo</i> ICP / MAP ve Total ICP Sonuçları	36
3.5. İzole Korpus Kavernosum Dokularında ACh ile Elde Edilen Endotel Bağımlı Gevşeme Yanıtları	37
3.6. İzole Korpus Kavernosum Dokularında EFS ile Elde Edilen Nitrojenik Gevşeme Yanıtları	37
3.7. İzole Korpus Kavernosum Dokularında SNP ile Elde Edilen Gevşeme Yanıtları	38
3.8. İzole Korpus Kavernosum Dokularından Phe ile Elde Edilen Kasılma Yanıtları	39
3.9. İzole Korpus Kavernosum Dokularından EFS ile Elde Edilen Nörojenik Kasılma Yanıtları	40
3.10. İzole Korpus Kavernosum Dokularından KCl ile Elde Edilen Kasılma Yanıtları	41
3.11. Masson's Trichrome Boyama	42
3.12. İmmünohistokimyasal Sonuçlar	43
3.13. Western Blot Sonuçları	49
3.14. Penil Dokuda Gelişen Apoptoz	55
3.15. Penil Dokularında cGMP Seviyeleri	56
3.16. Penis Ve Mesane Dokularında MDA Seviyeleri	57
3.17. Penil Ve Mesane Dokularında H ₂ S Seviyeleri	58
4. TARTIŞMA	60
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	67
ÖZET	69
SUMMARY	70
KAYNAKLAR	71
EKLER	88
ÖZGEÇMİŞ	89

ÖNSÖZ

Benign prostat hiperplazisi (BPH), prostat bezi büyümesi olarak tanımlanır ve prostat stromal hücrelerinin proliferasyonundan kaynaklanır. BPH, orta ve ileri yaşlardaki erkeklerde sıklıkla görülen önemli sağlık problemlerinden birisidir. BPH'lı hastalar, üretradaki darlığa bağlı olarak gelişen çeşitli alt üriner sistem semptomları (AÜSS) ile genellikle kliniğe başvururlar. Yapılan klinik çalışmalarda, AÜSS'nin şiddetinin erektil disfonksiyon (ED) derecesi ile ilişkili olduğu ve aralarında birçok ortak mekanizma bulunduğu, son yıllarda elde edilen çalışmalar ile gösterilmiştir. Fosfodiesteraz 5 inhibitörü (PDE-5i) olan tadalafil, ED tedavisinde kullanılan ve BPH tedavisinde kullanılmak üzere 2011 yılında FDA tarafından onay almış bir ilaçtır. Son araştırmalar, tadalafilin düz kas ve endotel gevşemesini, hücre proliferasyonunu, dokulara giden kan akımını arttırdığını ve oksidatif stresi azalttığını göstermiştir. Bu etkileri nedeniyle, ED ve BPH tedavisinde, dual etki sağlanması mümkün görünmektedir. Hidrojen sülfür (H_2S), nitrik oksit (NO) gibi bir sinyal molekülüdür. H_2S 'in, birçok fizyolojik fonksiyonu olduğu kanıtlanmıştır. H_2S 'in neden olduğu vasküler düz kas gevşemesinin gerçekleştiği bilinmektedir. Öte yandan, H_2S 'in erektil yanıt oluşturmada rolü olduğu gösterilmiştir. Bu projede, tadalafilin ve H_2S 'in donörü olan sodyum hidrojen sülfid ($NaHS$) ve onların kombinasyonlarının parsiyel mesane obstrüksiyonlu (PBOO) sıçan modelinde gelişen, ED üzerinde, olası düzeltici etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Doktora eğitimim boyunca bilgileri ve deneyimleriyle yolumu aydınlatan, beni sürekli destekleyen ve özgürce karar verme yetkisi vererek bilim insanı olma yolunda ilerlememe katkıda bulunan, hayata dair her konuda bana kılavuzluk eden, her zaman çok özel bir yeri olan danışmanım, değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Serap Gür'e;

Tez çalışmam boyunca en önemli bilgi ve deneyimlerini bana aktaran, tezimin en önemli bölümlerinde bilgisinden, becerisinden çok faydalandığım, deneysel çalışmalarımın her zaman yanımda olan değerli Hocam Dr. Nur Bayatlı'ya;

Deneylemim esnasında bilgisi ve becerisiyle hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, desteğini, alanındaki bilgilerini her zaman benimle paylaşan, sevgili arkadaşım Dr. Ecem Kaya Sezginer'e;

Bilgisine başvurduğum hiçbir zaman beni geri çevirmeyen, bilgi ve zamanını cömertçe sunan, tezimin önemli bölümlerinde bilgi ve becerisini benimle paylaşan, değerli Hocam Dr. Öğr. Üyesi Işıl Özakca Gündüz'e;

İş hayatım sayesinde daha iyi tanıdığım, tüm içtenlikleri ve samimiyetleriyle yanımda olan, gerek çalışmalarımda gerekse özel hayatta desteklerini hiç esirgemeyen, arkadaşlarım Ecz. Berna Güven, Ecz. Zümra Kara, Ecz. İrem Karaömerlioğlu ve Ecz. Betül Erdoğan'a;

Hayatımın her evresinde yaptığım tüm işlerde bana özgürce hareket etme şansını veren, verdiğim kararlarda beni hep destekleyen ve tüm hayatım boyunca arkamda duran, varlıklarıyla beni yüreklendiren, öz verili annem ve babama;

Beni hiçbir koşulda yalnız bırakmayan, tez dönemim boyunca bana büyük destek veren ve yardımlarıyla tezime katkıda bulunan, tüm sıkıntılarımı benimle birlikte paylaşan ve bana her zaman güç veren eşime;

Doktora eğitimim boyunca sağladıkları burs (2211-Yurt içi Doktora Burs Program) ve destek (SBAG-216S813) nedeniyle TÜBİTAK'a;

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

SİMGELER VE KISALTMALAR

3-MST	Merkaptopiruvat Transferaz
ACh	Asetilkolin
ATP	Adenozin 5'-trifosfat
AUA	American Urological Association
AUC	Area Under Curve
AÜSS	Alt Üriner Sistem Semptomları
BOO	Bladder Outlet Obstruction
BPE	Benign Prostatik Enlargement
BPH	Benign Prostatik Hiperplazisi
BPO	Benign Prostatik Obstrüksiyon
CBS	Sistasyonin β -sentaz
cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
CSE	Sistasyonin gama-liyaz
DHT	Dihidrottestosteron
ED	Eretil Disfonksiyon
EFS	Elektriksel Alan Stimülasyonu
eNOS	Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
HIF-1 α	Hypoxia-inducible Factor-1 α
ICP	Intracavernosal Pressure
ICS	International Continence Society
IIEF	International Index of Erectile Function
iNOS	İndüklenebilir NOS
IPSS	International Prostate Symptom Score
KCl	Potasyum Klorür
MAP	Main Arterial Pressure
MDA	Malondialdehit
MSAM-7	Multinational Survey of the Aging Male-7
NaHS	Sodyum Hidrojen Sülfid

NF- κ B	Nükleer Faktör kappa B
NO	Nitrik Oksit
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
OAB	Over Active Bladder
PBOO	Partial Bladder Outlet Obstruction
PDE-5i	Fosfodiesteraz-5 İnhibitörü
PE	Polietilen
Phe	Fenilefrin
PKG	Protein Kinaz G
PVDF	PoliViniliden DiFluorid
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
sGS	Solubl Guanilat Siklaz
SNP	Sodyum Nitroprusside
TdT	Deoksinükleotidil Transferaz
TGF- β 1	Transforming Growth Factor- β 1

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Benign prostat hiperplazisi	4
Şekil 1.2. Kavernozaal düz kas hücrelerinde gevşeme	15
Şekil 1.3. BPOO/AÜSS ve ED ilişkisi	15
Şekil 2.1. Ratlarda yapılan PBOO oluşturma yöntemi	25
Şekil 2.2 Ratlarda tadalafil ve NaHS tedavisi	26
Şekil 2.3. <i>In vivo</i> olarak kavernozaal sinirin uyarılması ile ICP ölçülmesi	27
Şekil 2.4. <i>In vitro</i> çalışmaların yapıldığı izole organ banyosu sistemi	28
Şekil 2.5. Masson's Trichrome boyama tekniği ile boyanmış örnekler	29
Şekil 2.6. İmmünohistokimyasal boyama tekniği ile boyanmış örnekler	30
Şekil 3.1 Tüm grupların ortalama beden ağırlıkları	34
Şekil 3.2. Tüm gruplarda ortalama mesane ağırlıkları	35
Şekil 3.3. Deney gruplarına ait total idrar hacimleri	35
Şekil 3.4. Deney hayvanlarından <i>in vivo</i> deneyler sırasında elde edilen ICP/MAP (A) ve Total ICP (B) yanıtları	36
Şekil 3.5. İzole korpus kavernosum dokusunun Phe ile kasılmasından sonra ACh % gevşeme yanıtları	37
Şekil 3.6. İzole korpus kavernosum dokusunun Phe ile kasılmasından sonra EFS % gevşeme yanıtları	38
Şekil 3.7. İzole korpus kavernosum dokusunun Phe ile kasılmasından sonra SNP % gevşeme yanıtları	39
Şekil 3.8. İzole korpus kavernosum dokusunun Phe`ye ilişkin doz-yanıt eğrileri	40
Şekil 3.9. İzole korpus kavernosum dokusunun EFS`ye ilişkin nörojenik kasılma yanıtları	41
Şekil 3.10. İzole korpus kavernosum dokusunun KCl`ye ilişkin kasılma yanıtları	42
Şekil 3.11. Tüm deney hayvanlarından alınan penis dokularında Masson Trichrome boyaması sonuçları	43
Şekil 3.12.1. Tüm örneklerden alınan penis dokularında, nNOS proteininin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10)	44
Şekil 3.12.2. Tüm örneklerden alınan penis dokularında, eNOS proteininin	

immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10)	44
Şekil 3.12.3. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, iNOS proteinin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10)	45
Şekil 3.12.4. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, CSE proteinin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10)	46
Şekil 3.12.5. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, CBS proteinin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10)	46
Şekil 3.12.6. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, 3-MST proteinin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10)	47
Şekil 3.12.7. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, HIF-1 α proteinin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10).	48
Şekil 3.12.8. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, TGF- β 1 proteinin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10)	48
Şekil 3.12.9. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, NF- κ B proteinin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10)	49
Şekil 3.13.1. Deney hayvanlarının penil dokularında, nNOS protein ekspresyonu	50
Şekil 3.13.2. Deney hayvanlarının penil dokularında, eNOS protein ekspresyonu	50
Şekil 3.13.3. Deney hayvanlarının penil dokularında, iNOS protein ekspresyonu	51
Şekil 3.13.4. Deney hayvanlarının penil dokularında, CSE protein ekspresyonu	51
Şekil 3.13.5. Deney hayvanlarının penil dokularında, CBS protein ekspresyonu	52
Şekil 3.13.6. Deney hayvanlarının penil dokularında, 3-MST protein ekspresyonu	53
Şekil 3.13.7. Deney hayvanlarının penil dokularında, HIF-1 α protein ekspresyonu	53
Şekil 3.13.8. Deney hayvanlarının penil dokularında, TGF- β 1 protein ekspresyonu	54
Şekil 3.13.9. Deney hayvanlarının penil dokularında, NF- κ B protein ekspresyonu	55
Şekil 3.14. Deney hayvanlarının penil dokularından alınan kesitlerde, apoptotik hücre lokalizasyonu (x10)	56
Şekil 3.15. Tüm gruplardan alınan penis dokularındaki cGMP seviyeleri	57
Şekil 3.16. Tüm gruplardan alınan penis dokularındaki MDA seviyeleri	58
Şekil 3.17. Tüm gruplardan alınan penis dokularındaki H ₂ S seviyeleri	59

1. GİRİŞ

Benign prostat hiperplazisi (BPH)'ye bağlı alt üriner sistem semptomları (AÜSS) ve erektil disfonksiyon (ED) özellikle yaşı erkeklerde hayat kalitesini etkileyen en önemli klinik sorunların başında gelmektedir (Giuliano, 2008; Rosen ve ark., 2003). Birçok ülkede (27.839 hasta) yapılan epidemiyolojik bir çalışma, hastaların yaklaşık %50'sinde ciddi, %66'sında orta şiddette ED varlığını göstermiştir (Rosen ve ark., 2004). Ek olarak yapılan diğer bir çalışmada, BPH 40 yaşıdaki erkeklerin % 10'unda, 70 ve üstü yaşlarındakilerinde ise %40'ında görülmektedir (Goldenberg, 1997). Epidemiyolojik veriler, AÜSS'ye bağlı gelişen ED' nin yaş ve genel sağlık durumundan bağımsız olduğunu göstermiş olmasına (Giuliano, 2008; Rosen ve ark., 2005) karşın ED ile AÜSS aralarındaki ilişkinin mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılmamıştır.

BPH/ AÜSS ve bu hastalıklara bağlı ortaya çıkan ED için, hastanın semptomlarına göre planlanan kombine tedavi yaklaşımlarının daha faydalı olduğu görülmektedir. AÜSS hastalarında, medikal veya operasyonel tedavi sonucunda erektil fonksiyonu nasıl etkileyeceği konusunu bilmek istemektedirler. Bunun yanında BPH/ AÜSS ve ED' den biri tedavi edildiğinde, diğer patoloji için olumlu ya da olumsuz sonuçlar ortaya çıkabilmektedir.

1.1. Alt Üriner Sistem Semptomları (AÜSS) / Benign Prostatik Obstrüksiyon (BPO) ve Eretil Disfonksiyon (ED)'ni prevelansı

BPH/ AÜSS ve bu hastalıklara bağlı gelişen ED özellikle son yıllarda oldukça sık görülmektedir (Rosen ve ark., 2005). BPH' lı hastalarda AÜSS ve ED' nin prevelansı oldukça yüksektir. Yaş, diabet, ilaç ya da koroner arter hastalığı gibi bilinen ED risk faktörlerine karşın, birçok çalışma ED' nin artan prevelansının AÜSS'nin artan şiddetiyle ilişkili olduğunu göstermiştir (Rosen ve ark., 2005). 40 yaş üzerindeki erkeklerin % 50'sinden fazlasının ED' ye sahip olduğu ve toplam popülasyonun %

75'nin yaşlanma ile birlikte obstrüktif üriner semptomlar yaşadığı bilinmektedir (Safarinejad, 2003). "Multinational Survey of the Aging Male-7 " klinik araştırması, ABD ve Avrupa'da 14254 hasta üzerinde yapılan şimdiye dek gerçekleştirilen en geniş kapsamlı çalışmadır (Rosen ve ark., 2003). Bu klinik çalışmada, yaş, AÜSS, bunlara eşlik eden durumlar ve ED birlikte değerlendirilmiştir. AÜSS ve ED arasındaki bağlantının, yaş, beraberindeki hastalıklar ve yaşam tarzından bağımsız olduğunu kanıtlamıştır (Rosen ve ve ark., 2003). Bu geniş popülasyonlu çalışmada, ED, 'Uluslararası Erektile Fonksiyon İndeksi (International Index of Erectile Function, IIEF)' ile birlikte değerlendirildiğinde, bunun AÜSS'nin ciddiyeti ile doğrudan ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (Rosen ve ve ark., 2003). Almanya'da ise 30-80 yaş aralığındaki 4477 hasta ile yapılan 'Cologne Male Study' isimli çalışmada, yaş, hipertansiyon, diyabet ve pelvik operasyonu geçirenlerde, AÜSS (Uluslararası Prostat Semptom Skoru, IPSS'e dayanarak) ED' nin bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (Braun ve ark., 2000; Braun ve ark., 2003). ED' li hastalarda AÜSS prevalansı % 72 iken ED' si olmayan hastalarda %38 bulunmuştur. İngiltere'de yapılan 11327 hastanın katıldığı benzer başka bir çalışmada ise ED' nin prevalansı AÜSS semptomlarının varlığında anlamlı olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Morant ve ark., 2009). Fransa'da 6000 hasta katılımıyla gerçekleşen bir çalışmada ise, ED'nin, yaş, BPH ile birlikte AÜSS'nin şiddeti ile doğrudan bağlantılı olduğunu göstermiştir (Lukacs, 1999). 2013 yılında Seftel ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada bu bilgilere paralel sonuçlar elde edilmiştir (Seftel ve ark., 2013). Genel popülasyonda ortaya çıkan orta ila şiddetli BPH/AÜSS prevalansı % 13 ila % 29 iken ED prevalansı % 8 ila % 35 olduğu gösterilmiş; bununla birlikte, BPH/AÜSS tedavisi için kliniğe gelen erkeklerde, birlikte görülen BPH/AÜSS ve ED prevalansı % 71 ile % 80 arasında bulunmuştur (Seftel ve ark., 2013). Bunlara ek olarak, birlikte görülen BPH/AÜSS ve ED' nin semptom şiddeti ve yaşam kalitesi üzerindeki etkileri daha fazladır.

AÜSS şikayeti olan hastalar, ilk aşamada, ortaya çıkması muhtemel ED riski açısından kontrol edilmelilerdir. Geniş hasta katılımıyla yapılan bir çalışmada ED' nin, AÜSS şiddeti ile doğrudan bağlantılı olduğunu ve 50 yaş üstü erkeklerde, seksüel aktivitenin yaşam kalitesinde önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir.

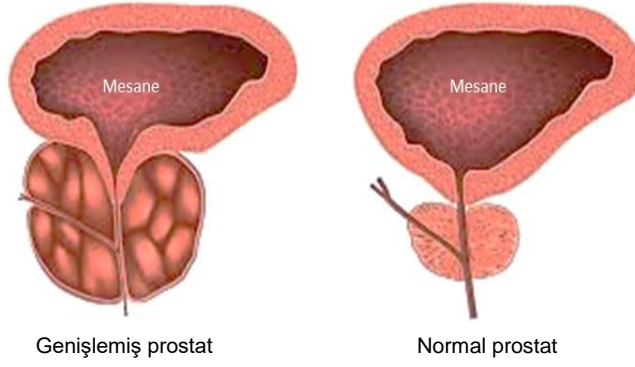
1.2. Prostat Bezi

Prostat bezi, anatomik olarak belirgin 3 farklı bölgeye ayrılmaktadır: merkez (central zone), ara bölge (transition zone) ve periferik bölge (peripheral zone). 5 α -redüktaz enzimi testosteronu prostatın içerisinde aktif form olan 5 α -dihidrotestosterona (DHT) dönüştürmektedir (Traish ve ark., 2011). DHT, prostatın gelişmesi ve büyümesi için hayati önem taşımaktadır. Prostat düz kası, sempatik sinir sisteminin uyarılmasının ardından, prostatik sıvı üretraya atılır ve bu sırada mesane boynu kapatılır.

Yaşla birlikte erkeklerde gelişen BPH ile benign prostat büyümesi (BPE), AÜSS neden olan yaygın hastalıklardır. Prostat hastalıklarına ilişkin yerinde ve doğru tanınım konması hastalıkların tedavisinde önemli bir yer tutmaktadır.

1.3. Benign Prostat Hiperplazisi (BPH)

BPH, özellikle BPE ile ilgili histolojik durumları tanımlamak için kullanılan bir terimdir. BPH, genellikle ara bölgede, yani prostatın periüretal alanına girdiği noktada lokalize olan ve aşırı büyümüş nodüllerle üretrayı çevreleyen stromal ve epitel hücrelerinin ilerleyen hiperplazisi ile karakterizedir. Tek bir mekanizma ile BPH'nin nedeni ile açıklanamamaktadır ve yaşın ilerlemesi ile birlikte birçok mekanizmanın birlikte ortaya çıkması bu duruma neden olabilir. Hücre düzeyinde meydana gelen değişimler, bazal hücre hiperplazisi ile stromal ve epitelial yapıların artışı ile ilişkilidir (Şekil 1.1)(Bostwick, 1992). BPH tanısı konulan hastalarda, ilk önce prostat hiperplazisi, sonra bu durumu prostat genişlemesi ve üretal obstrüksiyon takip eder.



Şekil 1.1. Benign prostat hiperplazisi

1.4. Benign Prostat Büyümesi (BPE)

BPE, prostat büyümesini ifade eden ve genellikle BPH'a sebep olabilen bir hastalıktır. BPE yavaş olarak ilerler. Yapılan çalışmalara göre hastaların % 30'dan fazlasında BPE tanısı konduktan sonra beş yıl içinde semptomların ilerleyişi belirgin şekilde görülür. Kılavuzlar, semptomların hafif kalması ve yaşam kalitesi etkilenmediği sürece herhangi bir tedavi önermemektedir (Crawford ve ark., 2006; Krambeck ve ark., 2012; Roehrborn ve ark., 2011).

1.5. Benign Prostatik Obstrüksiyon (BPO)

BPO, prostatın büyümesinin neden olduğu üretra genişliğinin azalması olarak bilinen ve BPH ile ilişkili olan bir kavramdır (Anderson, 1980). BPH' ın tek başına semptomlar oluşturmadığı bilinmektedir. Fakat, BPH' a bağlı ortaya çıkan BPE ve BPO ciddi klinik problemlere sebep olabilmektedir.

1.6. Mesane Boşaltım Fonksiyonu

Sağlıklı mesane boşaltım fonksiyonunda sırayla, mesane idrarla dolar, bu idrar depolanır ve istemli bir şekilde boşaltılır. Bu süreç, otonom ve somatik sinir sistemi tarafından kontrol edilir. Otonom sinir sistemi uyarıları adrenerjik, kolinerjik ve nitreerjik sinirler tarafından yönetilmektedir. Miksiyon sırasında parasempatik uyarı artar, düz kas kasılır, sempatik uyarı azalır (Burnstock, 1977). Mesanede nitreerjik uyarının sonrası nörotransmitter adenozin 5'-trifosfat (ATP) salınır, P2X purinerjik reseptörleri uyararak mesane kasılmasına neden olur (Ambache ve Zar, 1970).

1.7. AÜSS

Prostat bezinin genişlemesine bağlı olarak, üretral obstrüksiyon ve AÜSS ortaya çıkabilir. BPH' li erkeklerde sıklıkla acil idrar yapma hissi, sık idrara çıkma, gece idrar yapmak için uyanma, akım gücünde azalma, kesik kesik idrar yapma, yetersiz boşaltım hissine dahil olmak üzere AÜSS semptomları görülmektedir (Abrams ve ark., 2002). AÜSS geleneksel olarak üç kategoriye ayrılır: depolama, boşaltım ve işeme sonrası belirtiler. Boşaltım semptomları, işeme sırasında yavaş veya aralıklı akıntı, idrar akışının bölünmesi gibi semptomlardır (Abrams ve ark., 2002). BPH'nin sadece histolojik olarak teşhis edilebilmesine karşın, bu tip AÜSS semptomları genellikle BPH' nin göstergesi olarak kabul edilir. Depolama semptomları arasında acil idrar yapma hissi, sık idrara çıkma, gece idrar yapmak için uyanma gibi belirtiler vardır (Abrams ve ark., 2002).

Yaşlı hastaların birçoğu, prostatik obstrüksiyondan, aşırı aktif mesane (overactive bladder, OAB) semptomundan, boşaltım sırasında mesanenin düşük aktivitesinden ve gece idrara çıkmadan şikayet ederler. Bu semptomların ortaya çıkma sıklığı değişmektedir. "International Continence Society", OAB' yi idrar yapmak için ertelenmesi imkansız zoraki istek, bazen idrar tutamama ve genellikle sık tekrarlayan idrar ve gece idrarı olarak tanımlamıştır (Schafer ve ark., 2002). OAB tedavisi için cerrahi girişim yerine, ilaç tedavileri tercih edilmektedir (Mazucco, 2001).

EPIC çalışmasına göre, birçok erkekte, OAB ve üriner inkontinans semptomları ortaya çıkmaktadır. Depolama semptomlarının ortaya çıkma sıklığı, %5; boşaltım problemlerinin sıklığı %26 ve işeme sonrası semptomların ortaya çıkma sıklığı ise %17 olarak verilmektedir. Özellikle, 60 yaşından sonra erkeklerde semptomların ortaya çıkmasında artış gözlenmektedir. Bu çalışmada, depolama semptomları diğer somptomlara oranla daha sık olduğu gösterilmiştir (Irwin ve ark., 2006).

1.8. Günümüzde AÜSS /BPH Tedavisi

Prostatik hücre yayılmasını engellemek ve prostat düz kas tonusundaki artışı azaltmak BPH/AÜSS tedavisindeki başlıca amaçlardır. Tedavide kullanılan ilaçlar, iki ana gruba ayrılmaktadır. Bunlar: " α_1 -adrenerjik reseptör antagonistleri" ve " 5α -redüktaz inhibitörleri" dir. Ancak günümüzde onay alan fosfodiesteraz 5 inhibitörleri (PDE-5i) de kullanılmaya başlanmıştır (Filson ve ark., 2013).

1.8.1. α_1 -Adrenerjik Reseptörleri ve Antagonistleri

α_1 -Adrenerjik reseptörler, alt üriner sistemde (prostat, mesane ve penis) ve damarlarında yer almaktadırlar. Prostatta α_1 -Adrenerjik reseptörlerinin üç alt tipi 1_A , 2_B ve 1_D bulunmaktadır. En aktif alt tip 1_A 'dır (McVary ve ark., 2011). α_1 -Adrenerjik reseptörlerin uyarılması prostat ve penil düz kasında kasılmaya neden olur. Bunlara ek olarak, prostat düz kasında, bulunan α_1 -Adrenerjik reseptörlerin uyarılması ile artan düz kas tonusu BOO ile sonuçlanan idrar basıncı ve akut idrar tutulmasına sebep olabileceği düşünülmektedir (Lepor ve ark., 1998).

α_1 -Adrenerjik reseptör antagonistleri, BPH tedavisinde ilk seçenek olarak kullanılmaktadırlar. α_1 -Adrenerjik reseptör antagonistleri, mesane boynunu, prostatı ve prostatik üretra kasılmasını engelleyerek BOO'nun dinamik komponentlerini bloke ederler (Roehrborn ve ark., 2007; Black ve ark., 2006).

AÜSS/BPH tedavisinde en sık kullanılan α_1 -Adrenerjik reseptör antagonistleri terazosin, doksazosin, alfuzosin, tamsulosin ve silodosindir.

1.8.1.1. Terazosin

Terazosin, ilk kez BPH tedavisinde kullanılan, uzun etkili, α_1 -adrenerjik reseptör antagonistidir. Terazosin α_1 -adrenerjik reseptörleri bloke ederek damarlarda ve prostatta gevşemeye neden olur. Bu etkilerine bağlı olarak kan basıncının ve semptomatik BPH bağlı ürodinamik parametrelerde iyileşme meydana gelir (Djavan ve Marberger, 1999).

1.8.1.2. Doksazosin

Doksazosin, BPH tedavisinde onaylanmış ikinci α_1 -adrenerjik reseptör antagonisttir. Yapılan bir klinik çalışmada, 52 hafta boyunca doksazosin tedavisi gören 1007 hastada, BPH'a bağlı ürodinamik semptomların plaseboya göre belirgin bir iyileşme meydana geldiği görülmüştür (Kirby ve ark., 2003). 13 haftalık standart doksazosin ve doksazosinin uzun süreli preparatı ile tedavi sonrasında BPH'lı hastalarda erektil fonksiyonda düzelme gözlenmiştir. Ancak bu etki, AÜSS üzerinde olan yararlı etkilerinden bağımsız olabilir. Çünkü doksazosinin seksüel fonksiyon üzerindeki pozitif etkileri, sadece semptomatik BPH'ı olmayan hastalarda rapor edilmiştir (Kirby ve ark., 2005). Yine yapılan başka bir klinik çalışmada, 3 ay sonunda doksazosin tedavisinin hem erektil fonksiyon, hem de ürodinamik parametrelerde iyileşme gösterdiği saptanmıştır (De Rose ve ark., 2002).

1.8.1.3. Tamsulosin

Tamsulosin α_{1A} -adrenerjik reseptörü alt tipine 2_B ve 1_D alt tiplerine göre daha spesifiktir. Tamsulosin ve terazosin ile birlikte yapılan çalışmada, özellikle yaşlı ve hipertansif hasta grubunda terazosine göre daha güvenli bulunmuştur (Tsuji 2000). Tamsulosin ile yapılan klinik bir çalışmada, tamsulosinin ilk dozu ve tedavinin 3. ayında ürodinamik parametrelerde iyileşme bulunmuştur (Akin ve ark., 2013). Diğer bir çalışmada, 12 hafta boyunca tamsulosin tedavisi alan 168 hastada BPH semptomlarında iyileşme görülürken, erektil fonksiyonda bir düzelme gözlenmemiştir (Oelke ve ark., 2012). Yine yapılan başka bir çalışmada, tamsulosin tedavisinin BPH'a bağlı semptomları, hayat kalitesini ve erektil fonksiyonu iyileştirdiği bulunmuştur (Singh ve ark., 2014)

1.8.1.4. Alfuzosin

Üroselektif bir ajan olan alfuzosin, BPH tedavisi için onaylanan dördüncü α_1 -adrenerjik reseptör antagonistidir. Gur ve ark., tarafından yapılan bir çalışmada 6 haftalık PBOO sıçan modelinde alfuzosin tedavisinin düz kas tonusunu azaltarak ED'yi düzelttiğini göstermişlerdir (Gur ve ark., 2008). 148 hastada yapılan klinik bir çalışmada 24 haftalık alfuzosin tedavisinde erektil fonksiyon ve ürodinamik fonksiyonlarda iyileştirdiği görülmüştür (Chung ve ark., 2009). Diğer bir çalışmada ise, hipertansiyonlu hastalarında, alfuzosinin AÜSS/BPH semptomlarında etkili ve güvenilir olduğu bulunmuştur (Zhang ve ark., 2015).

1.8.1.5. Silodosin

Silodosin, 2008 yılında FDA'den onay alan ve α_{1A} -adrenerjik reseptör alt tipine spesifik antagonistidir (Lepor ve Hill, 2010). Silodosin, hızlı etkili ve AÜSS/BPH tedavisinde güvenle kullanılan bir ilaçtır. Alfuzosin, tamsulosin ve silodosin ile yapılan çalışmada, AÜSS/BPH üzerine etkileri ve özellikle hemodinamik parametreler

üzerine olan yan etkileri açısından benzer etkiye sahip oldukları bulunmuştur (Manjunatha ve ark., 2016). Klinik çalışmalarda, 12 haftalık silodosin tedavisinin üriner semptomlarda hızlı bir iyileşme sağlamıştır (Marks ve ark., 2009). Silodosin, prostatik kan akışını iyileştirerek BPH semptomları ve mesane depolama fonksiyonunu düzelterek AÜSS iyileştirebilir (Shimizu ve ark., 2015). Deneysel PBOO modelinde silodosinin mesane fonksiyonlarını iyileştirmiştir (Goi ve ark., 2015). Goi ve ark., tarafından yapılan bir çalışmada, sıçanlarda gelişen kronik mesane iskemi modelinde silodosinin mesane kan akışını ve fonksiyonlarını düzenlediği bulunmuştur (Goi ve ark., 2013).

1.8.1.6. α_1 -Adrenerjik Reseptör Antagonistlerinin Yan Etkileri

α -adrenoreseptör antagonistlerinin yan etki profilleri birbirlerinden farklılık gösterir. Yapılan klinik çalışmada, alfuzosin ve tamsulosin yan etki profilleri bir birine benzer bulunmuş, terazosin ve doksazosinin yan etkilerine göre, daha iyi tolere edilebilmişlerdir (Djavan ve Marberger, 1999). α -adrenoreseptör antagonistlerin bazı yan etkiler ve ilaç etkileşimler şunlardır:

- *Hipotansiyon:* α -adrenoreseptör antagonistlerin en önemli yan etkileri ortostatik hipotansiyon ve baş dönmesidir. Hipotansiyon ve senkop yan etkilerinin ortaya çıkma riski açısından tamsulosin, alfuzosin ve silodosin; terazosin veya doksazosine göre daha düşük potansiyele sahiptir (Lee, 2000; Roehrborn ve ark., 2003; Marks ve ark., 2009). α -adrenoreseptör antagonistlerinin kan basıncı üzerine olan farklı etkileri, etkiledikleri reseptör alt tipine bağlı olarak ortaya çıkabilir (Schwinn ve ark., 2004). Hipertansiyonu olan yaşlı erkeklerde, hipotansif etki yararlı olabilirken, tüm hastalarda dikkatli bir kan basıncı kontrolü gereklidir. Hipertansiyon hastası olan fakat aynı zamanda ortostatik hipotansiyonu olan yaşlı erkeklerde tamsulosin makul bir seçenek olabilir. α -adrenoreseptör antagonistlerin, hipertansiyon için monoterapi olarak kullanıldığında kalp yetmezliği insidansını artırabilir (Djavan ve Marberger, 1999).

- *Seksüel yan etkiler:* α -adrenoreseptör antagonistlerin en yaygın seksüel yan etkisi, ejakulasyon disfonksiyonudur. Mesane boynunda α reseptörlerin bloke olması ile meydana gelen gevşeme sonucunda retrograd ejakulasyon gelişebilmekte; vaz deferens ve seminal veziküldeki α reseptörlerin bloke olması, ejakülat hacmini azaltmaktadır. Buna karşın, libido ve erektil fonksiyon üzerine α -adrenoreseptör antagonist tedavisinin olumsuz etkileri bulunmamaktadır (McVary ve ark., 2011). Tamsulosin ve silodosin, özellikle ejakulasyonu etkileyebilir (Gacci ve ark., 2014). Bir çalışmada, tamsulosin, hastaların yüzde 90' ından fazlasında ortalama ejakülat hacmini azaltmıştır; bunların %35' i de ejakülat içermemektedir. Bu yan etki alfuzosin tedavisinde görülmemiştir (Giuliano, 2006). Silodosinin, hastaların yaklaşık %28'inde retrograd ejakulasyona neden olduğu görülmüştür (Marks ve ark., 2009).

1.8.2. 5 α -Redüktaz İnhibitörleri

5 α -redüktaz inhibitörleri, 5 α -redüktaz enzimlerinin inhibisyonuna neden olur ve testosteronun prostat büyümesinden sorumlu olan, DHT'ye dönüşmesini engeller (Hamilton ve ark., 2012). 5-redüktaz enziminin 3 tipi bulunmaktadır. Tip 1, karaciğerde bulunurken, tip 2 karaciğerin yanında prostat ve seminal vezikülde bulunmaktadır (Mysore, 2012). Son yıllarda keşfedilen tip 3'ün ise beyin, kalp ve diğer organlarda olduğu kanıtlanmıştır (Welliver ve ark., 2014). Bu enzimler ilaç tedavisi için potansiyel hedeflerdir. 5 α -redüktaz inhibitörleri, BPH ile ilişkili ameliyatların sıklığını ve riskini azaltmaktadır. Bu sebeple, hem Amerikan Üroloji Derneği, hem de 'Avrupa Üroloji Birliği' tarafından BPH' ın medikal tedavisi için önerilmektedir (McConnell ve ark., 1998; Roehrborn ve ark., 2002). Günümüzde, benzer klinik etkilere sahip iki α -redüktaz inhibitörü kullanılmaktadır, bunlar 'finasterid' ve 'dutasterid'dir.

1.8.2.1. Finasterid

Finasterid, BPH tedavisi için klinik onay alan, ilk 5 α -redüktaz inhibitörüdür ve tip 2 5 α -redüktaz enzimini bloke eder (Finn ve ark., 2006). Yapılan çalışma sonucunda, finasteridin serum DHT seviyesini %70 oranında azalttığı bulunmuştur (Roehrborn ve ark., 2001). BPH'lı erkeklerde, 12 ay boyunca plasebo ve finasterid ile tedaviyi karşılaştıran randomize çok merkezli bir çalışmada, finasterid ile tedavi edilen erkeklerin, idrar akış hızı ve ortalama prostat hacminde %19 azalma bulunmuştur (Palea ve Barras, 2003). Günlük 5 mg finasterid veya plasebo ile tedavi edilen 3000'den fazla erkek üzerinde yapılan bir çalışmada, semptom skorlarındaki, maksimal idrar akış hızlarında ve prostat hacmindeki düzelmelerin dört yıldan fazla sürdüğü gösterilmiştir (McConnell ve ark., 1998). Finasterid tedavisi, akut idrar retansiyonu ve cerrahi olasılığı azaltmıştır. 2783 hasta ile yapılan MTOPS çalışmasında, finasterid, doksazosin, kombinasyon tedavisi ile plasebo karşılaştırılmıştır. Tedavi gruplarının tümünde, erektil ve ejakülasyon fonksiyonlarının yanı sıra, libidoda da azalma gözlenmiştir. Bununla birlikte, finasterid ve kombinasyon tedavisinde, ejakülasyon fonksiyonunun belirgin şekilde kötüye gittiği, kombinasyon tedavisinde ise erektil fonksiyonun da bozulduğu bulunmuştur. Ancak, erektil fonksiyon için 4 yılın sonunda kombinasyon tedavisi ile plasebo grubu arasında fark saptanmamıştır (Demir ve ark., 2009).

1.8.2.2. Dutasterid

Dutasterid, hem tip 1, hem de tip 2 5 α -redüktaz inhibe eden 5 α -redüktaz inhibitörüdür. Yapılan çalışmalarda, toplam prostat hacmini yaklaşık % 26 ve serum DHT düzeyini %90'dan fazla azalttığı gösterilmiştir (Roehrborn ve ark., 2002; Roehrborn, 2004). Dutasteridi plasebo ile karşılaştıran bir meta-analizde, dutasteridin, prostat hacmini, akut üriner retansiyon ataklarını ve cerrahi müdahale gereksinimini azalttığı, ek olarak semptom skoru ve maksimum akış hızını da iyileştirdiği bulunmuştur (Wu ve ark., 2014).

1.8.2.3. 5 α -Redüktaz İnhibitörlerinin Yan Etkileri

5 α -redüktaz inhibitörlerinin başlıca yan etkileri, libido kaybı, ejakülasyon disfonksiyon ve ED'dir (Gacci ve ark., 2014). Yapılan klinik çalışmada, finasterid tedavisi alan erkeklerin %4 ile 6 oranında seksüel yan etkiler görülmüştür (Gormley ve ark., 1992). Başka bir klinik çalışmada ise, seksüel yan etkilerin oranı % 13.8 bulunmuştur (Tenover ve ark., 1997). Yapılan diğer bir çalışmada ise, benzer sonuçlar bulunmuştur. Hastalarda libidoda azalma ve ED gözlemlenmiştir (Corona ve ark., 2017). Ayrıca ejakülasyon disfonksiyon riski açısından finasterid ve dutasterid arasında farklılık gözlenmemiştir (Gacci ve ark., 2014).

1.8.3. Fosfodiesteraz 5 İnhibitörleri (PDE-5i)

PDE-5i' lerinin BPH/AÜSS üzerine tedavi edici etkileri multifaktöriyeldir. PDE-5 izoenzimleri, penis, prostat, mesane ve kardiovasküler sistem dahil olmak üzere, erkek ürogenital sisteminde aktif rol oynar (Cohen, 2012; Andersson ve ark., 2007; Uckert ve ark.; 2006). Tadalafil, ED tedavisi için kullanılan bir PDE-5i ve BPH/ AÜSS kronik tedavisinde kullanılmak üzere FDA'den 2011'de onay almış tek PDE-5i'dir.

Tadalafilin BPH/AÜSS bağlı semptomları üzerine etkisi tam olarak bilinmemektedir. Ancak, insan ve hayvan dokularında yapılan *in vitro* çalışmalar, siklik guanozin monofosfat (cGMP) ile regüle edilen prostat ve mesanenin stromal düz kas gevşemesinin yanında mesane boynunun gevşemesi ve mesane düz kasının aşırı aktivitesini azaltması ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (Gacci ve ark., 2007; Filippi ve ark.; 2007; Uckert ve ark., 2008; Angulo ve ark., 2012). Tadalafilin etki mekanizmasına bakıldığında düz kas ve endotel gevşemesini, hücre proliferasyonunu, dokulara giden kan akımını arttırdığını ve inflamasyonu azalttığını gösterilmiştir (Andersson ve ark., 2011). Yapılan prelinik çalışmalarda, insan ve hayvan prostatik ve mesane dokularının nitrik oksit (NO) aracılı gevşemesinin artması, BPH ile ilişkili pelvik arteriyel yetmezliği ve iskemiye azaltabileceği bulunmuştur (Azadzo ve ark., 2003). Bu etkilerinden dolayı, AÜSS tedavisinde etkili olduğu düşünülmektedir

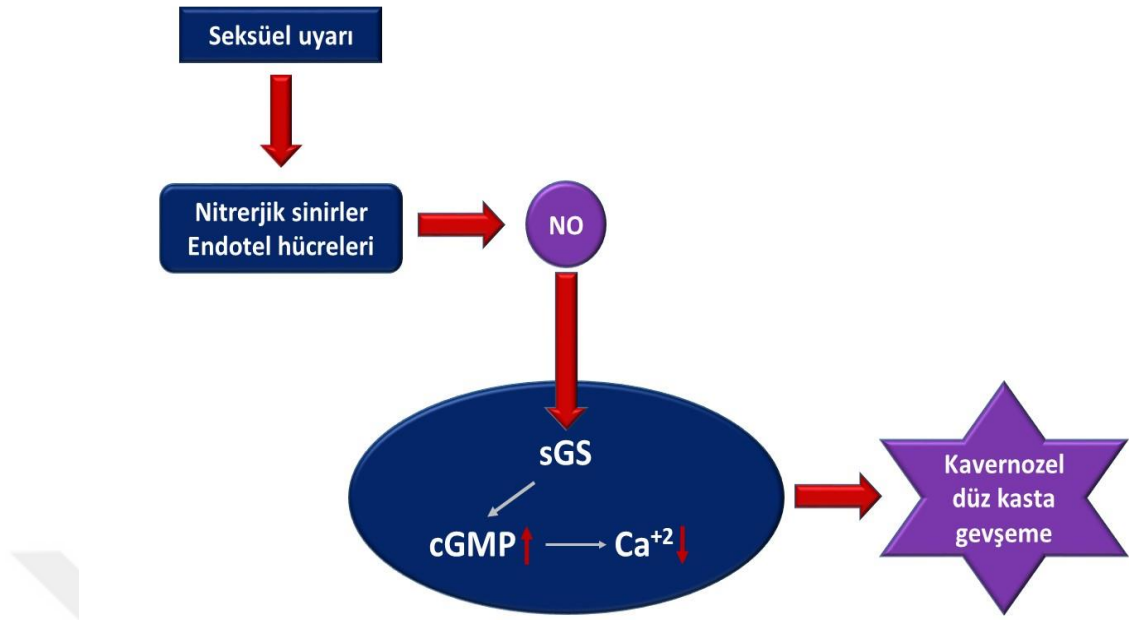
(Andersson ve ark., 2011). Kawai ve ark. yapmış olduğu çalışmada, PBOO'lu sıçanlarda tadalafil tedavisinin obstrüksiyon sonrası azalan kan akımını arttırdığı ve mesane fonksiyonlarını iyileştirdiğini belirtilmiştir (Kawai ve ark., 2016). Yapılan bir prelinik çalışmada, hipertansif sıçanlarda prostat dokusunda hipoksiye bağlı hypoxia-inducible factor- (HIF)-1 α düzeylerinde artışı olduğu, tadalafil tedavisinin ise bu artışı azalttığı gösterilmiştir (Morelli ve ark., 2011). Vignozzi ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, tadalafil tedavisinin metabolik sendromun neden olduğu fibrozis ve hipoksi belirteçlerini azalttığı gösterilmiştir (Vignozzi ve ark., 2014). Klinik çalışmalarda, tadalafil tedavisinin 12 hafta sonunda ürodinamik semptomlarda iyileşme sağladığı gösterilmiştir (McVary ve ark., 2007; Porst ve ark., 2011).

Klinik çalışmalar, tadalafilin, ED veya AÜSS/BPH veya her iki patolojinin birlikte eşlik ettiği durumlarda, etkili ve güvenli olduğunu doğrulamıştır (Egerdie ve ark., 2012; Oelke ve ark., 2012). BPH/ AÜSS olan erkeklerde, PDE-5i tedavisi sadece ED için etkili ve iyi tolere edilen bir tedavi değildir, aynı zamanda Uluslararası Prostat Semptom Skoru (IPSS) ile ölçülen AÜSS da iyileştirmiştir (Wong ve ark., 2009). Semptomatik BPH' 1 olan erkeklerde beş plasebo kontrollü randomize çalışmanın meta analizinde, PDE-5i ile tedavi edilen hastalarda, ≥ 12 haftalık tedaviden sonra IPSS' de anlamlı düzelme gözlenmiştir (Liu ve ark., 2011). Ürodinamik parametrelerde ise anlamlı bir fark bulunmamıştır (Liu ve ark., 2011). BPH semptomları olan erkeklerde yapılan bir sonraki randomize çalışmada ise, plaseboya kıyasla hem tadalafil, hem de tamsulosin, maksimum idrar akış hızlarını ve semptom skorlarını iyileştirdiğini ancak tadalafilin ED'yi de iyileştirdiği bulunmuştur (Oelke ve ark., 2012). 1500 hastanın dahil olduğu çalışmada ise, plaseboya göre tadalafil'in IPSS ve BPH etki indeksini, semptom şiddetini, yaşa, testosteron düzeyine veya prostat hacminden bağımsız iyileştirdiği bulunmuştur (Porst ve ark., 2013). Buna karşın, 12 adet faz II ve III çalışmaların bir araya toplanmış analizinde, tadalafilin 75 yaş altı hastalarda AÜSS'yi tedavi etmekte başarılı olmuş, ancak 75 yaş ve üzerindeki hastalarda bu başarıyı gösterememiştir (Oelke ve ark., 2017).

1.9. Penil Ereksiyonun Mekanizması

Penil ereksiyon, sinirlerin, endotelin ve kan damarlarının, penisteki düz kas hücrelerinin yer aldığı karmaşık bir nörovasküler sürecin sonucudur. Ereksiyon temel olarak spinal refleks tarafından kontrol edilen, farklı merkezi ve periferik, nöronal ve/veya hormonal mekanizmalarında dahil olduğu bir olaydır (Andersson 2011). Parasempatik sistem, düz kas gevşemesini ve ereksiyonu sağlarken; sempatik sistem düz kas tonusunda artmaya neden olur ve 'flasid (non-erektile)' fazı sağlarlar. NO, penil ereksiyon için en önemli transmittedir. Korpus kavernozum düz kas dokusunda nöronal NO sentaz (nNOS) ve endotel NOS (eNOS) enzimlerinin NO üretiminden sorumlu olduğu bilinmektedir. nNOS ereksiyonun başlamasında sorumlu iken, eNOS ereksiyonun sürdürülmesinden sorumludur (Lue 2000). eNOS ve nNOS aracılığı ile sentez edilen NO arteriyel ve kavernozele düz kasta solubl guanilat siklaz (sGS)'in aktive olmasına yol açar. Aktive olan sGS, cGMP seviyesi artırır (Ignarro ve ark. 1990). Hücre içinde cGMP protein kinaz G (PKG)'yi aktive eder. PKG, Ca⁺² aktivitesini ve hücre içi Ca⁺² düzeylerini azaltarak kavernozele düz kasta gevşemeye neden olur (Ignarro ve ark., 1990).

Kavernozele düz kasta cGMP seviyesini düzenleyen en önemli enzimle PDE enzimleridir (Boolell ve ark., 1996). Kavernozele düz kasta gevşemesinin ardından, arteriyel kan akışının artması ve penil ereksiyon meydana geldikten sonra PDE-5 enzimi, cGMP'yi parçalamaktadır (Goldstein ve ark., 1998).

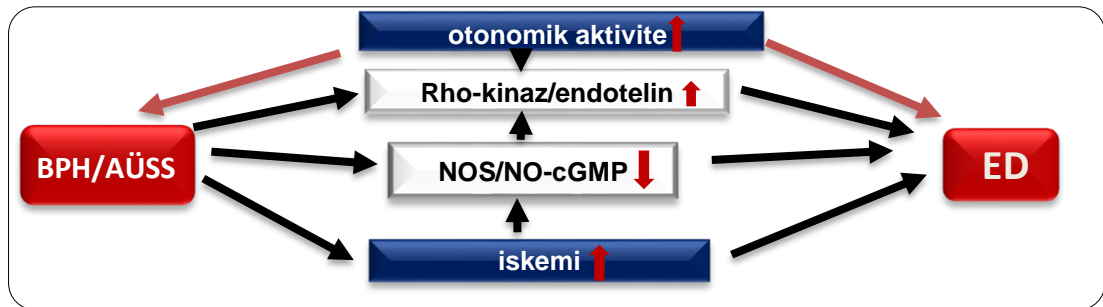


Şekil 1.2. Kavernozal düz kas hücresinde gevşeme

Flasid faz, sempatik sinir sistemi kontrolü altındadır. Bu fazda, damar düz kası kasılır. Ek olarak, endotel hücrelerden salgılanan endotelin-1 ve prostaglandin F2 α ve diğer mediyatörler (örneğin; anjiyotensin II, nöropeptid Y) kas tonusunda artış meydana getirirler. Sonuç olarak, penise gelen kan akımı azalır (El Melegly ve ark., 2005).

1.10. AÜSS Bağlı Gelişen ED'ye İlişkin Teoriler

BPO, AÜSS neden olur ve her iki durum da ED ile ilgilidir. Bu hastalıkların nasıl birbirleriyle bağlı olduğunu gösteren dört teori bulunmaktadır (Şekil 2) ve bunlar şöyledir (McVary, 2005).



Şekil 1.3. BPOO/AÜSS ve ED ilişkisi

1.10.1. Azalan Nitrik Oksit Sentaz (NOS)/NO Düzeyleri

Penis, mesane ve prostatta NOS/NO düzeylerinin azalması sonucunda ED ve AÜSS arasında bağlantı bulunduğunu öngören bir hipotezdir. NO, penil dokudaki düz kas ve damarlarında gevşemeye neden olan en önemli nörotransmitterdir (Andersson,2003). Ek olarak, NO'nun prostat ve mesanede düz kas tonusunun sağlanmasında sorumlu olduğu gösterilmiştir (Bloch ve ark., 1997). NOS/NO düzeylerinin azalması ile düz kaslarda kasılma ve gevşeme dengesinin bozulmasına ve ED'nin gelişmesine neden olur. PBOO'lu sıçanların penis dokusunda, nNOS ekspresyonlarının azaldığı gösterilmiş ve azalmaya bağlı olarak erektil yanıtın da bozulduğu bulunmuştur (Bastaskın ve ark., 2016; Gur ve ark., 2016; Gur ve ark., 2008).

Prostat dokusunda yapılan çalışmada, ilerleyen yaşla NOS gen ekspresyonu ve NO üretiminin azaldığı bulunmuştur (Dey ve ark., 2012). Ek olarak, hiperplastik prostatta transizyonel zonda NOS/NO düzeylerinin ve nitrerjik innervasyonun azaldığı bildirilmiştir. NOS/NO yolağının azalmasına bağlı olarak artan prostat tonusu BPH'nin dinamik komponentini ve düz kas hücresinde proliferasyona neden olarak statik komponenti de etkilemektedir (Bloch ve ark., 1997; Felsen ve ark., 2003).

1.10.2. Artan İskemi

Kronik iske mi ve oksidatif stres obstrüksiyonun baş etiyolojik faktörüdür (Azadzo i ve ark., 2007). Yapılan çalışmalarda, iskeminin kaverno z, prostat ve mesane dokularında endotel ve düz kas hasarı ile hipoksiye neden olduğu, böylece düz kasların gevşemesini azaltarak AÜSS yol açtığı bilinmektedir (Andersson ve ark., 2014). PBOO'da mesane ağırlığının arttığı, mesane fonksiyonlarının bozulduğu ve mesane düz kasında incelmeye meydana geldiğini gösterilmiştir (Comiter ve Phull, 2012; Kawai ve ark., 2016). Yapılan bir çalışmada, PBOO oluşturulduktan 2 hafta sonra, mesanede HIF-1 α 'nın arttığı ve bu artışa bağlı olarak mesanede iske mi geliştiği gösterilmiştir (Sano ve ark., 2012; Al-Saikan ve ark., 2016). Ekman ve ark. tarafından

yapılan bir çalışmada, PBOO modelinde mesanede nükleer faktör kapp B (NF-κB) aktivasyonunun ve ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Ekman ve ark., 2013). Gur ve ark. yapmış olduğu çalışmada ise, 6 haftalık PBOO'lu sıçanlarda penil dokuda indüklenebilir NOS (iNOS) ekspresyonunun kontrol sıçanlara göre arttığı gösterilmiştir (Gur ve ark., 2008).

Yapılan çalışmalarda, PBOO modelinin, mesanede ilerleyen hipertrofi, fibrotik bozulma ile fonksiyon bozukluğuna neden olduğu belirtilmiştir (Maciejewski ve ark., 2015; Al-Saikan ve ark., 2016; Jiang ve ark., 2015). PBOO modelinde, mesane dokusunda “transforming growth factor-β1 (TGF-β1)” düzeylerinin arttığı, düz kasın azaldığı ve kollajen miktarının ise arttığı gösterilmiştir. Bu duruma bağlı olarak mesanede fibrosis geliştiği belirtilmiştir (Al-Saikan ve ark., 2016; Jiang ve ark., 2015). Laboratuvarımızda yapılan son çalışmada, PBOO'lu sıçanların penisinde düz kas ve kollajen oranının kollajen yönünde arttığı bulunmuştur (Bastaskın ve ark., 2016). PBOO modeli ile yapılan çalışmalarda apoptozisin arttığı, bu tablonun fibroze katkısı olduğu düşünülmektedir (Taylor ve ark., 2006; Hsieh ve ark., 2016).

1.10.3. Otonom Sinir Sisteminin Hiperaktivitesi

BPH/AÜSS bağlı artan sempatik aktivite ile ED arasında ilişki vardır. Yapılan hayvan deneylerinde, yaşlı sıçanlarda artan otonom sinir sisteminin aktivasyonu BPH ve ED'ye neden olduğu gösterilmiştir. Hipertansif sıçanlarda gelişen BPH ve ED'nin sebep olduğu detrusör overaktivitesindeki artışın nedeninin otonom sinir sistemi hiperaktivasyonu olduğu bulunmuştur (Golomb ve ark., 2000). Klinik çalışmalarda ise, idrar ve serum katekolamin seviyeleri ile AÜSS şiddeti arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (McVary ve ark., 2005).

1.10.4. Endotelin-1 ve Rho-kinaz Aktivitesinde Artış

Düz kas kasılması, intrasellüler kalsiyum konsantrasyonu ile doğrudan ilişkilidir. Rho-kinaz sinyal yolağının aktive olması ile intrasellüler kalsiyuma duyarlılığı artar ve düz kasta kasılma meydana gelir (Somlyo ve Somlyo, 2000). α_1 -adrenerjik reseptörlerin aktivasyonunun ardından Rho-A, Rho-kinazı aktive eder ve aktive oluşan Rho-kinaz düz kas hücresindeki myozin hafif zincir fosfatazı inhibe eder ve kalsiyum duyarlılığı artarak düz kas kasılması gerçekleşmektedir (Rees ve ark., 2003). Daha önce yapılan bir çalışmada, Rho-kinazın, alt ürener sistem düz kas tonusunun fizyolojik ve patofizyolojik düzenlenmesindeki önemini belirtilmiştir (Christ ve Andersson, 2007). Tavşanlarda yapılan bir çalışmada, obstrüksiyona bağlı olarak Rho-kinaz aktivitesi artmış ve bu artışın ED'ye neden olabileceği bulunmuştur (Chang ve ark., 2005).

1.11. Hidrojen sülfür (H_2S)

H_2S , penil ereksiyonda ve ürener sistem fonksiyonlarında yer alan, NO gibi bir gazotransmitterdir (Fusco vd., 2012). Bu mediyatör, endojen olarak üretilir, hücre membranından geçebilir ve etkilerini gösterir (Wang 2002). H_2S , birçok fizyolojik fonksiyonu etkiler. H_2S 'in vasküler homeostaz ve vasorelaksasyonun kontrolünde önemli bir rolü vardır (Beltowski ve Jamroz-Wisniewska, 2014). Ayrıca, apoptoz, inflamasyon, anjiyogenez, proliferasyon, metabolizma ve oksidatif stres ile ilgili çoklu sinyal yollaklarında yer alan proteinlerin aktivitesini ve ekspresyonunu da etkiler (Yu ve ark., 2014; Lo Faro ve ark., 2014).

H_2S , başlangıç maddesi olarak L-sistein kullanan başlıca üç enzim tarafından sentezlenir: sistatyonin β -sentaz (CBS), sistatyonin gama-liyaz (CSE) ve 3-merkaptopiruvat transferaz (MST) (Wang 2002). Bu enzimler karaciğer, böbrek, beyin, vasküler olan ve olmayan birçok düz kas hücresinde bulunur (Wang 2002). hızla parçalanır. H_2S , tiyol S-metiltransferaz tarafından dimetilsülfid ve methanetiol oluşumu ile sonuçlanan bir reaksiyon ile parçalanır (Kimura, 2014).

Hayvan modellerinde ve insanlarda yapılan çalışmalarda, H₂S'in erektil yanıt oluşumunda katkısı olduğunu göstermiştir (Gur ve ark., 2015). Çalışmalarda, H₂S'in erektil yanıt oluşturmada, önemli rol oynadığı da gösterilmiştir (d'Emmanuele di Villa Bianca ve ark., 2009; Srilatha ve ark., 2007). Yapılan çalışmalarda, H₂S'in donörü olan sodyum hidrojen sülfid (NaHS) intrakavernöz yoldan uyguladıktan sonra, erektil yanıtı arttırdığı ve *in vivo* olarak yapılan deneylerde NaHS'in doz bağımlı olarak korpus kavernozaumu gevşettiği belirtilmiştir (Jupiter ve ark., 2015; Yetik-Anacak ve ark., 2015). ED ile ilgili yapılan önceki çalışmalarda, diabetik ve hipertansif hayvanlarda, CBS ve CSE enzimlerinin penisdeki ekspresyonlarının azaldığı gösterilmiş ve meydana gelen azalma ED tablosu ile ilişkilendirilmiştir (Huang vd.,2014; Zhu vd., 2014). H₂S'in bir diğer etki mekanizması, PDE aktivitesini azaltması ve cGMP düzeyini arttırmasıdır (Bibli vd., 2015). NaHS, *in vitro* ortamda düşük konsantrasyonlarda PDE aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (Bucci vd., 2010). Ek olarak, H₂S uygulamasından sonra, eNOS aktivasyonuna bağlı olarak NO seviyesinin arttığı gösterilmiştir (Bir vd., 2012).

H₂S'in diğer urogenital organlar üzerine etkileri olduğu gösterilmiştir. Önceki çalışmalar, H₂S'in sıçan mesanesinde duyuşal sinirleri uyardığını, insanda ise prostat ve erektil fonksiyona dahil olduğunu göstermiştir (Patacchini vd., 2004; d'Emmanuele di Villa Bianca vd., 2009; Guo vd., 2012) . Fusco ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada insan mesanesinde H₂S ve sildenafilin gevşetici etkisi olduğunu ve PDE-5 inhibisyonunun H₂S düzeylerini arttırdığını göstermişlerdir (Fusco vd. 2012).

H₂S'nin güçlü bir antioksidan olduğu bildirilmiştir (Kabilve ark., 2014). H₂S'in, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu inhibe ettiği, temizlediği ve endojen antioksidan sisteminin iyileştirdiği gösterilmiştir (Li ve ark., 2015; Wu ve ark.,2015). Ayrıca H₂S, oksidatif strese bağlı hasarı azaltmıştır. İskemi/reperfüzyon hasarında ve *in vitro* oksidatif streste H₂S'nin rolü araştırılmıştır(Snijder ve ark., 2013). H₂S, oksidatif strese bağlı toksik etkilerin azaltılmasına katkıda bulunduğu ve antioksidan mekanizmalarını desteklediği gösterilmiştir (Snijder ve ark., 2013).

H₂S hem pro-hem de anti-inflamatuar mekanizmalar üzerinde etkili olabilir. Bu ikilem muhtemelen doza veya incelenen sistem/hastalık modeline bağımlıdır (Whiteman ve ark., 2010). Yüksek konsantrasyonlarda NaHS, proinflamatuvar mediyatörlerin oluşumunu kolaylaştırırken, düşük dozlarda NaHS antiinflamatuvar mediyatörlerin sentezini artırır (Whiteman ve ark., 2010).

1.12. Amaç

Deney hayvanlarında, parsiyel mesane obstrüksiyonu, sütür ligasyonu ile yapılmaktadır ve bu model genellikle BPH/AÜSS'deki semptomlara benzer patolojiler ortaya koymaktadır. Bu patolojilerden biri ve en önemlisi ED'dir. Daha önce yapılan çalışmalar PBOO modelinde meydana gelen oksidatif stres, iskemi ve fibrozise bağlı ED'nin geliştiğini göstermiştir. Bu nedenle BPH tedavisi için onay alan tadalafilin özellikle urogenital sistemde iskemi ve oksidatif stres üzerine etkileri olduğu bilinmektedir.

H₂S'in erektil fonksiyonun düzenlenmesinde, ve ayrıca antioksidan ve antiinflamatuvar mekanizmalarda rol aldığı bilinmektedir. Ancak kronik tedavide, H₂S donörü NaHS'nin ED üzerine etkileri bilinmemektedir. Bu noktadan yola çıkarak projemizde, tadalafilin ve NaHS'nin PBOO'lu sıçan modelinde gözlenen ED üzerinde düzeltici etkisinin olup olmadığı ve obstrüksiyona bağlı oluşan iskemi, oksidatif stres ve fibrozis üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Gereçler

2.1.1. Malzemeler

- MAY recorder equipment computer system (Commat Ltd. Ankara, TÜRKİYE)
- Veri kayıt ve analiz sistemi (MP35 Biopac Student Lab Pro, Data Acquisition System)
- % 95 Oksijen, % 5 karbondioksit gaz karışım tüpü
- Kaba terazi (Scaltec, SBA 61 Heiligenstadt, ALMANYA)
- Hassas terazi (Scaltec, SBA 31 Heiligenstadt, ALMANYA)
- Çeşitli hacimlerde otomatik pipetler (Eppendorf, Hamburg, ALMANYA)
- Pipet uçları
- pH metre (Mettler Toledo MP220; İSVİÇRE)
- -80 °C Derin dondurucu (JOUAN VXS 380)
- Likit nitrojen tankı
- Buz makinası (Hosizaki Ice Maker, JAPONYA)
- Polilizin kaplı lam
- Lamel
- Etüv
- Mikrotom (Leica RM2125RT, Sermed, İNGİLTERE)
- Işık mikroskopu (Leica DM4000B, İNGİLTERE)
- Çeşitli cam ve plastik malzemeler
- Cerrahi makas ve pensler
- Çeşitli boyutlarda enjektörler
- Cerrahi flaster
- 4F Üretral katater
- 3.0 Krome kat-güt (Doğsan, TRABZON)
- PE-240 tube

- BioRad Wet/Tank blotting Systems (Mini Trans-Blot Cell®)
- Elektroforez aleti (SCIE-PLAS, İNGİLTERE)
- Güç kaynağı (SCIE-PLAS, İNGİLTERE)
- Manyetik karıştırıcı/torrey pine scientific
- Ultrasantrifuj (Beckman Coulter® - Type 50.2 Ti Rotor)
- Santrifuj (Hettich Rotina 35R, Tuttlingen; ALMANYA)
- Odyssey Fc system (LI-COR Biosciences, Lincoln, NE, ABD).

2.1.2. Kimyasal Maddeler

- Ketamin (Ketalar, Pfizer, TÜRKİYE)
- Ksilazin (Xylazinbio, Bioveta, ÇEK CUMHURİYETİ)
- Siprofloksasin (Ciproktan 200 mg/100 ml, Koçak Farma, TÜRKİYE)
- Sodyum hidrojen sülfid (Sigma-Aldrich, ABD)
- Potasyum klorür (Merck, ALMANYA)
- Absolü etanol (Sigma-Aldrich, ABD)
- Tadalafil (Cialis, Eli Lilly, ABD)
- Asetilkolin (Sigma, St. Louis, ABD)
- Fenilefrin (Sigma, St. Louis, ABD)
- Sodyum nitroprusid (Sigma, St. Louis, ABD)
- Heparin (Nevparin 25000 IU, Mustafa Nevzat, TÜRKİYE)
- İzotonik sodyum klorür solüsyonu 1000 ml (İ.E. ULAGAY, İstanbul TÜRKİYE)
- Formalin (Riedel-de Haen, ALMANYA)
- Ksilen (Merck, ALMANYA)
- Parafin (Paraffin in pastille, Merck, ALMANYA)
- Target retrieval solution (Dako Cytomation, USA)
- Biotinylated link universal (Dako Cytomation, USA)
- Protein block serum free (Dako Cytomation, USA)
- Streptavidin-HRPC (Dako Cytomation, USA)
- Link (Dako Cytomation, USA)
- Extravidin peroxidase conjugate (Sigma, ALMANYA)

- Biotin blocking system (Avidin + Biotin) (Dako Cytomation, USA)
- Phosphate buffered saline (Sigma, ALMANYA)
- Bovine serum albumin (BSA %2), Fraction V (Sigma, ALMANYA)
- nNOS antikor (BD Transduction Lab., USA)
- eNOS antikor (BD Transduction Lab., USA)
- CBS antikor (Santa Cruz, Dallas, Texas, ABD)
- CSE antikor (Santa Cruz, Dallas, Texas, ABD)
- 3-MST antikor (Novus Biologicals, Littleton, CO, ABD)
- HIF-1 α antikor (Novus Biologicals, Littleton, CO, ABD)
- TGF- β 1 antikor (Abcam, Cambridge, MA, ABD)
- iNOS antikor (Santa Cruz, Dallas, Texas, ABD)
- NF- κ B antikor (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, ABD)
- GAPDH (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, ABD)
- Hematoxylin solution modified (Merck, ALMANYA)
- Liquid DAB + chromogen (Sigma, ALMANYA)
- Eukitt quick, Biochemika-Fluka (Sigma, ALMANYA)
- Hydrogen peroxidase (Dako Cytomation, USA)
- DAB + substrate buffer (Dako Cytomation, USA)
- RIPA buffer (Cell Signaling Technology, Beverly, MA, ABD)
- Protease Inhibitor Cocktail (Cell Signaling Technology, Beverly, MA, ABD)
- TEMED (Sigma-Aldrich, ABD)
- PVDF membran (Bio-Rad, ABD)
- Nitrosellüloz membran (Bio-Rad, ABD)
- SDS (Sigma-Aldrich, ABD)
- Akrilamid:Bisakrilamid (%29:%1) (Bio-Rad, ABD)
- Metanol (Sigma-Aldrich, ABD)
- Tris (Sigma-Aldrich, ABD)
- Bromfenol blue (Cell Signaling Technology, Beverly, MA, ABD)
- ECL Plus Western Blotting Detection Reagents (Thermo Scientific, Waltham, MA, ABD)
- In Situ Apoptosis kiti (Abcam, Cambridge, MA, ABD)
- cGMP Elisa Kiti (Cayman, Ann Arbor, MI, ABD)
- MDA kiti (Cayman, Ann Arbor, MI, ABD)

- H₂S kiti (Elabscience Biotechnology, Houston, Texas, ABD)

2.2. DeneY Hayvanlarının Gruplandırılması

Çalışmamızda, 8 haftalık 300-350g ağırlığında Sprague-Dawley erkek sıçanlar kullanılmıştır. Araştırma süresince sıçanlar sıcaklığı (22±1 °C) ve ışıklandırılması (07.00-19.00 saatleri arası aydınlık 19.00-07.00 saatleri arası karanlık) kontrol altında tutulan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi DeneY Hayvanları Ünitesinde barındırılmışlardır. Ankara Üniversitesi Hayvan DeneYleri Yerel Etik Kurul izni ile deneYler yapılmıştır (karar no: 2015-16-184). Çalışmamızda sıçanlar (n=75) beş gruba ayrılmıştır.

Grup 1: Penoskrotal kesi ile mesanesi açığa çıkarılan ancak üretral ligasyon yapılmamış kontrol (sham) sıçanlar (n=15)

Grup 2: PBOO'lu sıçanlar (n=15)

Grup 3: NaHS ile (5.6 mg/kg, i.p.) 6 hafta boyunca tedavi edilen PBOO'lu sıçanlar (n=15)

Grup 4: Oral tadalafil ile (2 mg/kg/gün) ile 6 hafta boyunca tedavi edilen PBOO'lu sıçanlar (n=15)

Grup 5: Kombine olarak tadalafil ve NaHS ile 6 hafta boyunca tedavi edilen PBOO'lu sıçanlar (n=15)

Grup 3, 4 ve 5. grupların tedavisine PBOO oluşturmak için yapılan cerrahi işlem den hemen sonra başlatılmıştır. Tadalafil dozu (2mg/kg/gün) ve NaHS (5.6 mg/kg/gün) dozu daha önce yapılmış çalışmalar baz alınarak belirlenmiştir (Nomiya ve ark., 2013; Snijder ve ark., 2015).

2.3. PBOO'nun Oluşturulması

Mid-prostatik üretral obstrüksiyon retropubik girişim yoluyla oluşturulmuştur. Ketamin (80-100 mg/kg i.p.) ve ksilazin (50 mg/kg) ile anesteziden sonra aşağı

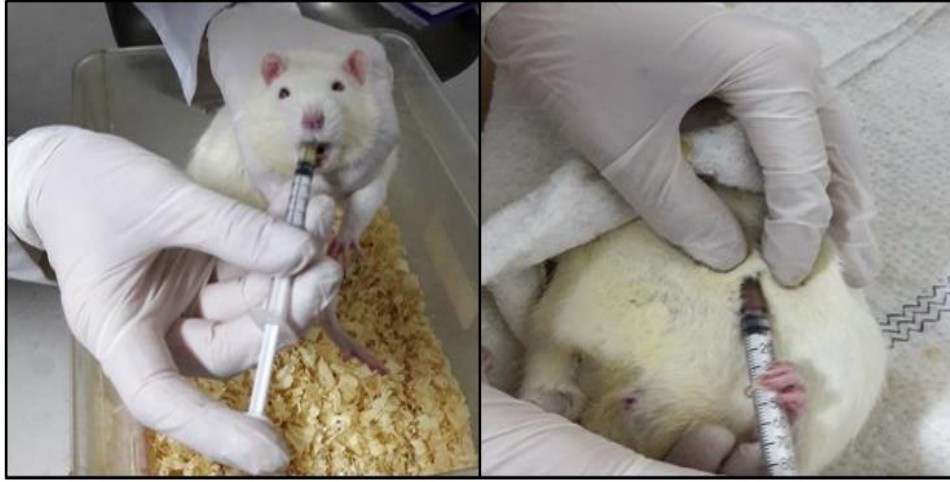
abdominal duvar boyunca 2 cm'lik orta hat kesisi yapılmıştır. Grup 2, 3, 4 ve 5'te işlem, abdominal duvarın altında bulunan kas ve deri altı dokusunun diseksiyonu ile devam edilmiştir. Prostatik üretra, seminal keseler, üreterler ve kavernoza sinirinin zarar görmemesi için dikkatlice izole edilmiştir. Sonrasında steril 4F üretral katater yerleştirilerek ve 3-0 polipropilen, absorbe olmayan suture prostatik üretranın etrafına bağlanmıştır (Şekil 2.1). Suture sağlama alındıktan sonra katater dikkatli olarak, prostatik üretrayı kısmen tıkalı şekilde bırakarak çıkarılmıştır. 4-0 ipek suturela üzerini örten kas tabakaları yaklaştırılmış ve cilt kapatılmıştır. Operasyon sonrası enfeksiyonlarına karşı, haftada bir kez antibiotik (siprofloksasin) injeksiyonu yapılmıştır.



Şekil 2.1. Ratlarda yapılan PBOO oluşturma yöntemi

2.4. Tadalafil ve NaHS Tedavisi

4. ve 5. grup sıçanlara, 6 hafta boyunca oral tadalafil tedavisi (2mg/kg/gün) uygulanmıştır. Tadalafil, sıçanlara gavaj yöntemi ile oral yoldan verilmiştir. 3. ve 5. grup sıçanlara, 6 hafta boyunca i.p. NaHS tedavisi (5.6 mg/kg/gün) uygulanmıştır.



Şekil 2.2. Ratlarda tadalafil ve NaHS tedavisi

2.5. *In Vivo* Deneşler

2.5.1. Metabolik Kafes Ölçümleri

PBOO'nun oluşturulmasından 2, 4 ve 6. hafta sonra sıçanlar metabolik kafese alınarak, 24 saatteki total idrar miktarları ölçülmüştür.

2.5.2 Kavernoş İçi Basıncının (ICP) ve Ortalama Arter Basıncı (MAP) Değerlerinin Ölçülmesi

ED'nin *in vivo* değeriendirilmesi için her bir sıçan grubunda kavernoş içi basıncı (ICP)'lar ölçülmüştür. Bunun için, ketamin (80-100 mg/kg i.p.) ve ksilazin (50 mg/kg) anestezisi altında, sıçanların soluk borusu hava akımını sağlamak için kanüle edilmiştir [polietilen (PE)-240 tüp]. Karotid arter ortalama arter basıncının (MAP) ölçülebilmesi için kanüle edilmiştir (PE-50 tüp). Penisin sağ krurasına ve düzenli olarak ICP'yi ölçen basınç dönüştürücüsüne bağılı PE tüpe, 25G enjektörle 250 U/ml heparin enjekte edilmiştir. Sağ major pelvik ganglion ve kavernoşal sinir tanımlanmıştır. Prostatın arka yan (posterolateral) tarafına, platin elektrod, stimülasyon için, kavernoşal siniri

çevreleyecek şekilde yerleştirilmiştir. MAP ve ICP değerleri düzenli olarak basınç dönüştürücüler yardımıyla ölçülmüştür. Total ICP, eğri altında kalan alan [area under curve (AUC), mmHg/s] hesaplanması ile belirlenmiştir. Kavernoza sinir, 2.5, 5 ve 7.5 V, 15 Hz, 30 ms dalga boyunda elektriksel stimülatör yardımıyla uyarılmıştır. Çalışmanın sonunda, sıçanların penisleri çıkarılıp, hızla sıvı nitrojenle dondurulup -80°C 'ye saklanmıştır.



Şekil 2.3. *In vivo* olarak kavernoza sinirin uyarılması ile ICP ölçülmesi

2.6. *In Vitro* Deneyler

İzometrik düz kas tonusunu değerlendirmek için gruplardan çıkarılan korpus kavernosum dokuları, Krebs-bikarbonat çözeltisi içeren (mM=NaCl:118.1, KCl: 4.7, KH_2PO_4 : 1.0, MgSO_4 : 1.0, NaHCO_3 : 25.0, CaCl_2 : 2.5 ve glukoz: 11.1) petriye konulmuş ve bunlar %95 O_2 - %5 CO_2 ile sürekli oksijenlendirilmiştir. Strip şeklinde dokular (1x 1x 8 mm), 1 g gerilim altında, bir ucu elektrot tutucusuna diğer ucu da güçlü dönüştürücüye bağlı şekilde, %95 O_2 - %5 CO_2 ile sürekli oksijenlendirilen ve 37°C olan 20 ml'lik organ banyosuna yerleştirilmiştir. Organ banyosuna yerleştirilen korpus kavernosum dokusunun denge periyoduna ulaşabilmesi için 60 dakika beklenmiştir. Sonuçlar "MAY recorder equipment computer system" kullanılarak kaydedilmiştir. Korpus kavernosum dokuları fenilefrin (Phe, 10 μM) ile kastrıldıktan sonra asetilkolin (ACh, 10^{-8} - 10^{-3}M), sodyum nitroprussid (SNP, 10^{-8} -

$10^{-3}M$) ve EFS (40 V, 1ms, 1-20 Hz) ile gevşeme yanıtları alınmıştır. Daha sonra direkt nörojenik EFS (80V, 5 ms, 1-40 Hz), Phe (10^{-8} - $10^{-3}M$) ve KCl (60mM) ile ilgili kontraktıl yanıtlar alınmıştır.



Şekil 2.4. *In vitro* çalışmaların yapıldığı izole organ banyosu sistemi

2.7. Masson's Trichrome Boyama

Deney gruplarından alınan penis örneklerinde kollajen ve düz kas oranını belirlemek için 'Masson's Trichrome' boyaması yapılmıştır. Boyama işlemi yapılmadan önce, dokular %10' luk formalin çözeltisinde 24 saat bekletilmiş ve daha sonra parafine gömülmüştür. Parafin içindeki dokular, mikrotom ile 8-10 μm kalınlıkta kesilerek lamlara yapıştırılmıştır. Kesitleri deparafinizasyon işlemi için ksilen içinde beklettikten sonra, alkol ile hidrate edilmiştir. Dokular, Bouin's karışımında 56 °C'de 15 dakika bekletilmişlerdir. Slaytlar daha sonra soğutulmuş ve akan musluk suyu altında yıkanmıştır. Daha sonra, Weigert hematoxilen çözeltisinde 5 dakika boyanmış ve deiyonize su ile yıkanmıştır. Sırasıyla, *Biebrich Scarlet-Asit fuksin* ve fosfotungstik/fosfomolibdik asit çözeltileri içinde 5 dakika bekletilmiştir. En son olarak %1 asetik asit çözeltisinde 2 dakika bekletilmiştir. Deneyler sonunda, kollajen ve bağ doku maviye, düz kas kırmızıya boyanmıştır.



Şekil 2.5. Masson's Trichrome boyama tekniği ile boyanmış örnekler

2.8. Immunohistokimyasal Deneyler

Boyama işlemi yapılmadan önce, dokular %10' luk formalin çözeltisinde 24 saat bekletilmiş ve daha sonra parafine gömülmüştür. Parafin içindeki dokular, mikrotom ile 8-10 µm kalınlıkta kesilerek lamlara yapıştırılmıştır. Daha sonra, nNOS ve eNOS, CBS, CSE ve 3-MST, HIF-1 α , TGF- β 1, oksidatif stres belirteçleri olarak, iNOS ve NF- κ B proteinlerinin immunohistokimyasal lokalizasyonları için boyama işlemi yapılmıştır. Örnekler 10 dakika %3 hidrojen peroksit çözeltisinde bekletilmiş, nonspesifik IgG bağlanması engellemek için 30 dakika sıçan serumu ile hemen ardından gece boyu +4 °C'de birincil antikor (1:400) ile inkübe edilmişlerdir. Kesitler deiyonize su ile yıkanmış ve 30 dakika biotinlenmiş ikincil antikor ile inkübe edilmiştir. Daha sonra avidin-biotin konjugasyonu ve boyama maddesi olan 'diaminobenzidin' ile muamele edilmiştir. Hematoksilin karşıt boyama yapıldıktan sonra, nNOS ve eNOS, CBS, CSE ve 3-MST, HIF-1 α , TGF- β 1, iNOS ve NF- κ B pozitif olan hücreler koyu kahverengi olarak görülmüştür. Kesitler ışık mikroskopta incelenip renkli dijital kamera sistemi kullanılarak fotoğraflanmıştır.



Şekil 2.6. İmmunohistokimyasal boyama tekniği ile boyanmış örnekler

2.9. Western Blot Analizi

Sıçanlardan alınan penis dokuları sıvı azot içerisinde havanda toz edilmiştir. Daha sonra toz edilen dokuların üzerine, 1500 μ L RIPA tamponu+fosfataz inhibitör kokteyli karışımından ilave edilmiştir. Bundan sonra önceden +4 °C'ye getirilmiş santrifüj cihazında 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir Süpernatant alınarak Western Blot analizine başlamadan önce tüm dokulardaki protein miktar tayini aynı anda yapılmıştır. Dokulardaki protein miktar tayinleri bikinkoninik asit yöntemi (bicinchoninic acid assay, BCA) ile yapıldıktan sonra, her bir kuyuya eşit miktarda protein yüklemesi yapılacak şekilde örneklerden alınan lizat hacmi ve su miktarı hesaplandıktan sonra laemmlili işlemi yapılmıştır. Laemmlili işlemi yapılmış örnekler 5 dakika süresince 95°C'de inkübe edilerek denatürasyon işlemi yapılmıştır. Daha sonra laemmlili işlemi yapılmış örnekler (yaklaşık olarak 40 μ g protein) %10'luk SDS-PAGE jelinin kuyucuklarına yüklenmiştir ve elektrik akımı uygulanmıştır. Elektroforez tamponu yardımı ile elektroforez işlemi gerçekleştirilmiştir. Molekül ağırlıklarına göre ayrılmış jeldeki örnekler PVDF veya nitroselüloz membrana elektrik akımı ile transfer edilmiştir. Transferden sonra membranlar %2.5 süt tozu - %1BSA / PBS-T içinde 2 saat boyunca oda sıcaklığında bloklama işlemine tabi tutulup, sonrasında ise uygun

birincil antikorlarla gece boyu 4°C de inkübe edilmişlerdir. Kullanılan antikorlar; %2.5 süt tozu - %1BSA / PBS-T içinde hazırlanmışlardır. Kullanılan antikorlar: nNOS (1:500) ve eNOS (1:1000), CBS (1:1000), CSE (1:1000) ve 3-MST(1:1000), HIF-1 α (1:1000), TGF- β 1(1:1000), iNOS (1:1000) ve NF- κ B (1:1000)dir. Birincil antikör inkubasyonunu takiben, membranlar 3 kez 15'er dakika süreyle PBS-T ile yıkanmıştır. Sonrasında 1 saat boyunca oda sıcaklığında ikincil antikör olan anti-HRP (Horse Radish Peroxidase) ile inkübe edilmiştir. Blotlanan membranlar 'ECL Plus Western Blotting Detection Reagents' kullanılarak 'Odyssey Fc system' görüntüleme cihazında görüntülenmiştir. Elde edilen görüntüler tarandıktan sonra ilgili proteinlere ait bantların yoğunluk analizleri 'Image J' programı ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, internal kontrol protein (GAPDH) bant yoğunluğu ile normalize edilerek hedef protein artışı/azalışı belirlenmiştir.

2.10. Apoptozun Belirlenmesi

Apoptozun belirlenmesi, terminal deoksiniükleotidil transferaz (TdT) kullanılarak DNA kırıklarının işaretlemesiyle *in situ* olarak yapılmıştır. Deneyler "In Situ Apoptosis Detection" kiti kullanılarak yapılmıştır. Parafine gömülü penis dokuları ksilen içinde, deparafinize edildikten sonra, alkol banyosunda hidrate edilmiştir. Permeabiliteyi artırmak için "Proteinase K" ile muamele edilmiştir. Endojen peroksidaz, %3 hidrojen peroksid ile muamele edilmiştir. Yıkanan lam üzerine TdT solüsyonu eklendikten sonra 37°C'de etüvde 1 saat ve daha sonra 'stop wash buffer' ile oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiştir. 15 beş dakika diaminobenzidin ile inkübe edilmiştir. Kesitler ışık mikroskobunda incelenip renkli dijital kamera sistemi kullanılarak fotoğraflanmıştır. Apoptoz pozitif olan hücreler koyu kahverengi olarak görülmüştür.

2.11. cGMP Ölçümü

cGMP düzeyleri ELISA yöntemi içeren kit kullanılarak ölçülmüştür. Penil korpus kavernosum dokuları, sıvı azot içerisinde havanda toz edildikten sonra, toz edilen dokuların üzerine, 400 µl %5 trikloroasetik asit çözeltisinden ilave edilmiştir. Bundan sonra, önceden +4 °C'ye getirilmiş santrifüj cihazında 1500 g'de 10 dakika santrifüj işlemi yapılmıştır. 50 µl süpernatant alınarak önceden hazırlanmış ELISA buffer ve antiserum çözeltileri ile birlikte antikorla kaplanmış kuyucuklarda 18 saat 4°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun ardından yıkama çözeltisi ile 5 kere yıkanmış ve Ellman reaktifi ile 2 saat 4°C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra, 405 nm'de absorbansları spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Dokulardaki protein miktar tayinleri bikinkoninik asit yöntemi (bicinchoninic acid assay, BCA) ile belirlenmiştir. Penis dokusundaki cGMP konsantrasyonları pmol/mg protein olarak hesaplanmıştır

2.12. Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü

MDA düzeyleri, spektrofotometrik (Lipid peroxidation assay kit, Cayman Chemical) olarak ölçülmüştür. Penis dokuları sıvı azot içerisinde havanda toz edilmiştir. Daha sonra, toz edilen dokuların üzerine 400 µl RIPA tamponu+ fosfataz inhibitör kokteyli karışımından ilave edilmiştir. Bundan sonra önceden +4 °C'ye getirilmiş, santrifüj cihazında 1600 g'de 10 dakika santrifüj işlemi yapılmıştır. 100 µl süpernatant alınarak önceden hazırlanmış tiyobarbitürik asit (TBA) standartlarına 100 µl trikloroasetik asit ve 800 µl renk reaktif karışımından (TBA, TBA asetik asit ve sodyum hidroksit) eklenmiştir. 1 saat boyunca kaynar suda inkübe edilen deney tüpleri daha sonra 10 dakika buzda bekletilmiştir. 10 dakika süreyle 1600 x g santrifüj edilmiştir. Daha sonra 96'lık plaklarda 540 nm'de absorbansları spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Dokulardaki protein miktar tayinleri bikinkoninik asit yöntemi (bicinchoninic acid assay, BCA) ile belirlenmiştir. Penis dokusundaki MDA konsantrasyonları nmol/mg protein olarak hesaplanmıştır.

2.13. H₂S Ölçümü

H₂S düzeyleri, spektrofotometrik (Elabsience Biotechnology kiti) olarak ölçülmüştür. Penis dokuları sıvı azot içerisinde havanda toz edilmiştir. Daha sonra toz edilen dokuların üzerine, 1000 µl ekstraksiyon çözeltisinden ilave edilmiştir. Bundan sonra önceden +4 °C'ye getirilmiş santrifüj cihazında 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemi yapılmıştır. 250 µL süpernatant alınarak, reaktif 1 ve 2'den 250 µL eklenerek 10000 rpm'de +4 °C'de 10 dakika santrifüj yapılmıştır. Sediment alınarak üzerine eşit miktar reaktif 1,3 ve 4'den (250 µl) ilave edilmiştir. 10000 rpm'de +4 °C'de 10 dakika santrifüj yapılmıştır. Süpernatant alınarak üzerine 50 µl reaktif 5'den eklenmiş ve 20 dakika bekledikten sonra 96'lık plaklarda 665 nm'de absorbansları köre karşı spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Dokulardaki protein miktar tayinleri bikoninik asit yöntemi (bicinchoninic acid assay, BCA) ile belirlenmiştir. Penis dokusundaki H₂S konsantrasyonları nmol/mg protein olarak hesaplanmıştır.

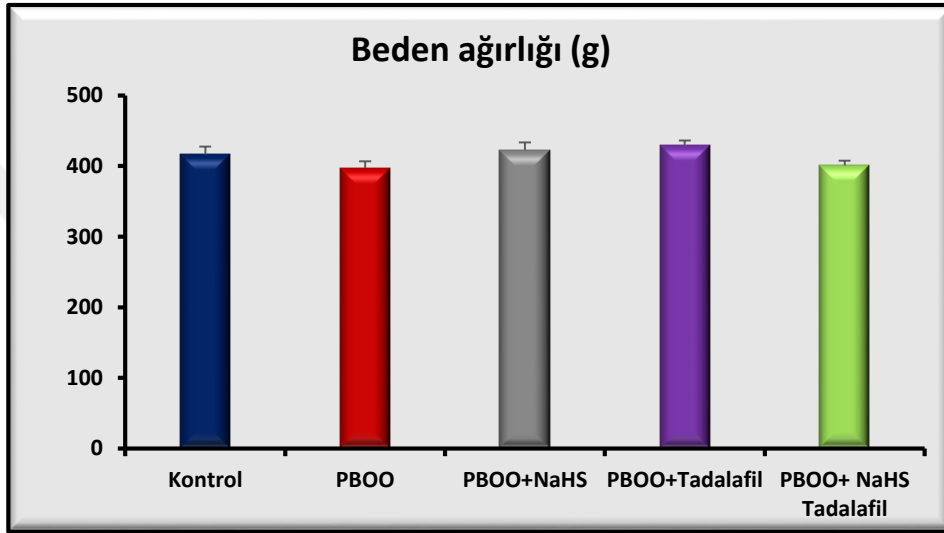
2.14. İstatistiksel Analiz

Bulgular ortalamalar ± standart hata olarak verilmiştir. Grupların kendi içlerindeki dağılımlarının karşılaştırılmasında ANOVA (Bonferroni post hoc) testi kullanılmıştır. p<0.05 değerleri anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler ve grafiklerin yapılmasında 'GraphPad InStat' ve 'Microsoft Office, Word ve Excel 2010' programları kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Deney Hayvanlarının Beden Ağırlıkları

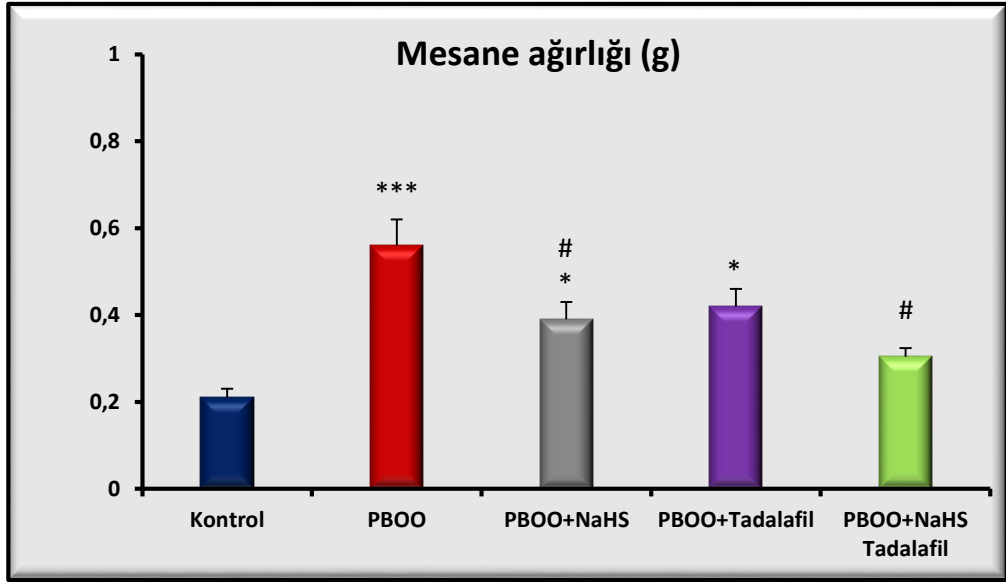
Deney hayvanlarına ait ortalama beden ağırlıkları, şekil 3.1’de gösterilmiştir. Sonuçlarımıza göre, PBOO’lu ve tedavi gruplardaki beden ağırlıkları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.



Şekil 3.1. Tüm grupların ortalama beden ağırlıkları. N=10-12.

3.2. Total Mesane Ağırlıkları

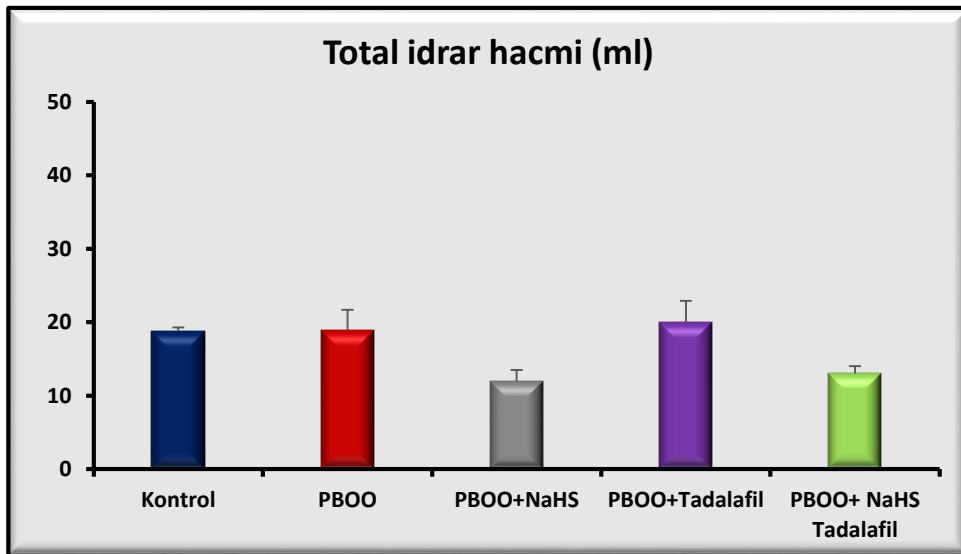
6 hafta PBOO sonunda, deney hayvanlarının ortalama mesane ağırlıklarındaki değişimler, şekil 3.2’de gösterilmiştir. Obstrüksiyonlu grubun mesane ağırlıkları 1.6 kat ($p<0.001$), NaHS tedavili obstrüksiyon grubunda 0.8 kat ($p<0.05$), tadalafil tedavili obstrüksiyon grubunda da 1.0 kat ($p<0.05$) artmıştır. Kombine tedavili obstrüksiyon grubunda ise mesane ağırlığı kontrole yaklaşmıştır.



Şekil 3.2. Tüm gruplarda ortalama mesane ağırlıkları (* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ kontrole göre anlamlılık; # $p < 0,05$ PBOO grubuna göre anlamlılık). N=10-12.

3.3. Metabolik Kafes Ölçümü Sonuçları

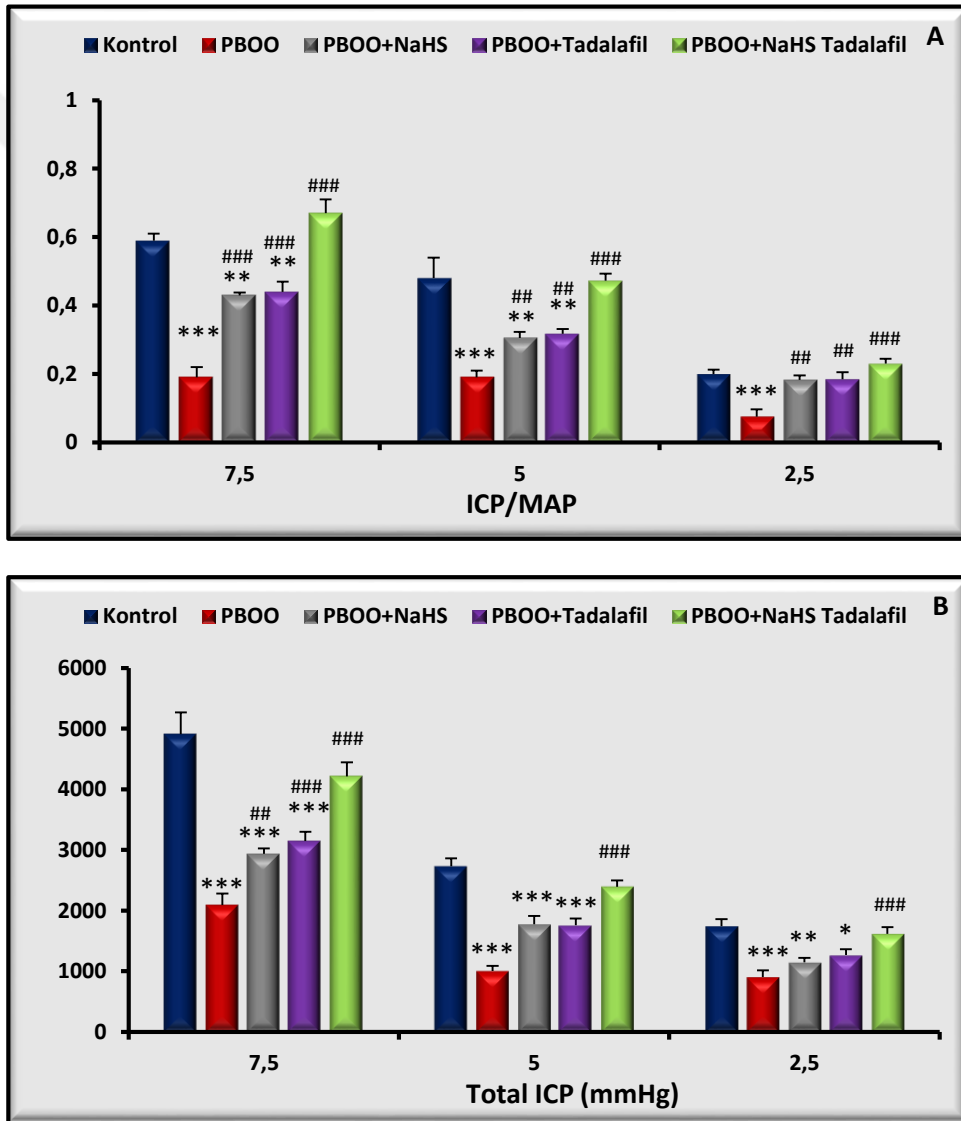
Kontrol, PBOO, tedavi PBOO gruplarına ait 6 hafta sonundaki total idrar hacimleri Şekil 3.3’de gösterilmiştir. Bulgularımıza göre, tüm gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. 2. ve 4. haftada yapılan ölçümlerde de anlamlı fark bulunmamıştır.



Şekil 3.3. Deney gruplarına ait total idrar hacimleri. N=10-12.

3.4. *In Vivo* ICP / MAP ve Total ICP Sonuçları

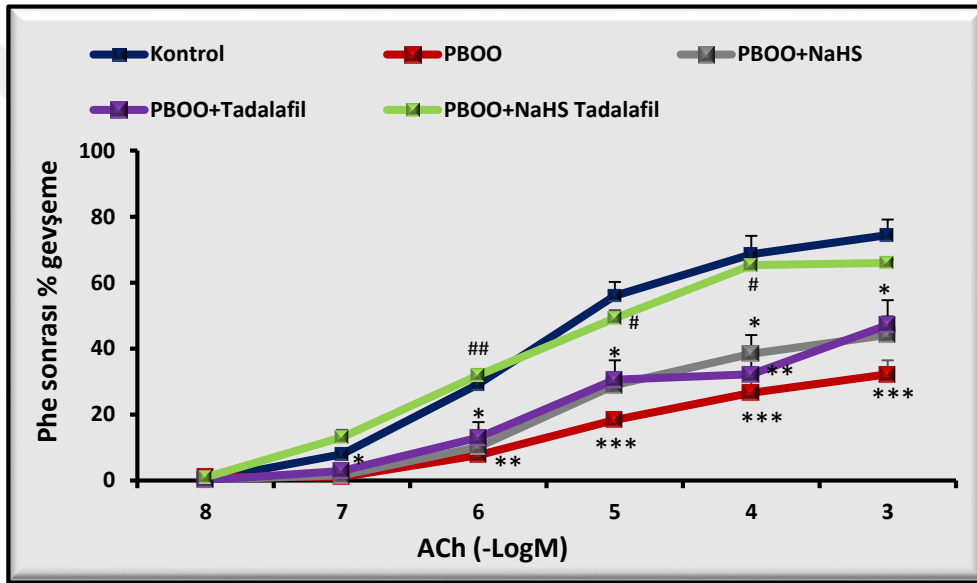
In vivo kavernoza sinirlerin elektriksel olarak uyarılmasıyla elde edilen ICP/MAP (A) ve Total ICP (B) değerleri Şekil 3.4 A ve B'de gösterilmiştir. 7.5 V'de, obstrüksiyonlu grupta ölçülen ICP/MAP ve Total ICP değerleri, anlamlı bir şekilde kontrol değerlerine göre azalmıştır (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). İlginç olarak, NaHS veya tadalafil tedavili PBOO grubunda ölçülen ICP/MAP ve Total ICP değerleri de kontrol grubuna göre düşük bulunmasına karşın, parsiyel olarak düzelmeye gözlenmiştir. Kombine tedavi ise tüm voltaj değerlerinde ICP/MAP ve Total ICP değerlerini düzeltmiştir.



Şekil 3.4. Deney hayvanlarından *in vivo* deneyler sırasında elde edilen ICP/MAP (A) ve Total ICP (B) yanıtları (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ kontrolle göre anlamlılık; ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ PBOO grubuna göre anlamlılık). N=10-12.

3.5. İzole Korpus Kavernosum Dokularında ACh ile Elde Edilen Endotel Bağımlı Gevşeme Yanıtları

Phe ($10^{-5}M$) ile prekontraksiyondan sonra, izole korpus kavernosum dokusundan alınan ACh' e (10^{-8} - $10^{-3}M$) ilişkin gevşeme doz-yanıtları eğrileri, şekil 3.5'de gösterilmektedir. Bu verilere göre, PBOO grubundan elde edilen ACh gevşeme yanıtlarında belirgin düşüşler bulunmuştur ($p<0.001$, Şekil 3.5). NaHS ve tadalafil tedavileri azalan ACh yanıtlarını kısmen düzeltmiştir. Kombine tedavi ise endotel bağımlı yanıtları tamamen geri döndürmüştür.

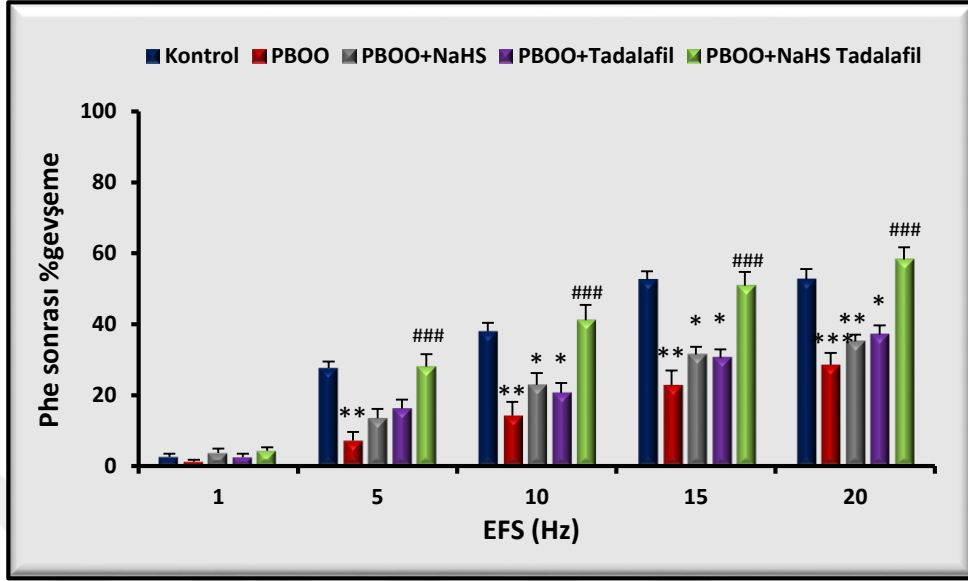


Şekil 3.5. İzole korpus kavernosum dokusunun Phe ile kasılmasından sonra ACh % gevşeme yanıtları (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$ kontrole göre anlamlılık; # $p<0.05$, ## $p<0.01$ PBOO grubuna göre anlamlılık). N=10-12.

3.6. İzole Korpus Kavernosum Dokularında EFS ile Elde Edilen Nitrerjik Gevşeme Yanıtları

Phe ($10^{-5}M$) ile kasılma sonrası, EFS'ye (1-20 Hz) ilişkin nitrerjik gevşeme yanıtları Şekil 3.6'da görülmektedir. Verilerimize göre, PBOO grubundan alınan EFS gevşeme yanıtları kontrole göre düşük bulunmuştur. 20 Hz frekansta alınan gevşeme yanıtlarında, PBOO' lu grupta %46 oranında düşme gözlenmiştir. NaHS ve tadalafil

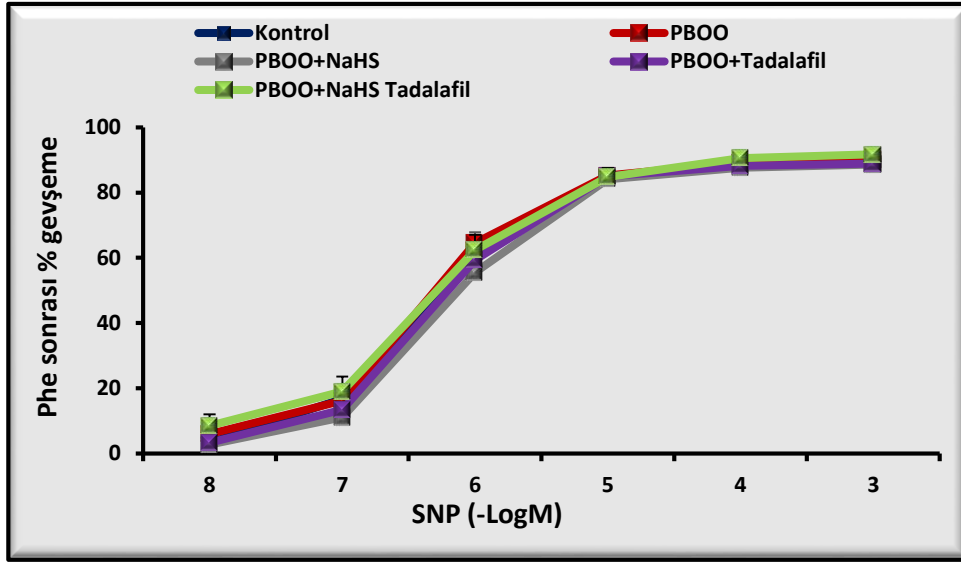
tedavileri tek başına 10, 15 ve 20 Hz’de kısmı bir iyileştirmeye neden olurken, kombine tedavi grubundaki gevşeme yanıtlarının tamamı kontrole yaklaşmıştır.



Şekil 3.6. İzole korpus kavernosum dokusunun Phe ile kasılmasından sonra EFS % gevşeme yanıtları (*p<0.05, **p<0.01, *** p<0.001 kontrole göre anlamlılık; ###p<0.001 PBOO grubuna göre anlamlılık). N=10-12.

3.7. İzole Korpus Kavernosum Dokularında, SNP ile Elde Edilen Gevşeme Yanıtları

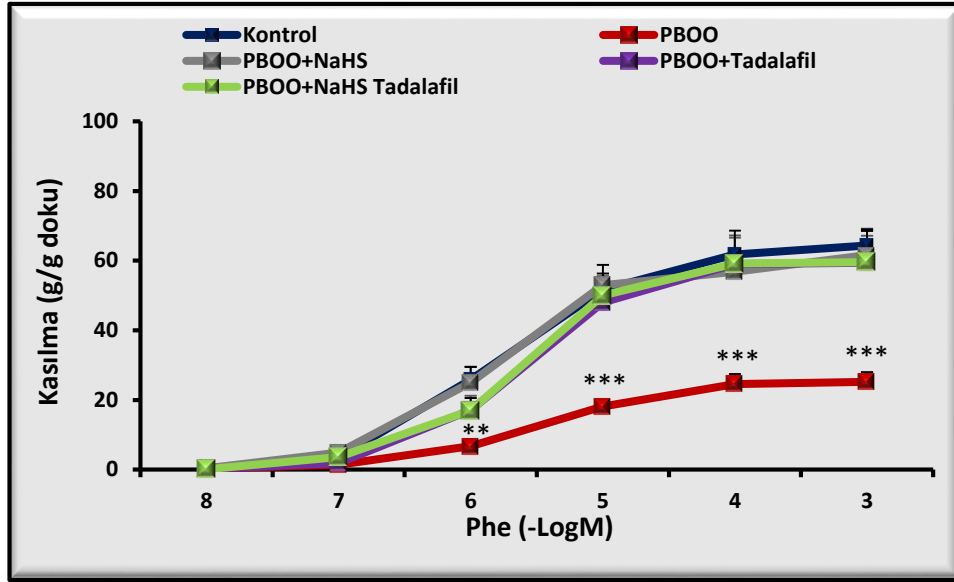
Tüm deney gruplarından izole edilen korpus kavernozum dokularında, Phe ($10^{-5}M$) ile prekontraksiyondan sonra, SNP’ye (10^{-8} - $10^{-3}M$) ilişkin gevşeme yanıtları elde edilmiştir (Şekil 3.7). SNP’ye ilişkin gevşeme yanıtlarında gruplar arasında bir fark gözlenmemiştir.



Şekil 3.7. İzole korpus kavernosum dokusunun Phe ile kasılmasından sonra SNP % gevşeme yanıtları. N=10-12.

3.8. İzole Korpus Kavernosum Dokularından Phe ile Elde Edilen Kasılma Yanıtları

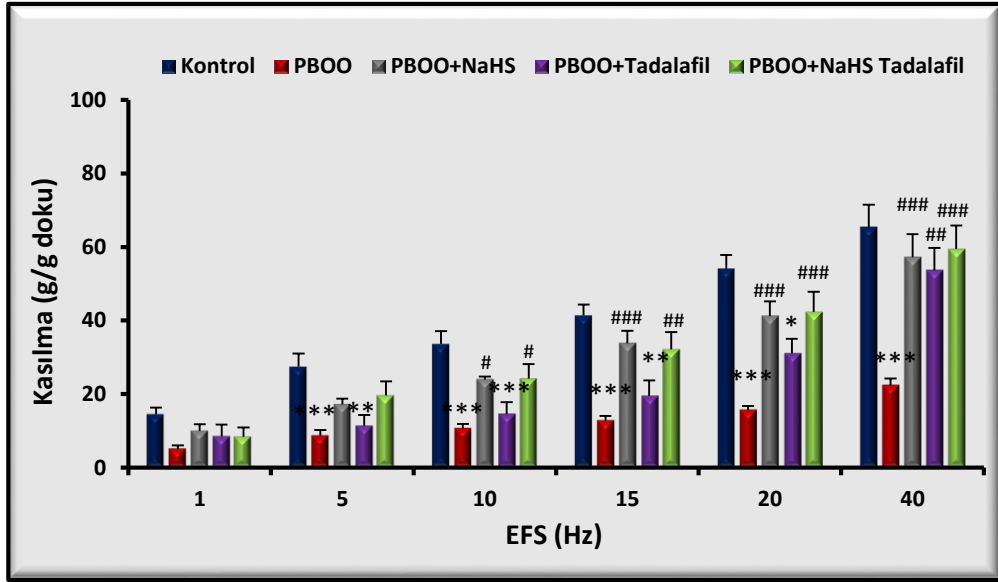
Şekil 3.8'de, tüm deney hayvanlarından alınan izole korpus kavernosum dokularında, α_1 -adrenerjik agonisti Phe (10^{-8} - 10^{-3} M) ilişkin kasılma yanıtları gösterilmiştir. Sonuçlarımıza göre, 6 haftalık PBOO grubunda azalma gözlenmiştir. Azalan Phe yanıtları, tüm tedavi gruplarında kontrole yaklaşmıştır.



Şekil 3.8. İzole korpus kavernosum dokusunun Phe`ye ilişkin doz-yanıt eğrileri (**p<0.01, *** p<0.001 kontrole göre anlamlılık). N=10-12.

3.9. İzole Korpus Kavernosum Dokularından EFS ile Elde Edilen Nörojenik Kasılma Yanıtları

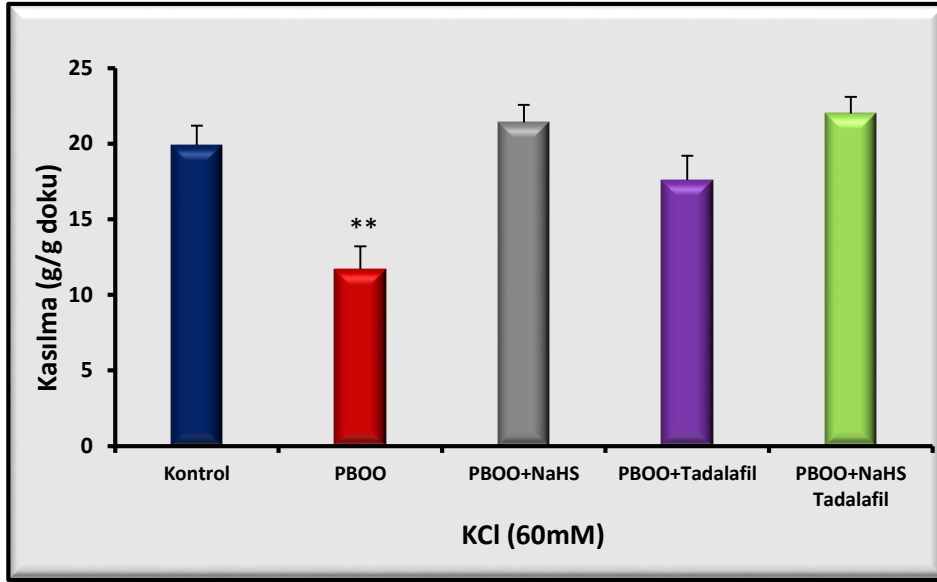
Deney gruplarından alınan izole korpus kavernosum düz kasında, EFS'nin (1-40 Hz) direkt nörojenik kasılma cevapları elde edilmiştir (Şekil 3.9). PBOO'lu sıçanlardan alınan dokularda, nörojenik kasılma yanıtlarında belirgin bir azalma gözlenmiştir. NaHS ve kombine tedavili gruplarda tüm voltaj seviyelerinde artış bulunurken, tadalafil tedavili grupta 40 Hz dışında düzelme olmamıştır.



Şekil 3.9. İzole korpus kavernosum dokusunun EFS'ye ilişkin nörojenik kasılma yanıtları (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 kontrole göre anlamlılık; #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 PBOO grubuna göre anlamlılık). N=10-12.

3.10. İzole Korpus Kavernosum Dokularından KCl ile Elde Edilen Kasılma Yanıtları

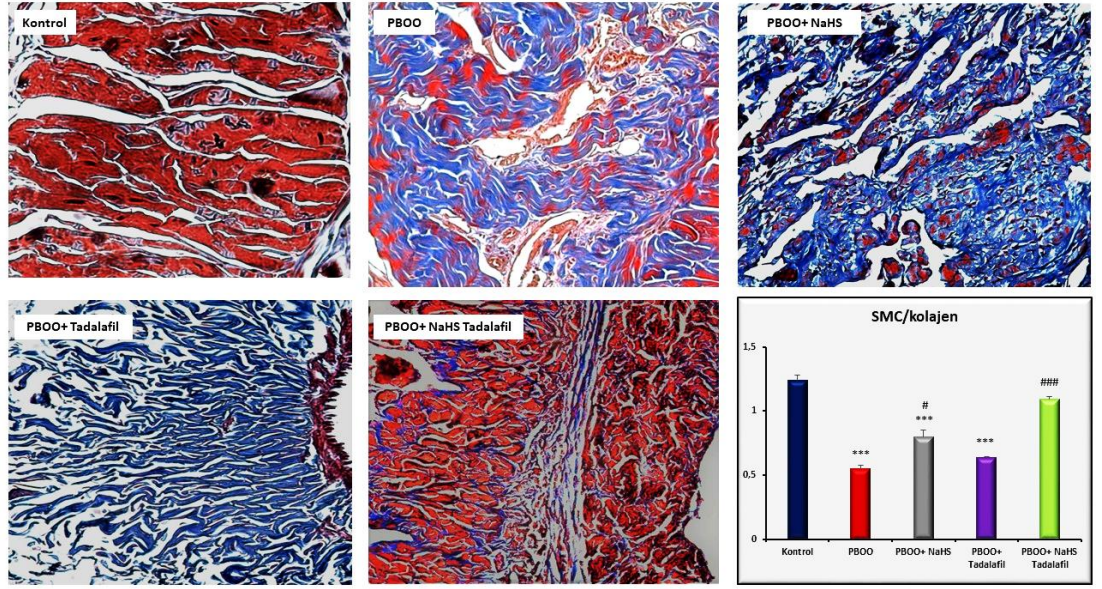
Tüm gruplarda, korpus kavernosum dokularında, KCl'nin (60mM) kontraktıl yanıtları elde edilmiştir (Şekil 3.10). Altı haftalık PBOO gruplarından alınan dokularda KCl'ye karşı alınan kontraktıl yanıtlarda kontrole göre anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Bu azalma tüm tedavili gruplarda artmıştır.



Şekil 3.10. İzole korpus kavernosum dokusunun KCl'ye ilişkin kasılma yanıtları (**p<0.01 kontrole göre anlamlılık). N=10-12.

3.11. Masson's Trichrome Boyama

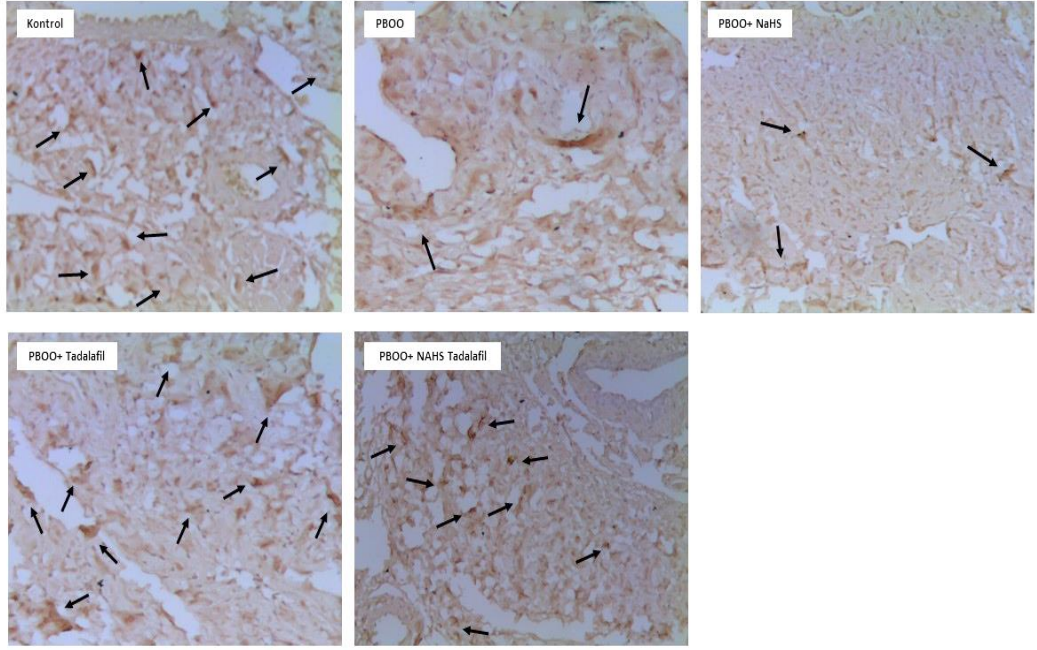
Bu deney yöntemiyle, penil dokudaki düz kas hücrelerine kollajen oranını tespit edilmektedir. Düz kas kırmızı, kollajen mavi renk boyanmaktadır. Bulgularımıza göre, düz kas hücresi (smooth muscle cell, SMC)/ kollajen oranı PBOO grubunda kontrol ve kombine tedavili PBOO grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (Şekil 3.11). "İmaje J analiz" programı ile yapılan kantitatif değerlendirmeye göre PBOO grubunda SMC/ kollajen oranı %53,6 oranında azalmıştır (Şekil 3.11, alt panel). NaHS ve tadalafil tekli tedavileri bu azalmayı düzeltmemiştir.



Şekil 3.11. Tüm deney hayvanlarından alınan penis dokularında Masson Trichrome boyaması sonuçları. Düz kas hücresi ve kollajen oranı alttaki grafikte gösterilmektedir (alt panel) (***) $p<0.001$ kontrole göre anlamlılık; # $p<0.05$, ### $p<0.001$ PBOO grubuna göre anlamlılık). N=5.

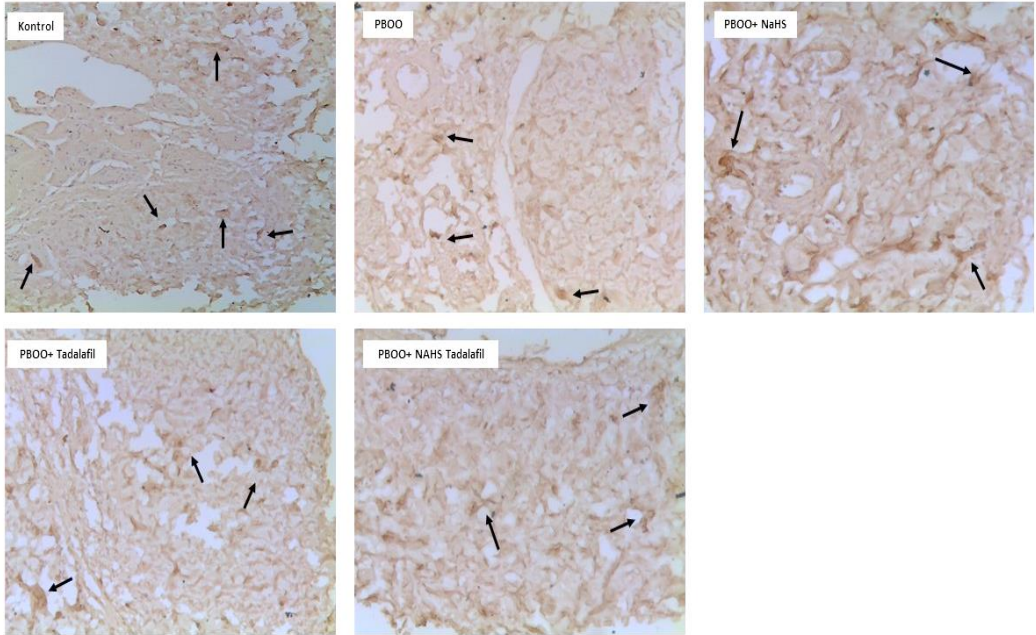
3.12. İmmünohistokimyasal Sonuçlar

Tüm örneklerden alınan penis dokularında, nNOS proteininin immünohistokimyasal boyama sonuçları, Şekil 3.12.1’de gösterilmiştir. PBOO’lu sıçanlardan alınan penis dokularında kontrole göre nNOS boyamasının yoğunluğunda önemli derecede azalmıştır. Tadalafil ve kombine tedavi ile PBOO’lu grupta, artan nNOS lokalizasyonlarını gözlenmiştir.



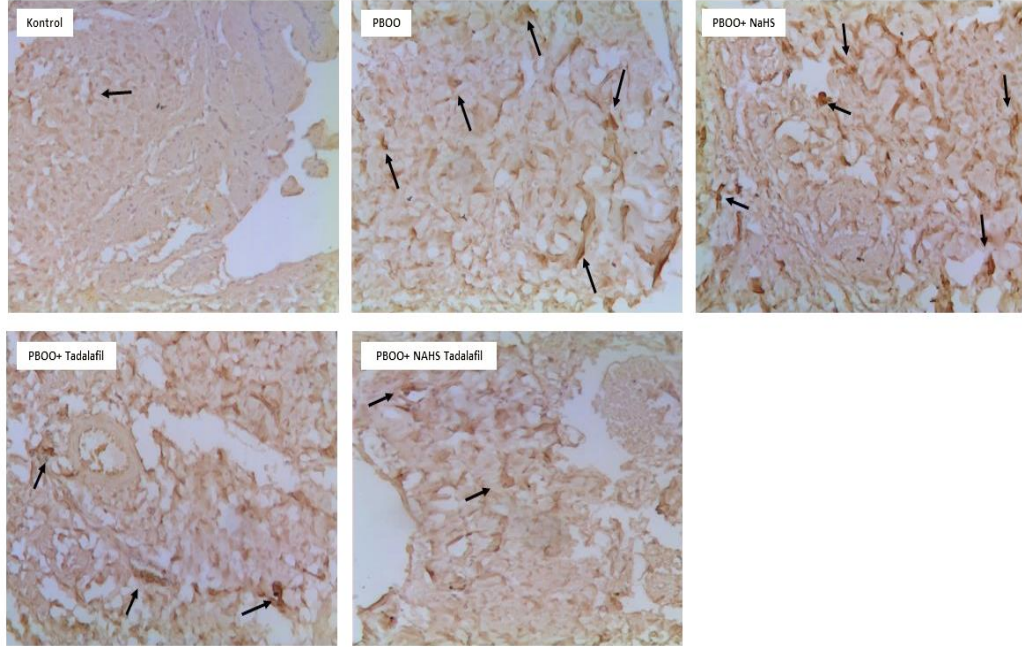
Şekil 3.12.1. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, nNOS proteininin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10). N=5.

Tüm örneklerden alınan penis dokularında, eNOS proteininin immünohistokimyasal boyama sonuçları Şekil 3.12.2’de gösterilmiştir. Sonuçlarımıza göre, eNOS boyamasının yoğunluğunda gruplar arasında fark gözlenmemiştir.



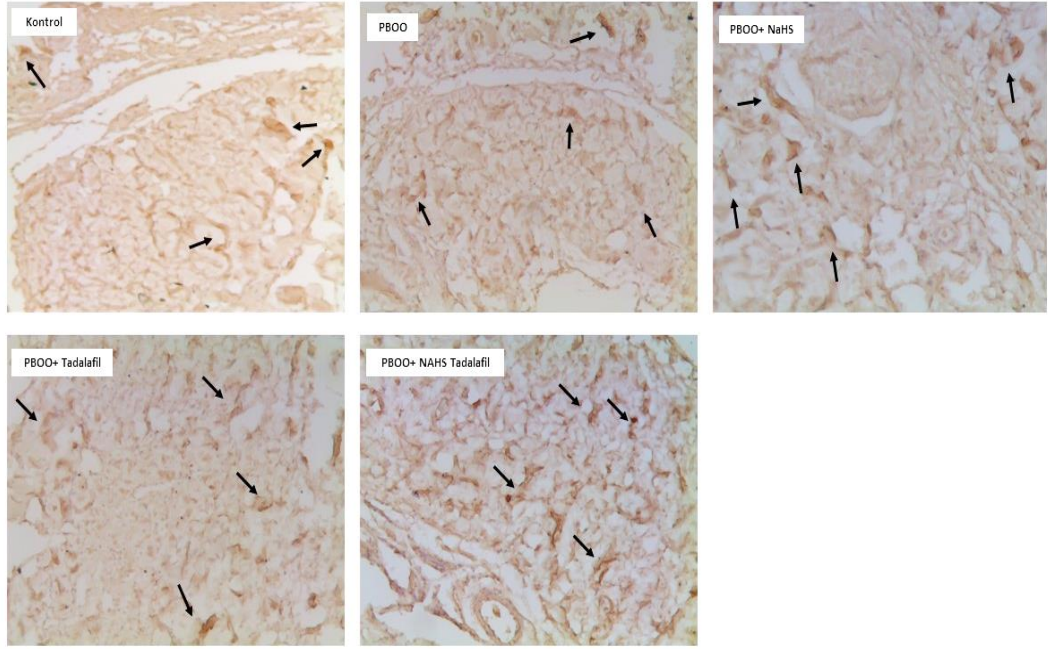
Şekil 3.12.2. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, eNOS proteininin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10). N=5.

Tüm örneklerden alınan penis dokularında, iNOS proteininin immünohistokimyasal boyama sonuçları Şekil 3.12.3'de gösterilmiştir. Bulgularımızda, obstrüksiyonlu gruplarda kontrole göre, iNOS boyamasının yoğunluğunda bir artış bulunmuştur. NaHS tedavisinde artan iNOS boyaması azalmazken, tadalafil tekli tedavisinde azalma bulunmuştur. Kombine tedavi ile PBOO'lu grupta da azalan iNOS lokalizasyonlarını gözlenmiştir.



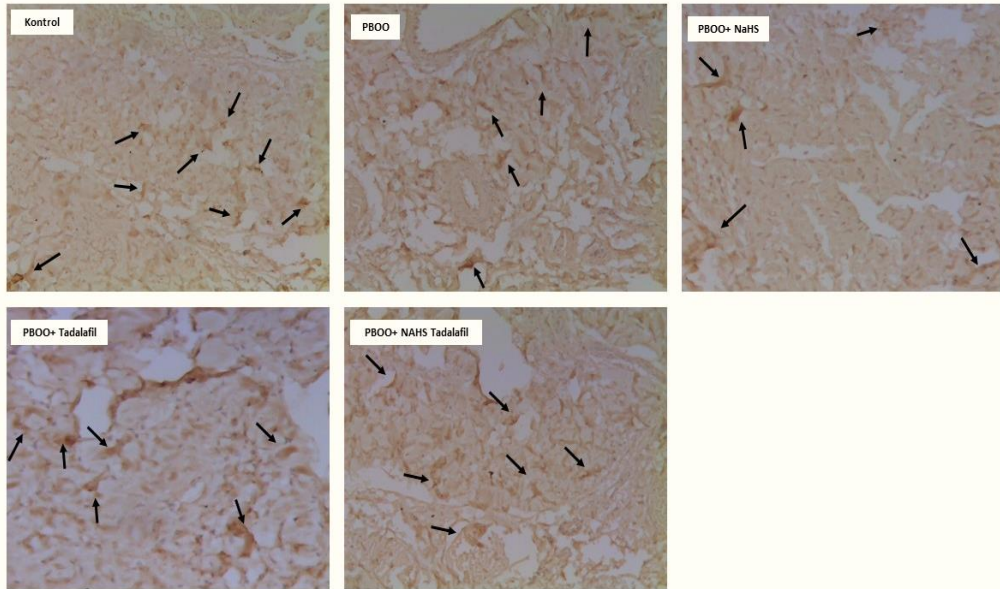
Şekil 3.12.3. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, iNOS proteininin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10). N=5.

Tüm örneklerden alınan penis dokularında, CSE proteininin immünohistokimyasal boyama sonuçları, Şekil 3.12.4'de gösterilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre, CSE proteininin lokalizasyonlarında gruplar arasında fark gözlenmemiştir.



Şekil 3.12.4. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, CSE proteinin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10). N=5.

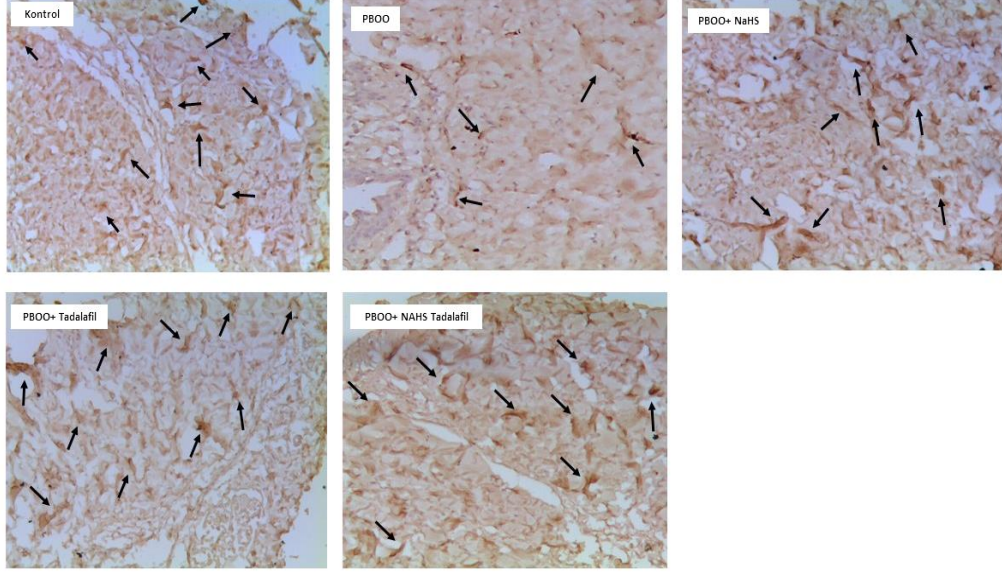
Tüm örneklerden alınan penis dokularında, CBS proteinin immünohistokimyasal boyama sonuçları şekil 3.12.5’de gösterilmiştir. Deney sonuçlarına göre, CBS boyamasının yoğunluğunda gruplar arasında fark gözlenmemiştir.



Şekil 3.12.5. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, CBS proteinin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10). N=5.

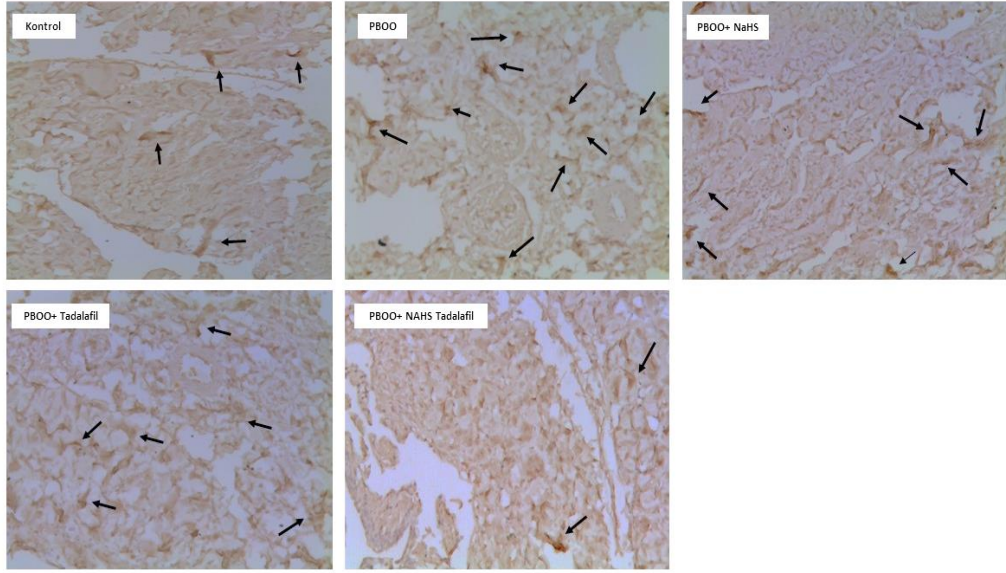
Tüm örneklerden alınan penis dokularında, 3-MST proteinin immünohistokimyasal boyama sonuçları Şekil 3.12.6’da gösterilmiştir. Sonuçlarımıza göre, obstrüksiyonlu

sıçanlardan alınan penil dokularda azalan 3-MST protein lokalizasyonu bulunmuştur (Şekil 3.12.6). Tüm tedavi gruplarında, artan 3-MST protein lokalizasyonlarını gözlenmiştir.



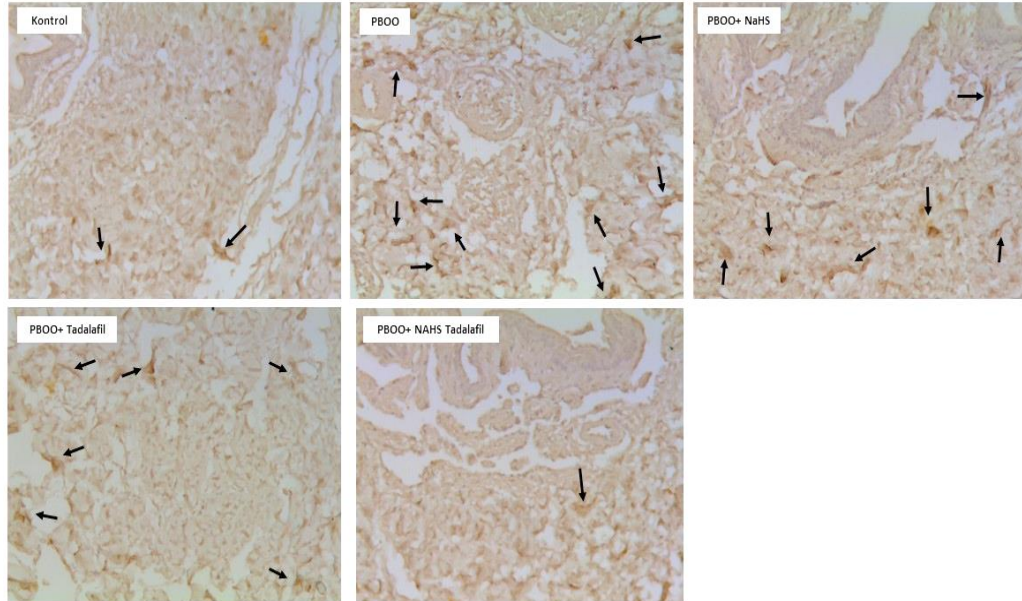
Şekil 3.12.6. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, 3-MST proteinin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10). N=5.

Tüm örneklerden alınan penis dokularında, HIF-1 α proteinin immünohistokimyasal boyama sonuçları, Şekil 3.12.7’de gösterilmiştir. PBOO’lu sıçanlardan alınan örneklerde kontrol sıçanlardan alınan örneklere göre HIF-1 α boyamasının yoğunluğunda bir artış bulunmuştur. NaHS ve tadalafil tedavisinde artışta bir azalma gözlenmezken, kombine tedavide azalma olmuştur (Şekil 3.12.7).



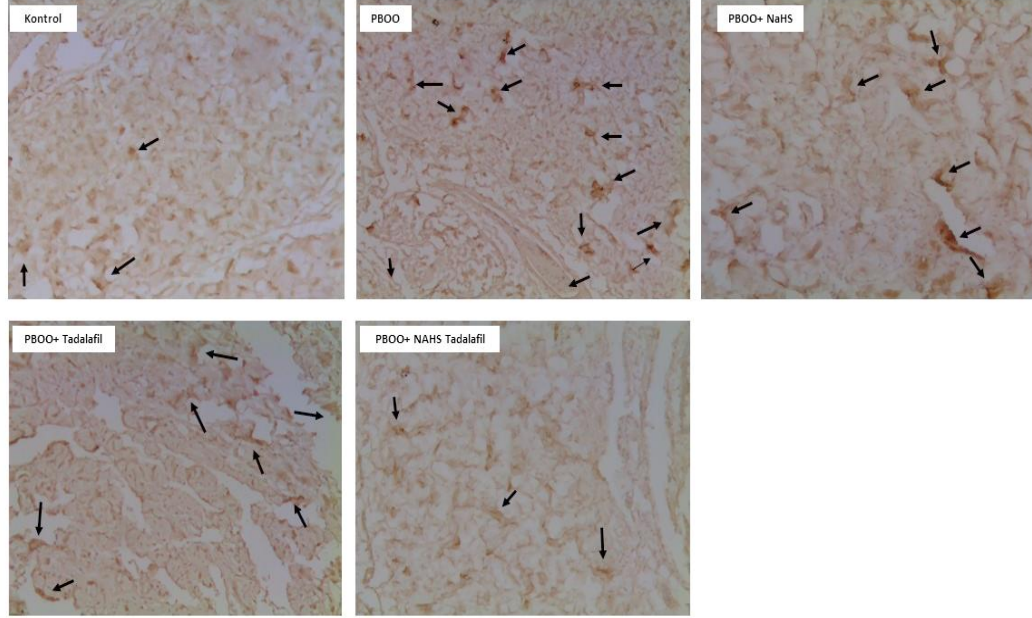
Şekil 3.12.7. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, HIF-1 α proteininin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10). N=5.

Tüm örneklerden alınan penis dokularında, TGF- β 1 proteininin immünohistokimyasal boyama sonuçları, Şekil 3.12.8'de gösterilmiştir. Sonuçlarımıza göre, PBOO gruptan alınan korpus kavernosum dokularında kontrole göre TGF- β 1 proteininin lokalizasyonları önemli derecede artmıştır. NaHS ve tadalafil tedavisinde artışta bir azalma gözlenmezken, kombine tedavide azalma olmuştur.



Şekil 3.12.8. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, TGF- β 1 proteininin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10). N=5.

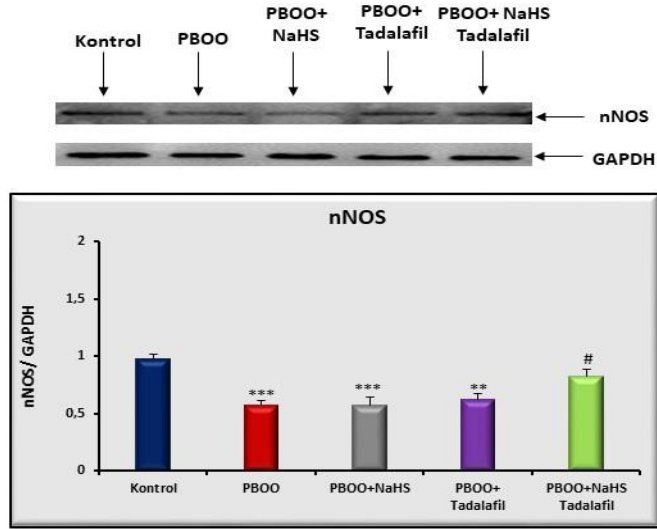
Tüm örneklerden alınan penis dokularında, NF-κB proteininin immünohistokimyasal boyama sonuçları, şekil 3.12.9’da gösterilmiştir. Bulgularımızda, 6 haftalık obstrüksiyondan sonra penis dokularında NF-κB boyamasının yoğunluğunda önemli derecede artmıştır. NaHS tedavisinde artışta bir azalma gözlenmezken, tadalafil ve kombine tedavide azalma olmuştur.



Şekil 3.12.9. Tüm örneklerden alınan penil dokularda, NF-κB proteininin immünohistokimyasal lokalizasyonu (x10). N=5.

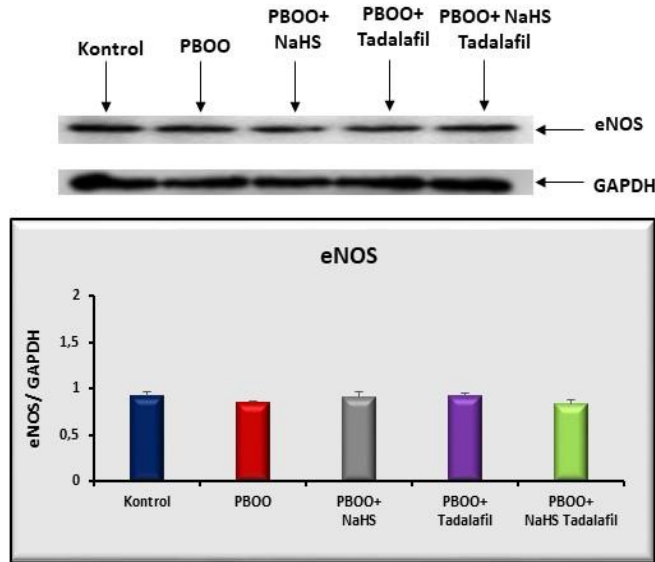
3.13. Western Blot Sonuçları

Bulgularımızda, 6 haftalık PBOO gruplarında kontrole göre, nNOS protein ekspresyonlarında anlamlı bir azalma bulunmuştur (Şekil 3.13.1). NaHS tedavili grupta herhangi bir artış gözlenmezken, tadalafil tedavili grupta kısmen bir artış gözlenmiştir. Kombine tedavili grupta ise azalmış olan protein ekspresyonların arttığı gözlenmiştir.



Şekil 3.13.1. Deney hayvanlarının penil dokularında, nNOS protein ekspresyonu (**p<0.01, ***p<0.001 kontrole göre anlamlılık; #p<0.05 PBOO grubuna göre anlamlılık). N=5-6.

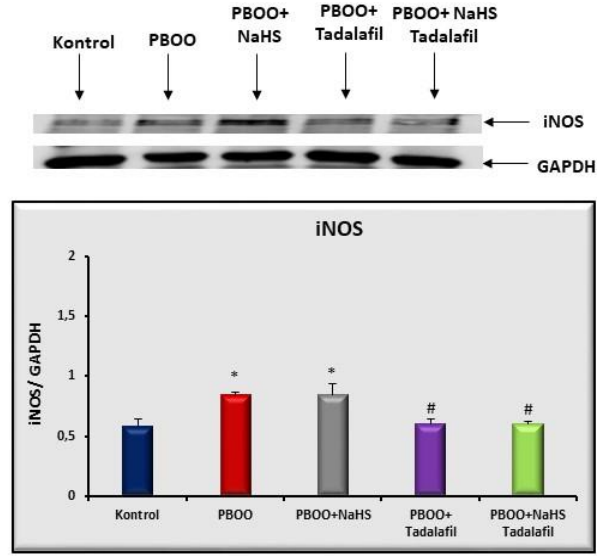
Bulgularımızda, 6 haftalık PBOO gruplarında kontrole göre, eNOS protein ekspresyonlarında gruplar arasında fark gözlenmemiştir (Şekil 3.13.2).



Şekil 3.13.2. Deney hayvanlarının penil dokularında, eNOS protein ekspresyonu. N=5-6.

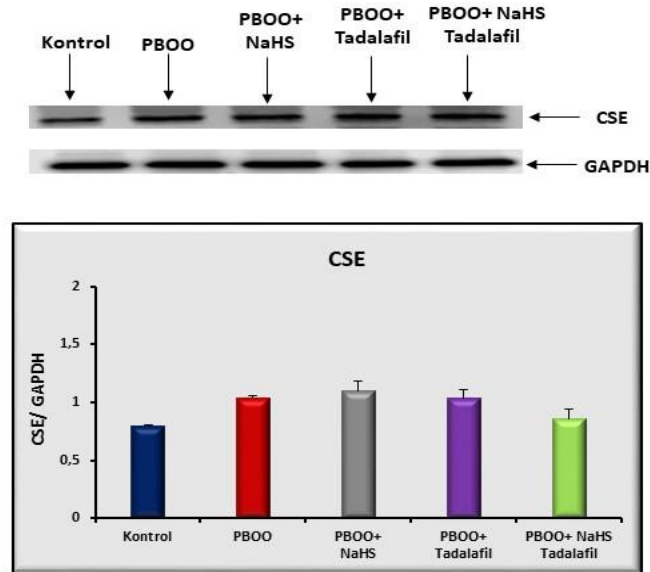
Sonuçlarımızda, 6 haftalık PBOO gruplarında kontrole göre, iNOS protein ekspresyonlarında anlamlı bir artış bulunmuştur (Şekil 3.13.3). NaHS tedavili grupta

herhangi bir azalma olmazken, tadalafil ve kombine tedavi gruplarında ise artmış olan ekspresyonların azaldığı bulunmuştur.



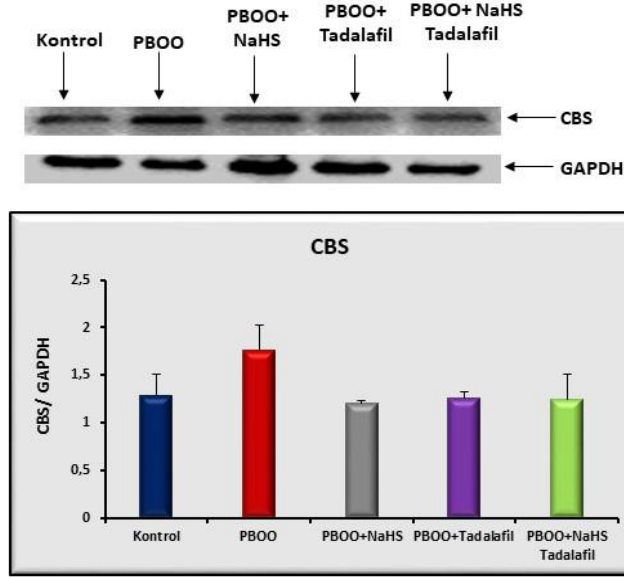
Şekil 3.13.3. Deney hayvanlarının penil dokularında, iNOS protein ekspresyonu (* $p < 0.05$ kontrole göre anlamlılık; # $p < 0.05$ PBOO grubuna göre anlamlılık). N=5-6.

Bulgularımızda, 6 haftalık PBOO gruplarında kontrole göre, CSE protein ekspresyonlarında gruplar arasında fark gözlenmemiştir (Şekil 3.13.4).



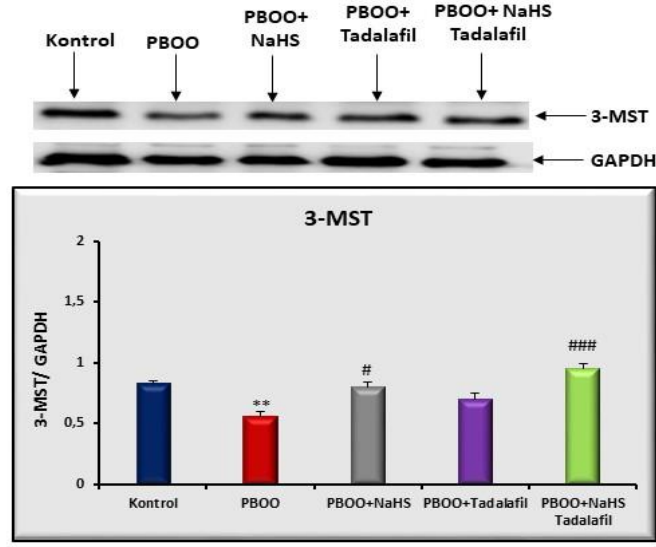
Şekil 3.13.4. Deney hayvanlarının penil dokularında, CSE protein ekspresyonu. N=5-6.

Bulgularımızda, 6 haftalık PBOO gruplarında kontrole göre, CBS protein ekspresyonlarında gruplar arasında, fark gözlenmemiştir (Şekil 3.13.5).



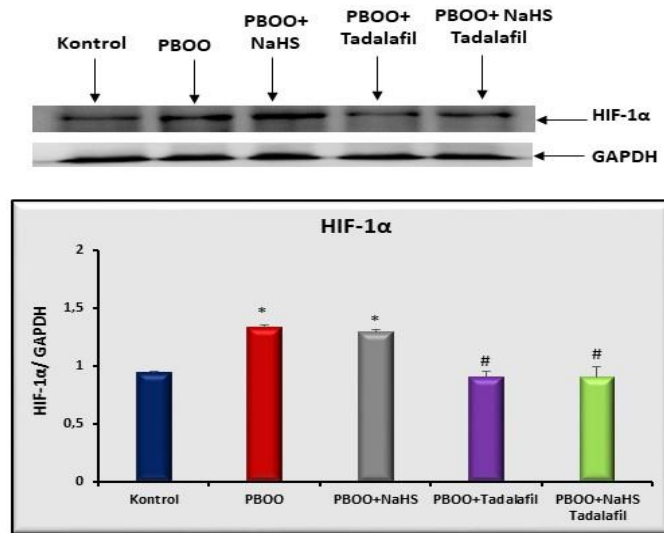
Şekil 3.13.5. Deney hayvanlarının penil dokularında, CBS protein ekspresyonu. N=5-6.

Bulgularımızda, 6 haftalık PBOO gruplarında kontrole göre, 3-MST protein ekspresyonlarında önemli derecede düşüş gözlenmiştir (Şekil 3.13.6). Bu azalma tüm tedavi gruplarında düzelmiştir.



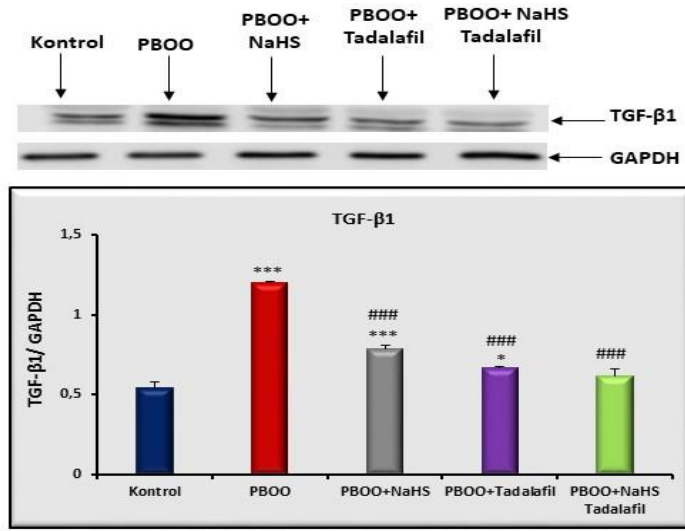
Şekil 3.13.6. Deney hayvanlarının penil dokularında, 3-MST protein ekspresyonu (** $p < 0.01$ kontrole göre anlamlılık; # $p < 0.05$, ### $p < 0.001$ PBOO grubuna göre anlamlılık). N=5-6.

Bulgularımızda, 6 haftalık PBOO gruplarında kontrole göre, HIF-1 α protein ekspresyonlarında önemli derecede bir artış gözlenmiştir (Şekil 3.13.7). NaHS tedavili grupta herhangi bir azalma olmazken, tadalafil ve kombine tedavi gruplarında ise artmış olan ekspresyonların tamamen kontrole yaklaştığı bulunmuştur (Şekil 3.13.7).



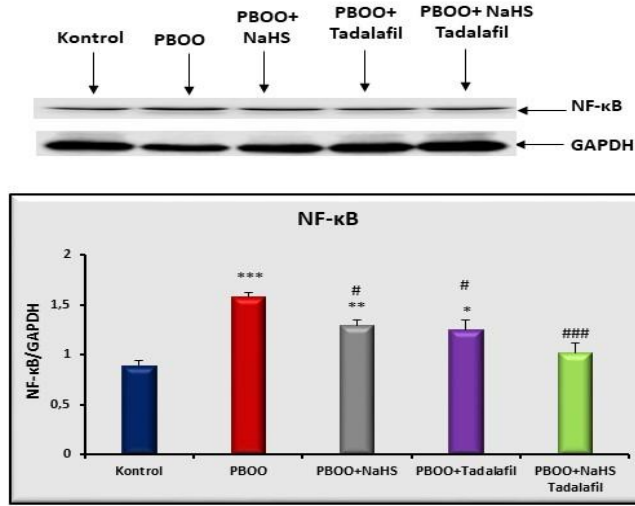
Şekil 3.13.7. Deney hayvanlarının penil dokularında, HIF-1 α protein ekspresyonu (* $p < 0.05$ kontrole göre anlamlılık; # $p < 0.05$ PBOO grubuna göre anlamlılık). N=5-6.

Bulgularımızda, 6 haftalık PBOO gruplarında kontrole göre, TGF- β 1 protein ekspresyonlarında önemli derecede artış gözlenmiştir (Şekil 3.13.8). NaHS tedavili grupta herhangi bir azalma gözlenmezken, tadalafil tedavili grupta kısmen bir azalma gözlenmiştir. Kombine tedavili grupta ise artmış olan ekspresyonların azaldığı gözlenmiştir.



Şekil 3.13.8. Deney hayvanlarının penil dokularında, TGF- β 1 protein ekspresyonu (* p <0.05, *** p <0.001 kontrole göre anlamlılık; ### p <0.001 PBOO grubuna göre anlamlılık). N=5-6.

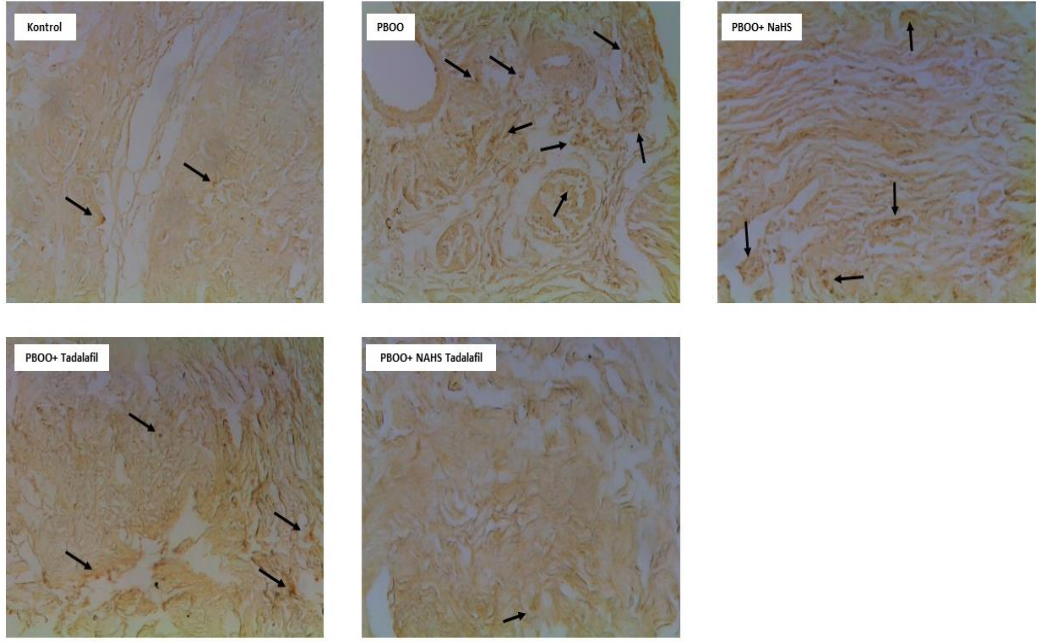
Bulgularımızda, 6 haftalık PBOO gruplarında kontrole göre, NF- κ B protein ekspresyonlarında önemli derecede artış gözlenmiştir (Şekil 3.13.9). NaHS ve tadalafil tedavili gruplarda kısmen bir azalma gözlenmiştir. Kombine tedavili grupta ise artmış olan ekspresyonların azaldığı gözlenmiştir (Şekil 3.13.9).



Şekil 3.13.9. Deney hayvanlarının penil dokularında, NF-κB protein ekspresyonu (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ kontrole göre anlamlılık; # $p < 0.05$, ### $p < 0.001$ PBOO grubuna göre anlamlılık). N=5-6.

3.14. Penil Dokuda Gelişen Apoptoz

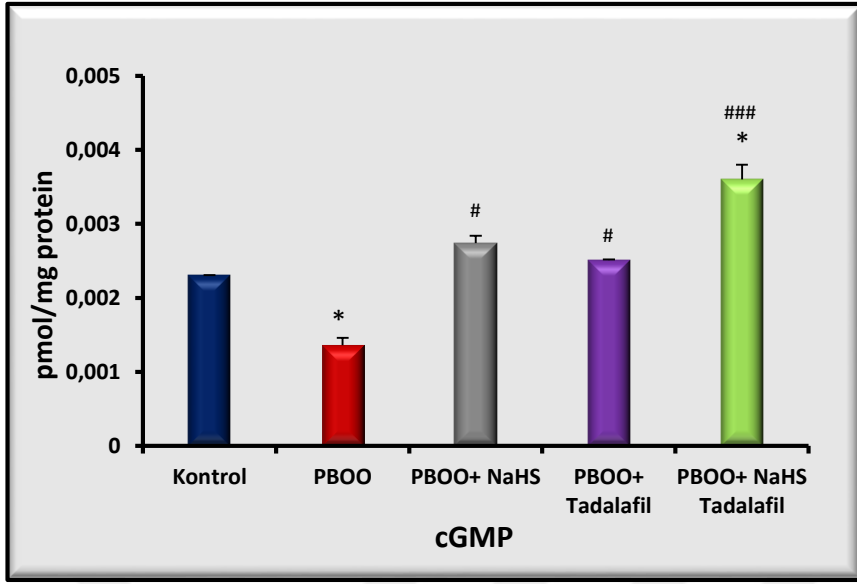
Bulgularımızda, gruplardan alınan korpus kavernosum dokularında apoptotik hücrelerin lokalizasyonları gösterilmiştir. Bulgularımızda, 6 haftalık PBOO gruplarında kontrole göre apoptotik hücrelerin lokalizasyonlarında artış gözlenmiştir (Şekil 3.14). NaHS, tadalafil ve kombine tedavili örneklerde apoptotik hücre lokalizasyonunda azalma bulunmuştur (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. Deney hayvanlarının penil dokularından alınan kesitlerde, apoptotik hücre lokalizasyonu (x10). N=5.

3.15. Penil Dokularında cGMP Seviyeleri

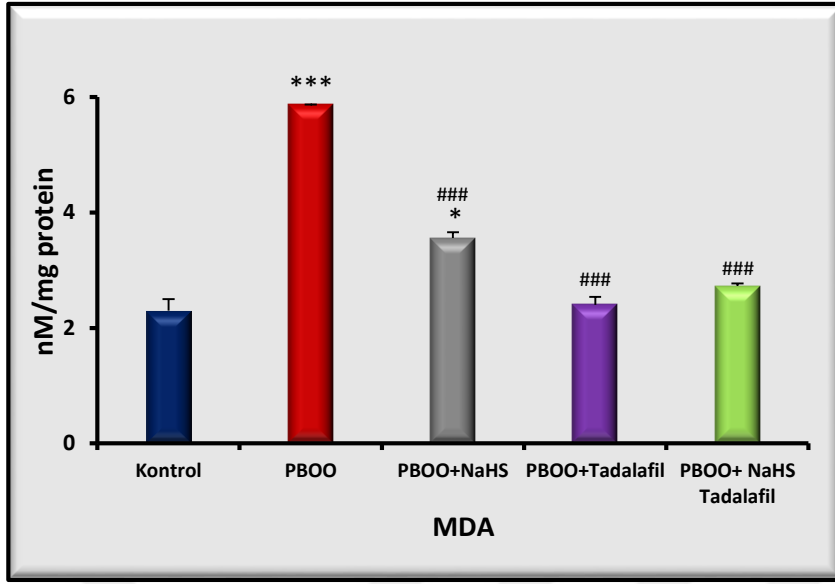
Penil dokulardan elde edilen cGMP seviyeleri Şekil 3.15’da gösterilmiştir. cGMP seviyelerinde 6 haftalık PBOO grubunda kontrole göre anlamlı bir azalma gözlenmiştir. NaHS ve tadalafil tedavisi azalmış düzeyleri kontrol seviyesine geri dönmesini sağlamışken, kombine tedavili grupta kontrole göre anlamlı bir artış gözlenmiştir.



Şekil 3.15. Tüm gruplardan alınan penis dokularındaki cGMP seviyeleri (* $p < 0.05$ kontrole göre anlamlılık, # $p < 0.05$, ### $p < 0.001$ PBOO grubuna göre anlamlılık). N=4-6.

3.16. Penis Dokularında MDA Seviyeleri

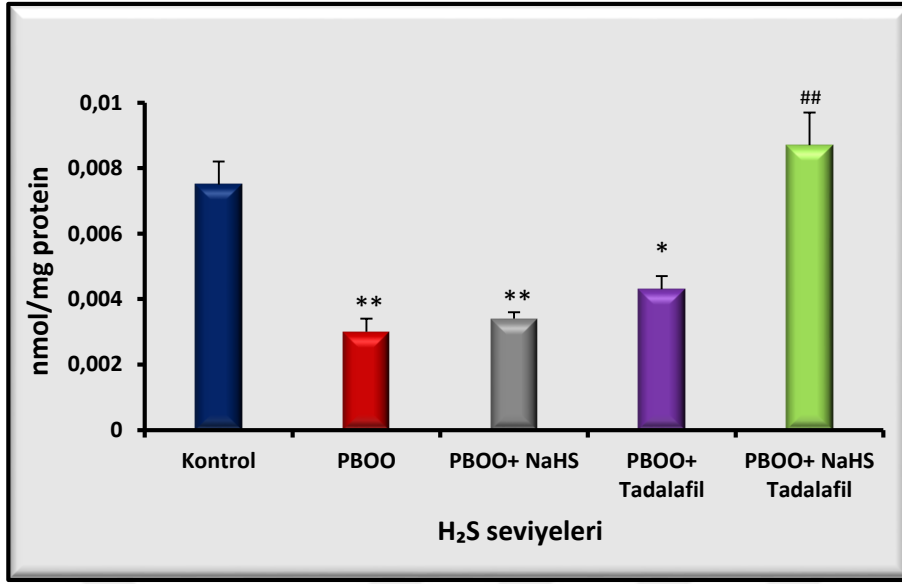
Penis dokulardan elde edilen MDA seviyeleri Şekil 3.16' da gösterilmiştir. Gruplardan alınan penis dokularında, MDA seviyelerinde 6 haftalık PBOO grubunda kontrole göre anlamlı bir artış gözlenmiştir. İlginç olarak, NaHS tedavisi kısmen azalış sağlarken tadalafil ve kombine tedavi tamamen düzeltmiştir (Şekil 3.16).



Şekil 3.16. Tüm gruplardan alınan penis dokularındaki MDA seviyeleri (* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ kontrole göre anlamlılık; ### $p < 0.001$ PBOO grubuna göre anlamlılık). N=4-6.

3.17. Penis Dokularında H₂S Seviyeleri

Penis dokularından elde edilen H₂S seviyeleri Şekil 3.17 'de gösterilmiştir. Penis dokularından elde edilen sonuçlara göre, H₂S seviyelerinde 6 haftalık PBOO grubunda, kontrole göre anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. İlginç olarak, NaHS tedavisi artış sağlamazken tadalafil tedavisi kısmen artış sağlamış, kombine tedavi tamamen düzeltmiştir (Şekil 3.17).



Şekil 3.17. Tüm gruplardan alınan penis dokularındaki H₂S seviyeleri (*p<0.05, **p<0.01 kontrole göre anlamlılık; ##p<0.01 PBOO grubuna göre anlamlılık). N=4-6.

4. TARTIŞMA

Erkeklerde BPH'ın neden olduğu AÜSS ile ED arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu bilinmektedir (Rosen ve ark., 2005). Prostat büyümesinin üretrada oluşturduğu darlık nedeniyle gelişen AÜSS erkeklerde ED'ye neden olmaktadır. Deneysel olarak oluşturulan mesanenin parsiyel ligasyon modeli, insandaki BPO'ya oldukça benzemektedir. Bu çalışmada, H₂S donörü olan NaHS ve PDE-5i olan tadalafilin PBOO'lu sıçan modelinde gözlenen ED üzerine etkisini araştırılmıştır. Bulgularımıza göre, 6 haftalık PBOO sıçan modelinde, erektil yanıtlar azalmakta ve ED gelişmektedir. İlginç olarak; H₂S donörü NaHS ve PDE-5i tadalafil tek başına erektil yanıtları parsiyel olarak düzeltilmiş olmasına karşın, kombinasyon tedavisi erektil yanıtları tamamen düzeltilmiştir.

Sonuçlarımıza göre, mesane ağırlıkları 6 haftalık PBOO grubunda, yaklaşık olarak 2.7 kat artmıştır. NaHS ve tadalafil tedavisi bu artışı kısmen geri döndürmektedir. İlginç olarak; kombine tedavi mesane ağırlıklarındaki artışı tamamen geri döndürmüştür. Metabolik kafes ölçümlerinden elde ettiğimiz sonuçlara göre, 24 saatlik total idrar hacimleri arasında fark yoktur. Benzer şekilde, daha önce yapılan bir çalışmada, 2 haftalık tadalafil tedavili PBOO'lu sıçanlarda, artan mesane ağırlıklarının kısmen azaldığı bulunmuş ve 24 saatlik total idrar hacimlerinde fark bulunmamıştır (Kawai ve ark., 2016). Gur ve ark. yapmış olduğu çalışmada, 6 haftalık sildenafil tedavisi artan mesane ağırlıklarını geri döndürememiştir (Gur ve ark., 2016). Sezginer ve ark. yapmış olduğu çalışmada ise 4F katater ile yapılan PBOO modelinde mesane ağırlığı artarken ve 24 saatlik total idrar hacminin değişmediği bulunmuştur (Sezginer ve ark., 2018).

Çalışmamızda, sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan PBOO modelinde, *in vivo* olarak elde edilen erektil yanıt (ICP) ve izole korpus kavernozum düz kas dokularından *in vitro* deneylerde elde edilen EFS'ye ilişkin gevşetici yanıtlar kontrollere göre, düşük bulunmuştur. Bu durum, PBOO ile artan mesane kitlesi, üretral ligatürle kavernoza sinirlere yapılan sürekli basınç ve bu basıncın neden olduğu iskemi ve bu duruma ek

olarak artan oksidatif stres ile oluşan mesane değişkenleriyle ilgili olabilir (Ertemi ve ark., 2013; Lin ve ark., 2012) Yani oluşan basınç ve bu basıncın tetiklediği iskemi ve oksidatif stres korpus kavernozumun nitretrjik nöronal innervasyonunu ve iletişimi engelleyebilir. Benzer bir çalışmalarda, PBOO yapılan sıçanların *in vivo* erektil yanıtlarının önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur (Gur ve ark., 2008; Kobayashi ve ark., 2011). Bulgularımıza göre, PBOO'lu gruplarda, NaHS ve tadalafil tedavileri, azalan yanıtları kısmen arttırmıştır. İlginç olarak, kombine tedavi ise, azalan yanıtların tamamını düzeltmiştir. Önceki bir çalışmada, sıçanlarda oluşturulan kavernöz sinir hasarı modelinde mezenkimal kök hücre ve tadalafil kombine tedavisi tekli tedaviler ile karşılaştırıldığında erektil yanıtlarda daha başarılı olduğu gözlenmiştir (Martínez-Salamanca ve ark., 2016). Yapılan klinik çalışmalarda, tadalafilin özellikle $\alpha 1$ -adrenerjik reseptör antagonistleri ile kombine tedavisi, BPH/AÜSS ve ED tedavisi için daha başarılı ve güvenli olduğunu göstermektedir (Kim ve ark., 2017; Takeda ve ark., 2017). NaHS'in erektil fonksiyon üzerine olan etkileri hala araştırılmaktadır. Yapılan bir çalışmada NaHS'in akut etkilerini incelemiştir. Deneysel olarak oluşturulan metabolik sendrom hayvan modelinde intrakavernöz olarak uygulanmış ve metabolik sendrom kaynaklı azalan erektil yanıtları arttırmıştır (Dayar ve ark., 2018).

Erektil yanıtların azalmasından sorumlu moleküler mekanizmalardan biri olan ve nitretrjik sinirlerden NO salınımını sağlayan enzim nNOS, immünohistokimyasal boyama ve Western analizi sonucu PBOO'lu grupta azaldığı gösterilmiştir. Bulgularımız daha önce yapılan PBOO modellerinin sonuçlarına uyumludur (Gur ve ark., 2008; Gur ve ark., 2016; Bastaskin ve ark., 2016; Malykhina ve ark., 2013). Bu sonuçlara ek olarak, deneysel iskemi modellerine bağlı gelişen ED'de nNOS düzeylerinin belirgin şekilde azaldığı gösterilmiştir. (Azadzo, 2006; Azadzo ve ark., 2004). İmmünohistokimyasal lokalizasyon ve Western blot protein ekspresyonu sonuçlarımıza göre, NaHS tedavisi azalan yanıtları düzeltmemiş, tadalafil tedavisi kısmen düzeltmiştir. İlginç olarak, NaHS ve tadalafilin birlikte verilmesi ile azalan yanıtlar tamamen düzelmiştir. Başka bir çalışmada ise NaHS kavernöz dokuya verildikten sonra, eNOS ve nNOS ekspresyonları incelenmiş, nNOS ekspresyonlarını değiştirmezken yalnızca eNOS ekspresyonlarında artış gözlemlenmiştir (Meng ve ark., 2013). Çalışmamıza göre, PBOO, penil dokuda nöronal NO'nun kullanılabilirliğini

azaltmış ve bu duruma bağlı olarak kavernoözal dokunun nöron bağımlı gevşemesi bozulmuştur. Tek başına NaHS ve tadalafil tedavileri, bu durumu düzeltmeye yeterli olmadığı gözlenmiştir. Ancak, NaHS ve tadalafilin kombinasyon tedavisi başarılı bulunmuştur, bu durum belki de sinerjik etki nedeniyle meydana gelmiş olabilir.

Sonuçlarımıza göre, PBOO grubundan alınan izole korpus kavernosum dokularında, ACh'e ilişkin endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında anlamlı azalmalar bulunmuştur. Tekli tedavi grupları azalan bu yanıtlarda kısmen geri dönüş sağlasa da kombine tedavi sonucu, yanıtlar kontrol grubunun değerlerine yaklaşmıştır. İlginç olarak elde ettiğimiz *in vitro* gevşeme yanıtlarının aksine, immünohistokimyasal boyama sonucu, 6 haftalık PBOO gruplarında kontrole göre, eNOS boyamasının yoğunluğunda ve Western analizleri sonucu, eNOS protein miktarında bir değişim gözlenmemiştir. Önceki çalışmalarda, deneysel PBOO modelinde, izole korpus kavernosum dokularındaki, ACh gevşeme yanıtları kontrole göre azaldığı gösterilmiştir (Gur ve ark., 2016; Lin ve ark., 2008; Bastaskin ve ark., 2017). Bu çalışmalara ek olarak, eNOS protein ekspresyonunun PBOO grubunda kontrole göre değişmediği bulunmuştur (Malykhina ve ark., 2013). Gur ve ark. tarafından yapılan önceki çalışmada PBOO'lu sıçanlarda endotel bağımlı ACh yanıtlarının düşük, eNOS protein ekspresyonun kontrole göre anlamlı bir şekilde artmış olduğunu göstermişlerdir (Gur ve ark., 2008). 4, 8 ve 16 hafta sonunda PBOO'nun penil dokudaki etkilerini inceleyen bir diğer çalışmada, 4 ve 8 hafta sonunda eNOS protein ekspresyonunda bir değişiklik bulunmamış, ancak 16 haftalık PBOO sununda eNOS protein düzeylerinde azalma gözlenmiştir (Kobayashi ve ark., 2011). Çalışmamıza göre, 6 haftalık PBOO sonucunda endotel hasarı gelişmekte ve ACh'e gevşeme yanıtları bozulmaktadır. Ancak eNOS protein ekspresyonu beklendiği gibi azalmamıştır. Bu durum oluşan PBOO ile gelişen patolojinin şiddeti ve süresi ile ilgili olabilir.

NO aracılı üretilen cGMP, penil dokuda protein kinazı ve iyon kanallarını aktive ederek düz kas gevşemesi ve ereksiyona neden olan bir moleküldür. Penil dokularda ölçülen cGMP ise PBOO grubunda düşük, NaHS ve tadalafil tekli tedavi grubunda kontrole eş, kombine tedavi grubunda ise kontrolden fazla bulunmuştur. Önceki

çalışmalar, çeşitli hayvan modellerinde tadalafilin PDE-5 inhibe ederek penil dokuda cGMP yıkımını önleyerek miktarını arttırdığını göstermiştir (Mostafa ve ark., 2012; Abdel Aziz ve ark., 2015). NaHS ise konsantrasyon bağımlı olarak, aort düz kas hücrelerinde cGMP miktarını arttırmıştır (Bucci ve ark., 2010). Bu artışın mekanizması ise, NaHS PDE'yi inhibe etmesidir (Bucci ve ark., 2010). Yapılan başka bir çalışmada, endotel hücrelerde NaHS ile sildenafilin PDE enzimi üzerindeki etkisi karşılaştırılmış ve NaHS sildenafil kadar etkin bir şekilde enzimi inhibe etmiştir (Coletta ve ark., 2012). Ek olarak, insan fare endotel hücrelerinde H₂S'in eNOS'un fosforilasyonunu arttırarak cGMP oluşumunu desteklemiştir (Coletta ve ark., 2012; Altaany ve ark., 2013). Bir ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada H₂S'in ksantin oksidazı aktive ettiğini ve nitritten NO sentezini uyarıp, NO biyoyararlanımını arttırdığını ve buna bağlı olarak cGMP seviyelerinde artış bulmuşlardır (Bir ve ark., 2012). Bu sonuçlar ışığında, PBOO'lu hayvanlarda azalan cGMP düzeylerinin kombine tedavi grubunda kontrole göre daha çok artmasının nedeni NaHS ve tadalafilin cGMP artışı üzerindeki etki mekanizmaları birbirinden farklı olması olabilir. Kombine tedavide sinerjik bir etkinin ortaya çıkmış olduğu söylenebilir.

Bulgularımıza göre, NO donörü olan SNP'ye ilişkin gevşeme yanıtlarında gruplar arasında fark yoktur. PBOO modelinde yapılan çalışmalarda korpus kaverosumda SNP'ye ilişkin alınan yanıtların değişmediği gözlenmiştir (Bastaskin ve ark., 2016; Gur ve ark., 2008).

Sonuçlarımıza göre, PBOO grubundan elde edilen izole penil dokularında α_1 adrenerjik reseptör agonisti, Phe'ye ilişkin kasılma yanıtı, direk nörojenik elektriksel uyarılma ile sempatik sinirlerden noradrenalin salınımına bağlı kasılma yanıtı ve tek doz KCl (60 mM) depolarizasyonu ile elde edilen kasılma yanıtlarında PBOO grupta azalma meydana gelmiştir. Bu azalan yanıt tüm tedavili gruplarda düzelmiştir. Önceki çalışmalar, 8 haftalık obstrüksiyon sonrası alınan penil dokularda, Phe'e ve EFS'ye karşı alınan kasılma yanıtlarda, bir azalma olduğu ve 2 haftalık obstrüksiyonlu grupta ise, 8 haftalık obstrüksiyona göre daha fazla kasılma yanıtı meydana geldiği gösterilmiştir (Lin ve ark., 2008). Başka bir çalışmada ise, insan korpus kaverosum dokusunda Phe'e dair kasılma yanıtı, BPH/AÜSS varlığında artmıştır (Demir ve ark.,

2006). İlginç olarak, bazı çalışmalar ya da teoriler sempatik aktiviteye bağlı düz kas tonusunun artacağını ileri sürmüşlerdir (Gur ve ark., 2008). Bu duruma ek olarak, semptomatik BPH'li hastaların artan sempatik tonusa yatkın oldukları da gösterilmiştir (Traish ve ark., 1995). Kasılma yanıtlarındaki bu değişim, obstrüksiyonun şiddetine, süresine ve ek patolojilerin de ortaya çıkmasına bağlı olabilir. Bu sonuçlara göre, deneysel obstrüksiyon modeli sonucunda meydana gelen iskemi ve oksidatif strese bağlı olarak nöronlarda denervasyonuna meydana gelebilir. H₂S ve PDE-5i, penisteki sempatik tonusu kontrol ederek, erektil fonksiyon için gereken korpus kavernosum düz kasının NO bağlantılı tam gevşemesine yardım etmiş olabilir. Önceki bir çalışmada, sıçanlarda oluşturulan 8 haftalık kronik iskemi modelinde tadalafil tedavisi (2 mg/kg) prostatta artan Phe, EFS ve KCl kasılmalarını azaltmıştır (Zarifpour ve ark., 2015). Diğer bir çalışmada ise insan ve sıçan prostatlarında silodosin and tadalafilin kasılma yanıtlarını sinerjik bir etki ile düşürdüğü gözlenmiştir (Buono ve ark., 2014).

Sonuçlarımıza göre, PBOO grubundan alınan penis dokularında CSE ve CBS protein miktarlarında değişim olmazken, 3-MST protein miktarında azalma bulunmuştur. Bu bulgulara ek olarak, PBOO'lu penis dokularında H₂S seviyeleri düşük bulunmuştur. Tedavi gruplarında ise azalan 3-MST protein seviyeleri düzeldikçe, H₂S seviyeleri yalnızca kombine tedavide kontrol grubunu yakalamıştır. Önceki çalışmalarda, çeşitli patolojik koşullarda CSE ve CBS ekspresyonlarının düştüğü gösterilmiştir (Zuo ve ark., 2014; Huang ve ark., 2014). Başka bir çalışmada ise, diabetik sıçanlarda CSE ve CBS ekspresyonlarının değişmediği ancak 3-MST ekspresyonunun azaldığı bu duruma ek peniste H₂S seviyelerinde düştüğü gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2016). Bulgularımıza göre, değişmeyen CSE ve CBS protein ekspresyonuna karşın, azalan H₂S düzeyleri, NaHS tedavisi ile düzelmemiştir. Ortamdaki iskemi, fibrozis ve artan oksidatif stres enzimlerin aktivitesini düşürmüş olabilir. Tadalafil tedavi grubundaki kısmi artışın sebebidir kısmen azalan fibrozis, iskemi ve oksidatif stres olabilir. Ek olarak, daha önce yapılan bir çalışmada, sildenafilin insan mesane dokusunda H₂S düzeylerini arttırdığı bulunmuş, CSE ve CBS enzim inhibisyonları ile H₂S düzeyleri anlamlı bir şekilde düşmüştür. Tadalafil de sildenafil gibi, CSE ve CBS enzimleri üzerinden H₂S üretimini

arttırmış olabilir (Fusco ve ark., 2012). Azalan fibrozis, iskemi ve oksidatif stres ve ortamda bulunan H₂S donörü enzimlerin aktivitesini arttırmış olabilir.

Bulgularımıza göre, oksidatif stres belirteçlerinin (MDA seviyesi, iNOS ve NF-κB protein ekspresyonu) 6 haftalık PBOO grubunda arttığı bulunmuştur. Yapılan çalışmada PBOO'lu tavşanların penis dokularında artan oksidatif stres gösterilmiştir (Lin ve ark., 2012). Başka bir çalışmada ise 12 haftalık PBOO'lu tavşanlarda oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir (Ertemi ve ark., 2013). Gur ve ark. yapmış olduğu çalışmada ise 6 haftalık PBOO'lu sıçanlarda penil dokuda iNOS ekspresyonunun kontrol sıçanlara göre arttığı gösterilmiştir (Gur ve ark., 2008). Yine sonuçlarımıza göre, obstüksiyonlu sıçanlarda NaHS ve tadalafil tekli tedavileri oksidatif stres belirteçlerini parsiyel olarak azaltmış, kombine tedavi ise artan MDA seviyesi, iNOS ve NF-κB protein ekspresyonu tamamen geri çevirmiştir. Spinal kord hasarlı sıçanların penil dokularında yapılan bir çalışmada, tadalafil (10 mg/kg, 10 gün) tekli tedavisi oksidatif stresi kısmen geri çevirmiş, melatonin ile kombine tedavisinde ise çok daha başarılı sonuçlar bulunmuştur (Tavukçu ve ark., 2014). H₂S ile yapılan başka bir çalışmada, iskemi/reperfüzyon hasarında ve *in vitro* düzeyde oksidatif strese bağlı toksik etkilerin azaltılmasına katkıda bulunduğu ve antioksidan mekanizmalarını desteklediği gösterilmiştir (Snijder ve ark., 2013).

Sonuçlarımıza göre, PBOO'lu gruptan alınan penis dokularında fibrozis (TGF-β1), apoptoz ve iskemi (HIF-1α) belirteçleri anlamlı bir şekilde artmıştır. PBOO grubunda düz kas hücresi/ kollajen oranı kontrol ve kombine tedavi grubu ile karşılaştırıldığında belirgin şekilde azalmıştır. Çalışmalarda hipoksi ile birlikte artan HIF-1α düzeylerinin kaverno dokularında endotel ve düz kas hasarına neden olduğu, böylece düz kasların gevşemesini azaltarak, ED'ye yol açtığı bilinmektedir (Andersson ve ark., 2014). Bu patolojik durumlara ek olarak, PBOO modeli ile yapılan çalışmalarda apoptozun arttığı, bu tablonun fibrozise katkısı olduğu düşünülmektedir (Taylor ve ark., 2006; Hsieh ve ark., 2016). PBOO'lu sıçanların penisinde düz kas ve kollajen oranının kollajen yönünde arttığı bulunmuştur (Bastaskın ve ark., 2016). Bu durum penis dokusundaki düz kas oranının azalması PBOO sıçan modelinde gözlenen azalan erektil yanıtın göstergesi olarak düşünülebilir. Lin ve ark. yapmış olduğu çalışmada 8

haftalık PBOO'lu tavşanlardan alınan penis dokularında artan TGF- β 1 ekspresyonu gösterilmiştir (Lin ve ark., 2012). Önceki bir çalışmada, tadalafil PBOO modelinde mesanede zamana bağlı TGF- β 1 ekspresyonu azaltarak antifibrotik etki göstermiştir (Maciejewski ve ark., 2015). Başka bir çalışmada, sıçanlarda oluşturulan kavernoza sinir hasarı modelinde, 45 günlük tadalafil tedavisinin (5 mg/kg) penil dokuda artan apoptozisi ve azalan düz kas hücresi/kollajen oranını düzelttiği, ancak artan TGF- β 1 ekspresyonu değiştirmediği bulunmuştur (Kovanecz ve ark., 2008). NaHS'in çeşitli patolojilerde fibrozisi ve hipoksiyi azalttığı bulunmuştur (Xiao ve ark., 2016; Wu ve ark., 2016). Ancak penil doku ve erektil fonksiyon üzerine olan etkileri ile ilgili çalışma henüz yapılmamıştır. Bulgularımıza göre, fibrozis, apoptoz ve iskemiye NaHS ve tadalafil tekli tedavilerinin düzeltmede yeterli olmadığı, kombine tedavinin daha başarılı olduğu bulunmuştur.

Sonuç olarak, PBOO ile indüklenen ED'de birçok mekanizma rol oynamaktadır. Bunların arasında en önemlileri nNOS'un azalan ekspresyonu ve azalan eNOS aktivitesi anti-erektil etkilerdir. PBOO modelinde artan mesane ağırlığına bağlı olarak ortamda oluşan fibrozisi iskemi ve oksidatif stres kavernoza sinirlerinde ve endotel hücrelerinde korporal düz kas gevşemesini azaltarak ve erektil fonksiyonu değişimine neden olabilir. Peniste NaHS ve tadalafil tedavisi gevşetici etkisinde parasempatik, nitreerjik ve adrenerjik yollar rol oynamaktadır. Bu etkilerine ek fibrozisi, iskemiye ve oksidatif stresi de azaltmıştır. Komibine tedavi sonucu bu yolların modülasyonu ile artan NO aracılı nöronal gevşeme, normalize olan sempatik tonus ve artan kan akımı ile erektil fonksiyonda düzelmeye gerçekleşmiş olabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın sonuçları, PBOO grubunun ortalama mesane ağırlıkları kontrole göre anlamlı bir artış göstermiştir. Bu artışta, tekli tedavi sonrası kısmen, kombine tedavi sonrası ise tamamen düzelme gözlenmiştir. Ek olarak, PBOO grubunda *in vivo* erektil yanıtlar azalırken, kombine tedavi sonrası kontrol grubuna yaklaşmıştır. Bu bulgulara göre, tedaviler sonucu artan erektil yanıtın ve azalan mesane ağırlığının birbirlerinden bağımsız olmadığını ortaya çıkarmaktadır.

6 haftalık PBOO sonrası *in vivo* erektil yanıtlarda, *in vitro* nitrerik gevşemede ve nNOS protein ekspresyonunda ve lokalizasyonunda azalma bulunmuştur. NaHS ve tadalafil tedavisi, *in vivo* ve *in vitro* yanıtlarda kısmen iyileşme gözlenirken, NaHS ve tadalafil birlikte tüm yanıtları düzeltmiştir. Tadalafilin NO ve erektil fonksiyon üzerine etkileri bilinmesine karşın, H₂S etkileri henüz tam olarak bilinmemektedir. Eretil fonksiyon üzerine H₂S'in etkilerinin tam olarak aydınlatılabilmesi için çok sayıda çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

PBOO'lu gruplardan alınan korpus kavernosum dokularında azalan endotel bağımlı gevşeme yanıtları ve cGMP seviyeleri bulunmuştur. İlginç olarak eNOS protein ekspresyonu ve lokalizasyonu değişmemiştir. Değişen yanıtlar üzerine özellikle cGMP seviyelerinde kombine tedavi sinerjik bir etki göstererek artış sağlamıştır. Yine, obstrüksiyonlu sıçanlardan alınan penil dokuda CSE ve CBS protein ekspresyonlarında değişim olmazken, 3-MST protein ekspresyonunda ve penil H₂S düzeylerinde azalma bulunmuştur. Kombine tedavi azalan yanıtları düzeltmede tekli tedavilere göre daha başarılı olmuştur. H₂S ve NO sentezine katkıda bulunan bu enzimlerin protein ekspresyonunun değişmemesine karşın üretilen son ürünlerdeki azalma ortamdaki oksidatif stres ve iskemiye bağlı olarak bu enzimlerin aktivitelerinin azaldığını gösteriyor olabilir. Daha sonra yapılacak çalışmaların penil dokuda eNOS, CSE ve CBS enzimlerinin etkileşimini ve oksidatif stresin bu etkileşim üzerine odaklanması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

PBOO'lu gruptan alınan penis dokularında fibrozis, apoptoz, iskemi ve oksidatif stres artışı gözlenirken, tekli tedavilerde bu artışlar kısmen düzelmiş, kombine tedavide tamamen azalmıştır. Ortaya çıkan bu moleküler değişikliklerin seviyeleri, fonksiyonel erektil yanıtlar ve penisin morfolojik yapısı üzerine doğrudan etki ettiği söylenebilir.

Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan obstrüksiyona bağlı olarak, erektil yanıtların, nitrejik ve endotel bağımlı gevşemelerin, nNOS ekspresyonunun ve cGMP düzeylerinin azalması gözlenmiştir. Bu patolojilere ek olarak, gelişen iskemi, fibrozis ve artan oksidatif şiddet, ED tablosunu şiddetlendirmiştir. H₂S donörü NaHS ve PDE-5i tadalafil kombinasyon tedavisi erektil yanıtın hem fonksiyonel hem de moleküler mekanizmalarını düzeltmiş, ek olarak artan iskemi, fibrozis ve oksidatif şiddeti azaltmıştır.

60 yaşın üzerindeki erkeklerde görülme sıklığı %20' den fazla olan ve erkek cinsel sorunlarının başında gelen ED, her ne kadar kişisel bir sağlık sorunu olarak görülse de sosyal hayatta kişiyi güvensizlik, huzursuzluk, utanma, mutsuzluk, üzüntü, sinirlilik gibi farklı duygulara sürükleyebilmektedir. Hastalar, başlangıçta BPH yanında bazen ED'yi önemsememektedir, daha sonra hayat kalitelerinde düşme şikayeti ile doktora sıklıkla başvurumaktadırlar. ED'nin tedavisi günümüzde yaşam kalitesi bakımından oldukça önemli hale gelmiştir ve PDE-5i ile tedavi oldukça pahalıdır. Preklinik olarak sıçanlar üzerinde yapılan bu çalışmanın sonucunda NaHS ve tadalafilin PBOO'lu sıçan modelinde görülen ED üzerinde düzeltici etkisi gösterilmiştir. Bu sonuçlar gelecekte yapılacak olan preklinik ve klinik çalışmalara ışık tutacak, yapılan deneylerinin sonucunda H₂S ve tadalafil kombine BPH sonucu gelişen ED'nin düzeltilmesine yönelik dual etkili yeni tedavi seçeneği olarak ortaya çıkarılabilir.

ÖZET

Parsiyel Mesane Obstrüksiyonlu Sıçanlarda Hidrojen Sülfür Donörü Sodyum Hidrojen Sülfid ve Fosfodiesteraz 5 İnhibitörü Tadalafil Tedavisinin Eretil Disfonksiyon Üzerine Etkisi

Benign prostat hiperplazisi (BPH), orta ve ileri yaşlardaki erkeklerde, sıklıkla görülen önemli sağlık sorunlarından birisidir. Prostat bezinin büyümesi sonucu üretra çıkışında oluşan darlık, alt üriner sistem semptomları (AÜSS) ve buna bağlı olarak gelişen erekil disfonksiyona (ED) neden olmaktadır. Bu ilişkinin en kuvvetli teorilerinden biri artan obstrüksiyon kaynaklı oksidatif stres ve inflamasyondur. Bu çalışmadaki amaç, sıçanlarda oluşturulan parsiyel mesane obstrüksiyonunun (PBOO), erekil fonksiyonu nasıl etkilediği ve bu değişiklikler üzerinde bir hidrojen sülfür donörü sodyum hidrojen sülfid ve fosfodiesteraz 5 inhibitörü (PDE-5i) olan tadalafilin tedavi edici etkisinin olup olmadığını araştırmaktır.

Yetişkin 300-350g ağırlığındaki SpragueDawley erkek sıçanlar (n=75) beş eşit gruba ayrılmıştır kontrol (sham-operasyon yapılanlar); 6 hafta PBOO yapılan sıçanlar; 6 hafta PBOO ve NaHS (5.6mg/kg) tedavisi yapılan sıçanlar; 6 hafta PBOO ve tadalafil (2mg/kg) tedavisi yapılan sıçanlar; 6 hafta PBOO ve NaHS ve tadalafil tedavisi yapılan sıçanlar. *In vivo* erekil yanıtlar, intrakavernozal basınç (ICP)/ortalama kan basıncı (MAP) oranları ve total ICP değerleri ölçülerek hesaplanmıştır. *In vitro* deneylerde, kavernosol doku izole edilerek, gevşeme ve kasılma deneyleri ilgili ajanlarla organ banyosunda çalışmalar yapılmıştır. Tüm gruplardan alınan penis dokularında nitrik oksit sentaz (NOS) ve hidrojen sülfür sentaz türevlerinin, hipoksi, oksidatif stres ve fibrozis belirteçlerinin proteinlerinin ekspresyon düzeyleri immünohistokimyasal ve Western blot analizi ile ve bunlara ek olarak, TUNEL metodu ile de apoptozis ve Masson trikrom boyama ile düz kas kollajen oranı tayin edilmiştir. Ayrıca penil dokularda siklik guanozin monofosfat (cGMP), H₂S ve malondialdehid düzeyleri ölçülmüştür. 6 hafta sonunda, PBOO'lu grupta artmış mesane ağırlığı, azalan *in vivo* erekil yanıt ve yine azalan endotel ve nitrejik gevşeme yanıtları bulunmuştu. Tekli tedavi gruplarında bu değişimler kısmen düzelirken, kombine tedavide tamamen düzelmiştir. PBOO'ya bağlı azalan kasılma yanıtları tüm tedavili gruplarda düzelmiştir. Obstrüksiyon sonucunda penil dokuda azalan nöronal NOS ve 3-merkaptopiruvat transferaz enzim ekspresyonları da kombine tedavi ile tamamen düzelmiştir. Tekli tedavi grupları artan hipoksi, oksidatif stres ve fibrozis belirteçlerini, azalan düz kas oranını, cGMP ve H₂S seviyelerini kısmen iyileştirirken, kombine tedavi bu değişimleri tamamen düzeltmiştir.

Çalışmamız sonuçları ilk olarak, obstrüksiyonun neden olduğu olduğu ED, peniste iskemiye bağlı gelişen fonksiyonel ve morfolojik değişiklikler üzerine H₂S donörü ve PDE-5i kombinasyonunun başarılı olduğunu göstermiştir. Eretil fonksiyonun moleküler düzenlenmesinde ve penil dokuda ortaya çıkan etkilerin H₂S ve NO'nun sinerjik etkisine bağlı olabilir ve ED ve BPH/AÜSS hastalarında klinik yarar sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Benign prostat hiperplazisi, erekil disfonksiyon, hidrojen sülfür, parsiyel mesane obstrüksiyonu, tadalafil

SUMMARY

The Effects of Hydrogen Sulfide Donor Sodium Hydrogen Sulfide and Phosphodiesterase Type 5 Inhibitor Tadalafil Treatment on Erectile Dysfunction in a Rat Model with Partially Bladder Outlet Obstruction

Benign prostatic hyperplasia (BPH) is one of the major health problems typically seen in middle-aged and elderly men and causes partial bladder outlet obstruction (PBOO). Clinically, BPH with lower urinary tract symptoms (LUTS) linked to benign prostatic obstruction (BPO) causes erectile dysfunction (ED). Previous studies have shown that the severity of LUTS is related to ED and there are many similar common mechanisms such as increased oxidative stress and inflammation which lead to ED. The aim of this study was to investigate if there is any beneficial effect on ED after treatment, phosphodiesterase type 5 inhibitor (PDE-5i) tadalafil and sodium hydrosulfide (NaHS), a hydrogen sulfide donor, and combinations can be used as a pharmacological agent for the treatment of ED in patients with BPH/LUTS.

Adult Sprague-Dawley rats (n = 75) were equally divided into five groups: 1) sham-operated control; 2) PBOO (6-week); 3) NaHS (6-week, 5.6 mg/kg/day, i.p.)-PBOO; 4) tadalafil (6-week, 2 mg/kg/day, oral)-PBOO; and 5) combination treatment with NaHS and tadalafil in PBOO. PBOO was induced by ligation of the urethra. Erectile response was evaluated by cavernosal nerve stimulation. The relaxant and contractile responses of CC were obtained from organ bath studies. Western blotting and immunohistochemistry were used to determine protein expression and localization of nitric oxide synthase (NOS) and hydrogen sulfide synthase enzymes, oxidative stress, hypoxia and fibrosis markers. The relative area of smooth muscle to collagen using Masson trichrome staining was evaluated. Apoptosis was analyzed using TUNEL assay. In addition, cyclic guanosine monophosphate (cGMP), H₂S and malondialdehyde levels were determined in penile tissues. At the end of 6 weeks, increased bladder weight, decreased *in vivo* erectile function and reduced endothelial and nitrenergic relaxation responses in the PBOO group, which were partially improved with monotherapy while combined therapy recovered completely. Decreased contraction responses induced by PBOO were ameliorated by all treatments. Decreased neuronal NOS and 3-mercaptopyruvate transferase enzyme expressions in penile tissue as a result of obstruction also completely increased with combined treatment. Monotherapy partially improved the levels of increased hypoxia, oxidative stress, and fibrosis markers, decreased smooth muscle mass, cGMP and H₂S levels, while combined therapy completely enhanced.

We firstly pointed out that beneficial combination with H₂S donor and PDE-5i treatment contributed to the restoration of erectile function, the progression of ischemia-associated functional as well as morphological penile alterations in obstruction. H₂S and NO most likely might have a synergistic effect on the structure of penile tissue and molecular modulation of erectile function, and be effective for ameliorating clinical outcomes in men with ED and BPH/LUTS.

Keywords: Benign prostate hyperplasia, erectile dysfunction, hydrogen sulfide, partial bladder outlet obstruction, tadalafil

KAYNAKLAR

- ABDEL AZİZ MT, REZQ AM, ATTA HM, FOUAD H, ZAAHKOUK AM, AHMED HH, SABRY D, YEHİA HM (2015). Molecular signalling of a novel curcumin derivative versus Tadalafil in erectile dysfunction. *Andrologia.*, **47(6)**:616-625.
- ABRAMS P, CARDOZO L, FALL M, GRIFFITHS D, ROSIER P, ULMSTEN U, VAN KERREBROECK P, VICTOR A, WEİN A (2002). Standardisation Subcommittee of the International Continence Society (2002). The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Subcommittee of the International Continence Society. *Neurourology and Urodynamics*, **21**: 167-178 .
- AKIN Y, GULMEZ H, UCAR M, YUCEL S (2013). The effect of first dose of tamsulosin on flow rate and its predictive ability on the improvement of LUTS in men with BPH in the mid-term. *Int Urol Nephrol.*, **45(1)**:45-51.
- AL-SAIKAN B, DING J, TREDGET E, METCALFE P (2016). Benefits of mesenchymal stem cells after partial bladder outlet obstruction. *Canadian Urological Association Journal*, **10(1-2)**:1-6.
- ALTAANY Z, YANG G, WANG R (2013). Crosstalk between hydrogen sulfide and nitric oxide in endothelial cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. **17**: 879–888.
- AMBACHE N, ZAR MA (1970). Non-cholinergic transmission by post-ganglionic motor neurones in the mammalian bladder. *J Physiol.*, **210**: 761-783.
- ANDERSON R (1980). Presentation of the Parke-Davis Award to Carl W. Pierce 1979. *The American journal of pathology* **98**, 7-8.
- ANDERSSON KE (2003). Erectile physiological and pathophysiological pathways involved in erectile dysfunction. *J Urol*. **170**: 6-14.
- ANDERSSON KE (2011). Mechanisms of penile erection and basis for pharmacological treatment of erectile dysfunction. *Pharmacol Rev*, **63(4)**:811-859.
- ANDERSSON KE, GROAT W, MCVARY KT, LUE TF, MAGGI M, ROEHRBORN CG, WYNDAELE JJ, MELBY T, VIKTRUP L (2011). Tadalafil for the treatment of lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia: pathophysiology and mechanism(s) of action. *Neurourology and Urodynamics*, **30(3)**:292-301.
- ANDERSSON KE, NOMIYA M, SAWADA N, YAMAGUCHI O (2014). Pharmacological treatment of chronic pelvic ischemia. *Therapeutic Advances in Urology*, **6(3)**:105-114.

- ANDERSSON KE, UCKERT S, STIEF C, HEDLUND P (2007). Phosphodiesterases (PDEs) and PDE inhibitors for treatment of LUTS. *Neurourol Urodyn.* **26(6 Suppl)**:928-233.
- ANGULO J, CUEVAS P, FERNÁNDEZ A, LA FUENTE JM, ALLONA A, MONCADA I, SÁENZ DE TEJADA I (2012). Tadalafil enhances the inhibitory effects of tamsulosin on neurogenic contractions of human prostate and bladder neck. *J Sex Med.*, **9(9)**:2293-2306.
- AZADZOI KM (2006). Vasculogenic erectile dysfunction: beyond the haemodynamic changes. *BJU international* **97**, 11-16.
- AZADZOI KM, BABAYAN RK, KOZLOWSKI R, SIROKY MB (2003). Chronic ischemia increases prostatic smooth muscle contraction in the rabbit. *J Urol.* **170(2 Pt 1)**:659-663.
- AZADZOI KM, MASTER TA, SIROKY MB (2004). Effect of chronic ischemia on constitutive and inducible nitric oxide synthase expression in erectile tissue. *Journal of Andrology* **25**, 382-388.
- AZADZOI KM, YALLA SV, SIROKY MB (2007). Oxidative stress and neurodegeneration in the ischemic overactive bladder. *The Journal of Urology*, **178(2)**: 710-715.
- BASTASKIN T, KAYA E, OZAKCA I, YILMAZ D, BAYATLI ., AKDEMIR AO, GUR S (2016). Effects of silodosin, a selective alpha-1A adrenoceptor antagonist, on erectile function in a rat model of partial bladder outlet obstruction. *Neurourology and Urodynamics*, **36(3)**:597-603.
- BELTOWSKI J, JAMROZ-WISNIEWSKA A (2014). Hydrogen sulfide and endotheliumdependent vasorelaxation. *Molecules*, **19**; 21183-21199.
- BIBLI SI, YANG G, ZHOU Z, WANG R, TOPOUZIS S, PAPAPETROPOULOS A (2015). Role of cGMP in hydrogen sulfide signaling. *Nitric Oxide*, **46**; 7-13.
- BIR SC, KOLLURU GK, MCCARTHY P, SHEN X, PARDUE S, PATTILLO CB, KEVIL CG (2012). Hydrogen sulfide stimulates ischemic vascular remodeling through nitric oxide synthase and nitrite reduction activity regulating hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor-dependent angiogenesis. *Journal of the American Heart Association*, **1(5)**:e004093.
- BLACK L, NASLUND MJ, GILBERT TD JR, DAVIS EA, OLLENDORF DA (2006). An examination of treatment patterns and costs of care among patients with benign prostatic hyperplasia. *Am J Manag Care*, **12(4 Suppl)**:99-110.
- BLOCH W, KLOTZ T, LOCH C, SCHMIDT G, ENGELMANN U, ADDICKS K (1997). Distribution of nitric oxide synthase implies a regulation of circulation,

- smooth muscle tone, and secretory function in the human prostate by nitric oxide. *Prostate*, **33(1)**:1-8.
- BRAUN M, WASSMER G, KLOTZ T, REIFENRATH B, MATHERS M, ENGELMANN U (2000). Epidemiology of erectile dysfunction: results of the 'Cologne Male Survey'. *International Journal of Impotence Research* **12**, 305-311.
- BRAUN MH, SOMMER F, HAUPT G, MATHERS MJ, REIFENRATH B, ENGELMANN UH (2003). Lower urinary tract symptoms and erectile dysfunction: co-morbidity or typical "Aging Male" symptoms? Results of the "Cologne Male Survey". *European Urology* **44**, 588-594.
- BOOLELL M, GEPI-ATTEE S, GINGELL JC, ALLEN MJ (1996). Sildenafil, a novel effective oral therapy for male erectile dysfunction. *Br J Urol.* **78(2)**:257-261.
- BOSTWICK DG (1992). Prostatic intraepithelial neoplasia (PIN): current concepts. *Journal of Cellular Biochemistry. Supplement* **16H**, 10-19.
- BUCCI M, PAPAPETROPOULOS A, VELLECCO V, ZHOU Z, PYRIOCHOU A, ROUSSOS C, ROVIEZZO F, BRANCALEONE V, CIRINO G (2010). Hydrogen sulfide is an endogenous inhibitor of phosphodiesterase activity. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.*, **30(10)**:1998-2004.
- BUONO R, BRIGANTI A, FRESCHI M, VILLA L, LA CROCE G, MOSCHINI M, BENIGNI F, CASTIGLIONE F, MONTORSI F, HEDLUND P (2014). Silodosin and tadalafil have synergistic inhibitory effects on nerve-mediated contractions of human and rat isolated prostates. *European Journal of Pharmacology.*, **744**:42-51.
- BURNSTOCK G (1977). Cholinergic, adrenergic, and purinergic neuromuscular transmission. *Federation Proceedings* **36**, 2434-2438.
- CHANG S., HYPOLITE J.A., ZDERIC S.A., WEIN A.J., CHACKO S., DISANTO M.E. (2005). Increased corpus cavernosum smooth muscle tone associated with partial bladder outlet obstruction is mediated via Rho-kinase. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, **289**: 1124-1130.
- CHRIST G.J., ANDERSSON K.E. (2007). Rho-kinase and effects of Rho-kinase inhibition on the lower urinary tract. *Neurourol Urodyn*, **26 (Suppl. 6)**: 948-954.
- CHUNG BH, LEE JY, KIM CI, KIM CS, OH CY, LEE SW, LEE JS, YOO SJ (2009). Sexuality and the management of BPH with alfuzosin (SAMBA) trial. *Int J Impot Res.*, **21(1)**:68-73.
- COHEN PG (2012). Intra-abdominal pressure, LUTS, and tadalafil. Re: Andersson K-E, et al. tadalafil for the treatment of lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia: pathophysiology and mechanism(s) of action. *Neurourol urodyn*;30:292-301. *Neurourol Urodyn.*, **31(5)**: 706.

- COLETTA C, PAPAPETROPOULOS A, ERDELYI K, OLAH G, MÓDIS K, PANOPOULOS P, ASIMAKOPOULOU A, GERÖ D, SHARINA I, MARTIN E, SZABO C (2012). Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A.*, **109(23)**:9161-9166.
- COMITER C, PHULL HS (2012). Angiotensin II type 1 (AT-1) receptor inhibition partially prevents the urodynamic and detrusor changes associated with bladder outlet obstruction: a mouse model. *BJU International*, **109(12)**:1841-1846.
- CORONA G, TIRABASSI G, SANTI D, MASEROLI E, GACCI M, DICUIO M, SFORZA A, MANNUCCI E, MAGGI M (2017). Sexual dysfunction in subjects treated with inhibitors of 5 α -reductase for benign prostatic hyperplasia: a comprehensive review and meta-analysis. *Andrology*, **5(4)**:671.
- CRAWFORD ED, WILSON SS, MCCONNELL JD, SLAWIN KM, LIEBER MC, SMITH JA, MEEHAN AG, BAUTISTA OM, NOBLE WR, KUSEK JW, NYBERG LM, ROEHRBORN CG; MTOPS RESEARCH GROUP (2006). Baseline factors as predictors of clinical progression of benign prostatic hyperplasia in men treated with placebo. *Journal of Urology* ;**175(4)**:1422–1427.
- DAYAR E, KARA E, YETIK-ANACAK G, HOCAOGLU N, BOZKURT O, GIDENER S, DURMUS N (2018). Do penile haemodynamics change in the presence of hydrogen sulphide (H₂ S) donor in metabolic syndrome-induced erectile dysfunction?, *Andrologia.*, **50(3)**.
- DEMIR O, MURAT N., ASLAN G, GIDENER S, ESEN AA (2006). Effect of doxazosin with and without rho-kinase inhibitor on human corpus cavernosum smooth muscle in the presence of bladder outlet obstruction. *Journal of Urology* **175(6)**:2345-2349.
- DEMIR O, OZDEMIR I, BOZKURT O, ASLAN G, ESEN AA (2009). The effect of alpha-blocker therapy on erectile functions in patients with lower urinary tract symptoms due to benign prostate hyperplasia. *Asian J Androl.*, **11(6)**:716-722.
- d'EMMANUELE DI VILLA BIANCA R, SORRENTINO R, MAFFIA P, MIRONE V, IMBIMBO C, FUSCO F, DE PALMA R, IGNARRO LJ, CIRINO G (2009). Hydrogen sulfide as a mediator of human corpus cavernosum smooth muscle relaxation. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*, **106**:4513–4518.
- DE ROSE AF, CARMIGNANI G, CORBU C, GIGLIO M, TRAVERSO P, NASELLI A, BELGRANO E, CATUOGNO C, FONTANA D, MAVER A, MIRONE V, MUZZONIGRO G, DI TRAPANI D, BONINI F (2002). Observational multicentric trial performed with doxazosin: evaluation of sexual effects on patients with diagnosed benign prostatic hyperplasia. *Urol Int.*;**68(2)**:95-98.

- DEY A, LANG RJ, EXINTARIS B (2012). Nitric oxide signaling pathways involved in the inhibition of spontaneous activity in the guinea pig prostate. *J Urol.* **187(6)**:2254-2260.
- DJAVAN B, MARBERGER M (1999). A meta-analysis on the efficacy and tolerability of alpha1-adrenoceptor antagonists in patients with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic obstruction. *Eur Urol*; **36**:1.
- EGERDIE RB, AUERBACH S, ROEHRBORN CG, COSTA P, GARZA MS, ESLER AL, WONG DG, SECREST RJ (2012). Tadalafil 2.5 or 5 mg administered once daily for 12 weeks in men with both erectile dysfunction and signs and symptoms of benign prostatic hyperplasia: results of a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *J Sex Med.*, **9(1)**:271-281.
- EKMAN M, BHATTACHARIYA A, DAHAN D, UVELIUS B, ALBINSSON S, SWÄRD K (2013). Mir-29 repression in bladder outlet obstruction contributes to matrix remodeling and altered stiffness. *PLoS One*, **8(12)**:e82308.
- EL MELEGY NT, ALÌ ME, AWAD EM (2005). Plasma levels of endothelin-1, angiotensin II, nitric oxide and prostaglandin E in the venous and cavernosal blood of patients with erectile dysfunction. *BJU Int*, **96**: 1079-1086.
- ERTEMI H, LAU DH, MIKHAILIDIS DP, MUMTAZ FH, THOMPSON CS (2013). Angiotensin II increases corpus cavernosal contractility and oxidative stress in partial bladder outlet obstructed rabbits: relevance to erectile dysfunction. *The Journal of Sexual Medicine*, **10(5)**:1251-1258.
- FELSEN D, DARDASHTI K, OSTAD M, LEMER ML, GROSS SS, CHEN J, VAUGHAN ED JR, POPPAS DP (2003). Inducible nitric oxide synthase promotes pathophysiological consequences of experimental bladder outlet obstruction. *J Urol.*, **169(4)**:1569-1572.
- FERNANDES VS, XIN W, PETKOV GV (2015). Novel mechanism of hydrogen sulfide-induced guinea pig urinary bladder smooth muscle contraction: role of BK channels and cholinergic neurotransmission. *Am J Physiol Cell Physiol.*, **309(2)**:107-116.
- FILIPPI S, MORELLI A, SANDNER P, FIBBI B, MANCINA R, MARINI M, GACCI M, VIGNOZZI L, VANNELLI GB, CARINI M, FORTI G, MAGGI M (2007). Characterization and functional role of androgen-dependent PDE5 activity in the bladder. *Endocrinology*, **148(3)**:1019-1029.
- FILSON CP, WEI JT, HOLLINGSWORTH JM (2013). Trends in medical management of men with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia. *Urology*, **82(6)**: 1386-1392.

- FINN DA, BEADLES-BOHLING AS, BECKLEY EH, FORD MM, GILILLAND KR, GORIN-MEYER RE, WIREN KM (2006). A new look at the 5 α -reductase inhibitor finasteride. *CNS Drug Rev.*, **Spring**;12(1):53-76.
- FUSCO F, DI VILLA BIANCA RD, MITIDIERI E, CIRINO G, SORRENTINO R, MIRONE V (2012). Sildenafil effect on the human bladder involves the L-cysteine/hydrogen sulfide pathway: a novel mechanism of action of phosphodiesterase type 5 inhibitors. *European Urology.*, **62(6)**:1174-1180.
- GACCI M, DEL POPOLO G, MACCHIARELLA A, CELSO M, VITTORI G, LAPINI A, SERNI S, SANDNER P, MAGGI M, CARINI M (2007). Vardenafil improves urodynamic parameters in men with spinal cord injury: results from a single dose, pilot study. *J Urol.*, **178(5)**:2040-2043.
- GACCI M, FICARRA V, SEBASTIANELLI A, CORONA G, SERNI S, SHARIAT SF, MAGGI M, ZATTONI F, CARINI M, NOVARA G (2014). Impact of medical treatments for male lower urinary tract symptoms due to benign prostatic hyperplasia on ejaculatory function: a systematic review and meta-analysis. *J Sex Med*; **11**:1554.
- GIULIANO F (2006). Impact of medical treatments for benign prostatic hyperplasia on sexual function. *BJU Int*; **97 Suppl 2**:34.
- GIULIANO F (2008). Lower urinary tract symptoms and sexual dysfunction: a common approach. *BJU Int*; **101 Suppl 3**:22-26.
- GOI Y, TOMIYAMA Y, NOMIYA M, SAGAWA K, AIKAWA K, YAMAGUCHI O (2013). Effects of silodosin, a selective α 1A-adrenoceptor antagonist, on bladder blood flow and bladder function in a rat model of atherosclerosis induced chronic bladder ischemia without bladder outlet obstruction. *J Urol.*, **190(3)**:1116-1122.
- GOI Y, TOMIYAMA Y, YOKOYAMA A, TATEMACHI S, MARUYAMA K, KOBAYASHI M, YAMAGUCHI O (2015). Effect of silodosin, a selective α (1A)-adrenoceptor antagonist, on voiding behavior and bladder blood flow in a rat model of bladder outlet obstruction. *Eur J Pharmacol.*, **764**:489-496.
- GOLDENBERG SL (1997). Prostatism: nature of the symptoms. *The Canadian journal of urology* **4**, 3-5.
- GOLDSTEIN I, LUE TF, PADMA-NATHAN H, ROSEN RC, STEERS WD, WICKER PA (1998). Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. Sildenafil Study Group. *N Engl J Med.*, **338(20)**:1397-1404.
- GOLOMB E, ROSENZWEIG N, EILAM R, ABRAMOVICI A (2000). Spontaneous hyperplasia of the ventral lobe of the prostate in aging genetically hypertensive rats. *J Androl.*, **21**: 58-64.

- GORMLEY GJ, STONER E, BRUSKEWITZ RC, IMPERATO-MCGINLEY J, WALSH PC, MCCONNELL JD, ANDRIOLE GL, GELLER J, BRACKEN BR, TENOVER JS, VAUGHAN, D, PAPPAS F, TAYLOR A, BINKOWITZ B, JENNIFER NG, (1992). The effect of finasteride in men with benign prostatic hyperplasia. The Finasteride Study Group. *N Engl J Med.*, **327(17)**:1185-1191.
- GUO H, GAI JW, WANG Y, JIN HF, DU JB, JIN J (2012). Characterization of hydrogen sulfide and its synthases, cystathionine b-synthase and cystathionine g-lyase, in human prostatic tissue and cells. *Urology*; **79**:483.1–5.
- GUR S, KADOWITZ PJ, HELLSTROM WJ (2008). Guide to drug therapy for lower urinary tract symptoms in patients with benign prostatic obstruction : implications for sexual dysfunction. *Drugs*; **68(2)**:209-229.
- GUR S, KADOWITZ PJ, SIKKA SC, PEAK TC, HELLSTROM WJ (2015). Overview of potential molecular targets for hydrogen sulfide: A new strategy for treating erectile dysfunction. *Nitric Oxide*. **14**;50:65-78.
- GUR S, SIKKA SC, CHANDRA S, KOKA PS, AGRAWAL KC, KADOWITZ PJ, HELLSTROM WJ (2008). Alfuzosin attenuates erectile dysfunction in rats with partial bladder outlet obstruction. *BJU International*, **102(11)**:1651-1657.
- GUR S, YURDAARMAGAN B, BAYATLI N, SIKKA SC (2016). Effect of short- and long-term sildenafil treatment on erectile dysfunction in rats with partial bladder outlet obstruction. *Neurourology and Urodynamics*,**35(1)**:108-114.
- HAMILTON RJ, ANDRIOLE GL, FREEDLAND SJ. 5alpha-reductase inhibitors: preventing the treatable. *Eur Urol.*, **62(2)**: 242-244.
- HSIEH JT, KUO KL, LIU SH, SHI C., CHANG HC, LIN WC, CHOU CT, HSU C.H., LIAO SM, WANG ZH, LI CC, HUANG KH (2016). Epigallocatechin Gallate Attenuates Partial Bladder Outlet Obstruction-induced Bladder Injury via Suppression of Endoplasmic Reticulum Stress-related Apoptosis-In Vivo Study. *Urology*, **91**:242.1-9.
- HUANG YM, XIA JY, JIANG R (2014). Expressions of CSE and CBS in the penile corpus cavernosum of hyperglycemia rats and their implications. *Zhonghua Nan Ke Xue.*, **20**:299.
- IGNARRO LJ, BUSH PA, BUGA GM, WOOD KS, FUKUTO JM, RAJFER J (1990). Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle *Biochem Biophys Res Commun*. **170(2)**:843-850.
- Irwin DE, Milsom I, Hunskaar S, Reilly K, Kopp Z, Herschorn S, Coyne K, Kelleher C, Hampel C, Artibani W, Abrams P (2006). Population-based survey of urinary incontinence, overactive bladder, and other lower urinary tract symptoms in five countries: results of the EPIC study. *European urology*, **50**, 1306-1314.

- JIANG X, CHEN Y, ZHU H, WANG B, QU P, CHEN R, SUN X (2015). Sodium Tanshinone IIA Sulfonate Ameliorates Bladder Fibrosis in a Rat Model of Partial Bladder Outlet Obstruction by Inhibiting the TGF- β /Smad Pathway Activation. *PLoS One*, **10**;10(6):e0129655.
- JUPITER RC, YOO D, PANKEY EA, REDDY VV, EDWARD JA, POLHEMUS DJ, PEAK TC, KATAKAM P, KADOWITZ PJ (2015). Analysis of erectile responses to H₂S donors in the anesthetized rat. *The American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, **309**(5): 835-843.
- KABIL O, MOTL N, BANERJEE R (2014). H₂S and its role in redox signaling, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1844**; 1355-1366.
- KAWAI Y, OKA M, YOSHINAGA R, FUCHIKAMI C, OYAMA T (2016). Effects of the phosphodiesterase 5 inhibitor Tadalafil on bladder function in a rat model of partial bladder outlet obstruction. *Neurourology and Urodynamics.*, **35**(4):444-449.
- KIM SW, PARK NC, LEE SW, YANG DY, PARK JK, MOON DG, YANG SK, LEE SW, MOON KH, AHN TY, KIM SW, PARK K, MIN KS, RYU JK, SON H, JUNG J, HYUN JS (2017). Efficacy and safety of a fixed-dose combination therapy of tamsulosin and tadalafil for patients with lower urinary tract symptoms and erectile dysfunction: Results of a randomized, double-blinded, active-controlled trial. *The Journal of Sexual Medicine*, **14**(8):1018-1027.
- KIMURA H (2014). The physiological role of hydrogen sulfide and beyond. *Nitric Oxide*, **41**; 4-10.
- KIRBY RS, O'LEARY MP, CARSON C (2005). Efficacy of extended-release doxazosin and doxazosin standard in patients with concomitant benign prostatic hyperplasia and sexual dysfunction. *BJU Int.*, **95**(1):103-119.
- KIRBY RS, ROEHRBORN C, BOYLE P, BARTSCH G, JARDIN A, CARY MM, SWEENEY M, GROSSMAN EB; Prospective European Doxazosin and Combination Therapy Study Investigators (2003). Efficacy and tolerability of doxazosin and finasteride, alone or in combination, in treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia: the Prospective European Doxazosin and Combination Therapy (PREDICT) trial. *Urology*, **61**(1):119-126.
- KOBAYASHI K, KATO R, HISASUE S, YAMASHITA S, TANAKA T, MASUMORI N, TSUKAMOTO T (2011). Animal model for the study of the relationship between lower urinary tract symptoms/bladder outlet obstruction and erectile dysfunction. *International Journal of Urology*, **18**(10):710-715.
- KOVANECZ I, RAMBHATLA A, FERRINI MG, VERNET D, SANCHEZ S, RAJFER J, GONZALEZ-CADAVID N (2008). Chronic daily tadalafil prevents the corporal fibrosis and veno-occlusive dysfunction that occurs after cavernosal nerve resection. *BJU Int.*, **101**(2):203-210.

- KRAMBECK AE, JACOBSON DJ, MCGREE ME, LIGHTNER DJ, LIEBER MM, JACOBSEN SJ, ST SAUVER JL (2012). Effectiveness of medical and surgical therapies for lower urinary tract symptoms in the community setting. *BJU International.*, **110(9)**:1332–1337.
- LEE M. (2000). Tamsulosin for the treatment of benign prostatic hypertrophy. *Ann Pharmacother*; **34**:188.
- LEPOR H, HILL LA (2010). Silodosin for the treatment of benign prostatic hyperplasia: pharmacology and cardiovascular tolerability. *Pharmacotherapy*, **30(12)**: p. 1303-1312.
- LEPOR H, WILLIFORD WO, BARRY MJ, HAAKENSEN C, JONES K (1998). The impact of medical therapy on bother due to symptoms, quality of life and global outcome, and factors predicting response. Veterans Affairs Cooperative Studies Benign Prostatic Hyperplasia Study Group. *J Urol.*, **160**: 1358-1367.
- LI H, WANG Y, WEI C, BAI S, ZHAO Y, LI H, WU B, WANG R, WU L, XU C (2015). Mediation of exogenous hydrogen sulfide in recovery of ischemic postconditioning- induced cardioprotection via down-regulating oxidative stress and up-regulating PI3K/Akt/GSK-3beta pathway in isolated aging rat hearts. *Cell Biosci.*, **5**; 11.
- LIN WY, CHANG PJ, LIN YP, WU SB, CHEN CS, LEVIN RM, WEI YH (2012). Increased penile expression of transforming growth factor and elevated systemic oxidative stress in rabbits with chronic partial bladder outlet obstruction. *International Journal of Andrology*, **35(1)**:79-85.
- LIN WY, MANNIKAROTTU A, CHICHESTER P, GUVEN A, JOHNSON A, NEUMAN P, JUAN YS, SCHULER C, KOGAN B, LEVIN RM (2008). Changes in the smooth muscle of the corpora cavernosum related to reversal of partial bladder outlet obstruction in rabbits. *Journal of Andrology*, **29(2)**:164-171.
- LIN WY, MANNIKAROTTU A, CHICHESTER P, NEUMAN P, JOHNSON A, PÉREZ-MARTÍNEZ FC, LEVIN RM (2008). The effect of chronic partial bladder outlet obstruction on corpus cavernosum smooth muscle and Rho-kinase in rabbits. *Neurourology and Urodynamics*, **27(8)**:826-831.
- Liu L, Zheng S, Han P, Wei Q (2011). Phosphodiesterase-5 inhibitors for lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia: a systematic review and meta-analysis. *Urology*, **77**:123.
- LO FARO ML, FOX B, WHATMORE JL, WINYARD PG, WHITEMAN M (2014). Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation. *Nitric Oxide*, **41**; 38-47.

- Lue TF (2000). Erectile dysfunction. *The New England Journal of Medicine*, **342(24)**: 1802-1813.
- LUKACS B (1999). Management of symptomatic BPH in France: who is treated and how?. *European urology*, **36 Suppl 3**, 14-20.
- MACIEJEWSKI CC, TREDGET EE, METCALFE PD (2015). Urodynamic improvements following oral medical therapy for partial bladder outlet obstruction in an animal model. *Neurourology and Urodynamics*, **34(3)**:286-291.
- MALYKHINA AP, LEI Q, CHANG S, PAN XQ, VILLAMOR AN, SMITH AL, SEFTEL AD (2013). Bladder outlet obstruction triggers neural plasticity in sensory pathways and contributes to impaired sensitivity in erectile dysfunction. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **304(10)**:837-845.
- MANJUNATHA R, PUNDARIKAKSHA HP, MADHUSUDHANA HR, AMARKUMAR J, HANUMANTHARAJU BK (2016). A randomized, comparative, open-label study of efficacy and tolerability of alfuzosin, tamsulosin and silodosin in benign prostatic hyperplasia. *Indian J Pharmacol.*, **48(2)**:134-140.
- MARKS LS, GITTELMAN MC, HILL LA, VOLINN W, HOEL G (2009). Rapid efficacy of the highly selective alpha1A-adrenoceptor antagonist silodosin in men with signs and symptoms of benign prostatic hyperplasia: pooled results of 2 phase 3 studies. *J Urol.*, **181(6)**:2634-2640.
- MARTÍNEZ-SALAMANCA JI, ZURITA M, COSTA C, MARTÍNEZ-SALAMANCA E, FERNÁNDEZ A, CASTELA A, VAQUERO J, CARBALLIDO J, ANGULO J (2016). Dual Strategy With Oral Phosphodiesterase Type 5 Inhibition and Intracavernosal Implantation of Mesenchymal Stem Cells Is Superior to Individual Approaches in the Recovery of Erectile and Cavernosal Functions After Cavernous Nerve Injury in Rats. *The Journal of Sexual Medicine*, **13(1)**:1-11.
- MAZUCCO R (2001). American Urological Association - 96th Annual Meeting. 2-7 June 2001, Anaheim, CA, USA. *IDrugs : the investigational drugs journal*, **4**, 892-895.
- MENG J, GANESAN ADAIKAN P, SRILATHA B (2013). Hydrogen sulfide promotes nitric oxide production in corpus cavernosum by enhancing expression of endothelial nitric oxide synthase. *International Journal of Impotence Research*, **25(3)**:86-90.
- MCCONNELL JD, BRUSKEWITZ R, WALSH P, ANDRIOLE G, LIEBER M, HOLTGREWE HL, ALBERTSEN P, ROEHRBORN CG, NICKEL JC, WANG DZ, TAYLOR AM, WALDSTREICHER J (1998). The effect of finasteride on the risk of acute urinary retention and the need for surgical treatment among men with

- benign prostatic hyperplasia. Finasteride Long-Term Efficacy and Safety Study Group. *N Engl J Med.*, **338(9)**:557-563.
- MCVARY KT (2005). Erectile dysfunction and lower urinary tract symptoms secondary to BPH. *European Urology*, **47(6)**: p. 838-845.
- MCVARY KT, RADEMAKER A, LLOYD GL, GANN P (2005). Autonomic nervous system overactivity in men with lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia. *J Urol.*, **174**: 1327-1433.
- MCVARY KT, ROEHRBORN CG, AVINS AL, BARRY MJ, BRUSKEWITZ RC, DONNELL RF, FOSTER HE JR, GONZALEZ CM, KAPLAN SA, PENSON DF, ULCHAKER JC, WEI JT (2011). Update on AUA guideline on the management of benign prostatic hyperplasia. *J Urol.*, **185(5)**:1793-1803.
- MCVARY KT, ROEHRBORN CG, KAMINETSKY JC, AUERBACH SM, WACHS B, YOUNG JM, ESLER A, SIDES GD, DENES BS (2007). Tadalafil relieves lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia. *J Urol.*, **177(4)**:1401-1407.
- MORANT S, BLOOMFIELD G, VATS V, CHAPPLE C (2009). Increased sexual dysfunction in men with storage and voiding lower urinary tract symptoms. *The Journal of Sexual Medicine*, **6(4)**:1103-1110.
- MORELLI A, SARCHIELLI E, COMEGLIO P, FILIPPI S, MANCINA R, GACCI M, VIGNOZZI L, CARINI M, VANNELLI GB, MAGGI M (2011). Phosphodiesterase type 5 expression in human and rat lower urinary tract tissues and the effect of tadalafil on prostate gland oxygenation in spontaneously hypertensive rats. *The Journal of Sexual Medicine*, **8(10)**:2746-2760.
- MOSTAFA T, RASHED L, KOTB K, TAYMOUR M (2012). Effect of testosterone and frequent low-dose sildenafil/tadalafil on cavernous tissue oxidative stress of aged diabetic rats. *Andrologia.*, **44(6)**:411-415.
- MYSORE V (2012). Finasteride and sexual side effects. *Indian Dermatol Online J.*, **3(1)**:62-65.
- NOMIYA M, BURMEISTER DM, SAWADA N, CAMPEAU L, ZARIFPOUR M, KEYS T, PEYTON C, YAMAGUCHI O, ANDERSSON KE (2013). Prophylactic effect of tadalafil on bladder function in a rat model of chronic bladder ischemia. *J Urol.*, **189(2)**:754-761.
- OELKE M, GIULIANO F, MIRONE V, XU L, COX D, VIKTRUP L (2012). Monotherapy with tadalafil or tamsulosin similarly improved lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia in an international, randomised, parallel, placebo-controlled clinical trial. *Eur Urol.*, **61(5)**:917-925.

- OELKE M, WAGG A, TAKITA Y, BUTTNER H, VIKTRUP L (2017). Efficacy and safety of tadalafil 5 mg once daily in the treatment of lower urinary tract symptoms associated with benign prostatic hyperplasia in men aged ≥ 75 years: integrated analyses of pooled data from multinational, randomized, placebo-controlled clinical studies. *BJU Int.*, **119(5)**:793-803.
- PATACCHINI R, SANTICIOLI P, GIULIANI S, MAGGI CA (2004). Hydrogen sulfide (H₂S) stimulates capsaicin-sensitive primary afferent neurons in the rat urinary bladder. *British Journal of Pharmacology*, **142**:31–34.
- PALEA S, M BARRAS (2003). Comparison of the relaxant effects of alfuzosin, phentolamine and sildenafil on rabbit isolated corpus cavernosum. *BJU Int.*, **91(9)**: 873-877.
- PORST H, KIM ED, CASABÉ AR, MIRONE V, SECREST RJ, XU L, SUNDIN DP, VIKTRUP L (2011). Efficacy and safety of tadalafil once daily in the treatment of men with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia: results of an international randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *European Urology*, **60(5)**:1105-1113.
- PORST H, OELKE M, GOLDFISCHER ER, COX D, WATTS S, DEY D, VIKTRUP L (2013). Efficacy and safety of tadalafil 5 mg once daily for lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia: subgroup analyses of pooled data from 4 multinational, randomized, placebo-controlled clinical studies. *Urology*, **82(3)**:667-673.
- REES RW, FOXWELL NA, RALPH DJ, KELL PD, MONCADA S, CELLEK S (2003). Y-27632, a Rho-kinase inhibitor, inhibits proliferation and adrenergic contraction of prostatic smooth muscle cells. *J Urol.*, **170(6 Pt 1)**:2517-2522.
- REGADAS RP, REGES R, CERQUEIRA JB, SUCUPIRA DG, JAMACARU FV, MORAES MO, GONZAGA-SILVA LF (2014). Effects of chronic administration of tamsulosin and tadalafil, alone or in combination, in rats with bladder outlet obstruction induced by chronic nitric oxide deficiency. *Int Braz J Urol.*, **40(4)**:546-552.
- ROEHRBORN CG (2004). The clinical benefits of dutasteride treatment for LUTS and BPH. *Rev Urol.*, **6 (Suppl. 9)**: 22-30.
- ROEHRBORN CG, BARKIN J, SIAMI P, TUBARO A, WILSON TH, MORRILL BB, GAGNIER RP (2011). Clinical outcomes after combined therapy with dutasteride plus tamsulosin or either monotherapy in men with benign prostatic hyperplasia (BPH) by baseline characteristics: 4-year results from the randomized, double-blind Combination of Avodart and Tamsulosin (CombAT) trial. *BJU International*, **107(6)**:946–954.
- ROEHRBORN CG, BARTSCH G, KIRBY R, ANDRIOLE G, BOYLE P, DE LA ROSETTE J, PERRIN P, RAMSEY E, NORDLING J, DE CAMPOS FREIRE G,

- ARAP S (2001). Guidelines for the diagnosis and treatment of benign prostatic hyperplasia: a comparative, international overview. *Urology*, **58**: 642-650..
- ROEHRBORN CG, BOYLE P, NICKEL JC, HOEFNER K, ANDRIOLE G; ARIA3001 ARIA3002 and ARIA3003 Study Investigators (2002). Efficacy and safety of a dual inhibitor of 5-alpha-reductase types 1 and 2 (dutasteride) in men with benign prostatic hyperplasia. *Urology*., **60(3)**:434-441.
- ROEHRBORN CG, NUCKOLLS JG, WEIJT, STEERS W; BPH Registry and Patient Survey Steering Committee (2007). The benign prostatic hyperplasia registry and patient survey: study design, methods and patient baseline characteristics. *BJU Int.*, **100(4)**:813-819.
- ROEHRBORN CG, VAN KERREBROECK P, NORDLING J (2003). Safety and efficacy of alfuzosin 10 mg once-daily in the treatment of lower urinary tract symptoms and clinical benign prostatic hyperplasia: a pooled analysis of three double-blind, placebo-controlled studies. *BJU Int*; **92**:257.
- ROSEN R, ALTWEIN J, BOYLE P, KIRBY RS, LUKACS B, MEULEMAN E, O'LEARY MP, PUPPO P, ROBERTSON C, GIULIANO F (2003). Lower urinary tract symptoms and male sexual dysfunction: the multinational survey of the aging male (MSAM-7). *European Urology*, **44(6)**:637-649.
- ROSEN RC, CATANIA J, POLLACK L, ALTHOF S, O'LEARY M, SEFTEL AD (2004). Male Sexual Health Questionnaire (MSHQ): scale development and psychometric validation. *Urology*, **64**, 777-782.
- ROSEN RC, GIULIANO F, CARSON CC (2005). Sexual dysfunction and lower urinary tract symptoms (LUTS) associated with benign prostatic hyperplasia (BPH). *European Urology*, **47(6)**:824-37.
- SAFARINEJAD MR (2003). Prevalence and risk factors for erectile dysfunction in a population-based study in Iran. *International Journal of Impotence Research*, **15(4)**:246-252.
- SAITO M, WEIN AJ, LEVIN RM (1993). Effect of partial outlet obstruction on contractility: comparison between severe and mild obstruction. *Neurourol Urodyn.*, **12**:573-583.
- SANO H, MITSUI T, KANNO Y, MORIYA K, TANAKA H, KITTA T, NONOMURA K (2012). Stromal cell-derived factor 1 α induces accumulation of ,ntravenously administered marrow-derived stromal cells in the partially obstructed rat bladder. *Lower Urinary Tract Symptoms*, **4(3)**:154-160.
- SCHAFFER W, ABRAMS P, LIAO L, MATTIASSON A, PESCE F, SPANBERG A, STERLING AM, ZINNER NR, VAN KERREBROECK P, Society International Continence (2002). Good urodynamic practices: uroflowmetry, filling

- cystometry, and pressure-flow studies. *Neurourology and Urodynamics*, **21**, 261-274.
- SCHRODER A, COLLÌ E, MAGGI M, ANDERSSON KE (2006). Effects of a vitamin D (3) analogue in a rat model of bladder outlet obstruction. *BJU Int.*, **98**:637–642.
- SCHWİNN DA, PRICE DT, NARAYAN P (2004). alpha1-Adrenoceptor subtype selectivity and lower urinary tract symptoms. *Mayo Clin Proc.*, **79**:14-23.
- SEFTEL AD, DE LA ROSETTE J, BIRT J, PORTER V, ZAROTSKY V, VIKTRUP L (2013). Coexisting lower urinary tract symptoms and erectile dysfunction: a systematic review of epidemiological data. *International Journal of Clinical Practice*; **67(1)**:32-45.
- SEZGINER EK, YILMAZ-ORAL D, LOKMAN U, NEBIOGLU S, AKTAN F, GUR S (2018). Effects of varying degrees of partial bladder outlet obstruction on urinary bladder function of rats: A novel link to inflammation, oxidative stress and hypoxia. *Lower urinary tract symptoms*, 2017 Dec 28.
- SHIMIZU S, SHIMIZU T, TSOUNAPI P, HIGASHI Y, MARTIN DT, NAKAMURA K, HONDA M, INOUE , SAITO M (2015). Effect of Silodosin, an Alpha1A-Adrenoceptor Antagonist, on Ventral Prostatic Hyperplasia in the Spontaneously Hypertensive Rat. *PLoS One*, **10(8)**:e0133798.
- SINGH DV, METE UK, MANDAL AK, SINGH SK (2014). A comparative randomized prospective study to evaluate efficacy and safety of combination of tamsulosin and tadalafil vs. tamsulosin or tadalafil alone in patients with lower urinary tract symptoms due to benign prostatic hyperplasia. *J Sex Med.*, **11(1)**:187-196.
- SNIJDER PM, DE BOER RA, BOS EM, VAN DEN BORN JC, RUIFROK WP, VREESWIJK-BAUDOIN I, VAN DIJK MC, HILLEBRANDS JL, LEUVENINK HG, VAN GOOR H (2013). Gaseous hydrogen sulfide protects against myocardial ischemiareperfusion injury in mice partially independent from hypometabolism. *PLoS One*, **8**; e63291.
- SNIJDER PM, FRENAY AR, DE BOER AR, PASCH A, HILLEBRANDS JL, LEUVENINK HGD, VAN GOOR H (2015). Exogenous administration of thiosulfate, a donor of hydrogen sulfide, attenuates angiotensin II-induced hypertensive heart disease in rats. *British Journal of Pharmacology*, **68(6)**:1757-1764.
- SOMLYO AP, SOMLYO AV (2000). Signal transduction by G-proteins, Rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non smooth muscle myosin II. *J Physiol.*, **522**: 177-185.

- SRILATHA B, ADAIKAN PG, LI L, MOORE PK (2007). Hydrogen sulphide: a novel endogenous gasotransmitter facilitates erectile function. *The Journal of Sexual Medicine*, **4(5)**:1304-1311.
- TAVUKÇU HH, SENER TE, TINAY I, AKBAL C, ERŞAHIN M, CEVIK O, CADIRCI S, REITER RJ, SENER G (2014). Melatonin and tadalafil treatment improves erectile dysfunction after spinal cord injury in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.*, **41(4)**:309-316.
- TAYLOR JA, ZHU Q, IRWIN B, MAGHAYDAH Y, TSIMIKAS J, PILBEAM C, LENG L, BUCALA R, KUCHEL GA (2006). Null mutation in macrophage migration inhibitory factor prevents muscle cell loss and fibrosis in partial bladder outlet obstruction. *The American Journal of Physiology - Renal Physiology*, **291(6)**:1343-1353.
- TAKEDA M, YOKOYAMA O, YOSHIDA M, NISHIZAWA O, HIRATA K, NAKAOKA R, TAKITA Y, MURAKAMI M (2017). Safety and efficacy of the combination of once-daily tadalafil and alpha-1 blocker in Japanese men with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia: A randomized, placebo-controlled, cross-over study. *International Journal of Urology*, **24(7)**:539-547.
- TENOVER JL, PAGANO GA, MORTON AS, LISS CL, BYRNES CA (1997). Efficacy and tolerability of finasteride in symptomatic benign prostatic hyperplasia: a primary care study. Primary Care Investigator Study Group. *Clin Ther.*, **19(2)**:243-258.
- TRAISH AM, HASSANI J, GUAY AT, ZITZMANN M, HANSEN ML (2011). Adverse side effects of 5 α -reductase inhibitors therapy: persistent diminished libido and erectile dysfunction and depression in a subset of patients. *J Sex Med.*, **8(3)**:872-884.
- TRAISH AM, NETSUWAN N, DALEY J, PADMAN-NATHAN H, GOLDSTEIN I, SAENZ DE TEJADA I (1995). A heterogeneous population of alpha 1 adrenergic receptors mediates contraction of human corpus cavernosum smooth muscle to norepinephrine. *Journal of Urology*, **153(1)**:222-227.
- TSUJII T (2000). Comparison of prazosin, terazosin and tamsulosin in the treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia: a short-term open, randomized multicenter study. BPH Medical Therapy Study Group. Benign prostatic hyperplasia. *Int J Urol.*, **7(6)**:199-205.
- TUBARO A, DE NUNZIO C, TRUCCHI A, PALLESCHI G, MIANO L (2005). The effect of bladder outlet obstruction treatment on ultrasound-determined bladder wall thickness. *Rev Urol.*, **7(suppl 6)**:35-42.
- UCKERT S, OELKE M, STIEF CG, ANDERSSON KE, JONAS U, HEDLUND P (2006). Immunohistochemical distribution of cAMP- and cGMP-

- phosphodiesterase (PDE) isoenzymes in the human prostate. *Eur Urol.*, **49(4)**:740-7455.
- UCKERT S, SORMES M, KEDIA G, SCHELLER F, KNAPP WH, JONAS U, STIEF CG (2008). Effects of phosphodiesterase inhibitors on tension induced by norepinephrine and accumulation of cyclic nucleotides in isolated human prostatic tissue. *Urology*, **71(3)**:526-530.
- VIGNOZZI L, FILIPPI S, COMEGLIO P, CELLAI I, MORELLI A, MANESCHI E, SARCHIELLI E, GACCI M, CARINI M, VANNELLI GB, MAGGI M (2014). Tadalafil effect on metabolic syndrome-associated bladder alterations: an experimental study in a rabbit model. *The Journal of Sexual Medicine*, **11(5)**:1159-1172.
- WANG R (2002). Two's company, three's a crowd: Can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? *The Federation of American Societies for Experimental Biology*, **16(13)**:1792-1798.
- WELLIVER C, BUTCHER M, POTINI Y, MCVARY KT (2014). Impact of alpha blockers, 5-alpha reductase inhibitors and combination therapy on sexual function. *Curr Urol Rep.*, **15(10)**:441.
- WHITEMAN M, LI L, ROSE P, TAN CH, PARKINSON DB, MOORE PK (2010). The effect of hydrogen sulfide donors on lipopolysaccharide-induced formation of inflammatory mediators in macrophages. *Antioxid. Redox Signal.*, **12**: 1147-1154.
- WONG P, LAWRENTSCHUK N, BOLTON DM (2009). Phosphodiesterase 5 inhibitors in the management of benign prostatic hyperplasia and erectile dysfunction: the best of both worlds. *Curr Opin Urol.*, **19(1)**: p. 7-12.
- WU B, TENG H, YANG G, WU L, WANG R (2012). Hydrogen sulfide inhibits the translational expression of hypoxia-inducible factor-1 α . *Br J Pharmacol.*, **167(7)**:1492-1505.
- WU D, HU Q, LIU X, PAN L, XIONG Q, ZHU YZ (2015). Hydrogen sulfide protects against apoptosis under oxidative stress through SIRT1 pathway in H9c2 cardiomyocytes. *Nitric Oxide*, **46**: 204-212.
- WU XJ, ZHI Y, ZHENG J, HE P, ZHOU XZ, LI WB, ZHOU ZS (2014). Dutasteride on benign prostatic hyperplasia: a meta-analysis on randomized clinical trials in 6460 patients. *Urology*, **83(3)**:539-543.
- XIAO T, LUO J, WU Z, LI F, ZENG O, YANG J (2016). Effects of hydrogen sulfide on myocardial fibrosis and PI3K/AKT1-regulated autophagy in diabetic rats. *Mol Med Rep.*, **13(2)**:1765-1773.

- YETIK-ANACAK G, DERELI MV, SEVIN G, OZZAYIM O, ERAC Y, AHMED A (2015). Resveratrol Stimulates Hydrogen Sulfide (H₂ S) Formation to Relax Murine Corpus Cavernosum. *J Sex Med.*, **12(10)**:2004-2012.
- YU XH, CUI LB, WU K, ZHENG XL, CAYABYAB FS, CHEN ZW, TANG CK (2014). Hydrogen sulfide as a potent cardiovascular protective agent. *Clin. Chim. Acta*, **437**; 78-87.
- ZARIFPOUR M, NOMIYA M, SAWADA N, ANDERSSON KE (2015). Protective effect of tadalafil on the functional and structural changes of the rat ventral prostate caused by chronic pelvic ischemi. *Prostate*. **15**, 75(3):233-241.
- ZHANG LT, LEE SW, PARK K, CHUNG WS, KIM SW, HYUN JS, MOON DG, YANG SK, RYU JK, YANG DY, MOON KH, MIN KS, PARK JK (2015). Multicenter, prospective, comparative cohort study evaluating the efficacy and safety of alfuzosin 10 mg with regard to blood pressure in men with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia with or without antihypertensive medications. *Clin Interv Aging.*, **17**;10:277-286.
- ZHANG Y, YANG J, WANG T, WANG SG, LIU JH, YIN CP, YE ZQ (2016). Decreased endogenous hydrogen sulfide generation in penile tissues of diabetic rats with erectile dysfunction. *The Journal of Sexual Medicine*, **13(3)**:350-360.
- ZUO C, HUANG YM, JIANG R, YANG HF, CHENG B, CHEN F (2014). Endogenous hydrogen sulfide and androgen deficiency-induced erectile dysfunction in rats. *Zhonghua Nan Ke Xue.*, **20(7)**:605-612.

EKLER



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 30/09/2015
TOPLANTI NO : 2015-16
DOSYA NO : 2015-128
KARAR NO : 2015-16-184

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Serap Gür'ün yaptığı ve araştırmacı olarak Araş.Gör.Didem Yılmaz'ın katıldığı "Parsiyel Mesane Obstrüksiyonlu Sıçanlarda Hidrojen Sülfür Donörü Sodyum Hidrojen Sülfid ve Fosfodiesteraz 5 İnhibitörü Tadalafil Tedavisinin Eretil Disfonksiyon Üzerine Etkisi" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzca incelenmiş olup, söz konusu çalışmanın Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine göre aşağıda belirtilen kapsamda yapılması oy birliğiyle karar verilmiştir.

Hayvan Türü : Sıçan
Hayvan Sayısı : 75
Geçerlilik Süresi : 01/10/2015-01/10/2017

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Ünvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof.Dr.Oğuz SARİMEHMETOĞLU (Başkan)	Parazitoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Prof.Dr.Tanju ÖZÇELİKAY (Başkan Vekili)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E	
Prof.Dr.Nuri YİĞİT (Üye)	Zooji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof.Dr.Fatın CEDDEN (Üye)	Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	E	
Prof.Dr.Aydın YAĞMURLU (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	E	
Prof.Dr.Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünler Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	K	
Prof.Dr.Emine DEMİREL YILMAZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Yrd.Doç.Dr.Mehmet SAĞLAM (Üye)	Cerrahi Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	

Adres: Ankara Üniversitesi Rektörlüğü 06100 - Tandoğan / ANKARA Tel: 0 (312) 212 60 40 / 2064 Faks: 0 (312) 212 60 49

ÖZGEÇMİŞ

Adı:	Didem
Soyadı:	YILMAZ ORAL
Doğum yeri ve tarihi:	Mersin, 1988
Uyruğu:	T.C.
Medeni durumu:	Evli
İletişim adresi:	Mebusevleri Mah.İller sk.15/5 Ankara
Eğitim:	A.Ü. Eczacılık Fakültesi (2007-2012)
Yabancı dil:	İngilizce
Mesleki Deneyim:	2012-2013 Araştırma görevlisi, Çukurova Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakolji ABD 2013-2017 Araştırma görevlisi, Çukurova Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakolji ABD 2017- halen Araştırma görevlisi,Çukurova Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakolji ABD

Bilimsel Yayınlar:

- 1- Yilmaz D,** Bayatli N, Un O, Kadowitz PJ, Sikka SC, Gur S: The effect of intracavernosal avanafil, a newer phosphodiesterase-5 inhibitor, on neonatal type 2 diabetic rats with erectile dysfunction. Urology. 2014 Feb;83(2):508.e7-12.
- 2- Un O, Yilmaz D,** Bayatli N, Kaya E, Gur S: L-arginine and tetrahydrobiopterin, but not sodium nitrite partially restored erectile dysfunction in aged rats. Aging Male. 2014 Dec;17(4):248-55.
- 3- Bastaskın T,** Kaya E, Ozakca I, **Yilmaz D,** Bayatlı N, Akdemir AO, Gur S: Effects of silodosin, a selective alpha-1A adrenoceptor antagonist, on erectile function in a rat model of partial bladder outlet obstruction. Neurourol Urodyn. 2017 Mar;36(3):597-603.

- 4-** Onal E, **Yilmaz D**, Kaya E, Bastaskın T, Bayatlı N, Gur S: Pomegranate juice causes a partial improvement through lowering oxidative stress for erectile dysfunction in streptozotocin-diabetic rat. *Int J Impot Res.* 2016 Nov;28(6):234-240.
- 5-** Cengiz T, Kaya E, **Oral DY**, Ozakca I, Bayatli N, Karabay AZ, Ensari TA, Karahan T, Yilmaz E, Gur S: Intracavernous injection of human umbilical cord blood mononuclear cells improves erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Sex Med.* 2017 Jan;14(1):50-58.
- 6-** Kaya E, Sikka SC, **Oral DY**, Ozakca I, Gur S: β 3-adrenoceptor control of lower genitourinary tract organs and function in male: an overview. *Curr Drug Targets.* 2017 Jan 20. [Epub ahead of print].
- 7-** **Yilmaz-Oral D**, Bayatli N, Gur S: The beneficial effect of fesoterodine, a competitive muscarinic receptor antagonist on erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Urology.* 2017 Jun 1. pii: S0090-4295(17)30596-4.
- 8-** Kaya Sezginer E, **Yilmaz-Oral D**, Lokman.U, Nebioglu S, Aktan F, Gur S. Effects of Varying Degrees of Partial Bladder Outlet Obstruction on Urinary Bladder Function of Rats: A Novel Link to Inflammation, Oxidative Stress and Hypoxia. *LUTS.* 2017 Oct 29 Article DOI: 10.1111/luts.12211 [Epub ahead of print].
- 9-** Oztekin CV, Kaya E, **Yilmaz-Oral D**, Gur S. Male Urogenital Disorders And Metabolic Syndrome: Possible Links, Characteristics And Potential Treatment Strategies. *Curr Pharm Des.* 2017 Dec 12. doi: 10.2174/1381612824666171213102836. [Epub ahead of print]
- 10-** Koroglu G, Kaya-Sezginer E, **Yilmaz-Oral D**, Gur S. Management of Erectile Dysfunction: An Under-Recognition Of Hypertension. *Curr Pharm Des.* 2018 Aug 27. doi: 10.2174/1381612824666180828104350. [Epub ahead of print]
- 11-** Toktanis G, Kaya-Sezginer E, **Yilmaz-Oral D**, Gur S. Potential therapeutic value of transient receptor potential channels in male urogenital system. *Pflugers Arch.* 2018 Sep 7. doi: 10.1007/s00424-018-2188-y. [Epub ahead of print].

Poster ve Sunumlar

- 1-** Gur S, **Yilmaz D**, Bayatli N, Un O. Noval phosphodiesterase 5 inhibitor avanafil restored the erectile dysfunction in the neonatal non insulin dependent type 2 diabetic

rats. Poster presentation at the American Diabetes Association 73rd scientific sessions, Chicago, Illinois, USA, June 21-25, 2013.

2- Bayatli N, Un O, Gur S, **Yilmaz D**. L-arginine and tetrahydrobiopterin but not sodium nitrite restored erectile dysfunction in aged rats. Oral presentation at 16th Congress of the European Society for Sexual Medicine, Istanbul, Turkey, January 29-February 2, 2014.

3- **Yilmaz D**, Akhayeva T, Guner S, Ozis E, Kaya E, Gur S. Effects of fesoterodine competitive muscarinic receptor antagonist on functional responses of rat corpus cavernosum. Poster presentation at American Urological Association Annual Meeting, Orlando, Florida, USA, May 16-21, 2014.

4- Kaya E, Yildizhan H, Gur S, **Yilmaz D**, Nebioglu S, Ozel D. Preliminary Proteomic Data of Penile Tissue from the Neonatal Non Insulin Dependent Type 2 Diabetic Rats. The American Diabetes Association 74th Scientific Sessions, San Francisco, USA, June 14-16, 2014.

5- Gur S, Kaya E, Bastaskin T, Onal E, **Yilmaz D**, Bayatli N. Effects of selective alpha 1a adrenoceptor antagonist silodosin treatment on erectile dysfunction of rats with partial bladder outlet obstruction. Oral presentation at 20th Annual Fall Scientific Meeting of SMSNA, Miami Beach, USA, November 20 - 23, 2014.

6- Gur S, **Yilmaz D**, Kaya E. The beneficial effect of intracavernosal fesoterodine competitive muscarinic receptor antagonist on erectile dysfunction of diabetic rats. Oral presentation at 17th Congress of the European Society for Sexual Medicine, Copenhagen, Denmark, February 5–7, 2015

7- **Yilmaz D**, Gur S, Onal E, Bastaskin T, Kaya E. The treatment of pomegranate juice restored erectile dysfunction in diabetic rats presentation. Poster presentation at 17th Congress of the European Society for Sexual Medicine, Copenhagen, Denmark, February 5–7, 2015.

8- Gur S, Bayatli N, **Yilmaz D**. The effect of partial bladder outlet obstruction PBOO severity and hypercholesterolemia on erectile function in rats. Poster presentation at American Urological Association Annual Meeting, New Orleans, LA, USA, May 15-19, 2015.

9- **Yilmaz-Oral D**, Caliskan H, Akat F, Zaloglu N, Gur S. Treatment with anti convulsant pregabalin at high dosage protects the penile erectile responses in rat model

of acute anxiety. Oral presentation at 18th Congress of the European Society for Sexual Medicine, Madrid, Spain, February 4–6, 2016.

10- Gur S, Cengiz T, **Yilmaz-Oral D**, Kaya E, Bayatli N, Karahan ST, Ozakca I, Yilmaz E. (2016). Intracavernous injection of human umbilical cord blood mononuclear cells improves erectile dysfunction in streptozotocin induced diabetic rats. Oral presentation at 76th Scientific Sessions New Orleans, LA, USA June 10-14, 2016.

11- **Yilmaz-Oral D**, Kaya E, Yilmaz E, Bayatli N, Cengiz T, Ozakca I, Gur S. The beneficial effect of hydrogen sulfide donor, sodium hydrosulfide on erectile dysfunction in l-name-induced hypertensive rats. Oral presentation at 19th Congress of the European Society for Sexual Medicine, Nice, France, February 2- 4, 2017.

12- E Kaya Sezginer, **Yilmaz-Oral D**, Askin D, Koroglu G, Gur S. Mirabegron elicits recovery of erectile function in a rat model of streptozotocin-induced diabetes. Oral presentation at the 21st World Meeting of the International Society for Sexual Medicine and the 20th Congress of the European Society for Sexual Medicine., Lisbon Portugal, February 28 – March 3, 2018, 2018.

13- **Yilmaz-Oral D**, Kaya-Sezginer E, Onder A, Bayatli N, Gur S. The beneficial effects of combined treatment of sodium hydrogen sulfide and tadalafil on erectile function in a rat model of partial bladder outlet obstruction. Poster presentation at 113th American Urological Association Annual Meeting, San Francisco, USA, May 18-21, 2018.

14- **Yilmaz-Oral D**, Guven B, Kara Z, Gur S, Onay Besikci A. The effect of carvedilol treatment on erectile dysfunction of streptozotocin induced diabetic rats. Poster presentation at 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Ankara, Turkey, June 26-29, 2018.

15- **Yilmaz-Oral D**, Kara Z, Guven B, Onay Besikci A, Gur S. The possible beneficial effect of ivabradine treatment on erectile tissue in a diabetic rat model. Poster presentation at 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Ankara, Turkey, June 26-29, 2018.

Staj:

3 Haziran- 3 Eylül 2014 The laboratories of the Sexual Medicine and Andrology Unit,
University of Florence

Burslar:

2012-2017 2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı (TÜBİTAK)

Projeler:

2014-2015 TÜBİTAK; Proje numarası: 114S068 - *Parsiyel Mesane Obstrüksiyonlu Sıçanlarda Selektif $\alpha 1$ -A Adrenoseptör Antagonist Silodosin Tedavisinin Eretil Disfonksiyon Üzerine Etkisi* (Araştırmacı)

2017-2018 TÜBİTAK; Proje numarası: 216S813- *Parsiyel Mesane Obstrüksiyonlu Sıçanlarda Hidrojen Sülfür Donörü Sodyum Hidrojen Sülfid ve Fosfodiesteraz 5 İnhibitörü Tadalafil Tedavisinin Eretil Disfonksiyon Üzerine Etkisi* (Araştırmacı)