



T.C.

SAĞLIK BAKANLIĞI

ANKARA NUMUNE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

ÜROLOJİ KLİNİĞİ

Doç. Dr. Altuğ Tuncel

**DİYABETES MELLİTUS'A BAĞLI GELİŞEN EREKTİL
DİSFONKSİYONDA ANDROJEN RESEPTÖRÜNÜN ROLÜ:
DENEYSEL BİR ÇALIŞMA**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Anıl ERKAN

ANKARA

2016



T.C.

SAĞLIK BAKANLIĞI

ANKARA NUMUNE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

ÜROLOJİ KLİNİĞİ

**DİYABETES MELLİTUS'A BAĞLI GELİŞEN EREKTİL
DİSFONKSİYONDA ANDROJEN RESEPTÖRÜNÜN ROLÜ:
DENEYSEL BİR ÇALIŞMA**

UZMANLIK TEZİ

Tez danışmanı: Doç. Dr. Altuğ TUNCEL

Dr. Anıl ERKAN

ANKARA

2016

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca, tıp etiği, cerrahi beceri ve bilgi birikimine verdiği önem yanında sosyal ilişkilere verdiği değer ile gelecek meslek hayatıma ışık tutan, yanında çalışmaktan onur duyduğum, uzmanlık eğitimime başladığım ilk günden itibaren yoğun ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, saygıdeğer hocam, ağabeyim Doç. Dr. Altuğ Tuncel'e en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Cerrahi bilgi ve tecrübesi ile eğitimime katkıda bulunan değerli hocam Prof. Dr. Ali Atan'a, cerrahi deneyimi ile bana yol gösteren ve uzmanlık eğitimim sonrası eksikliğini hep hissedeceğim saygıdeğer ağabeyim Op. Dr. Müslüm Yıldız'a, samimi duygularını hiç gizlemeyen, her konuda örnek alabileceğim, tezimin yapım aşamasında çok değerli katkıları olan değerli ağabeyim Doç. Dr. Yılmaz Aslan'a, tecrübesi ve bilgisi ile desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli ağabeyim Doç. Dr. Alp Özgür Akdemir'e, içten tavırları ile başımın her sıkıştığında görüşüne başvurabileceğim değerli ağabeyim Op. Dr. Özer Güzel'e, insani ilişkileri üst düzeyde olan, varlığını hep arkamda hissettiğim değerli ağabeyim Op. Dr. Melih Balcı'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimime başladığım ilk günden itibaren usta-çırak ilişkisi ile beni uzmanlığa hazırlayan ve desteklerini esirgemeyen değerli ağabeylerim, Op. Dr. Mustafa Kayalı'ya, Op. Dr. Övünç Bilgin'e ve Op. Dr. Tanju Keten'e, gerek iş ortamında, gerekse iş ortamı dışında candan davranışları ile uyum içinde zaman geçirdiğim dostlarım Op. Dr. Ersin Köseoğlu ve Dr. Çağdaş Şenel'e, kardeşlerim Dr. Ahmet Asfuroğlu'na ve Dr. İ. Can Aykanat'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Destek ve ilgilerini esirgemeyen Prof. Ali Memiş'e, Prof. Dr. Mesut Çetinkaya'ya, Op. Dr. Mehmet Murat Baykam'a ve Üroloji B Kliniği Eğitim Görevlisi başasistanları ve uzmanları olan ağabeylerime, birlikte çalışma şansı edindiğim asistan arkadaşlarıma, hasta tedavisi ve takibinde desteklerini, birikimlerini ve içtenliklerini esirgemeyen Gönül Fidan Çıraklı, Zeliha Tayyarcan ve beraberindeki tüm servis ve ameliyathane hemşiresi arkadaşlarıma ve personellerimize teşekkürlerimi sunarım.

Tüm hayatım boyunca desteğini hiçbir zaman esirgemeyen aileme, tıp fakültesine başladığım günden itibaren her zaman yanımda olan, bu zahmetli yolda bir an olsun yanımdan ayrılmayan sevgili eşim Vildan Boz Erkan'a, ailemize ışık olan biricik kızım Zeynep'e teşekkürü bir borç bilirim.

Dr. Anıl ERKAN

İÇİNDEKİLER

| | |
|--------------------|-----|
| TEŞEKKÜR | iii |
| İÇİNDEKİLER | iv |
| KISALTMALAR DİZİNİ | v |
| GİRİŞ | 1 |
| GENEL BİLGİLER | 2 |
| GEREÇ VE YÖNTEM | 24 |
| BULGULAR | 29 |
| TARTIŞMA | 34 |
| SONUÇ | 39 |
| ÖZET | 40 |
| ABSTRACT | 41 |
| KAYNAKLAR | 42 |

KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|--------|---|
| DM | Diyabetes mellitus |
| ED | Eretil disfonksiyon |
| AR | Androjen reseptörü |
| DNA | Deoksiribonükleik asit |
| mRNA | Mesajcı Ribonükleik asit |
| NO | Nitrik oksit |
| NOS | Nitriks oksit sentetaz |
| nNOS | Nöronal nitrik oksit sentetaz |
| eNOS | Endotelyal nitrik oksit sentetaz |
| iNOS | İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz |
| GTP | Guanozin trifosfattan |
| cGMP | Siklik guanozin monofosfat |
| cAMP | Siklik adenozin monofosfat |
| ABD | Amerika Birleşik Devletleri |
| MMAS | Masachusetts Male Aging Study |
| NHSLS | National Health and Social Life Survey |
| MS | Metabolik sendrom |
| TURDEP | Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevelans Çalışması |
| NTD | N-terminal bölgesi |
| DBD | Deoksiribonükleik asit bağlanma bölgesi |

| | |
|---------------|---|
| LBD | Ligand bağlanma bölgesi |
| ARE | Androjen yanıt elemanı |
| DHT | 5 α -dihidrotestosteron |
| hsp90 | Isı şok proteini 90 |
| SRC-1 | Steroid reseptör ko-aktivatör-1 |
| CBP | Siklik adenozin monofosfat cevap elemanı bağlayıcı protein |
| CAG | Sitozin-adenin-guanin |
| PGC1 α | Peroksizom proliferatör-aktivatör-gama ko-aktivatör 1 alfa |
| IIEF-5 | Uluslararası erektil fonksiyon indeksi'nin 5 soruluk kısa formu |
| PSH | Pik sistolik hız |
| EDH | End diastolik hız |
| PDE-5 | Fosfodiesteraz tip 5 enzimi |
| PGE-1 | Prostaglandin E-1 |
| STZ | Streptozotosin |
| ICP/MAP | İntrakavernozal basıncın, ortalama arteriyel basınca oranı |
| PBS | Phosphate-buffered saline |
| PAP | Peroksidaz anti peroksidaz |
| DAB | 3,3-diaminobenzidine |
| ELISA | Enzyme-linked immunosorbent assay |
| ADAM | Yaşlanan erkekte androjen yetmezliği anketi |

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Diyabetes mellitus (DM) dünyada %6,4, Türkiye’de ise %13,7 görülme sıklığı olan toplumsal bir sağlık problemidir (1,2). DM’un patofizyolojisinin daha fazla aydınlatılması ve yeni tedavi seçenekleri ile hastaların yaşam süresi uzamıştır. Ancak DM’a bağlı görülen geç komplikasyonların oranı artmıştır. Erektile disfonksiyon (ED) da bu geç komplikasyonlardan biri olup yıllar içinde görülme sıklığı giderek artmıştır (3).

Klinik pratikte ED’un değerlendirmesinde hikaye ve fizik muayene dışında, serum total testosteron **düzeyinin** ölçümü de önemli yer tutmaktadır (4). Testosteron, erkek karakterin oluşmasında önemli fizyolojik fonksiyonları olan ve üreme sistemi olgunlaşmasından sorumlu asıl steroid androjendir. Testosteron, testiste Leyding hücreleri tarafından salgılanır, kanda albumin ve seks hormon bağlayıcı globuline bağlanarak taşınır. Testosteronun sadece %2’si serbest halde bulunur. Etkilerini nükleer bir reseptör olan androjen reseptörüne (AR) bağlanarak gösterir. Bu bağlanma sırasında çeşitli düzenleyiciler rol alır (5). Androjen/AR kompleksi etkileşiminden sonra AR çekirdeğe girerek hücre deoksiribonükleik asidine (DNA) bağlanır ve mesajcı ribonükleik asit (mRNA) transkripsiyonu sonrasında androjenik etkiler ortaya çıkar. Bu etkilerin ortaya çıkmasında testosteron düzeyi kadar, sağlıklı bir AR varlığı da gereklidir. AR’nün yapısal ve sayısal bozukluklarında testosteronun androjenik etkileri değişerek çeşitli hastalıklar ortaya çıkmaktadır (6).

ED’u olan hastalarda yapılan birçok çalışmada serum total testosteron **düzeylerinin** düştüğü gösterilmiştir (7,8). Bunun yanı sıra AR ifadesinin değiştiğini gösteren çalışmalar da vardır (9). Diğer taraftan AR geninde meydana gelen mutasyonlar neticesinde hipogonadizm semptomlarının ortaya çıktığı ve insülin direncine neden olarak **DM’a** yatkınlığı arttırdığı gösterilmiştir (10). Yani hastalık ile patogeneze arasında yakın ve kompleks bir ilişki vardır.

Bizim çalışmamızın amacı, **ED’u** olan **DM’lu** ratlarda serum total testosteron **düzeyinin** ve AR ifadesinin nasıl ve ne derecede etkilendiğinin saptanmasıdır. Bu amaçtan yola çıkarak ED’u olan DM’lu hastaların tedavisinden, hormonal replasman

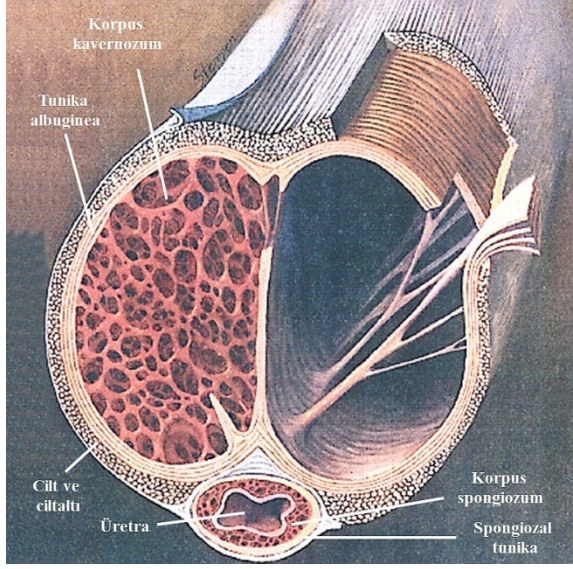
stratejilerinin yeniden gözden geçirilmesine ve gelecekteki tedavi ufukumuz olan gen tedavisine ışık tutmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Penil Ereksiyonun Fizyolojisi

2.1.1 Penisin Fonksiyonel Anatomisi

Penis, gevşek bir cilt altı tabakası ve cilt ile sarılmış üç silindirik yapıdan oluşur. Bu yapılar, bir çift korpus kavernozum ve korpus spongiozumdur. Korpus kavernozum kalın tunika ile sarılı bir çift süngerimsi dokudur. Proksimalde puboiskiyal ramusların alt yüzlerinden başlayıp pubik arkta birleşerek glansa kadar uzanır. Korpus kavernozumlar; tunika albuginea, septum, interkavernoza kolonlar, periarteriyel ve perinöral fibröz kılıflardan oluşan sağlam iskelet tarafından desteklenir. Korpus spongiozum, glans penis sinüzoidlerinin küçüklüğü ve tunikanın inceliği dışında korpus kavernozumlar ile yapısal olarak aynıdır. Tunika albuginea penise büyük bir esneklik ve güç verir. Korpus kavernozumun tunikal kılıfı birçok alt katman içeren iki tabakalı bir yapıdır. İç tabakadan kaynaklanan bantlar septumu destekleyip erektil dokuya esas gücü verir. Ereksiyon sırasında kompresyona uğrayan emisser venler iç ve dış tabaka arasında yer alır. Penisin tunikal ve korpus yapıları Şekil 1’de gösterilmiştir. Penil ereksiyondan sorumlu penil komponentler ve fonksiyonları Tablo1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Penisi oluşturan tunikal ve korpus yapıları (Lue TF, Akkus E, Kour NW. Erektile fonksiyon ve disfonksiyonun fizyolojisi. Campbell's Urology güncelleme 1994;12:1-10.)

Tablo 1. Ereksiyondan sorumlu penil komponentler ve fonksiyonları

| Komponent | Fonksiyon |
|----------------------|--|
| Korpus kavernozumlar | Korpus spongiosum ve glansı destekler |
| Tunika albuginea | Erektile dokuyu sarar ve korur, kavernoöz cisimlerin sertliğini sağlar, venokluziv mekanizmaya katılır |
| Düz kas | Sinüzoidlere kan girişini ve çıkışını sağlar |
| İskiokavernöz kaslar | Ereksiyonu hızlandırmak için kanı distale pompalar. Rijit ereksiyon fazında ek penil sertlik sağlar |
| Bulbokavernöz kasla | Semenin atılmasına yardımcı olur |
| Korpus spongiosum | Semenin üretradan atılmasına izin veren basınçta, dar bir boşluk sağlar |
| Glans | Penisin kadın organlarındaki etkisini azaltan bir yastık görevi görür |

Penil kan, başlıca internal iliak arterin dalı olan internal pudental arterden gelir. İnternal pudental arter, perineye bir dal verdikten sonra ortak penil arter adını alır ve dorsal, bulboüretal, kavernozaal olmak üzere üç ayrı dal verir. Kavernozaal arter seyri boyunca trabeküler erektil dokuyu ve sinüzoidleri besleyen çok sayıda helisin arterleri verir.

Korpus kavernozaum ve spongiozumdan çıkan emisser venler dorsalde derin dorsal, lateralde sirkümfleks ve ventralde periüretal venlere drene olurlar. Bu venler daha sonra periprostatik pleksusa dökülürler.

2.1.2 Ereksiyonun ve Detumesansın Hemodinamiği

Seksüel uyarı, kavernozaal sinir uçlarından nörotransmitter salınımı yaptırır. Kavernozaal ve arteryel duvar düz kası gevşemesi ile sistolik ve diyastolik fazda kan akımı artar, genişleyen sinüzoidlerce kan hapsedilir, subtunika venöz pleksusun tunika albuginea ve periferik sinüzoidler arasında sıkışması ile venöz akım yavaşlar. Tunika gerilme kapasitesine ulaşıncaya iç ve dış tabaka arasındaki emisser venlerin oklüzyonu ile venöz akım minimuma iner, intrakavernozaal basıncın 100 mmHg'ya ulaşması ile penis erekte olur. İskiokavernöz kasların kasılması ile basınç daha da artar. Hayvanlarda yapılan çalışmada detümesans üç faz olarak bildirilmiştir (11). İlk fazda kapalı venöz sisteme rağmen düz kasın kasılması nedeniyle geçici bir intrakorperal basınç artışı olur. İkinci fazda basıncın yavaş düşmesi, venöz kanalların açıldığını ve bazal arteryel akımın devam ettiğini düşündürür. Üçüncü fazda venöz akımın tam kapasiteye dönmesi ile basınç hızla düşer. Düz kas gevşemesinin ve kasılmasının önemi hayvan ve insan çalışmaları ile gösterilmiştir (12,13).

2.1.3 Penisin İnnervasyonu ve Penil Ereksiyonun Nöroanatomi

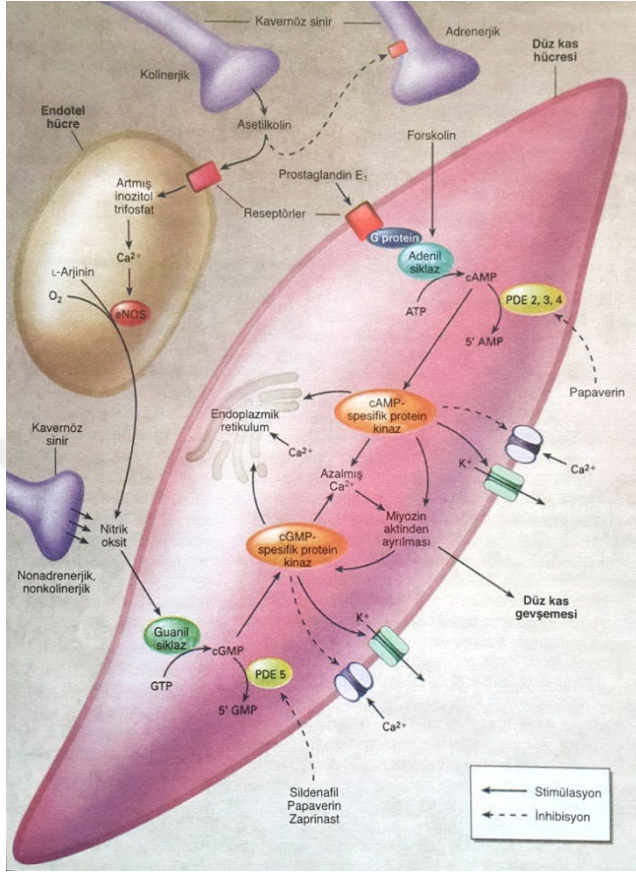
Penis, otonomik (sempatik ve parasempatik) ve somatik (duyusal ve motor) sinirlerle innerve olmaktadır. Parasempatik pregangliyonik sinirler, 2. ve 4. sakral vertebradan çıkarak pelvik ve hipogastrik pleksusa yayılır. Bu pleksus, pregangliyonik ve postgangliyonik liflerin penise doğru iletilmesini sağlamaktadır. Kavernozaal sinirin çıkış noktası ise pelvik pleksustur. Prostat kapsülüne kadar pelvik fasya boyunca ilerler ve prostatın postero-lateraline uzanır. Kavernozaal sinir dalları membranöz üretranın distalinde korpus spongiozumun tunika albugineasını penetre

eder. Ardından pudental arter ve kavernöz venler boyunca korpus kavernozum kurusuna girer. Ayrıca iki adet dalı penisin distal kısımlarını uyararak üzere dorsal sinire doğru yayılır.

Sempatik pregangliyonik lifler, 9. torasik ve 4. lomber vertebraların pregangliyonik nöronlarından köken almaktadır. Bu nöronlar, spinal kord seviyesinde sempatik zincir nöronları ile devam ederek superior hipogastrik pleksusa yayılır. Bu pleksus, sağ ve sol hipogastrik sinirlere ayrılır ve bu uzantılardan biri daha sonra pelvik pleksus ile birleşir. Penis, glans, diğer perineal ve inguinal alanlardaki duyuşal reseptörlerden köken alan uyarılar dorsal penil sinirlerle taşınmaktadır. Bu sinir, pelvisin diğer sinirlerini de bünyesinde toplayarak internal pudental siniri oluşturur. Ardından 2., 3. ve 4. sakral vertebranın dorsal köküne çıkar. Sonuç olarak, dorsal penil sinir ve diğer duyuşal sinirler sakral spinal korda pudental sinir ile iletilmiş olur. 2., 3. ve 4. sakral vertebradan çıkan penisin motor innervasyonu, bulbokavernöz ve iskiyokavernöz kaslara sakral ve pudental sinirler ile iletilir. İskiokavernöz kas kontraksiyonu ile rijit ereksiyon safhasında kavernöz cisim baskılanarak sıkışırken, bulbokavernöz kas ise ritmik kontraksiyon ile ejakülasyon esnasında semenin atılmasını sağlamaktadır (14).

Ereksiyon ve detümesansta dopamin, serotonin, norepinefrin, gama aminobutirik asit, oksitosin gibi bir çok nörotransmitter rol oynarken, anahtar role sahip nörotransmitter nitrik oksittir (NO). NO, NO sentaz (NOS) katalizasyonu ile L-arginin ve oksijenden dönüşür. NOS'ın memelilerde üç izoformu vardır. Nöronal NOS (nNOS) ve endotelial NOS (eNOS) sırası ile nöronlardan ve endotelden salgılanır. İndüklenebilir NOS (iNOS) ise hemen hemen tüm hücre tiplerinde bulunur. Korpus kavernozumda, her üç izoformda gösterilmiştir. nNOS ereksiyonun başlamasından, eNOS ise sürdürülmesinden sorumludur (15). Şekil 2'de penil düz kas gevşemesinde NO'nin rolü görülmektedir. Kavernöz sinir terminallerindeki nNOS'ın, nitrik oksidi salgılatması ile ereksiyon başlar. NO, düz kas hücresinde guanozin trifosfattan (GTP), siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşumunu indükler. cGMP protein kinaz G'yi aktive eder, böylece potasyum kanalları açılır, kalsiyum kanalları kapanır. Düşük sitozolik kalsiyum nedeni ile düz kas gevşer.

cGMP fosfodiesterazlar ile parçalanınca düz kas eski tonusuna geri döner, yani detümesansa geçilir.



Şekil 2. Penil düz kas gevşemesinde nitrik oksidin rolü. (Lue TF, Erectile dysfunction. N Engl J Med 2000;342;1802-13.)

2. 2 ED'un Patofizyolojisi

2.2.1 ED'un Tanımı

ED, cinsel aktivite için yeterli ereksiyonun sağlanamaması ve/veya sürdürülememesi ve bu durumunun süreklilik kazanmasıdır (16). ED, yapı olarak iyi huylu bir rahatsızlık olmakla birlikte, fiziksel ve psikososyal sağlık üzerinde derin etkiler bırakmakta ve hastaların yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir (17,18).

2.2.2 İnsidansı ve Epidemiyolojisi

Modern örnekleme yöntemlerini kullanarak yapılan iki araştırma, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde tamamlanan, Massachusetts Male Aging Study (MMAS) ve National Health and Social Life Survey (NHSLs)'dir (19,20). MMAS'da 40-70 yaş arası 1709 erkek incelenmiştir. Çalışmaya göre komplet ED %15, orta derece ED %34, hafif derece ED %1-7 oranında bulunmuştur. NHSLs'de ise 18-59 yaş arası 1410 erkek incelemiştir. ED prevalansı 18-29 yaşta %7, 30-39 yaşlarında %9, 40-49 yaşlarında %11 ve 50-59 yaşlarında %18 bulunmuştur. Ülkemizde yapılan 1982 adet 40 yaş üstü kişinin dahil edildiği çalışmada toplam ED prevalansı %69.2, orta ve ağır derece ED prevalansı %36 olarak bulunmuştur (21).

2.2.3 Risk Faktörleri

ED için genel risk faktörleri; genel sağlık durumu, DM varlığı, kardiyovasküler hastalıklar, birlikte başka ürogenital hastalık, psikiyatrik/psikolojik rahatsızlıklar ve sosyodemografik koşullardır (22,23).

2.2.4 Sınıflandırma

ED için birçok sınıflama gündeme gelmişse de en yaygın kullanılanı uluslararası impotans araştırma derneğinin önerdiği sınıflamadır (24).

2.2.4.1 Psikojenik ED

Psikojenik olarak ereksiyonun inhibisyonunun, iki olası mekanizma ile izah edilebileceği düşünülmüştür; biri spinal ereksiyon merkezinin, normal suprasakral inhibisyonunun beyin tarafından egzajere edilmesi, ikincisi ise penil düz kasın gevşemesi gerekirken periferal katekolaminlerin artması veya aşırı sempatik deşarj nedeni ile düz kas tonusunun artması olarak gösterilmiştir (25,26).

2.2.4.2 Nörojenik ED

Ereksiyon nörovasküler bir olay olduğu için spinal kordu, kavernöz siniri veya pudental siniri etkileyen her durum ED'ye yol açabilir. Medial preoptik alan, paraventriküler nukleus, hipokampus cinsel dürtü ve ereksiyon için önemli integrasyon merkezleridir (27). Bu neden ile bu merkezlerin etkilendiği, Parkinson

hastalığı, inme, ensefalit gibi beyin ile ilgili hadiselerde sıklıkla ED görülür. Kavernozaal sinirlerin pelvik organlara yakınlığı nedeni ile radikal prostatektomi, abdominoperineal rezeksiyon gibi pelvik cerrahilerde de ED prevalansı yüksektir (28,29).

2.2.4.3 Endokrinolojik ED

ED'lu olgularda hipogonadizm sık görülür. Androjenlerin erkek üreme sistemi ve sekonder seks karakterlerinin büyüme, gelişmesi yanında libido ve cinsel davranış üzerine etkileri iyi bilinmektedir. Normal nokturnal ereksiyon olması için testosteron eşik düzeyinin 200 ng/dL olması gerektiği bildirilmiştir (30). Androjen yetersizliği; insülin direnci, tip 2 DM, visseral yağ oranını yüksekliği ile birlikte bulunur (31). Visseral yağ doku endokrin bir organ gibi çalışarak inflamatuvar sitokinler üretir, bunlar da endotelial disfonksiyon ve vasküler hastalıklara neden olur. Düşük androjen düzeyi endotel ve düz kas apoptozisi ile birliktedir (32). Ratlarda kastrasyon sonucunda arteriyel kan akımının azaldığı, venöz kaçak olduğu ve kavernozaal sinir uyarımı ile erektil yanıtın %50 oranında azaldığı gösterilmiştir (33). ED aynı zamanda tiroid bezi hormonal bozukluklarında da görülebilir.

2.2.4.4 Arteriyojenik ED

Hipogastrik-kavernozaal-helisin arter sisteminin aterosklerotik veya travmatik okluzif durumlarında, perfüzyon basıncının azalması ile sinüzoidal alana kan akımı zayıflayabilir. Böylece tam ereksiyona ulaşma süresi uzar ve rijidite azalır. Arteriyel yetmezliğin risk faktörleri; hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara, DM, künt perineal veya pelvik travmlara ve pelvise radyoterapi uygulanmasıdır (34,35).

2.2.4.5 Venojenik ED

Veno-okluzif disfonksiyon, tunikada dejeneratif değişiklikler, fibroelastik yapı değişiklikleri, trabeküler düz kasın gevşemesindeki yetersizlik ve venöz şantlar gibi değişik patofizyolojik olaylardan kaynaklanabilir. Dejeneratif değişim veya travmatik zedelenme tunika albugineanın subtunikal emisser venleri sıkıştırabilmesini güçleştirir (36). **Peyronie** hastalığında elastik olmayan tunika albuginea, emisser venlerin kapanmasını önler (37).

2.2.4.6 İlaça Bağlı ED

İlaçlar, cinsel fonksiyonun, libidoyu veya orgazmı azaltarak şikayete yol açabilirler. Grimm ve arkadaşlarının (38) yaptığı çalışmada, hafif hipertansiyonda düşük doz tiyazid alanlarda, diğer antihipertansif alanlara kıyasla iki kat daha fazla ED görülmüştür. Penil dokuda ki adrenerjik reseptörlerin ancak %10'u β adrenerjik olup bunların da relaksasyon sağladığı gösterilmiştir (39). Bu etkinin, nonselektif propranol ile azaldığı ancak kardiyoselektif β bloker olan praktolol ile bu etki gösterilememiştir (40). Diğer bir grup olan α antagonistlerin ereksiyona olumlu etkisi olduğunu ve bu etkisinin özellikle α_1 reseptör üzerinden, kavernoöz düz kas gevşemesini arttırıp, süresini de uzatmak şeklinde olduğu bildirilmiştir (39). Günümüzde yaygın olarak kullanılan pek çok antipsikotik ve antidepresan ilaçlar genellikle merkezi sinir sistemi üzerinden etki ederek ED'a yol açabilirler (41,42).

2.2.5 Erektile Disfonksiyon, Yaşlılık ve Sistemik Hastalıklar

2.2.5.1 Yaşlanma

Birçok çalışma ile sağlıklı yaşlanan erkekte ilerleyici cinsel disfonksiyon bildirilmiştir (43,44). Düzenli cinsel ilişkisi olan erkekte yaşlanma ile noktural ereksiyon sıklığı ve süresinde azalma olduğu gösterilmiştir (45). Penil taktile duyarlılığın azalması, artmış kavernoöz kas tonusu ve hipotalamo-hipofizer fonksiyon bozukluğu erektil disfonksiyon gelişmesinde etkili faktörlerdir (46-48). Çeşitli hayvan çalışmalarında penil yapısal ve fonksiyonel bozulmalar gösterilmiştir. Wistar ratlarda yaş ilerledikçe korpus kavernoöz düz kas kitlesinde azalma gösterilmiştir (49). Numao ve arkadaşlarının (50) yaptığı çalışmada, nNOS protein ekspresyonunda zayıflık ve arginaz aktivitesinde artış göstermişlerdir. Ferrini ve arkadaşları (51,52) inducible nitric oksitten peroksinitrik oksit oluşumunun artışıyla birlikte korpus kavernoöz ve hipotalamik bölgenin apoptotik endeksinde yükselme bildirmişlerdir.

2.2.5.2 Metabolik Sendrom (MS)

Glikoz intoleransı, insülin direnci, obezite ve hipertansiyonu kapsayan bir sendromdur. MS'ü olan kişilerde ED prevalansı, sağlıklı kişilere göre daha yüksektir

(%26,7, %13). Ayrıca MS komponenti arttıkça ED oranı da yükselmektedir (53). Yaşla birlikte artan MS prevalansına testosteron düşüklüğünün eşlik ettiği bildirilmiştir (54). Ayrıca düşük testosteron düzeyi, düşük seks hormon bağlayıcı globülin varlığında MS insidansının yükseldiği de bildirilmiştir (8). Yüksek ED prevalansı endotelial fonksiyon zafiyeti ve kanda c-reaktif protein yüksekliğine bağlanmıştır (53). Corona ve arkadaşları (55) ED’u olan obez kişilerde serum androjen düzeylerini düşük bulmuşlardır.

2.2.5.3 DM

2.2.5.3.1 Tanım

DM, pankreas beta hücre disfonksiyonu veya mutlak yetersizliği ile karakterize; periferik insülin direncinin eşlik ettiği protein, karbonhidrat, yağ metabolizmalarının etkilendiği hiperglisemik metabolik bir hastalıktır (56).

2.2.5.3.2 DM’un Epidemiyolojisi

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, 2010 yılında DM global tahmini prevalansı %6,4 civarındadır (1). Dünyada 280 milyondan fazla DM’lu hasta olduğu tahmin edilmektedir. 2030 yılında yaklaşık 366 milyon kişinin DM hastası olacağı öngörüsü yapılmaktadır. Bu artışın özellikle gelişmekte olan ülkelerde 45-64 yaş grubunda çok büyük oranda olacağı vurgusu yapılmaktadır (1,57). DM’un görülme sıklığı yaş ile birlikte artmaktadır ve yaşlanan dünya nüfusuy ile beraber DM’lu hasta sayısının artacağı tahmin edilmektedir (58).

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı ve İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi işbirliği ile yürütülen 18 Ocak–15 Haziran 2010 tarihleri arası sürdürülen 15 il 540 merkezi kapsayan 20 yaş ve üzerinde 26.499 kişinin katılımı ile gerçekleştirilen ‘‘Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevelans Çalışması-II (TURDEP-II)’’ sonuçlanmış olup erişkin Türk toplumunda diyabet sıklığı %13.7 olarak değerlendirilmiştir (2). 1998 yılında yapılan TURDEP-I’e göre yapılan karşılaştırma sonucunda, Türkiye’de diyabet sıklığı %90, obezite %44 oranında artmıştır (59).

2.2.5.3.3 Tip 2 DM Patogenezi

Tip 2 DM patogenezinde en önemli parametre genetik ve çevresel faktörlerin etkilediği periferik insülin direnci ve rölatif insülin yetmezliği olarak tanımlanabilir. Hangi parametrenin primer sorumlu olduğu tartışılırken beta hücre fonksiyon bozukluğu ve insülin direncinin birbirleri ile etkileşime girdiği bilinmektedir (60).

2.2.5.3.3.1 İnsülin Yetmezliği

İnsülin sekresyonunun glikoza cevabı, biri hızlı, diğeri yavaş ve sürekli olmak üzere iki fazdan oluşmaktadır. İnsülin salgılanmasında birinci fazın yokluğu ve fizyolojik olarak pulsatil salgılanmasının bozulması; klinik bulgu vermeksizin karşılaşılabilecek ilk beta hücre disfonksiyonunun bulgusudur (61).

2.2.5.3.3.2 İnsülin Direnci

Karaciğer, iskelet kası, kalp kası, yağ dokusu gibi insüline yanıt veren hedef dokularda insülin sinyal yolunda oluşan yetersizlik ve bozulmuş biyolojik yanıt insülin direncini tanımlar. İnsüline direnç; kas dokusu, karaciğer ve yağ dokusunda olur. Direnç gelişimi pre-reseptör, reseptör ve post-reseptör düzeyinde ortaya çıkabilir. Defektif insülin salınımı, glikozun ve insülin düzeylerinin hedef doku ve organlarda uygun olmaması, pre-reseptör düzeyde insülin direncine neden olmaktadır (62).

2.2.5.3.3.3 Bozulmuş İnsülin Salınımı

Normal bireylerde insülin, pro-insülinin parçalanmasıyla elde edilir ve salgılanan insülinin %10-20 sini pro-insülin oluşturmaktadır, buna karşılık tip 2 DM hastalarında bazal olarak salgılanan pro-insülin/insülin >%40 oranında artmıştır (63). Pro-insülin artışı sadece obezitede insülin direncine karşı oluşan talebe bir cevap olarak değil aynı zamanda obezite derecesi ile ilişkili olarak beta hücre disfonksiyonunun da bir sonucudur (64).

2.2.5.3.3.4 Adacık Amiloid Polipeptidin Rolü

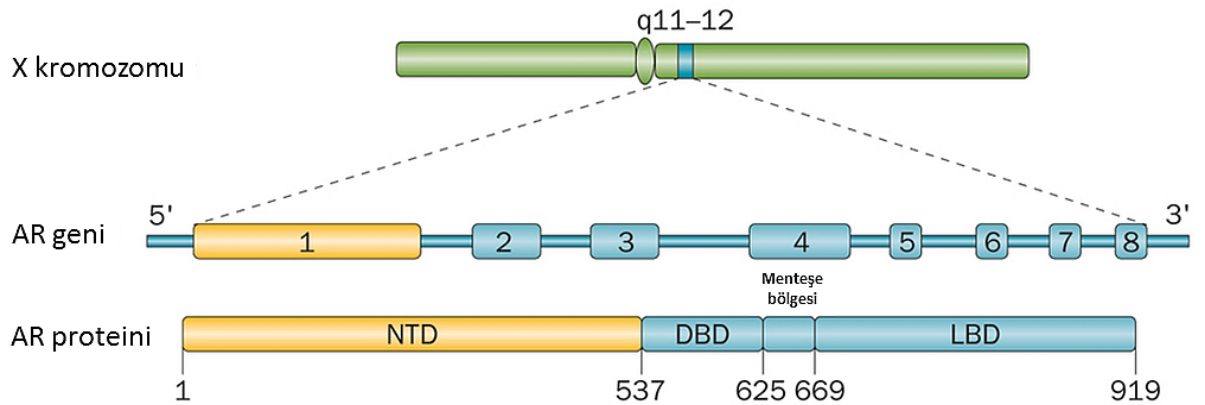
Adacık amiloid polipeptid, pankreas beta hücrelerinde insülin salgılayan granüllerde depolanmaktadır. Serumda insülin konsantrasyonunun onda biri düzeyde

bulunan ve insülinle beraber salgılanan amilin Tip 2 DM hastalarının pankreasında yüksek miktarlarda bulunur (65). Yüksek konsantrasyondaki amilin glikoz alımını azaltarak ve endojen insülin salgısını inhibe ederek, tip 2 DM patogenezinde direk etkin rol oynadığını düşündürmektedir (66).

2.2.5.3.3.5 AR'nün Rolü

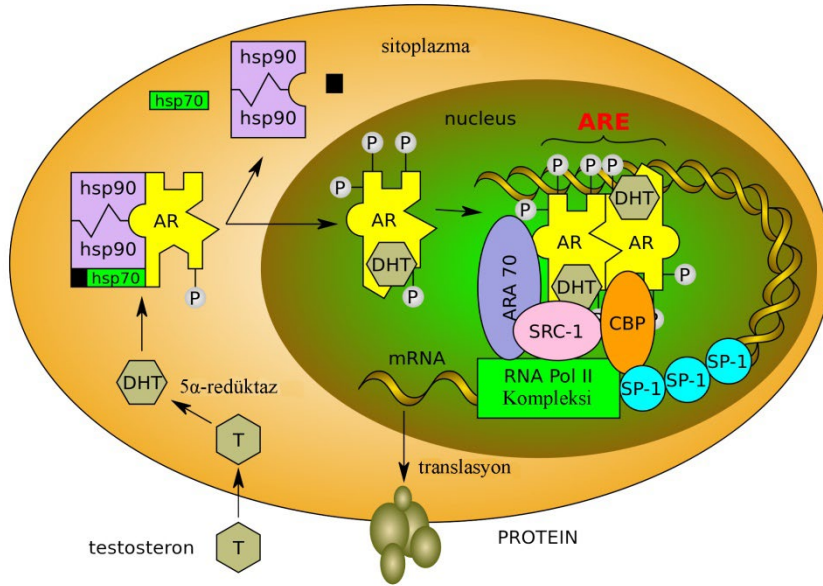
2.2.5.3.3.5.1 AR'nün Yapısı ve Fonksiyonları

Nükleer steroid hormon reseptörü ailesinin üyesi olan AR, aktivitesi androjenlerle düzenlenen bir reseptördür. X kromozomunda uzun kol üzerinde q11-q12 aralığında yerleşim göstermektedir. 8 ekzonlu 180 kb'lik DNA molekülünü kapsar. Diğer steroid hormon reseptörlerinde olduğu gibi 4 bölge içerir. Bunlar N-terminal bölgesi (NTD), DNA bağlanma bölgesi (DBD), menteşe bölgesi de denilen C-terminal bölgesi ve ligand bağlanma bölgesi (LBD)'dir. NTD ana transkripsiyonel ve ko-aktivatör bağlanma bölgesidir. DBD, klasik çift çinko parmak motifiyle androjen yanıt elemanı (ARE) olarak adlandırılan özel DNA dizisini tanıma ve bağlanma bölgesidir. Menteşe bölgesi, AR'nün çekirdeğe geçişinde önemlidir. LBD, 12 korunmuş a-heliks'le düzenlenmiş özel bir bölgede bulunan ligand bağlanma bölgesini oluşturur. Şekil 3'de androjen reseptörünün şematik yapısı gösterilmiştir.



Şekil 3. Androjen reseptörünün şematik görüntüsü. N-terminal bölgesi (NTD), DNA bağlanma bölgesi (DBD), ligand bağlanma bölgesini (LBD) gösterilmektedir. (Lonergan, Peter E., and Donald J. Tindall. "Androgen receptor signaling in prostate cancer development and progression." *Journal of carcinogenesis* 10.1 (2011): 20.)

Dolaşımdaki majör androjen, Leyding hücreleri tarafından sentezlenen testosterondur. Testosteron steroid hormon bağlayıcı globüline ve albumine bağlanarak taşınır. Hedef hücrede 5 alfa redüktaz enzimi ile daha potent bir androjen olan 5 α -dihidrotestosteron (DHT)'a dönüşür. Hem testosteron hem de DHT'nun, AR'ne bağlanması AR'nün şaperon proteininden (**hsp90**) ayrılmasına neden olacak konformasyonel bir değişikliğe sebep olur. Bu değişim de AR'nün daha aktif bir form kazanmasını, çekirdeğe yönlenmesini, homodimer hale geçip DNA'ya bağlanmasını sağlar. AR'nün, ARE'na bağlanması, genel transkripsyon faktörleri ve RNA polimeraz ile doğrudan fiziksel ilişki kurmasını ve hedef genlerin ekspresyonunu sağlamış olur. Böylece AR aracılı dokularda hedef yanıt oluşur. AR bir taraftan da AR yapan geni de aktive eder (otoaktivasyon). Dolayısı ile dokuda androjen seviyesi arttıkça, AR seviyesi azalmaz, sabit kalır. Şekil 4'de androjen reseptörünün etki mekanizması şematize edilerek gösterilmiştir.



Şekil 4. Androjen reseptörü etki mekanizmasının şematik görünümü. Steroid reseptör ko-aktivatör-1 (SRC-1), dihidrotestosteron (DHT), ısı şok proteini 90 (hsp90), cAMP cevap elamanı bağlayıcı protein (CBP), androjen yanıt elemanı (ARE) gösterilmiştir. (Meehan, Katie L., and Marianne D. Sadar. "Androgens and androgen receptor in prostate and ovarian malignancies." *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library* 8 (2003): 780-800.)

2.2.5.3.3.5.2 AR ve DM Arasındaki İlişki

Serum total testosteron düzeyi ile viseral yağ dokusu ve DM arasında ters ilişki vardır. Erkeklerde yüksek serum total testosteron düzeyi insülin sensitivitesini gösterir (67). Testosteronun, estradiole aromatisasyonu da dokunun enerji dengesinde rol oynar (68). AR genindeki sitozin-adenin-guanin (CAG) tekrarına bağlı androjen direnci oluşan erkeklerde, AR aracılı gen transkripsiyonu azalır ve viseral yağ dokusu artar (69). Ayrıca AR'ü olmayan erkek ratlarda yapılan çalışmalarda geç başlangıçlı viseral obezite, beyaz yağ dokusu ve karaciğerde artmış lipogenez gösterilmiştir (70,71). Aynı zamanda testosteron pluripotent mezenkimal kök hücreyi, miyojenik köke dönmesini indüklerken, adipojenik köke dönüşümünü inhibe eder (72). Kas hücrelerindeki artmış AR ekspresyonu tip 2b fiberleri hipertrofiye ederek, oksidatif metabolizmayı artırır, böylece adiposit boyutunu ve beyaz yağ dokusunu azaltır (73). Viseral beyaz yağ dokusunun artmasından ziyade, AR bağımlı ortaya çıkan insülin direncinde mitokondrial biyogenez ve iskelet kası oksidatif liflerini indükleyen bir transkripsiyon faktörü olan Peroksizom proliferator-activated reseptör-gama ko-aktivatör (PGC1 α) seviyesi azalır. Tip 2 diyabetes mellitus olan hastaların iskelet kasında azalmış PGC1 α seviyesi gösterilmiştir (74). Benzer olarak düşük testosteron seviyelerinde ve AR olmayan farelerde PGC1 α seviyesi azalır (70,75).

AR, erkek beyinde fazlası ile eksprese edilir. AR özellikle hipotalamusda bulunan leptin sinyalini düzenler. AR olmayan farelerde, leptin tarafından düzenlenen, yiyecek alımının azaltılmasının ve obezite gelişmeden önce vücut ağırlığını düşürülmesinin bozulduğu gösterilmiştir (76). Özetle AR, beyaz yağ dokusu miktarını, insülin sensitivitesini, glukoz dengesini santral ve periferik yolaklar ile düzenler.

2.2.5.3.4 ED ve DM Arasındaki İlişki

ED prevalansı, DM'lu hastalarda üç kat fazladır (%9,6 vs. %28) ve erken yaşta ortaya çıkıp, hastalık süreciyle birlikte ilerler (34). DM, merkezi sinir sistemini, androjen sekresyonunu, periferik sinir aktivitesini, endotelial hücre fonksiyonunu ve düz kas kontraktilesini etkileyerek ED'a neden olabilir (77).

DM'a bağlı gelişen ED'u olan hastalarda intrakavernozal enjeksiyon sonrası dupleks ultrasonografi ile %75 oranında arteryel yetmezlik saptanmıştır (78). Yine DM'a bağlı gelişen ED'u olan hastalardan alınan penil örneklerde, kavernöz arter patolojisi, kavernoza düz kasta ultrastrüktürel bozulma ve endotelial bağımlı düz kas gevşemesinde bozulma görülmüştür (13,79,80). Hirshkowitz ve arkadaşları (81) ED'u olan DM'lu erkeklerin, aynı yaştaki sağlıklı erkeklere göre uyku ereksiyonlarında azalma, tümesans süresinin kısalması, zayıf rijidite ve penil kan basıncında azalma göstermişlerdir.

DM'a bağlı gelişen ED, mekanizmasını anlamak için tip 1 ve tip 2 DM'u olan çok sayıda hayvan modelli çalışma yapılmıştır. Bu hayvan modellerinde, DM endotelial hücre disfonksiyonuna neden olup vasküler hastalık prevalansını arttırmıştır. Diğer etkileri arasında, nNOS azalması, eNOS aktivitesinin düşmesi, oksidatif stres, glikasyon son ürünlerinin artması, elastin azalması, L-argininin plazma ve vasküler mitarının azalması sayılabilir. Ayrıca selektif nitrejik sinir dejenerasyonu, vasküler endotelial büyüme faktörü düşüklüğü, kavernöz erektil dokunun hiperkontraktibilitesi ve düz kas/kollajen oranının düşmesi ile veno-okluzif sistemin zayıflaması da gösterilmiştir (82).

2.2.6 ED Değerlendirme ve Tanı Araçları

2.2.6.1 Cinsel, Tıbbi ve Psikososyal Öykü

ED'un değerlendirilmesinde diğer birçok ürolojik hastalık gibi öykü çok önemli yer tutar. Herhangi bir cinsel sorunun değerlendirilmesi, seksüel, tıbbi ve psikososyal bileşenleri içeren ayrıntılı bir öykü ile başlar. Öykü alınması sırasında form yada kısa kontrol listelerinden yararlanılabilir. Bu anlamda en çok kullanılan araç, uluslararası erektil fonksiyon indeksi (International Index of Erectile Function Questionnaire; IIEF)'dir (83). IIEF, 15 maddeden oluşan ve erektil fonksiyon, orgazmik fonksiyon, ilişki memnuniyeti ve genel memnuniyeti irdeleyen bir formdur. IIEF'in kısaltılmış formu olan 5 soruluk anket (IIEF-5) klinik pratikte rutin olarak kullanılmaktadır. Tablo 2'de IIEF-5 formunda yer alan sorular belirtilmiştir.

Tablo 2. Uluslararası erektil fonksiyon indeksi-5 (IIEF-5) sorgulama formunun içeriği

| |
|---|
| <p>Son 4 hafta içinde sertleşmeyi sağlama ve devam ettirme konusunda kendinize güveninizi nasıl değerlendiriyorsunuz?</p> <p>5 Tam 4 Tama yakın 3 Orta derecede 2 Az 1 Çok az</p> |
| <p>Son 4 hafta içindeki cinsel uyarılmayla oluşan sertleşmelerin ne kadarlık bir kısmı cinsel ilişkiyi sağlayacak düzeydeydi?</p> <p>5 Hemen hemen hepsinde (her zaman) 4 Çoğunlukla (yarısından çok daha fazlasında) 3 Bazen (yaklaşık yarısında) 2 Nadiren (yarısından çok daha azında) 1 Hiç ya da hemen hemen hiç</p> |
| <p>Son 4 hafta içindeki cinsel ilişkiler sırasındaki sertliği ne sıklıkla devam ettirebildiniz?</p> <p>5 Hemen hemen hepsinde (her zaman) 4 Çoğunlukla (yarısından çok daha fazlasında) 3 Bazen (yaklaşık yarısında) 2 Nadiren (yarısından çok daha azında) 1 Hiç ya da hemen hemen hiç</p> |
| <p>Son 4 hafta içindeki cinsel ilişkileri tamamlamak için sertleşmeyi sürdürmekte ne kadar zorlandınız?</p> <p>5 Aşırı zorlandım 4 Çok zorlandım 3 Zorlandım 2 Biraz zorlandım 1 Hiç zorlanmadım</p> |
| <p>Son 4 hafta içindeki cinsel ilişkilerin ne kadarlık bir kısmı sizin için tatmin edecek düzeydeydi?</p> <p>5 Hemen hemen hepsi (her zaman) 4 Çoğunluğu (yarısından çok daha fazlası) 3 Bazen (yaklaşık yarısı) 2 Nadiren (yarısından çok daha azı) 1 Hiç ya da hemen hemen hiç</p> |

Skorlama sonucunda toplam skoru 22'in altında olan hastalar ED kabul edilir. 22 - 25 arası puanlar normal erektil fonksiyon olarak kabul edilir. IIEF-5 skoruna göre ED derecelendirilmesi yapılır (Tablo 3).

Tablo 3. IIEF-5 skoruna göre ED'un derecelendirilmesi

| ED'un derecesi | IIEF-5 skoru |
|-----------------------|---------------------|
| Yok | 22-25 |
| Hafif | 17-21 |
| Hafif-orta | 12-16 |
| Orta | 8-11 |
| Ağır | 5-7 |

Rutin klinik pratikte sıkça kullanılan bu formun bazı kısıtlılıkları vardır. Hasta tarafından doldurulan bu formun bilinen en önemli sınırlamalarından biri ED'un etyolojisini ayırt edemezler (84). Objektif dayanaklarca kanıtlanmış ED'un şiddetini yeterince gösteremeyebilirler (85). Bu nedenle ED'un temellerini kapsamlı olarak anlamak ve buna göre tedavi düzenlemek için klinik değerlendirmede vasküler, nörolojik ve endokrinolojik tanısal testlere ihtiyaç duyulmaktadır.

2.2.6.2 Fizik Muayene

Fizik muayane; boy, ağırlık, göğüs çevresi gibi basit antropometrik ölçümleri, ikincil seks karakterleri açısından vücudun değerlendirilmesini, kardiyovasküler, nörolojik ve genital sistemlere ait ilgili vücut parçalarının muayenesini içerir. Mikropenis, konjenital kurtatür veya Peyronie hastalığı gibi penil deformitelerin saptanması, ED için fiziksel bir neden olabileceğini destekleyen bulgulardır.

2.2.6.3 Laboratuvar Testleri

Labaratuvar testleri aracılığı ile, ED ile ilişkili etyolojik tıbbi koşulların tanımlanma veya onaylanması sağlanabilir. Cinsel disfonksiyonu olan erkeklere önerilen laboratuvar testleri; serumun biyokimyasal analizi, açlık glukozu, total kan sayımı, lipid profili ve serum total testosteron düzeyini içerir. Serum total testosteron düzeyi için kan örneği saat 11'e kadar ve hasta aç iken alınmalıdır (86). Serum total

testosteron düzeyinin düşük saptanması durumunda serum serbest testosteron düzeyi veya biyoyaralanımlı testosteron düzeyi ölçülmelidir (87). İleri hormonal incelemede, serum gonadotropin düzeyi, prolaktin düzeyi ve tiroid fonksiyon testlerine bakılmalıdır.

2.2.6.4 Vasküler Değerlendirme

Vasküler değerlendirme, penisin erektil yanıtı için gerekli olan korporal yapılar içerisindeki arteriyel kan akımı, kan dolgunluğu ve kanı saklama miktarının ölçümünü içerir. Kombine intrakavernozal enjeksiyon ve stimülasyon ile birlikte dupleks ultrasonografi değerlendirme ve uygulama şekli olarak gerek insanlarda ED tanısında, gerekse hayvan deneylerinde ED'ü göstermede, kullanılan tanısal testler arasında yer almaktadır. Test vazodilatatör ilacın intrakavernozal olarak yapılması ve genital veya duysal uyarıya verilen erektil yanıtın derecelendirilmesi, penise arteriyel kan akımının artması sırasındaki pik sistolik hız, diyastol sonu hızın ölçümü esasına dayanır. İlk ölçümler, intrakavernöz ilaç kullanımından önce yapılarak kaydedilir. Daha sonra ilacın verilmesini takiben 5., 10. ve 20. dakikalarda kavernoöz arterden spektral akım örneklemeleri yapılır. Elde edilen spektral akım dalga formları üzerinden pik sistolik hız (PSH), end diastolik hız (EDH) ve rezistif indeks ($RI = \frac{PSH - EDH}{PSH}$) değerleri ölçülür. Pik sistolik hızın >30 cm/sn, end diastolik hızın <3 cm/sn ve rezitif indeksin $>0,8$ olması normal değerler olarak kabul edilir (88).

Sadece vasküler rekonstrüktif cerrahi için potansiyel aday olarak düşünülen hastalar için arteriografi ve dinamik infüzyon kavernoözometri veya kavernoözografi uygulanmalıdır (89).

2.2.6.5 Psikolojik Değerlendirme

Psikolojik değerlendirmede, esasen erektil fonksiyona müdahalede bulunan psikolojik ve kişiler arası faktörler gibi klinik prezentasyonlardaki psikolojik katkılar araştırılır. Geniş populasyonlu çalışmalarda ED'un anksiyete, depresyon, özgüven düşüklüğü, yaşama olumsuz bakma, duygusal stres ve cinsel zorlama öyküsü gibi durumlarla birliktelik gösterdiği saptandığı için ED tanısında psikolojik unsurlar göz ardı edilmemelidir (34).

2.2.7 ED'un Tedavisi

ED'da en az invaziv olandan başlanıp daha invaziv olan seçeneklere doğru ilerlenilerek, basamaklı bir tedavi yöntemi uygulanması tercih edilmektedir. ED tedavisi 4 kategoride ele alınmaktadır: psiko-seksüel yaklaşım ve eğitim, farmakolojik tedaviler, mekanik tedaviler ve cerrahi tedavilerdir. İlk basamak ED tedavi yöntemleri; oral farmakoterapi, vakum uygulaması ve psikoterapidir. İkinci basamak tedavi yöntemleri; intrakavernözal enjeksiyonlar ve intraüretral ilaç uygulamalarını içermektedir. Üçüncü basamak ED tedavisi ise, penil revaskularizasyon, venöz ligasyon ve protez uygulamaları gibi daha invaziv yöntemlerden oluşmaktadır (87). ED'ü bulunan hastaların çoğunda gözlenen sigara kullanımının, bırakılması önerilmelidir (90). Beraberinde sıkça gözlenen DM, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar gibi durumlarda, hastalığın tedavi ile kontrol altında tutulması gerekmektedir (91).

2.2.7.1 Psikoseksüel Tedavi

Sistemik kaygı azaltılması/duyarsızlaştırma, duyusal odaklanma, kişiler arası terapi, bilişsel-davranışçı tedavi, cinsel eğitim, çiftlerin iletişimi, cinsel beceri eğitimi ve masturbasyon egzersizleri gibi çeşitli tedaviler kullanılmaktadır (92). Oral tedavi, intrakavernozal enjeksiyon gibi diğer tedavi yöntemleri ile oldukça başarı sonuçlar elde edilmiştir (93). Psikoseksüel danışmanlık, yararlı olabilmekle beraber sonuçları değerlendirebilecek çok az randomize çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle bu tedaviyi destekleyecek kanıtlar çok azdır.

2.2.7.2 Hormonal Tedavi

Testosteron replasmanı hipogonadizm ile ilişkili klinik şikayetleri giderir. Testosteron replasmanının, etkinliğinin değerlendirilmesi, testosteron düzeyinin ölçümünden daha çok klinik cevaba göre karar verilmesine rağmen tedavi öncesi ve sırasında serum total testosteron düzeylerinin değerlendirilmesi önerilir. Üç ay gibi kısa bir terapötik deneme yapıldıktan sonra yanıt olmaması durumunda testosteron uygulamasının kesilmesi önerilmektedir (94). Tedavi sırasında eritrositoz, uyku apnesi, üriner semptomlar, prostat kanseri progresyonu gibi androjen tedavisinin potansiyel yan etkileri akılda tutulmalıdır (95). Hipogonadizm tedavisinde

kullanılmak üzere; enjektabl, subkutanöz, transdermal, bukkal ve oral birçok testosteron formu bulunur. Tüm preparatların kullanım sıklığı, birbirinden farklıdır (96).

2.2.7.3 Farmakolojik Tedaviler

Günümüzde, ED şikayeti ile başvuran hastalarda ilk tedavi seçeneği olarak genellikle oral ajanlar kullanılmaktadır. Hastalar da, çoğunlukla oral tedavileri, psiko-seksüel danışmanlık ve daha invaziv tedavi seçeneklerine tercih etmektedir.

2.2.7.3.1 α -adrenoseptör Antagonistleri

Yohimbin, periferik ve santral etkili bir α -adrenoseptör antagonistidir. α 2-presinaptik reseptörlerin, kavernoözal arterleri innerve eden, nonadrenerjik nonkolinerjik nitrejik sinirlerde lokalize olabileceği öne sürülmektedir. Bu reseptörlerin blokajı, korporal vazodilatasyonu arttırarak ereksiyonları geliştirebilmektedir. Ancak, eldeki veriler organik ED’de yohimbinin plaseboya göre daha yararlı olduğunu göstermemektedir. Buna karşın, bazı küçük çalışmalarda psikojenik veya erken arteriyojenik ED’u olan hastalarda bir miktar etkinliğinin olduğu bildirilmiştir (97).

2.2.7.3.2 Fentolamin

Fentolamin bir α 1- adrenoseptör blokeridir. α 1- adrenoseptör antagonistleri güçlü vazodilatatörlerdir ve erektil yanıtı arttırmaları beklenebilir. Klinik tecrübeler ED için etkili bir tedavi olduğunu düşündürmektedir. Etki süresi daha kısa olan bukkal bir preparat %30-40 başarılı olduğu gösterilmiştir. Ancak ilacın güvenliği ile ilgili endişeler, onaylanmasını önlemektedir (98).

2.2.7.3.3 Dopamin Agonistleri

Apomorfin, bir dopamin-2 reseptör agonistidir. Erektile yanıtı ortaya çıkarmakta önemli olduğu bilinen paraventricüler nükleusta dopaminerjik yolların bulunması, dopamin agonistlerinin ED’da kullanımını mantıklı hale getirmektedir. Psikojenik ED’u olan erkeklerde subkutan enjeksiyon sonrası % 60 oranında yanıt gözlenmiştir (99). Bu hastalarda cinsel istekte de artış gözlenmiştir. Apomorfin ile

ilgili çekince, esneme, bulantı-kusma ve ortostatik hipotansiyon gibi yan etkilerinin olmasıdır (100).

2.2.7.3.4 Serotonin Agonistleri

Trazodon, hem santral etkili serotonin agonisti hem de periferik sempatolitik bir ajandır. Yapılan çalışmalar, ED’da bir miktar etkisinin olduğunu göstermektedir. Literatürde etkinliği konusunda karşıt görüşler mevcuttur (101). Yan etkileri arasında sersemlik, hipotansiyon ve bulantı-kusma bulunmaktadır (98).

2.2.7.3.5 Fosfodiesteraz tip 5 (PDE-5) enzim inhibitörleri

ED tedavisinde son 20 yıl içerisinde önemli gelişmeler olmuştur. 80’li yıllarda intrakavernözal tedaviler yaygın olarak kullanılırken, 90’lı yılların ilk yarısında intra-üretral uygulamalar geliştirilmiştir. Ancak gerek uygulamalardan kaynaklanan komplikasyonların fazlalığı, gerekse tedaviden beklenen faydanın istenilen düzeye ulaşmaması yeni tedavi arayışlarının devam etmesine neden olmuştur. Bu gelişmelerin sonucu olarak, 90’lı yılların sonuna doğru ED tedavisinde yeni bir alternatif olarak oral **PDE-5 enzim inhibitörlerinin** kullanımı gündeme gelmiştir (102,103). Oral yolla kullanılabilen PDE-5 enzim inhibitörleri, sağladıkları yüksek klinik başarı ve hasta memnuniyetleri ile ED’u olan erkeklerin tedavisinde devrim yapmıştır.

Fosfodiesterazlar, siklik adenozin monofosfat (cAMP) veya cGMP’nin fosfodiesteraz bağlarını hidrolize ederek, hücrelerde ikincil mesajcı aktivitesinin sonlanmasını katalizleyen 11 farklı aileyi kapsamaktadırlar. PDE enzim inhibitörleri ise hücre içinde cAMP, cGMP veya her ikisinin düzeylerinde artışa neden olmaktadır. PDE’ların doku dağılımları ve cAMP-cGMP’a etkileri farklılık göstermektedir. PDE-5 enzimi, penis korpus kavernozum düz kasında yoğun olarak bulunan ve düşük cGMP konsantrasyonlarında hidrolizasyon yapan bir enzimdir. Kavernozal dokuda NO aracılığı ile cGMP yapımını sağlayan guanilat siklaz enzimi aktive edilir. Bu sayede artan cGMP etkisi ile penil damarlarda düz kas gevşemesi olur ve penisin trabeküler kan boşluklarına kan akımı atarak ereksiyon gerçekleşir. cGMP’ın inaktif GMP’a dönüşümü PDE-5 enzimi aracılığı ile sağlanmaktadır. PDE-

5 enzim inhibitörleri, cGMP'ın yıkımını engelleyerek hücre içi cGMP yoğunluğunu arttırır ve ereksiyonun devamını sağlar (104).

Günümüzde klinik kullanımda 5 farklı PDE-5 enzim inhibitörü bulunmaktadır. İlk olarak 1998 yılında sildenafil (Viagra®, Pfizer) kullanıma girmiştir. Ardından 2003 Ağustos ayında vardenafil (Levitra®, Bayer/Glaxo Smith Klein), Kasım 2003'de tadalafil (Cialis®, Lilly/ICOS), Mayıs 2011'de Udenafil (Dong-A Pharma) ve son olarakta Nisan 2012'de avanafil (Spedra®, Menarini Group) klinik kullanıma girmiştir.

Bütün PDE-5 enzim inhibitörleri karaciğerde metabolize olmakta, daha çok feçes yoluyla olmak üzere feçes ve idrarla atılmaktadır. Farmakokinetik etkileri bakımından karşılaştırıldıklarında en önemli fark T1/2'nin sildenafil ve avanafil için 3-5 saat, vardenafil için 4-5 saat, udenafil için 7.3-12.1 saat ve tadalafil için 17.5 saat olmasıdır. Etki süreleri avanafil için 6 saat, sildenafil ve vardenafil için 12 saat, udenafil için 24 saat ve tadalafil için 36 saate kadar uzamaktadır. Etki başlangıç süresi, avanafilde 15 dakika ile vardenafil (15-60 dk), sildenafil (30-60 dk), udenafil (30dk) ve tadalafile (15-120 dk) göre biraz daha kısadır (105-107).

Sildenafil'in klinik kullanıma giren ilk ilaç olması nedeni ile sildenafil ile yapılmış oldukça fazla sayıda çalışma ve klinik veri mevcuttur. Etiyoloji dikkate alınmaksızın yapılan çalışmalarda **sildenafil'in** klinik başarısı %50-85 arasında değişmektedir (108). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, IIEF-5 domain skorunda ortalama 10.6 puanlık artış ve başarılı cinsel ilişki oranında %12'den %69'a yükselme ortaya konulmuştur (109). Vardenafil ve tadalafil üzerine yapılan plasebo kontrollü çalışmalarda sildenafil'e benzer oranlarda klinik başarı bildirilmiştir (110). DM'lu hastalarda oral sildenafil ile %53-65 oranlarında başarılı sonuçlar bildirilmiştir (111,112). Daha önce 100 mg sildenafil tedavisine cevap alınamayan DM'lu hastalarda 20 mg vardenafil kullanımı ile %54 oranında cinsel ilişki için yeterli ereksiyon elde edilmiştir (113). Tadalafil'in DM'a bağlı ED'u olan hastalardaki etkinliğini araştıran çalışmalarda benzer başarı oranları bildirilmiştir (114).

PDE-5 enzim inhibitörleri kullanımında ateş basması, baş ağrısı, nasal konjesyon, sırt ağrısı, renkli görmede geçici bozukluk ve dispeptik yakınmalar gibi yan etkiler görülebilir. Bu ilaçların herhangi bir formdaki organik nitratla, herhangi bir zamanda beraber kullanımları kontrendikedir. Nitratlar ile beraber kullanımında belirgin hipotansiyon ve kardiyak arrest riskine yol açmaktadır.

Sonuç olarak, ilgili literatür gözden geçirildiğinde her dört ilacında eşdeğer etkinlik, güvenilirlik ve toleransa sahip olduğu görülmektedir. Yan etki profilleri arasında farklılık yoktur. Farmakokinetik olarak farklılık etkinin başlama ve devam etme süreleridir.

2.2.7.4 İntraüretal Tedaviler

Bu teknik ilacın korpus spongiosumu çevreleyen mukozal tabaka yoluyla emilip, küçük vasküler kanallar aracılığı ile korpus kavernozumdaki ana erektil dokulara geçmesine dayanır. Bu tedavi yönteminde hesaplanan cevap oranı yaklaşık olarak %50 olduğu ve yanıt alanların da yaklaşık %70'inin uygulama sonrası cinsel ilişkiye girebildiği gösterilmiştir (115).

2.2.7.5 İntrakavernözal Enjeksiyon Tedavileri

İntrakavernözal farmakoterapi, 80'li yıllarda papaverin ve fenoksibenzamin gibi ajanların intrakavernözal enjeksiyonu ile popularite kazanmış ve ED için cerrahi olmayan etkili ve geniş oranda kullanılan ilk tedavinin oluşturulmasına yol açmıştır (116,117). Prostaglandin E-1 (PGE-1)'in (Alprostadil), Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA) tarafından intrakavernözal kullanım için onaylanması, papaverine alternatif olarak geniş oranda kullanılmasını sağlamıştır. PGE-1'in etkinliği papaverine benzer ancak uzamış yanıt çok daha azdır. Ayrıca, PGE-1 ile intrakavernözal fibrozise eğilim daha az gözlenmektedir. Ancak, PGE-1'in dezavantajı, hastaların çoğunun enjeksiyon sonrası prostaglandinler ile indüklenen intrakorporal ağrı reseptörleri nedeni ile oluşan ağrıdan yakınmalarıdır. Başarı oranının %89'lara ulaştığını bildiren yayınlar vardır (118). İntrakavernözal farmakoterapinin başlıca komplikasyonları ise; priapizm, ağrılı ereksiyon, ereksiyon deformitelerine neden olabilen hematoma oluşumu ve erektil dokuda fibrozis'tir.

2.2.7.6 Vakum Cihazları

Vakum sistemleri; saydam bir silindir, negatif basınç oluşturmaya yarayan bir pompa ve sıkıcı halkadan oluşmaktadır. ED için vakum cihazlarının kullanımının altında yatan temel kural, vakumun emici etkisi ile (negatif basınç ile) arteriyel dolun ve korpustarda depolanmayı sağlamaktır. Rijiditenin devam ettirilmesi bir sıkıcı halka ile sağlanır. Yan etkileri olan peteşiyel kanamalar ve ekimoz nadiren görülmektedir. Dezavantajı ise, hastaların yöntemi doğal bulmamaları, penis distalinde soğukluk ve ejakulasyon sırasında sıkıcı halkanın neden olduğu rahatsızlıktır. Tatminkar ereksiyon sağlama oranları % 60-94 arasında bildirilmiştir (119,120).

2.2.7.7 Cerrahi Tedaviler

ED için uygulanan cerrahi tedaviler arasında venöz kaçığın düzeltilmesi, arteriyel revaskülarizasyon ve penil protez yerleştirilmesi bulunmaktadır. Bunlardan sadece penil protezlerde, tatmin edici sonucun elde edilebildiği söylenebilir. Penil protez uygulaması, birinci ve ikinci basamak tedavilerin başarısız olduğu durumlarda hastalara son seçenek olarak sunulmaktadır. Protezler, 3 temel formda bulunmaktadır: semirijid (malleabl, bükülebilir, tek parçalı, sınırlı gevşeklik ve rijiditeye sahip cihazlar), iki parçalı şişirilebilir cihazlar ve üç parçalı normale en yakın olan şişirilebilir cihazlardır. Postoperatif dönemde enfeksiyon, mekanik sorunlar (şişirilebilir protezlerde) ve erozyon gibi komplikasyonlar görülebilmektedir. Penil protez implantasyonu uygulanan hastaların yaklaşık %90'ı tam memnuniyet bildirmiştir. Ayrıca, eş memnuniyeti de %80 dolaylarında bildirilmiştir (121).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1 Deney Hayvanları

Çalışmanın deneysel bölümü T.C. Sağlık Bakanlığı Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi bünyesinde faaliyet gösteren Adacell Hücre Tedavileri Rejeneratif Tıp ve Genomiks Araştırma ve Uygulama Merkezinde tamamlandı. İmmunhistokimyasal boyama bölümü ise Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı tarafından yapıldı. Çalışmaya başlamadan önce T.C. Sağlık Bakanlığı Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na verilen 1156 sayılı etik kurul onayı alındı. Tüm çalışma süresince deney hayvanları etik kurallarına uyuldu.

Çalışma için T.C. Sağlık Bakanlığı Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi bünyesinde faaliyet gösteren Adacell Hücre Tedavileri Rejeneratif Tıp ve Genomiks Araştırma ve Uygulama Merkezi tarafından temin edilen 350-400 gr ağırlığında Sprague-Dawley cinsi ratlar kullanıldı. Çalışmada kontrol grubunda 8 adet, **DM'u olan grupta** 8 adet ve kastrasyon grubunda 8 adet olmak üzere toplamda 24 rat kullanıldı. **Ratlar** deney süresince ad libitum olarak beslendi.

3.2 Deney Gruplarının Hazırlanması

Kontrol grubundaki (Grup 1) ratlar tamamen sağlıklı erkek ratlardan oluşturuldu. Bu gruba haftalık kan şekeri takibi yapılarak çalışma sırasındaki olası bir diyabet gelişme riski dışlandı. Takip sırasında ölen rat olmadı.

DM'u olan gruptaki (Grup 2) 8 rata, 12 saatlik açlık sonrası tek doz 60 mg/kg Streptozotosin (STZ) intraperitoneal yol ile enjekte edildi (122). Üç gün sonra kan glukoz seviyeleri (Accu-Check Advantage, Roche, Almanya) ölçüldü ve **kan glikoz düzeyi** 250 mg/dl'nin üzerinde olan ratlar DM olarak kabul edildi (123). Bu grupta bulunan ratların kan şekerleri her 7 günde bir ölçülerek, olası diyabetten çıkan ratların deney grubunu bozması önendi. DM'u olan ratlar 6 hafta boyunca takip edildi. Takip sırasında ölen rat olmadı.

Kastrasyon grubundaki (Grup 3) ratlarda öncelikle ksilazin 7 mg/kg + ketamin 100 mg/kg dozunda intramüsküler yolla uygulanarak anestezisi sağlandı. Uygun saha temizliği ve örtünmeyi takiben rat skrotumuna orta hattan yapılan yaklaşık 3 santimetrelik insizyon ile testislere ulaşıldı. Testisler spermatik korddan bağlanarak kesildi. Kanama kontrolünü takiben operasyon alanı primer suture edildi. Anestezi sonrası, operasyon salonunda bekletilen ratların anesteziden çıktıkları görüldükten sonra tekrar kafeslerine koyuldu. Kontrol grubunda olduğu gibi bu gruba da haftalık kan şekeri takibi yapılarak çalışma sırasındaki olası bir DM gelişme riski

dışlandı. Ratların yara yerleri günlük olarak takip edildi. Takip sırasında ölen rat olmadı.

İlk 3 gruba ek olarak DM’u olan grupta DM oluşturulmadan önce (Grup 4), kastrasyon grubunda ise kastrasyon oluşturulmadan önce (Grup 5) ağırlık, serum total testosteron düzeyi ve intrakavernozal basıncın, ortalama arteriyel basınca oranı (ICP/MAP) ölçümleri yapıldı.

3.3 Çalışma Planı

Deney grubundaki ratlar hazırlandıktan sonra, çalışmanın 3. haftasında kastrasyon grubu ve kontrol grubundaki ratlara, ksilazin ve ketamin bazlı anestezi kullanılarak anestezisi sağlandı. Anestezi uygulanmış olan ratın kuyruğu sıcak su yardımıyla hem temizlendi, hem de venler dilate edilmiş oldu. Ratın ağrı duymadığından, ağırlı uyarın verilip emin olununca 30 Gauge iğne ile kuyruk venine girilerek damlama yöntemi ile tüplere kan alındı. Alınan kan örneklerinde Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Kliniği tarafından serum total testosteron düzeyleri çalışıldı. Anestezi altındaki ratlara servikal dislokasyon uygulanarak ötenazi yapıldı. Kontrol grubundaki ratlarda pankreas, prostat, korpus kavernozum ve testis dokuları diseke edildi. Kastrasyon grubunda ki ratlarda pankreas, prostat, korpus kavernozum dokuları diseke edildi. Çalışmanın 6. haftasında DM’u olan gruptaki ratlara, önceki gruplardaki protokol kullanılarak anestezisi ve ötenazisi yapıldı. Bu gruptaki ratlardan da öncelikle hormonal ve biyokimyasal inceleme için kan örneği alındı. Takiben pankreas, prostat, korpus kavernozum ve testis dokuları diseke edildi. Tüm dokular %10 formaldehit (Merck Millipore, 103999) içeren tüplere ayrı ayrı konuldu. Çalışmada, inceleme sırasında oluşabilecek yanlılığı önlemek için gruplar kodlama yapılarak Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’na gönderildi.

3.4 Ratlarda Eretil Fonksiyonun Değerlendirilmesi

Tüm deney gruplarında sakrifikasyondan 1 gün önce ayrıca DM’u olan ve kastrasyon grubunda deney modeli oluşturulmadan (Grup 4 ve Grup 5) 1 gün önce ksilazin 7 mg/kg + ketamin 100 mg/kg dozunda intramüsküler yolla uygulanarak anestezisi sağlandı. Trake havayolu açıklığının sağlanması amacıyla kanüle edildi.

Ortalama sistemik arteriyel basınç ölçümü için karotid arter kanüle edildi (PE-50, polietilen tüp). Sistemik arteriyel basınç Biopack TSD104A (Biopac Systems, Santa Barbara, ABD) ile ölçüldü. Sıvı replasmanı için sol juguler ven kanüle edildi. Penis shaftı cilt ve cilt altı dokulardan serbestlendikten sonra sağ korpus kavernosumun üzerindeki iskiokavernöz kas diseke edildi ve korpus kavernoza ulaşıldı. 250 U/ml heparin ile doldurulan 25G iğne, PE-50 tüpe bağlandı ve korpus kavernoza girildi. Ardından basınç transdüserine bağlandı ve intrakavernozal basınçlar ölçüldü. Karın orta hattan yapılan insizyon ile mesane ve prostat tariflendi. Prostatın posterolateralinde seyreden majör pelvik ganglion ve kavernoza sinir bulundu. Kavernoza sinir etrafına bipolar elektrik stimülatörü yerleştirildi. Kavernoza sinir uyarımı 15Hz frekansta, 30 saniye dalga genişliği ile 5 Volt elektrik ile stimülasyon sağlanarak yapıldı. Uyarı süresi, 2-3 dakika dinlenme periyodunu takiben 1 dakika olacak şekilde ayarlandı. Ölçüm sırasında saptanan en yüksek intrakavernozal basıncın, ortalama arteriyel basınca oranı (ICP/MAP) hesaplandı (124).

3.5 Doku takibi, Gömme ve Bloklama

Preperatlar 30 dakika Phosphate-buffered saline (PBS) (Bioshop, PBS404) tamponunda bekletilerek yıkandı. Ardından 90 dakika % 80 etanol (Merck Millipore, 107017), 60 dakika % 95 etanol I, 60 dakika % 95 etanol II, 60 dakika % 100 etanol I, 60 dakika % 100 etanol III'de bekletilerek dehidretasyon işlemi gerçekleştirildi. Ksilol I (Sigma-Aldrich, 534056) ile 30 dakika ve ksilol II ile 30 dakika işlem görerek ksilol ile şeffaflandırma aşamasına geçildi. Şeffaflandırma aşamasını sonrası 60°C etüvde erimiş parafin içerisine alınan parçalar parafin I içerisinde 30 dakika, parafin II içerisinde 30 dakika bekletildi. Ertesi gün etüvden çıkarılan parçalar bloklandı (125,126).

3.6 Kesit Alma

Preperatlar, ışık mikroskopik incelemeler için mikrotomda (Leica RM 2145) 5µ'luk kesitler alınarak 37°C su banyosunda kesitlerin açılması sağlandı. Rodajlı lamlar üzerine doku kesitleri alındı. Tüm kesitler 1 gece 37° C'lik etüvde tutularak lam üzerine yapışmaları sağlandı. Kesitler 62° C'lik etüvde 120 dakika bekletildikten

sonra 60 dakika süre ile ksilol 1 ve 60 dakika süre ile ksilol 2’de tutularak parafinden uzaklaştırma işlemi gerçekleştirildi (125).

3.7 İmmünohistokiyasal Boyama

Kesitler, bir gece 60°C etüvde ve soğuduktan sonra 3 kez 30’ar dakika ksilolde tutuldu. Sırasıyla %95, %80, %70 ve %60’lık etil alkolde 2’şer dakika bekletildi. Kesitler distile su ile 10 dakika yıkandı ve çevreleri sınırlayıcı kalem [peroksidaz anti peroksidaz (PAP) pen] (Sigma, PAP pen for immunostaining 5 mm tip width, Z377821) ile çizildi. PBS solüsyonu ile 3 kez 5’er dakika yıkandı. Kullanılacak antikor için önerilen “antijen retrieval” yöntemi uygulandı (0,01 M sitrat tamponu (Sigma-aldrich, S1804) içerisinde 90° C mikrodalga içerisinde 30 dakika) (127). Örnekler soğutulduktan sonra 5 dakika % 0,25 Triton X-100 (Sigma-aldrich, Triton™ X-100) PBS’ de bekletildi. Endojen peroksit blokajı yapıldı, distile su (% 3 H2O2) (Merck Millipore, 107209) ile 5 dakika seyreltildi. PBS solüsyonu ile 3 kez 5’er dakika yıkandıktan sonra kesitler üzerine blok solüsyonu (veya % 1 BSA-PBS) (non-immun serum) damlatılarak 60 dakika beklenildi. Blok solüsyonu yıkamadan uzaklaştırıldı ve uygun şekilde dilüsyonu yapılmış 50 µl primer antikor (Bioss Androjen Reseptör antikor bs-12472R, 1/100 dilüe) damlatıldı, kapalı nemli kutuda bir gece 4°C’de bekletildi. PBS solüsyonu ile 3 kez 5’er dakika yıkandı. Primer antikor ile uyumlu biyotinlenmiş sekonder antikor (ScyTek, SPH125) damlatıldı, kapalı nemli kutuda 30 dakika oda ısısında bekletildi. PBS solüsyonu ile 3 kez 5’er dakika yıkandı. Hazırlanan streptavidinle işaretli sekonder antikor damlatıldı, kapalı nemli kutuda 30 dakika oda ısısında bekletildi. PBS solüsyonu ile 3 kez 5’er dakika yıkandı. Üzerine 3,3-diaminobenzidine (DAB) (ScyTek, ACK 500) solüsyonu damlatıldı, 8 dakika kapalı nemli kutuda bekletildi ve tekrar PBS solüsyonu ile 3 kez 5’er dakika ve distile su ile yıkandı. Mayers’in hematoksileni (Merck Millipore, 109249) ile nükleus boyanması kontrol edilerek 2 dakika boyama yapıldı. Distile su ile yıkandı. Sırasıyla % 80, % 95 ve % 100’lük etil alkolde 1’er dakika bekletildi. Kesitler kuruduktan sonra 2 kez 5’er dakika ksilolde şeffaflaştırıldı. Kapama mediumuyla lamel ile kesitler kapatıldı (128). Boyanan kesitler Olympus BX–51 fotomikroskop ile incelendi ve Olympus C-5050 kamera ile fotoğrafları çekildi.

Alınan kesitler mikroskopta 40 ve 100 büyütmede incelendi. Boyama yoğunluğu derecelendirilirken Mori ve arkadaşlarının (129) yaptığı çalışma baz alındı.

3.8 Kan Örneklerinin İncelenmesi

Serum total testosteron düzeyi ölçümü, ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi ile total testosteron kiti (Beckman Coulter, DSL104000) ve ölçüm cihazı (Unicel, Dx1800) kullanılarak tamamlanmıştır. Kitin sensitivitesi 0,1 ng/mL iken, ölçüm aralığı 0,1 – 16 ng/mL'dir.

3.9 İstatistiksel Analiz

Verilerin tüm analizi Statistical Analysis Statistical Package for Social Sciences for Windows (SPSS, Chicago, A.B.D.) 18.0 sürümü kullanıldı. Çalışmamızda tüm değerler ortanca \pm standart sapma ve en az-en çok değerler şeklinde hesaplandı. Veriler tek yönlü ANOVA, Bonferroni post-hoc testi kullanılarak hesaplandı. $P < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Gruplar Arasındaki Yaş ve Ağırlıklarının Karşılaştırılması

Grup 1, 2 ve 3'de bulunan ratların yaş ve ağırlıkları tablo 4'de gösterilmiştir. Grup 2'de bulunan ratların ağırlığı, Grup 1 ve 3 ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük ağırlıkta saptandı ($p < 0,001$). Grup 1 ve 3'de bulunan ratların ağırlığı arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p = 0,25$).

Tablo 4. Ratların yaş ve ağırlık değerleri

| | Grup 1 (n=8) | Grup 2 (n=8) | Grup 3 (n=8) |
|---------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Yaş (gün) | 115,5 \pm 4,01 (110-121) | 143 \pm 1,58 (140-145) | 134 \pm 1,85 (132-138) |
| Ağırlık (gr) | 362,5 \pm 15,46 (342-385) | 295 \pm 12,52 (275-310) | 351 \pm 13,37 (326-371) |

4.2 Grupların Serum Total Testosteron Düzeyi Ölçümü Sonuçları

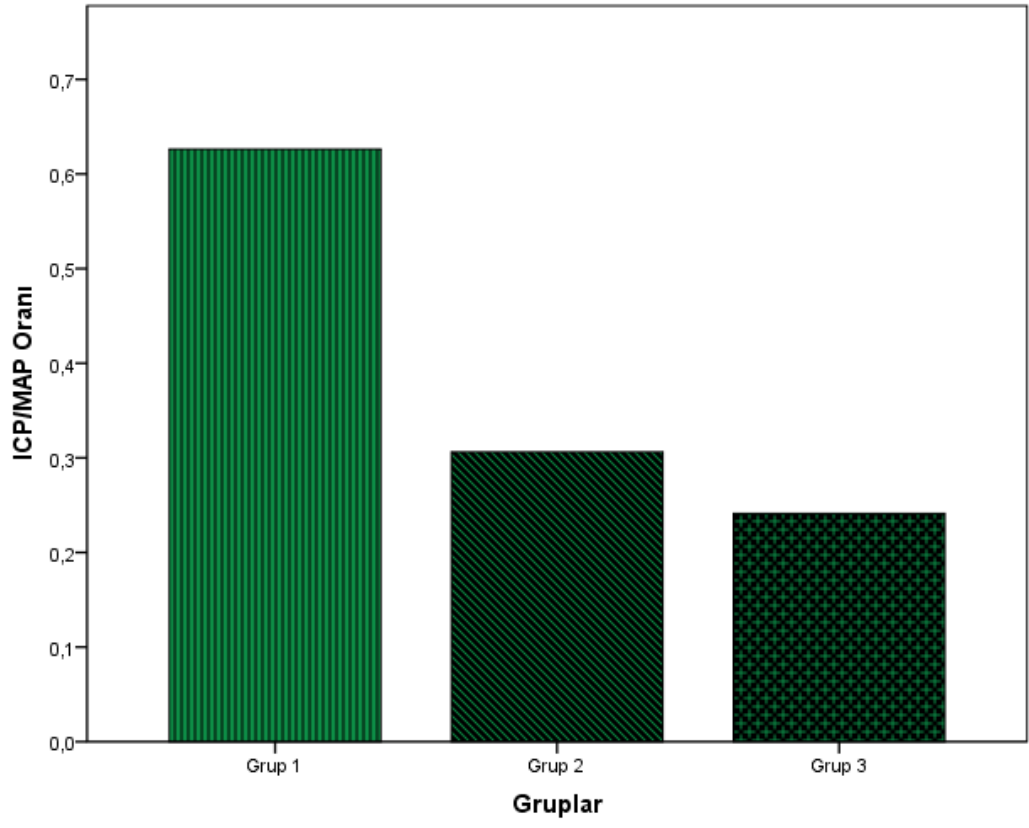
Tüm grupların ortanca serum total testosteronlar düzeyleri ng/mL cinsinden Tablo 5’de gösterilmiştir. Grup 1 ile Grup 4 ve 5’in serum total testosteronlar düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı (p=1). Grup 2 ve 3, diğer gruplar ile karşılaştırıldığında serum total testosteron düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu (p<0,01). Grup 2 ve 3 kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,41).

Tablo 5. Ratların ortanca serum total testosteron düzeyleri

| | Grup 1 | Grup 2 | Grup 3 | Grup 4 | Grup 5 |
|--------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Ortanca | | | | | |
| serum total | 2,5 ± 0,92 | 0,46 ± 0,17 | | 2,6 ± 0,37 | 2,55 ± 0,34 |
| testosteron | (1,5-4,6) | (0,36-0,89) | 0,1 | (2,05-3,2) | (2,05-3,12) |
| (ng/mL) | | | | | |

4.3 Grupların ICP/MAP Ölçüm Sonuçları

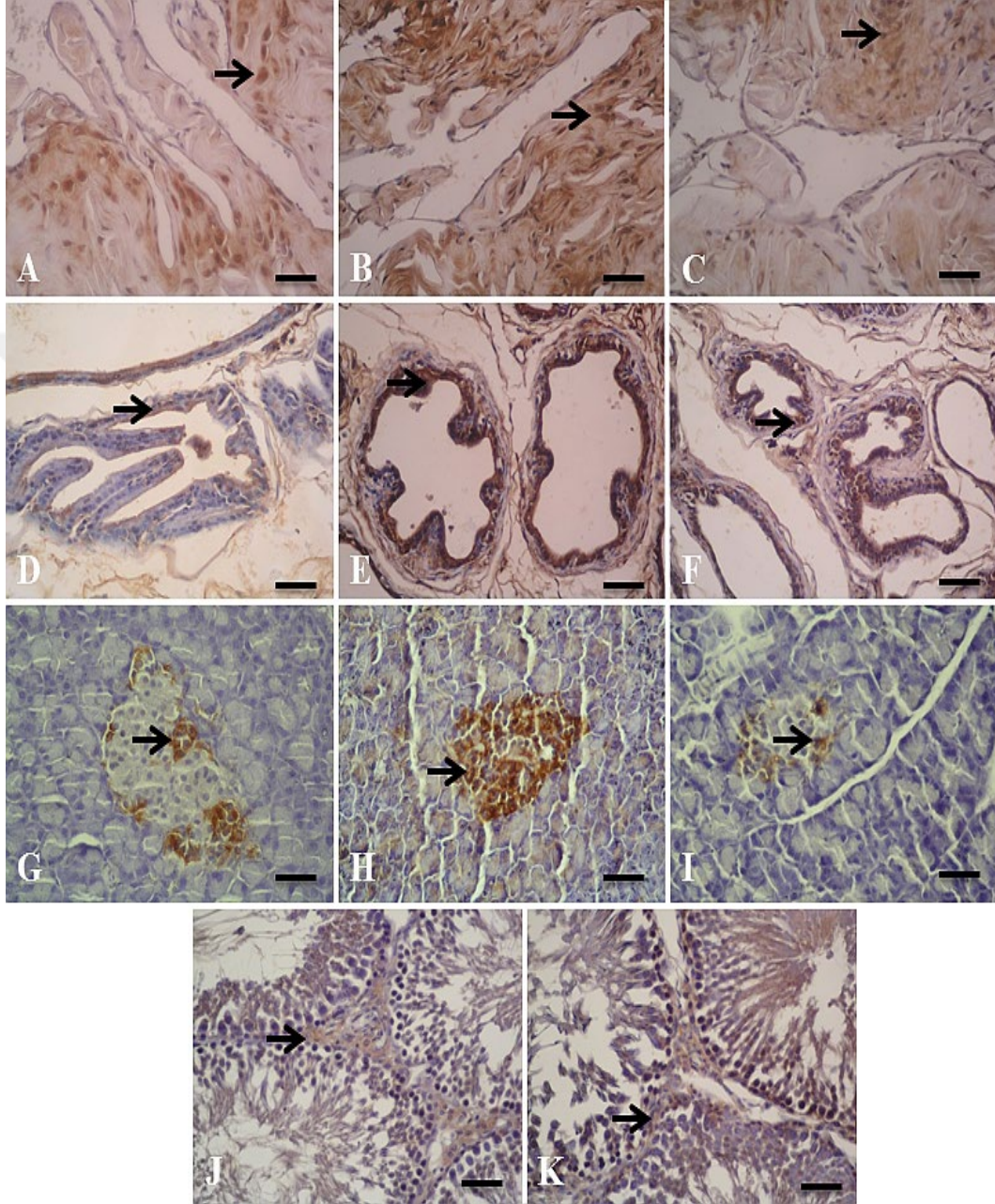
Grup 1, 2 ve 3’ün, ICP/MAP oranları karşılaştırıldığında, Grup 1’de ICP/MAP oranı diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı (p<0,001). Grup 2 ve 3 karşılaştırıldığında ise Grup 2, Grup 3’e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (p=0,003). ICP/MAP ölçüm sonuçları şekil 5’de gösterilmiştir.



Şekil 5. Grup 1, 2 ve 3'ün, ICP/MAP oranları

4.4 İmmunhistokimyasal Çalışma Sonuçları

Testis, korpus kavernozum, prostat ve pankreas dokularındaki AR boyanmaları Şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6. AR'lerinin immunhistokimyasal boyanmasının 40X büyütmedeki görüntüleri

(A) Grup 1; korpus kavernozum, (B) Grup 2; korpus kavernozum, (C) Grup 3; korpus kavernozum, (D) Grup 1; prostat dokusu, (E) Grup 2; prostat dokusu, (F) Grup 3; prostat dokusu, (G) Grup 1; pankreas dokusu, (H) Grup 2; pankreas dokusu, (I) Grup 3; pankreas dokusu, (J) Grup 1; testis dokusu, (K) Grup 2; testis dokusu

4.4.1 Penis

AR ifadesi Grup 1’de penis korpus karvenosumlarında oldukça zayıf (+) olarak saptandı. Bağ dokusu ve düz kas hücrelerinde ise orta dereceli (++) boyanma gözlemlendi. Grup 2’de penis korpus karvenosumlarında AR ifadesi oldukça zayıf (+) olarak saptandı. Bağ dokusu ve düz kas hücrelerinde ise orta dereceli (++) boyanma gözlemlendi. Grup 3 korpus karvenosumlarında AR ifadesi oldukça zayıf (+) saptandı. Bağ dokusu ve düz kas hücrelerinde ise orta dereceli (++) boyanma saptandı. Her 3 grupta AR boyanmaları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

4.4.2 Prostat

AR ifadesi Grup 1 ve 2, prostat bezi yalancı çok katlı prizmatik epitelinde güçlü (+++) olarak gözlemlendi. Grup 3 prostat bezi yalancı çok katlı prizmatik epitelinde ise oldukça zayıf (+) boyanma görüldü. Ara bağ dokuda boyama görülmeydi.

4.4.3 Pankreas

AR ifadesi pankreasta yalnızca langerhans adacıklarında saptandı. AR ifadesi Grup 1 pankreas dokusu langerhans adacıkları kenarlarında orta dereceli (++) olarak saptandı. Grup 2 de ise AR ifadesi güçlü (+++) olarak görüldü. Grup 3 pankreas dokusunda langerhans adacığı kenarlarında oldukça zayıf (+) ifade saptandı. Grup 1 ve 3’de Langerhans adacıklarının boyutları normal iken, Grup 2’de adacık boyutlarındaki küçülme dikkati çekti.

4.4.4 Testis

AR ifadesi Grup 1 testis dokusunda, spermatogenik seri hücrelerden spermatogonyum hücre hattı zayıf derece (+) boyanma, spermatositler, spermatitlerde orta derece (++) boyanma ve intersitiumda bulunan leydig hücrelerinde güçlü (+++) boyanma görüldü. Grup 2 testis dokusunda ise spermatogenik seri hücrelerden spermatogonyum hücre hattında orta derece (++) boyanma, spermatositler, spermatitlerde zayıf derece (+) boyanma ve intersitiumda bulunan leydig hücrelerinde oldukça zayıf derece (+) boyanma saptandı. Genel itibari ile Grup 2’deki AR ifadesi Grup 1’e göre azalmış olarak saptandı.

5. TARTIŞMA

DM dünya nüfusunun yaklaşık %6'sını etkileyen önemli bir sağlık problemidir (1). İki bin otuz beş yılında dünya nüfusunun yaklaşık %10,1'ini etkileyeceği öngörülmektedir (130). DM'un patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması ile DM'u olan hastaların yaşam süresi uzamıştır. Bununla birlikte DM'a bağlı görülen geç komplikasyonlar da giderek artmaktadır. DM'un geç komplikasyonları kişide fiziksel, duygusal, sosyal ve finansal yük oluşturmaktadır. Bu geç komplikasyonlardan biri de ED'dir. MMAS'ın raporuna göre DM'u olan erkeklerde yaşam boyunca ED gelişme riski %75'dir. Yine aynı çalışma da DM nedeni ile tedavi olan erkek hastaların yaklaşık %28'inde ciddi ED saptanmıştır ve bu oran sağlıklı erkeklerde ciddi ED görülmesinin yaklaşık 3 katıdır (34). Corona ve arkadaşlarının (131) yaptığı çalışmada, yeni tanı almış DM'u olan erkeklerin, %19,4'ünde hafif derece ED, %15,4'ünde hafif-orta derece ED, %10,4'ünde orta derece ED, %21,6'ında ise ağır derece ED saptanmıştır. Schaivi ve arkadaşlarının (132) yaptığı çalışmada, herhangi bir başka hastalığı olmayan 40 adet DM'u olan hastada seksüel kapasitenin, DM'u olan grupta %77 oranında etkilendiğini göstermişlerdir. Malavige ve arkadaşlarının (133) yaptığı çalışmada, yaş ortalaması $56,9 \pm 9,7$ yıl olan 510 erkek incelenmiştir. DM'u olan grupta ED görülme oranı %84,4 olarak bildirilmiştir. Sasaki ve arkadaşlarının (134) yaptığı çalışmada, 1118 DM'u olan erkek hasta incelenmiştir. Bu hastaların %90'ında herhangi bir derecede ED saptanmıştır. Sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında, DM'u olan hastalarda ED riskinin 2 kat arttığı görülmüştür. Vernet ve arkadaşlarının (135) yaptığı çalışmada, sağlıklı dönemde erektil fonksiyonları tam olan ratların, DM yapıldıktan sonra erektil fonksiyonlarında %95'in üzerinde kayıp olduğu gösterilmiştir. Bu kaybın da penil NOS aktivitesi ve miktarının azalmasına bağlamışlardır. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak kontrol grubu ratlarda erektil fonksiyonlar tama yakın korunur iken, DM'u olan grupta bulunan tüm ratlarda erektil fonksiyon kaybolmuştur.

Ereksiyon psikolojik, sosyal, endokrin, parakrin, nöronal, vasküler faktörleri içeren kompleks bir süreçtir. ED gelişiminde bu faktörleri birbirinden ayrı olarak düşünmek doğru değildir. Nasıl ereksiyon için tüm bu faktörlerin sağlam olması

gerekiyor ise, ED geliştiğinde de tüm faktörler çeşitli derecelerde etkilenebilir. DM'a bağlı gelişen ED'da üzerinde durulması gereken faktörlerden biri endotelial disfonksiyondur. ED bulunan, DM'u olan hastalarda azalmış eNOS ve cGMP salınımı olduğu ve buna bağlı NO/cGMP sinyal aktivitesi azaldığı gösterilmiştir (136,137). Seftel ve arkadaşlarının (138) yaptığı çalışmada, DM'u olan ratların korpus kavernozumunda glikasyon son ürünlerinin birikiminin arttığı ve buna bağlı ED geliştiği gösterilmiştir. Chua ve arkadaşlarının (139) ratlarda yaptığı çalışmada, artmış Rho kinaz aktivitesinin vazokonstriksiyona neden olarak ED yaptığı gösterilmiştir.

ED'a neden olan diğer önemli bir neden ise bu hastalarda gelişen hipogonadizmdir. Hipogonadizm ve DM arasında ki ilişkiyi gösteren birçok çalışma yayınlanmıştır. Androjenler penil erektil dokunun gelişimi ve varlığını sürdürmesi için kritik öneme sahiptir. Hayvan deneylerinde eNOS içeren kavernozaal parasempatik liferin testosterona olan bağımlılığı gösterilmiştir (140). Yine hayvan deneylerinde androjen deprivasyonu sonrasında, penil erektil dokularda apoptozisin arttığı, atrofi geliştiği ve ultrastrüktürel yapının bozulduğu gösterilmiştir (141,142). Corona ve arkadaşlarının (7) yaptığı çalışmada, ED ve DM birlikte olan hastaların %24,5'inde düşük testosteron seviyesi saptanmıştır. Ghazi ve arkadaşlarının (143) yaptığı çalışmada, 391 ED'u olan diyabetik erkek incelenmiş ve bu hastaların %33,2'sinde total testosteron düzeyini düşük bulmuşlardır. Diğer birçok çalışma ile de ED ile düşük total testosteron düzeyinin %20-51 arasında değişen oranlarla birlikte olduğu gösterilmiştir (144). Guay ve arkadaşlarının (145) yaptığı çalışmada, serbest testosteron seviyesinin de total testosteron gibi DM'u olan hastalarda anlamlı derecede düşük bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada ED'u olan diyabetik hastalarda %92,3 oranında hipogonadizm saptanırken, diyabetik olmayan hastalarda bu oran sadece %7,7 olarak saptanmıştır. Chamness ve arkadaşlarının (146) yaptığı çalışmada, kastre edilen ratların penislerinde NOS aktivitesinin yaklaşık %45 azaldığı gösterilmiştir ve bu azalma testosteron replasman tedavisi ile geri döndürülmüştür. Ayrıca hayvan çalışmalarında testosteronun beyinde mezolimbik bölgeyi etkileyerek ereksiyonu kolaylaştırdığı da gösterilmiştir (147). Bu nedenle testosteron düzeyi ereksiyonun başlamasından, sürdürülmesine ve sonlanmasına kadar kritik öneme sahip bir faktördür. Diğer taraftan Hernández-Mijares ve

arkadaşlarının (148) yaptığı çalışmada, diyabetik hastalarda ED oranını %65,8 olarak bildirmektedir. Alt grup analizi yapıldığında serum total testosteronu düzeyi düşük ve normal olan DM'u hastalarda ED sırasıyla %66,7, %65,5 oranında bulunmuştur ve anlamlı fark saptanmamıştır.

Bizim çalışmamızda kontrol grubu ratlarda serum total testosteron düzeyleri normal olarak bulundu. DM'u olan grupta serum total testosteron düzeyi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,01$). Kontrol grubunda ortanca serum total testosteron düzeyi $2,5 \pm 0,92$ ng/mL saptanır iken, diyabetik grupta yaklaşık %80 daha düşük değerler elde olundu ($0,46 \pm 0,17$ ng/mL). Diyabetik grup serum total testosteron düzeyi ile kastrasyon grubu karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,41$). Yani ED olan diyabetik ratlarda ortanca serum total testosteron düzeyleri hemen hemen kastrasyon düzeylerine inmektedir. Bu nedenle diyabetik ratlarda tüm diğer faktörler (endotelyal disfonksiyon, periferik nöropati gibi.) korunmuş olsa bile serum total testosteron düzeyinin bu derece düşmesi tek başına ED'a neden olabilir. Bu sonuçlarımız ile, DM'u olan hastalarda ED'un tanı, takip ve tedavisinde serum total testosteron düzeyinin önemli olduğu gösterilmektedir.

Testosteron'un, etkilerini gösterebilmesi için sağlıklı bir AR gerekmektedir (149). AR geni ekson 1 bölgesinde 10-35 arası tekrardan oluşan CAG tekrar bölgesi bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda bu bölgedeki tekrar sayısı ile AR'nün aktivitesi arasında ters ilişki bulunmuştur (150). Stanworth ve arkadaşlarının (10) yaptığı çalışmada, AR geni CAG tekrar sayısı ile serum total testosteron düzeyi arasında doğrusal bir ilişki saptanmışlar ve bunu da reseptörün azalmış sensitivitesine bağlı negatif geri dönüşün bozulmasına bağlı olabileceğini söylenişlerdir. Yine aynı çalışmada AR geni CAG tekrar sayısı ile yaşanan erkekte adrojen yetmezliği (ADAM) skoru arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır. Sonuçta AR geni CAG tekrar sayısı artan hastalarda serum total testosteron düzeyinin artmasına rağmen, hipogonadizm semptomları ortaya çıkmaktadır. **Sonuç olarak literatür verileri ışığında erektil fonksiyonun sürdürülebilmesi için serum total testosteron seviyesi kadar, AR fonksiyon ve yapısının da normal olması gerekmektedir.** Zhu ve arkadaşlarının (151) yaptığı çalışmada, luteinize hormon salan hormon antagonisti

verdikleri ratların prostatlarında ve testislerinde AR ifadesinin 1. haftadan itibaren azaldığını göstermişlerdir. Aynı ratlara androjen replasmanı yapıldığında AR ifadesinin %90'ın üzerinde geri döndüğü gösterilmiştir. Arcolino ve arkadaşlarının (123) yaptığı çalışmada, ratlar alloksan kullanarak diyabetik hale getirilmiştir. Diyabetin 1. haftasında bakılan serum total testosteron düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Diyabetin 1. haftasında rat prostat asiner hücrelerindeki AR ifadesinde kontrol grubuna göre herhangi bir farklılık saptanmamıştır. Ancak reseptör reaksiyon yoğunluğunda azalma saptanmıştır. Suzuki ve arkadaşlarının (152) yaptığı çalışmada, kastre edilen ratların prostatlarında AR yoğunluğu incelenmiştir. Birinci günde normalin yarısı düzeyine inen AR ifadesi, 7. günün sonunda normalin %4'üne düştüğü görülmüştür. Bu çalışma androjenlerin, AR varlığını sürdürmede ne kadar önemli olduğu görülmektedir.

Bizim çalışmamızda, AR ifadesi kontrol ve DM'u olan grubun, prostat bezi yalancı çok katlı prizmatik epitelinde güçlü olarak görüldü. DM'u olan gruptaki ratların prostatlarında, altı haftalık DM olmasına ve testosteron seviyelerinin düşük olmasına rağmen AR sayılarında herhangi bir azalma görülmedi. Kastrasyon grubu prostat bezi yalancı çok katlı prizmatik epitelinde ise AR ifadesi oldukça zayıf görüldü. Çalışmamızın bu noktadaki zayıf yanlarından birisi AR fonksiyonlarını gösteren bir inceleme yapılmamasıdır. Buna rağmen, AR sayısı azalmamış olan diyabetik grupta serum total testosteron düzeylerinin düşük olması nedeni ile AR fonksiyonlarının azalacağı öngörülebilir.

Yamanaka ve arkadaşlarının (153) yaptıkları çalışmada, DM'u olan rat penisinde AR, mRNA transkripsiyonunu incelemişlerdir. ED'u olan diyabetik ratlar 4. ve 8. haftada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, AR mRNA transkripsiyonunda anlamlı fark saptanmamıştır. Ancak insülin tedavisi altındaki DM'u olan ratlarda AR mRNA transkripsiyonunda artış saptanmıştır. Yine aynı şekilde immunhistokimyasal çalışma ile gösterilen AR ifadesi DM'u olan grup ve kontrol grubunda benzer bulunmuştur. Takane ve arkadaşlarının (154) rat penisinde AR'nü inceledikleri çalışmasında, AR ifadesinin kastrasyon sonrası penil dokuda değişmediğini göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda AR ifadesi kontrol grubu korpus karvenosumlarında oldukça zayıftır. Bağ dokusu ve düz kas hücrelerinde ise orta dereceli saptanmıştır. DM’u olan ve kastrasyon yapılmış grupta ise yine korpus karvenosumlarında ifade oldukça zayıf, bağ dokusu ve düz kas hücrelerinde ise orta dereceli ifade saptanmıştır. Her üç grup birbiri ile karşılaştırıldığında AR ifadelerinde arasında anlamlı farklılık görülmedi. Her grubunda ifadeleri benzer düzeylerde ve düşük olarak izlendi. **Bulgularımız ışığında penil erektil fonksiyondan primer sorumlu doku olan penis korpus kavernozumundaki AR yoğunluğunun, penil erektil fonksiyonları etkilemediği sonucuna varılabilir.**

Birçok dokuda olduğu gibi pankreasta da AR’ne rastlamak mümkündür. Li ve arkadaşlarının (155) yaptığı çalışmada, DM’u olan farelerde, DM’un seyri boyunca AR ifadesinin derecesini, pankreas beta hücrelerinde görülen apoptozis ile karşılaştırarak incelemiştir. Kontrol grubunda ve DM’u olan grupta sadece langerhans adacıkları, beta hücrelerinde AR ifadesi görülmüştür. DM’u olan farelerde ilk gün kontrol grubuna yakın düzeyde kuvvetli AR ekspresyonu görülmüştür. Ancak DM’un 12 ve 20. haftalarında AR ifadesi oldukça zayıf olarak görülmüştür. AR mRNA incelemesi yapıldığında yine benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yazarlara göre AR pankreatik beta hücrelerin apoptozisinden sorumlu olabileceği bildirilmiştir. Morimoto ve arkadaşları (156) yaptıkları çalışmada, testosteronun pankreas beta hücreleri üzerine koruyucu etkisi olduğunu ve bunu AR aracılığıyla yaptığını bildirmiştir. Bizim çalışmamızda pankreastaki AR ifadesi yalnızca langerhans adacıklarında görüldü. AR ifadesi kontrol grubu pankreas dokusu, langerhans adacıkları kenarlarında alfa hücrelerinde orta dereceli olarak görüldü. Diyabetik grupta ise hem alfa hem de beta hücrelerinde güçlü ifade görüldü. Kastrasyon grubunda pankreas dokusunda langerhans adacığı kenarlarında alfa hücrelerinde oldukça zayıf ifade görüldü. Kontrol ve kastrasyon grubunda langerhans adacıklarının boyutları normal iken, diyabetik grupta adacık boyutlarında küçülme görüldü. Bu veriler ışığında önceki çalışmaların aksine DM’da pankreas langerhans adacıklarında AR ifadesi güçlü görülebilmektedir. Ayrıca kastrasyon grubunda AR ifadesini azalması ile, AR’nün koruyucu etkisinin ortadan kaybolarak, DM’un ortaya çıkma riskini arttırdığını söyleyebiliriz.

6. SONUÇ

Literatürde birçok çalışma ile AR, testosteron düzeyi, DM ve ED arasındaki yakın ilişki gösterilmiştir. AR'nde yapısal veya fonksiyonel değişiklik sonrası ortaya çıkabilen, DM, MS, prostat kanseri, ED, spinal bulbar atrofi, meme kanseri gibi hastalıkların etyolojisinde ortak patogeneze olduğu görülmektedir. DM'u olan hastalarda serum total testosteron düzeyleri normal olmasına rağmen ED ortaya çıkması, ortak patogeneze AR fonksiyonlarının ne derece önemli olduğunu göstermektedir. AR'nün bu çoklu organ etkilerini araştırmak üzere yaptığımız çalışmamızda, ED'u olan diyabetik ratlarda serum total testosteron düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı, AR ifadesinin ise prostat ve korpus kavernozumda değişmediği, pankreas langerhans adacıklarında arttığı, testiste ise azaldığı saptandı. Çalışmamız ED ve DM birlikteliğini hormon ve reseptör düzeyinde, ortak patogenezi temel alarak yapıldığı için önemli bir çalışmadır. Ancak biyoyararlanımlı testosteron düzeyinin ve AR fonksiyonunun ölçülmemesi, çalışmamızın eksik yönleridir. ED ve DM arasındaki ilişkinin aydınlatılmasında daha fazla hayvan deneyi ve insan dokuları üzerinde yapılacak çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

ÖZET

Amaç: Diyabetes Mellitus (DM)'a bağlı erektil disfonksiyon (ED)'u olan ratlarda androjen reseptörü (AR)'nın ve serum total testosteron düzeylerinin rolünü araştırmak ve ortak patogenezi temel alarak bu hastalıklara dair tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada kontrol grubunda 8 adet, DM'u olan grupta 8 adet ve kastrasyon grubunda 8 adet olmak üzere toplamda 24 rat kullanıldı. Kontrol grubundaki (Grup 1) ratlar tamamen sağlıklı erkek ratlardan oluşturuldu. DM'u olan gruptaki (Grup 2) 8 rata, streptozotosin enjeksiyonu ile DM oluşturuldu. Kastrasyon grubundaki (Grup 3) 8 rata, bilateral orşiektomi yapıldı. Tüm gruplarda ağırlık, serum total testosteron düzeyi ve intrakavernozaal basıncın, ortalama arteriyel basınca oranı (ICP/MAP) ölçümleri yapıldı. Grup 1'de çalışmanın 3. haftası, Grup 3'de kastrasyonun 3. haftası, Grup 2'de ise DM oluşumunun 6. haftası ratlar sakrifiye edildikten sonra pankreas, prostat, korpus kavernoza ve testis dokuları diseke edilerek AR için immunhistokimyasal inceleme yapıldı. Çalışmada tüm değerler ortanca \pm standart sapma ve en az-en çok değerler şeklinde hesaplandı. Veriler tek yönlü ANOVA, Bonferroni post-hoc testi kullanılarak hesaplandı.

Bulgular: Grup 1, 2 ve 3'ün ortanca serum total testosteron düzeyleri sırası ile, $2,5 \pm 0,92$ ng/mL; $0,46 \pm 0,17$ ng/mL ve $0,1$ ng/mL idi. Grup 2 ve 3'ün, serum total testosteron düzeyleri Grup 1 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p < 0,01$). Grup 2 ve 3 kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p = 0,41$). AR ifadesi Grup 1 ve 2 arasında karşılaştırıldığında; Grup 2'deki ratların prostat ve korpus kavernozaunda değişmediği, pankreasın langerhans adacıklarında arttığı, testisinde ise azaldığı saptandı.

Sonuç: Çalışmamız ED ve DM birlikteliğini hormon ve reseptör düzeyinde, ortak patogenezi temel alarak yapıldığı için önemli bir çalışmadır. Ancak biyoyararlanımlı testosteron düzeyinin ve AR fonksiyonunun ölçülmemesi, çalışmamızın eksik yönleridir. ED ve DM arasındaki ilişkinin aydınlatılmasında daha fazla hayvan deneyi ve insan dokuları üzerinde yapılacak çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar sözcükler: Erektil disfonksiyon, diyabetes mellitus, androjen reseptörü, immunhistokimyasal boyanma, serum total testosteron düzeyi

ABSTRACT

Purpose: To investigate the role of serum total testosterone levels and androgen receptors in diabetic rats with erectile dysfunction and to contribute to the development of the new treatment strategies for these diseases based on common pathogenesis.

Materials and Methods: In the study, 8 rats in the control group, 8 rats in diabetes mellitus (DM) group and 8 rats in castration group, totally 24 rats were used. In the control group (Group 1) rats were formed entirely healthy male rats. In the DM group (Group 2), DM was induced by streptozotocin injection. In castration group (Group 3), rats underwent bilateral orchietomy. In all groups, weight, serum total testosterone level and intracavernosal pressure, mean arterial pressure ratios (ICP / MAP) was measured. Rats were sacrificed at the 3rd week of the study in Group 1, at the 3rd week of castration in Group 3 and at the 6th week of the DM formation in Group 2. After that pancreas, prostate, corpus cavernosum and testicular tissue was dissected and immunohistochemical staining for androgen receptor examination was performed. Data was calculated as the median \pm standard deviation and minimum-maximum values. One way ANOVA, Bonferroni post-hoc analysis was used.

Results: The median serum total testosterone levels for Group 1, 2 and 3 were 2.5 ± 0.92 ; 0.46 ± 0.17 and 0.1 ng / ml respectively. Groups 2 and 3, serum total testosterone levels was significantly lower compared with Group 1 ($p < 0.01$). No statistically significant difference showed between Group 2 and 3 ($P = 0.41$). AR expression is compared between groups 1 and 2; no changes in the corpus cavernosum and the prostate, increased expression in pancreas langerhans islets and decreased expression in the testis were found.

Conclusion: Our study, is an important study as it is made based on common pathogenesis at the hormone and receptor levels of erectile dysfunction and diabetes mellitus unity. However, not to measure the function of the androgen receptor and bioavailable testosterone levels are missing aspects of our work. More animal and human tissue studies are need for the elucidation of the relationship between ED and DM.

Keywords: Erectile dysfunction, diabetes mellitus, androgen receptor, immunohistochemical staining, serum total testosterone level

KAYNAKLAR

1. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*. 2010;87(1):4-14.
2. Satman I, Grubu T-IÇ. TURDEP-II Sonuçları. Türk Endokronoloji ve Metabolizma Derneği [homepage on the Internet] Available from: http://www.turkendokrin.org/files/TURDEP_II_2011.pdf Last access: 16th May. 2011.
3. Aytac I, McKinlay J, Krane R. The likely worldwide increase in erectile dysfunction between 1995 and 2025 and some possible policy consequences. *BJU international*. 1999;84:50-6.
4. Mikhail N. Does testosterone have a role in erectile function? *The American journal of medicine*. 2006;119(5):373-82.
5. Heinlein CA, Chang C. Androgen receptor (AR) coregulators: an overview. *Endocrine reviews*. 2002;23(2):175-200.
6. Yong EL, Lim J, Qi W, Ong V, Mifsud A. Molecular basis of androgen receptor diseases. *Annals of medicine*. 2000;32(1):15-22.
7. Corona G, Mannucci E, Mansani R, Petrone L, Bartolini M, Giommi R, ve ark. Organic, relational and psychological factors in erectile dysfunction in men with diabetes mellitus. *European urology*. 2004;46(2):222-8.
8. Aslan Y, Guzel O, Balci M, Tuncel A, Yildiz M, Atan A. The impact of metabolic syndrome on serum total testosterone level in patients with erectile dysfunction. *The Aging Male*. 2014;17(2):76-80.
9. Yu I-C, Lin H-Y, Sparks JD, Yeh S, Chang C. Androgen receptor roles in insulin resistance and obesity in males: the linkage of androgen-deprivation therapy to metabolic syndrome. *Diabetes*. 2014;63(10):3180-8.
10. Stanworth R, Kapoor D, Channer K, Jones T. Androgen receptor CAG repeat polymorphism is associated with serum testosterone levels, obesity and serum leptin in men with type 2 diabetes. *European Journal of Endocrinology*. 2008;159(6):739-46.
11. Bosch RJ, Bénard F, Aboseif SR, Stief CG, Lue TF, Tanagho EA. Penile detumescence. *The Journal of urology*. 1991;867-71.
12. Ignarro LJ, Bush PA, Buga GM, Wood KS, Fukuto JM, Rajfer J. Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochemical and biophysical research communications*. 1990;170(2):843-50.
13. de Tejada IS, Goldstein I, Azadzoi K, Krane RJ, Cohen RA. Impaired neurogenic and endothelium-mediated relaxation of penile smooth muscle from diabetic men with impotence. *New England journal of medicine*. 1989;320(16):1025-30.
14. Chuang A, Steers W. In: Carson CC, Kirby R, Goldstein I, Wyllie M, editors. *Textbook of erectile dysfunction*. Oxford: ISIS Medical Media; 1999. p. 59-72.
15. Hurt KJ, Musicki B, Palese MA, Crone JK, Becker RE, Moriarity JL, ve ark. Akt-dependent phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase mediates penile erection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99(6):4061-6.
16. Montague DK, Barada JH, Belker AM, Levine LA, Nadig PW, Roehrborn CG, ve ark. Clinical guidelines panel on erectile dysfunction: summary report on the treatment of organic erectile dysfunction. *The Journal of urology*. 1996;156(6):2007-11.
17. Wagner G, De Tejada IS. Fortnightly review: Update on male erectile dysfunction. *BMJ: British Medical Journal*. 1998;316(7132):678.
18. Melman A, Gingell JC. The epidemiology and pathophysiology of erectile dysfunction. *The Journal of urology*. 1999;161(1):5-11.

19. Johannes CB, Araujo AB, Feldman HA, Derby CA, Kleinman KP, McKINLAY JB. Incidence of erectile dysfunction in men 40 to 69 years old: longitudinal results from the Massachusetts male aging study. *The Journal of urology*. 2000;163(2):460-3.
20. Laumann EO, Paik A, Rosen RC. Sexual dysfunction in the United States: prevalence and predictors. *Jama*. 1999;281(6):537-44.
21. Akkus E, Kadioglu A, Esen A, Doran S, Ergen A, Anafarta K, ve ark. Prevalence and correlates of erectile dysfunction in Turkey: a population-based study. *European urology*. 2002;41(3):298-304.
22. Kupelian V, Link CL, Rosen RC, McKinlay JB. Socioeconomic status, not race/ethnicity, contributes to variation in the prevalence of erectile dysfunction: results from the Boston Area Community Health (BACH) Survey. *The journal of sexual medicine*. 2008;5(6):1325-33.
23. Lewis RW, Fugl-Meyer KS, Bosch R, Fugl-Meyer AR, Laumann EO, Lizza E, ve ark. Epidemiology/risk factors of sexual dysfunction. *The Journal of Sexual Medicine*. 2004;1(1):35-9.
24. Lizza E, Rosen R. Definition and classification of erectile dysfunction: report of the Nomenclature Committee of the International Society of Impotence Research. *International journal of impotence research*. 1999;11(3):141-3.
25. Steers W. Neural pathways and central sites involved in penile erection: neuroanatomy and clinical implications. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2000;24(5):507-16.
26. Diederichs W, Stief CG, Lue TF, Tanagho EA. Sympathetic inhibition of papaverine induced erection. *The Journal of urology*. 1991;195-8.
27. Meisel RL, Sachs BD. The physiology of male sexual behavior. *The physiology of reproduction*. 1994;2:3-105.
28. Walsh P. Impotence following radical prostatectomy: insight into etiology and prevention. *J urol*. 1982;128:492-7.
29. Weinstein M, Roberts M. Sexual potency following surgery for rectal carcinoma. A followup of 44 patients. *Annals of surgery*. 1977;185(3):295.
30. GRANATA AR, ROCHIRA V, LERCHL A, MARRAMA P, CARANI C. Relationship Between Sleep-Related Erections and Testosterone Levels in Men. *Journal of andrology*. 1997;18(5):522-7.
31. Traish AM, Saad F, Guay A. The dark side of testosterone deficiency: II. Type 2 diabetes and insulin resistance. *Journal of andrology*. 2009;30(1):23-32.
32. Mirone V, Imbimbo C, Fusco F, Verze P, Creta M, Tajana G. Androgens and morphologic remodeling at penile and cardiovascular levels: a common piece in complicated puzzles? *European urology*. 2009;56(2):309-16.
33. Mills TM, Stopper VS, Wiedmeier VT. Effects of castration and androgen replacement on the hemodynamics of penile erection in the rat. *Biology of reproduction*. 1994;51(2):234-8.
34. Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou DG, Krane RJ, McKinlay JB. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. *The Journal of urology*. 1994;151(1):54-61.
35. Martin-Morales A, Sanchez-Cruz JJ, DE TEJADA IS, Rodriguez-Vela L, Jimenez-Cruz JF, Burgos-Rodriguez R. Prevalence and independent risk factors for erectile dysfunction in Spain: results of the Epidemiologia de la Disfuncion Erectil Masculina Study. *The Journal of urology*. 2001;166(2):569-75.
36. Gonzalez-Cadavid NF. Mechanisms of penile fibrosis. *The journal of sexual medicine*. 2009;6(S3):353-62.

37. Metz P, Ebbehøj J, Uhrenholdt A, Wagner G. Peyronie's disease and erectile failure. *The Journal of urology*. 1983;130(6):1103-4.
38. Grimm RH, Grandits GA, Prineas RJ, McDonald RH, Lewis CE, Flack JM, ve ark. Long-term effects on sexual function of five antihypertensive drugs and nutritional hygienic treatment in hypertensive men and women treatment of mild hypertension study (TOMHS). *Hypertension*. 1997;29(1):8-14.
39. Andersson K-E, Wagner G. Physiology of penile erection. *Physiological reviews*. 1995;75(1):191.
40. Srilatha B, Adaikan P, Arulkumaran S, Ng S. Sexual dysfunction related to antihypertensive agents: results from the animal model. *International journal of impotence research*. 1999;11(2):107-13.
41. Tang Y, Rampin O, Calas A, Facchinetti P, Giuliano F. Oxytocinergic and serotonergic innervation of identified lumbosacral nuclei controlling penile erection in the male rat. *Neuroscience*. 1997;82(1):241-54.
42. Wirshing DA, Pierre JM, Marder SR, Saunders CS, Wirshing WC. Sexual side effects of novel antipsychotic medications. *Schizophrenia research*. 2002;56(1):25-30.
43. Egan KB, Burnett AL, McVary KT, Ni X, Suh M, Wong DG, ve ark. The co-occurring syndrome—coexisting erectile dysfunction and benign prostatic hyperplasia and their clinical correlates in aging men: results from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Urology*. 2015;86(3):570-80.
44. Vlamopoulos Y, Jichlinski P, Tawadros T. [The aging male: a global approach to late onset hypogonadism and erectile dysfunction]. *Revue medicale suisse*. 2014;10(453):2328-31.
45. Schiavi RC, Schreiner-Engel P. Nocturnal penile tumescence in healthy aging men. *Journal of gerontology*. 1988;43(5):M146-M50.
46. Rowland DL, Greenleaf W, Mas M, Myers L, Davidson JM. Penile and finger sensory thresholds in young, aging, and diabetic males. *Archives of sexual behavior*. 1989;18(1):1-12.
47. Christ GJ, Maayani S, Valcic M, Melman A. Pharmacological studies of human erectile tissue: characteristics of spontaneous contractions and alterations in α -adrenoceptor responsiveness with age and disease in isolated tissues. *British journal of pharmacology*. 1990;101(2):375-81.
48. Kaiser FE, Viosca SP, Morley JE, Mooradian AD, Davis SS, Korenman SG. Impotence and aging: clinical and hormonal factors. *Journal of the American Geriatrics Society*. 1988;36(6):511-9.
49. Costa C, Vendeira P. Does erectile tissue angioarchitecture modify with aging? An immunohistological and morphometric approach. *The journal of sexual medicine*. 2008;5(4):833-40.
50. Numao N, Masuda H, Sakai Y, Okada Y, Kihara K, Azuma H. Roles of attenuated neuronal nitric-oxide synthase protein expression and accelerated arginase activity in impairing neurogenic relaxation of corpus cavernosum in aged rabbits. *BJU international*. 2007;99(6):1495-9.
51. Ferrini M, Magee TR, Vernet D, Rajfer J, González-Cadavid NF. Aging-related expression of inducible nitric oxide synthase and markers of tissue damage in the rat penis. *Biology of reproduction*. 2001;64(3):974-82.
52. Ferrini M, Wang C, Swerdloff RS, Sinha Hikim AP, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Aging-related increased expression of inducible nitric oxide synthase and cytotoxicity markers in rat hypothalamic regions associated with male reproductive function. *Neuroendocrinology*. 2001;74(1):1-11.

53. Esposito K, Giugliano F, Martedì E, Feola G, Marfella R, D'Armiento M, ve ark. High proportions of erectile dysfunction in men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2005;28(5):1201-3.
54. Rodriguez A, Muller DC, Metter EJ, Maggio M, Harman SM, Blackman MR, ve ark. Aging, androgens, and the metabolic syndrome in a longitudinal study of aging. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007;92(9):3568-72.
55. Corona G, Mannucci E, Petrone L, Ricca V, Balercia G, Mansani R, ve ark. Association of hypogonadism and type II diabetes in men attending an outpatient erectile dysfunction clinic. *International journal of impotence research*. 2006;18(2):190-7.
56. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2010;33(Supplement 1):S62-S9.
57. Roglic G, Unwin N. Mortality attributable to diabetes: estimates for the year 2010. *Diabetes research and clinical practice*. 2010;87(1):15-9.
58. Control CfD, Prevention, Control CfD, Prevention. National diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and prediabetes in the United States, 2011. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. 2011;201.
59. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, ve ark. Population-based study of diabetes and risk characteristics in turkey results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes care*. 2002;25(9):1551-6.
60. Kahn SE, Prigeon RL, McCulloch DK, Boyko EJ, Bergman RN, Schwartz MW, ve ark. Quantification of the relationship between insulin sensitivity and β -cell function in human subjects: evidence for a hyperbolic function. *Diabetes*. 1993;42(11):1663-72.
61. Martin B, Warram J, Krolewski A, Soeldner J, Kahn C, Bergman R. Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: results of a 25-year follow-up study. *The Lancet*. 1992;340(8825):925-9.
62. Choi K, Kim Y-B. Molecular mechanism of insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *The Korean journal of internal medicine*. 2010;25(2):119-29.
63. Kahn SE, Halban PA. Release of incompletely processed proinsulin is the cause of the disproportionate proinsulinemia of NIDDM. *Diabetes*. 1997;46(11):1725-32.
64. Røder ME, Dinesen B, Hartling SG, Houssa P, Vestergaard H, Sodoyez-Goffaux F, ve ark. Intact proinsulin and beta-cell function in lean and obese subjects with and without type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 1999;22(4):609-14.
65. Westermark P, Johnson K, O'Brien T, Betsholtz C. Islet amyloid polypeptide—a novel controversy in diabetes research. *Diabetologia*. 1992;35(4):297-303.
66. Hull RL, Westermark GT, Westermark P, Kahn SE. Islet amyloid: a critical entity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *The Journal of clinical endocrinology & metabolism*. 2004;89(8):3629-43.
67. Khaw K-T, Barrett-Connor E. Lower endogenous androgens predict central adiposity in men. *Annals of epidemiology*. 1992;2(5):675-82.
68. Movérare-Skrtic S, Venken K, Andersson N, Lindberg MK, Svensson J, Swanson C, ve ark. Dihydrotestosterone treatment results in obesity and altered lipid metabolism in orchidectomized mice. *Obesity*. 2006;14(4):662-72.
69. Zitzmann M, Gromoll J, Von Eckardstein A, Nieschlag E. The CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene modulates body fat mass and serum concentrations of leptin and insulin in men. *Diabetologia*. 2003;46(1):31-9.
70. Fan W, Yanase T, Nomura M, Okabe T, Goto K, Sato T, ve ark. Androgen receptor null male mice develop late-onset obesity caused by decreased energy expenditure and lipolytic activity but show normal insulin sensitivity with high adiponectin secretion. *Diabetes*. 2005;54(4):1000-8.

71. Lin H-Y, Xu Q, Yeh S, Wang R-S, Sparks JD, Chang C. Insulin and leptin resistance with hyperleptinemia in mice lacking androgen receptor. *Diabetes*. 2005;54(6):1717-25.
72. Singh R, Artaza JN, Taylor WE, Gonzalez-Cadavid NF, Bhasin S. Androgens stimulate myogenic differentiation and inhibit adipogenesis in C3H 10T1/2 pluripotent cells through an androgen receptor-mediated pathway. *Endocrinology*. 2003;144(11):5081-8.
73. Fernando SM, Rao P, Niel L, Chatterjee D, Stagljar M, Monks DA. Myocyte androgen receptors increase metabolic rate and improve body composition by reducing fat mass. *Endocrinology*. 2010;151(7):3125-32.
74. Mootha VK, Lindgren CM, Eriksson K-F, Subramanian A, Sihag S, Lehar J, ve ark. PGC-1 α -responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nature genetics*. 2003;34(3):267-73.
75. Pitteloud N, Mootha VK, Dwyer AA, Hardin M, Lee H, Eriksson K-F, ve ark. Relationship between testosterone levels, insulin sensitivity, and mitochondrial function in men. *Diabetes Care*. 2005;28(7):1636-42.
76. Fan W, Yanase T, Nishi Y, Chiba S, Okabe T, Nomura M, ve ark. Functional potentiation of leptin-signal transducer and activator of transcription 3 signaling by the androgen receptor. *Endocrinology*. 2008;149(12):6028-36.
77. Dunsmuir W, Holmes S. The aetiology and management of erectile, ejaculatory, and fertility problems in men with diabetes mellitus. *Diabetic medicine*. 1996;13(8):700-8.
78. Wang C, Shen S, Wu CC, Huang CH, Chiang CP. Penile blood flow study in diabetic impotence. *Urologia internationalis*. 1993;50(4):209-12.
79. Michal V, Kramar R, Pospichal J, Ruzbarský V, Simana J, Blazkova J, ve ark. Vascular surgery in the treatment of impotence; its present possibilities and prospects. *Czechoslovak medicine*. 1980;3(3):213.
80. Mersdorf A, Goldsmith PC, Diederichs W, Padula CA, Lue T, Fishman IJ, ve ark. Ultrastructural changes in impotent penile tissue: a comparison of 65 patients. *The Journal of urology*. 1991;145(4):749-58.
81. Hirshkowitz M, Karacan I, Rando K, Williams R, Howell J. Diabetes, erectile dysfunction, and sleep-related erections. *Sleep*. 1990;13(1):53-68.
82. De Tejada IS, Angulo J, Celtek S, González-Cadavid N, Heaton J, Pickard R, ve ark. Pathophysiology of erectile dysfunction. *The journal of sexual medicine*. 2005;2(1):26-39.
83. Rosen RC, Riley A, Wagner G, Osterloh IH, Kirkpatrick J, Mishra A. The international index of erectile function (IIEF): a multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction. *Urology*. 1997;49(6):822-30.
84. Blander DS, Sááánchez-Ortiz RF, Broderick GA. Sex inventories: can questionnaires replace erectile dysfunction testing? *Urology*. 1999;54(4):719-23.
85. Tokatli Z, Akand M, Yaman O, Gulpinar O, Anafarta K. Comparison of international index of erectile function with nocturnal penile tumescence and rigidity testing in evaluation of erectile dysfunction. *International journal of impotence research*. 2006;18(2):186-9.
86. Bremner WJ, Vitiello MV, Prinz PN. Loss of Circadian Rhythmicity in Blood Testosterone Levels with Aging in Normal Men*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1983;56(6):1278-81.
87. Hatzimouratidis K, Amar E, Eardley I, Giuliano F, Hatzichristou D, Montorsi F, ve ark. Guidelines on male sexual dysfunction: erectile dysfunction and premature ejaculation. *European urology*. 2010;57(5):804-14.
88. Sikka SC, Hellstrom WJ, Brock G, Morales AM. Standardization of vascular assessment of erectile dysfunction. *The journal of sexual medicine*. 2013;10(1):120-9.
89. Delcour C, Wespes E, Vandenbosch G, Schulman C, Struyven J. Impotence: evaluation with cavernosography. *Radiology*. 1986;161(3):803-6.

90. Mannino DM, Klevens RM, Flanders WD. Cigarette smoking: an independent risk factor for impotence? *American journal of epidemiology*. 1994;140(11):1003-8.
91. Kostis JB, Jackson G, Rosen R, Barrett-Connor E, Billups K, Burnett AL, ve ark. Sexual dysfunction and cardiac risk (the Second Princeton Consensus Conference). *The American journal of cardiology*. 2005;96(2):313-21.
92. McCabe M, Althof SE, Assalian P, Chevret-Measson M, Leiblum SR, Simonelli C, ve ark. Psychological and interpersonal dimensions of sexual function and dysfunction. *The journal of sexual medicine*. 2010;7(1pt2):327-36.
93. Hawton K. Integration of treatments for male erectile dysfunction. *The Lancet*. 1998;351(9095):7-8.
94. Wang C, Troen P, de Kretser DM, Nieschlag E. International Society of Andrology. International Society for the Study of Aging Male European Association of Urology European Academy of Andrology American Society of Andrology Investigation, treatment, and monitoring of late-onset hypogonadism in males: ISA, ISSAM, EAU, EAA, and ASA recommendations *Eur Urol*. 2009;55:121-30.
95. Wald M, Meacham RB, Ross LS, Niederberger CS. Testosterone replacement therapy for older men. *Journal of andrology*. 2006;27(2):126-32.
96. Corona G, Rastrelli G, Forti G, Maggi M. Update in testosterone therapy for men (CME). *The journal of sexual medicine*. 2011;8(3):639-54.
97. Morales A, Condra M, Owen J, Surridge D, Fenemore J, Harris C. Is yohimbine effective in the treatment of organic impotence? Results of a controlled trial. *The Journal of urology*. 1987;137(6):1168-72.
98. Brock G. Oral agents: first-line therapy for erectile dysfunction. *European Urology Supplements*. 2002;1(8):12-8.
99. Lal S, Tesfaye Y, Thavundayil JX, Thompson TR, Kiely ME, Nair NV, ve ark. Apomorphine: clinical studies on erectile impotence and yawning. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 1989;13(3):329-39.
100. Heaton JP. Key issues from the clinical trials of apomorphine SL. *World journal of urology*. 2001;19(1):25-31.
101. Cheng W-M, Lin T-P, Lin AT, Chen K-K, Chen T-J. A nationwide population study of trazodone use in urology patients. *Journal of the Chinese Medical Association*. 2013;76(8):432-7.
102. Padma-Nathan H, Steers W, Wicker P. Efficacy and safety of oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction: a double-blind, placebo-controlled study of 329 patients. Sildenafil Study Group. *International journal of clinical practice*. 1998;52(6):375-9.
103. Steers WD. Viagra—after one year. *Urology*. 1999;54(1):12-7.
104. Kulkarni S, Patil C. Phosphodiesterase 5 enzyme and its inhibitors: update on pharmacological and therapeutical aspects. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2004;26(10):789-99.
105. Seftel AD. Phosphodiesterase type 5 inhibitor differentiation based on selectivity, pharmacokinetic, and efficacy profiles. *Clinical cardiology*. 2004;27(S1):14-9.
106. Corbin J, Francis S. Pharmacology of phosphodiesterase-5 inhibitors. *International journal of clinical practice*. 2001;56(6):453-9.
107. Ding H, Du W, Wang H, Zhang L, Wang Z, Du C, ve ark. Efficacy and safety of udenafil for erectile dysfunction: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Urology*. 2012;80(1):134-9.
108. Yuan J, Zhang R, Yang Z, Lee J, Liu Y, Tian J, ve ark. Comparative effectiveness and safety of oral phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction: a systematic review and network meta-analysis. *European urology*. 2013;63(5):902-12.

109. Başar M, Tekdoğan ÜY, Yılmaz E, Başar H, Atan A, Batislam E. The efficacy of sildenafil in different etiologies of erectile dysfunction. *International urology and nephrology*. 2001;32(3):403-7.
110. Gresser U, Gleiter C. Erectile dysfunction: comparison of efficacy and side effects of the PDE-5 inhibitors sildenafil, vardenafil and tadalafil-review of the literature. *European journal of medical research*. 2002;7(10):435-46.
111. Rendell MS, Rajfer J, Wicker PA, Smith MD, Group SDS. Sildenafil for treatment of erectile dysfunction in men with diabetes: a randomized controlled trial. *Jama*. 1999;281(5):421-6.
112. Boulton A, Selam J-L, Sweeney M, Ziegler D. Sildenafil citrate for the treatment of erectile dysfunction in men with type II diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2001;44(10):1296-301.
113. Goldstein I, Young JM, Fischer J, Bangerter K, Segerson T, Taylor T. Vardenafil, a New Phosphodiesterase Type 5 Inhibitor, in the Treatment of Erectile Dysfunction in Men With Diabetes A multicenter double-blind placebo-controlled fixed-dose study. *Diabetes Care*. 2003;26(3):777-83.
114. Fonseca V, Seftel A, Denne J, Fredlund P. Impact of diabetes mellitus on the severity of erectile dysfunction and response to treatment: analysis of data from tadalafil clinical trials. *Diabetologia*. 2004;47(11):1914-23.
115. Hellstrom WJ, Bennett AH, Gesundheit N, Kaiser FE, Lue TF, Padma-Nathan H, ve ark. A double-blind, placebo-controlled evaluation of the erectile response to transurethral alprostadil. *Urology*. 1996;48(6):851-6.
116. Virag R. Intracavernous injection of papaverine for erectile failure. *The Lancet*. 1982;320(8304):938.
117. Brindley G. Cavernosal alpha-blockade: a new technique for investigating and treating erectile impotence. *The British Journal of Psychiatry*. 1983;143(4):332-7.
118. Coombs PG, Heck M, Guhring P, Narus J, Mulhall JP. A review of outcomes of an intracavernosal injection therapy programme. *BJU international*. 2012;110(11):1787-91.
119. Moul J, McLeod D. Negative pressure devices in the explanted penile prosthesis population. *The Journal of urology*. 1989;142(3):729-31.
120. Vrijhof H, Delaere K. Vacuum constriction devices in erectile dysfunction: acceptance and effectiveness in patients with impotence of organic or mixed aetiology. *British journal of urology*. 1994;74(1):102-5.
121. Lewis RW. Long-term results of penile prosthetic implants. *The Urologic Clinics of North America*. 1995;22(4):847-56.
122. Akbarzadeh A, Norouzian D, Mehrabi M, Jamshidi S, Farhangi A, Verdi AA, ve ark. Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2007;22(2):60-4.
123. Arcolino FO, Ribeiro DL, Gobbo MG, Taboga SR, Goes RM. Proliferation and apoptotic rates and increased frequency of p63-positive cells in the prostate acinar epithelium of alloxan-induced diabetic rats. *International journal of experimental pathology*. 2010;91(2):144-54.
124. Bivalacqua T, Usta M, Champion H, Leungwattanakij S, Dabisch P, McNamara D, ve ark. Effect of combination endothelial nitric oxide synthase gene therapy and sildenafil on erectile function in diabetic rats. *International journal of impotence research*. 2004;16(1):21-9.
125. Çakalağaoğlu F. Tissue processing–Doku takibi. *Aegean Pathology Journal*. 2005;2:29-34.
126. Matsuda Y, Fujii T, Suzuki T, Yamahatsu K, Kawahara K, Teduka K, ve ark. Comparison of fixation methods for preservation of morphology, RNAs, and proteins from

- paraffin-embedded human cancer cell-implanted mouse models. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2011;59(1):68-75.
127. Brown RW, Chirala R. Utility of microwave-citrate antigen retrieval in diagnostic immunohistochemistry. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 1995;8(5):515-20.
128. Goldstein M, Watkins S. Immunohistochemistry. *Current Protocols in Molecular Biology*. 2008;14.6. 1-.6. 23.
129. Mori R, Wang Q, Quek ML, Tarabolous C, Cheung E, Ye W, ve ark. Prognostic value of the androgen receptor and its coactivators in patients with D1 prostate cancer. *Anticancer research*. 2008;28(1B):425-30.
130. Edition IDAS. International Diabetes Federation 2013. Update. 2014.
131. Corona G, Giorda CB, Cucinotta D, Guida P, Nada E. Sexual dysfunction at the onset of type 2 diabetes: the interplay of depression, hormonal and cardiovascular factors. *The journal of sexual medicine*. 2014;11(8):2065-73.
132. Schiavi R, Stimmel B, Mandeli J, Rayfield E. Diabetes mellitus and male sexual function: a controlled study. *Diabetologia*. 1993;36(8):745-51.
133. Malavige LS, Wijesekara P, Ranasinghe P, Levy JC. The association between physical activity and sexual dysfunction in patients with diabetes mellitus of European and South Asian origin: The Oxford Sexual Dysfunction Study. *European journal of medical research*. 2015;20(1):1-7.
134. Sasaki H, Yamasaki H, Ogawa K, Nanjo K, Kawamori R, Iwamoto Y, ve ark. Prevalence and risk factors for erectile dysfunction in Japanese diabetics. *Diabetes research and clinical practice*. 2005;70(1):81-9.
135. Vernet D, Cai L, Garban H, Babbitt ML, Murray FT, Rajfer J, ve ark. Reduction of penile nitric oxide synthase in diabetic BB/WORdp (type I) and BBZ/WORdp (type II) rats with erectile dysfunction. *Endocrinology*. 1995;136(12):5709-17.
136. Angulo J, González-Corrochano R, Cuevas P, Rolo F, Allona A, Sáenz de Tejada I. Diabetes exacerbates the functional deficiency of NO/cGMP pathway associated with erectile dysfunction in human corpus cavernosum and penile arteries. *The journal of sexual medicine*. 2010;7(2pt1):758-68.
137. Jesmin S, Sakuma I, Salah-Eldin A, Nonomura K, Hattori Y, Kitabatake A. Diminished penile expression of vascular endothelial growth factor and its receptors at the insulin-resistant stage of a type II diabetic rat model: a possible cause for erectile dysfunction in diabetes. *Journal of molecular endocrinology*. 2003;31(3):401-18.
138. Seftel AD, Vaziri ND, Ni Z, Razmjouei K, Fogarty J, Hampel N, ve ark. Advanced glycation end products in human penis: elevation in diabetic tissue, site of deposition, and possible effect through iNOS or eNOS. *Urology*. 1997;50(6):1016-26.
139. Chua R, Tar M, Melman A, DiSanto M. Streptozotocin-induced diabetes results in time-dependent upregulation of the endothelin/Rho-kinase pathway in rat corpus cavernosum smooth muscle. *J Sex Med*. 2006;3(Suppl 1):25.
140. Baba K, Yajima M, Carrier S, Akkus E, Reman J, Nunes L, ve ark. Effect of testosterone on the number of NADPH diaphorase-stained nerve fibers in the rat corpus cavernosum and dorsal nerve. *Urology*. 2000;56(3):533-8.
141. Porst H, Oelke M, Goldfischer ER, Cox D, Watts S, Dey D, ve ark. 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*. 2013;82(3):667-73.
142. Rhoden EL, Ribeiro EP, Teloken C, Souto CA. Diabetes mellitus is associated with subnormal serum levels of free testosterone in men. *BJU international*. 2005;96(6):867-70.

143. Ghazi S, Zohdy W, Elkhiat Y, Shamloul R. Serum testosterone levels in diabetic men with and without erectile dysfunction. *Andrologia*. 2012;44(6):373-80.
144. Dhindsa S, Prabhakar S, Sethi M, Bandyopadhyay A, Chaudhuri A, Dandona P. Frequent occurrence of hypogonadotropic hypogonadism in type 2 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2004;89(11):5462-8.
145. Guay A, Jacobson J. The relationship between testosterone levels, the metabolic syndrome (by two criteria), and insulin resistance in a population of men with organic erectile dysfunction. *The journal of sexual medicine*. 2007;4(4i):1046-55.
146. Chamness S, Ricker D, Crone J, Dembeck C, Maguire M, Burnett A, ve ark. The effect of androgen on nitric oxide synthase in the male reproductive tract of the rat. *Fertility and sterility*. 1995;63(5):1101-7.
147. Mitchell JB, Stewart J. Effects of castration, steroid replacement, and sexual experience on mesolimbic dopamine and sexual behaviors in the male rat. *Brain research*. 1989;491(1):116-27.
148. Hernández-Mijares A, García-Malpartida K, Solá-Izquierdo E, Bañuls C, Rocha M, Gómez-Martínez MJ, ve ark. Testosterone levels in males with type 2 diabetes and their relationship with cardiovascular risk factors and cardiovascular disease. *The journal of sexual medicine*. 2010;7(5):1954-64.
149. Chang C, Kokontis J, Liao S. Molecular cloning of human and rat complementary DNA encoding androgen receptors. *science*. 1988;240(4850):324-6.
150. Beilin J, Ball E, Favaloro J, Zajac J. Effect of the androgen receptor CAG repeat polymorphism on transcriptional activity: specificity in prostate and non-prostate cell lines. *Journal of molecular endocrinology*. 2000;25(1):85-96.
151. Zhu L-J, Hardy MP, Inigo IV, Huhtaniemi I, Bardin CW, Moo-Young AJ. Effects of androgen on androgen receptor expression in rat testicular and epididymal cells: a quantitative immunohistochemical study. *Biology of reproduction*. 2000;63(2):368-76.
152. Suzuki K, Ito K, Kurokawa K, Suzuki T, Shimizu N, Fukabori Y, ve ark. Expression and degradation of rat androgen receptor following castration, testosterone replacement and antiandrogens administration: analysis by Western blot and immunohistochemistry. *The Tohoku journal of experimental medicine*. 1997;183(3):159-72.
153. Yamanaka M, Shirai M, Shiina H, Tanaka Y, Tsujimura A, Matsumiya K, ve ark. Diabetes induced erectile dysfunction and apoptosis in penile crura are recovered by insulin treatment in rats. *The Journal of urology*. 2003;170(1):291-7.
154. Takane KK, George FW, Wilson JD. Androgen receptor of rat penis is down-regulated by androgen. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 1990;258(1):E46-E50.
155. Li R-J, Qiu S-D, Wang H-X, Tian H, Wang L-R, Huo Y-W. Androgen receptor: a new player associated with apoptosis and proliferation of pancreatic beta-cell in type 1 diabetes mellitus. *Apoptosis*. 2008;13(8):959-71.
156. Morimoto S, Mendoza-Rodriguez C, Hiriart M, Larrieta M, Vital P, Cerbon M. Protective effect of testosterone on early apoptotic damage induced by streptozotocin in rat pancreas. *Journal of Endocrinology*. 2005;187(2):217-24.