

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTE
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARE KORPUS KAVERNOSUM DÜZ KASINDA
HİDROJEN SÜLFÜR'ÜN GEVŞETİCİ ETKİ
MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI**

Fatma AYDINOĞLU

DOKTORA TEZİ

DANIŞMANI

Prof.Dr. Nuran ÖĞÜLENER

ADANA-2013

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTE
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARE KORPUS KAVERNOSUM DÜZ KASINDA
HİDROJEN SÜLFÜR'ÜN GEVŞETİCİ ETKİ
MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI**

Fatma AYDINOĞLU

DOKTORA TEZİ

DANIŞMANI

Prof.Dr. Nuran ÖĞÜLENER

**Bu çalışma Ç.Ü. Araştırma Fonu tarafından, TF2010D12 no' lu proje olarak
desteklenmiştir.**

ADANA-2013

KABUL VE ONAY

Farmakoloji Doktora Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan
“Fare Korpus Kavernozum Dokusunda Hidrojen Sülfür’ün Gevşetici Etki Mekanizmasının Araştırılması”
adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarihi: 21 / 06 / 2013

TEZ SINAV JÜRİSİ


Prof. Dr. Nuri ÖĞÜLENER
Çukurova Üniversitesi
Başkan


Prof. Dr. Ergin SİNGİRLİK
Çukurova Üniversitesi
Raportör


Prof. Dr. Belgin ALAŞEHİRLİ
Gaziantep Üniversitesi
Üye


Doç. Dr. M. Ata SEÇİLMİŞ
Çukurova Üniversitesi
Üye


Yard. Doç. Dr. Besim ÖZAYKAN
Çukurova Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun / / tarih ve sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Şeref ERDOĞAN
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın oluşumda ve gelişiminde bana değerli katkı ve fikirleri ile yol gösteren, tezimin tamamlanmasında emeklerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nuran Öğülenler' eşükran duygularımı sunarım sunarım. Çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ergin Şingirik' e ve diğer hocalarıma en derin saygılarımı sunarım. Değerli katkılarından dolayı çalışma arkadaşlarıma, teknik ve idari personele emeklerinden dolayı teşekkür ederim. Ayrıca bana verdikleri destekten dolayı sevgili anneme, sevgili babama ve tüm sevdiklerime çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1. Hidrojen Sülfür	3
2.1.1. Hidrojen Sülfür' ün Sentezi	4
2.1.1.1. Systation-beta-sentaz (CBS)	4
2.1.1.2. Systation-gama-liyaz (CSE)	5
2.1.1.3. 3-Merkaptopürivat Sülfürtransferaz (3-MST)	6
2.1.2. Hidrojen Sülfür' ün Metabolizması	8
2.2. Hidrojen Sülfür' ün Fizyolojik Etkileri	8
2.2.1. H ₂ S ve Ürogenital Sistem	9
2.2.2. H ₂ S ve Kardiyovasküler Sistem	10
2.2.3. H ₂ S ve Solunum Sistemi Düz Kası	11
2.2.4. H ₂ S ve Gastrointestinal Sistem	11
2.2.5. H ₂ S ve Santral Sinir Sistemi	12
2.3. Hidrojen Sülfür' ün Etki Mekanizmaları	12
2.3.1. Endotelyum	12
2.3.2. Nitrik Oksid/Siklik Guanozin Monofosfat Yolağı	13
2.3.3. Adenilil Siklaz/ Siklik Adenozin Monofosfat Yolağı	15
2.3.4. Potasyum Kanalları	16
2.3.5. Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EDHF)	17
2.3.6. Kolinerjik Sistem	17
2.4. Penis Eretil Doku	18
2.4.1. Penis Eretil Dokunun Periferik İnervasyonu	18

2.4.1.1. Parasempatik Aktivasyon	18
2.4.1.2. Sempatik Aktivasyon	19
2.4.1.3. Non-Adrenerjik Non-Kolinerjik İnnervasyon	20
2.4.1.3.1. Nitrik Oksid	20
2.4.1.3.2. Vazoaktif İntestinal Polipeptid (VIP)	23
2.4.1.3.3. Adenozin trifosfat (ATP)	23
2.4.1.3.4. Endotelin (ET)	24
2.4.1.3.5. RhoA/Rho-kinaz Yolağı	25
2.5. Korpus Kavernosum ve Hidrojen Sülfür	26
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	28
3.1. İn vitro Çalışmalar	28
3.1.1. Kümülatif L-sistein İle Oluşan Gevşeme Yanıtları	28
3.1.2. L-Sistein Gevşemelerinde CBS Ve CSE İnhibitörlerinin Rolü	29
3.1.2.1. L-sistein Gevşeme Yanıtları Üzerine Aminooksiasetik Asid (AOAA)' in Etkisi	29
3.1.2.2. L-Sistein Gevşeme Yanıtları Üzerine Proparjil Glisin (PAG)' in Etkisi	29
3.1.3. Kümülatif NaHS İle Oluşan Gevşeme Yanıtları	30
3.1.4. Kümülatif NaHS Gevşeme Yanıtlarında, Endotelyumun Etkisi	30
3.1.5. NaHS Gevşeme Yanıtlarında NO/cGMP Yolağının Etkisi	31
3.1.5.1. NaHS Gevşeme Yanıtlarında L-Nitroarjinin (L-NA)' in Etkisi	31
3.1.5.2. NaHS Gevşeme Yanıtlarında 1H-[1,2,4]oksadiazol [4,3]kuinoksalin-1 (ODQ)' in Etkisi	31
3.1.5.3. NaHS Gevşeme Yanıtlarında L-Nitroarjinin (L-NA) Ve 1H-[1,2,4]kuinoksalin-1 (ODQ) Kombinasyonun Etkisi	32
3.1.6. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Fosfodiesteraz İnhibitörlerinin Etkileri	32
3.1.6.1. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Zaprinast'ın Etkileri	32
3.1.6.2. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Sildenafil' in Etkileri	33

3.1.7. Kümülatif NaHS Gevşeme Yanıtlarında Adenilil Siklaz/cAMP Yolağının Rolü	33
3.1.7.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Yanıtlarında N-Etilmaleimid (NEM)' in Etkisi	33
3.1.7.2. NaHS Gevşeme Yanıtlarında 9-(Tetrahydro-2-furanyl)-9H-purin-6-amine (SQ22536)' in Etkileri	34
3.1.8. NaHS Gevşeme Yanıtlarında K ⁺ kanallarının Etkisi	34
3.1.8.1. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Potasyum' un Etkisi	34
3.1.8.2. NaHS Gevşeme Yanıtlarında 4-Aminopiridin (4-AP)' in Etkisi	35
3.1.8.3. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Glibenklamid' in Etkisi	35
3.1.8.4. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Baryum Klorür (BaCl ₂)' ün Etkisi	36
3.1.8.5. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Apamin' in Etkisi	36
3.1.8.6. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Karibdotoksin' in Etkisi	36
3.1.9. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EDHF)' ün Etkisi	37
3.1.10. NaHS Gevşeme Cevaplarında, Ca ²⁺ kanallarının rolü	37
3.1.11. NaHS Gevşeme Cevaplarında, Atropin' in Etkisi	38
3.1.12. NaHS Gevşeme Cevaplarında, Uvabain' in Etkisi	38
3.2. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz	39
3.3. Kullanılan İlaçlar ve Solüsyonların Hazırlanması	39
4. BULGULAR	40
4.1. Kümülatif L-sistein Yanıtları	40
4.2. L-Sistein Gevşemelerinde CBS Ve CSE İnhibitörlerinin Etkileri	42
4.2.1. L-sistein Gevşeme Yanıtları Üzerine Aminooksiasetik Asid (AOAA)' in Etkisi	42
4.2.2. L-Sistein Gevşeme Cevapları Üzerine Proparjil Glisin (PAG)' in Etkisi	44
4.3. Kümülatif NaHS Cevapları	46
4.4. Kümülatif NaHS Gevşemelerinde Endotelyum' un Etkisi	48
4.5. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevaplarında NO/cGMP Yolağının Etkisi	50

4.5.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine L-Nitroarjinin (L-NA)' in Etkisi	50
4.5.2. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine 1H-[1,2,4]kuinoksalin-1 (ODQ)' nün Etkisi	52
4.5.3. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine 1H-[1,2,4]kuinoksalin-1 (ODQ) ve L-Nitroarjinin (L-NA) Kombinasyonunun Etkisi	54
4.6. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevaplarında Fosfodiesteraz İnhibitörlerinin Rolü	56
4.6.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Zaprinast'ın Etkisi	56
4.6.2. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Sildenafil' in Etkisi	58
4.7. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevaplarında Adenilil Siklaz/cAMP Yolağının Rolü	60
4.7.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine N-Etilmaleimid (NEM)' in Etkisi	60
4.7.2. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine 9-(Tetrahydro-2-furanyl)-9H-purin-6-amine (SQ22536)'ın Etkisi	62
4.8. Kümülatif NaHS Gevşeme Yanıtlarında K ⁺ Kanallarının Etkileri	64
4.8.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Yanıtlarında Potasyum' un Etkisi	64
4.8.2. Kümülatif NaHS Gevşeme Yanıtlarında 4-Aminopiridin (4-AP)' in Etkisi	66
4.8.3. Kümülatif NaHS Gevşeme Yanıtlarında Glibenklamid' in Etkisi	68
4.8.4. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Baryum Klorür (BaCl ₂)' ün Etkisi	70
4.8.5. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Apamin' in Etkisi	72
4.8.6. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Karibdotoksin' in Etkisi	74

4.8.7. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Apamin Ve Karibdotoksin Kombinasyonunun Etkisi	76
4.9. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevaplarında Ca^{2+} Kanallarının Etkisi	78
4.9.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Nifedipin' in Etkisi	78
4.10. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevaplarında Muskarinik Reseptörlerin Etkisi	80
4.10.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Atropin' in Etkisi	80
4.11. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevaplarında Na/K-ATP Pompasının Etkisi	82
4.11.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Uvabain' in Etkisi	82
5. TARTIŞMA	84
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	92
REFERANSLAR	94
ÖZGEÇMİŞ	109

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Hidrojen sülfür' ün sulu çözeltilerde çözünmesi ²⁵	3
Şekil 2.	Sistation beta sentaz (CBS) enzimi aracılığıyla H ₂ S sentezi ²¹	5
Şekil 3.	Sistation gama liyaz (CSE) enzimi aracılı H ₂ S sentezi ⁴⁹	6
Şekil 4.	3-Merkaptosülfürtransferaz (3-MST) ve sistein aminotransferaz (CAT) aracılığıyla H ₂ S sentezi	7
Şekil 5.	Hidrojen sülfür' ün enzimatik sentezi ²⁸	8
Şekil 6.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif L-sistein (10 ⁻⁶ -10 ⁻³ M) gevşeme yanıtlarının trase örneği (A) ve grafiği (B).	41
Şekil 7.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif L-sistein' in (10 ³ M) gevşeme yanıtları üzerine AOAA (10 ⁻³ M)' in etkisinin bar grafiği.	43
Şekil 8.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif L-sistein' in (10 ³ M) gevşeme yanıtları üzerine PAG (10 ⁻² M)' in etkisinin trase örneği (A) ve bar grafiği (B).	45
Şekil 9.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10 ⁶ -10 ⁻³ M) gevşeme yanıtlarının trase örneği (A) ve grafiği (B).	47
Şekil 10.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10 ⁶ -10 ⁻³ M) gevşeme yanıtları üzerine endotelyumun etkisinin grafiği.	49
Şekil 11.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10 ⁶ -10 ⁻³ M) gevşeme yanıtları üzerine L-NA (10 ⁻⁴ M)' nin etkisinin grafiği.	51
Şekil 12.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10 ⁶ -10 ⁻³ M) gevşeme yanıtları üzerine ODQ (10 ⁻⁴ M)' nün etkisinin grafiği.	53
Şekil 13.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10 ⁶ -10 ⁻³ M) gevşeme yanıtları üzerine L-nitroarjinin (L-NA;10 ⁻⁴ M)+ ODQ (10 ⁻⁴ M)' nün etkisinin grafiği.	55
Şekil 14.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10 ⁶ -10 ⁻³ M) gevşeme yanıtları üzerine Zaprinast (5x10 ⁻⁶ M)' in etkisinin grafiği.	57
Şekil 15.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10 ⁶ -10 ⁻³ M) gevşeme yanıtları üzerine Sildenafil (10 ⁻⁶ M)' in etkisinin grafiği.	59
Şekil 16.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10 ⁶ -10 ⁻³ M) gevşeme cevapları üzerine N-Etilmaleimid (NEM; 2.5x10 ⁻⁵ M)' in etkisinin grafiği.	61
Şekil 17.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10 ⁶ -10 ⁻³ M) gevşeme yanıtları üzerine SQ22536 (10 ⁻⁴ M)' in etkisinin grafiği.	63
Şekil 18.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10 ⁶ -10 ⁻³ M) gevşeme yanıtları üzerine KCl (50 mM)' nin etkisinin grafiği.	65

Şekil 19.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine 4-AP (10^{-3} M)' nin etkisinin grafiği.	67
Şekil 20.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine Glibenklamid (10^{-5} M)' in etkisinin grafiği.	69
Şekil 21.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine BaCl ₂ (10^{-5} M)' in etkisinin grafiği.	71
Şekil 22.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine Apamin (10^{-6} M)' in etkisinin grafiği.	73
Şekil 23.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine Karibdotoksin (10^{-7} M)' in etkisinin grafiği.	75
Şekil 24.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine Apamin (10^{-6} M) + Karibdotoksin (10^{-7} M)' in etkisinin grafiği.	77
Şekil 25.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine Nifedipin (10^{-6} M)' in etkisinin grafiği.	79
Şekil 26.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine Atropin (10^{-6} M)' in etkisinin grafiği.	81
Şekil 27.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine Uvabain (10^{-4} M)' in etkisinin grafiği.	83

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATP	: Adenozin trifosfat
α	: Alfa
AOAA	: Aminooksiasetik asid
4-AP	: 4-aminopiridin
β	: Beta
BaCl ₂	: Baryum klorür
BH ₄	: Tetrahidrobioplerin
BK _{Ca} ²⁺	: Yüksek kondüktanslı Ca ²⁺ ile aktive edilen K ⁺ kanalı
Ca ²⁺	: Kalsiyum
CAT	: Sistein aminotransferaz
CBS	: Sistation beta sentaz
CSE	: Sistation gama liyaz
CO	: Karbonmonoksit
COX	: Siklooksijenaz
çGS	: Çözünür guanilil siklaz
EDHF	: Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör
EDRF	: Endotel kaynaklı gevşetici faktör
eNOS (NOS III)	: Endotelyal nitrik oksid sentaz
FAD	: Flavin adenin dinükleotid
FMN	: Flavin mononükleotid
Fe ²⁺	: Demir
H ⁺	: Hidrojen
H ₂ S	: Hidrojen sülfür
γ	: Gama
IL-1 β	: İnterlökin 1-beta
iNOS (NOS II)	: İndüklenebilir nitrik oksid sentaz
K ⁺	: Potasyum
K _{ATP}	: ATP' ye-duyan potasyum kanalı
K _{Ca} ²⁺	: Kalsiyum ile aktive edilen potasyum kanalı

KCl	: Potasyum klorür
K_{IR}	: İçe-doğrultucu potasyum kanalı
K_V	: Voltaj' a-duyanlı potasyum kanalı
L-NAME	: N^ω-nitro-L-arjinin metil ester
L-NA	: N^ω-nitro-L-arjinin
3-MP	: 3-Merkaptopürivat
mRNA	: Mitokondriyel ribonükleik asit
3-MST	: 3-Merkaptopürivat sülfürtransferaz
NAD	: Nikotin adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NaHS	: Sodyum hidrojen sülfür
NANK	: Non-adrenerjik non-kolinerjik
NEM	: N-Etilmaleimid
NO	: Nitrik oksid
NOS	: Nitrik oksid sentaz
nNOS (NOS I)	: Nöronal nitrik oksid sentez
ODQ	: 1H-[1,2,4]oksadiazol[4,3]kuinoksalin-1
PAG	: D,L-Proparjil glisin
PKC	: Protein kinaz C
PKG	: Protein kinaz G
PLP	: Piridoksal 5'-fosfat
S²⁻	: Sülfür
sAMP	: Siklik adenozin monofosfat
sGMP	: Siklik guanozin monofosfat
sGK I ve II	: sGMP-bağımlı protein kinaz
SQ 22536	: 9-(Tetrahidro-2-furanil)-9H-purin-6-amin
VIP	: Vazoaktif intestinal polipeptid

ÖZET

Fare Korpus Kavernosum Düz Kasında Hidrojen Sülfür'ün Gevşetici Etki Mekanizmasının Araştırılması

Çalışmamızda, izole fare korpus kavernosum dokusunda hidrojen sülfür (H_2S)'ün gevşetici etki mekanizması araştırıldı. Bu amaçla, fenilefrin ile kastrılmış izole fare korpus kavernosum dokularında L-sistein (10^{-6} - 10^{-3}) ve H_2S donörü sodyum hidrojen sülfür ($NaHS$; 10^{-6} - 10^{-3}) ile gevşeme yanıtları oluşturuldu. L-sistein (10^{-3} M) ile oluşan gevşeme yanıtları sistation beta sentaz inhibitörü aminooksiasetik asid ile etkilenmezken, sistation gama liyaz enzim inhibitörü D,L-propargil glisin ile anlamlı olarak azaldı. Endotelyumsuz dokularda, $NaHS$ ile oluşan gevşeme yanıtlarında bir değişiklik gözlenmedi. Nitrik oksid sentaz inhibitörü N^o -nitro-L-arjinin (10^{-4} M), guanilil siklaz inhibitörü ODQ (10^{-4} M) ve bu inhibitörlerin kombinasyonu $NaHS$ ile oluşan gevşeme yanıtlarını artırdı. Fosfodiesteraz inhibitörleri zaprinast ve sildenafil $NaHS$ gevşeme yanıtlarını azalttı. Adenilil siklaz inhibitörleri NEM (2.5×10^{-5} M) veya SQ22536 (10^{-4} M) ile $NaHS$ gevşeme yanıtlarında anlamlı bir azalma gözlemlendi. $NaHS$ gevşemeleri, yüksek K^+ (50mM), voltaja-bağımlı K^+ kanal inhibitörü 4-aminopiridin (10^{-3} M), ATP'ye duyarlı K^+ kanal inhibitörü glibenklamid (10^{-5} M) ve içeri doğrultucu K^+ kanal inhibitörü baryum klorür (10^{-5} M) varlığında anlamlı bir şekilde azaldı. Ancak, küçük kondüktanslı Ca^{2+} ile aktive edilen K^+ kanal blokörü apamin, orta ve yüksek kondüktanslı Ca^{2+} ile aktive edilen K^+ kanal blokörü karibdotoksin ve apamin + karibdotoksin kombinasyonu, $NaHS$ ile dokularda oluşan gevşeme yanıtlarında bir değişiklik oluşturmadi. L-tipi Ca^{2+} kanal inhibitörü nifedipin (10^{-6} M) ve muskarinik reseptör blokörü atropin (10^{-6} M) $NaHS$ gevşemelerini inhibe etti. Ancak, Na^+ - K^+ -ATPaz inhibitörü uvabain (10^{-4} M) $NaHS$ gevşemelerini etkilemedi. Sonuç olarak, fare korpus kavernosum dokusunda endojen olarak H_2S 'in L-sistein'den, sistation gama liyaz enzimi aracılığıyla sentezlendiği, gevşetici etkisini endotelyum'dan bağımsız olarak direkt düz kas üzerinden; i)adenilil siklaz/cAMP, ii) K^+ kanalları, iii) L-tipi voltaja-bağımlı Ca^{2+} kanalları ve iv) muskarinik reseptörler aracılığıyla gerçekleştirebileceği ve bu etkisinin NO/sGMP tarafından baskılandığı düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: -düz kas, -fare, -gevşeme, -hidrojen sülfür, -korpus kavernosum, L-sistein,

ABSTRACT

The Investigation Of The Relaxant Mechanism Of Hydrogen Sulfide In Isolated Corpus Cavernosum

In the present study, the relaxant mechanism of hydrogen sulfide was investigated in isolated corpus cavernosum tissue., L-cystein- and sodium hydrogen sulfide- (NaHS; H₂S donor; 10⁻⁶-10⁻³) induced relaxant responses on the isolated mouse corpus cavernosum tissue which was pre-contracted by phenylephrine. L-cystein-induced relaxations significantly was reduced by D,L-propargylglycine, cystathionine gamma lyase inhibitor whereas not influenced by aminooxyacetic acid, cystathionine beta synthase inhibitor. The relaxant response to NaHS did not change in endothelium-denuded tissues. Nitric oxide synthase inhibitor N^ω-nitro-L-arginin (10⁻⁴ M), guanylyl cyclase inhibitor ODQ (10⁻⁴ M) and combination of these inhibitor increased the relaxant response to NaHS. NaHS-induced relaxant response was inhibited by zaprinast (5x10⁻⁶ M) and sildenafil (10⁻⁶ M), phosphodiesterase inhibitors. NaHS-induced relaxation was significantly reduced by N-Ethylmaleimide (2.5x10⁻⁵ M) and SQ22536 (10⁻⁴ M), adenylyl cyclase inhibitors. Also, NaHS-induced relaxation was reduced in the presence of high potassium (50 mM), voltage-gated potassium channel inhibitor 4-aminopyridine, ATP-sensitive potassium channel inhibitor glibenclamide (10⁻⁵ M), inward rectifier potassium channel inhibitor barium chloride (10⁻⁵ M). However, NaHS-induced relaxation was not influenced by small conductance calcium activated potassium channel inhibitor apamin (10⁻⁶ M), intermediate and large conductance calcium activated potassium channel inhibitor charybdotoxin (10⁻⁷ M) and combination of apamin and charybdotoxin. L-type calcium channel blocker nifedipine and muscarinic receptor blocker atropine inhibited relaxant response to NaHS. However, NaHS-induced relaxation was not influenced by ouabain (10⁻⁴ M). We conclude that, in mouse corpus cavernosum tissue H₂S may be produced endogenously from L-cysteine by cystathionine gamma lyase enzyme; the relaxant effect of H₂S endothelium-independent and directly acts on smooth muscle via; i) adenylyl cyclase/cAMP ii) potassium channels iii) L-type calcium channel and iv) muscarinic receptors and, this relaxant effect may be suppressed by NO/sGMP.

Key words: - corpus cavernosum, - hydrogen sulphide, - L-cysteine, -mouse, - relaxation, -smooth muscle,

1. GİRİŞ

Son yıllarda hidrojen sülfür (H_2S)' ün memelilerde nitrik oksid (NO) ve karbonmonoksit (CO) gibi bir gaz nörotransmitter olduğu kabul edilmiştir¹. Çeşitli dokularda, H_2S ' in endojen olarak sistein' den sistation beta sentaz (CBS), sistation gama liyaz (CSE) ve 3-merkaptopürivat sülfürtransferaz (3-MST) olmak üzere üç farklı enzim aracılığıyla sentezlendiği bildirilmiştir²⁻⁷. İnsan ve hayvan dokularında yapılan çalışmalarda, H_2S ' in in vitro olarak damar ve diğer düz dokularında gevşetici etkisi gösterilmiştir^{2,8-12}.

Korpus kavernosum düz kasının tonusu kontraktıl ve gevşetici faktörler arasındaki denge ile modüle edilmekte olup, bu düz kasın tonusu penil ereksiyonu sağlamaktadır¹³. İnsan¹⁴, maymun¹⁵, tavşan¹⁶ ve sıçan korpus kavernosum^{14,17} dokularında yapılan çalışmalarda, ekzojen H_2S veya L-sistein' in bu dokularda gevşeme yanıtı oluşturduğu veya intrakavernozal basıncı artırdığı gösterilmiştir. İnsan¹⁴, tavşan¹⁶ ve sıçan¹⁷ korpus kavernosum dokularında, H_2S ' in L-sistein' den sentezlendiği tespit edilmiştir. Ayrıca, insan korpus kavernosum dokusunda L-sistein- H_2S yolağının erektıl fonksiyonda rolü olabileceği ileri sürülmüştür¹⁴. Tavşan korpus kavernosum dokusunda, ekzojen H_2S ile oluşan pro-erektıl gevşetici etkinin sıklık adenozin monofosfat (sAMP) yolağı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir¹⁶. Benzer olarak, izole sıçan korpus kavernosum dokusunda supra-fizyolojik konsantrasyonlarda ekzojen H_2S ile oluşan gevşeme yanıtında da sAMP yolağının katkısının olabileceği gösterilmiştir¹⁷. İzole insan korpus kavernosum dokusunda ekzojen H_2S gevşeme yanıtlarının endotelıyumlu dokularda, nitrik oksid sentaz (NOS) inhibitörü N^G -nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) varlığında azaldığı bildirilmiştir¹⁴. Benzer şekilde, Meng ve ark.ları¹⁸ tarafından, H_2S ' in sıçan korpus kavernosum dokusundaki pro-erektıl etkisinin endotelıyal nitrik oksid sentaz (eNOS) protein ve mitokondriyel ribonükleik asit (mRNA) ekspresyonunu artırarak nitrik oksid (NO) yolağı üzerinden oluşturabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca, izole insan ve sıçan korpus kavernosum dokularında ekzojen H_2S yanıtlarının kısmen adenozin trifosfat (ATP)' a-duyanıl potasyum (K_{ATP}) kanalları üzerinden gerçekleşebileceği

bildirilmiştir^{14,17}. Ancak H₂S ile oluşan gevşemelerin mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır.

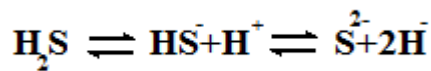
Çalışmamızda ekzojen H₂S' in izole fare korpus kavernosum dokusundaki gevşetici etki mekanizmasının aydınlatılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, L-sistein ve ekzojen H₂S (sodyum hidrojen sülfür: NaHS) ile konsantrasyona-bağımlı gevşeme yanıtları oluşturuldu. L-sistein ile oluşan gevşemeler üzerinde CBS ve CSE enzim inhibitörleri, aminooksiasetik asid (AOAA) ve proparjil glisin (PAG)' in etkileri incelendi. Ayrıca, ekzojen H₂S ile oluşan gevşeme yanıtlarında; i) endotelyum, ii) düz kas, iii) NO/siklik guanozin monofosfat (sGMP), iv) adenilil siklaz/sAMP, v) potasyum (K⁺) kanalları, vi) Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF), vii) voltaja-bağımlı L-tipi kalsiyum kanalları, viii) muskarinik reseptörler ve ix) Na⁺-K⁺-ATPaz' ın rolü araştırıldı.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Hidrojen Sülfür

Hayvan dokularında bulunan ve toksik bir gaz olarak bilinen Hidrojen sülfür' ün (H_2S), başlangıçta bakteriler tarafından sentezlendiği ve fizyolojik olarak bir öneme sahip olmadığı bilinmekteydi. Ancak, daha sonra H_2S ' in insan ve memeli dokularında enzimatik olarak sentezlendiği belirlenmiştir^{1,2,12,20,21,22}. İlk olarak Abe ve Kimura² tarafından endojen H_2S ' in beyinde bir nöromodülatör rolünün olabileceği ileri sürülmüştür. Son yıllarda, H_2S ' in memelilerde Nitrik oksid (NO) ve karbonmonoksit (CO) gibi bir gaz nörotransmitter olduğu kabul edilmiştir¹. H_2S ' in diğer gaz nörotransmitterlere benzer olarak küçük molekülü bir gaz olduğu, memeli dokularındaki enzimler aracılığıyla endojen olarak sentezlendiği, hücre membranını spesifik bir reseptör veya taşıyıcıya bağlanmadan geçebildiği ve etkilerini bir reseptör üzerinden gerçekleştirmediği, salıverildikten hemen sonra yıkıldığı ve parakrin etkili olduğu belirlenmiştir^{1,23,24}.

Organizmada, H_2S ' in oksidasyonu sonucunda kükürt, sülfür oksid (SO) ve sülfürik asid gibi sülfatlar oluşur. Uygun fizyolojik koşullar (37 °C) altında, sulu çözeltilerde zayıf asid olan H_2S ' in ($\text{pK}_a= 6.76$) üçte biri çözünmezken, üçte ikisi ise hidrojen iyonu (H^+) ve hidrosülfür anyonuna (HS^- , $\text{pK}_a= 7.4$) dönüşmektedir. HS^- anyonu ise, H^+ ve sülfür anyonuna (S^{2-} , $\text{pK}_a=11.96$) ayrıışmaktadır. Ancak, bu son reaksiyon yüksek pH' da gerçekleştiğinden dolayı in vivo olarak önemli bir miktarda S^{2-} gözlenmemektedir^{1,25}.



Şekil 1. Hidrojen sülfür' ün sulu çözeltilerde çözünmesi²⁵

H₂S' in oldukça lipofilik olması plazma membranını serbestçe geçebilmesine ve bütün hücre tiplerine girebilmesini sağlar. H₂S' in, memeli dokularında ve kandaki fizyolojik konsantrasyonu değişiklik göstermektedir^{3,8,26}. Ayrıca, fizyolojik koşullar altında spesifik konsantrasyonlarda önemli etkilerinin olduğu ve çeşitli hastalıkların patolojisinde rol aldığı ileri sürülmüştür^{27,28}.

2.1.1. Hidrojen Sülfür' ün Sentezi

H₂S' in enzimatik olarak vasküler yapı kalp, karaciğer, böbrek, akciğer, gastrointestinal sistem, sinir sistemi, üreme organları, iskelet kası ve adipoz dokuda sentezlendiği belirlenmiştir^{3,14,29-32}.

H₂S, L-sistein ve homosistein' den endojen olarak transsülfürasyon ile sentezlenmektedir. Endojen H₂S sentezindeki ana substrat'ın, L-sistein olduğu bildirilmiştir. L-sistein' den, H₂S oluşumunu öncelikli olarak sitoplazmik piridoksal 5'-fosfat enzimleri olan sistation beta-sentaz (CBS) ve sistation-gama-liyaz (CSE) katalize etmektedir³³. Son olarak, 3-merkaptopürivat sülfürtransferaz (3-MST) enziminin, H₂S sentezinden sorumlu üçüncü bir enzim olduğu ve α -ketoglutarat varlığında sistein' den sistein aminotransferaz enzimi ile birlikte H₂S sentezlendiği bildirilmiştir^{5, 34}. H₂S' in bu enzimler tarafından sentezlenip hemen salıverilmesinin yanı sıra depo edildiği ve fizyolojik bir stimülasyona yanıt olarak salıverildiği ileri sürülmüştür⁶.

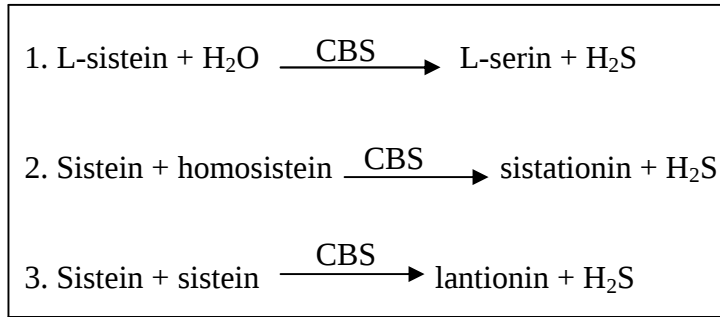
H₂S, vücutta barsak florası tarafından da oluşturulmaktadır³⁵. Ayrıca, eritrositlerdeki polisülfatlardan glutatyona bağlı olarak H₂S sentezlendiği belirtilmiştir³⁶.

2.1.1.1. Sistation-beta-sentaz (CBS)

CBS enzimi ilk kez beyinde Abe ve Kimura² tarafından eksprese edilmiş ve bu yapıda sistein' den H₂S oluşumunu katalize ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, memeli karaciğer, böbrek, ileum, plasenta ve pankreas gibi bir çok dokuda bu enzim eksprese edilmiştir⁶. Bu enziminin iki farklı mekanizma ile H₂S sentezine aracılık

ettiği bildirilmiştir. İlk olarak, sistein' den birβ-eliminasyonu veya alfa,beta (α,β)-eliminasyonu aracılığıyla H₂S oluşumunu katalize edebilmektedir. Ayrıca, homosistein ve sistein arasındaki β-değiştirme reaksiyonu sonucunda da H₂S oluşmasını sağlayabilmektedir^{37,38}.

CBS aracılı H₂S oluşumundaki ana mekanizmanın, homosistein ve sistein' den sistationin oluşumu ile ilişkili olduğu ve bu reaksiyon sonrasında H₂S' in açığa çıktığı bildirilmiştir³⁸.



Şekil 2. Sistation beta sentaz (CBS) enzimi aracılığıyla H₂S sentezi²¹

Sistein sentezi, glutatyon oluşumunda oran-kısıtlayıcı bir aşamadır. Bu yüzden, transsülfürasyon toksik homosistein ile bağlanarak koruyucu sistein ve H₂S oluşumuna neden olan bir yoldur³⁹.

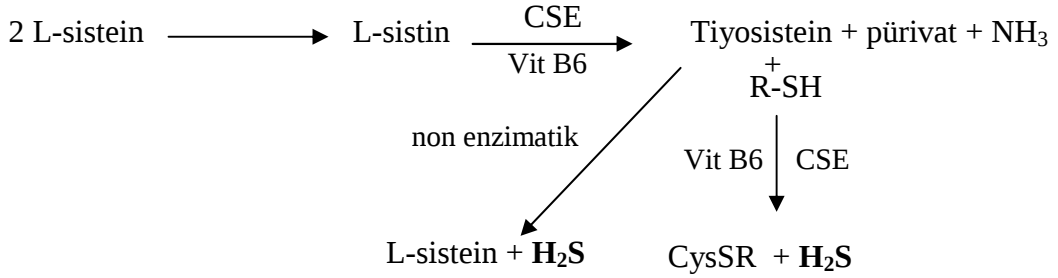
İnsanlarda bu enzimin piridoksal 5'-fosfat (PLP) ve hem olmak üzere iki farklı ko-faktörü olduğu bildirilmiştir^{40,41}. Hem komponentinin hücrel redoks sensorü olarak işlev gördüğü ve oksidatif- veya nitrozatif- stres ile oluşan hücre hasarında H₂S oluşumunu artırabildiği ileri sürülmüştür^{21,42}.

2.1.1.2. Sistation-gama-liyaz (CSE)

CSE enzimi, sistein' den H₂S, amonyak ve pürivat oluşumunu katalize etmektedir^{37,43,44}. Ayrıca, H₂S sentezinde homosistein ve sistein kombinasyonunu da kullanabilmektedir. Sistatyonin' den α,β-karbon eliminasyonu ile sistein, α-oxobutyrate ve amonyak oluşumunu katalize eder. Sistein' e-bağılı β- ve

homosistein' e-bğlı gama (γ)-reaksiyonları aracılığıyla H_2S sentezinde rol aldığı ileri sürülmüştür. Ayrıca, sistin' in β -eliminasyonu ile tiyosistein oluşumunu katalize edebilir ve tiyosistein' den non-enzimatik olarak H_2S oluşur.

Normal koşullar altında, H_2S ' in yaklaşık 70%' i sistein' inden geriye kalan 30%' u ise homosistein' den oluşturmaktadır. Ancak, homosisteinemi gibi homosistein seviyesinin yüksek olduğu koşullarda, homosistein öncelikli olarak kullanılmaktadır⁴⁵. CSE' nin ekspresyonu beyin, karaciğer, böbrek, torasik aorta, mezenterik arter, pulmoner arter, ileum, portal ven, uterus, islet hücreleri ve plasenta da gösterilmiştir^{3,8,30,46,46}. Son çalışmalarda, endotel hücrelerinde eksprese edilmiş ve endotelyum' a-bğlı gevşemelere katkıda bulunduğu bildirilmiştir^{4,48}. H_2S oluşumunda, CSE aktivasyonunun Ca^{2+} -kalmodulin ile kontrol edildiği⁴ ve yüksek konsantrasyonda Ca^{2+} (1 mM)' un gerekli olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3. Sistation gama liyaz (CSE) enzimi aracılı H_2S sentezi⁴⁹

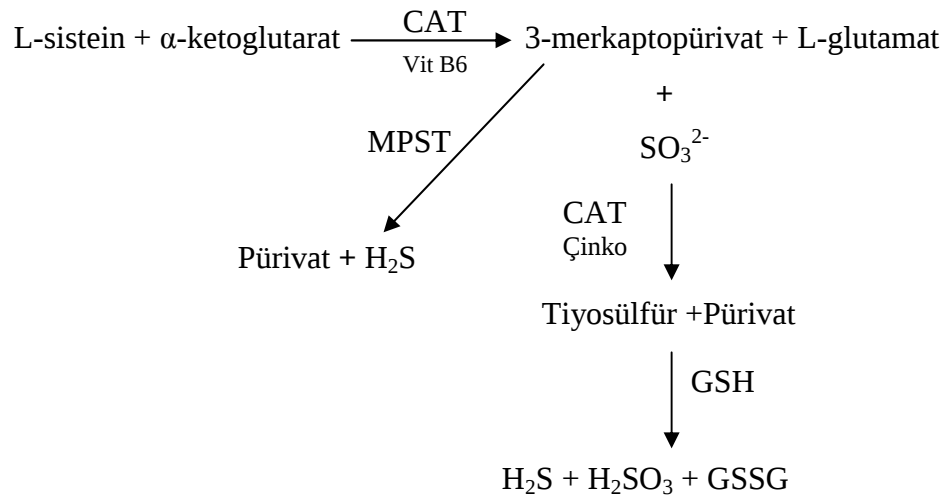
2.1.1.3. 3-Merkaptopürivat Sülfürtransferaz (3-MST)

3-MST enzimi beyin, karaciğer, böbrek, kalp, akciğer, torasik aorta, timus ve testis' de tespit edilmiştir^{5,50,51}. Sıçan torasik aortasında, 3-MST ve sistein aminotransferazın endotelyumda lokalize olduğu ve endotelyumdaki H_2S sentezine katkıda bulunduğu gösterilmiştir⁵.

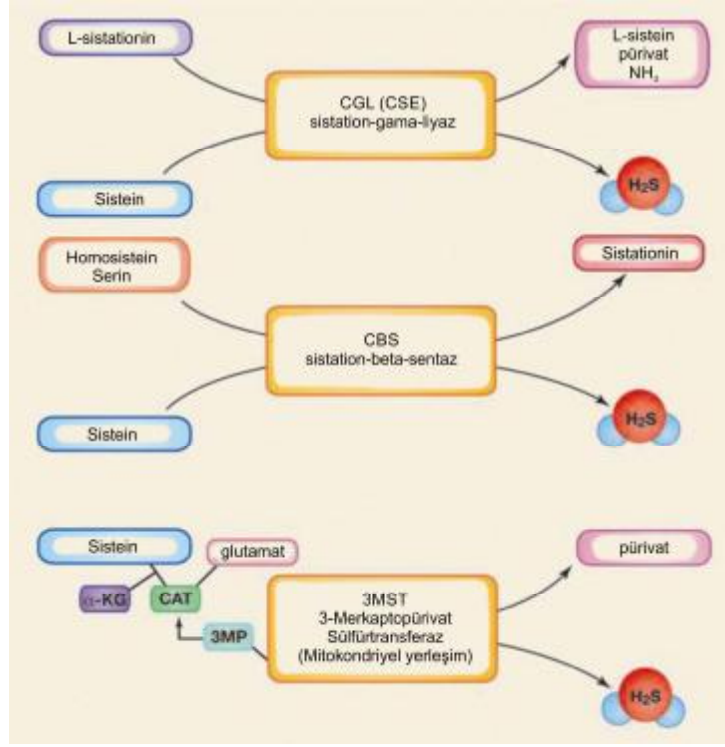
Sistein aminotransferaz enzimi, sistein ve α -ketoglutarat arasındaki reaksiyonu katalize ederek 3-merkaptopürivat (3-MP)'ı oluşturmaktadır. 3-MST enzimi ise, 3-MP' den H_2S oluşmasına neden olmaktadır. Sistein aminotransferaz,

PLP' ye-bğlı bir enzim iken, 3-MST' nin ko-faktörü çinkodur. Sistein aminotransferaz/aspartat aminotransferaz ve 3-MST, mitokondriyel ve sitoplazmik kompartmanlarda bulunmaktadır^{5,52}.

3-MST aracılığıyla H₂S sentezinde, ditiyol-tiyoredoksin ve dihidrolipoik asit' in gerekli olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, 3-MST' nin tiyosülfat' tan S oluşmasına neden olduğu gösterilmiştir⁵³.



Şekil 4. 3-Merkaptosülfürtransferaz (3-MST) ve sistein aminotransferaz (CAT) aracılığıyla H_2S sentezi



Şekil 5. Hidrojen sülfür' ün enzimatik sentezi²⁸

2.1.2. Hidrojen Sülfür' ün Metabolizması

H₂S, in vivo olarak mitokondri' de okside edilerek veya sitozol' de metilasyon aracılığıyla metabolize edilmektedir^{1,25}. H₂S, methemoglobin veya glutatyon gibi metallo- veya disülfid-içeren moleküller tarafından yakalanabilmektedir^{54,55}. H₂S mitokondri' de ~~na~~asıyla tiyosülfat, sülfid ve sülfat şekline dönüşerek hızlıca okside edilir²⁵. H₂S oksidasyonu kolon mukozası, karaciğer, akciğer, böbrek ve beyin' de gerçekleşir. İdarar' daki sülfür' ün 77-92%' si sülfat' taşınmaktadır⁵⁵.

2.2. Hidrojen Sülfür' ün Fizyolojik Etkileri

H₂S' in, santral sinir sistemi, kardiyovasküler, solunum, gastrointestinal, endokrin ve ürogenital sistemlerdeki bir çok fonksiyonu regüle ettiği gösterilmiştir⁴⁹.

2.2.1. H₂S ve Ürogenital Sistem

H₂S' in insan korpus kavernosum düz kanı regüle ettiği gösterilmiştir. İnsan penil dokusunda, CBS ve CSE enzimlerinin her ikisi eksprese edilmiş ve bu dokunun homojenatlarında H₂S sentezlendiği tespit edilmiştir. İnsan korpus kavernosum dokusunda, ekzojen H₂S ve sistein' in konsantrasyona-bağımlı gevşeme yanıtı oluşturduğu ve CBS inhibitörü varlığında sistein' in neden olduğu gevşemenin inhibe olduğu gözlenmiştir¹⁴. Sıçanlarda yapılan çalışmada, ekzojen H₂S ve sistein uygulamasının penil ereksiyonuna yol açtığı ve CSE inhibitörü varlığında sistein ile oluşan ereksiyonun önlendiği gösterilmiştir¹⁷. İnsan ve diğer memelilerdeki penil ereksiyonuna sistein/H₂S yolağının karışabileceği ileri sürülmüştür^{14,16,56}.

Sıçan mesane detrusor kasında, hidrojen sülfür' ün konsantrasyona-bağılı olarak kasılma yanıtı oluşturmuştur⁵⁷. İnsan prostatik doku ve hücrelerinde, CBS ve CSE enzimlerinin varlığı gösterilmiştir İnsan prostat stromal ve epitelyal bölümlerinde, H₂S ve CSE/CBS ekspresyon düzeylerinin farklı olduğu bulunmuştur. Bu yeni gaz transmitterin, prostatik hastalıkların tedavisinde potansiyel terapötik olabileceği ileri sürülmüştür⁵⁸.

İnsan, sıçan ve fare vas deferens dokularında, CSE ve CBS enzimleri fonksiyonel olarak eksprese edilmiştir⁵⁹. Sıçan vas deferensinde, H₂S konsantrasyona-bağılı olarak gevşeme yanıtı oluşturmuştur^{60,61}.

İnsan ve sıçan intraüterin dokularında, CBS ve CSE enzim ekspresyonları tespit edilmiştir^{30,62}. Gebe sıçan uterus preparatlarında, ekzojen L-sistein ve H₂S spontan kontraksiyonları azaltmış ve L-sistein ve H₂S' in tokolitik etkisi gösterilmiştir⁶³. Bu dokularda, H₂S' in in vitro olarak bu enzimler aradığıyla sentez edildiği belirlenmiştir³⁰. İnsan miyometrium dokusunda, doğum sırasında CBS ve CSE enzimlerinin down-regüle olduğu ve H₂S düzeyinin azaldığı bildirilmiştir. CBS ve CSE enzimlerinden endojen olarak sentezlenen H₂S' in, in vitro olarak gebe miyometriumundaki bazal tansiyonu ve spontan kasılmaları modüle ettiği gösterilmiştir. Endojen H₂S' in gebelik sırasında miyometrium' un kontraktilitesini düzenleyebileceği ileri sürülmüştür⁶². Ayrıca, H₂S' in doğum eyleminin başlamasının gecikmesinde bir terapötik ilaç olabileceği düşünülmektedir⁶⁴.

2.2.2. H₂S ve Kardiyovasküler Sistem

H₂S' in kardiyovasküler sistemde önemli bir endojen sinyal molekülü olduğu kabul edilmektedir^{49,65}. H₂S' in endojen kaynağının kardiyovasküler sistem olduğu ileri sürülmüştür. Endojen olarak sentezlenen veya ekzojen olarak uygulanan H₂S' in, vasküler veya myokardiyal hücrelerde çok geniş etki oluşturmaktadır⁶⁶.

Kardiyovasküler sistemde, H₂S' in türe, damar tipine ve konsantrasyona bağlı olarak vazokonstriktör ve vazodilatör etkilerinin olduğu ve vasküler tonusun düzenlenmesinde rol oynadığı ileri sürülmüştür^{3,67,69}. İzole sıçan mezenterik arter ve aortasında yapılan in vitro deneylerde, H₂S konsantrasyonuna bağlı olarak gevşeme yanıtı oluşmuş^{3,8,67,70} ve H₂S' in intravenöz olarak uygulanması sıçanlarda kan basıncında geçici bir azalmaya yol açmıştır⁸. Fare aortasında yapılan çalışmada, H₂S' in bu dokuda CSE enzimi aradığıyla sentezlendiği ve L-sistein-CSE-H₂S yolağının bu dokudaki bazal tonusun sürdürülmesine katkıda bulunduğu in vitro olarak gösterilmiştir⁷⁰.

Anestezi edilmiş sıçanlarda, H₂S' in karotid sinüs barorefleksini fasilite ettiği gösterilmiştir⁷¹. CSE enzimi eksik olan farelerde hipertansiyon oluşması nedeniyle, H₂S' in fizyolojik bir vazodilatör olduğu ve kan basıncını regüle edebileceği ileri sürülmüştür⁴. Ayrıca, H₂S' in vasküler düz kas hücrelerinde proliferasyonu azalttığı^{72,73}, in vitro ve in vivo olarak kalpte negatif inotropik etkiyi uyardığı gösterilmiştir⁷⁴. Ayrıca, apoptozis' in indüklenmesi, angiogenik cevaplar, şok ve inflamasyon ile ilişkili etkileri ve myokardiyal iskemi-reperfüzyon modellerinde sitoprotektif etkilerinin olduğu bildirilmiştir⁶⁶.

Yapılan çalışmalarla, H₂S' in kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. Spontan ve pulmoner hipertansiyonlu hayvan modellerinde, H₂S seviyesi ve CSE ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir^{75,76}. CSE geni silinmiş farelerin, kalp, damar ve diğer dokulardaki H₂S düzeyinin ve endotelium' a bağlı gevşeme cevabının önemli bir derecede azaldığı ve bu farelerde yaşa bağlı olarak hipertansiyon geliştiği bildirilmiştir⁴.

2.2.3. H₂S ve Solunum Sistemi Düz Kası

H₂S' in, memeli solunum sisteminde önemli bir gaz transmitter olduğu kabul edilmiştir. Akciğer ve diğer solunum yolu dokularında, CSE ve CBS enzimlerinin ekspresyonları gösterilmiştir⁷⁷. H₂S donorü olan NaHS' in, fare bronş düz kasında bronkodilatör etkisi gösterilmiş ve solunum sisteminde olası bir rolü olduğu ileri sürülmüştür⁷⁸. Endojen H₂S' in, solunum sistemindeki fizyolojik fonksiyonlar ve astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, pulmoner fibrozis ve hipoksiye bağlı pulmoner hipertansiyon gibi patolojik olaylarla ilişkili olduğu bildirilmiştir^{77,79}. Astım modeli oluşturulmuş farelerde, plazma H₂S seviyesi ve akciğer dokusunda CSE/CBS enzim ekspresyonlarının azalmış olduğu gösterilmiştir⁷⁹. Astımın gelişmesinde, CSE/ H₂S sisteminin önemli bir koruyucu rolü olduğu bildirilmiştir⁸⁰.

2.2.4. H₂S ve Gastrointestinal Sistem

Gastrointestinal yapıda, CBS ve CSE enzimlerinin var eksprese edilmiştir. Sıçan kolon düz kasında CBS ve CSE enzimleri immünohistokimyasal olarak tespit edilmiş ve H₂S' in endojen olarak sentezlendiği gösterilmiştir^{81,82}. CSE enziminin varlığı, fare ve kobay myenterik plexus sinirlerinde ve insan ve kobay submukozal plexusunda immünoreaktif olarak gösterilmiştir^{83,84}. CBS enzimine ise, insan submukoza plexusunda ve kobay myenterik ve submukozal plexusunda bulunduğu belirlenmiştir⁸³. Rodent kolonunda, H₂S sentezinde öncelikli olarak CBS enziminin sorumlu olduğu ileri sürülmüştür⁸⁵. Ayrıca, fare kolonundaki myenterik sinirler ve eksternal kas tabakasında CBS immünoreaktif olarak gözlenmemiştir⁸⁴. İnsan kolonunda, H₂S' in kolonik sekresyona neden olduğu gösterilmiştir⁸⁶. Kobay ve insan kolonunda, ekzojen H₂S uygulamasının klor sekresyonunu stimüle etmiştir⁸³. İnsan ve kobay kolonunda, H₂S donorü NaHS tetrodotoxin' e duyarlı sinirsel bir mekanizma aracılığıyla prosekretatör etki oluşturmuştur^{83,86}.

H₂S donorü olan NaHS, farklı türlere ait mide fundus, ileum ve distal kolon preparatlarında konsantrasyona-bağılı olarak gevşeme yanıtının oluşmasına neden olmuştur^{3,9,11,60}. Ayrıca, NaHS' in izole fare, jejunum ve kolon preparatlarında spontan motor kompleksi, insan ve sıçan kolon preparatlarında spontan motiliteyi

konsantrasyona-bağımlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir⁸⁷. H₂S' in gastrointestinal yapının çeşitli dokularında düz kası gevşeterek ve peristaltizmi inhibe ederek motiliteyi regüle ettiği ileri sürülmüştür^{60,82,87}. Sıçan kolonunda, gastrointestinal yapıdaki inhibitör üçüncü bir sinyal molekülü olabileceği düşünülmüştür⁸². Ayrıca, H₂S' in gastrik mukozadaki kan akımını artırdığı flow-metrik ölçümler ile gösterilmiştir²⁷.

2.2.5. H₂S ve Santral Sinir Sistemi

Abe ve Kimura² tarafından, sıçan hipokampusu ve serebellumun' da CBS enziminin ekspresyonu ve in vitro olarak da beyin dokusunda H₂S' in sentezlendiği gösterilmiş ve beyinde bir nöromodülatör fonksiyonu olduğu ileri sürülmüştür. CSE enzimi ise mikroglia hücrelerde⁸⁸ ve spinal kord' ta⁸⁹ ekspre edilmiştir. Son olarak, CBS enzimi olmayan (CBS -/-) farelerin beyin H₂S düzeyinin, 3-MST enzimi aracılığıyla sağlandığı ve bu enzimin nöronlarda lokalize olduğu belirlenmiştir⁵¹. H₂S' in fizyolojik konsantrasyonlarda hipokampusteki uzun dönem potansiyalizasyonu fasilete ettiği ve yüksek konsantrasyonlarda ise sinaptik cevapları inhibe ettiği bildirilmiştir². Ayrıca, beyin hücrelerinde sAMP düzeyini artırmaları sonucunda NMDA reseptörlerini modüle ettikleri ve uzun süreli potansiyalizasyonu indükledikleri ileri sürülmüştür⁹⁰. H₂S' in, fizyolojik koşullarda santral sinir sistemindeki nöron ve glialarda nöroprotektif etkisi ile hücrenin sağkalımını sağladığı düşünülmektedir. Ancak, H₂S' in suprafizyolojik düzeyleri doku hasarına neden olabilmektedir⁹¹.

2.3. Hidrojen Sülfür' ün Etki Mekanizmalar

2.3.1. Endotelyum

Sıçan aorta ve mezenterik arter preparatlarında yapılan çalışmalarda, endotelyum tabakasının uzaklaştırılması H₂S ile oluşan gevşemeleri azaltmasına neden olmuştur. Endotelyum' un, ekzojen H₂S ile oluşan vazorelaksan etkiyi az da

olsa potansiyalize ettiği gösterilmiştir⁸. Bu nedenle H₂S' in vasküler dokuda neden olduğu gevşemelerin, kısmen endotel tabakası ve bu tabakadan endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF) veya NO salıverilmesi ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür⁶⁹. Bucci ve ark.ları⁹², sıçan aortasında endojen H₂S sentezinin inhibisyonunun endotelyuma-bağlı ve endotelyum' dan bağımsız gevşemeleri azalttığını göstermişlerdir. Bu bulgulara karşılık, izole fare torasik aortasında H₂S ile oluşan vazorelaksasyonun endotelyumdan bağımsız olduğu³ ve H₂S' in endotel' den salıverilen mediyatörlerden ziyade direkt olarak kanallar üzerinden etkisini oluşturduğu bildirilmiştir⁷⁰. H₂S' in damar dokusunda neden olduğu vazorelaksan etkinin, NO ve CO' dan farklı olarak önemli bir kısmının düz kas üzerindeki direkt etkisine ve daha az olarak endotelyuma-bağlı olduğu ileri sürülmüştür⁸. H₂S' in neden olduğu vazorelaksasyonun sıçan aortasında⁸ endotelyum' dan bağımsız bir yanıt olmasına rağmen sıçan mezenterik arterinde endotelyuma ve endotelyum' un damar yataklarındaki rolüne bağlı olduğu düşünülmektedir⁶⁷. İnsan, sığır ve fare endotel hücrelerinde, H₂S sentezinden sorumlu enzimlerden biri olan CSE' nin düz kas dışında endotelyumda da ekspresyonu gösterilmiş ve bundan dolayı H₂S' in endotelyumda da sentezlenip salıverildiği ve endotelyumdan salıverilen relaksan faktörlerden biri olduğu ileri sürülmüştür⁴. Ayrıca, H₂S sentezinden sorumlu diğer enzimler olan, 3-MST' nin hem endotel hem de düz kasta, sistein aminotransferazın ise sadece endotel tabakasında lokalize oldukları belirlenmiştir. Sıçan endotelyum dokusunda, H₂S sentezinden sorumlu esas enzimlerin 3-MST ve sistein aminotransferaz olduğu bildirilmiştir⁵.

2.3.2. Nitrik Oksid/Siklik Guanozin Monofosfat Yolu

Hosoki ve ark.³, düşük konsantrasyonda H₂S varlığında NO' nun vazodilatör etkisinin arttığını göstermiş ve düz kas tonusunun H₂S ile NO arasındaki bu sinerjizma ile regüle edilebileceğini ileri sürmüşlerdir. H₂S' in vasküler yapıdaki gevşetici etkisi, NOS inhibitörleri tarafından azaltılmış ve H₂S gevşemelerinde NO' nun kısmen katkısının olduğu ileri sürülmüştür⁸. H₂S ile oluşan vazodilatasyonun endotelyumun uzaklaştırılması veya NOS inhibitörleri varlığında anlamlı bir derecede azalmasının

bu gevşemelerin endotel hücrelerinden NO veya endotel kaynaklı gevşetici faktörler (EDRF)' in salınması ile oluştuğunu düşündürmüştür⁶⁹. Kronik NOS inhibitörü uygulanan sıçanlara ait torasik aorta dokusunda, H₂S seviyesi ve CSE enzim ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir⁹³. Bu bulgular ışığında, NO' nun kardiyovasküler sistemde H₂S oluşumunu regüle ettiği ileri sürülmektedir. Ayrıca, interleukin 1 beta (IL 1 β) ile stimüle edilmiş sıçan vasküler düz kas hücrelerinde H₂S' in indüklenabilir NOS (iNOS, NOS II) ekspresyonu ve NO sentezini artırdığı belirlenmiştir⁹⁴. Bovin aorta endotel hücre kültüründe, H₂S' in Ca²⁺ a-bağı olarak eNOS' u aktive ederek NO sentezine neden olduğu gösterilmiştir⁹⁵. Bu çalışmalardan farklı olarak, Geng ve ark.⁹⁶, H₂S' in vasküler dokuda L-arjinin/NOS/NO yolunu in vivo ve in vitro olarak down-regüle ettiğini ve direkt olarak eNOS' u inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

H₂S' in baz koşullar altında, NO donörlerinin vazorelaksan yanıtlarını azalttığı gösterilmiş ve bu inhibisyonun NO ve H₂S arasındaki direkt bir reaksiyon sonucunda nitrozotiyol-benzeri bir molekül oluşması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir⁹⁷. Ali ve ark.⁹⁸, düşük konsantrasyonlardaki H₂S' in NO' nun vazodilatör etkisini baskılamasının, NO ve H₂S arasındaki kimyasal reaksiyon sonucunda yeni bir nitrozotiyol molekülün oluşmasından kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca, sıçan ve fare aortasında düşük konsantrasyonda NaHS varlığında fenilefrin ve potasyum klorür (KCl) kasılmalarında artış gözlenmiş ve NaHS sıgır rekombinat eNOS aktivitesini direkt olarak inhibe etmiştir. Bu nedenle, H₂S' in eNOS' un direkt inhibisyonu ve NO' yu yakalamas olmak üzere iki farklı mekanizma ile NO' nun vazodilatör etkisini baskıladığı ve bunun sonucunda da kasılma yanıtlarında artışa neden olduğu ileri sürülmüştür⁹⁹. NaHS/H₂S' in üç rekombinat NOS izoformununun aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiş ve nöronal NOS (nNOS) ve eNOS aktivitelerinin inhibisyonuna tetrahidrobiopterin (BH₄) ile NaHS/H₂S arasında etkileşimin neden olabileceği belirlenmiştir¹⁰⁰. İnsan meme arter preparatında, normal serum düzeyinden düşük konsantrasyonda H₂S donörü NaHS ile kontraksiyon oluştuğu gözlenmiştir. Bu kontraksiyonların asetilkolin varlığında arttığı ve bu yanıtın NO ile H₂S arasındaki direkt etkileşim sonucunda bir nitrozotiyol türevi oluşması ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Ayrıca, yüksek

konsantrasyonlarda NaHS' ün eNOS' u inhibe ettiğini belirlenmiştir¹⁰. Sıçan aortasında NOS inhibitörü varlığında veya endotelyumun uzaklaştırılmasıyla H₂S' in vazokonstriktör etkisinin tamamen ortadan kalkmaması nedeniyle bu vazokonstriktör yanıtın endotelden bağımsız bir mekanizma ile gerçekleştiği düşünülmüştür¹⁰¹. Ayrıca, H₂S' in ekzojen olarak uygulanmasıyla sıçan torasik aorta dokusunda sGMP düzeyinin zamana ve konsantrasyona bağlı olarak arttığı gösterilmiştir. Ayrıca, CSE enziminin inhibe edilmesiyle doku veya hücrelerdeki sGMP düzeyinin azaldığı belirlenmiştir⁹².

2.3.3. Adenilil Siklaz/ Siklik Adenozin Monofosfat Yolağı

H₂S donorü olan NaHS' in, serebral korteks, serebellum sinir hücreleri ve diğer hücrelerinde konsantrasyona-bağımlı olarak sAMP oluşumunu artırdığı gösterilmiştir⁹⁰. Buna karşılık, Miyosit hücrelerinde, H₂S' in adenilil siklaz aktivitesini inhibe ederek β-adrenerjik fonksiyonu negatif yönde düzenleyebileceği ileri sürülmüştür¹⁰². Sıçan aortasında yapılan çalışmada, düşük konsantrasyonda H₂S' in β-adrenoseptör aracılı gevşeme yanıtlarını geri çevirdiği gözlenmiştir. H₂S' in vasküler yapıda, β-adrenoseptörlerin fonksiyonunu modüle edebilecekleri ileri sürülmüştür. Benzer olarak, düşük konsantrasyondaki H₂S' in adenilil siklaz aktivatörünün neden olduğu vazorelaksan yanıtı ve sAMP oluşumunu inhibe ettiği belirlenmiştir. Bu dokuda, H₂S ile oluşan vazokonstriktör etkinin kısmen azalan sAMP düzeyi ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. H₂S' in beyin ve kardiyovasküler sistemde sAMP üzerindeki etkilerinin farklı enzim izotiplerini etkilemelerinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür¹⁰¹. Tavşan korpus kavernosum dokusunda, adenilil siklaz inhibitörü olan MDL 12,330A tarafından H₂S gevşetici etkisinde azalma oluşmuş ve bu dokuda H₂S' in proerektel etkisinde sAMP yolğunun katkısının olabileceği ileri sürülmüştür¹⁶.

2.3.4. Potasyum Kanalları

Sıçan mezenterik arter⁶⁷ ve torasik aortasında⁸ H₂S ile oluşan gevşeme yanıtları, K_{ATP} kanal inhibitörü olan glibenklamid tarafından kısmen inhibe edilmiştir. İn vivo H₂S uygulamasının neden olduğu hipotansif etkinin de K_{ATP} kanal inhibitörü varlığında ortadan kalktığı bildirilmiştir⁸. Ayrıca, H₂S sıçanlarda intrahepatik rezistansı azaltmış ve bu etkisi glibenklamid ile antagonize edilmiştir. Bu bulgu sonucunda, H₂S' in hepatik mikrosirkülasyondaki rezistans damarlarda K_{ATP} kanalları üzerinden gevşemeye neden olduğu düşünülmüştür¹⁰³. Anestezi edilmiş sıçanlarda, H₂S ile oluşan karotid sinüs barorefleksi glibenklamid varlığında engellenmiştir⁷¹. Sıçan aorta ve mezenterik arter düz kaslarında, ekzojen H₂S' in K_{ATP} kanalları aktive ederek, hücre membranında hiperpolarizasyona neden olduğu patch-clamp tekniği ile gösterilmiştir⁸. Tang ve ark.¹⁰⁴, tarafından sıçan mezenterik arter düz kas hücrelerinde ekzojen ve endojen H₂S' in vasküler düz kas hücrelerindeki K_{ATP} kanal aktivitesini modüle ettiği bildirilmiştir. K_{ATP} kanal inhibitörlerinin, H₂S' in myokard infarktüsüne karşı kardiyoprotektif etkisini ortadan kaldırdığı gösterilmiştir¹⁰⁵. H₂S' in vasküler düz kasta membran reseptörlerinden bağımsız olarak K_{ATP} kanallarını direkt olarak etkilediği ileri sürülmüştür⁸. Kardiyovasküler sistemdeki, H₂S ile oluşan gevşemelerin kısmen K_{ATP} kanalları^{8,10,67,104} ve kısmen de küçük kondüktans kalsiyumla aktive edilen potasyum (SK_{Ca}²⁺) ve orta-kondüktans kalsiyumla aktive edilen potasyum (IK_{Ca}²⁺) kanallarının⁶⁷ aktivasyonu üzerinden gerçekleştiği belirlenmiştir. Sıçan gastrik arterinde de, H₂S donörü NaHS ile oluşan gevşemelerin K_{ATP} kanallarına kısmen bağımlı olarak gerçekleştiği bildirilmiştir¹⁰⁶. HEK-293 hücrelerinde, H₂S' in K_{ATP} kanallarını rvSUR1 protein alt birimini modifiye ederek direkt olarak etkilediği patch-clamp tekniği ile gösterilmiştir¹⁰⁷. Ancak, sıçan koroner arterinde H₂S ile oluşan gevşeme yanıtlarının K_{ATP}' den-bağımsız ve kısmen voltaja-bağımlı K⁺ (K_v) kanalları ile ilişkili olduğu, Na⁺-K⁺ pompası ve endotel' e bağlı relaksan faktörün de az miktarda rolü olduğu bildirilmiştir¹⁰⁸. Ancak, sıçan torasik aorta preparatlarında K_v kanallarının bu gevşemelerde rolünün olmadığı gösterilmiştir. Sıçan aortasında, H₂S' in gevşetici etkisinden K_{ATP} kanallarının yanı sıra K_v7.4 kanallarının da sorumlu olduğu düşünülmüştür¹⁰⁹. Hipofiz tümör hücrelerinde, H₂S' in yüksek kondüktanslı Ca²⁺ ile aktive edilen K⁺ kanal (BK_{Ca}²⁺)

aktivitesini artırdığını ve bu etkinin kanal proteinlerinin sülfidril grupları üzerinden oluşabileceği ileri sürülmüştür¹¹⁰. İnsan karotid arter hücrelerinde ise, H₂S donörü olan NaHS' in BK_{Ca}²⁺ kanal aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir¹¹¹. Domuz bronşiollelerinde, H₂S' in gevşetici etkisinin de K⁺ kanal aktivitesine bağlı olabileceği gösterilmiştir⁷. Ancak, sıçan trake dokusunda NaHS gevşemeleri glibenklamid tarafından etkilenmemiştir¹¹².

2.3.5. Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EDHF)

H₂S ile mezenterik arter yatağında oluşan vazodilatasyonun, EDHF' ye benzer olarak NOS ve Siklooksijenaz (COX)' dan bağımsız olduğu, ancak K_{Ca}²⁺ ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Sıçan Mezenterik arterinde yüksek konsantrasyonlarda ekzojen H₂S ile oluşan gevşemelerin Araşidonik asid kaskadındaki sitokrom P450 metabolitleri ile ilişkili olduğu belirlenmiş ve H₂S' in EDHF salınımına neden olduğu ileri sürülmüştür^{48,113}. Fare aorta ve mezenterik arter preparatlarında, H₂S' in K_{ATP}, SK_{Ca}²⁺ ve IK_{Ca}²⁺ kanallarının sülfidasyonu üzerinden hiperpolarizasyona ve vazodilatasyona neden olan esas bir EDHF olduğu bildirilmiştir¹¹⁴.

2.3.6. Kolinerjik Sistem

Endotel hücre kültüründe, H₂S düzeyi kolinerjik agonist metakolin ve asetilkolin ile artmıştır ve bu artış atropin ile ortadan kalkmıştır. Ayrıca, CSE geni silinmiş farelerde, asetilkolin ile oluşan endotel' e bağlı gevşeme cevabı anlamlı olarak azalmıştır. Kalsiyum iyonoforu A23187 varlığında, endotelyal H₂S oluşumu anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir. CSE enziminin silinmesiyle metakolin ve A23187' in, endotel hücrelerindeki H₂S düzeyinde neden oldukları artış anlamlı olarak azalmıştır. A23187' nin endotel hücrelerde H₂S sentezi üzerindeki bu artırıcı etkisi, intrasellüler kalsiyumun şelasyonu ile ortadan kalkmıştır⁴. Bu bulgulara benzer olarak sıçan aorta preparatında CSE enziminin inhibe edilmesi asetilkolin ile oluşan gevşeme yanıtlarında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir⁹².

2.4. Penil Eretil Doku

Penis, ikisi lateralde olan korpora kavernoza ile birisi ortada yer alan korpus spongiosum isimli vasküler sinusoidlerden ibarettir. Her bir erektıl yapı özel bir bağ dokusu olan tunica albuginea ile sarılıdır. Bir çift vasküler erektıl doku olan korpus kavernoza, ramus ischiopubica boyunca yerleşmişlerdir ve her biri radix penis oluştururlar¹¹⁵. Erektıl doku geniş kavernoza sinusoidlerinden ibarettir. Bu sinusoidler normalde boştur. Ancak, arteriyal kan, ereksiyon anında venöz damarların kısmen kapalı olması nedeniyle büyük bir basınç ve hızla sinusoidlere dolar. Ayrıca, erektıl cisimcikler, özellikle korpora kavernoza güçlü bir fibröz örtü ile kaplıdır¹¹⁶.

Penil ereksiyon, somatik yolların periferik ve santral aktivasyonu ile tetiklenebilen oldukça koordineli bir refleksdir. Erektıl fonksiyon kavernoza düz kas ve kan damarlarında sempatik, parasempatik ve nitroerjik sinirler arasındaki dengeye bağlıdır^{13,117}. İnsan penisinde erektıl doku, korpora kavernoza ve düz kas demetini saran sinusoidal boşluğu çevreleyen endotelyumdan oluşmaktadır. Korpus kavernosum düz kasının gevşemesi penil ereksiyonunun başlaması ve devam etmesi için önemlidir. Korpus kavernosum düz kasının tonusu sinirler ve endotelyum tarafından kontrol edilmektedir¹¹⁸. Kavernoza ve arter düz kasının gevşemesi, kanın korpora kavernoza'daki sinusoidal boşluklara geçmesine ve intrakavernoza basıncın artmasına ve buna bağlı olarak da penil ereksiyonuna neden olur¹³. Bu düz kasın gevşemesine yol açan mekanizmanın bozulması ise impotense neden olur¹¹⁹.

2.4.1. Penil Eretil Dokunun Periferik İnnervasyonu

Korpus kavernosum düz kas tonusu, adrenerjik, kolinerjik ve non-adrenerjik non-kolinerjik (NANK) olmak üzere en az üç nöroefektör sistem ve endotelyumdan salınan gevşetici ve kasıcı faktörler tarafından kontrol edilmektedir¹²⁰.

2.4.1.1. Parasempatik Aktivasyon

Penil düz kas pelvik parasempatik sinirler tarafından kontrol edilmektedir. Pregangliyonik otonom sinir liflerinin tümünün ve postgangliyonik parasempatik

sinirlerin çoğunun nörotransmiteri asetilkolindir. İnsan korpus kavernosumunda, kolinesteraz içeren kolinerjik sinirlerin¹²¹, muskarinik reseptörlerin bulunduğu¹²² ve bu sinirlerden asetilkolinin sentez edilip salıverildiği gösterilmiştir¹²³. Penil ereksiyonu, penil arteriyel dilatasyona neden olan pelvik parasempatik sinirlerin aktivasyonu ile başlamaktadır.

Asetilkolin, kolinerjik sinir uçlarında kolin' in enzimatik asetilasyonu suretiyle sentez edilir¹²⁴. Bu olayı katalize eden enzim kolin asetiltransferaz enzimidir. Asetil kaynağı, sinir ucundaki mitokondrilerde sentez edilen asetilkoenzim A' dır. Kolin, sinir ucuna sinaps veya kavşak aralığında bulunan transportör molekülleri tarafından aktif transport suretiyle alınır. Sinirlerden salıverilen asetilkolin' in etkisine korpus kavernosum düz kası, sinüsoidlerdeki endotelyum ve damarlarda bulunan muskarinik tipteki kolinerjik reseptörler aracılık ederler. İnsan korpus kavernosum dokusunda, dört muskarinik reseptör alt tipinin (M₁-M₄) bulunduğu gösterilmiş ve bunlardan M₂ alt tipinin düz kasta, M₃ alt tipinin ise endotelyumda yerleştiği saptanmıştır¹²⁵. Asetilkolin ile oluşan gevşemelerin, noradrenalin gibi kasıcı bir faktörün inhibisyonuna ve NO gibi gevşeme oluşturan bir faktörün salınımına bağlı olduğu bilinmektedir. Adrenerjik sinir uçlarında inhibitör presinaptik muskarinik reseptörler yerleşim göstermektedir; parasempatik sinirlerin aktivasyonu, adrenerjik sinir terminallerindeki muskarinik reseptörlerin stimülasyonu ile noradrenalin salınımını inhibe ederek¹²⁶ ve ayrıca endotelyumdan ve sinirlerden NO ve diğer vazodilatör peptidlerin salınmasını sağlayarak ereksiyon ve penil tımesansını oluşturur¹³. Tavşan korpus kavernosum dokusunda, nöronal nikotinik reseptörlerin varlığı tespit edilmiştir. Bu dokuda elektriksel uyarı ile oluşan gevşemelerin nikotin ile potansiyalizasyonunda, nitreerjik sinirlerde bulunan nikotinik reseptörlerin aktivasyonu sonucu bu sinirlerden NO salınımının uyarıldığı gösterilmiştir¹²⁷.

2.4.1.2. Sempatik Aktivasyon

Trabeküler korpus kavernosum düz kası, penil arter ve venleri adrenerjik innervasyon bakımından zengindir. Korpus kavernosum düz kasının kasılması sempatik sinirler aracılığıdır¹²⁸. Adrenerjik sinirlerden salınan noradrenalin penil

damar ağındaki α -adrenerjik reseptörleri stimüle ederek damarların ve korpus kavernosumun kasılmasına neden olur¹²⁹. İnsan korpus kavernosumunda Noradrenalin hem α hem de β adrenerjik reseptörleri aktive eder; ancak radyoligand bağlama yöntemi ile yapılan çalışmalar insan korpus kavernosum dokusunda α -adrenerjik reseptörlerin β -adrenerjik reseptörlere oranla 10 kat daha fazla bulunduğunu göstermiştir¹³⁰. İnsan korpus kavernosumunda α_1 - ve α_2 -adrenerjik reseptörler bulunmaktadır^{131,132} fakat α_1 -adrenerjik reseptörler fonksiyonel olarak daha baskındır. Traish ve ark.¹³² insan korpus kavernosumunda α_{1A} , α_{1B} ve α_{1D} reseptör alt tiplerinin varlığını tespit etmişler ve noradrenalin ile oluşan kasılmalara bu üç reseptör alt tipinin aracılık ettiğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca postsinaptik α_2 -adrenerjik reseptörlerinin alt tipleri (α_{2A} , α_{2B} ve α_{2C}) insan korpus kavernosumunda tespit edilmiş; ancak bu reseptörlerin kaverno düz kas tonusun düzenlenmesindeki rolü henüz aydınlatılamamıştır¹³³. Noradrenalin ile oluşan kasılmanın mekanizması, L-tipi voltaj' a bağlı veya 2-Aminoborat' a duyarlı reseptörle-kenetli Ca^{2+} kanalları ve Rho-kinaz, Trozin kinaz veya Protein Kinaz C (PKC) aracılı Ca^{2+} sensitizasyonu ile ilişkilidir^{129,134,135}. Ayrıca, noradrenalin' in kontraktıl etkisine presinaptik uçta α_2 -reseptörlerin stimülasyonu sonucu vazodilatörlerin salınmasını inhibe etmesi de aracılık etmektedir¹²⁹. İnsan korpus kavernosumunda presinaptik α_2 -adrenerjik reseptörlerin stimülasyonu sonucu adrenerjik sinir ucundan noradrenalin sentezinin inhibe olduğu gösterilmiştir¹³⁶. Becker ve ark.¹³⁷ insan penil ereksiyonuna kavernoza kanda noradrenalin düzeyinin anlamlı olarak azalması ve adrenalin' in artmasının eşlik ettiği bulunmuştur .

2.4.1.3. Non-Adrenerjik Non-Kolinerjik İnnervasyon

2.4.1.3.1. Nitrik Oksid

Serbest radikal gaz özelliğinde olan NO, çevre kirleticisi ve toksik madde olarak biliniyordu; fakat son yıllarda fizyolojik olaylarda endojen hücre-sinyal molekülü olarak çok önemli rol oynadığı bulunmuştur. İlk olarak 1980' de Furchgott ve Zawadzki¹³⁸ tarafından asetilkolinin etkisi altında tavşan aortası endotel

hücrelerinden salıverildiği gösterilen NO, çok labil bir vazodilatör otakoiddir. Daha sonra insan dahil, çeşitli memeli türlerinde çeşitli kimyasal ve fiziksel etkenlerin endotelyumdan EDRF salıverdikleri¹³⁹ ve EDRF ile NO' nun aynı madde olduğu bulunmuştur^{140,141}.

NO, NOS enziminin katalizlediği bir reaksiyon ile L-argininden sentez edilir¹⁴². NOS sitosolik bir enzim olup flavoprotein yapısındadır; bu enzimin kofaktörleri nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN), BH₄, hem ve kalm modulindir. NOS' un, yapısal nöronal NOS (nNOS veya NOSI), indüklenabilir NOS (iNOS veya NOSII) ve yapısal endotelyal NOS (eNOS veya NOS III) olmak üzere üç farklı izoformu vardır¹⁴³. nNOS ve eNOS Ca²⁺ ve kalm modulün bağımlı¹⁴⁴ yapısal nitelikte izoformlardır; selektif agonist ile reseptör stimülasyonuna veya sinir ucunun depolarizasyonuna bağlı olarak NO' yu fentomolar (10⁻⁵ M) veya pikomolar (10⁻¹² M) konsantrasyonlarda salıverirler. Sinir ucunun depolarizasyonu sonucu hücre içerisine giren Ca²⁺, kalm modulün ile birleştikten sonra NOS' u aktive ederek, NO sentez ve salıverilmesini artırır. Makrofajlarda oluşan ve sitokinler ve endotoksin tarafından sentezi artırılan iNOS Ca²⁺ ve kalm modulün-bağımlı değildir¹⁴⁵. iNOS indüklenmesinden birkaç saat sonra nanomolar (10⁻⁹ M) konsantrasyonlarda proinflatuvar NO salıverir ve bu uzun süreli devam edebilir.

NO, biyolojik etkilerini sGMP' e bağımlı ve sGMP' den bağımsız mekanizmalar olmak üzere temel olarak iki mekanizma ile gösterir¹⁴⁵. NO, düz kas hücreesindeki çözünür guanilil siklaz (çGS) enziminin hem molekülünde bulunan demir (Fe⁺²) atomuna bağlanarak molekülün üç boyutlu konfigürasyonunu değiştirmek suretiyle enzimin aktif hale gelmesini sağlar^{146, 147}. Aktifleşen enzim guanozin trifosfattan sGMP yapımını artırır; sGMP, tip I çözünür sGMP-bağımlı protein kinaz G' ye (PKG) bağlanarak hücre içi etkilerini oluşturur. Aktive olmuş PKG, hücre içi Ca²⁺ konsantrasyonunu veya kontraktil sistemin Ca²⁺ a duyarlılığını azaltarak düz kas gevşemesine neden olur¹⁴⁸.

NO' nun, erektil fonksiyonun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir^{13,149,150}. Korpus kavernosumda nitrejik sinirlerden ve sinusoidal endotelyumdan salınan NO proerektil nörotransmitterdir ve kaverno düz kasında

gevşeme yapmaktadır. Yapılan çalışmalarda NANK sinirlerden salıverilen NO' nun ereksiyona aracılık eden en önemli gevşetici endojen mediyatör olduğu gösterilmiştir^{13, 151}. NO, hem sinir hem de endotelyuma bağımlı gevşemelere aracılık etmektedir. Nörojenik NO, korpus kavernosum ve penil damarlarında gevşemeden sorumlu en önemli faktördür. Ancak, ereksiyonun sürdürülmesinden endotelyum kaynaklı NO' nun sorumlu olduğu ileri sürülmektedir¹⁵². Son yıllarda yapılan araştırmalarda korpus kavernosumu innerve eden penil nöronlarında nNOS¹⁴⁸, kaverno düz kası ve endotelyumunda ise eNOS' un eksprese edildiği gösterilmiştir¹³⁹. Yapılan araştırmalarda, nNOS geni “ silinmiş ” farelerde ereksiyon gözlenmesi^{153,154} ve aynı farelerde nNOS' un mRNA ekspresyonunun gösterilmesi¹⁵⁵, farelerde ve sıçanlarda nNOS' un penil nNOS olarak farklı bir isoformunun olabileceğini düşündürmektedir^{156,157,158}. Ayrıca, sitokinlere maruz kalındığında veya patofizyolojik durumların upregülasyonunda eksprese edildiği kabul edilen iNOS izoformunun penil kaverno düz kasında yapısal olarak eksprese edildiği bulunmuştur^{159,160,161,162} fakat iNOS' un erektile fonksiyondaki önemi henüz aydınlatılamamıştır.

NO erektile fonksiyondaki etkisini guanilil siklaz -sGMP sinyal transdükleme sistemini aktive ederek oluşturmaktadır¹⁶³. NO, kaverno düz kasta GS' yi aktive ederek ve sGMP düzeylerini artırarak vazodilatasyon yapmaktadır^{149,150}. Erektile fonksiyonun NO-sGMP sistemi tarafından modülasyonu, NO-aracılıklı korpus kavernosum gevşemelerinin NOS inhibitörü L-NAME ve GS inhibitörü 1H-[1,2,4]oksadiazol[4,3]kuinoksalin-1 (ODQ) tarafından inhibe olması^{164,165}; ayrıca sildenafil, verdanafil gibi fosfodiesteraz inhibitörlerin sGMP aracılıklı gevşeme cevaplarını artırmasıyla desteklenmektedir^{166,167}. Hemen hemen bütün hücre tiplerinde GS' nin çözünür ve membrana bağlı izoformları eksprese edilmiştir¹⁶⁸. Genel olarak intraselüler sGMP konsantrasyonu sadece çözünür GS değil aynı zamanda sGMP' i 5sGMP' e hidroliz eden sGMP-fosfodiesteraz enzimi tarafından da regüle edilmektedir. . Ancak, çGS peniste NO için en önemli sinyal molekülüdür¹⁶⁹. Memelilerde iki farklı sGMP-bağımlı protein kinaz (sGK I ve II) belirlenmiştir^{170,171}. Fare korpus kavernosum düz kasında, sGMP-bağımlı protein kinaz I ' in erektile fonksiyonda öneminin büyük olduğu gösterilmiştir¹⁶³.

2.4.1.3.2. Vazoaktif İntestinal Polipeptid (VIP)

İnsan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda, penil damar yapısında ve korpus kavernosum trabeküler düz kasında vazoaktif intestinal polipeptid (VIP) içeren sinirlerin bulunduğu ve NOS ve VIP' in birlikte lokalize olduğu gösterilmiştir^{172,173}. Bu sinirlerin çoğunun kolinerjik sinirler için spesifik marker olan veziküler asetilkolin transporter'ı içermesi nedeniyle NO ve VIP içeren sinirlerin çoğunun kolinerjik olduğu düşünülmektedir^{174,175}. VIP korpus kavernosum dokusundaki etkisini VIP reseptörleri (tip 1 ve 2) ve sAMP' ye bağımlı sinyal transdükleme kaskadı aracılığı ile oluşturmaktadır¹⁷⁶. VIP reseptörlerinin stimülasyonu sonucunda stimülatör tipteki G-proteinleri tarafından aktive edilen adenilil siklaz, sAMP artışına ve bunun sonucunda sAMP' ye bağımlı protein kinazın aktivasyonuna neden olur; bu protein kinazın aktivasyonu kaverno düz kasında gevşeme yapar. VIP' in peniste transmitter veya modülatör olarak rolü kesin olarak ortaya konulamamıştır.

2.4.1.3.3. Adenozin trifosfat (ATP)

ATP ve diğer purinlerin izole tavşan korpus kavernosumunda, hem bazal hemde fenilefrin ile stimüle edilmiş tonusu azalttığı gösterilmiştir; bu dokuda ATP' nin NANK bir transmitter olduğu ve purinerjik transmisyonunun, penil ereksiyonunun başlaması ile sürdürülmesinde önemli bir komponent olabileceği ileri sürülmüştür^{177,178}. Ancak, purinlerin kaverno düz kasında elektriksel uyarı ile oluşan cevapları etkilememesi bu maddelerin, nörotransmitter olarak davranmadıklarını sadece ereksiyonun modülasyonunda rol oynayabileceklerini göstermektedir¹⁷⁸. Köpeklerde ATP' nin intrakavernozaal olarak uygulanması kavernozaal içi basıncın artmasına ve ereksiyonun oluşmasına yol açmıştır¹⁷⁹. Adenozin' in köpeklerde intrakavernozaal olarak uygulanması, ereksiyona neden olmuş ve atropin veya heksametonyum uygulaması bu etkiyi değiştirmemiştir. Adenozin' in penil ereksiyonunda önemli nöromodülatör rolü olduğu ileri sürülmüştür^{180,181,182,183}.

İnsan korpus kavernosum şeritlerinde P2Y purinoseptörlerin stimülasyonunun NO aracılı gevşemeye neden olduğu ve bu cevaba endotelyum-bağımlı mekanizmanın aracılık ettiği bulunmuştur¹⁸⁴. Ancak, Filippi ve ark.¹⁸⁵

tarafından yapılan çalışmada, insan ve tavşan korpus kavernosum dokularında ATP' nin neden olduğu gevşeme cevabının NO' dan-bğımsız olduğu gösterilmiştir. ATP' nin bu etkisinin, P2 reseptörlerini stimüle etmesi ve kısmen de adenozin' in A_{2A} reseptörlerini uyarması ile olduğu ileri sürülmüştür. Fare korpus kavernosum dokusunda, adenozin' in A_{2A}/A_{2B} reseptörleri aktive ederek direkt gevşeme oluşturduğu ve A_1 reseptörleri üzerinden ise sempatik nörotransmisyonu negatif yönde modüle ettiği gösterilmiştir. Adenozin' in fare penil ereksiyonunu, bu ikili mekanizma ile modüle ettiği ileri sürülmüştür¹⁸⁶. Tavşan kavernoza dokusunda ise, ATP ve adenozin' in tavşan korpus kavernosum dokusunda A_{2B} reseptörleri üzerinden gevşeme oluşturduğu bildirilmiştir¹⁸⁷.

Ancak, ATP' nin ereksiyonun fizyolojik mekanizmadaki rolü henüz tamamen aydınlatılamamıştır

2.4.1.3.4. Endotelin (ET)

Endotelinler (ET), penil erektile dokuda gösterilmiş ve korpus kavernosum düz kasının tonusunun sürdürülmesi de dahil olmak üzere erektile fonksiyonda farklı rollerinin olabileceği ileri sürülmüştür^{13,117,188}. Endotelin insan korpus kavernosum dokusunda, endotelyum tabakasında yoğun olarak bulunurken, düz kasta daha az tespit edilmiştir¹⁸⁹. İnsan korpus kavernosum düz kasının membranında ET_A ve ET_B reseptörleri tespit edilmiştir¹³. Ancak, sıçan korpus kavernosumunda yalnızca ET_A reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir¹⁹⁰. Korpus kavernosum dokusundaki ET_B reseptörlerinin rolü aydınlatılamamıştır. ET_B reseptör aktivasyonunun muhtemelen NO-aracılığıyla penil vasküler tonusu azalttığı ileri sürülmüştür^{191,192,193}.

Endotelinler güçlü vazokonstriktör peptidler olup korpus kavernosumdaki trabeküler düz kaslarda yavaş gelişen fakat uzun süren kasılmaya neden olmaktadır. Bu etkilerinin, transmembranal Ca^{2+} girişi (voltaja-bağımlı veya reseptörle-kenetli Ca^{2+} kanalları), İnozitol trifosfat (IP_3)' a duyarlı intraselüler Ca^{2+} depolarından Ca^{2+} ' nin çıkışı ve RhoA/Rho-kinaz yolağı aracılığıyla Ca^{2+} sensitizasyonu olmak üzere çeşitli mekanizmalar ile gerçekleştirdikleri ileri sürülmüştür¹⁸⁸.

ET' lerin in vitro çalışmalarla ereksiyonun fizyoloji ve fizyopatolojisinde rolü olabileceğinin ileri sürülmesine rağmen bu peptidlerin ereksiyondaki rolü henüz aydınlatılamamıştır. İnsan korpus kavernosum dokusunda, ET_A ve ET_B reseptörlerinin spesifik rollerinin açıklanması gerekmektedir.

2.4.1.3.5. RhoA/Rho-kinaz Yolağı

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, RhoA/Rho-kinazın yolağının kavernozaal düz kas tonusunun regülasyonunda önemli bir rol oynadığı saptanmıştır^{194,195,196}. İnsan¹⁹⁷, tavşan¹⁹⁷, sıçan¹⁹⁸ ve fare¹⁹⁹ korpus kavernosum dokularında RhoA ve Rho-kinaz ekspresyonları gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda, RhoA/Rho-kinaz yolağının selektif Rho-kinaz inhibitörleri ile antagonize edilmesi korpus kavernosum dokusunun gevşemesine ve ereksiyona yol açmıştır^{194,197,198}. Chiatelly ve ark.ları sıçanlarda, Rho-kinaz inhibitörünün NO' dan bağımsız ereksiyona neden olduğunu göstermiş ve erektil disfonksiyon için alternatif bir tedavi olabileceğini bildirmişlerdir¹⁹⁴. Bu bulgulardan farklı olarak, RhoA/Rho-kinaz sinyal transdüksiyon yolağının insan endotelial hücrelerinde eNOS gen ekspresyonunu ve enzim aktivitesini inhibe ederek endotel kaynaklı NO biyosentezini azalttığı gösterilmiştir²⁰⁰. Bir çok çalışmada, NO' nun, RhoA/Rho-kinaz aktivitesini inhibe ettiği rapor edilmiştir^{201,202,203}. NO aracılığıyla oluşan erektil yanıtın, kısmen RhoA/Rho-kinaz yolağının inhibisyonu ile gerçekleştiği ileri sürülmüştür^{204,205}. Priviero ve ark.¹⁹⁹, fare korpus kavernosumunda endotel hücrelerden bazal durumda salıverilen NO' nun, RhoA/Rho-kinaz sinyal yolğını inhibe ederek kavernoza dokunun kontraktıl aktivitesini düzenlediğini ve bu yolakla ilişki proteinlerin ekspresyonunu modüle ettiğini bildirmiştir.

Diyabet, yaşlılık ve hipertansiyon gibi erektil disfonksiyona eşlik eden hastalıklarda korpus kavernosumdaki anormal kontraktılitenin artmış olan RhoA/Rho-kinaz ekspresyon/aktivitesi ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür^{206,207,208}. Diyabette, artan RhoA/Rho-kinaz aktivasyonu aracılığıyla eNOS' un down-regüle oldu gösterilmiş, ve Rho/Rho-kinaz yolağının inhibe edilmesinin eNOS protein düzeyini ve aktivitesini artırarak diyabetteki erektil fonksiyonu iyileştireceği ileri sürülmüştür²⁰⁰.

Sonuç olarak, erektil disfonksiyon tedavisinde yeni yöntemlerin geliştirilmesi için Rho/Rho-kinaz yolağının potansiyel bir hedef olabileceği düşünülmektedir²⁰⁹

2.5. Korpus Kavernosum ve Hidrojen Sülfür

İn vivo H_2S donörü NaHS' in maymunlara kavernoza içi uygulandığında kavernoza içi basıncını arttırdığı ve sinirsel uyarı sonucunda kavernoza içi basıncı artmış sıçanlarda CSE enziminin farmakolojik olarak inhibe edilmesiyle bu basınçtaki artışın anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir¹⁵. Tavşan korpus kavernosum dokusunda, H_2S ' in endojen olarak sentezlendiği ve bu dokuda proerektil gevşetici etki yaptığı gösterilmiştir. Bu dokudaki etkisinin sAMP yolağı ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür¹⁶. İnsan korpus kavernosum dokusunda, CBS ve CSE enzimlerinin protein ve mRNA ekspresyonları belirlenmiştir. Ayrıca, bu dokuda periferik sinirlerde sadece CSE, trabeküler düz kas ve penil arter düz kasında ise CBS ve CSE enzimlerinin her ikisinin de lokalizasyonları immünohistokimyasal olarak tespit edilmiştir. Selektif CBS ve CSE enzim inhibitörleri varlığında, bu dokudaki H_2S oluşumunun azaldığı gösterilmiştir. İnsan korpus kavernosum dokusunda, H_2S ' in endojen olarak oluştuğu ve L-sistein/ H_2S yolağının bu dokunun gevşemesine neden olduğu bulunmuştur¹⁴. Sıçan korpus kavernosum dokusunda ise sadece CSE enzimi eksprese edilmiştir. Supra-fizyolojik konsantrasyonlarda H_2S donörü olan NaHS, sıçan korpus kavernosum dokusunda konsantrasyona bağımlı gevşeme yanıtı oluşturmuş ve bu gevşemelerin sAMP üzerinden gerçekleştiği düşünülmektedir. H_2S ' in sıçan korpus kavernosum dokusundaki nörojenik gevşemeler üzerinde negatif regülatör rolü olduğu ileri sürülmüştür¹⁷. NaHS uygulaması sıçan korpus kavernosum dokusunda, nNOS' un protein ve mRNA düzeyini etkilemezken, eNOS' un protein ve mRNA düzeyini artırmıştır. H_2S ' in proerektil etkisini NO oluşumunu artırarak gerçekleştirdiği belirtilmiştir¹⁸. Ayrıca, H_2S ' in yalılığa bağlı olarak gelişen erektil disfonksiyonun bir göstergesi olabileceği bildirilmiştir²¹⁰.

H_2S ' in penil ereksiyonunu düzenlediği ve bu etki mekanizması ile ilgili yapılacak çalışmaların erektil disfonksiyon tedavisinde bir yol sağlayabileceği ileri sürülmüştür¹⁸.

Bu çalışmada, ekzojen H₂S' in izole fare korpus kavernosum dokusundaki gevşetici etki mekanizmasının araştırılması planlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deneylerde Ç.Ü. Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinden (TIBDAM) sağlanan 20-25 g ağırlığında Swiss albino türü 172 adet beyaz erkek fare kullanıldı. Deneylere alınacak hayvanlar oda sıcaklığı 20 ± 0.5 °C olan ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde aydınlatılması yapılan ortamda barındırıldı. Çalışma Ç.Ü. Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi etik kurulundan alınan izin çerçevesinde uygulandı.

3.1. İn Vitro Çalışmalar

Fareler servikal dislokasyon ile öldürüldü. Penisleri çıkarılıp Krebs solüsyonu (mM olarak NaCl 119, KCl 4,6, CaCl₂ 1.5, MgCl₂ 1.2, NaHCO₃ 15, NaHPO₄ 1.2, glukoz 11) içeren petri kutusunda izole edildi. Glans penis ve üretra ayrılıp her iki korpus kavernosum dokusu arasındaki fibröz septum kesilerek ve tunika albuginea intakt bırakılarak iki ayrı korpus kavernosum preparatı elde edildi. Her iki preparat 200 mg tansiyon altında 95% O₂ ve 5 % CO₂ ile gazlandırılan Krebs solüsyonu içeren 10 ml' lik organ banyolama asıldı. Banyo sıcaklığı 37 °C derecede muhafaza edildi. Dokular daha sonra bir saat süresince inkübasyona bırakıldı. Bu inkübasyon sırasında dokular her 15 dakikada bir Krebs solüsyonu ile yıkandı. Bir saatlik inkübasyon sonunda dokulara deneysel protokol uygulandı. Cevaplar izotonik transduser aracılığı ile (Ugo Basile, 7006) bir poligraf (Ugo Basile Gemini 7070) üzerine kaydedildi.

3.1.1. Kümülatif L-sistein İle Oluşan Gevşeme Yanıtları

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak L-sistein (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde

edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakikalık ara inkübasyona bırakıldı. Bu ara inkübasyondan sonra aynı deney protokolü uygulanarak ikinci seri yanıtlar elde edildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra dokular tekrar Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika inkübe edildiler. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.2. L-Sistein Gevşemelerinde CBS Ve CSE İnhibitörlerinin Rolü

3.1.2.1. L-sistein Gevşeme Yanıtları Üzerine Aminooksiasetik Asid (AOAA)' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra L-sistein (10^{-3} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme yanıtı elde edildi. Dokular CBS inhibitörü AOAA¹⁴ (10^{-3} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri L-sistein (10^{-3} M) gevşemesi elde edildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra dokular tekrar Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika inkübe edildiler. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.2.2. L-Sistein Gevşeme Yanıtları Üzerine Proparjil Glisin (PAG)' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra L-sistein (10^{-3} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme yanıtı elde edildi. Dokular CSE inhibitörü PAG¹⁴ (10^{-2} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri L-sistein (10^{-3} M) gevşemesi elde edildi. İkinci seri yanıtlar elde

edildikten sonra dokular tekrar Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika inkübe edildiler. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.3. Kümülatif NaHS İle Oluşan Gevşeme Yanıtları

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakikalık ara inkübasyona bırakıldı. Bu ara inkübasyondan sonra aynı deney protokolü uygulanarak ikinci seri yanıtlar elde edildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra dokular tekrar Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika inkübe edildiler. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.4. Kümülatif NaHS Gevşeme Yanıtlarında, Endotelyumun Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları baş ve işaret parmağı arasında ovalanarak endotel hasar oluşması sağlandı¹⁵¹. Dokular bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara asetilkolin (10^{-6} M) uygulandı ve endotelyumun varlığı kontrol edildi. Dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakikalık ara inkübasyona bırakıldı. Bu ara inkübasyon sonrasında dokular fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kasılma yanıtı oluştuktan sonra kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. NaHS yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakikalık ara inkübasyona bırakıldı. Bu ara inkübasyon sonrasında dokular tekrar Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika inkübe edildiler. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular

inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.5. NaHS Gevşeme Yanıtlarında NO/sGMP Yolağının Etkisi

3.1.5.1. NaHS Gevşeme Yanıtlarında L-Nitroarjinin (L-NA)' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve NOS inhibitörü L-Nitroarjinin²¹¹ (L-NA; 10^{-4} M) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.5.2. NaHS Gevşeme Yanıtlarında 1H-[1,2,4]oksadiazol[4,3]kuinoksalin-1 (ODQ)' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve guanilil siklaz inhibitörü ODQ⁶⁹ (10^{-4} M) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.5.3. NaHS Gevşeme Yanıtlarında L-Nitroarjinin (L-NA) Ve 1H-[1,2,4]kuinoksalin-1 (ODQ) Kombinasyonun Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı. Dokular L-NA (10^{-4} M) ve ODQ (10^{-4} M) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.6. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Fosfodiesteraz İnhibitörlerinin Etkileri

3.1.6.1. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Zaprinast'ın Etkileri

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı, fosfodiesteraz enzim inhibitörü zaprinast²¹² (5×10^{-6} M) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme cevabı elde edildi.

3.1.6.2. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Sildenafil' in Etkileri

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı, fosfodiesteraz inhibitörü sildenafil²¹³ (10^{-6} M) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme cevabı elde edildi.

3.1.7. Kümülatif NaHS Gevşeme Yanıtlarında Adenilil Siklaz/sAMP Yolağının Etkisi

3.1.7.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Yanıtlarında N-Etilmaleimid (NEM)' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve adenilil siklaz inhibitörü NEM²¹⁴ (2.5×10^{-5} M) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.7.2. NaHS Gevşeme Yanıtlarında 9-(Tetrahidro-2-furanil)-9H-purin-6-amin (SQ 22536)' in Etkileri

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve adenilil siklaz inhibitörü SQ 22,536¹¹ (10^{-4} M) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.8. NaHS Gevşeme Yanıtlarında K^{+} kanallarının Etkisi

3.1.8.1. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Potasyum' un Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve potasyum kanallarının inhibisyonu için potasyum klorür⁷⁰ (KCl; 50 mM) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.8.2. NaHS Gevşeme Yanıtlarında 4-Aminopiridin (4-AP)’ in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve K_V kanal inhibitörü 4-aminopiridin²¹⁵ (4-AP; 10^{-3} M) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.8.3. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Glibenklamid’ in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve K_{ATP} kanal inhibitörü glibenklamid⁹⁹ (10^{-5} M) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.8.4. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Baryum Klorür (BaCl₂)’ ün Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra

dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve içe-doğrultucu K^+ kanal (K_{IR}) inhibitörü $BaCl_2^{216}$ (10^{-5} M) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.8.5. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Apamin' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve SK_{Ca}^{2+} kanal blokörü apamin²¹⁷ (10^{-6} M) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.8.6. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Karibdotoksin' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve $IKCa^{2+}$ ve BK_{Ca}^{2+} kanal blokörü karibdotoksin²¹⁸ (10^{-7} M) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi

hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.9. NaHS Gevşeme Yanıtlarında Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EDHF)' ün Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve EDHF inhibisyonu için dokular apamin (10^{-6} M) ve karibdotoksin (10^{-7} M) kombinasyonu²¹⁹ içeren ortamda 30 dakika inkübe edildi. Inkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.10. NaHS Gevşeme Cevaplarında, L-Tipi Ca^{2+} kanallarının Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve L-tipi voltaja-bağımlı Ca^{2+} kanal blokörü Nifedipin²²⁰ (10^{-6}) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. Inkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.11. NaHS Gevşeme Cevaplarında, Atropin' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme yanıtları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve muskarinik reseptör blokörü Atropin²²¹ (10^{-6} M) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması yapılarak gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.12. NaHS Gevşeme Cevaplarında, Uvabain' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato cevabı elde edildikten sonra dokulara kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Birinci seri gevşeme cevapları elde edildikten sonra dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve Na^+ - K^+ -ATPaz inhibitörü Uvabain²²² (10^{-4} M) içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme cevapları elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı (5×10^{-6} M) ve dokulara papaverin (10^{-4} M) uygulaması yapılarak gevşeme cevabı elde edildi.

3.2. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

Kümülatif NaHS ile oluşturulan birinci ve ikinci seri gevşemeler, papaverin gevşemelerinin yüzdesi olarak değerlendirildi. Papaverin gevşemesi 100 olarak kabul edildi. Birinci ve ikinci serideki NaHS gevşemeleri papaverine göre oranlandı.

Papaverin ile oluşan gevşeme değeri (A) ve NaHS ile elde edilen gevşeme değeri ise (B) gösterildi. Milimetre olarak llen bu değerlere aşağıdaki formül uygulandı.

$$\% \text{ gevşeme: } B \times 100 / A$$

Grupların % değerleri ortalama (X)±Standart Hata şeklinde ifade edildi. Gruplar arası istatistiksel paired-t testi yapıldı ve 0.05’ ten küçük P dęerleri anlamlı olarak kabul edildi ($P < 0.05$).

3.3. Kullanılan İlaçlar ve Solüsyonların Hazırlanması

Kullanılan ilaçlardan amino-oksiasetik asit (o-karboksimetil)hidroksilamin hemihidroklorr), 4-aminopiridin, atropin (atropin sülfat), , barium klorür, fenilefrin hidroklorür (L-fenilefrin hidroklorür), glibenklamid, L-nitroarjinin (N^o-Nitro-L-arjinin), N-etilmaleimid, nifedipin, ODQ (1H-[1,2,4]oksadiazol[4,3]kuinoksalin-1), D,L-proparjil glisin, papaverin, L-sistein, sodium hidrojen sülfür hidrat, SQ 22,536 (9-(Tetrahidro-2-furanil)-9H-purin-6-amin), uvabain, zaprinast SIGMA firmasından, apamin ve karibdotoksin TOCRIS firmasından, potasyum klorür MERCK firmasından ve sildenafil sitrat MOLEKULA firmasından elde edildi.

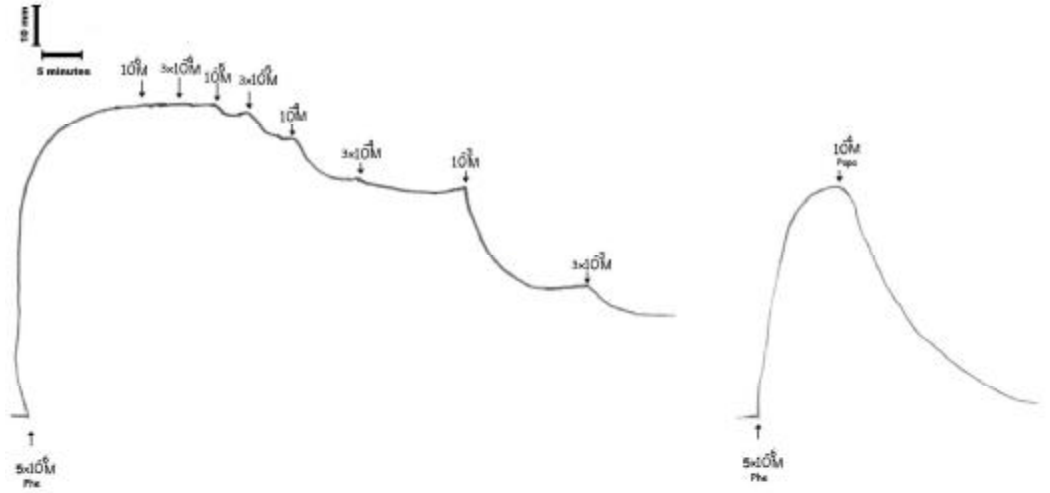
ODQ, 10⁻² M stok solüsyondan banyo ortamına 10⁻⁴ M konsantrasyonda verildi. Sodyum hidrojen sülfür buzlu ortamda hazırlandı ve -4C^o’ de muhafaza edildi. Nifedipin ve glibenklamid stok solüsyonları etanol, zaprinast ve ODQ’ nun stok solüsyonları ise dimetil sülfoksit ve diğer tüm maddeleri solüsyonları distile su içerisinde hazırlandı. L-sistein, sodium hidrojen sülfür, 4-aminopiridin, amino-oksiasetik asit, atropin, baryum klorür, potasyum klorür, fenilefrin, glibenklamid, L-nitroarjinin, proparjil glisin, N-etilmaleimid, , nifedipin, uvabain, zaprinast ve Krebs solüsyonu günlük olarak hazırlandı.

4. BULGULAR

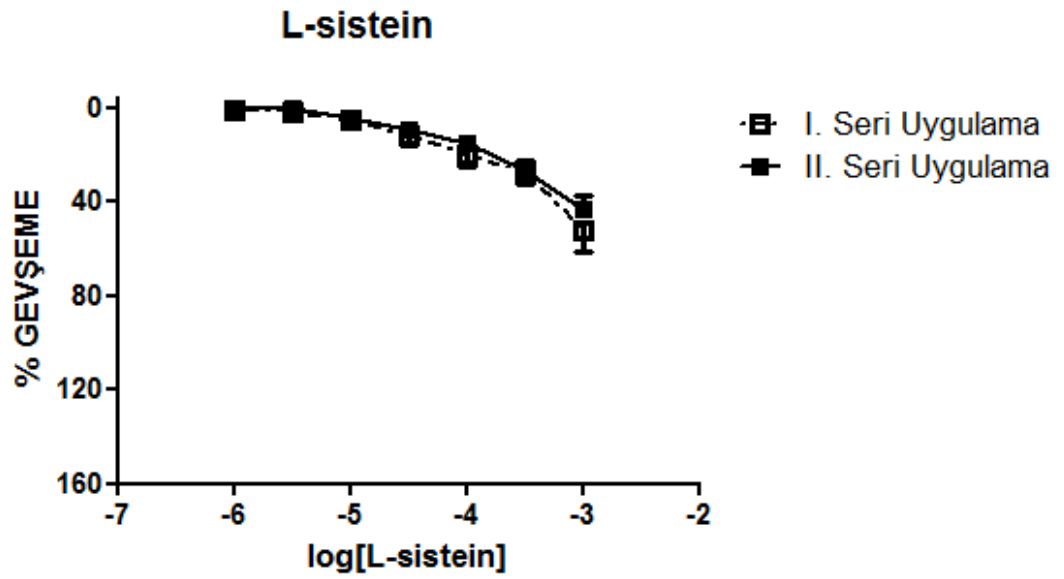
4.1. Kümülatif L-sistein Yanıtları

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda spesifik α_1 -adrenerjik reseptör agonisti fenilefrin (5×10^{-6} M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara kümülatif L-sistein (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulanması doza-bağılı gevşemeye neden oldu. Doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyondan sonra ikinci seri kümülatif L-sistein (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen kümülatif L-sistein (10^{-6} - 10^{-3} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değerleri sırası ile 1.13 ± 0.8 , 1.64 ± 1 , 5.3 ± 2 , 12 ± 4.4 , 20 ± 5.4 , 27.6 ± 4.9 , 52.3 ± 9 ve ikinci seri ortalama değerler ise 0 ± 1 , 0.4 ± 1.1 , 4.5 ± 1.4 , 9.5 ± 1.2 , 15.6 ± 2.4 , 26.9 ± 4.6 , 42.9 ± 5.8 idi. Birinci seri ve ikinci seri gevşemeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Şekil 6, $P > 0.05$, $n=5$).

A



B

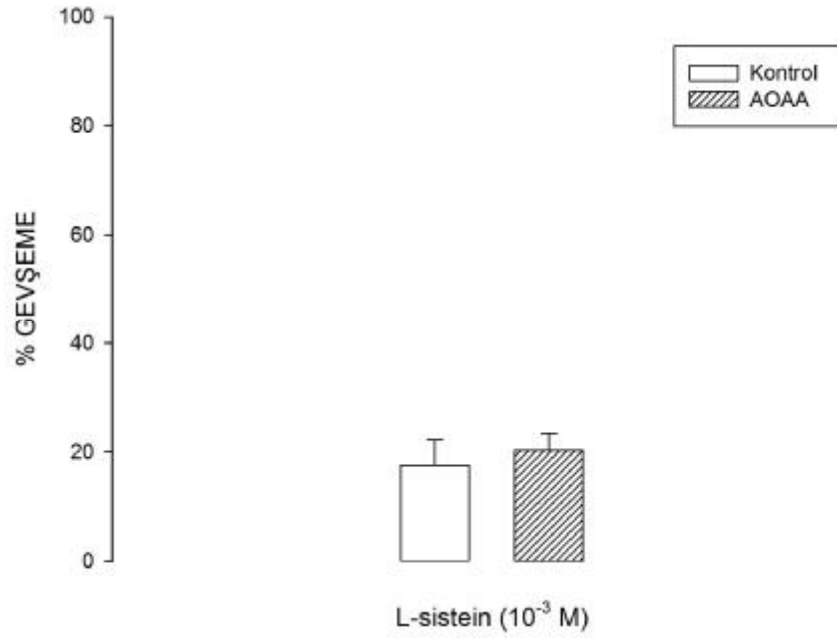


Şekil 6. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif L-sistein (10^{-6} - $10^{-3} M$) gevşeme yanıtının trase örneği (A) ve grafiği. Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=5).

4.2. L-Sistein Gevşemelerinde CBS Ve CSE İnhibitörlerinin Etkileri

4.2.1. L-sistein Gevşeme Yanıtları Üzerine Aminooksiasetik Asid (AOAA)' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuların fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra L-sistein (10^{-3} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme yanıtı elde edildi. Dokular CBS inhibitörü AOAA (10^{-3} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri L-sistein (10^{-3} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen L-sistein (10^{-3} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 17.56 ± 4.7 iken AOAA ortamında inkübasyondan sonra L-sistein (10^{-3} M) ile elde edilen yanıtının yüzde değeri 20.31 ± 3.1 idi. Birinci seri ve ikinci seri gevşemeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Şekil 7, $P > 0.05$, $n=6$).

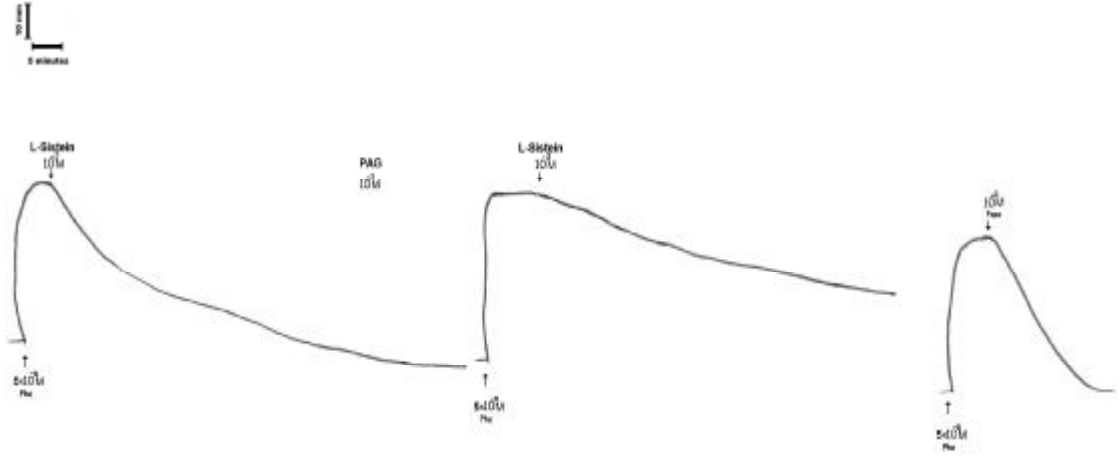


Şekil 7. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif L-sistein' in (10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine AOAA (10^{-3} M)' in etkisinin bar grafiği. Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=6).

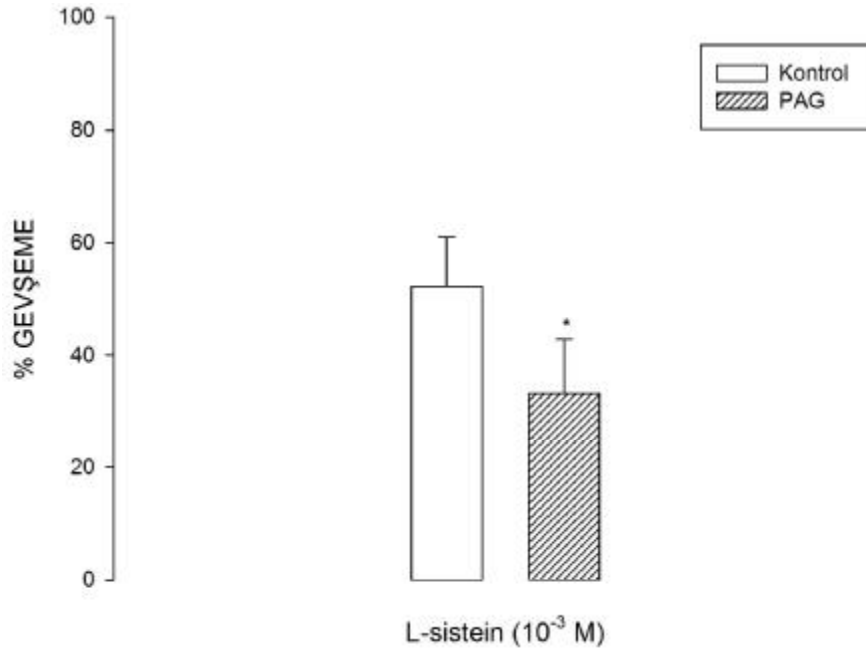
4.2.2. L-Sistein Gevşeme Cevapları Üzerine Proparjil Glisin (PAG)' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra L-sistein (10^{-3} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme yanıtı elde edildi. Dokular CSE inhibitörü PAG (10^{-2} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri L-sistein (10^{-3} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen L-sistein (10^{-3} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 52.15 ± 8.8 iken PAG ortamında inkübasyondan sonra L-sistein (10^{-3} M) ile elde edilen yüzde değeri 33.21 ± 9.6 idi. PAG varlığında, ikinci seri gevşeme yanıtında istatistiksel olarak azalma gözlemlendi (Şekil 8, $P < 0.05$, $n=6$).

A



B

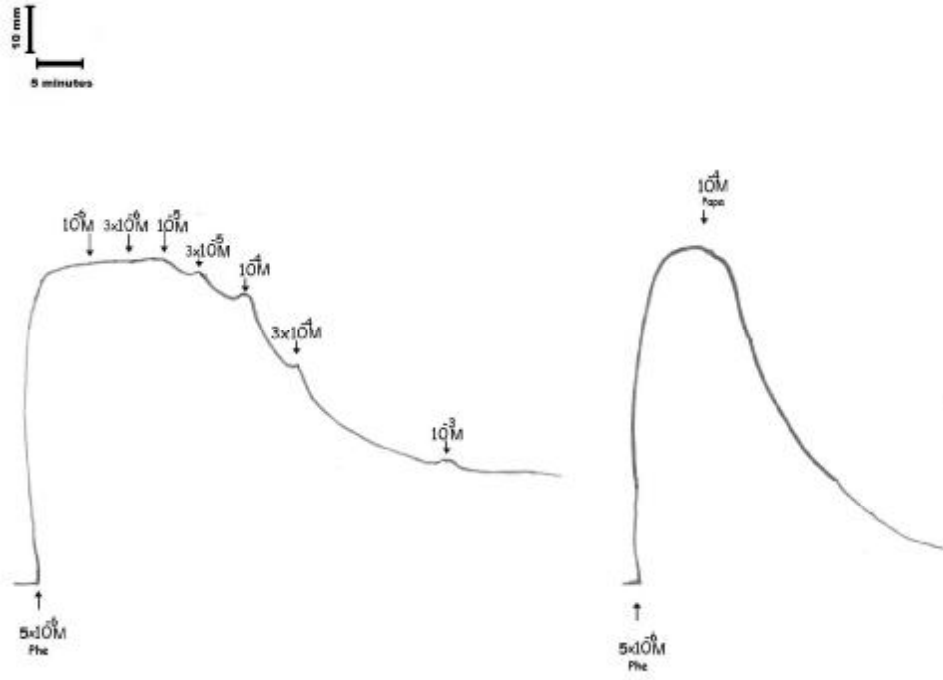


Şekil 8. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif L-sistein' in (10⁻³ M) gevşeme yanıtları üzerine PAG (10⁻² M)' in etkisinin trase örneği (A) ve bar grafiği (B). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

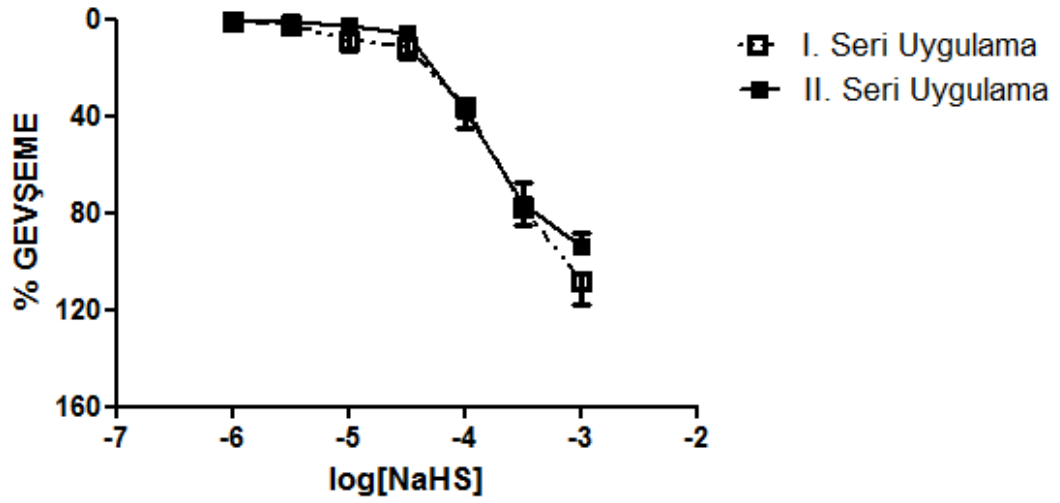
4.3. Kümülatif NaHS Cevapları

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda fenilefrin (5×10^{-6} M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması konsantrasyona-bağımlı gevşemeye neden oldu. Doku Krebs solüsyonu ile yıkanıp 30 dakikalık inkübasyondan sonra ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değerleri sırası ile 0.88 ± 0.88 , 2.63 ± 1.8 , 8.89 ± 4.1 , 11.52 ± 5.2 , 36.34 ± 8.8 , 78.66 ± 7.2 , 108.1 ± 9.5 ve ikinci seri ortalama değerler ise 0 ± 0 , 0.88 ± 0.88 , 2.57 ± 1.1 , 6.22 ± 2.1 , 38.14 ± 5.1 , 76.65 ± 9.45 , 94.24 ± 8 idi. Birinci seri ve ikinci seri gevşemeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Şekil 9, $P > 0.05$, $n=12$).

A



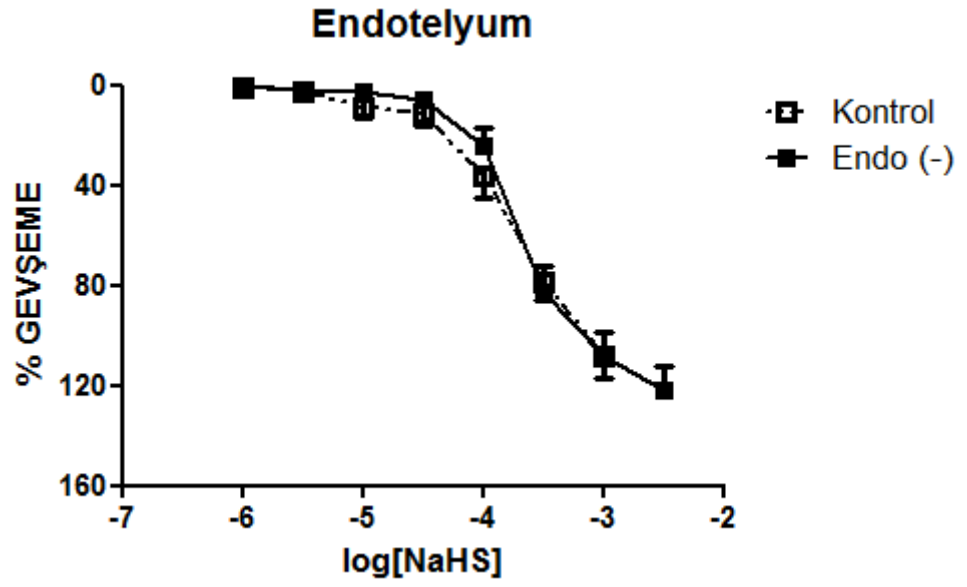
B



Şekil 9. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme yanıtlarının trase örneği (A) ve grafiği (B). Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=12).

4.4. Kümülatif NaHS Gevşemelerinde Endotelyum' un Rolü

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları baş ve işaret parmağı arasında ovalanarak endotel hasar oluşması sağlandı. Dokulara fenilefrin (5×10^{-6} M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturuldu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara asetilkolin uygulandı ve endotelyumun sağlamlığı kontrol edildi. Dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakikalık ara inkübasyona bırakıldı. Bu ara inkübasyon sonrasında dokular fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldı kümülatif olarak NaHS (10^{-6} - 10^{-3}) uygulanarak gevşeme yanıtları elde edildi. Doku Krebs solüsyonu ile yıkanıp 30 dakikalık inkübasyondan sonra ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemesi elde edildi . Birinci seri olarak elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değerleri sırası ile 0 ± 0 , 2.23 ± 2.23 , 7.2 ± 3.8 , 16.89 ± 7.4 , 24.74 ± 6.5 , 90.61 ± 8.1 , 120.8 ± 6 iken endotelyumlu dokuların kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değerleri ise 0.88 ± 0.88 , 2.63 ± 1.8 , 8.89 ± 4.1 , 11.52 ± 5.2 , 36.34 ± 8.8 , 78.66 ± 7.2 , 108.1 ± 9.5 idi. Kontrol ve endotelyumsuz dokulara ait gevşemeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Şekil 10, $P > 0.05$, $n=5$).

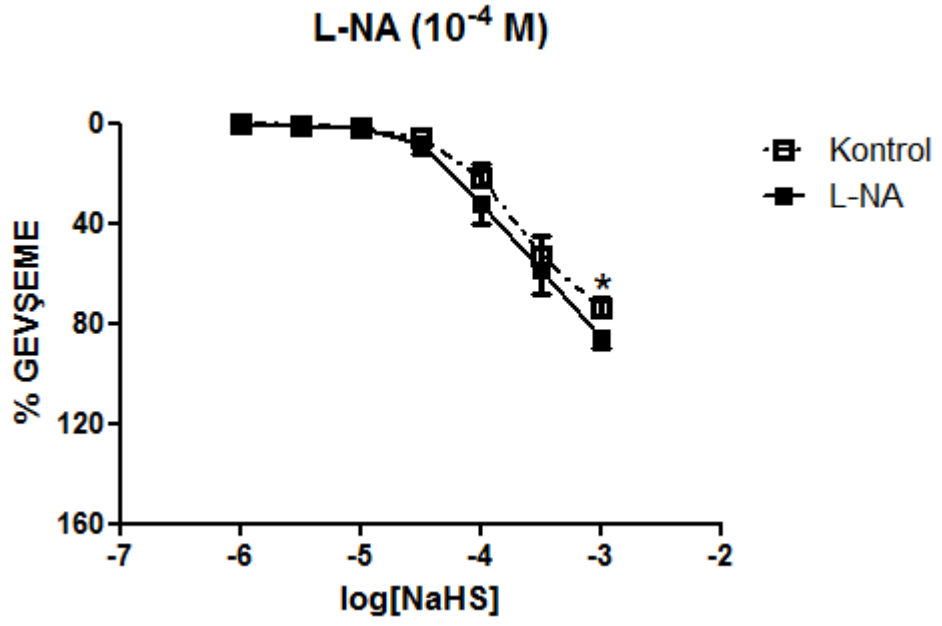


Şekil 10. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme yanıtlarında endotelyum' un etkisinin grafiği. Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=5).

4.5. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevaplarında NO/sGMP Yolağının Rolü

4.5.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine L-Nitroarjinin (L-NA)' in Etkisi

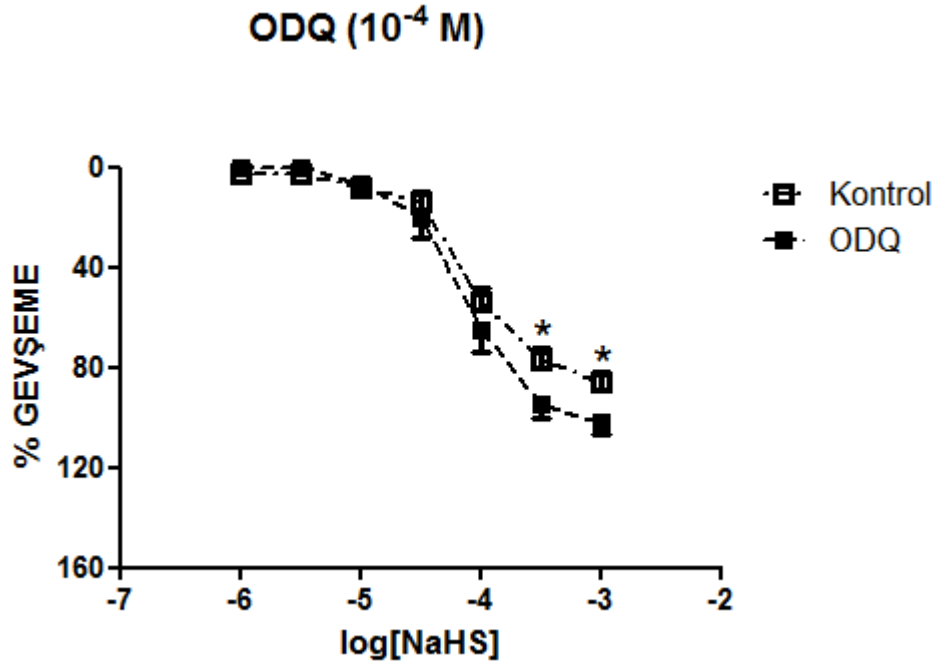
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme cevapları elde edildi. Dokular NOS inhibitörü L-NA (10^{-4} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokulara ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 0.06 ± 0.5 , 0.58 ± 0.9 , 2.44 ± 1.2 , 5.78 ± 2.45 , 22.3 ± 5.7 , 52.58 ± 8.3 , 74.02 ± 4 iken L-NA ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 0 ± 0 , 0.7 ± 0.4 , 1.58 ± 0.6 , 8.25 ± 3.8 , 31.98 ± 8.1 , 59.48 ± 9 , 86.45 ± 3.5 idi. L-NA, düşük konsantrasyonlardaki NaHS gevşeme yanıtlarını etkilemezken, en yüksek konsantrasyondaki (10^{-3} M) NaHS gevşeme yanıtında istatistiksel olarak anlamı bir artışa neden oldu (Şekil 11, $P < 0.05$, $n=12$).



Şekil 11. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine L-NA (10^{-4} M)' nin etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P<0.05$). Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=12).

4.5.2. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine 1H-[1,2,4]kuinoksalin-1 (ODQ)' nün Etkisi

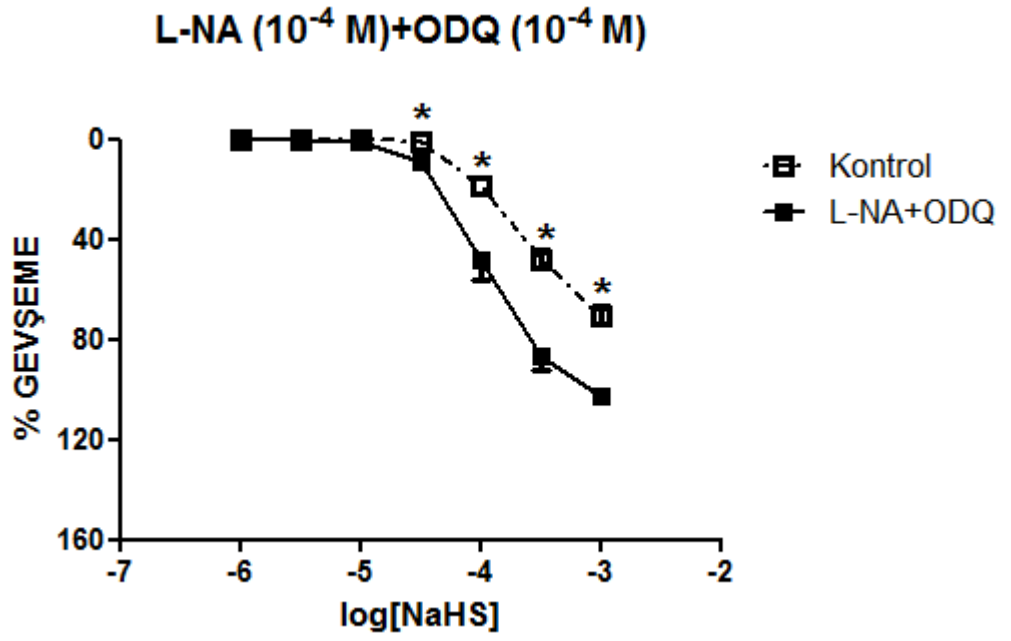
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme yanıtları elde edildi. Dokular guanilil siklaz inhibitörü ODQ (10^{-4} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokulara ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 2.70 ± 0.9 , 2.84 ± 1.1 , 7.90 ± 2.6 , 14.38 ± 3.9 , 53.64 ± 6.2 , 77.01 ± 5 , 86.38 ± 3.7 iken ODQ ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 0.04 ± 1.4 , 0.081 ± 1.4 , 6.91 ± 2.9 , 19.53 ± 7.7 , 64.92 ± 8.6 , 94.50 ± 5.2 , 102.3 ± 5.1 idi. ODQ, düşük konsantrasyondaki NaHS (10^{-6} - 10^{-4} M) gevşemelerini etkilemezken yüksek konsantrasyondaki NaHS (3×10^{-4} - 10^{-3}) gevşemelerini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artırdı (Şekil 12, $P < 0.05$, $n=10$).



Şekil 12. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine ODQ (10^{-4} M)' nün etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P<0.05$). Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=10).

4.5.3. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine 1H-[1,2,4]kuinoksalin-1 (ODQ) ve L-Nitroarjinin (L-NA) Kombinasyonun Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme yanıtları elde edildi. Dokular ODQ (10^{-4} M) ve L-NA (10^{-4} M) kombinasyonunu içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokulara ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 0 ± 0 , 0.54 ± 1 , 1.31 ± 1.5 , 1.49 ± 1.7 , 19.36 ± 1.8 , 48.24 ± 4 , 71.46 ± 3.7 iken; ODQ ve L-NA kombinasyonunu içeren ortamında elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 0 ± 0 , 0.31 ± 0.31 , 0.9 ± 1 , 9.04 ± 2.3 , 47.84 ± 7.6 , 86.95 ± 5.3 , 103.5 ± 9 idi. ODQ ve L-NA kombinasyonu, en düşük konsantrasyon NaHS gevşemelerini etkilemezken daha yüksek konsantrasyonlardaki (3×10^{-5} - 10^{-3} M) NaHS gevşemelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden oldu (Şekil 13, $P < 0.05$, $n=8$).

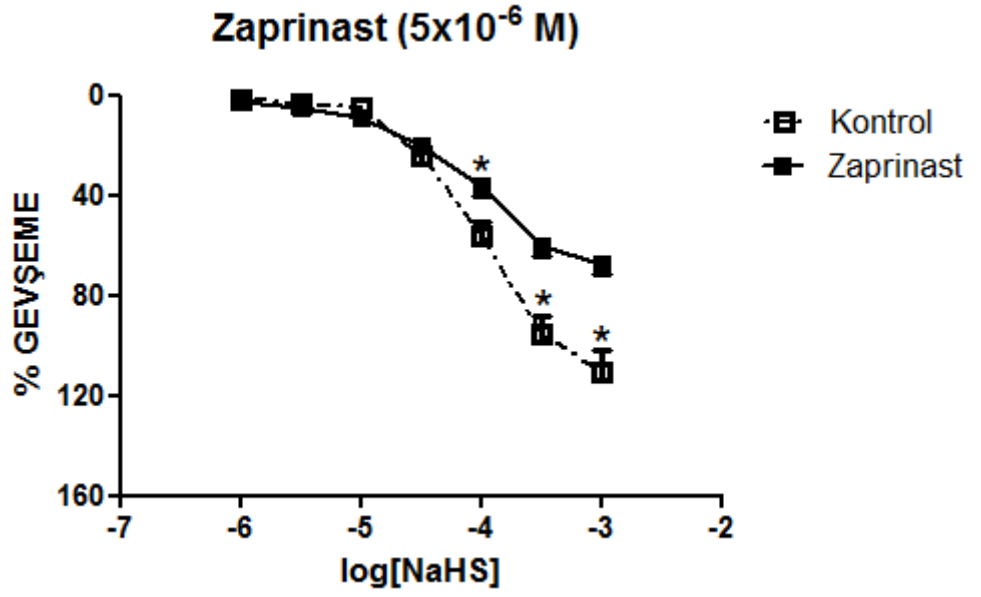


Şekil 13. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine L-nitroarjinin (L-NA; 10^{-4} M)+ ODQ (10^{-4} M)' nün etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P<0.05$). Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=8).

4.6. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevaplarında Fosfodiesteraz İnhibitörlerinin Rolü

4.6.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Zaprinast'ın Etkisi

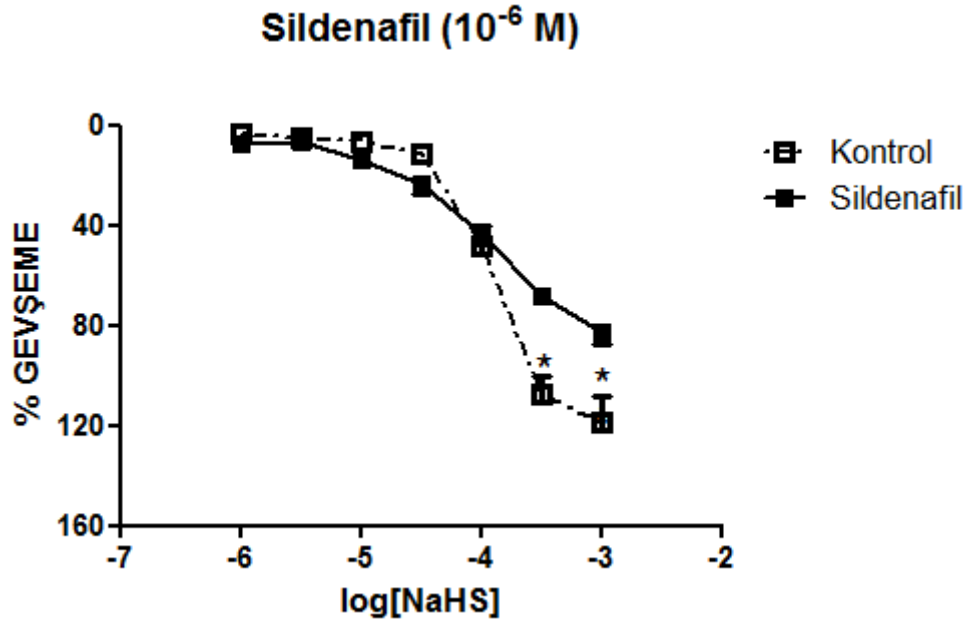
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme cevapları elde edildi. Dokular fosfodiesteraz inhibitörü zaprinast (5×10^{-6} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 1.70 ± 0.8 , 3.7 ± 1.5 , 5.11 ± 1.8 , 24.43 ± 3.9 , 56.42 ± 5.6 , 95.45 ± 6.9 , 110.4 ± 8.2 iken zaprinast ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 2.64 ± 1.2 , 4.90 ± 1.7 , 8.85 ± 1.3 , 20.10 ± 2.83 , 36.49 ± 3.6 , 60.16 ± 4 , 67.49 ± 4.3 idi. Zaprinast, düşük konsantrasyonda (10^{-6} - 3×10^{-5} M) NaHS gevşeme cevaplarını etkilemezken yüksek konsantrasyondaki (10^{-4} - 10^{-3} M) NaHS gevşemelerinde istatistiksel olarak anlamlı azalmaya neden oldu (Şekil 14 , $P < 0.05$, $n=10$).



Şekil 14. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine Zaprinast (5×10^{-6} M)' in etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P < 0.05$). Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=10).

4.6.2. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Sildenafil' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme cevapları elde edildi. Dokular fosfodiesteraz inhibitörü sildenafil (10^{-6} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokulara ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 3.92 ± 1 , 5.26 ± 1 , 6.45 ± 2 , 11.51 ± 2 , 48.21 ± 8 , 107.50 ± 7.2 , 119 ± 11 iken sildenafil ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 7.23 ± 2 , 6.96 ± 3 , 13.68 ± 3 , 23.77 ± 4 , 43.87 ± 4 , 68.34 ± 3 , 82.50 ± 5 idi. Sildenafil, düşük konsantrasyondaki NaHS (10^{-6} - 10^{-4} M) gevşeme yanıtlarını etkilemezken yüksek konsantrasyondaki NaHS (3×10^{-4} - 10^{-3} M) ile oluşan gevşeme cevaplarının istatistiksel olarak azalmasına neden oldu (Şekil 15, $P < 0.05$, $n=4$).

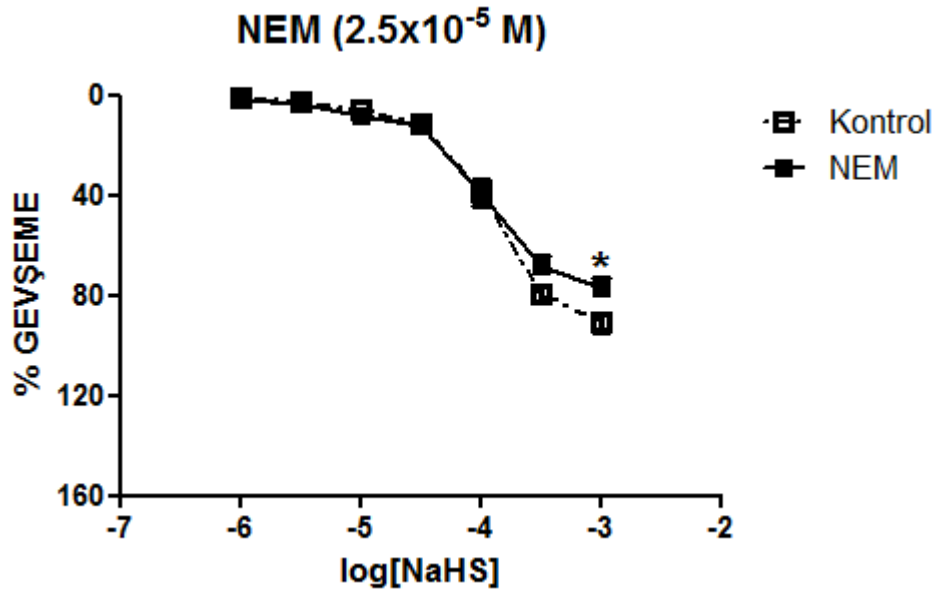


Şekil 15. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine Sildenafil (10^{-6} M)' in etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P<0.05$). Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=4).

4.7. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevaplarında Adenilil Siklaz/sAMP Yolağının Rolü

4.7.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine N-Etilmaleimid (NEM)' in Etkisi

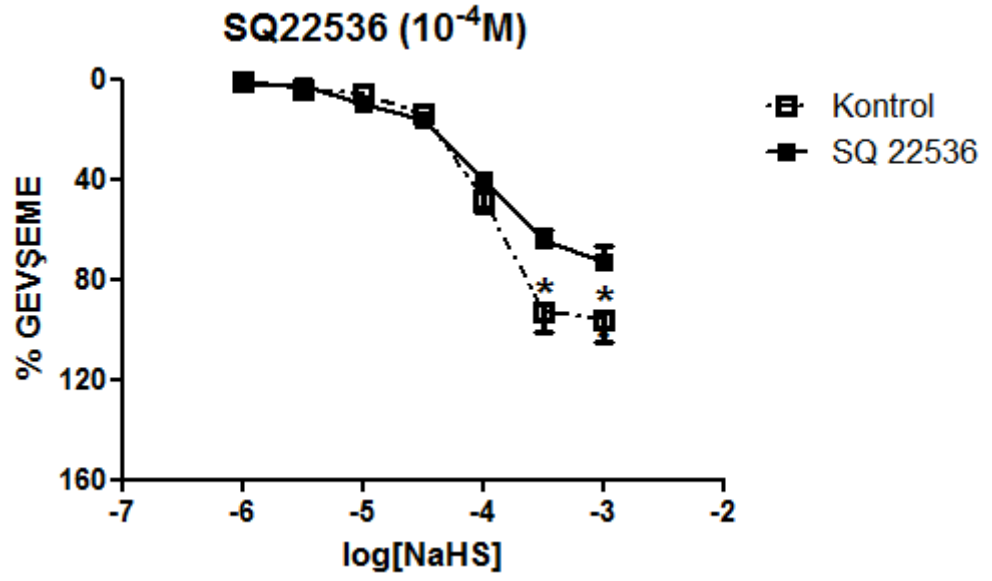
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme yanıtları elde edildi. Dokular adenilil siklaz inhibitörü NEM (2.5×10^{-5} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokulara ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 1.41 ± 0.7 , 3.15 ± 1.3 , 6 ± 1.6 , 11.66 ± 2.2 , 39.02 ± 5.2 , 79.58 ± 3.6 , 90.74 ± 4.1 iken NEM ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 1.97 ± 1 , 3.8 ± 1.3 , 8.59 ± 1.7 , 12.43 ± 2.6 , 39.39 ± 5.3 , 68.4 ± 4.3 , 76.88 ± 3.81 idi. NEM, düşük NaHS (10^{-6} - 3×10^{-4} M) konsantrasyondaki gevşeme yanıtlarını etkilemezken en yüksek (10^{-3} M) konsantrasyondaki NaHS gevşemesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden oldu (Şekil 16, $P < 0.05$, $n=10$).



Şekil 16. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine N-Etilmaleimid (NEM; 2.5×10^{-5} M)' in etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P < 0.05$). Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=10).

4.7.2. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine 9-(Tetrahidro-2-furanil)-9H-purin-6-amin (SQ22536)'ın Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme yanıtları elde edildi. Dokular adenilil siklaz inhibitörü SQ22536 (10^{-4} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokulara ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 1.42 ± 1.1 , 3.88 ± 1.4 , 5.84 ± 1.5 , 13.68 ± 2.74 , 47.66 ± 4.7 , 93.12 ± 8.5 , 96.11 ± 8.7 iken SQ22536 ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 1.70 ± 0.7 , 3.23 ± 1.1 , 10.16 ± 1.4 , 16.42 ± 2.6 , 39.57 ± 2.9 , 64.25 ± 4.3 , 73.18 ± 5.7 idi. SQ22536, düşük konsantrasyonlardaki NaHS (10^{-6} - 10^{-4} M) gevşemelerini etkilemezken daha yüksek konsantrasyonlardaki NaHS (3×10^{-4} - 10^{-3}) gevşemelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden oldu (Şekil 17, $P < 0.05$, $n=8$).

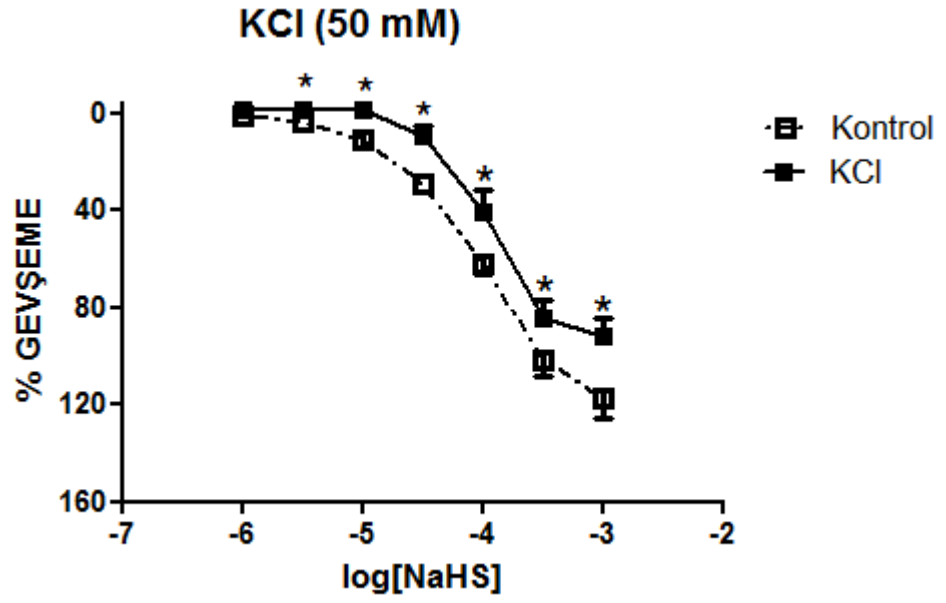


Şekil 17. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine SQ22536 (10^{-4} M)' in etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P<0.05$). Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=8).

4.8. Kümülatif NaHS Gevşeme Yanıtlarında K⁺ Kanallarının Etkileri

4.8.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Yanıtlarında Potasyum' un Etkisi

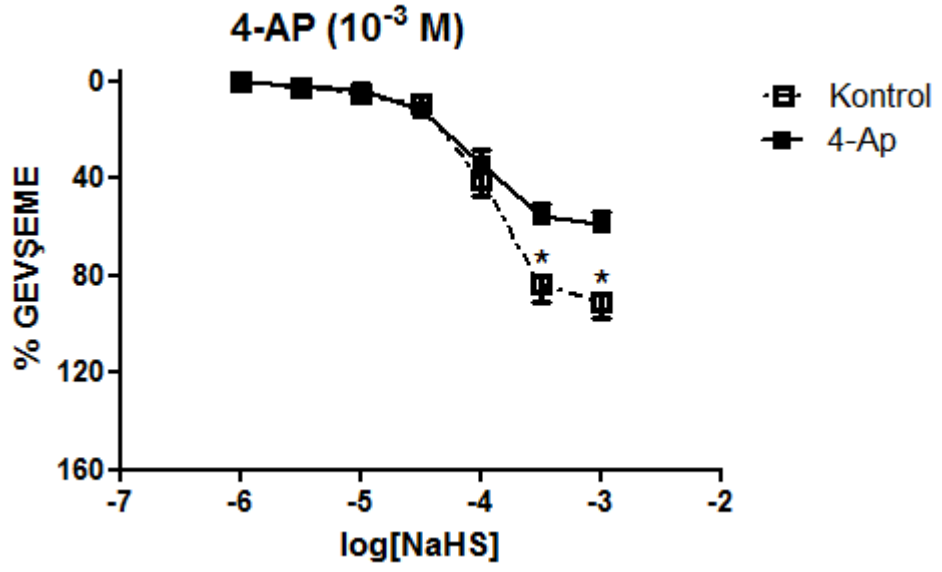
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme yanıtları elde edildi. Dokular KCl (50 mM) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 0.83 ± 0.82 , 3.92 ± 1.3 , 10.98 ± 3.3 , 29.38 ± 1.7 , 62.51 ± 4.1 , 103.8 ± 5.5 , 117.7 ± 7.9 iken KCl ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile -1.3 ± 0.6 , -1.3 ± 0.6 , -1.2 ± 0.8 , 10.55 ± 5.2 , 40.69 ± 9.3 , 84.36 ± 7.5 , 92.08 ± 7.8 idi. NaHS gevşemelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma elde edildi (Şekil 18, $P < 0.05$, $n=5$).



Şekil 18. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine KCl (50 mM)' nin etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P < 0.05$). Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=5).

4.8.2. Kümülatif NaHS Gevşeme Yanıtlarında 4-Aminopiridin (4-AP)' in Etkisi

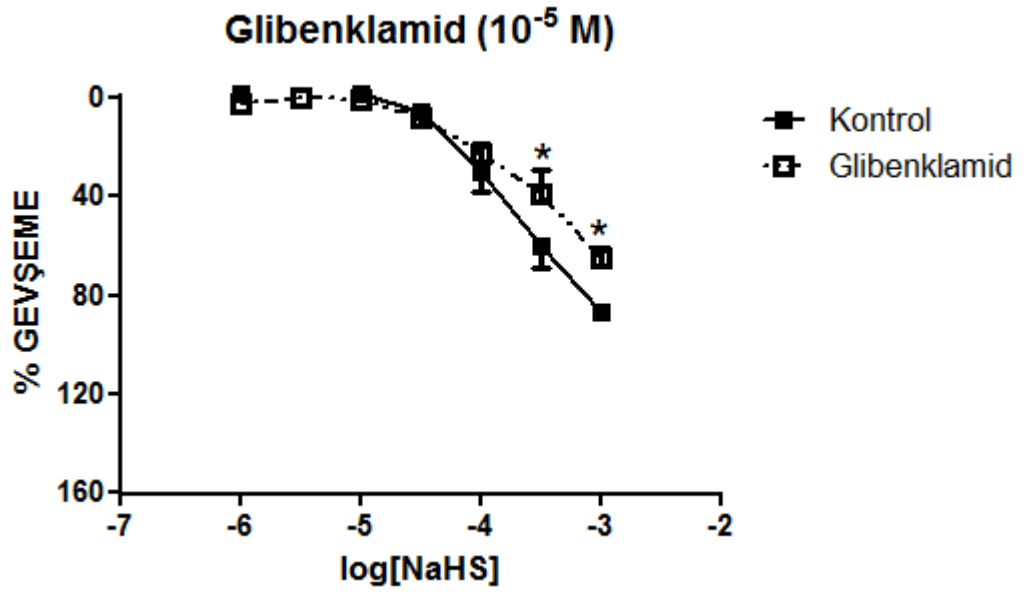
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme yanıtları elde edildi. Dokular K_V kanal inhibitörü 4-AP (10^{-3} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 0.10 ± 0.7 , 3.16 ± 1.8 , 5.28 ± 2.7 , 9.82 ± 4 , 40.74 ± 7 , 83.92 ± 7.4 , 91.28 ± 6.3 iken 4-AP ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 0.13 ± 1.2 , 1.86 ± 1.4 , 3.68 ± 2 , 12.28 ± 2.9 , 33.98 ± 5.7 , 56.03 ± 5.3 , 58.8 ± 5 idi. 4-AP, düşük konsantrasyonlardaki NaHS (10^{-6} - 10^{-4} M) gevşemelerini etkilemezken yüksek konsantrasyonlardaki NaHS (3×10^{-4} - 10^{-3} M) gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden oldu (Şekil 19, $P < 0.05$, $n=10$).



Şekil 19. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine 4-AP (10^{-3} M)' nin etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P<0.05$). Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=10).

4.8.3. Kümülatif NaHS Gevşeme Yanıtlarında Glibenklamid' in Etkisi

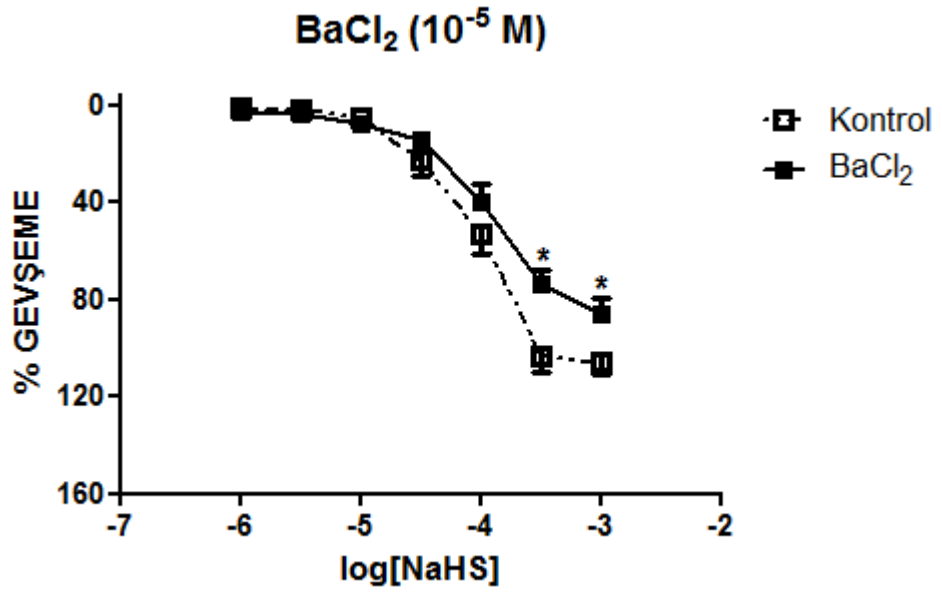
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme yanıtları elde edildi. Dokular K_{ATP} kanal inhibitörü Glibenklamid (10^{-5} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile -1.94 ± 0.7 , -2.37 ± 1.2 , -2 ± 1.2 , 5.67 ± 5.4 , 30.27 ± 8.2 , 59.77 ± 8.8 , 86.51 ± 3.1 iken glibenklamid ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 2.41 ± 1.8 , -0.09 ± 1.4 , 0.90 ± 1.3 , 7.85 ± 3.2 , 22.71 ± 4 , 38.69 ± 9.8 , 64.93 ± 4.4 idi. Glibenklamid, düşük konsantrasyonlardaki NaHS (10^{-6} - 10^{-4} M) gevşemelerini etkilemezken yüksek konsantrasyonlardaki NaHS (3×10^{-4} - 10^{-3} M) gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden oldu (Şekil 20 , $P < 0.05$, $n=8$).



Şekil 20. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine Glibenklamid (10^{-5} M)' in etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P < 0.05$). Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=8).

4.8.4. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Baryum Klorür (BaCl₂)' ün Etkisi

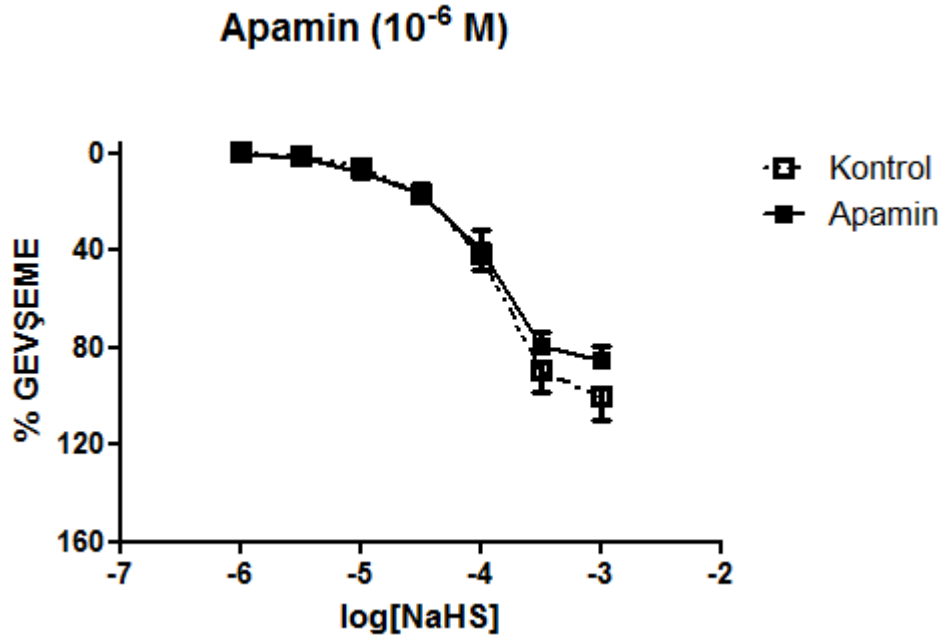
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuların fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme cevapları alındı. Dokular K_{IR} kanal inhibitörü BaCl₂ (10^{-5} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 1.57 ± 1.8 , 2.24 ± 2.9 , 5.35 ± 2.4 , 22.86 ± 6 , 53.19 ± 7.9 , 103.2 ± 6.5 , 106.3 ± 4.7 iken BaCl₂ ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 2.76 ± 1.7 , 3.76 ± 1.7 , 7.78 ± 2 , 14.03 ± 2.8 , 39.99 ± 7.1 , 73.39 ± 5 , 85.91 ± 6.2 idi. BaCl₂, düşük konsantrasyonlardaki NaHS (10^{-6} - 10^{-4} M) gevşemelerini etkilemezken yüksek konsantrasyonlardaki NaHS (3×10^{-4} - 10^{-3} M) gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden oldu (Şekil 21 , $P < 0.05$, $n=7$).



Şekil 21. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine **BaCl₂** (10^{-5} M)' in etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P < 0.05$). Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=7).

4.8.5. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Apamin' in Etkisi

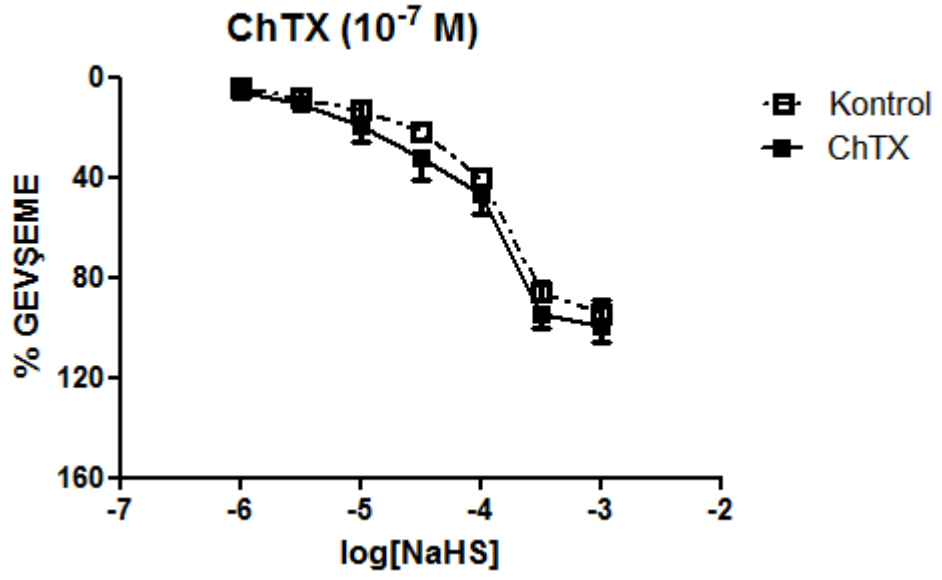
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuların fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme cevapları alındı. Dokular Apamin (10^{-6} M) içeren Krebs' li banyo ortamda 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile - 0.14±1.1, 1.57±2, 6.17±2.6, 16.94±3.4, 41.83±6.5, 89.76±8.8, 100.6±9.1 iken apamin ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 0.14±2.2, 2.17±2.9, 7.75±2.9, 17.19±4.2, 39.96±8, 79.6±6.1, 85.11±5.9 idi. Birinci seri ve ikinci seri gevşemeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 22, $P > 0.05$, $n=8$).



Şekil 22. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine apamin (10^{-6} M)' in etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P>0.05$). Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi (n=8).

4.8.6. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Karibdotoksin' in Etkisi

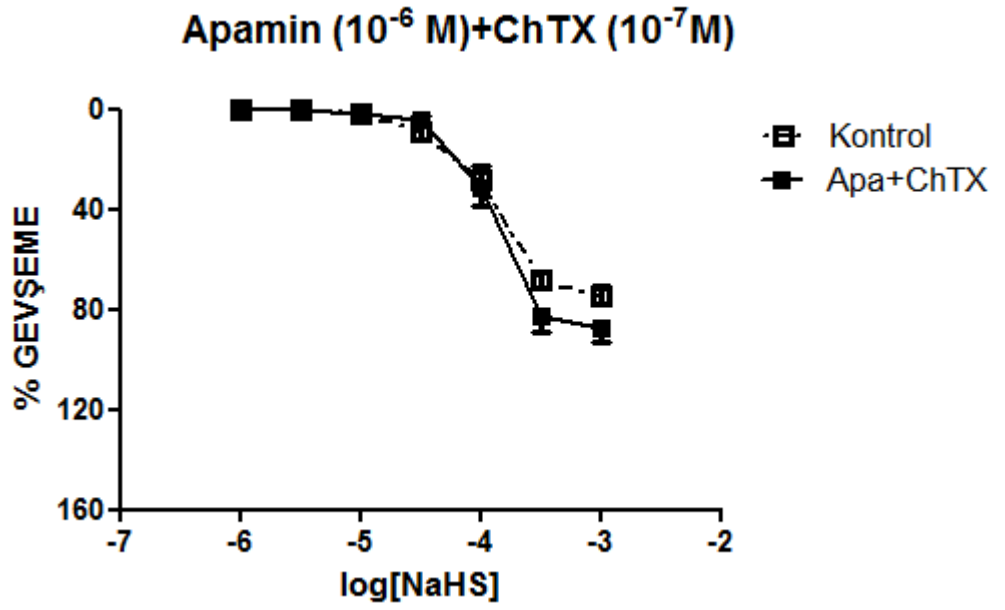
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuların fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme cevapları alındı. Dokular karibdotoksin (ChTX; 10^{-5} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 4.1 ± 1.2 , 8.8 ± 3.4 , 13.1 ± 3.5 , 21.78 ± 2.8 , 40.59 ± 2.3 , 85.82 ± 3.9 , 94.54 ± 5.5 iken karibdotoksin ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 6.22 ± 2.4 , 10.47 ± 3.1 , 19.43 ± 6.3 , 32.78 ± 8.3 , 46.65 ± 8.2 , 94.7 ± 6 , 99.92 ± 5.8 idi. Birinci seri ve ikinci seri gevşemeler arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık yoktu (Şekil 23, $P > 0.05$, $n=10$).



Şekil 23. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine Karibdotoksin (ChTX; 10^{-7} M)' in etkisinin grafiği. Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi ($P>0.05$, $n=10$).

4.8.7. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Apamin Ve Karibdotoksin Kombinasyonunun Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuların fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme cevapları alındı. Dokular apamin (10^{-6} M) ve karibdotoksin (ChTX; 10^{-7} M) kombinasyonu içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile $0,64 \pm 1$, $0,73 \pm 2,18$, $1,71 \pm 3,31$, $9,42 \pm 6,3$, $28,55 \pm 5,35$, $68,76 \pm 3,6$, $75,1 \pm 3,9$ iken apamin ve karibdotoksin kombinasyonu içeren banyo ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile $0,03 \pm 1,25$, $0,07 \pm 1,35$, $2,38 \pm 2,4$, $4,11 \pm 1,7$, $31,92 \pm 6,92$, $78,22 \pm 4,4$, $87,36 \pm 6$ idi. Birinci seri ve ikinci seri gevşemeler arasında istatistiksel (Şekil , $P > 0.05$, $n=5$).

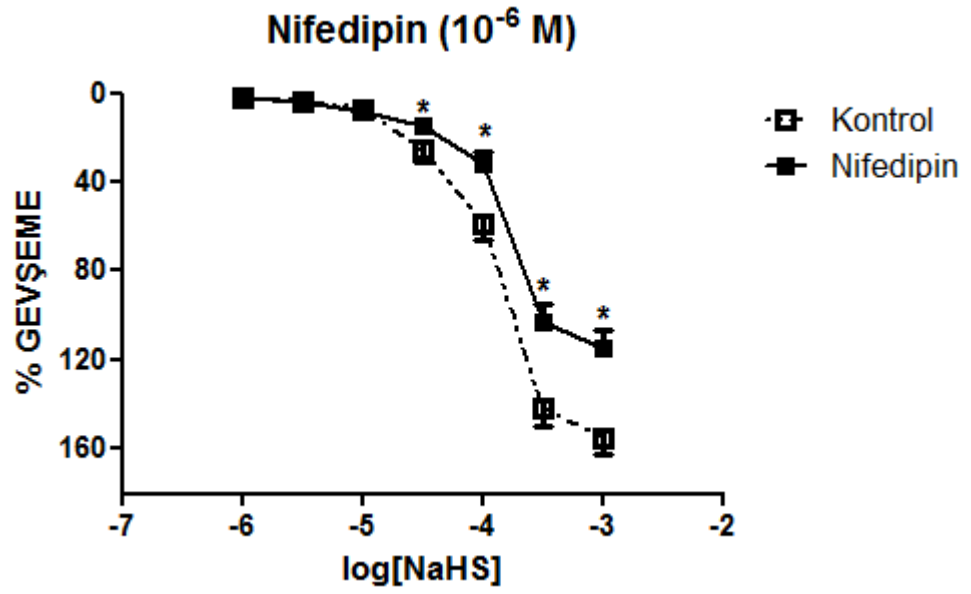


Şekil 24. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine apamin (10^{-6} M) ve karibdotoksin (ChTX; 10^{-7} M) kombinasyonunun etkisinin grafiği. Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi ($P>0.05$, $n=5$).

4.9. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevaplarında Ca^{2+} Kanallarının Etkisi

4.9.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Nifedipin' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuların fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme cevapları alındı. Dokular Nifedipin (M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 2.52 ± 1.6 , 3.98 ± 2.6 , 7.32 ± 3.6 , 25.78 ± 5.1 , 58.94 ± 7.6 , 141.4 ± 8.2 , 155 ± 7.9 iken Nifedipin ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 1.91 ± 1.3 , 4.21 ± 2.1 , 8.73 ± 3 , 14.97 ± 3.1 , 32.22 ± 5.9 , 103.4 ± 8.21 , 114.8 ± 10.17 idi. Birinci seri ve ikinci seri gevşemeler arasında istatistiksel (Şekil 25, $P < 0.05$, $n=6$).

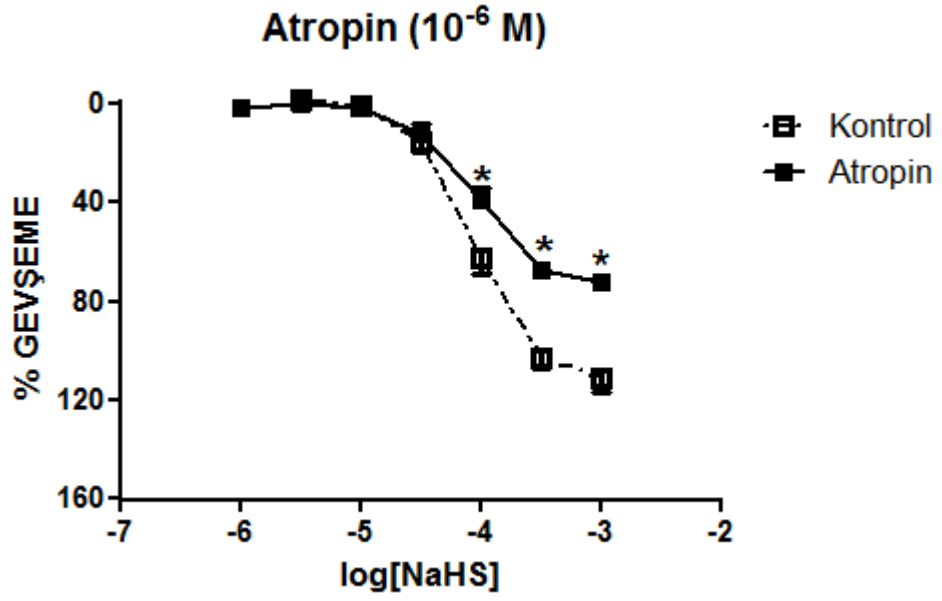


Şekil 25. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine nifedipin (10^{-6} M)' in etkisinin grafiği. Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=6$).

4.10. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevaplarında Muskarinik Reseptörlerin Rolü

4.10.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Atropin' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuların fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme cevapları alındı. Dokular Atropin (10^{-6} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 1.92 ± 2.6 , 2.12 ± 2.4 , 2.87 ± 3.1 , 15.32 ± 4.5 , 62.10 ± 7.2 , 102.60 ± 4.2 , 110.70 ± 5.8 iken Nifedipin ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 1.50 ± 1.8 , 1.50 ± 1.8 , 1.73 ± 3.5 , 11.98 ± 3.9 , 38.82 ± 5 , 67.13 ± 1.9 , 71.8 ± 2.5 idi. Atropin, düşük konsantrasyondaki NaHS gevşemelerini etkilemezken daha yüksek konsantrasyondaki NaHS (3×10^{-5} - 10^{-3} M) gevşeme cevaplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden oldu (Şekil 26, $P < 0.05$, $n=9$).

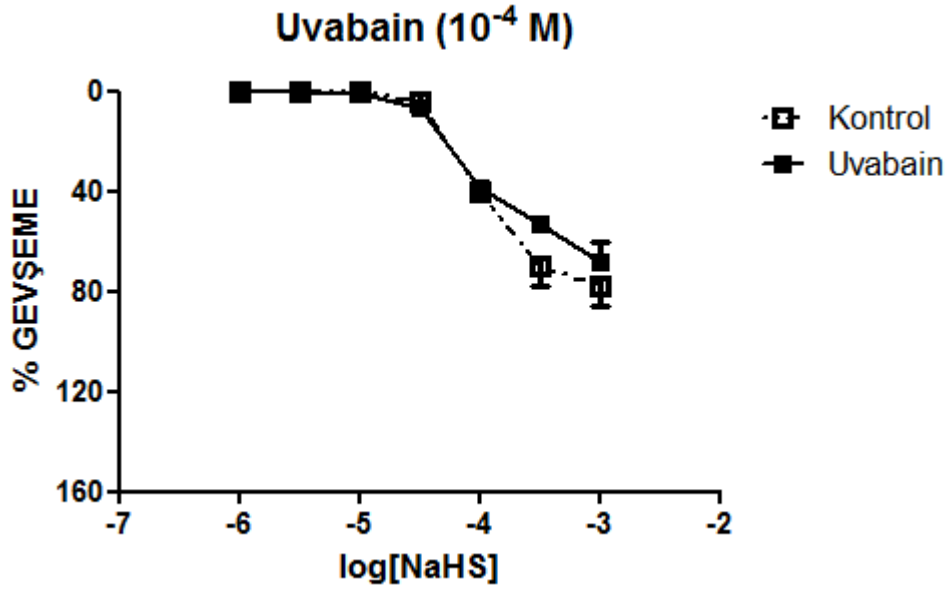


Şekil 26. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine nifedipin (10^{-6} M)' in etkisinin grafiği. Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=9$).

4.11. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevaplarında Na⁺/K⁺-ATP Pompasının Rolü

4.11.1. Kümülatif NaHS Gevşeme Cevapları Üzerine Uvabain' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuların fenilefrin (5×10^{-6} M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme cevapları alındı. Dokular Uvabain (10^{-4} M) içeren Krebs' li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 0 ± 0 , 0 ± 0 , 4.44 ± 3.4 , 40.57 ± 2.3 , 70.28 ± 8 , 77.76 ± 8.1 iken Uvabain ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif NaHS (10^{-6} - 10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 0 ± 0 , 0 ± 0 , 1.18 ± 1.18 , 6.48 ± 3 , 38.86 ± 3.1 , 53.13 ± 2.6 , 68.18 ± 7.8 idi. Birinci seri ve ikinci seri gevşemeler arasında istatistiksel (Şekil 27, $P > 0.05$, $n=8$)



Şekil 27. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif NaHS' in (10^6 - 10^{-3} M) gevşeme cevapları üzerine uvabain (10^{-4} M)' in etkisinin grafiği. Veriler ortalama $\pm$ SH olarak ifade edildi ($P>0.05$, $n=8$).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda, memelilerde üçüncü bir gaz nörotransmitter olarak kabul edilen¹ H₂S' in gevşetici etki mekanizması araştırıldı. H₂S donörü olarak kullanılan NaHS izole fare korpus kavernosum dokusunda konsantrasyona bağlı olarak gevşeme yanıtı oluşturdu. İnsan¹⁴, tavşan¹⁶ ve sıçan¹⁷ korpus kavernosum dokularında yapılan çalışmalarda, ekzojen H₂S' in konsantrasyona bağlı olarak gevşeme yanıtı oluşturduğu bildirilmiştir. Maymunlarda yapılan çalışmada, intrakavernozal olarak H₂S donörü NaHS uygulanması kavernoal basıncın artmasına neden olmuştur¹⁵. Endojen H₂S, ana substratı olan L-sistein' den CBS ve CSE enzimleri aradığıyla sentezlenmektedir^{14,20,25,61}. H₂S' in, L-sistein' den CBS ve CSE enzimleri tarafından sentezine ilave olarak sistein aminotransferaz varlığında 3-MST enzimi tarafından da sentezlenebildiği gösterilmiştir^{5,6}. L-sistein, fenilefrin ile kastırılmış izole fare korpus kavernosum dokusunda konsantrasyona bağlı bir gevşeme yanıtı oluşturdu. L-sistein' in izole insan korpus kavernosum dokusunda gevşemeye ve sıçanlarda kavernoal içi basıncın artmasına neden olduğu gösterilmiştir¹⁴. Çalışmamızda, L-sistein ile oluşan gevşemelerde H₂S' in olası rolünü belirlemek için CBS ve CSE enzim inhibitörlerinin bu gevşeme yanıtları üzerindeki etkisi araştırıldı. L-sistein ile oluşan gevşeme yanıtları, CBS enzim inhibitörü olan aminooksiasetik asit (AOAA) ile etkilenmezken, CSE enzim inhibitörü olan proparjil glisin (PAG) tarafından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe oldu; ancak L-sistein gevşemeleri tamamen ortadan kalkmadı. Bu bulgular, fare korpus kavernosum dokusunda; i) L-sistein' in neden olduğu gevşemelerin kısmen H₂S oluşumu ile gerçekleştiğini, ii) L-sistein' den oluşan endojen H₂S sentezinden sorumlu enzimin CSE enzimi olabileceğini ve iii) fare korpus kavernosum dokusunda L-sistein/H₂S yolağının varlığını düşündürmektedir. İzole sıçan korpus kavernosum dokusunda yapılan çalışmada, sadece CSE enziminin varlığı gösterilmiştir; CBS enzimi ekprese edilmemiştir¹⁷. İnsan korpus kavernosum dokusunda ise CSE ve CBS enzimlerinin

her ikisinin ekspresyonu bildirilmiştir¹⁴. Ayrıca, insan¹⁴, tavşan¹⁶ ve sıçan¹⁷ korpus kavernosum doku homojenatlarında, bazal durumda ve L-sistein' in varlığında H₂S oluşumu gösterilmiştir. İnsan korpus kavernosum dokusunda, L-sistein varlığında H₂S oluşumu CBS ve CSE enzim inhibitörleri tarafından anlamlı bir şekilde azalmıştır¹⁴. Ancak, sıçan korpus kavernosum, L-sistein' den H₂S sentezinin sadece CSE enzim inhibitörü ile inhibe edildiği gösterilmiştir. Ayrıca, sıçan torasik aorta ve mezenterik arter yatağında, L-sistein' in CSE enzimini aktive ederek H₂S oluşumu üzerinden gevşemeye neden olduğu bildirilmiştir^{67,92}. Zhao ve ark., CBS ve CSE enzim inhibitörlerinin endojen H₂S sentezindeki etkinliklerinin farklı doku tiplerinde değişiklik gösterdiğini ileri sürmüşlerdir²²³ ve bizim bulgumuz da bu görüşü teyit etmektedir.

Korpus kavernosum düz kasının tonusu sinirler ve endotelyum tarafından kontrol edilmektedir¹¹⁸. Bu düz kasın gevşemesine yol açan mekanizmanın bozulması sonucu impotensin geliştiği yapılan araştırmalarda gösterilmiştir¹¹⁹. Çalışmamızda, H₂S' in bu dokudaki gevşetici etkisinde düz kas veya endotelyumun katkısını belirlemek amacıyla, mekanik olarak endotel hasarı oluşturuldu. Endotelyumsuz dokularda, ekzojen H₂S gevşemelerinde bir değişiklik gözlenmedi. Bu bulgu, H₂S' in bu dokudaki gevşetici etkisinin endotelyum' dan bağımsız olduğunu ve gevşeme yanıtlarını direkt düz kas üzerinden gerçekleştirdiğini düşündürmektedir. İnsan umbilikal ven endotel hücreleri, sıçır aorta endotel hücreleri ve fare arteriyel endotel hücrelerinde CSE enziminin varlığı gösterilmiş ve bu dokulardaki H₂S' in endotelyumdan sentezlenip salverildiği ileri sürülmüştür⁴. Ayrıca, torasik aorta endotelyumunda 3-MST ve CAT enzimlerinin ekspresyonu gösterilmiştir⁵. Sıçan aortasında, H₂S' in vazodilatör etkisinin esas olarak düz kas üzerindeki direkt etkisinden kaynaklandığı ve bu etkinin çok az kısmının endotelyum' a bağlı olarak gerçekleştirildiği bildirilmiştir^{8,69}. Benzer olarak, fare torasik aortasında, ekzojen H₂S gevşeme yanıtlarında endotelyumun rolünün olmadığını belirlenmiştir⁷⁰. Sıçan mezenterik arterinde ise H₂S gevşemelerinde endotelyum'un katkısı gösterilmiştir⁶⁷. Mevcut çalışmalarla birlikte bizim bulgularımızı da değerlendirdiğimizde, H₂S gevşemelerinde endotelyum' un katkısının doku farklılığına göre değişkenlik gösterdiğini söyleyebiliriz.

Yapılan çalışmalarda NANK sinirlerden salıverilen NO' nun ereksiyona aracılık eden en önemli gevşetici endojen mediyatör olduğu gösterilmiştir^{13,151}. Fare korpus kavrenosum dokusunda NO' nun ekzojen H₂S gevşemelerindeki olası katkısını araştırmak için NOS inhibitörü L-NA kullanıldı. L-NA, ekzojen H₂S' in yüksek konsantrasyonunda (10^{-3} M) elde edilen gevşeme yanıtlarında artışa neden oldu. Çalışmamızda L-NA ile elde edilen bulgunun tersi yönünde, vasküler dokularda ekzojen H₂S' in vazodilatör etkisinin NOS inhibitörleri veya endotelyum' un uzaklaştırılması ile azaldığı bulunmuş ve H₂S gevşemelerinde endotelyum' dan NO veya diğer endotel kaynaklı relaksan faktörlerin salıverilmesinin rolü olabileceği ileri sürülmüştür^{8,69,224}. Benzer şekilde, sıçan korpus kavrenosum dokusunda ekzojen H₂S' in eNOS üzerinden NO sentezini artırdığı ve bu dokudaki proerektıl etkisini NO yolağını artırarak gerçekleştirdiği ileri sürülmüştür¹⁸. Tavşan korpus kavrenosum dokusunda yapılan çalışmada ise nitrerjik gevşemelerin CBS ve CSE enzim inhibitörleri tarafından etkilenmediği gösterilmiştir¹⁶; ancak, sıçan korpus kavrenosum dokusunda CSE enzim inhibitörü olan PAG, NO-aracılı NANK sinirsel gevşemeleri potansiyalize etmiştir¹⁷. Bu etkinin, endojen H₂S' in NOS aktivitesini inhibe etmesinden veya direkt olarak NO ile kimyasal bir reaksiyona girmesinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür. Endojen H₂S' in NOS aktivitesini inhibe ettiği görüşünü destekleyen çalışmada, ekzojen H₂S' in nNOS, eNOS ve iNOS olmak üzere üç NOS izoformunun aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiş; nNOS ve eNOS aktivitelerinin inhibisyonuna BH₄ ile H₂S arasındaki etkileşimin neden olabileceği belirlenmiştir¹⁰⁰. Başka bir çalışmada ise, H₂S' in, NO donörlerinin vazodilatör yanıtlarını azalttığı gösterilmiş ve bu inhibisyonun NO ve H₂S arasındaki direkt bir reaksiyon sonucunda nitrozotiyol benzeri bir molekülün oluşması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir^{98,97}. Ayrıca, sıçan ve fare aortasında, ekzojen H₂S varlığında fenilefrin ve potasyum klorür (KCl) kasılmalarında artış gözlenmiş, ve H₂S' in eNOS' un direkt inhibisyonu ve/veya NO' yu yakalamasolmak üzere iki farklı mekanizma ile NO' nun vazodilatör etkisini bastırdığı ve bunun sonucunda da kasılma yanıtlarının artışına neden olduğu ileri sürülmüştür⁹⁹. Çalışmamızda, NOS inhibitörü varlığında, yüksek konsantrasyondaki ekzojen H₂S gevşemelerinin artmasının, NOS inhibisyonu ile bazal durumda endojen olarak salıverilen NO

düzeyinin düşmesi sonucu nitrozotiyol oluşumunun azalmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda, izole fare korpus kavernosum dokusunda sGS inhibitörü ODQ varlığında ekzojen H_2S ile oluşan gevşemelerin arttığı gözlemlendi. Ayrıca, ortama L-NA ilavesi, ODQ ile elde edilen ekzojen H_2S gevşemelerindeki artışı potansiyalize etti. Bu bulgu, fare korpus kavernosum dokusunda NO/sGMP yolağının H_2S gevşemeler üzerinde inhibitör rolünün olduğunu göstermektedir. Bu inhibisyonun bazal NO' nun H_2S ile kimyasal reaksiyona girmesi sonucu H_2S ' in etkinliğinin azalmasına ve/veya sGMP düzeyine bağlı olarak gerçekleşebileceğini düşündürmektedir. Intraselüler sGMP düzeyi, guanilil siklaz ve fosfodiesterazlar arasındaki denge ile belirlenmektedir^{168,225}. sGMP' nin ekzojen H_2S gevşemelerindeki direkt etkisini belirlemek için sGMP' ye spesifik fosfodiesteraz inhibitörleri olan zaprinast ve sildenafil' in etkilerini araştırdık. Bu inhibitörler ekzojen H_2S gevşemelerinde anlamlı bir azalmaya neden oldu. Bu bulgu, ODQ bulguları ile paralellik göstermektedir ve sGMP' nin ekzojen H_2S gevşemelerinde inhibitör rolü olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, ekzojen H_2S ' in izole korpus kavernosum dokusundaki gevşetici etkisinde adenilil siklaz/sAMP yolağının rolü araştırıldı; selektif adenilil siklaz inhibitörü SQ 22536 ve non-selektif adenilil siklaz inhibitörü NEM ekzojen H_2S gevşemelerinde anlamlı bir azalmaya neden oldu. Bu bulgular, bu dokuda ekzojen H_2S ' in gevşetici etkisinde adenilil siklaz' ın rolü olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda, adenilil siklaz yolağı ile ilgili bulgularımız literatürdeki mevcut çalışmalarla paralellik göstermektedir. Keza, tavşan korpus kavernosum dokusunda, adenilil siklaz inhibitörü MDL 12,330A, H_2S ' un gevşetici yanıtını azaltmış ve bu dokuda H_2S ' in proerektıl etkisinde sAMP yolğının katkısının olabileceği ileri sürülmüştür¹⁶. Benzer şekilde, izole sıçan korpus kavernosum dokusunda, ekzojen H_2S ' in suprafizyolojik konsantrasyonlarda oluşturduğu gevşemelerin sAMP' ye-bğlı yolak üzerinden gerçekleştirdiği bildirilmiştir¹⁷.

Vasküler dokularda yapılan araştırmalarda, ekzojen H_2S ile oluşan vazodilatasyonda K^+ kanallarının rolü olduğu bildirilmiştir^{8,67,70}. Çalışmamızda, izole fare korpus kavernosum dokusunda ekzojen H_2S ile oluşan gevşeme yanıtlarında K^+

kanallarının katkısı araştırıldı. Dokuların 50 mM K^+ ile muamele edilmesi, H_2S gevşemeleri üzerinde anlamlı bir azalmaya neden oldu. Al-Magableh ve ark.⁷⁰ fare torasik aorta dokusunda bulgumuza benzer olarak yüksek K^+ (50 mM) ile ekzojen H_2S gevşemelerinde anlamlı bir azalma elde etmişlerdir ve bu azalmanın K^+ un yüksek konsantrasyonunda K^+ kanallarını bloke etmesine bağlı olarak geliştiğini bildirmişlerdir. Bizim bulgumuz da fare korpus kavernosumunda, ekzojen H_2S in düşük konsantrasyonda oluşturduğu gevşemelerde K^+ kanallarının rolünün olabileceğini düşündürmektedir. Benzer olarak, KCl ile kastırılmış izole insan korpus kavernosum dokusunda ekzojen H_2S gevşemelerinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir¹⁴. Vasküler düz kasta H_2S in K_{ATP} kanallarını aktive ettiği bildirilmiştir⁸. Çalışmamızda, K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid yüksek dozlardaki ekzojen H_2S gevşemelerinde anlamlı bir azalmaya neden oldu. Glibenklamid varlığında gevşemelerin tamamen ortadan kalkmaması nedeniyle K_{ATP} kanallarına ilave olarak başka mekanizmaların da bu gevşemelere aracılık edebileceği düşünülmektedir. Bu bulgumuza paralel olarak, insan ve sıçan korpus kavernosum düz kasında ekzojen H_2S ile oluşan gevşeme yanıtlarının glibenklamid ile kısmen inhibe olduğu bildirilmiştir^{14,17}. Fare korpus kavernosum dokusunda K^+ kanallarının rolünü aydınlatmaya yönelik diğer bulgumuz, K_V kanal inhibitörü olan 4-AP varlığında, ekzojen H_2S in yüksek konsantrasyonlardaki gevşetici yanıtlarının azalmasıdır. Ancak, sıçan torasik aorta⁸, fare distal kolon¹¹ ve fare mide fundus⁹ dokularında, 4-AP ekzojen H_2S gevşemelerini etkilememiştir. Bizim bulgumuza paralel olarak, sıçan koroner arterinde, ekzojen H_2S ile oluşan gevşemeler 4-AP varlığında anlamlı bir şekilde azalmış ve ekzojen H_2S in bu dokudaki vazodilatör etkisinin kısmen K_V kanalları üzerinden olduğu ileri sürülmüştür¹⁰⁸. Fare aortasında yapılan çalışmada, 4-AP' in ekzojen H_2S ile oluşan vazodilatasyondaki sensitiviteyi azalttığı bildirilmiştir⁷⁰. Ayrıca, sıçan aortasında ekzojen H_2S gevşeme cevaplarında 4-AP ile inhibisyon gözlenmez iken, selektif K_V7 kanal blokörleri olan linopiridin ve XE-991 bu gevşemeleri belirgin olarak inhibe etmiştir. H_2S in vazodilatör etkisinin önemli bir kısmına K_V7 kanallarının aktivasyonunun aracılık ettiği ileri sürülmüştür¹⁰⁹. Bu bilgiler ışığında ve elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda, fare korpus kavernosum dokusunda ekzojen H_2S gevşemelerinde K_V kanallarının rolünün olduğu

düşünülmektedir. Araştırmamızda ayrıca ekzojen H_2S ' in gevşetici yanıtlarında K_{IR} kanallarının rolü incelendi. K_{IR} kanal blokörü $BaCl_2$ yüksek konsantrasyonda elde edilen ekzojen H_2S ' in gevşetici yanıtları anlamlı olarak azalttı. Benzer olarak, $BaCl_2$ ' nin fare aortasında ekzojen H_2S ile oluşan vazodilatör yanıtın duyarlılığını azalttığı bildirilmiştir⁷⁰. Mevcut bulgumuz ekzojen H_2S ' in gevşetici yanıtlarında K_{IR} kanallarının rolü olabileceği yönündedir. Ancak, fare gastrik fundus⁹ ve distal kolonunda¹¹ yapılan çalışmalarda, $BaCl_2$ ' in ekzojen H_2S ile oluşan gevşeme yanıtlarını değiştirmediği gösterilmiş olup bu tezatlığın doku farklılığından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. İlave olarak, deneylerimizde ekzojen H_2S ile elde edilen gevşemelerde K_{Ca}^{2+} kanallarının rolünü araştırmak amacıyla, SK_{Ca}^{2+} kanal blokörü apamin ve IK_{Ca}^{2+} ve BK_{Ca}^{2+} kanal blokörü olan karibdotoksin kullanıldı. Apamin veya karibdotoksin varlığında, ekzojen H_2S gevşemelerinde bir değişiklik gözlenmedi. Benzer olarak, fare gastrik fundus⁹, fare distal kolon¹¹ ve sıçan aorta⁶⁹ dokularında H_2S ile oluşan gevşeme yanıtlarında karibdotoksin veya apamin' in bir etki oluşturmadığı bildirilmiş ve H_2S ' in gevşetici etkisinde K_{Ca}^{2+} kanallarının rolünün olmadığı ileri sürülmüştür⁶⁹. Yapılan çeşitli araştırmalarda EDHF' nin etkisini esas olarak endotelyumda bulunan SK_{Ca}^{2+} ve IK_{Ca}^{2+} üzerinden gerçekleştirdiği bildirilmiştir⁴⁸. Çalışmamızda, ekzojen H_2S ' in izole fare korpus kavernosum dokusundaki gevşeme yanıtlarında EDHF' nin rolünü araştırmak için SK_{Ca}^{2+} ve IK_{Ca}^{2+} inhibitörleri olan apamin ve karibdotoksin kombinasyonu kullanıldı. Apamin ve karibdotoksin kombinasyonu gevşemeler üzerinde anlamlı bir farklılık oluşturmadı. Bu bulgumuz endotelyumsuz dokuda ekzojen H_2S ' in gevşeme yanıtlarının değişmemesi ile paralellik göstermektedir ve fare korpus kavernosum dokusunda ekzojen H_2S gevşemelerinin EDHF' den bağımsız olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda, ekzojen H_2S gevşeme yanıtlarının mekanizmasında L-tipi voltaja-bağımlı Ca^{2+} kanallarının olası rolünün araştırılması için nifedipin kullanıldı. Nifedipin, yüksek konsantrasyonlardaki ekzojen H_2S yanıtlarını inhibe etti. Bulgumuza benzer olarak, nifedipin' in sıçan aorta ve fare aorta dokularında H_2S ' in neden olduğu vazodilatasyonu azalttığı bildirilmiştir^{69,70} ve H_2S ' in gevşetici etkisinin direkt olarak düz kastaki voltaja-bağımlı Ca^{2+} kanallarını inhibe etmesi ile

gerçekleştirebileceği ileri sürülmüştür⁶⁹. Ekzojen H₂S' in, sıkan kalp miyosit hücrelerinde L-tipi voltaja-bağımlı Ca²⁺ kanallarını inhibe ettiği gösterilmiştir²²⁶. Bu verilerden farklı olarak, fare distal kolon¹¹ ve fare gastrik fundus⁹ dokularında ekzojen H₂S gevşeme yanıtlarının L-tipi voltaja-bağımlı Ca²⁺ kanallarından bağımsız olduğu bildirilmiştir. İzole fare korpus kavernosum dokusundaki ekzojen H₂S gevşeme yanıtlarında nifedipin vasküler dokulardaki etkisi ile benzerlik göstermektedir. Bulgularımız, bu dokudaki ekzojen H₂S gevşeme yanıtlarında L-tipi voltaja-bağımlı Ca²⁺ kanallarının rolü olduğunu düşündürmektedir.

Yang ve ark.⁴, CSE enzimi silinmiş farelerden izole edilen damar dokusunda kolinerjik agonist ile oluşan gevşeme yanıtlarının azaldığını ve metakolin ile artmış olan endojen H₂S düzeyinin atropin ile inhibe olduğunu göstermişlerdir⁴. Çalışmamızda ekzojen H₂S' in izole fare korpus kavernosum dokusundaki gevşetici yanıtlarında muskarinik reseptörlerin rolünü belirlemek için muskarinik reseptör blokörü atropin' in etkisi araştırıldı. Atropin, ekzojen H₂S' in yüksek konsantrasyonlardaki gevşeme yanıtlarında anlamlı bir inhibisyona neden oldu. Literatür araştırmalarımızda ekzojen H₂S ile oluşan gevşeme mekanizmasında muskarinik reseptörlerin katkısı ile ilgili bir bulgu bulunamamıştır. Bizim bulgumuz doğrultusunda, izole fare korpus kavernosum dokusunda ekzojen H₂S ile oluşan gevşeme yanıtlarının muskarinik reseptörler üzerinden gerçekleştirebileceği olasıdır. Bu etkinin tamamen aydınlatılabilmesi için ilave deneylere ihtiyaç vardır.

Na⁺-K⁺-ATPaz aktivasyonunun insan korpus kavernosum düz kasının kasılmasını modüle ettiği gösterilmiştir²²⁷. Çalışmamızda korpus kavernosum dokusunda ekzojen H₂S' in neden olduğu gevşeme yanıtında Na⁺-K⁺-ATPaz'ın olası rolü araştırıldı. Na⁺-K⁺-ATPaz inhibitörü uvabain, ekzojen H₂S gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik oluşturmadi. Bulgumuzla paralel olarak, izole fare fundus⁹ ve distal kolon¹¹ dokularında uvabain' in ekzojen H₂S gevşeme yanıtlarında herhangi bir inhibisyona neden olmadığı gösterilmiştir. Bulgularımıza göre, ekzojen H₂S' in izole fare korpus kavernosum dokusunda oluşturduğu gevşemelerde Na⁺-K⁺-ATPaz pompasının rolünün olmadığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, fare korpus kavernosum dokusunda endojen olarak H₂S' in L-sistein' den , sistation gama liyaz enzimi aradığıyla sentezlendiği, gevşetici etkisini endotelyum' dan bğımsız olarak direkt düz kas üzerinden; i)adenilil siklaz/sAMP, ii) K⁺ kanalları, iii) L-tipi voltaja-bağımlı Ca²⁺ kanalları ve iv) muskarinik reseptörler aracılığıyla gerçekleştirebileceği ve bu etkisinin NO/sGMP tarafından baskılandığı düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, fenilefrin ile kastırılmış izole fare korpus kavernosum dokusunda ekzojen H_2S ile oluşan gevşeme yanıtlarının mekanizması araştırıldı. Öncelikle, bu dokuda L-sistein ile oluşan gevşeme yanıtları CBS enzim inhibitörü olan AOAA ile etkilenmezken CSE enzim inhibitörü tarafından anlamlı olarak azalmaya neden oldu. Bu bulgu, bu dokuda L-sistein ile oluşan gevşemelerin H_2S oluşumu üzerinden gerçekleştiğini ve CSE enzimin bu dokudaki varlığını teyit etmektedir. İzole fare korpus kavernosum dokusunda endotelyum' un uzaklaştırılması ile ekzojen H_2S gevşeme yanıtlarında bir değişiklik gözlenmemesi H_2S ' in bu etkisini direkt olarak düz kas üzerinden gerçekleştirdiğini işaret etmektedir. Çalışmamızda, NOS inhibitörü olan L-NA ve guanilil siklaz inhibitörü ODQ yüksek konsantrasyonda ekzojen H_2S ile oluşan gevşeme yanıtlarının artmasına neden oldu. Ayrıca, L-NA ve ODQ' nun birlikte uygulanması ekzojen H_2S gevşemelerindeki artışı potansiyalize etti. Bu bulgular, fare korpus kavernosum dokusunda NO/sGMP yolağının H_2S gevşemeleri üzerinde inhibitör rolünün olduğunu düşündürmektedir. sGMP' ye spesifik fosfodiesteraz inhibitörleri sildenafil ve zaprinast' ın ekzojen H_2S gevşeme yanıtlarında inhibisyona neden olmaları sGMP' nin H_2S ' in etkinliğini baskıladığı yönündeki bulgumuzu desteklemektedir. Adenilil siklaz inhibitörleri SQ22536 ve NEM ekzojen H_2S gevşemelerinde anlamlı bir azalmaya neden oldu. Bu bulgu, ekzojen H_2S ' in bu dokudaki neden olduğu gevşetici etkisinde adenilil siklaz/sAMP yolağının rolü olduğunu göstermektedir. Yüksek konsantrasyonda K^+ varlığında ekzojen H_2S gevşeme yanıtlarının azalması H_2S ' in neden olduğu gevşetici etkisinde K^+ kanallarının katkısı olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, i) K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid, ii) K_V kanal blokörü 4-AP ve iii) K_{IR} kanal blokörü $BaCl_2$ ' nin yüksek konsantrasyonlardaki ekzojen H_2S ile oluşan gevşemelerde anlamlı bir azalmaya neden olmaları ekzojen H_2S ' in bu yüksek konsantrasyonlardaki gevşemelerinin bu kanallar aracılığı ile gerçekleştirdiğine işaret etmektedir. Ancak, ekzojen H_2S gevşemelerinin i) SK_{Ca}^{2+} kanal blokörü apamin veya ii) IK_{Ca}^{2+} ve BK_{Ca}^{2+} kanal blokörü karibdotoksin tarafından etkilenmemesi bu gevşemelerde K_{Ca}^{2+}

kanallarının rolünün olmadığını göstermektedir. Ekzojen H_2S ile oluşan gevşemelerde, EDHF' nin rolünün belirlenmesi amacıyla apamin ve karibdotoksin' in birlikte uygulanması gevşeme yanıtlarında herhangi bir değişikliğe neden olmadı. EDHF' nin bu gevşemelerde rolünün olmaması, ekzojen H_2S gevşeme cevaplarının endotelyumdan bağımsız olması yönündeki bulgumuzla uyumluluk göstermektedir. Voltaja-bağımlı L-tipi Ca^{2+} kanal inhibitörü olan nifedipin' in, ekzojen H_2S gevşemelerinde anlamlı bir inhibisyon oluşturdu. Bulgumuz, bu dokudaki ekzojen H_2S gevşeme yanıtlarında L-tipi voltaja-bağımlı Ca^{2+} kanallarının rolü olduğunu düşündürmektedir. Muskarinik reseptör antagonisti atropin ile ekzojen H_2S gevşeme yanıtlarının azalması bu gevşemelerin muskarinik reseptörler aracılığı ile gerçekleşebileceğini göstermektedir. Son olarak, $Na^+-K^+-ATPaz$ inhibitörü uvabain tarafından, ekzojen H_2S gevşemeleri etkilenmedi. Bu bulgumuz, ekzojen H_2S gevşeme yanıtlarının $Na^+-K^+-ATPaz$ ile ilişkili olmadığını işaret etmektedir.

REFERANSLAR

1. **Wang R.** Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB J*, **2002**; 16(13):1792-8.
2. **Abe K and Kimura H.** The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci*, 1996; **16**(3): 1066-71.
3. **Hosoki R, Matsuki N, Kimura H.** The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun*, **1997**; 237(3): 527-31.
4. **Yang G, Wu L, Jiang B, Yang W, Qi J, Cao K, Meng Q, Mustafa AK, Mu W, Zhang S, Snyder SH, Wang R.** H₂S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase. *Science*, **2008**; 322(5901): 587-90.
5. **Shibuya N, Mikami Y, Kimura Y, Nagahara N, Kimura H.** Vascular endothelium expresses 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase and produces hydrogen sulfide. *J Biochem*, **2009**; 146(5):623-6.
6. **Kimura H.** Hydrogen sulfide: its production, release and functions. *Amino Acids*, **2011**; 41(1):113-21.
7. **Rashid S, Heer JK, Garle MJ, Alexander SP, Roberts RE.** Hydrogen sulphide-induced relaxation of porcine peripheral bronchioles. *Br J Pharmacol*, **2013**; 168(8): 1902-10.
8. **Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R.** The vasorelaxant effect of H(2)S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener. *EMBO J*, **2001**; 20(21): 6008-16.
9. **Dhaese I, Lefebvre RA.** Myosin light chain phosphatase activation is involved in the hydrogen sulfide-induced relaxation in mouse gastric fundus. *Eur J Pharmacol*, **2009**; 606(1-3): 180-6.
10. **Webb GD, Lim LH, Oh VM, Yeo SB, Cheong YP, Ali MY, El Oakley R, Lee CN, Wong PS, Caleb MG, Salto-Tellez M, Bhatia M, Chan ES, Taylor EA, Moore PK.** Contractile and vasorelaxant effects of hydrogen sulfide and its biosynthesis in the human internal mammary artery. , **2008**; 324(2): 876-82.
11. **Dhaese I, Van Colen I, Lefebvre RA.** Mechanisms of action of hydrogen sulfide in relaxation of mouse distal colonic smooth muscle. *Eur J Pharmacol*, **2010**; 628(1-3): 179-86.
12. **Fusco F, di Villa Bianca Rd, Mitidieri E, Cirino G, Sorrentino R, Mirone V.** Sildenafil effect on the human bladder involves the L-cysteine/hydrogen sulfide pathway: a novel mechanism of action of phosphodiesterase type 5 inhibitors. *Eur Urol*, **2012**; 62(6):1174-80.
13. **Andersson KE.** Pharmacology of penile erection. *Pharmacol Rev*, **2001**; 53(3): 417-50.
14. **d'Emmanuele di Villa Bianca R, Sorrentino R, Maffia P, Mirone V, Imbimbo C, Fusco F, De Palma R, Ignarro LJ, Cirino G.** Hydrogen sulfide as a mediator of human corpus cavernosum smooth-muscle relaxation. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2009**; 106(11):4513-8.
15. **Srilatha B, Adaikan PG, Moore PK.** Possible role for the novel gasotransmitter hydrogen sulphide in erectile dysfunction--a pilot study. *Eur J Pharmacol*, **2006**; 535(1-3): 280-2.

16. **Srilatha B, Adaikan PG, Li L, Moore PK.** Hydrogen sulphide: a novel endogenous gasotransmitter facilitates erectile function. *J Sex Med*, **2007**; 4(5): 1304-11.
17. **Ghasemi M, Dehpour AR, Moore KP, Mani AR.** Role of endogenous hydrogen sulfide in neurogenic relaxation of rat corpus cavernosum. *Biochem Pharmacol*, **2012**; 83(9):1261-8.
18. **Meng J, Ganesan Adaikan P, Srilatha B.** Hydrogen sulfide promotes nitric oxide production in corpus cavernosum by enhancing expression of endothelial nitric oxide synthase. *Int J Impot Res*, **2013**; 25(3): 86-90.
19. **Kimura H.** Hydrogen sulfide as a neuromodulator. *Mol Neurobiol*, **2002**; 26(1): 13-9.
20. **Mancardi D, Penna C, Merlino A, Del Soldato P, Wink DA, Pagliaro P.** Physiological and pharmacological features of the novel gasotransmitter: hydrogen sulfide. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, **2009**;1787(7): 864– 872.
21. **Whiteman M, Le Trionnaire S, Chopra M, Fox B, Whatmore J.** Emerging role of hydrogen sulfide in health and disease: critical appraisal of biomarkers and pharmacological tools. *Clin Sci (Lond)*, **2011**; 121(11):459-88.
22. **Paul BD, Snyder SH.** H₂S signalling through protein sulfhydration and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **2012**;13(8): 499-507.
23. **Pae HO, Lee YC, Jo EK, Chung HT.** Subtle interplay of endogenous bioactive gases (NO, CO and H(2)S) in inflammation. *Arch Pharm Res*, **2009**; 32(8):1155-62.
24. **Munaron L, Avanzato D, Moccia F, Mancardi D.** Hydrogen sulfide as a regulator of calcium channels. *Cell Calcium*, **2013**; 53(2):77-84.
25. **Lowicka E, Beltowski J.** Hydrogen sulfide (H₂S) - the third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacol Rep*, **2007**; 59(1): 4-24.
26. **Whiteman M, Armstrong JS, Chu SH, Jia-Ling S, Wong BS, Cheung NS, Halliwell B, Moore PK.** The novel neuromodulator hydrogen sulfide: an endogenous peroxynitrite 'scavenger'? *J Neurochem*, **2004**; **90**(3): 765-8.
27. **Fiorucci S, Distrutti E, Cirino G, Wallace JL.** The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver. *Gastroenterology*. **2006**; 131(1): 259-71.
28. **Predmore BL, Lefer DJ, Gojon G.** Hydrogen sulfide in biochemistry and medicine. *Antioxid Redox Signal*. **2012**; 17(1): 119-40.
29. **Doeller JE, Isbell TS, Benavides G, Koenitzer J, Patel H, Patel RP, Lancaster JR Jr, Darley-Usmar VM, Kraus DW.** Polarographic measurement of hydrogen sulfide production and consumption by mammalian tissues. *Anal Biochem*, **2005**; 341(1): 40-51.
30. **Patel P, Vatish M, Heptinstall J, Wang R, Carson RJ.** The endogenous production of hydrogen sulphide in intrauterine tissues. *Reprod Biol Endocrinol*. **2009**; **7**:10.
31. **Fang L, Zhao J, Chen Y, Ma T, Xu G, Tang C, Liu X, Geng B.** Hydrogen sulfide derived from periaidventitial adipose tissue is a vasodilator. *J Hypertens*, **2009**; 27(11): 2174-85.
32. **Du JT, Li W, Yang JY, Tang CS, Li Q, Jin HF.** Hydrogen sulfide is endogenously generated in rat skeletal muscle and exerts a protective effect against oxidative stress. *Chin Med J (Engl)*, **2013**; 126(5): 930-6.

33. Szabó C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov*, **2007**; 6(11): 917-35.
34. Kimura H. Hydrogen sulfide: from brain to gut. *Antioxid Redox Signal*, **2010**; 12(9):1111-23.
35. Jimenez M. Hydrogen sulfide as a signaling molecule in the enteric nervous system. *Neurogastroenterol Motil*, **2010**; 22(11): 1149-53.
36. Benavides GA, Squadrito GL, Mills RW, Patel HD, Isbell TS, Patel RP, Darley-Usmar VM, Doeller JE, Kraus DW. Hydrogen sulfide mediates the vasoactivity of garlic. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2007**; 104(46): 17977-82.
37. Singh S, Padovani D, Leslie RA, Chiku T, Banerjee R. Relative contributions of cystathionine beta-synthase and gamma-cystathionase to H₂S biogenesis via alternative trans-sulfuration reactions. *J Biol Chem*, **2009**; 284(33):22457-66.
38. Chen X, Jhee KH, Kruger WD. Production of the neuromodulator H₂S by cystathionine beta-synthase via the condensation of cysteine and homocysteine. *J Biol Chem*, **2004**; 279(50): 52082-6.
39. Beard RS Jr, Bearden SE. Vascular complications of cystathionine β -synthase deficiency: future directions for homocysteine-to-hydrogen sulfide research. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2011**; 300(1): H13-26.
40. Kery V, Bukovska G, Kraus JP. Transsulfuration depends on heme in addition to pyridoxal 5'-phosphate. Cystathionine beta-synthase is a heme protein. *J Biol Chem*, **1994**; 269(41):25283-8.
41. Meier M, Janosik M, Kery V, Kraus JP, Burkhard P. Structure of human cystathionine beta-synthase: a unique pyridoxal 5'-phosphate-dependent heme protein. *EMBO J*, **2001**; 20(15): 3910-6.
42. Maclean KN, Janosik M, Kraus E, Kozich V, Allen RH, Raab BK, Kraus JP. Cystathionine beta-synthase is coordinately regulated with proliferation through a redox-sensitive mechanism in cultured human cells and *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Physiol*, **2002**; 192(1): 81-92.
43. Stipanuk MH, Beck PW. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat. *Biochem J*, **1982**; 206(2): 267-77.
44. Singh S, Banerjee R. PLP-dependent H(2)S biogenesis. *Biochim Biophys Acta*, **2011**; 1814(11): 1518-27.
45. Chiku T, Padovani D, Zhu W, Singh S, Vitvitsky V, Banerjee R. H₂S biogenesis by human cystathionine gamma-lyase leads to the novel sulfur metabolites lanthionine and homolanthionine and is responsive to the grade of hyperhomocysteinemia. *J Biol Chem*, **2009**; 284(17): 11601-12.
46. Diwakar L, Ravindranath V. Inhibition of cystathionine-gamma-lyase leads to loss of glutathione and aggravation of mitochondrial dysfunction mediated by excitatory amino acid in the CNS. *Neurochem Int*. **2007**; 50(2):418-26.
47. Kaneko Y, Kimura Y, Kimura H, Niki I. L-cysteine inhibits insulin release from the pancreatic beta-cell: possible involvement of metabolic production of hydrogen sulfide, a novel gasotransmitter. *Diabetes*, **2006**; 55(5):1391-7.
48. Wang R. Hydrogen sulfide: a new EDRF. *Kidney Int*. **2009**;76(7):700-4.

49. **Martelli A, Testai L, Marino A, Breschi MC, Da Settimo F, Calderone V.** Hydrogen sulphide: biopharmacological roles in the cardiovascular system and pharmaceutical perspectives. *Curr Med Chem*, **2012**; 19(20): 3325-36.
50. **Nagahara N, Ito T, Kitamura H, Nishino T.** Tissue and subcellular distribution of mercaptopyruvate sulfurtransferase in the rat: confocal laser fluorescence and immunoelectron microscopic studies combined with biochemical analysis. *Histochem Cell Biol*, **1998**;110(3):243-50.
51. **Shibuya N, Tanaka M, Yoshida M, Ogasawara Y, Togawa T, Ishii K, Kimura H.** 3-Mercaptopyruvate sulfurtransferase produces hydrogen sulfide and bound sulfane sulfur in the brain. *Antioxid Redox Signal*, **2009b**; 11(4): 703-14.
52. **Li L, Rose P, Moore PK.** Hydrogen sulfide and cell signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, **2011**;51:169-87.
53. **Mikami Y, Shibuya N, Kimura Y, Nagahara N, Ogasawara Y, Kimura H.** Thioredoxin and dihydrolipoic acid are required for 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase to produce hydrogen sulfide. *Biochem J*, **2011**; 439(3): 479-85
54. **Smith RP, Abbanat RA.** Protective effect of oxidized glutathione in acute sulfide poisoning. *Toxicol Appl Pharmacol*, **1966**; 9(2): 209-17.
55. **Beauchamp RO Jr, Bus JS, Popp JA, Boreiko CJ, Andjelkovich DA.** A critical review of the literature on hydrogen sulfide toxicity. *Crit Rev Toxicol*, **1984**; 13(1): 25-97.
56. **Qiu X, Villalta J, Lin G, Lue TF.** Role of hydrogen sulfide in the physiology of penile erection. *J Androl*, **2012**; 33(4): 529-35.
57. **Patacchini R, Santicoli P, Giuliani S, Maggi CA.** Pharmacological investigation of hydrogen sulfide (H₂S) contractile activity in rat detrusor muscle. *Eur J Pharmacol*, **2005**; 509(2-3): 171-7.
58. **Guo H, Gai JW, Wang Y, Jin HF, Du JB, Jin J.** Characterization of hydrogen sulfide and its synthases, cystathionine β -synthase and cystathionine γ -lyase, in human prostatic tissue and cells. *Urology*, **2012**; 79(2): 483.e1-5.
59. **Li J, Li Y, Du Y, Mou K, Sun H, Zang Y, Liu C.** Endogenous hydrogen sulfide as a mediator of vas deferens smooth muscle relaxation. *Fertil Steril*, **2011**; 95(5): 1833-5.
60. **Teague B, Asiedu S, Moore PK.** The smooth muscle relaxant effect of hydrogen sulphide in vitro: evidence for a physiological role to control intestinal contractility. *Br J Pharmacol*, **2002**; 137(2): 139-45.
61. **Li Y, Zang Y, Fu S, Zhang H, Gao L, Li J.** H₂S relaxes vas deferens smooth muscle by modulating the large conductance Ca²⁺-activated K⁺ (BKCa) channels via a redox mechanism. *J Sex Med*, **2012**; 9(11): 2806-13.
62. **You XJ, Xu C, Lu JQ, Zhu XY, Gao L, Cui XR, Li Y, Gu H, Ni X.** Expression of cystathionine β -synthase and cystathionine γ -lyase in human pregnant myometrium and their roles in the control of uterine contractility. *PLoS One*, **2011**; 6(8): e23788.
63. **Sidhu R, Singh M, Samir G, Carson RJ.** L-cysteine and sodium hydrosulphide inhibit spontaneous contractility in isolated pregnant rat uterine strips in vitro. *Pharmacol Toxicol*, **2001**; 88(4): 198-203.

64. **Robinson H, Wray S.** A new slow releasing, H₂S generating compound, GYY4137 relaxes spontaneous and oxytocin-stimulated contractions of human and rat pregnant myometrium. *PLoS One*, **2012**; 7(9): e46278.
65. **Hart JL.** Role of sulfur-containing gaseous substances in the cardiovascular system. *Front Biosci (Elite Ed)*, **2011**; 3: 736-49.
66. **Elsey DJ.** Regulation of cardiovascular cell function by hydrogen sulfide (H₂S). *Cell Biochem Funct*, **2010**; 28(2): 95-106.
67. **Cheng Y, Ndisang JF, Tang G, Cao K, Wang R.** Hydrogen sulfide-induced relaxation of resistance mesenteric artery beds of rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2004**; 287(5): H2316-23.
68. **Skovgaard N, Goulliaev A, Aalling M, Simonsen U.** The role of endogenous H₂S in cardiovascular physiology. *Curr Pharm Biotechnol*, **2011**; 12(9): 1385-93.
69. **Zhao W, Wang R.** H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2002**; 283(2): H474-80.
70. **Al-Magableh MR, Hart JL.** Mechanism of vasorelaxation and role of endogenous hydrogen sulfide production in mouse aorta. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, **2011**; 383(4): 403-13.
71. **Xiao L, Wu YM, Zhang H, Liu YX, He RR.** Hydrogen sulfide facilitates carotid sinus baroreflex in anesthetized rats. *Acta Pharmacol Sin*, **2006**; 27(3): 294-8.
72. **Du J, Hui Y, Cheung Y, Bin G, Jiang H, Chen X, Tang C.** The possible role of hydrogen sulfide as a smooth muscle cell proliferation inhibitor in rat cultured cells. *Heart Vessels*, **2004**; 19(2): 75-80.
73. **Yang G, Sun X, Wang R.** Hydrogen sulfide-induced apoptosis of human aorta smooth muscle cells via the activation of mitogen-activated protein kinases and caspase-3. *FASEB J*, **2004**; 18(14): 1782-4.
74. **Geng B, Yang J, Qi Y, Zhao J, Pang Y, Du J, Tang C.** H₂S generated by heart in rat and its effects on cardiac function. *Biochem Biophys Res Commun*, **2004**; 313(2): 362-8.
75. **Chunyu Z, Junbao D, Dingfang B, Hui Y, Xiuying T, Chaoshu T.** The regulatory effect of hydrogen sulfide on hypoxic pulmonary hypertension in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, **2003**; 302(4): 810-6.
76. **Yan H, Du J, Tang C.** The possible role of hydrogen sulfide on the pathogenesis of spontaneous hypertension in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, **2004**; 313(1):22-7.
77. **Chen Y, Wang R.** The message in the air: hydrogen sulfide metabolism in chronic respiratory diseases. *Respir Physiol Neurobiol*, **2012**; 184(2): 130-8.
78. **Kubo S, Doe I, Kurokawa Y, Kawabata A.** Hydrogen sulfide causes relaxation in mouse bronchial smooth muscle. *J Pharmacol Sci.* **2007**; 104(4): 392-6.
79. **Li SB, Tong XS, Wang XX, Jin XH, Ye H.** [Regulative mechanism of budesonide on endogenous hydrogen sulfide, cystathionine-gamma-lyase and cystathionine-beta-synthase system in asthmatic rats]. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*, **2010**; 12(8): 654-7.

80. **Zhang G, Wang P, Yang G, Cao Q, Wang R.** The inhibitory role of hydrogen sulfide in airway hyperresponsiveness and inflammation in a mouse model of asthma. *Am J Pathol*, **2013**; 182(4): 1188-95.
81. **Hennig B, Diener M.** Actions of hydrogen sulphide on ion transport across rat distal colon. *Br J Pharmacol*, **2009**; 158(5): 1263-75.
82. **Gil V, Gallego D, Jiménez M.** Effects of inhibitors of hydrogen sulphide synthesis on rat colonic motility. *Br J Pharmacol*, **2011**; 164(2b): 485-98.
83. **Schicho R, Krueger D, Zeller F, Von Weyhern CW, Frieling T, Kimura H, Ishii I, De Giorgio R, SAMPi B, Schemann M.** Hydrogen sulfide is a novel prosecretory neuromodulator in the Guinea-pig and human colon. *Gastroenterology*, **2006**; 131(5): 1542-52.
84. **Linden DR, Sha L, Mazzone A, Stoltz GJ, Bernard CE, Furne JK, Levitt MD, Farrugia G, Szurszewski JH.** Production of the gaseous signal molecule hydrogen sulfide in mouse tissues. *J Neurochem*, **2008**; 106(4): 1577-85.
85. **Martin GR, McKnight GW, Dickey MS, Coffin CS, Ferraz JG, Wallace JL.** Hydrogen sulphide synthesis in the rat and mouse gastrointestinal tract. *Dig Liver Dis*, **2010**; 42(2): 103-9.
86. **Krueger D, Foerster M, Mueller K, Zeller F, Slotta-Huspenina J, Donovan J, Grundy D, Schemann M.** Signaling mechanisms involved in the intestinal pro-secretory actions of hydrogen sulfide. *Neurogastroenterol Motil*, **2010**; 22(11): 1224-31.
87. **Gallego D, Clavé P, Donovan J, Rahmati R, Grundy D, Jiménez M, Beyak MJ.** The gaseous mediator, hydrogen sulphide, inhibits in vitro motor patterns in the human, rat and mouse colon and jejunum. *Neurogastroenterol Motil*, **2008**; 20(12): 1306-16.
88. **Lee SW, Hu YS, Hu LF, Lu Q, Dawe GS, Moore PK, Wong PT, Bian JS.** Hydrogen sulphide regulates calcium homeostasis in microglial cells. *Glia*, **2006**; 54(2): 116-24.
89. **Distrutti E, Sediari L, Mencarelli A, Renga B, Orlandi S, Antonelli E, Roviezzo F, Morelli A, Cirino G, Wallace JL, Fiorucci S.** Evidence that hydrogen sulfide exerts antinociceptive effects in the gastrointestinal tract by activating KATP channels. *J Pharmacol Exp Ther*, **2006**; 316(1): 325-35.
90. **Kimura H.** Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, **2000**; 267(1): 129-33.
91. **Tan BH, Wong PT, Bian JS.** Hydrogen sulfide: a novel signaling molecule in the central nervous system. *Neurochem Int*, **2010**; 56(1): 3-10.
92. **Bucci M, Papapetropoulos A, Vellecco V, Zhou Z, Pyriochou A, Roussos C, Roviezzo F, Brancaleone V, Cirino G.** Hydrogen sulfide is an endogenous inhibitor of phosphodiesterase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2010**; 30(10): 1998-2004.
93. **Zhong G, Chen F, Cheng Y, Tang C, Du J.** The role of hydrogen sulfide generation in the pathogenesis of hypertension in rats induced by inhibition of nitric oxide synthase. *J Hypertens*, **2003**; 21(10): 1879-85.
94. **Jeong SO, Pae HO, Oh GS, Jeong GS, Lee BS, Lee S, Kim du Y, Rhew HY, Lee KM, Chung HT.** Hydrogen sulfide potentiates interleukin-1 β -induced nitric oxide production via enhancement of extracellular signal-regulated kinase activation in rat vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*, **2006**; 345(3): 938-44.

95. **Kida M, Sugiyama T, Yoshimoto T, Ogawa Y.** Hydrogen sulfide increases nitric oxide production with calcium-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase in endothelial cells. *Eur J Pharm Sci*, **2013**; 48(1-2): 211-5.
96. **Geng B, Cui Y, Zhao J, Yu F, Zhu Y, Xu G, Zhang Z, Tang C, Du J.** Hydrogen sulfide downregulates the aortic L-arginine/nitric oxide pathway in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, **2007**; 293(4): R1608-18.
97. **Whiteman M, Li L, Kostetski I, Chu SH, Siau JL, Bhatia M, Moore PK.** Evidence for the formation of a novel nitrosothiol from the gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulphide. *Biochem Biophys Res Commun*, **2006**; 343(1): 303-10.
98. **Ali MY, Ping CY, Mok YY, Ling L, Whiteman M, Bhatia M, Moore PK.** Regulation of vascular nitric oxide in vitro and in vivo; a new role for endogenous hydrogen sulphide? *Br J Pharmacol*. **2006**; 149(6): 625-34.
99. **Kubo S, Doe I, Kurokawa Y, Nishikawa H, Kawabata A.** Direct inhibition of endothelial nitric oxide synthase by hydrogen sulfide: contribution to dual modulation of vascular tension. *Toxicology*, **2007**; 232: 138-46.
100. **Kubo S, Kurokawa Y, Doe I, Masuko T, Sekiguchi F, Kawabata A.** Hydrogen sulfide inhibits activity of three isoforms of recombinant nitric oxide synthase. *Toxicology*, 2007; **241(1-2): 92-7**.
101. **Lim JJ, Liu YH, Khin ES, Bian JS.** Vasoconstrictive effect of hydrogen sulfide involves downregulation of sAMP in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008; **295(5): C1261-70**.
102. **Yong QC, Pan TT, Hu LF, Bian JS.** Negative regulation of beta-adrenergic function by hydrogen sulphide in the rat hearts. *J Mol Cell Cardiol*, **2008**; 44(4): 701-10.
103. **Fiorucci S, Antonelli E, Mencarelli A, Orlandi S, Renga B, Rizzo G, Distrutti E, Shah V, Morelli A.** The third gas: H₂S regulates perfusion pressure in both the isolated and perfused normal rat liver and in cirrhosis. *Hepatology*, **2005**; **42(3): 539-48**.
104. **Tang G, Wu L, Liang W, Wang R.** Direct stimulation of K(ATP) channels by exogenous and endogenous hydrogen sulfide in vascular smooth muscle cells. *Mol Pharmacol*, **2005**; 68(6):1757-64.
105. **Pan TT, Feng ZN, Lee SW, Moore PK, Bian JS.** Endogenous hydrogen sulfide contributes to the cardioprotection by metabolic inhibition preconditioning in the rat ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol*, **2006**; 40(1) :119-30.
106. **Kubo S, Kajiwara M, Kawabata A.** Dual modulation of the tension of isolated gastric artery and gastric mucosal circulation by hydrogen sulfide in rats. *Inflammopharmacology*, **2007**; 15(6): 288-92.
107. **Jiang B, Tang G, Cao K, Wu L, Wang R.** Molecular mechanism for H₂S-induced activation of K(ATP) channels. *Antioxid Redox Signal*, **2010**; 12(10):1167-78.
108. **Cheang WS, Wong WT, Shen B, Lau CW, Tian XY, Tsang SY, Yao X, Chen ZY, Huang Y.** 4-aminopyridine-sensitive K⁺ channels contributes to NaHS-induced membrane hyperpolarization and relaxation in the rat coronary artery. *Vascul Pharmacol*, **2010**; 53(3-4): 94-8.

109. **Martelli A, Testai L, Breschi MC, Lawson K, McKay NG, Miceli F, Taglialatela M, Calderone V.** Vasorelaxation by hydrogen sulphide involves activation of Kv7 potassium channels. *Pharmacol Res*, **2013**; 70(1): 27-34.
110. **Sitdikova GF, Weiger TM, Hermann A.** Hydrogen sulfide increases calcium-activated potassium (BK) channel activity of rat pituitary tumor cells. *Pflugers Arch*, **2010**; 459(3):389-97.
111. **Telezhkin V, Brazier SP, Cayzac S, Müller CT, Riccardi D, Kemp PJ.** Hydrogen sulfide inhibits human BK(Ca) channels. *Adv Exp Med Biol*, **2009**; 648: 65-72.
112. **Chen YH, Wang PP, Wang XM, He YJ, Yao WZ, Qi YF, Tang CS.** nvolvement of endogenous **hydrogen sulfide** in cigarette smoke-induced changes in airway responsiveness and inflammation of **rat** lung. *Cytokine*, **2011**; 53(3): 334-41.
113. **d'Emmanuele di Villa Bianca R, Sorrentino R, Coletta C, Mitidieri E, Rossi A, Vellecco V, Pinto A, Cirino G, Sorrentino R.** Hydrogen sulfide-induced dual vascular effect involves arachidonic acid cascade in rat mesenteric arterial bed. *J Pharmacol Exp Ther*, **2011**; 337(1): 59-64.
114. **Mustafa AK, Sikka G, Gazi SK, Steppan J, Jung SM, Bhunia AK, Barodka VM, Gazi FK, Barrow RK, Wang R, Amzel LM, Berkowitz DE, Snyder SH.** Hydrogen sulfide as endothelium-derived hyperpolarizing factor sulfhydrates potassium channels. *Circ Res*, **2011**; 109(11): 1259-68.
115. **April EW.** *NMS Klinik Anatomi 3.* Baskı, İstanbul; Nobel Kitabevleri Ltd. Şti, **1998**; 427.
116. **Guyton CA, Hall JE.** *Tıbbi Fizyoloji 9.* Baskı, İstanbul: Nobel Kitabevleri Ltd. Şti. **1996**; 1009.
117. **Andersson KE, Wagner G.** Physiology of penile erection. *Physiol Rev*. **1995**; 75(1): 191-236.
118. **Krane RJ, Goldstein I, Saenz de Tejada I.** Impotence. *N Engl J Med*, **1989**; 321(24): 1648-59.
119. **Pickard RS, King P, Zar MA, Powell PH.** Corpus cavernosal relaxation in impotent men. *Br J Urol*. **1994** Oct;74(4):485-91.
120. **Saenz de Tejada I, Goldstein I, Krane RJ.** Local control of penile erection. Nerves, smooth muscle, and endothelium. *Urol Clin North Am*, **1988**; 15(1): 9-15.
121. **Benson GS, McConnell J, Lipshultz LI, Corriere JN Jr, Wood J.** Neuromorphology and neuropharmacology of the human penis: an in vitro study. *J Clin Invest*, **1980**; 65(2): 506-13.
122. **Godec CJ, Bates H.** Cholinergic receptors in corpora cavernosa. *Urology*, **1984**; 24(1):31-3.
123. **Blanco R, Saenz de Tejada I, Goldstein I, Krane RJ, Wotiz HH, Cohen RA.** Cholinergic neurotransmission in human corpus cavernosum. II. Acetylcholine synthesis. *Am J Physiol*. **1988** Mar;254(3 Pt 2):H468-72.
124. **Kayaalp SO.** *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 9.* Baskı 2. Cilt., Ankara: Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti, **1999**; 921-929.
125. **Traish AM, Palmer MS, Goldstein I, Moreland RB.** Expression of functional muscarinic acetylcholine receptor subtypes in human corpus cavernosum and in cultured smooth muscle cells. *Receptor*, **1995a**; 5(3): 159-76.

126. **Klinge E, Sjöstrand NO.** Suppression of the excitatory adrenergic neurotransmission; a possible role of cholinergic nerves in the retractor penis muscle. *Acta Physiol Scand*, **1977**; 100(3):368-76.
127. **Bozkurt NB, Vural IM, Sarioglu Y, Pekiner C.** Nicotine potentiates the nitrenergic relaxation responses of rabbit corpus cavernosum tissue via nicotinic acetylcholine receptors. *Eur J Pharmacol*, **2007**; 558(1-3): 172-8.
128. **Saenz de Tejada I, Blanco R, Goldstein I, Azadzo K, de las Morenas A, Krane RJ, Cohen RA.** Cholinergic neurotransmission in human corpus cavernosum. I. Responses of isolated tissue. *Am J Physiol*, **1988a**; 254: H459-67.
129. **Simonsen U, García-Sacristán A, Prieto D.** Penile arteries and erection. *J Vasc Res*, **2002**; 39(4): 283-303.
130. **Levin RM, Wein AJ.** Adrenergic alpha receptors outnumber beta receptors in human penile corpus cavernosum. *Invest Urol*, **1980**; 18(3):225-6.
131. **Traish AM, Gupta S, Toselli P, de Tejada IS, Goldstein I, Moreland RB.** Identification of alpha 1-adrenergic receptor subtypes in human corpus cavernosum tissue and in cultured trabecular smooth muscle cells. *Receptor*, **1995b**; 5(3): 145-57.
132. **Traish AM, Netsuwan N, Daley J, Padman-Nathan H, Goldstein I, Saenz de Tejada I.** A heterogeneous population of alpha 1 adrenergic receptors mediates contraction of human corpus cavernosum smooth muscle to norepinephrine. *J Urol*, **1995c**; 153(1): 222-7.
133. **Traish AM, Moreland RB, Huang YH, Goldstein I.** Expression of functional alpha2-adrenergic receptor subtypes in human corpus cavernosum and in cultured trabecular smooth muscle cells. *Recept Signal Transduct*. **1997**; 7(1): 55-67.
134. **Villalba N, Stankevicius E, Garcia-Sacristán A, Simonsen U, Prieto D.** Contribution of both Ca^{2+} entry and Ca^{2+} sensitization to the alpha1-adrenergic vasoconstriction of rat penile small arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2007**; 292(2): H1157-69.
135. **Prieto D.** Physiological regulation of penile arteries and veins. *Int J Impot Res*, **2008**; 20(1): 17-29.
136. **Molderings GJ, Göthert M, Van Ahlen H, Porst H.** Noradrenaline release in human corpus cavernosum and its modulation via presynaptic alpha 2-adrenoceptors. *Fundam Clin Pharmacol*, **1989**; 3(5): 497-504.
137. **Becker AJ, Uckert S, Stief CG, Truss MC, Machtens S, Scheller F, Knapp WH, Hartmann U, Jonas U.** Plasma levels of cavernous and systemic norepinephrine and epinephrine in men during different phases of penile erection. *J Urol*, **2000**; 164(2): 573-7.
138. **Furchgott RF, Zawadzki JV.** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, **1980**; 288(5789): 373-6.
139. **Gonzalez CM, Brannigan RE, Bervig T, Zelner D, Podlasek CA, McKenna KE, McVary KT.** Protein and gene expression of nitric oxide synthase isoforms I and III in the rat penile shaft. *J Androl*, **2001**; 22(1F): 54-61.
140. **Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G.** Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **1987a**; 84(24): 9265-9.

141. **Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KS.** Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res*, **1987b**; 61(6): 866-79.
142. **Palmer RM, Rees DD, Ashton DS, Moncada S.** L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun*, **1988**;153(3): 1251-6.
143. **Förstermann U.** Biochemistry and molecular biology of nitric oxide synthases. *Arzneimittelforschung*, **1994**; 44(3A): 402-7.
144. **Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG.** Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J*, **2001**; 357(Pt 3): 593-615.
145. **Janssen LJ, Premji M, Lu-Chao H, Cox G, Keshavjee S.** NO(+) but not NO radical relaxes airway smooth muscle via sGMP-independent release of internal Ca(2+). *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **2000**; 278(5): L899-905.
146. **Craven PA, DeRubertis FR.** Requirement for heme in the activation of purified guanylate cyclase by nitric oxide. *Biochim Biophys Acta*, **1983**; 745(3): 310-21.
147. **Gupte SA, Rupawalla T, Phillibert D Jr, Wolin MS.** NADPH and heme redox modulate pulmonary artery relaxation and guanylate cyclase activation by NO. *Am J Physiol*, **1999**; 277(6 Pt 1): L1124-32.
148. **Burnett AL, Lowenstein CJ, Breidt DS, Chang TS, Snyder SH.** Nitric oxide: a physiologic mediator of penile erection. *Science*, **1992**; 257(5068): 401-3.
149. **Rajfer J, Aronson WJ, Bush PA, Dorey FJ, Ignarro LJ.** Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission. *N Engl J Med*, **1992**; 326(2): 90-4.
150. **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. *Biochem Biophys Res Commun*, **1990**; 170(2): 843-50.
151. **Kim N, Azadzoi KM, Goldstein I, Saenz de Tejada I.** A nitric oxide-like factor mediates nonadrenergic-noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle. *J Clin Invest*, **1991**; 88(1): 112-8.
152. **Andersson KE.** Erectile physiological and pathophysiological pathways involved in erectile dysfunction. *J Urol*, **2003**; 170(2 Pt 2): S6-13.
153. **Huang PL, Dawson TM, Breidt DS, Snyder SH, Fishman MC.** Targeted disruption of the neuronal nitric oxide synthase gene. *Cell*, **1993**; 75(7): 1273-86.
154. **Burnett AL, Nelson RJ, Calvin DC, Liu JX, Demas GE, Klein SL, Kriegsfeld LJ, Dawson VL, Dawson TM, Snyder SH.** Nitric oxide-dependent penile erection in mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Mol Med*, **1996**; 2(3): 288-96.
155. **Eliasson MJ, Blackshaw S, Schell MJ, Snyder SH.** Neuronal nitric oxide synthase alternatively spliced forms: prominent functional localizations in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **1997**; 94(7): 3396-401.

156. **Magee T, Fuentes AM, Garban H, Rajavashisth T, Marquez D, Rodriguez JA, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF.** Cloning of a novel neuronal nitric oxide synthase expressed in penis and lower urinary tract. *Biochem Biophys Res Commun*, **1996**; 226(1): 145-51.
157. **Gonzalez-Cadavid NF, Ignarro LJ, Rajfer J.** Nitric Oxide and the Cyclic GMP System in the Penis. *Mol Urol*, **1999**; 3(2): 51-59.
158. **Gonzalez-Cadavid NF, Burnett AL, Magee TR, Zeller CB, Vernet D, Smith N, Gitter J, Rajfer J.** Expression of penile neuronal nitric oxide synthase variants in the rat and mouse penile nerves. *Biol Reprod*. **2000**; 63(3): 704-14.
159. **Burnett AL.** Nitric oxide control of lower genitourinary tract functions: a review. *Urology*, **1995**; 45(6): 1071-83.
160. **Garbán H, Vernet D, Freedman A, Rajfer J, González-Cadavid N.** Effect of aging on nitric oxide-mediated penile erection in rats. *Am J Physiol*, **1995**; 268(1 Pt 2): H467-75.
161. **Rajasekaran M, Mondal D, Agrawal K, Chen IL, Hellstrom W, Sikka S.** Ex vivo expression of nitric oxide synthase isoforms (eNOS/iNOS) and calmodulin in human penile cavernosal cells. *J Urol*, **1998**; 160(6 Pt 1): 2210-5.
162. **Podlasek CA, Zelner DJ, Bervig TR, Gonzalez CM, McKenna KE, McVary KT.** Characterization and localization of nitric oxide synthase isoforms in the BB/WOR diabetic rat. *J Urol*, **2001**; 166(2): 746-55.
163. **Hedlund P, Aszodi A, Pfeifer A, Alm P, Hofmann F, Ahmad M, Fassler R, Andersson KE.** Erectile dysfunction in cyclic GMP-dependent kinase I-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2000**; 97(5): 2349-54.
164. **Göçmen C, Uçar P, Singirik E, Dikmen A, Baysal F.** An in vitro study of nonadrenergic-noncholinergic activity on the cavernous tissue of mouse. *Urol Res*, **1997**; 25(4): 269-75.
165. **Baracat JS, Teixeira CE, Okuyama CE, Priviero FB, Faro R, Antunes E, De Nucci G.** Relaxing effects induced by the soluble guanylyl cyclase stimulator BAY 41-2272 in human and rabbit corpus cavernosum. *Eur J Pharmacol*, **2003**; 477(2): 163-9.
166. **Boolell M, Allen MJ, Ballard SA, Gepi-Attee S, Muirhead GJ, Naylor AM, Osterloh IH, Gingell C.** Sildenafil: an orally active type 5 cyclic GMP-specific phosphodiesterase inhibitor for the treatment of penile erectile dysfunction. *Int J Impot Res*, **1996**; 8(2): 47-52.
167. **Stark S, Sachse R, Liedl T, Hensen J, Rohde G, Wensing G, Horstmann R, Schrott KM.** Vardenafil increases penile rigidity and tumescence in men with erectile dysfunction after a single oral dose. *Eur Urol*. **2001**; 40(2):181-8.
168. **Lucas KA, Pitari GM, Kazerounian S, Ruiz-Stewart I, Park J, Schulz S, Chepenik KP, Waldman SA.** Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. *Pharmacol Rev*, **2000**; 52(3):375-414.
169. **Beavo JA.** Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiol Rev*, **1995**; 75(4): 725-48.
170. **Lohmann SM, Vaandrager AB, Smolenski A, Walter U, De Jonge HR.** Distinct and specific functions of sGMP-dependent protein kinases. *Trends Biochem Sci*, **1997**; 22(8): 307-12.

171. **Pfeifer A, Ruth P, Dostmann W, Sausbier M, Klatt P, Hofmann F.** Structure and function of sGMP-dependent protein kinases. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, **1999**; 135: 105-49.
172. **Tamura M, Kagawa S, Kimura K, Kawanishi Y, Tsuruo Y, Ishimura K.** Coexistence of nitric oxide synthase, tyrosine hydroxylase and vasoactive intestinal polypeptide in human penile tissue--a triple histochemical and immunohistochemical study. *J Urol*, **1995**; 153(2): 530-4.
173. **Ehmke H, Jünemann KP, Mayer B, Kummer W.** Nitric oxide synthase and vasoactive intestinal polypeptide colocalization in neurons innervating the human penile circulation. *Int J Impot Res*, **1995**; 7(3): 147-56.
174. **Arvidsson U, Riedl M, Elde R, Meister B.** Vesicular acetylcholine transporter (VACht) protein: a novel and unique marker for cholinergic neurons in the central and peripheral nervous systems. *J Comp Neurol*, **1997**; 378(4): 454-67.
175. **Hedlund P, Alm P, Andersson KE.** NO synthase in cholinergic nerves and NO-induced relaxation in the rat isolated corpus cavernosum. *Br J Pharmacol*, **1999**; 127(2): 349-60.
176. **Fahrenkrug J.** Transmitter role of vasoactive intestinal peptide. *Pharmacol Toxicol*, **1993**; 72(6): 354-63.
177. **Tong YC, Broderick G, Hypolite J, Levin RM.** Correlations of purinergic, cholinergic and adrenergic functions in rabbit corporal cavernosal tissue. *Pharmacology*, **1992**; 45(5): 241-9.
178. **Wu HY, Broderick GA, Suh JK, Hypolite JA, Levin RM.** Effects of purines on rabbit corpus cavernosum contractile activity. *Int J Impot Res*, **1993**; 5(3): 161-7.
179. **Takahashi Y, Aboseif SR, Benard F, Stief CG, Lue TF, Tanagho EA.** Effect of intracavernous simultaneous injection of acetylcholine and vasoactive intestinal polypeptide on canine penile erection. *J Urol*, **1992**; 148(2 Pt 1): 446-8.
180. **Takahashi Y, Ishii N, Lue TF, Tanagho EA.** Pharmacological effects of adenosine on canine penile erection. *Tohoku J Exp Med*, **1991**; 165(1):49-58.
181. **Chiang PH, Wu SN, Tsai EM, Wu CC, Shen MR, Huang CH, Chiang CP.** Adenosine modulation of neurotransmission in penile erection. *Br J Clin Pharmacol*, **1994**; 38(4): 357-62.
182. **Kilic S, Salih M, Anafarta K, Baltaci S, Koşar A.** Adenosine: a new agent in the diagnosis of impotence. *Int J Impot Res*, **1994**; 6(4): 191-8.
183. **Noto T, Inoue H, Mochida H, Kikkawa K.** Role of adenosine and P2 receptors in the penile tumescence in anesthetized dogs. *Eur J Pharmacol*, **2001**; 425(1): 51-5.
184. **Shalev M, Staerman F, Allain H, Lobel B, Saïag B.** Stimulation of P2y purinoceptors induces, via nitric oxide production, endothelium-dependent relaxation of human isolated corpus cavernosum. *J Urol*, **1999**; 161(3): 955-9.
185. **Filippi S, Amerini S, Maggi M, Natali A, Ledda F.** Studies on the mechanisms involved in the ATP-induced relaxation in human and rabbit corpus cavernosum. *J Urol*, **1999**; 161(1): 326-31.
186. **Tostes RC, Giachini FR, Carneiro FS, Leite R, Inscho EW, Webb RC.** Determination of adenosine effects and adenosine receptors in murine corpus cavernosum. *J Pharmacol Exp Ther*, **2007**; 322(2): 678-85.

187. **Kataoka K, Furukawa K, Nagao K, Ishii N, Tsuru H.** The participation of adenosine receptors in the adenosine 5'-triphosphate-induced relaxation in the isolated rabbit corpus cavernosum penis. *Int J Urol*, **2007**; 14(8): 764-8.
188. **Ritchie R, Sullivan M.** Endothelins & erectile dysfunction. *Pharmacol Res*, **2011**; 63(6): 496-501.
189. **Saenz de Tejada I, Carson MP, de las Morenas A, Goldstein I, Traish AM.** Endothelin: localization, synthesis, activity, and receptor types in human penile corpus cavernosum. *Am J Physiol*, **1991**; 261(4 Pt 2): H1078-85.
190. **Bell CR, Sullivan ME, Dashwood MR, Muddle JR, Morgan RJ.** The density and distribution of endothelin 1 and endothelin receptor subtypes in normal and diabetic rat corpus cavernosum. *Br J Urol*, **1995**; 76(2): 203-7.
191. **Ari G, Vardi Y, Hoffman A, Finberg JP.** Possible role for endothelins in penile erection. *Eur J Pharmacol*, **1996**; 307(1): 69-74.
192. **Parkkisenniemi UM, Klinge E.** Functional characterization of endothelin receptors in the bovine retractor penis muscle and penile artery. *Pharmacol Toxicol*, **1996**; 79(2): 73-9.
193. **Parkkisenniemi UM, Palkama A, Virtanen I, Klinge E.** The endothelin ET(B) receptor agonist [125I]BQ-3020 binds predominantly to nerves in the bovine retractor penis muscle and penile artery. *Pharmacol Toxicol*, **2000**; 87(5): 234-41.
194. **Chitaley K, Wingard CJ, Clinton Webb R, Branam H, Stopper VS, Lewis RW, Mills TM.** Antagonism of Rho-kinase stimulates rat penile erection via a nitric oxide-independent pathway . *Nat. Med.*, **2001**; 7: 119-122.
195. **Rees RW, Ralph DJ, Royle M, Moncada S, Cellek S.** Y-27632, an inhibitor of Rho-kinase, antagonizes noradrenergic contractions in the rabbit and human penile corpus cavernosum. *Br. J. Pharmacol*, **2001**; 133: 455-458.
196. **Jin L, Burnett AL.** RhoA/Rho-kinase in erectile tissue: mechanisms of disease and therapeutic insights. *Clin Sci (Lond)*, **2006**; 110(2): 153-65.
197. **Wang H, Eto M, Steers WD, Somlyo AP, Somlyo AV.** RhoA-mediated Ca^{2+} sensitization in erectile function. *J Biol Chem*, **2002**; 277(34): 30614-21.
198. **Mills TM, Chitaley K, Wingard CJ, Lewis RW, Webb RC.** Effect of Rho-kinase inhibition on vasoconstriction in the penile circulation. *J Appl Physiol*, **2001**; 91(3): 1269-73.
199. **Priviero FB, Jin LM, Ying Z, Teixeira CE, Webb RC.** Up-regulation of the RhoA/Rho-kinase signaling pathway in corpus cavernosum from endothelial nitric-oxide synthase (NOS), but not neuronal NOS, null mice. *J Pharmacol Exp Ther*, **2010**; 333(1): 184-92.
200. **Bivalacqua TJ, Champion HC, Usta ME, Cellek S, Chitaley K, Webb RC, Lewis RL, Mills TM, Hellstrom WJ, Kadowitz PJ.** RhoA/Rho-kinase suppresses endothelial nitric oxide synthase in the penis: a mechanism for diabetes-associated erectile dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2004**; 101(24):9121-6.
201. **Sauzeau V, Le Jeune H, Cario-Toumaniantz C, Smolenski A, Lohmann SM, Bertoglio J, Chardin P, Pacaud P, Loirand G.** Cyclic GMP-dependent protein kinase signaling pathway inhibits RhoA-induced Ca^{2+} sensitization of contraction in vascular smooth muscle. *J Biol Chem*, **2000**; 275(28):21722-9.

202. **Sauzeau V, Rolli-Derkinderen M, Marionneau C, Loirand G, Pacaud P.** RhoA expression is controlled by nitric oxide through sGMP-dependent protein kinase activation. *J Biol Chem*, **2003**; 278(11):9472-80.
203. **Sawada N, Itoh H, Yamashita J, Doi K, Inoue M, Masatsugu K, Fukunaga Y, Sakaguchi S, Sone M, Yamahara K, Yurugi T, Nakao K.** sGMP-dependent protein kinase phosphorylates and inactivates RhoA. *Biochem Biophys Res Commun*, **2001**; 280(3): 798-805.
204. **Chitaley K, Webb RC, Mills TM.** The ups and downs of Rho-kinase and penile erection: upstream regulators and downstream substrates of rho-kinase and their potential role in the erectile response. *Int J Impot Res*, **2003**; 15(2): 105-9.
205. **Mills TM, Chitaley K, Lewis RW, Webb RC.** Nitric oxide inhibits RhoA/Rho-kinase signaling to cause penile erection. *Eur J Pharmacol*. **2002**; 439(1-3): 173-4.
206. **Chang S, Hypolite JA, Changolkar A, Wein AJ, Chacko S, DiSanto ME.** Increased contractility of diabetic rabbit corpora smooth muscle in response to endothelin is mediated via Rho-kinase beta. *Int J Impot Res*, **2003**; 15(1): 53-62.
207. **Jin L, Liu T, Lagoda GA, Champion HC, Bivalacqua TJ, Burnett AL.** Elevated RhoA/Rho-kinase activity in the aged rat penis: mechanism for age-associated erectile dysfunction. *FASEB J*, **2006**; 20(3): 536-8.
208. **Villalba N, Contreras C, Hernández M, García-Sacristán A, Prieto D.** Impaired Ca^{2+} handling in penile arteries from prediabetic Zucker rats: involvement of Rho kinase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2011**; 300(6): H2044-53.
209. **Andersson KE.** Mechanisms of penile erection and basis for pharmacological treatment of erectile dysfunction. *Pharmacol Rev*, **2011**; 63(4): 811-59.
210. **Srilatha B, Muthulakshmi P, Adaikan PG, Moore PK.** Endogenous hydrogen sulfide insufficiency as a predictor of sexual dysfunction in aging rats. *Aging Male*, **2012**; 15(3):153-8.
211. **Aydinoglu F, Yilmaz SN, Coskun B, Daglioglu N, Ogulener N.** Effects of ethanol treatment on the neurogenic and endothelium-dependent relaxation of corpus cavernosum smooth muscle in the mouse. *Pharmacol Rep*, **2008**; 60(5):725-34.
212. **Cellek S, Moncada S.** Nitroergic neurotransmission mediates the non-adrenergic non-cholinergic responses in the clitoral corpus cavernosum of the rabbit. *Br J Pharmacol*, **1998**;125(8): 1627-9.
213. **Boolell M, Gepi-Attee S, Gingell JC, Allen MJ.** Sildenafil, a novel effective oral therapy for male erectile dysfunction. *Br J Urol*. **1996**; 78(2): 257-61.
214. **Ergün Y, Ogülener N, Dikmen A.** Involvement of nitric oxide in non-adrenergic non-cholinergic relaxation and action of vasoactive intestinal polypeptide in circular muscle strips of the rat gastric fundus. *Pharmacol Res*, **2001**; 44(3):221-8.
215. **Honda H, Unemoto T, Kogo H.** Different mechanisms for testosterone-induced relaxation of aorta between normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. **1999**; 34(6): 1232-6.
216. **Orie NN, Fry CH, Clapp LH.** Evidence that inward rectifier K^{+} channels mediate relaxation by the PGI₂ receptor agonist cicaprost via a cyclic AMP-independent mechanism. *Cardiovasc Res*, **2006**; 69(1): 107-15.

217. **Ferrer M, Marín J, Encabo A, Alonso MJ, Balfagón G.** Role of K⁺ channels and sodium pump in the vasodilation induced by acetylcholine, nitric oxide, and cyclic GMP in the rabbit aorta. *Gen Pharmacol*, **1999**; 33(1): 35-41.
218. **Mori A, Suzuki S, Sakamoto K, Nakahara T, Ishii K.** Role of calcium-activated potassium channels in acetylcholine-induced vasodilation of rat retinal arterioles in vivo. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **2011**; 383(1): 27-34.
219. **Andrews KL, Irvine JC, Tare M, Apostolopoulos J, Favalaro JL, Triggle CR, Kemp-Harper BK.** A role for nitroxyl (HNO) as an endothelium-derived relaxing and hyperpolarizing factor in resistance arteries. *Br J Pharmacol*, **2009**; 157(4): 540-50.
220. **Okamura T, Fujioka H, Ayajiki K.** Effects of calcium antagonists on the nitrenergic nerve function in canine corpus cavernosum. *Jpn J Pharmacol*, **2001**; 87(3): 208-13.
221. **Gericke A, Sniatecki JJ, Goloborodko E, Steege A, Zavaritskaya O, Vetter JM, Grus FH, Patzak A, Wess J, Pfeiffer N.** Identification of the muscarinic acetylcholine receptor subtype mediating cholinergic vasodilation in murine retinal arterioles. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **2011**; 52(10):7479-84.
222. **Batenburg WW, Kappers MH, Eikmann MJ, Ramzan SN, de Vries R, Danser AH.** Light-induced vs. bradykinin-induced relaxation of coronary arteries: do S-nitrosothiols act as endothelium-derived hyperpolarizing factors? *J Hypertens*, **2009**; 27(8):1631-40.
223. **Zhao W, Ndisang JF, Wang R.** Modulation of endogenous production of H₂S in rat tissues. *Can J Physiol Pharmacol*, **2003**; 81(9): 848-53.
224. **Wang YF, Mainali P, Tang CS, Shi L, Zhang CY, Yan H, Liu XQ, Du JB.** Effects of nitric oxide and hydrogen sulfide on the relaxation of pulmonary arteries in rats. *Chin Med J (Engl)*, **2008**; 121(5): 420-3.
225. **Essayan DM.** Cyclic nucleotide phosphodiesterases. *J Allergy Clin Immunol*, **2001**; 108(5): 671-80.
226. **Sun YG, Cao YX, Wang WW, Ma SF, Yao T, Zhu YC.** Hydrogen sulphide is an inhibitor of L-type calcium channels and mechanical contraction in rat cardiomyocytes. *Cardiovasc Res*, **2008**; 79(4): 632-41.
227. **Gupta S, Moreland RB, Munarriz R, Daley J, Goldstein I, Saenz de Tejada I.** Possible role of Na(+)-K(+)-ATPase in the regulation of human corpus cavernosum smooth muscle contractility by nitric oxide. *Br J Pharmacol*, **1995**; 116(4):2201-6.

ÖZGEÇMİŞ

Fatma Aydınoğlu, 19.01.1981 tarihinde Adana’ da doğdu. Orta öğrenimini Adana’ da tamamladı 2002 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 2007 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı’ nda ‘ Yüksek Lisans’ eğitimini tamamladı. 2007 yılının Şubat ayında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı’ nda ‘ Doktora’ eğitimine başladı. 2008 yılında üç ay süre ile “ Erasmus Öğrenci Değişim Programı” dahilinde “ Ghent Üniversitesi Heymans Farmakoloji Enstitüsü” ’ nde eğitim aldı. 2011 yılında altı ay süre ile “ Pisa Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı” ’ nda bulundu.