

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ  
ANABİLİM DALI

**HİPERKOLESTEROLEMİK TAVŞAN KORPUS  
KAVERNOZUM DOKUSU ÜZERİNE  
RESVERATROLÜN DOZA BAĞLI KORUYUCU  
ETKİLERİ**

**Dr. ONUR KİZER**

**UZMANLIK TEZİ**

**İZMİR-2012**

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ  
ANABİLİM DALI

**HİPERKOLESTEROLEMİK TAVŞAN KORPUS  
KAVERNOZUM DOKUSU ÜZERİNE  
RESVERATROLÜN DOZA BAĞLI KORUYUCU  
ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. ONUR KİZER**

**Tez Sorumlusu : Prof. Dr. AYKUT KEFİ**

**İZMİR - 2012**

**Bu araştırma TUBİTAK Tarafından  
110S218 sayılı proje ile desteklenmiştir.**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım sayın hocalarım Prof. Dr. Adil Esen, Prof. Dr. İlhan Çelebi, Prof. Dr. Murat Sade, Prof. Dr. Ziya Kırkalı, Prof. Dr. Uğur Mungan, Prof. Dr. Güven Aslan, Prof. Dr. Aykut Kefi ve Doç. Dr. Ömer Demir'e teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasında her aşamada büyük desteklerini gördüğüm, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan hocalarım başta Prof. Dr. Aykut Kefi ve Doç. Dr. Nergis Murat olmak üzere Prof. Dr. Adil Esen' e ve asistan arkadaşlarım Dr. Sinem Evcim ve Dr. Peyda Korhan' a ayrıca teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince yaptığım işten büyük keyif almamı sağlayan ve eğitimim boyunca uyum içinde çalıştığım arkadaşlarım Uzm. Dr. İsmail Özdemir, Uzm. Dr. Ahmet Cihan, Uzm. Dr. Asif Cahangirov, Uzm. Dr. Ozan Bozkurt, Uzm. Dr. Hatice Arıkan, Uzm. Dr. Bilgin Öztürk, Uzm. Dr. Elnur Mammadov, Dr. Önder Çınar, Dr. Sedat Eğriboyun, Dr. Şakir Ongün, Dr. Volkan Şen, Dr. Serdar Çelik, Dr. Sedat Karakoç, Dr. Özgür Gürboğa, Dr. Kaan Çömez'e ve klinik, poliklinik ve ameliyathane hemşireleri ve personel arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Benim bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan babam Yusuf Kizer, annem Saadet Kizer ve kardeşlerim Uğur Kizer ve Pınar Kizer Eroğlu' na sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Uzmanlık eğitimim boyunca her zaman yanımda olan ve zor zamanlarımda varlığıyla bana güç veren sevgili eşim Dr. Özlem Sarı Kizer'e ve son olarak aramıza katılmasına sayılı günler kalan sabırsızlıkla beklediğimiz bebeğimize en büyük teşekkürler...

**Dr. Onur KİZER**

## İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ.....	III
ŞEKİL LİSTESİ.....	III
GRAFİK.....	VIII
RESİM LİSTESİ.....	IX
KISALTMALAR.....	X
ÖZET.....	1
SUMMARY.....	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Erektıl Disfonksiyon Prevalansı.....	5
2.2. Penisin Fonksiyonel Anatomisi.....	6
2.3. Penisin Vasküler Yapısı.....	8
2.4. Ereksiyon Fizyolojisi.....	11
2.5. Erektıl Disfonksiyon Patofizyolojisi.....	14
2.6. Erektıl Disfonksiyon Tedavisi.....	18
3.VASKÜLER ENDOTEL TABAKASI VE ENDOTELİN FONKSİYONLARI.....	23
3.1. Vasküler Tonusun Endotelyum Tarafından Düzenlenmesi.....	24
3.1.1. Vazodilatasyon oluşturan faktörler.....	24
3.1.1.1. Nitrik oksit sentaz (NOS) izoformları.....	24
3.1.1.2. Prostaglandinler.....	26
3.1.2. Vazokonstriksiyon oluşturan faktörler.....	27
3.2. NO' nun Fizyolojik Fonksiyonları.....	27
3.2.1. Vazodilatasyon ve trombosit agregasyon ve adezyonunu inhibisyonu.....	27
3.2.2. Lokosit adezyonu ve vasküler inflamasyonun inhibisyonu.....	28
3.2.3. Vasküler düz kas hücre proliferasyonunun kontrolü.....	28

3.2.4. Antioksidan etkisi.....	29
3.3. NO' nun Patofizyolojik Durumlardaki Önemi.....	31
3.3.1. Hiperkolesterolemi ve Ateroskleroz.....	31
3.3.2. Oksidatif stres.....	32
3.3.3. Endotelial eNOS uncoupling (ayrışması).....	33
4. RESVERATROL.....	34
4.1. Resveratrol Hakkında Genel Bilgiler.....	34
4.2. Resveratrolün Kimyasal Yapısı.....	34
4.3. Resveratrolün Etkileri.....	35
4.3.1. Resveratrolün düz kas ve endotel üzerine etkileri.....	36
4.3.2. Resveratrolün antioksidan etkisi.....	36
5. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	38
5.1. Çalışma Gruplarının Hazırlanması.....	38
5.1.1. Etik kurul onayı, barınma koşulları ve tavşanların gruplandırılması...38	
5.1.2. Kolesterol diyeti ve resveratrollü içme suyunun hazırlanması.....	40
5.1.3. Biyokimyasal analiz için kan örneklerinin hazırlanması.....	41
5.2. Çalışmada Kullanılan Yöntemler.....	42
5.2.1. Dokuların alınması.....	42
5.2.2. Kanda biyokimyasal parametrelerin saptanması.....	42
5.2.3. Organ banyosu çalışmaları.....	43
5.2.4. Organ banyosunda kullanılan aygıtlar.....	44
5.2.5. Kullanılan kimyasallar.....	45
5.2.6. Verilerin analizi.....	45
6. BULGULAR.....	46
6.1. Hayvan Ağırlıklarının Karşılaştırılması.....	46
6.2. Biyokimyasal parametre sonuçları.....	46
6.3. İzole organ banyosu sonuçları.....	49

<b>6.3.1. Kontrol grubu (Grup 1) organ banyosu sonuçları.....</b>	<b>49</b>
<b>6.3.2. Hiperkolesterolemik diyetle beslenen grup (Grup2) organ banyosu sonuçları.....</b>	<b>49</b>
<b>6.3.3. Hiperkolesterolemik diyetle birlikte resveratrol tedavisi uygulanan grup (Grup3) organ banyosu çalışmaları.....</b>	<b>50</b>
<b>7. TARTIŞMA.....</b>	<b>56</b>
<b>8. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>60</b>
<b>9. KAYNAKLAR.....</b>	<b>61</b>

## **TABLO**

<b>Tablo 1.</b> Penisini oluşturan yapıların fonksiyonu .....	6
<b>Tablo 2.</b> ED patofizyolojisinde rol oynayan faktörler .....	15
<b>Tablo 3.</b> Psikojenik ED tipleri .....	18
<b>Tablo 4.</b> ED'li hastalarda tedavi yaklaşımı .....	19
<b>Tablo 5.</b> Endotelyopatiler .....	42
<b>Tablo 6.</b> Çalışma başlangıcı ve sonunda hayvan ağırlıkları .....	46
<b>Tablo 7.</b> Kontrol grubunun serum biyokimya sonuçları.....	47
<b>Tablo 8.</b> Hiperkolesterolemi grubunun serum biyokimya sonuçları .....	47
<b>Tablo 9.</b> Hiperkolesterolemi + Resveratrol grubunun serum biyokimya sonuçları .....	47
<b>Tablo 10.</b> Gruplar arası serum biyokimya sonuçlarının karşılaştırılması.....	48
<b>Tablo 11.</b> Gruplar arasında glukoz düzeyinin katlı değeri tablosu .....	48

## ŞEKİLLER

Şekil 1. Penisi oluşturan anatomik yapılar .....	7
Şekil 2. Penisin arteriyel yapısı .....	8
Şekil 3: Penisin venöz yapısı (Campbell Urology; tenth edition) .....	9
Şekil 4. Penisin nöral innervasyonu ve vasküler yapısı .....	10
Şekil 5. Cinsel uyarı sonrası kavernozaal yapılarda görülen genişleme .....	11
Şekil 6. L-arjinin/nitrik oksit/guanilat siklaz/cGMP yolu .....	13
Şekil 7: Farklı NOS izoformlarının önemli fonksiyonları .....	25
Şekil 8. NO'in anti-aterojenik etkileri .....	29
Şekil 9: Oksidan ve antioksidanlar arasındaki ilişkiler ve NO sistemi .....	30
Şekil 10: ROS' un abartılı vasküler üretiminin etkisi ve proaterojenik faktörlere yanıt olarak NO biyoaktivitesinin bozulması .....	32
Şekil 11: Endotelyal nitrik oksit sentaz uncouplingi .....	33
Şekil 12: Resveratrolün kimyasal yapısı .....	35
Şekil 13. Çalışmaya alınan deney hayvanlarına uygulanan protokol .....	40



## GRAFİK

<b>Grafik 1.</b> Kontrol grubunda Phe ile kastırılan dokulardaki Ach-bağımlı gevşeme yanıtlarına L-NAME'in etkisi .....	49
<b>Grafik 2.</b> Hiperkoleterolemi grubunda Phe ile kastırılan dokulardaki Ach-bağımlı gevşeme yanıtlarına L-NAME'in etkisi .....	50
<b>Grafik 3.</b> Grup 3 - 4mg resveratrol uygulanan grupta Phe ile kastırılan dokulardaki Ach-bağımlı gevşeme yanıtlarına L-NAME'in etkisi.....	51
<b>Grafik 4.</b> Grup 3 - 6mg resveratrol uygulanan grupta Phe ile kastırılan dokulardaki Ach-bağımlı gevşeme yanıtlarına L-NAME'in etkisi.....	51
<b>Grafik 5.</b> Grup 3 - 8mg resveratrol uygulanan grupta Phe ile kastırılan dokulardaki Ach-bağımlı gevşeme yanıtlarına L-NAME'in etkisi.....	52
<b>Grafik 6.</b> Grup 1, Grup 2 ve Grup3- 4mg resveratrol gruplarında Ach ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtlarının karşılaştırılması.....	53
<b>Grafik 7.</b> Grup 1, Grup 2 ve Grup3- 6mg resveratrol gruplarında Ach ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtlarının karşılaştırılması.....	53
<b>Grafik 8.</b> Grup 1, Grup 2 ve Grup3- 8mg resveratrol gruplarında Ach ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtlarının karşılaştırılması.....	53

## RESİM

<b>Resim 1 .</b> Tavşanların barınma koşulları .....	39
<b>Resim 2.</b> Tavşanların sakrifikasyonu .....	42
<b>Resim 3.</b> KK diseksiyonu .....	42
<b>Resim 4.</b> Organ banyosu düzeneği .....	44

## **KISALTMALAR**

- ADE:** Anjiotensin dönüştürücü enzim  
**ADMA:** Asimetrik dimetilarjinin  
**ART:** Androjen replasman tedavisi  
**ATP:** Adenozin trifosfat  
**BCNCI:** Bilateral cavernous nerve crash injury  
**cAMP:** Siklik adenozin monofosfat  
**cGMP:** Siklik guanozin monofosfat  
**CGRP:** Kalsitonin gen bağımlı peptid  
**COX:** Siklooksijenaz  
**DM:** Diabetes mellitus  
**EAA:** Eğri altında kalan alan  
**EC-SOD:** Ekstrasellüler süperoksit dismutaz  
**ED:** Eretil disfonksiyon  
**EDHF:** Endotel bağımlı hiperpolarizan faktör  
**EDRF:** Endotel kaynaklı gevşetici faktör  
**ELAM:** Endotelyal lökosit dezyon molekülü  
**eNOS:** Endoteyal nitrik oksit sentaz  
**ET-:** Endotelin-1  
**GAPDH:** Gliseraldehid-3-fosfat dehidrojenaz  
**HDL:** Yüksek molekül ağırlıklı lipoprotein  
**HIV:** İnsan immün yetmezlik virüsü  
**ICAM :** İntraselüler adezyon molekülü  
**IKB:** İntrakavernozal basınç  
**iNOS:** İndüklenebilir nitrik oksit sentaz  
**KK:** Korpus kavernozum  
**KSU:** Kavernoza sinir uyarımı  
**LDL:** Düşük molekül ağırlıklı lipoprotein  
**L-NAME:** NG-nitro-L-arginine metil ester  
**LOX:** Lipo-oksijenaz  
**LOX-1:** Lektin benzeri Ox-LDL reseptörü-1  
**MAP:** Sistemik arter basıncı  
**MAPK:** Mitojen aktive edici protein kinaz

**MMAS:** Massachusetts Erkek Yaşlanma Çalışması  
**MCP-1:** Monosit kemoatraktan protein-1  
**MHC-II:** Major histokompatibilite kompleks-2  
**MLC:** Miyozin hafif zincir  
**MMP:** Matriks metalloproteinaz  
**MPOA:** Medial preoptik alan  
**NA:** Noradrenalin  
**NANC:** Nonadrenerjik nonkolinerjik  
**NFκB:** Nükleer faktör-kappa B  
**NMMA:** N-mono-metil-L-arjinin  
**NO:** Nitrik oksit  
**NOS:** Nitrik oksit sentaz  
**nNOS:** Nöronal nitrik oksit sentaz  
**OAB:** Ortalama arteriyel basınç  
**Ox-LDL:** Okside düşük molekül ağırlıklı lipoprotein  
**PAF-1:** Trombosit aktive edici faktör-1  
**PAI-1:** Plazminojen aktivatör inhibitörü-1  
**PARP:** Poli adenzin difosfat riboz polimeraz  
**PBS:** Phosphate buffer saline  
**PDE:** Fosfodiesteraz  
**PGE1:** Prostaglandin E1  
**PGE2:** Prostaglandin H2  
**PGI2:** Prostatiklin  
**PKB:** Protein kinaz B  
**PKC:** Protein kinaz C  
**PKG:** Protein kinaz G  
**PTK:** Protein tirozin kinaz  
**ROS:** Reaktif oksijen ürünleri  
**RTPCR:** Real time polimeraz zincir reaksiyonu  
**sGC:** Soluble guanilat siklaz  
**SLE:** Sistemik lupus eritematozus  
**SOD:** Süperoksit dismutaz  
**TNF-α :** Tümör nekroz faktörü alfa  
**t-PA:** Doku plazminojen aktivatörü

**VCAM:** Vasküler hücre adezyon molekülleri

**VDKH:** Vasküler düz kas hücreleri

**VIP:** Vazointestinal polipeptid

## ÖZET

### HİPERKOLESTEROLEMİK TAVŞAN KORPUS KAVERNOZUM DOKUSU ÜZERİNE RESVERATROLÜN DOZA BAĞLI KORUYUCU ETKİLERİ

Dr. Onur Kizer. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji AD. 35340 Balçova-İzmir. onur.kizer@deu.edu.tr

Nitrik oksit (NO) salınımının bozulması ve biyoyaralanımının azalması endotelial ve erektil disfonksiyon için bir belirteçtir. Hiperkolesterolemi, endotel disfonksiyonu için iyi bilinen bir risk faktörüdür ve durum vasküler erektil disfonksiyon (ED) ile sonuçlanır. Amacımız hiperkolesteroleminin etkisindeki penis korpus kavernozumunda resveratrol ile tedavinin koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırmaktır.

Yetişkin, erkek Yeni Zelanda tavşanları üç gruba ayrıldı; kontrol grup (Grup 1, n=7), kolesterol ile beslenen hayvanlar (Grup 2, n=7) ve 8 mg/kg/gün resveratrol tedavisi ile birlikte kolesterol ile beslenen hayvanlar (Grup 3, n=7). Çalışmanın ilk aşamasında hayvanlar 4 mg/kg/gün, 6 mg/kg/gün ve 8 mg/kg/gün resveratrolle beslendi. 8 mg/kg/gün resveratrol tedavisi verilen hayvanlarda asetilkolin (ACh) bağımlı gevşeme yanıtlarının diğer tedavi dozlarına göre anlamlı ölçüde daha yüksek olduğu kanıtlandı. Kontrol grubu dışındaki tüm hayvanlar 6 haftalık % 2 a/a kolesterol diyeti ile beslendi. Resveratrol 6 hafta boyunca içme suyuyla birlikte verildi. Total kolesterol, HDL-K ve LDL-K düzeyleri çalışmanın başında ve sonunda tüm hayvanlarda ölçüldü. Korpus kavernozum endotel fonksiyonları, izole organ banyosunda L-nitro-N-Arginin metilester (LNAME) varlığında ve yokluğunda asetilkolinin kümülatif dozlarda ( $10^{-8}$  -  $10^{-5}$  M) uygulanması ile değerlendirildi.

Altı haftalık kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlarda oluşan hiperkolesterolemi kan ölçümleriyle doğrulandı. Altı haftalık kolesterol diyeti ile beslenen hayvanlara resveratrol uygulaması artmış kolesterol seviyelerini düzeltmedi. ACh bağımlı gevşeme yanıtları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Grup 2' de önemli oranda azalmışken (Grup 2, %29,09±3,95 vs Grup 3, %48,58±4,16, p<0.01), resveratrol uygulaması bu yanıtları doza bağlı olarak arttırmıştır (4 mg %44,7% ± 7,25, 6mg % 51.7 ±10.88 and 8mg %53,01±3.88).

Bu çalışma altı haftalık kolesterol diyeti ile hiperkolesterolemi geliştirilen hayvanlarda resveratrol uygulamasının kan lipid düzeylerini etkilemeksizin, penis korpus kavernozum düz kasında endotel bağımlı gevşemeyi doza bağlı olarak koruyabildiğini göstermiştir, bu durum endotel ve erektil fonksiyonların korunması ile sonuçlanmıştır.

## **SUMMARY**

### **DOSE DEPENDENT PROTECTIVE EFFECTS OF RESVERATROL TREATMENT ON HYPERCHOLESTEROLEMIC RABBIT CORPUS CAVERNOSUM TISSUE**

Dr. Onur Kizer. Dokuz Eylül University Faculty of medicine, Department of Urology.  
35340 Balçova-Izmir. onur.kizer@deu.edu.tr

Impaired release and reduced bioavailability of nitric oxide are the hallmark for endothelial as well as erectile dysfunction. Hypercholesterolemia is known to be a risk for endothelial dysfunction that results in vasculogenic erectile dysfunction. Our aim was to investigate whether treatment with resveratrol have potential to protect corpora cavernosa (CC) of the penis from the affect of hypercholesterolemia.

Adult male New Zealand rabbits were divided into three groups as; control (Group 1, n=7), cholesterol-fed animals (Group 2, n=7), and cholesterol-fed with 8mg/kg/day resveratrol treatment (Group 3, n=7). In the first step of the study animals were treated with 4 mg/kg/day, 6 mg/kg/day and 8 mg/kg/day dose of resveratrol. 8mg/kg/day resveratrol treatment proved Ach-mediated relaxation responses significantly higher than the other dose treatments. All animals except control were fed with 2% a/a cholesterol diet for 6 weeks. Resveratrol was administered with drinking water for 6 weeks. Total cholesterol, HDL and LDL levels were measured in all animals at the beginning and at the end of the study. Endothelial functions in CC was assessed by isolated tissue bath with cumulative doses of acetylcholine (Ach) ( $10^{-8}$  - $10^{-5}$  M) in the presence and absence of L-nitro-N-Arginin metilester (LNAME).

Feeding rabbits with cholesterol-diet for 6 weeks resulted in hypercholesterolemia confirmed by blood measurements. Resveratrol administration to the cholesterol-fed animals for 6 weeks did not restore increased blood cholesterol levels. While Ach-induced relaxation responses were significantly reduced in group-2 compared to control (%29,09±3,95 vs %48,58±4,16,  $p<0.01$ ), resveratrol administration augmented these responses dose dependently(4 mg %44,7% ± 7,25, 6mg % 51.7 ±10.88 and 8mg %53,01±3.88).

This study has demonstrated that resveratrol administration in hypercholesterolemia-induced rabbits for 6 weeks could dose-dependently protect corpora cavernosal smooth muscle relaxation of the penis without affecting blood lipid levels, resulting in preserved endothelial and erectile function.

## 1. GİRİŞ VE AMAC

Eretil disfonksiyon (ED) tatminkar cinsel performans için yeterli bir ereksiyonu başlatma ve sürdürmede kalıcı bozukluk hali olarak tanımlanır (1). ED benign bir hastalık olmasına karşın, fiziksel ve psikososyal sağlığı etkiler ve bu sıkıntıyı yaşayan hasta ile birlikte partnerinin ve ailesinin yaşam kalitesi üzerinde önemli bir etkisi vardır (2). Yakın zamanlarda ED ile ilgili epidemiyolojik çalışmaların bir derlemesinde erkeklerin yaklaşık %5-20' sinde orta-ağır ED saptanmıştır (3). Bildirilen görülme sıklığı farklılıkları, muhtemelen metodoloji farklılıklarına ve çalışma popülasyonlarının yaş ve sosyo-ekonomik durumlarına bağlıdır (1).

Eretil disfonksiyon (ED) egzersiz azlığı, obezite, sigara, hiperkolesterolemi ve metabolik sendrom gibi kardiyovasküler hastalıklar ile ortak risk faktörlerini paylaşır (4). ED riski bu faktörlerin modifiye edilmesiyle, özellikle egzersiz yaparak ve kilo vererek azaltılabilir (158). ED için bir diğer risk faktörü her tip (açık, laparoskopik, robotik) radikal prostatektomidir (RP) (159); çünkü, bu operasyon sonucunda kavernoöz sinir hasarı, korpus kavernozum oksijenasyonunda azalma ve vasküler yetersizlik riski söz konusudur. RP geçiren hastaların yaklaşık %25-75' inde postoperatif ED görülür (159). Son zamanlarda ED ve ateroskleroz gelişimi açısından en çok kabul gören patofizyolojik olay endotelial disfonksiyondur (4). Endotelial fonksiyonun regülasyonunda anahtar molekül nitrik oksid (NO) olarak bilinmektedir. NO endotel hücresinde L-argininden endotelial NO sentaz (eNOS) enzimi ile sentezlenir. eNOS fizyolojik koşullarda nöronal NO sentaz (nNOS) ile başlayan ereksiyon sürecinin devamlılığında rol oynamaktadır (5). NO üretimi ve biyoyararlanımındaki azalma yani endotelial disfonksiyon ED patofizyolojisindeki en önemli mekanizmadır. Bu azalmadan sorumlu olabilecek mekanizmalar; oksidatif strese bağlı azalmış eNOS ekspresyonu ve aktivitesi, eNOS fosforilasyonunda azalma, artmış ox-LDL ve buna bağlı NO'nun inaktivasyonu, eNOS kofaktörleri veya substrat miktarlarında azalma şeklinde özetlenebilir (6). Hiperkolesterolemik erkeklerde ve hiperkolesterolemik hayvan modellerinde, penise giden kan akımı azalmakta, NO ile ilişkili olarak korpus kavernozumda endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında azalma ve korpus kavernozum düz kasında fibrozis gibi morfolojik değişiklikler ve dejenerasyon meydana gelmektedir (7,8,9).

Resveratrol çok çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik etkileri olan bir polifenoldür. Kırmızı üzüm, kırmızı şarap, kırmızı üzüm suyu ve polygonum cuspidatum bitki kökünden ekstrakte edilmektedir ve kalp sağlığı üzerine olumlu etkisinde rol oynayan birçok faktör mevcuttur (10). Kalp sağlığı dolayısıyla endotelial fonksiyonlar üzerindeki etkisindeki en önemli mekanizma NO biyoyararlanımını arttırmasıdır, bunu da eNOS ekspresyonunda artışa yol



açarak sağlar (11). Bunların yanında resveratrolün birçok hücrede tümör nekroz faktör tarafından oluşturulan reaktif oksijen ürünleri ve lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir (12). Resveratrol hücre içi antioksidan miktarını arttırabilir. Benzer olarak insan lenfositlerinde resveratrol glutatyon peroksidaz, glutatyon-S transferaz ve glutatyon redüktaz gibi birçok antioksidan enzimde de artışa neden olmaktadır (13). Zou ve ark.'nın tavşan iliak arterinde yaptığı çalışmada resveratrolün intimal hiperplaziyi ve buna bağlı damar duvar hasralanmasını etkili bir şekilde inhibe etmiştir (14). Bu çalışma ile deneysel tavşan modelinde resveratrolün endotel fonksiyonları üzerine in vivo olarak etkisi gösterilmiştir. Laboratuvarımızda yapılan daha önceki bir uzmanlık tezi çalışmasında resveratrolün hiperkolesterolemik tavşan modelinde farklı çaplardaki damarlarda (mezenterik arter, renal arter ve aort) ve korpus kavernozumda endotel bağımlı ve bağımsız gevşeme yanıtları üzerine etkileri değerlendirildi. Çalışmada kontrol grubu, 6 hafta boyunca hiperkolesterolemik diyetle beslenen grup ve hiperkolesterolemik diyetle beraberinde Zou ve ark.'nın tavşan iliak arterinde endotel koruyucu doz olarak bildirdikleri 4mg/kg/gün (14) dozda resveratrolün 6 hafta boyunca oral olarak uygulandığı grup yer almaktaydı. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre resveratrol farklı çaplardaki damarlarda ve korpus kavernozumda endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında koruyucu etki göstermiştir. Bu çalışma farklı düz kas yapılarında aterosklerozun farklı etkileri ve resveratrolün bu yapılar üzerindeki koruyucu etkisini gösteren ilk çalışmadır (15). Yaptığımız başka bir uzmanlık tezi çalışmasında resveratrolün vaskülojenik ED tavşan modelinde hiperkolesterolemi ile bozulan korpus kavernozum relaksasyon yanıtlarını iyileştirdiğini ancak tümüyle kontrol yanıtlarına döndürmediğini, endotel bağımsız düz kas gevşeme yanıtlarını etkilemediğini (15) ve azalan kavernoza eNOS mRNA ekspresyon düzeylerinde anlamlı artış sağladığını ortaya koyduk (Yayın aşamasında). Bu çalışma ile korpus kavernozum dokusunda yüksek kolesterol diyetiyle eş zamanlı olarak artan dozlarda resveratrol tedavisinin uygulanması sonucunda endotel bağımlı gevşeme yanıtlarındaki değişikliklerin değerlendirilmesi ve NO yolağının rolünün araştırılması amaçlanmaktadır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

Eretil disfonksiyonun ilk tanımı İÖ 2000 yıllarına kadar gider ve Mısır papirüslerinde yazılıdır. Şimdiki tanımıyla ED, cinsel aktivite için yeterli ereksiyonun sağlanamaması ve/veya sürdürülememesi durumunun süreklilik kazanması biçiminde tanımlanır (16,17). Eretil fizyoloji hakkındaki güncel bilgilerin çoğu 1980'ler ve 1990'lar da elde edilmiştir. Arteriyel ve venöz kan akımını regüle eden düz kasların rolüne ek olarak, tunika albugineanın üç boyutlu yapısı ve onun venöz oklüzyondaki rolü ortaya konmuştur. Sinirsel kontrolün anlaşılmasında önemli bir aşama da NO'in başlıca nörotransmitter olduğunun ve fosfodiesterazların (PDEs) penisi flask duruma döndürdüğünün belirlenmesidir. Düz kas tonusunun ayarlanmasında endotelin rolü ve hücreler arasındaki bağlantı noktaları "gap junctions" yoluyla oluşan ilişkiler de ortaya konmuştur. Düz kas, endotel ve fibroelastik çatıda diyabetes mellitus, ateroskleroz ve yaşlanma ile oluşan değişikliklerin patofizyolojisi de belirlenmiştir.

### **2.1. Eretil Disfonksiyon Prevalansı:**

Son epidemiyolojik veriler ED' nin dünya çapında yüksek bir prevalans ve insidansa sahip olduğunu göstermiştir. Eretil disfonksiyon insidansı yaşla birlikte artmaktadır. ED' ye yönelik ilk büyük çaplı, toplum temelli çalışma Massachusetts Erkek Yaşlanma Çalışmasıdır (MMAS). Feldman ve arkadaşları tarafından 1987 ile 1989 yılları arasında yapılan bu çalışma ED prevalansına ilişkin en kapsamlı ve güvenilir verileri sağlamıştır (2). Çalışma sonucunda, Boston-Massachusetts bölgesinde rastgele seçilen 11 şehir ve kasabada, yaşları 40-70 arasında değişen 1290 erkekte uygulanan bir anket sonucunda ED prevalansı %52 olarak bildirilmiştir. Bu hastaların %9,6'sında şiddetli ED, %25,2'sinde orta, %17,2'sinde ise hafif şiddette ED saptanmıştır (1). Bu grubun 1995 ile 1997 tarihlerinde yaptığı araştırma sonuçları 1987 ile 1989'da yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında komplet eretil disfonksiyon oranının %5,1'den %15'e yükseldiği, orta derecede disfonksiyonun %17'den %34'e yükseldiği, hafif disfonksiyonun ise %17 civarında sabit kaldığı görülmüştür. Ülkemizde ise ED prevalansı ile ilgili bilgiler oldukça yenidir. Akkuş ve arkadaşlarının yaptığı epidemiyoloji çalışmasına göre ülkemizde 40-70 yaş arası erkeklerde ED prevalansı % 69,2'dir (hafif % 33,2, orta % 27,5 ve şiddetli % 8,5) ve şiddeti yaş ile birlikte artış göstermektedir (18).

## 2.2. Penisin Fonksiyonel Anatomisi:

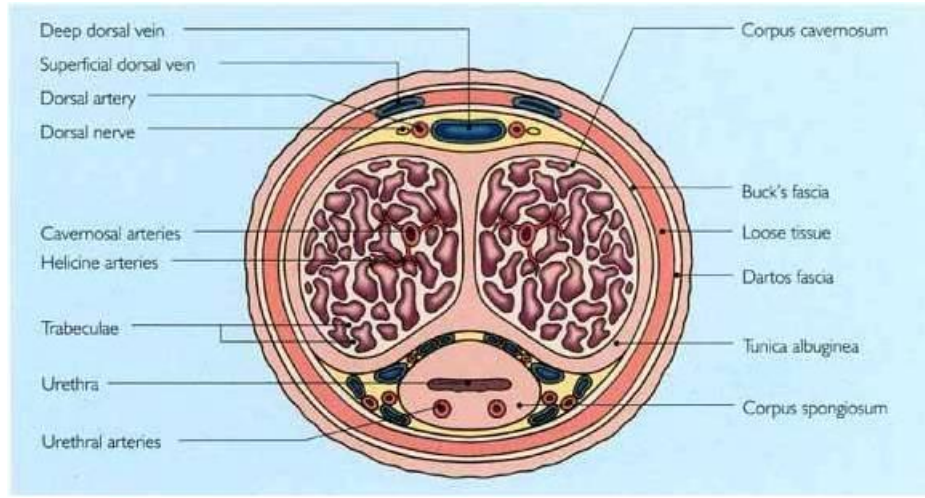
Penis, gevşek bir cilt ve ciltaltı dokusu ile sarılı bir çift KK ile üretrayı içeren bir adet korpus spongiozumdan oluşan erektil bir organdır. Penis boyutu ereksiyon ve flask durumuna göre değişmektedir. Bir çalışmada penis flask durumda pubopenil bileşmeden eksternal meatusa kadar 8,8 cm, gerilmiş olarak 12,4 cm, ereksiyonda 12,9 cm ölçülmüştür (19). Penisini oluşturan yapıların fonksiyonu Tablo 1’de gösterilmiştir.

Korpus kavernozumlar	Korpus spongiozum ve glansı destekler.
Tunika albuginea	Erektil dokuyu sarar ve korur, kavernöz cisimlerin sertliğini sağlar, venaokluziv mekanizmaya katılır.
Düz kas	Sinüzoidlere kan girişini ve çıkışını sağlar.
İskiokavernöz kaslar	Ereksiyonu hızlandırmak için kanı distale pompalar. Rijit ereksiyon fazında ek penil sertlik sağlar.
Bulbokavernöz kaslar	Semenin atılmasına yardımcı olarak bulber üretrayı sıkıştırır.
Korpus spongiozum	Semenin üretradan atılmasına izin veren basınçta, dar bir boşluk sağlar.
Glans	Penisin kadın organlarındaki etkisini azaltan bir yastık görevi görür.

Tablo 1: Penisini oluşturan yapıların fonksiyonu Campbell Urology; tenth edition’den Türkçeleştirilmiştir.

**2.2.1. Kavernöz cisimler:** Sinüslerin oluşturduğu vasküler bir yapıdır. Derin penil kavernözal arter ve devamı olan rezistans heliksin arterlerden kan temin ederler. Trabeküller, emisser venülleri kavernoza veneye bağlayan subtunika venleri ile drene olurlar. Histolojik olarak, KK’lar öncelikle trabeküler düz kaslar (%40-50), endotel, sinirler ve fibroblast gibi bağ dokularından (%45-50) oluşur. Korpus kavernozumlar tunika albuginea ile sarılmış bir çift süngersi silindirlere oluşur. Proksimal uçları, krural, iskiyon-pubis kollarının alt yüzeyinden köken alan iki yapı halindedir, ancak pubik arkusun altında birleşerek glansa kadar yapışık olarak devam ederler. Korpus kavernozumlar tunika albuginea, septum, intrakavernöz septalar, intrakavernöz fibröz çatı, periarteriyel ve perinöral fibröz kılıflar tarafından desteklenir (Şekil 1).

**2.2.2. Korpus spongiosum ve glans penis:** Korpus spongiosum iki kavernöz cismi birlikte çevreleyen Buck fasyası ile kavernöz cisimlerden ayrılan bir yapıdır (Şekil 1). Korpus spongiosumun distale doğru uzantısı glans penisi oluşturur ve KK'ların distal uçlarını şapka gibi kapatır. Korpus spongiosumun içinden üretra geçer. Korpus spongiosumun proksimal tarafı daha kalın olup urogenital diyafragmağa bağlıdır, üretranın bulbus kısmını içerir ve kruslar arasında kalan bu bölüme penis bulbusu ismi de verilir (20).



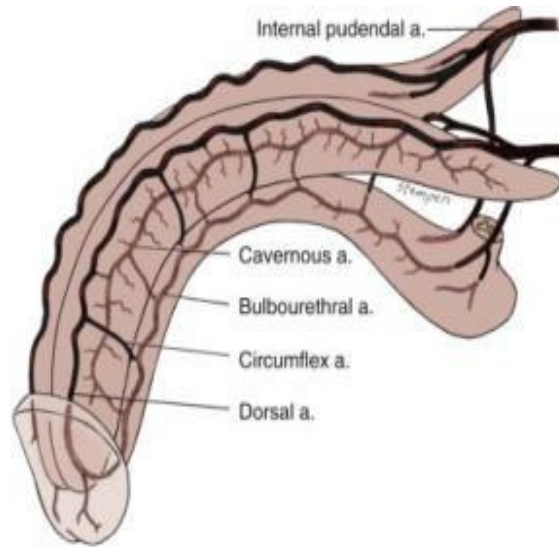
Şekil 1: Penisini oluşturan anatomik yapılar (Tom F.Lue. A Review of Erectile Dysfunction derlemesinden alıntı yapılmıştır).

**2.2.3. Tunika Albuginea:** İçte sirküler ve dışta longitudinal olmak üzere kavernöz cisimleri saran çok tabakalı bir dokudur (21,22). Septum, iki kavernöz cismi ayıran geçirgen bir yapı olup tunika albugineanın sirküler iç tabakası ile devam eder. İç tabakadan septuma uzanan intrakavernozal bantlar erektil dokuya asıl desteği sağlayan septumu güçlendirir. Distal penis içindeki intrakavernozal destek yapılar saat 5 ve 7 pozisyonunda ve bu desteklerden farklı yönlere uzanan minör destek yapılar ise saat 2 ve 6 pozisyonuna uzanarak KK'ü çaprazladıktan sonra tunika ile birleşirler (22). Kavernöz cisimler arasında uzanan ve süngersi cisimin yerleştiği saat 6 hizasında tunika albugineayı saran longitudinal tabaka bulunmaz. Tunika albuginea, elastin lifler ile içiçe girmiş biçimde fibriler kollajenden oluşmuştur. Kollajen tunikaya asıl sertliğini veren yapıdır. Elastin içeriği tunika albugineanın kompliyansını ve gergin haldeki penis uzunluğunun belirlenmesini sağlar (22). Emitter venler

iç ve dış tabakalar arasında kısa bir mesafe seyrederek, sıklıkla dış tabaka liflerini oblik olarak delerler. Bununla birlikte, KK'a ilave kan akımı sağlayan kavernoöz arter ve dorsal arterin dalları daha direkt bir yol izler ve periarteriyel yumuşak doku kılıfı ile çevrilidirler. Bu kılıf ereksiyon sırasında arterlerin tunika albuginea tarafından sıkıştırılmasını önler. Dış tunikal tabaka ereksiyon sırasında emisser venlerin sıkıştırılmasında rol oynayan bir tabakadır (23).

### 2.3. Penisin Vasküler Yapısı:

**2.3.1. Arteriyel Dolaşım:** Penisin arteriyel kan akımı internal iliak arterden çıkan internal pudental arter ile sağlanır (24,26). Bununla birlikte eksternal iliak, obturator, vezikal ve femoral arterlerden aksesuar arterler gelebilir (25). İnternal pudental arter bulboüretal, dorsal ve kavernoöz arterlere ayrılır (Şekil 2). Bulboüretal arterler glansı ve üretrayı besler. Kavernoöz arterler iki kururanın birleştiği noktadan kavernoöz cisme girerler. Kavernoöz arterler distalde trabekülleri besleyen helisin arterlere dönüşür. Dorsal penil arter ikiye dallanarak peniste saat 11 ve 1 pozisyonunda dorsal sinirler boyunca yayılır ve peniste yüzeyel yapıları ve kavernoöz cismi besleyen sirkumfleks arteri oluşturur. Aynı zamanda pelvik bölge arterleri arasında zengin damar anastomozları bulunabilir ve normalden farklı olarak heriki korporal oluşum tek taraflı beslenebilir (24,26).

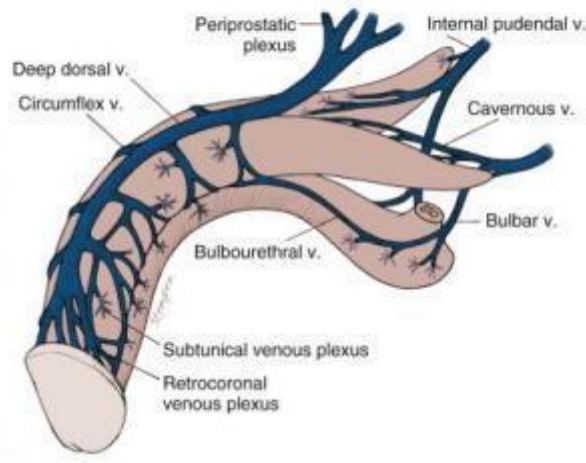


Şekil 2: Penisin arteriyel yapısı (Campbell Urology; tenth edition)

**2.3.2. Venöz drenaj:** Üç korpusun venöz drenajı, hemen tunika albugineanın altındaki periferal sinüzoidlerden kaynaklanan ince venüllerden başlar. Bu venüller tunika ve periferal sinüzoidlerin arasındaki trabekülalar içinde seyrederek ve emisser venler olarak çıkmadan önce subtunikal venüler pleksusu yaparlar (Şekil 3). Tunika albugineanın dışında venöz drenaj aşağıdaki gibidir.

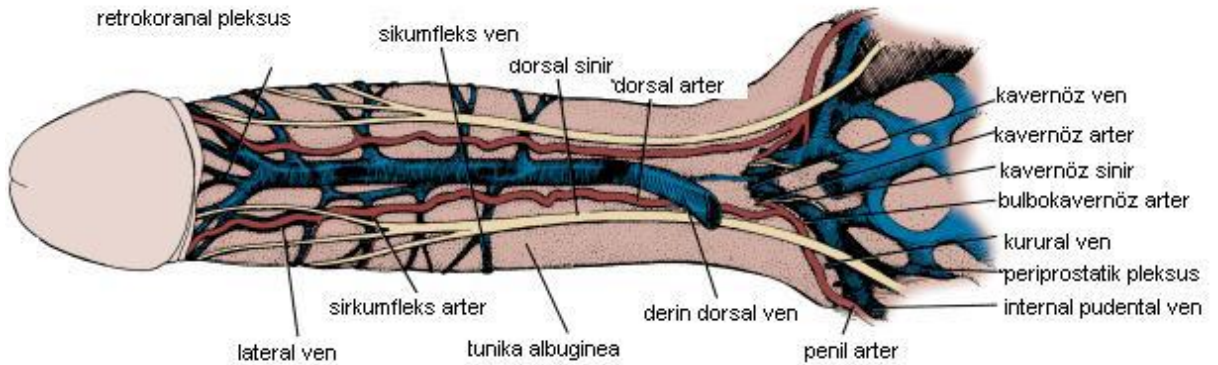
1. Cilt ve ciltaltı dokusu: Multipl yüzeysel venler cilt altında seyrederek penis köküne yaklaşınca birleşerek tek veya çift yüzeysel dorsal veni yapar, daha sonra safen venlere dökülür. Nadiren yüzeysel dorsal ven KK'ların bir bölümünü de drene edebilir.
2. Pendülöz penis: KK'un ve spongiozumun emisser venleri dorsalde derin dorsal, lateralde sirkumfleks ve ventralde ise periüretral venlere dökülür. Koronal sulkustan başlayarak, derin dorsal ven glans penisin, korpus spongiozumun ve KK'ların distal üçte ikisinin başlıca venöz drenajını sağlar. Genellikle tek bazen ise birden fazla derin dorsal ven, periprostatik venöz pleksusa dökülmek üzere simfizis pubis arkasından yukarı doğru seyrederek.
3. İnfrapubik penis: Proksimal KK'ları drene eden emisser venler kaverno ve krural venleri oluşturmak üzere birleşirler. Bu venler bulböz üretradan gelen periüretral venlerle birleşerek internal pudental venleri oluştururlar.

Üç sistemin venleri birbiriyle değişen oranda ilişkilidir. Venöz sistemlerin sayısı, dağılım ve sonlanmadaki değişkenliği sıktır (24,26).



Şekil 3: Penisin venöz yapısı (Campbell Urology; tenth edition)

**2.3.3. Penisin nöral inervasyonu:** Penis, otonomik (sempatik ve parasempatik) ve somatik (duyusal ve motor) sinirlerle inerve edilir. Parasempatik pregangliyonik sinirler ise 2. ve 4. sakral vertebradan çıkarak pelvik ve hipogastrik pleksusa yayılır. Bu pleksus pregangliyonik ve postgangliyonik liflerin penise doğru iletilmesini sağlar. Kavernoöz sinirin çıkış noktası pelvik pleksustur. Prostat kapsülüne kadar pelvik fasya boyunca ilerler ve prostatın posterolateraline uzanır. Kavernoöz sinir dalları membranöz üretranın distalinde süngersi cismin tunika albugineasını penetre eder. Diğer dallar, pudental arter ve kavernoöz venler boyunca kavernoöz cisimlerin kurusuna girer. Geri kalan iki dal penisin distal kısımlarını uyarmak üzere dorsal sinire doğru yayılır (Şekil 4). Sempatik pregangliyonik lifler 9. torasik ve 4. lomber vertebraların pregangliyonik nöronlarından köken alırlar. Bu nöronlar, spinal kord seviyesinde sempatik zincir nöronları ile devam ederek süperior hipogastrik pleksusa yayılırlar. Bu pleksus sağ ve sol hipogastrik sinirlere ayrılırlar. Bu uzantılardan biri daha sonra pelvik pleksus ile birleşir. Penis, glans ve diğer perineal ve inguinal alanlardaki duyusal reseptörlerden köken alan uyarılar dorsal penil sinirlerle taşınır. Bu sinir, diğer pelvisin sinirlerini de bünyesinde toplayarak internal pudental siniri oluşturur ve 2., 3. ve 4. sakral vertebranın dorsal köküne çıkar. Sonuç olarak dorsal penil ve diğer duyusal sinirler sakral spinal korda pudental sinirle iletilmiş olur. İkinci, 3. ve 4. sakral vertebradan çıkan penisin motor innervasyonu, bulbokavernöz ve iskiyokavernöz kaslara sakral ve pudental sinirlerle iletilir. İskiyokavernöz kas kontraksiyonu ile rijit ereksiyon safhasında kavernoöz cismi baskılayarak sıkıştırır. Bulbokavernöz kas ise ritmik kontraksiyon ile ejakülasyon esnasında semen atımını sağlar (24,26).

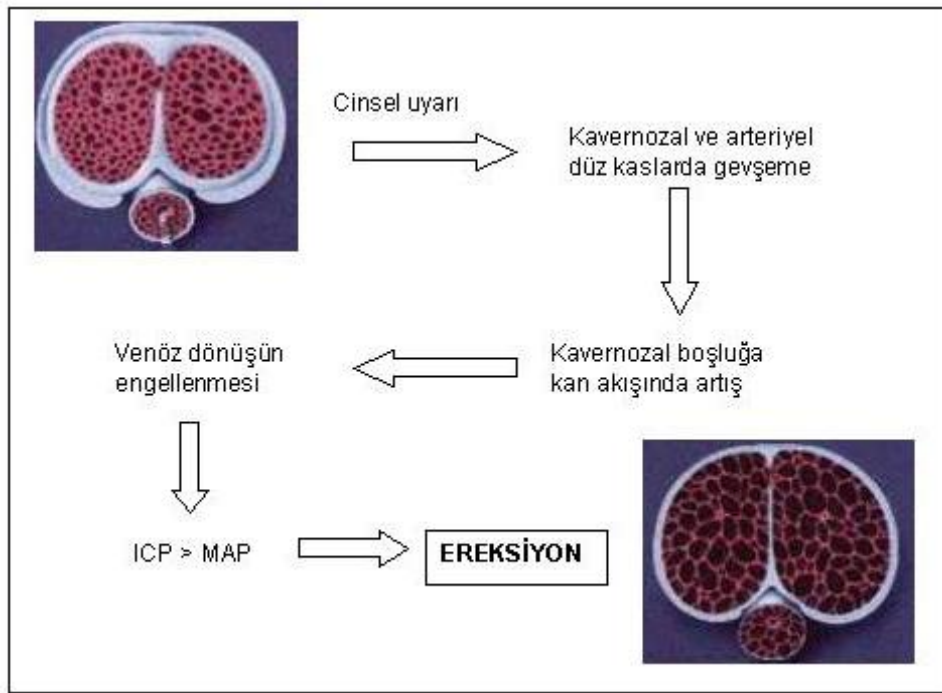


Şekil 4: Penisin nöral inervasyonu ve vasküler yapısı (Hinman F Jr: Atlas of Urological Anatomy. Philadelphia, WB Saunders, 1993, p 445.)

## 2.4. Ereksiyonun Fizyolojisi:

Penil ereksiyon, arteriyel akımda artma, sinüzoidal düz kaslarda gevşeme, venöz dönüşte azalma ile karakterize, nöromediatörler, çizgili ve düz kaslar ile tunika albugineanın koordine çalışması sonucu ortaya çıkan kompleks bir olaydır (27). Son 20 yılda yapılan fizyolojik ve biyokimyasal çalışmalar KK trabeküler düz kas yapısının penis içinde önemli bir yapı olduğunu ve penil ereksiyonun ve detümesansın kontrolünde rol aldığını göstermiştir (28,29). Penil ereksiyon, KK ve korpus spongiosum düz kas liflerinde gevşeme ve penil arteriyel dilatasyon sonrası penise kan dolması sonucu oluşur (16). Ereksiyonu başlatan uyaran geldiğinde sinüzoidal düz kaslar gevşer, sinüzoidlerin kompliyansı artar, arteriyel direnç azalır ve penil kan akımı artar. Penil kan akımının artması ereksiyon oluşmasında primer hemodinamik olay olarak kabul edilir. Genel bir ifade ile ereksiyonun oluşumu esas olarak iki olayın entegrasyonu ile sağlanır;

- I. Arteriyel ve kavernozaal düz kas relaksasyonu ile sinüzoidlere olan kan akımının artışı (30,31),
- II. Kanla dolan sinüzoidlerle tunica albuginea arasında yer alan emisser venlerin basıyla kapanıp sinüzoidler içindeki göllenmenin artması (Şekil 5).



**Şekil 5:** Cinsel uyarı sonrası kavernozaal yapıda görülen genişleme.

ICP: Kavernozaal yapılardaki basınç, MAP: Sistemik kan basıncı



Bu temelden yola çıkılarak penil ereksiyon sırasında meydana gelen değişiklikler altı fazda ele alınabilir:

**1. İstirahat (Flaccid) fazı:** İnsan KK'unda sempatik uyarı ile açığa çıkan noradrenalin (NA), düz kas tonusunun modülasyonunda rol oynayan majör nörotransmitterdir (32). Detümesans ve penisin istirahat hali büyük oranda, sempatik sinir terminallerinden salınan NA'in, korporal düz kaslardaki postsinaptik yerleşimli alfa reseptörleri aktive etmesi sonucu oluşur (33). Noradrenalin ile artan düz kas tonusu penise olan kan akımının düşük düzeyde kalmasına yol açar (33). Sempatik deşarj ile düz kaslar tonik olarak kontrakte halde kalırlar ve yalnızca nutrisyonel amaçlı arteriyel kan akımına izin verilir.

**2. Latent faz:** Seksüel uyarı ile kavernoöz sinir uçlarından nörotransmitter salınımı olur. Uyarıların penisi besleyen arter ve kavernoözal düz kaslardaki reseptörlere ulaşması, ereksiyon mekanizmasını tetikler (34). Hem diastolik hem de sistolik fazda arter ve arteriyollerin dilatasyonu ile kavernoöz arter kan akımı artar. Peniste yavaş bir uzama ve dolma başlar. Yoğun kan akımı genişleyen sinüzoidler tarafından hapsedilir. Tunica albuginea ile periferik sinüzoidler arasında subtunikal ven pleksuslarının kompresyonu, venöz akımını azaltır.

**3. Tümesans fazı:** Tam ereksiyon gelişinceye kadar intrakavernoözal basınç artmaya devam eder. Penis hızla genişler ve tam kapasiteye ulaşana kadar uzamaya devam eder (35).

**4. Tam ereksiyon fazı:** İntrakavernoözal basınç artarak sistolik basınca yaklaşır. Pudental arterdeki kan akımı, tümesans fazındakinden daha az, fakat istirahat fazındakinden daha fazladır.

**5. Rijid ereksiyon fazı:** Pudental sinirden kaynaklanan uyarı ile iskiokavernoöz kasta oluşan istemli kasılma sonucunda kavernoöz cisim içindeki basınç sistolik basınçtan daha yüksek değerlere ulaşır.

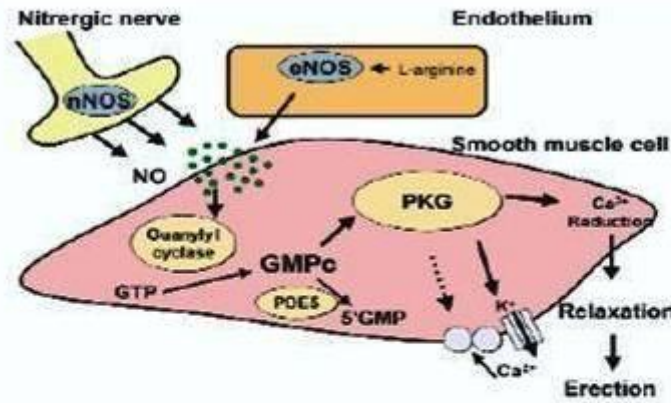
#### **6. Detümesans fazı:**

**a. İnisiyal detümesans:** Ejakülasyon veya stimülasyonun bitmesinden sonra istirahat fazındaki gibi kavernoözal cisim içinde tekrar sempatik sinirlerden salınan NA'in hakimiyeti başlar. Sempatik sistemde artan aktivite, helisin arter tonusunun artmasına ve trabeküler düz kaslarda kasılmaya yol açar

**b. Yavaş detümesans:** Arteriyel akım azalarak bazal düzeylere ulaştığında, venöz kanallar yavaşça yeniden açılır. İntrakavernoözal basınçta da orta derecede bir azalma vardır.

**c. Hızlı detümesans:** İntrakavernoözal basınç hızla düşer ve veno-oklusiv mekanizma inaktif hale gelir. Arteriyel akımın da uyarı öncesi haline dönmesiyle penis flask hale yeniden döner.

Penil ereksiyon oluşumunda, temel olarak santral ve periferik sistemler tarafından düzenlenen, birçok santral ve periferik nörotransmitter ve biyokimyasal sinyaller yer alır (24, 36). Ereksiyonu başlatan ve devamında rol oynayan nörotransmitterler arasında NO, dopamin, asetilkolin, vazointestinal polipeptid (VIP), prostaglandin E1 ve Calsitonin Gen Related Peptid (CGRP) proteini bulunur (37). Penisin detümesans durumundan ise NA, endotelinler, kontraktıl prostaglandinler ve nöropeptid Y sorumludur. Periferal olarak kasıcı ve gevşetici faktörler arasındaki denge KK düz kasının kasılma derecesini kontrol eder (38). Penil ereksiyon için gerekli olan kavernoza düz kas gevşemesinde NO/siklik guanizin monofosfat (cGMP), VIP/siklik adenozin monofosfat (cAMP) gibi pek çok yolak rol oynar (39,40). Lokal olarak endotelial hücreler ve kavernoza damarların nonadrenerjiknonkolinerjik (NANC) uyarılması ile oluşan NO'nun KK gevşemesinde ve penil ereksiyonda ana mediyatör olduğu kabul edilmektedir (39,41). NO'nun sentezi ve çözünebilir guanilat siklaza bağlanması erektil süreç için gereklidir. Bu yolakta farmakolojik aracılık eden pek çok basamak vardır (Şekil 6).



**Figure 11 :** Schematic representation of nitric oxide generation and action pathway in penile smooth muscle and the processes involved in its regulation. NO, nitric oxide; eNOS, endothelial (type III) NO synthase; nNOS, neuronal (type I) NOS; PDE5, phosphodiesterase type 5; PKG, protein kinase G.

**Şekil 6:** L-arjinin/nitrik oksit/guanilat siklaz/cGMP yolu. Tejada et al, Sexual Medicine, p302, 2004'den alınmıştır.

Nitrik oksit, L-arjinininden NOS aracılığıyla sentezlenir. Korpus kavernoza endotel ve sinir inervasyon noktaları NO'nun esas olarak salgılandığı yerlerdir. NO sentezinden sorumlu olan NOS'un birden fazla izoformu vardır; eNOS, nöronal NOS (nNOS), indüklenebilir NOS

(iNOS) (42). Nöronal NOS; NANC sinir uçları, dorsal penil sinir dalları ve derin dorsal arter adventisyasındaki sinir pleksuslarından, eNOS ise kavernozaal endotelden ve intrakavernozaal helisin arterlerden salgılanır (42,43). İndüklenebilir NOS ise inflamatuvar mediyatörlerin ve bakteriyel ürünlerin indüksiyonunu takiben farklı hücrelerden izole edilebilir ancak iNOS peniste eksprese olmaz (44).

Seksüel uyarı sonrası NANC sinirlerin uyarılması NOS salınımına neden olur. Salınan NO arteriyel ve kavernozaal düz kas yapısına diffüze olur (42, 45, 46). NO düz kasta cGMP seviyesini arttırarak soluble guanilat siklazı (sGC) aktive eder. Soluble guanilat siklaz cGMP bağımlı protein kinaz G (PKG)'yi aktive eder. Aktive PKG, Ca<sup>2+</sup> kanal aktivitesini ve hücre içi Ca<sup>2+</sup> konsantrasyonunu azaltır. Azalan (Ca<sup>2+</sup>), Ca<sup>2+</sup> bağımlı K<sup>+</sup> kanallarını açılmasını sağlayarak düz kas hücresinde hiperpolarizasyona neden olur (47). Protein kinaz G aynı zamanda diğer proteinleri fosforilleyerek Ca<sup>2+</sup> konsantrasyonunu etkiler veya miyozin hafif zincirin (MLC) fosforilasyon durumunu değiştirir. Hepsi birden NO bağımlı KK düz kas gevşemesine neden olur (Şekil 5) (47,48).

## **2.5. Erektıl Disfonksiyonun Patofizyolojisi:**

Normal erektıl fonksiyon, birçok düzenleyici sistemin varlığı ve koordinasyonunu, ayrıca fizyolojik, hormonal, nörolojik, vasküler ve kavernozaal faktörlerin etkileşimini gerektirir. Bu faktörlerin herhangi birinde oluşan değişiklikler ED'nun oluşması için yeterli olmasına karşılık; birçok vakada bu etkenlerin değişiklikleri kombine bir şekilde bulunmaktadır (Tablo 2) (49).

<b>Vaskülojenik</b>
- Kardiyovasküler hastalıklar
- Hipertansiyon
- Diabetes mellitus
- Hiperlipidemi
- Sigara
-Major cerrahi veya radyoterapi (pelvik veya retroperitonyum)
<b>Nörojenik</b>
- <i>Santral</i>
- Multipl skleroz
- Multipl atrofi
- Tümör
- İnme
- Disk hastalıkları
- Spinal kord hastalıkları
- <i>Periferik</i>
- Diabetes mellitus
- Alkolizm
- Üremi
-Polinöropati
- Pelvik veya retroperitonyum cerrahisi
<b>Anatomik</b>
- Peyronie hastalığı
- Penil kurvatur
- Mikropenis
- Hipospadyas, epispadyas
<b>Hormonal</b>
- Hipogonadizm
- Hiperprolaktinemi
- Hiper veya hipotiroidi
- Cushing hastalığı
<b>İlaçlar</b>
- Antihipertansifler
- Antipsikotikler
- Antidepresanlar
- Antihistaminikler
- Antiandrojenler
- Bağımlılık yapan maddeler (eroin, kokain, kodein)
<b>Psikojenik</b>
- Generalize tip
- Durumsal tip

Tablo 2: ED patofizyolojisinde rol oynayan faktörler (EAU Guidelines 2009)

### ***2.5.1. Vaskülojenik erektil disfonksiyon:***

Hipogastrik-kavernöz-helisin arter dallanmasında aterosklerotik ya da travmatik tıkanıklık yapan arteriyel hastalıklar, sinüzoidal boşluklara perfüzyon basıncını ve arteriyel kan akımını azaltarak, maksimum ereksiyona kadar geçen zamanı uzatır ve erekte penisin rijiditesini azaltır. Arteriyojenik ED'lu hastaların birçoğunda, penil perfüzyonun azalması yaygın aterosklerotik sürecin bir parçasıdır. Arteriye yetmezlikle birlikte görülebilen yaygın risk faktörleri aterosklerotik koroner arter hastalığı, hipertansiyon, hiperlipidemi, diabetes mellitus, sigara, perineal veya pelvik künt travma, pelvik radyasyondur. Koroner arter hastalığı ve ED'nun başlangıç yaşı ve insidansı arasında paralellik olduğu saptanmıştır. Diyabetik ve yaşlı erkeklerin kavernöz arterlerinde intimal proliferasyon, kalsifikasyon ve lümen stenozu ile birlikte fibrotik lezyon insidansının yüksek olduğu bildirilmiştir (50). ED hem iliak damarlardaki azalmış kan akımı, hem de trabeküler düz kaslarda azalmış genişleyebilme özelliğine bağlı venookluzif disfonksiyon ile açıklanmaktadır (51, 52, 53). Yapılan hayvan modellerinde ateroskleroz ve hiperkolesteroleminin azalmış NOS aktivitesi, artmış tromboksan A2 ve prostaglandin üretimi ile birlikte olduğu ve elektrik stimülasyonuna yanıt olarak, düz kas gevşemesinde bozukluk olduğu gösterilmiştir. Hiperkolesterolemideki bu bozulmuş NO bağımlı düz kas gevşemesi, serbest oksijen radikallerinin salınımına, N-mono-metil-L-arjinin (NMMA) ve asimetric dimetilarjinin (ADMA) gibi NOS inhibitörlerinin artışına bağlanmaktadır. Yapılan ultrastrüktürel çalışmalar, kolesterol ağırlıklı beslenmiş tavşanlarda KK'da erken dönemde aterosklerotik değişikliklerin başladığını göstermektedir. Bu değişiklikler ED'un primer sebebi olmakla birlikte, aterosklerotik lezyonların ilerlemesine ve daha kompleks hale gelmesine neden olmaktadır (54).

### ***2.5.2. Nörojenik erektil disfonksiyon:***

Seksüel fonksiyonda rol alan santral sinir ağı veya periferik sinirlerdeki herhangi bir yaralanma, ED'ye sebep olabilir. Bu ED formu 'nörojenik impotans' olarak adlandırılır. ED'nun %10-19 oranında nörojenik kökenli olduğu tahmin edilmektedir (55,56). Medial preoptik alan (MPOA), paraventriküler nükleus ve hipokampus penil ereksiyon ve seksüel dürtü için önemli integrasyon merkezleri olarak görülür. Bu bölgeleri etkileyen Parkinson hastalığı, inme, ensefalit ya da temporal lob epilepsisi gibi patolojik durumlar sıklıkla ED ile birlikte dir. Spinal kord travmalı hastalarda erektil fonksiyonun derecesi büyük ölçüde spinal lezyonun niteliği, yeri ve yaygınlığına bağlıdır. Spinal kordun üst motor nöron komplet lezyonlarında refleks ereksiyon %95 oranında korunurken, alt motor nöron komplet

lezyonlarında ise sadece %25 oranında ereksiyon sağlanabilir. Spinal kordu etkileyen tümör, transvers myelit, multipl skleroz, spina bifida, siringomyeli, disk hernisi gibi nedenler ED'a yol açabilmektedir (57,58).

Beyine lokal bilgileri ileten ve refleks ereksiyonun afferent koluna katkıda bulunan duyuşal sinirlerin veya trabeküler düz kasların gevşemesi arteriyel dilatasyonu sağlayan otonomik sinirlerin zarar görmesi sonucu ED gelişebilir. Ağır metaller, organik bileşikler, bazı toksinler ve organik bileşikler, DM, alkolizm, üremi, hipotiroidizm, Lepra, HIV, viral enfeksiyonlar, SLE, hemokromatozis periferik sinirleri etkileyerek ED'a neden olurlar (26).

### **2.5.3. Endokrinolojik erektil disfonksiyon:**

ED'u olan hastalarda hipogonadizm nadir rastlanan bir durum değildir. Androjenlerin libido ve seksüel davranışa etkileri iyi bilinmektedir (59). Ganata ve ark.(1997) erkeklerde testosteron seviyesi ile nokturnal ereksiyon arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve nokturnal ereksiyon için, eşik değerin 200 ng/dl civarında olduğunu bildirmişlerdir (60). Androjenlerin etki mekanizmasını ortaya koymak için yapılan hayvan çalışmalarında, kastrasyon sonrası arteriyel akımın azaldığı, venöz kaçak oluştuğı, penis düz kaslarında alfa adrenerjik reseptörlerinin ve apoptozisin arttığı, KK'daki düz kas içeriğinin, kavernöz sinir uyarısının ve nNOS aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (61,62). Hipotalamohipofizer aksı etkileyen tümör, konjenital anomaliler, travma, cerrahi gibi nedenler ED'a neden olabilir. Hipofiz adenomu veya ilaçlara bağılı olarak gelişen hiperprolaktinemi de libido azalması, ED, galaktore, jinekomasti ve infertilite gibi semptomlar oluşabilir. Ayrıca yüksek prolaktin seviyeleri gonadotropin salgılatıcı hormon sekresyonunu baskılayarak testosteron seviyesinin azalmasına neden olabilir.

ED hem hipertiroidi hem de hipotirodi ile birlikte görülebilir. Hipertiroidide sıklıkla dolaşımdaki östrojen seviyesi artışına bağılı olduğu düşünölmektedir. Hipotiroidide düşük testosteron salınımı ve yüksek prolaktin seviyesi ED'a katkıda bulunur. Diyabet her ne kadar en yaygın endokrinolojik hastalık ise de, hormon eksikliğinden ziyade, daha çok vasküler, endotelyal, nörolojik ve psikolojik komplikasyonları nedeniyle ED'a yol açmaktadır.

### **2.5.4. Psikojenik erektil disfonksiyon:**

Seksüel davranışlar ve penil ereksiyon, hipotalamus, limbik sistem, serebral korteks tarafından kontrol edilir. Bundan dolayı uyarıcı ya da inhibe edici mesajlar ereksiyonu kolaylaştırmak yada engellemek için spinal ereksiyon merkezlerine aktarılabilir. Psikojenik ED tipleri Tablo 3'de verilmiştir. Psikojenik disfonksiyonda ereksiyonun inhibisyonunu

açıklayan iki olası mekanizma ileri sürülmektedir: İlk mekanizma suprasakral inhibisyonun aşırılığı, ikinci mekanizma ise seksüel cevap merkezindeki inhibe ediciler ve uyarıcılar arasındaki dengenin bozulmasıdır (49).

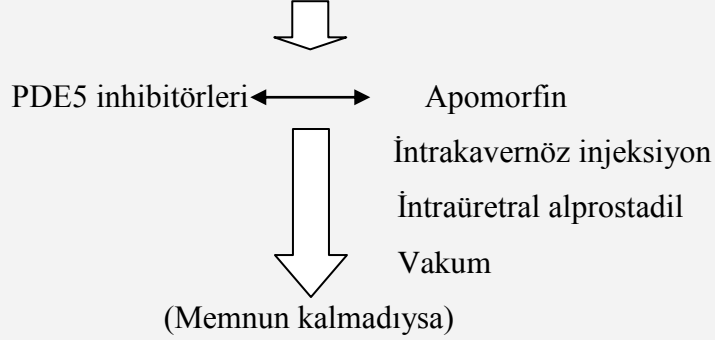
<p>I. Jeneralize tip</p> <p>A. Jeneralize cevapsızlık</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Seksüel uyarılmanın primer yokluğu</li><li>2. Seksüel uyarılmada yaşlanmaya bağlı düşme</li></ol> <p>B. Jeneralize inhibisyon</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Kronik seksüel mahrumiyet hastalığı</li></ol>	<p>II. Durumsal tip</p> <p>A. Partnerle ilişkili</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. İlişkiye özel uyarılma yokluğu</li><li>2. Seksüel obje tercihine bağlı uyarılma yokluğu</li><li>3. Partner anlaşmazlığına ya da tehdidine bağlı yüksek santral inhibisyon</li></ol> <p>B. Performansla ilişkili</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Diğer seksüel disfonksiyonlarla birlikte</li><li>2. Durumsal performans anksiyetesi</li></ol> <p>C. Psikolojik stres ya da denge ile ilişki</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Negatif mood durumu ile birliktelik</li></ol>
---	---

Tablo 3: Psikojenik ED tipleri (International Society of Impotence research. Int J Impot Res;11:141-143, 1999)

## 2.6. Erektile Disfonksiyonun Tedavisi:

Amaç sadece rijit bir ereksiyon sağlamak değil aynı zamanda tatminkar bir cinsel yaşam oluşturmaktır. ED'lu hastalarda tedavi yaklaşımı Tablo 4'deki gibi olmalıdır (63).

- Hastaların risk faktörleri hakkında bilgilendirilmesi
- Hasta ve partnerine alternatif tedavi yöntemleri üzerine bilgi verilmesi
- Hastanın medikal ve psikososyal durumunun ve tercihlerinin birlikte değerlendirilerek en uygun tedavinin seçimi



- Tedavinin tekrar değerlendirilmesi
  - Doz değişimi
  - Hastaya tekrar gerekli kullanımın anlatılması

  
 (Memnun kalmadıysa)

- Diğer alternatif tedaviler veya kombinasyon tedavisi

- Cerrahi seçeneklerin değerlendirilmesi

Tablo 4: ED'lu hastalarda tedavi yaklaşımı (EAU Guidelines 2009)

### 2.6.1. Farmakolojik Tedavi:

Farmakolojik tedaviler, merkezi, periferik veya her iki şekilde etkili olabilirler. Bu tedavide iki grup ilaç vardır (64).



## 1. Merkezi sinir sistem üzerine etkili olanlar

- Apomorfın
- Yohimbin

## 2. Periferik etkili ilaçlar

### Oral

- PDE5 inhibitörleri (sildenafil, tadalafil, vardenafil, udenafil, mirodenafil, Avanafil)
- Apomorfın
- Yohimbin

### İntrakavernozal ve topikal

- Fentolamin
- PGE1
- Papaverin

## **PDE5 inhibitörleri**

PDE inhibitörleri vücutta tüm vasküler dokularda bulunur. İnsan KK dokusunda pek çok tipte PDE izoenzimi saptanmıştır. Ancak penisteki primer etkin form tip 5'tir. PDE5 enzimi ikinci haberci olan cAMP ve cGMP yıkımını sağlar. Bu nedenle PDE5, penis aktivitede son derece önemli bir rol oynamaktadır. PDE5 enzimini inhibe eden ilaçlar, seksüel uyarı olduğunda cGMP yıkımını önleyerek NO'in düz kas üzerindeki doğal etkisini artırır ve dolayısıyla ereksiyonu kolaylaştırır. PDE5 enzimi, penis KK düz kasları dışında, vasküler düz kasta, gastrointestinal sistemde, trombositlerde, böbrek ve santral sinir sisteminde bulunurlar. Bu nedenle PDE5 inhibitörleri baş ağrısı, yüzde kızarma, nazal konjesyon, dispepsi gibi yan etkilere neden olabilmektedir. Bununla beraber diğer PDE izoenzimlerinin inhibisyonuna bağlı olarakta gözde ışığa duyarlılık, mavi görme, myalji, sırt ağrısı gibi istenmeyen etkiler de gözlenmektedir.

Her üç PDE5 inhibitörlerinin etki başlangıç süresi ve etki sürekliliği bakımından bazı farklılıklar bulunmaktadır. Ortalama 15-30 dakika içinde etkili olmaya başlarlar. Bu etkinlik sildenafil ve vardenafilde ortalama 5 saat, tadalafilde ise 24-36 saat arasında devam edebilmektedir.

Nitrat kullanan hastalarda PDE5 inhibitörlerinin kullanılması kesin kontrendikedir, çünkü kullanımlarında nitratların hipotansif etkilerini güçlendirici etkileri vardır, kan basıncı tehlikeli düzeylere düşebilir. Alfa blokör kullanan hastalarda alfa blokör tipine bağlı olarak dikkatli kullanımı şarttır. CYP 3A4 inhibitörleri (eritromisin, ketokonazol, simetidin gibi) kullanan hastalarda PDE5 inhibitörleri mümkün olan en düşük dozda verilmelidir.

## **Apomorfin**

Hipotalamusta yer alan D2 dopaminerjik reseptörleri üzerine merkezi olarak etki eden bir ajandır. Sertleşme sorunu olan erkeklerin tedavisinde sublingual olarak kullanılmaktadır.

Etki süresi 20 dakikadan azdır. Hafif orta şiddette bulantı, uyuşma, esneme ve ender olarak vazovagal senkop gibi yan etkiler görülebilmektedir. Postural hipotansiyon öyküsü olanlarda dikkatli kullanılması gerekmektedir.

## **Yohimbin**

ED tedavisindeki başarısı üzerine önemli bir istatistiksel bilgi mevcut değildir. Santral ve periferik seksüel davranışı uyaran bir alfa 2 adrenerjik antagonisttir. Baş ağrısı, gastrointestinal intolerans, ajitasyon, anksiyete, kan basıncı artışı gibi yan etkiler görülebilmektedir. Nitrat kullananlarda kontrendikedir.

## **Androjen replasman tedavisi (ART)**

Hipogonadizm ilerleyen yaşla ortaya çıkan, plazma androjen seviyesinde düşüşle kendini gösteren klinik ve biyokimyasal bir sendromdur. Çok sayıda organ sistemlerini etkileyebilir ve cinsel fonksiyonlar başta olmak üzere yaşam kalitesinde önemli düşüşlere yol açar. Cinsel fonksiyon bozukluğuyla başvuran, hipogonadizm semptomları olan ve serum testesteron seviyesi düşük veya alt sınırdaki hastalarda androjen tedavisine başlanmalıdır. ART tipik olarak kronik veya yaşam boyu verilmesi gereken bir tedavi olduğundan, hastaların düzenli takibi büyük önem taşımaktadır. Anormal karaciğer fonksiyonları, hiperlipidemi, polisitemi, prostat ve meme kanseri, mesane boynu obstrüksiyonları, agresif davranış ve uyku apnesi olanlarda kontrendikedir.

## **İntrakavernozal Enjeksiyon Tedavisi**

İntrakavernozal enjeksiyonla tedaviye ilk kez 1982 yılında papaverinle başlanmıştır. Birçok hekim tarafından hem teşhis hem de tedavide yaygın olarak kullanılsa da daha az invaziv tedavi alternatiflerinin çıkmasıyla ilk basamak tedavi olarak kullanımı azalmıştır.

## **Prostaglandin E1(PGE1)**

Düz kas hücrelerinin yüzeyinde bulunan spesifik reseptörlerle adenilet siklaz enzimini aktive eder. Bu enzim adenosin trifosfatı (ATP), siklik adenosin monofosfata çevirir. cAMP hücre içi kalsiyum miktarını azaltarak düz kas gevşemesine neden olur. Bu tedavi yöntemi etkin ve kolay tolere edilebilmektedir.

## Papaverin

PDE enziminin selektif olmayan blokörüdür. Hem cAMP hem de cGMP yıkımını inhibe ederek sitoplazmik kalsiyum miktarını düşürür ve bu yolla düz kas relaksasyonuna neden olur. Çoğunlukla oral tedaviye yanıt vermeyen olgularda kullanılmaktadır.

## Fentolamin

Alfa 1 ve alfa 2 adrenerjik reseptörleri inhibe eden ve bu yolla NA aksiyonunu inhibe eden bir ajandır. Genellikle papaverin veya PGE1 kombinasyonlarıyla kullanıldığında daha başarılı sonuçlar elde edilmektedir.

## İntraüretral- intrameatal tedaviler

Alprostadil, PGE1'in sentetik formu olup aktif bileşeni korpus spongiosum ve KK arasındaki venöz kanallar aracılığıyla etki eder. Ereksiyon oluşturmak için kavernöz düz kaslarda gevşemeyi başlatır. Ereksiyon 15-30 dakika içinde başlar, 30-60 dakika kadar etkisi sürmektedir. Etkinliği PDE5 inhibitörleri ve intrakavernöz enjeksiyon tedavisine kıyasla daha düşüktür. Avantajı enjeksiyon gerektirmemesidir. En sık yan etkileri penil ağrı ve üretral yaralanmadır.

## Vakum Cihazları

Penis etrafında vakum etkisi oluşturarak kanın korporal boşluklara toplanmasını sağlayan invaziv olmayan bir yöntemdir. Vakum cihazları özellikle daha stabil ilişki içinde olan yaşlı erkeklerde ve diğer tedavi yöntemlerinin etkili olmadığı durumlarda yararlıdır. Belli oranda peniste rahatsızlık ve soğukluk hissi gibi yan etkiler görülebilmektedir. Hastaların %10-15'inde peniste morluk gözlemlenebilmektedir.

### 2.6.2. Cerrahi tedavi

#### Vasküler cerrahiler

1. Penil revaskülarizasyon
2. Ven bağlama operasyonları
3. Veno-oklüzyon + arteryel yetmezlik operasyonları

#### Penil protezler

1. Bükülebilir
2. Şişirilebilir

### **3. VASKÜLER ENDOTEL TABAKASI VE ENDOTELİN FONKSİYONLARI**

Normal endotel bütün damar düz kaslarında bulunan, damar duvarını kaplayan ince bir epitel tabakasıdır. Vazodilatatör ve vasokonstriktör substratların yapımında etkili olarak, vasküler homeostazın sağlanmasında temel rol oynayan en küçük endokrin organdır (65). Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalar, endotelin dokularla kan arasında seçici bir bariyer oluşturmaktan başka homeostazda da çok önemli işlevleri olan bir doku niteliğini taşıdığını göstermiştir. Endotel hücreleri salgıladıkları mediatörler ile koagülasyonu, fibrinolizisi, damar tonusunu, dolayısıyla kan akışı ve kan basıncını etkileyip çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda rol oynayan aktif hücrelerdir (66,67,68) .

Endotelyum hücre fonksiyonları beş bölüm altında özetlenebilir.

1. Kontrol edilemeyen makro moleküllü protein ve lipoproteinlerin çevre dokuya infiltrasyonuna karşı seçici bariyer görevi görmesi.
2. Dolaşımda bulunan lipoproteinlerin metabolizmasına katılıp subendotelial bölgeye geçecek lipoproteinlerin tabiatına karar vermek
3. Trombosit agregasyonu ve trombozisi önlemek
4. İmmünkompetan hücrelerle birlikte savunma mekanizmalarına katılmak
5. Gevşetici ve kasıcı maddeler salarak vasküler tonusun düzenlenmesine katkıda bulunmak

Endotel bu fonksiyonlarını aşağıdaki gibi çok sayıda salgıladığı maddeler aracılığıyla sağlamaktadır (66,67).

#### **1- Vasokonstriktörler**

- Anjiotensin konverting enzim
- Endotelinler (ET-1, ET-2, ET-3)
- Anjiotensin II
- Tromboksan A2
- Asetil kolin, araşidonik asit, PGH2, trombin, nikotin

#### **2- Vasodilatatörler**

- Nitrik oksit (NO=EDRF)
- Adrenomedüllin
- Endotel bağımlı hiperpolarizn faktörler
- Prostasiklin (PGI2)
- Bradikinin, asetilkolin, serotonin, histamin, substans P

### 3- Antitrombotik (hemostaz) maddeler

- Trombomodülin
- Doku plazminojen aktivator (t-PA)
- Plazminojen aktivator inhibitörü tip I (PAI-1)

### 4- Büyüme modülatör / mediatörleri

#### a) Büyüme promotörleri

- Heparin sülfat
- TGF- $\beta$
- NO
- Bradikinin
- Prostatiklin

#### b) Büyüme inhibitörleri

- PDGF
- FGF
- IGF-1
- IL-1
- Endotelin
- Anjiotensin II

### 5- İnflamatuar mediatörler

Adezyon molekülleri;

- Endotelial Lökosit Adezyon Molekülü (ELAM)
- İntraselüler Adezyon Molekülü (ICAM)
- Vasküler Hücre Adezyon Molekülleri (VCAM)

Antijenler;

- Major histokompatibilite kompleks-2 (MHCII)

### 3.1. Vasküler Tonusun Endotelium Tarafından Düzenlenmesi:

Vasküler tonusun düzenlenmesi, endotelin en önemli görevi olarak bilinmektedir. Bu görevi birçok kasıcı ve gevşetici ajan salımı ile sürdürür. Bu faktörler arasındaki denge endotelin fonksiyonel veya disfonksiyonel durumunu belirler.

#### 3.1.1. Vazodilatasyon Oluşturan Faktörler

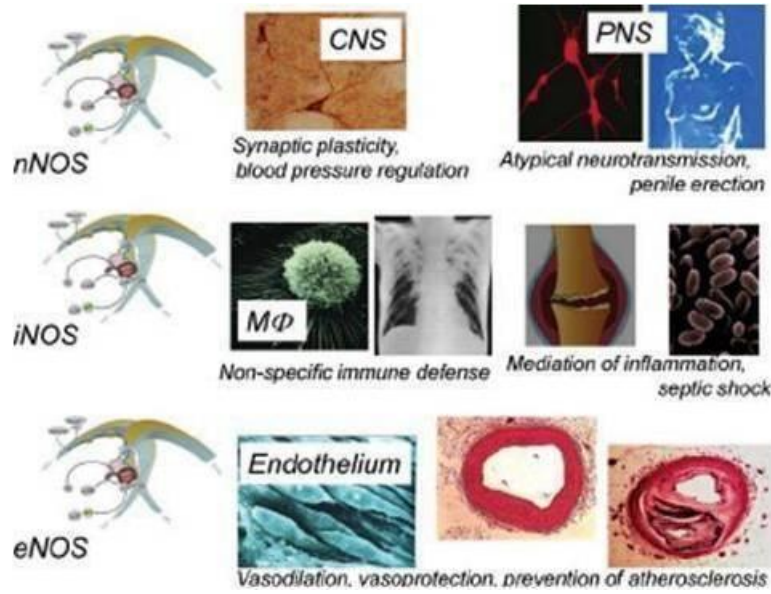
##### 3.1.1.1 Nitrik Oksit Sentaz (NOS) İzofomları

Endotel hücreleri tarafından salınan ana gevşetici faktör NO'dur. NO, bilinen en küçük sinyal molekülüdür ve NO sentazın (NOS) 3 izoformu tarafından üretilmektedir. (Şekil 7) NOS izoformlarının hepsi substrat olarak L-arginin ve moleküler oksijen kullanır (69). Tüm

NOS izoformları aktiviteleri için BH 4 , FMN ve FAD gibi kofaktörlere ihtiyaç duyarlar. NOS izoformları kalmodulin bağlıdır ve Hem grubu içerirler.

Nöronal NOS (nNOS, NOS 1) santral ve periferik nöronlarda ve bazı hücre tiplerinde ekspre edilir. Fonksiyonları santral sinir sisteminde sinaptik plastisite, kan basıncının merkezi regülasyonu, düz kas hücrelerinde gevşeme ve periferik nitretrjik sinirler aracılığıyla vazodilatasyondur (70). Nitretrjik sinirler ayrıca penil ereksiyon ve korpus kavernozumun gevşemesinde özel bir önem taşımaktadır (71).

İnducible NOS (iNOS, NOS 2) lipopolisakkarit, sitokinve diğer bazı ajanlara yanıt olarak birçok hücre tipinde eksprese olabilirler. iNOS sıklıkla makrofajlardan eksprese edilmektedir. Makrofajlarda iNOS indüksiyonu bakteri ve parazit gibi hücreiçi mikropların kontrolü için gereklidir (72). iNOS türevli NO septik şokta görülen kan basıncı düşüşü ve vazodilatasyondan sorumlu baskın mediyatördür (73).



Şekil 7: Farklı NOS izoformlarının önemli fonksiyonları, Forstermann at all, European Heart Journal (2011)

Endotelyal NOS (eNOS, NOS 3) çoğunlukla endotel hücrelerinde eksprese olur. Bununla birlikte izozimleri kardiyak miyositler, trombositler, insan plasentasının sinsityotrafoblastik hücreleri ve böbrek tübül epitellerinde de saptanmıştır (74). Nöronal NOS' a benzer şekilde eNOS aktivitesinin regülasyonunda Ca ile aktive olan Ca-M önemlidir. Ca enzime Ca-M bağlanmasını indükler (75). Hücreiçi Ca miktarı arttığında eNOS aktivitesindeki belirgin artışla eNOS pulsatil olarak NO sentezler ve devamlı olarak dolaşımda düşük miktarlarda NO

salıverirler. Bu bulgular, eNOS aktivasyonunun regülasyonunun kalsiyum-kalmodulin bağımlı olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda, eNOS aktivasyonunun eNOS-protein etkileşimleri (ısı-şok proteini Hsp90 ve kaveolin-1) ve eNOS'un fosforilasyonu gibi post-translasyonel olaylar ile de regüle olduğunu ve bu proseslerin direkt olarak salınan NO miktarını ve süresini etkilediği bildirilmiştir. eNOS'un bazal koşullarda hücre plazma membranlarında 'kaveola' adı verilen kolesterol ve spingolipidlerden zengin invajinasyonlarda, kaveolanın majör proteini olan kaveolin-1 proteini ile kenetlenmiş bir şekilde bulunduğu tespit edilmiştir (76). Kaveolin-1 eNOS aktivitesinin tonik bir inhibitörüdür. Bu kavram genetik olarak kanıtlanmıştır, kaveolin-1 eksikliği olan farelerin kan damarlarında endotel bağımlı gevşemenin iyileştiği gösterilmiştir (77). Mekanik olarak eNOS' a hsp90 ve Ca-M bağlanması enzimin kaveolin-1' den ayrılmasına ve böylece enzim aktivasyonuna yol açar.

Bununla birlikte, eNOS hücreiçi Ca yükseklikleri olmaksızın çeşitli uyarılarla aktive olabilir ve NO'nun uzun ömürlü salınımı indüklenebilir. Normal kan akışında görülen "shear stress" en iyi bildiğimiz uyarandır, Ca seviyesi düşüken bile enzim aktivitesi artabilir. Bu aktivasyon enzim fosforilasyonu ile ilişkilidir (78). eNOS proteini serin, treonin ve tirozin rezidülerinde fosforile olabilir, ancak enzim fonksiyonunda asıl değişikliğin insan eNOS sekanslarında serin 1177 ve treonin 495' in fosforilasyonu ile olduğu rapor edilmiştir (79). Bu mekanizmalar, eNOS ekspresyon seviyeleri ve eNOS işlevselliği ile birlikte vasküler NO üretiminin belirleyici faktörleridir.

Endotelyum hücrelerinde NO bir defa salındıktan sonra düz kas hücrelerinde bulunan "Hem" in prostetik grubu ile etkileşir. Bu ise guanilat siklaz aktivasyonuna ve cGMP üretiminde artışa neden olur. Artmış cGMP hücre içi kalsiyum konsantrasyonunda azalmaya ve buna bağılı olarak ise vasküler düz kas hücrelerinde (VDKH) gevşemeye neden olur (69). Prostaglandin ve endotel bağımlı hiperpolarizan faktör (EDHF), endotelyum tarafından salgılanan ve damar tonusunun düzenlenmesi üzerine etkili diğer vazodilatör ajanlardır.

### **3.1.1.2. Prostaglandinler**

Prostaglandinler; bir diğer endotelyum bağımlı gevşetici ajanlardır. Bu ajanlar, NO ile sinerjistik olarak etkileşir veya NO' e sinerjistik olarak etki ederler, trombosit agregasyon ve adezyonunu inhibe ederler (103). Bunun yanında sağlıklı endotelyum hücrelerinin yüzeyleri negatif yüklü olarak heparanlar ile sarılmıştır ve kontakt inhibisyon sağlarlar (104). Endotelyum hücreleri doku plasminojen aktivatörleri (tPA), trombin inaktivatörleri ve trombomodülün gibi antikoagülan faktörler sentezlerler (105). Sonuç olarak lökositler

vasküler yüzeye tutunamaz ve hücre proliferasyonunu sıkıca kontrol ederler (106). Bunlar endotelial disfonksiyon ve ateroskleroz karşısında görev alan savunma sistemleridir.

### **3.1.2. Vazokonstriksiyon oluşturan faktörler**

Normal vasküler tonusun devamlılığı için endotelium hücreleri endotelinler, tromboksan  $A_2$  ve prostaglandin H gibi birçok kasıcı mediyatör salgılar. Bunların içerisinde Endotelin-1 (ET-1) endotelium hücreleri tarafından salınan en güçlü kasıcı ajandır (107). Trombin, adrenalin, Anjiotensin II, hipoksi ve artmış gerilim stresi gibi uyarılara yanıt olarak üretilir (108). VDKH'de spesifik reseptörlerine bağlanarak hücre içerisindeki kalsiyum konsantrasyonunun artışına sebep olur ve NO'nin etkisini antagonize eder. İlginç olarak sağlam endoteliumda ET-1, NO ve prostasiklin üretimini stimule ederek ve vazokonstriktör etkiyi ayarlayarak kendi sentezini azaltır (109).

Endotel hücreleri tarafından sentezlenen tromboksan  $A_2$  ve prostaglandin  $H_2$  VDKH'lerindeki ve trombositlerdeki tromboksan reseptörlerini aktive ederler. Bu faktörler de NO'nin ve prostasiklinin etkilerine ters bir etki oluşturarak VDKH'de kasılmaya neden olurlar. Bununla beraber bu maddelerin koroner arter üzerine olan etkileri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Trombosit aktive edici (PAF-1)'de endotelium hücrelerinden humoral ve hemodinamik uyarılar sonucunda sentezlenen ve salınan vazomotor tonus ayarlayıcı başka bir kasıcı ajandır. Son olarak endotelium anjiotensin dönüştürücü enzim (ADE) eksprese eder ve bu da anjiotensin I'den Anjiotensin II dönüşümüne neden olarak direkt ET-1 salınımına neden olur.

Sonuç olarak vazokonstriktif ve vazodilatör ajanların arasındaki bu ilişki sağlıklı endotelin vasküler tonus üzerine olan etkisini belirler. Bu denge üzerinde herhangi bir değişiklik endotelial disfonksiyon gelişimine neden olur.

## **3.2. NO' nun Fizyolojik Fonksiyonları**

### **3.2.1. Vazodilatasyon ve trombosit agregasyon ve adezyonunun inhibisyonu**

Trombositler vasküler homeostazın sağlanmasında hayati bir rol üstlenirler. Trombositlerin agregate olup hemostatik tıkaç oluşturucu etkileri ile fizyolojik koşullardaki kan akışı üzerine olan etkileri arasındaki hassas denge çok önemlidir. Trombositlerin



hiperaktivitesi sonucu gözlenen tromboz ve bunu takip eden miyokard infarktüsü ve felç yaşamı tehdit edici kardiyovasküler komplikasyonlardır. Endotelyal NOS, birçok temel kardiyovasküler fonksiyonların düzenleyicisi olarak görülmektedir. Endotelyal NOS türevli NO düz kas hücresinde soluble guanilat siklazı uyarıp siklik GMP' yi arttırarak tüm kan damarlarını genişletir (80). Endotelyal NOS geninin delesyonu kan basıncının yükselmesine yol açar (81). Damar lümenine salınan NO damar duvarına trombosit adezyonu ve agregasyonun potent bir inhibitörüdür. Trombozdan korumanın yanı sıra, düz kas proliferasyonunu uyaran platelet-derive büyüme faktörlerinin salınımını ve matriks moleküllerinin üretimini önler. No ayrıca akışın kronik değişikliklerine bağlı vasküler remodeling adaptasyonu için kritik bir role sahiptir (82).

### ***3.2.2. Lokosit adezyonu ve vasküler inflamasyonun inhibisyonu***

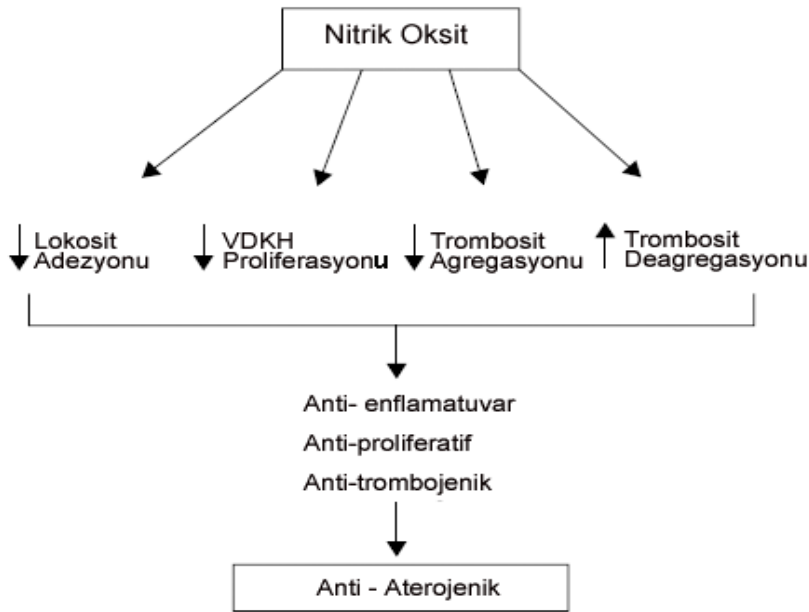
Artmış lökosit adhezyonu ateroskleroz için bir risk faktörüdür. Vasküler hücre adhezyon molekülü (VCAM-1), intraselüler hücre adhezyon molekülü (ICAM), monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) ve E-selektin gibi adhezyon moleküllerinin ekspresyonu vasküler oksidan stresin artmasına bağlı olarak artar (88). Endotelyal NOS aterogenez ile ilgili genlerin ekspresyonunu kontrol eder. NO kemoatraktan protein (MCP-1) ekspresyonunu azaltır (83). NO damar duvarına lokosit adezyonunu inhibe edebilir. Bunu lokosit adhezyon molekülü olan CD11/CD18' in endotel hücre yüzeyine yapışmasını engelleyerek ya da lokositlerin üzerindeki CD11/CD18 ekspresyonunu baskılayarak yapar (84). Lokosit adhezyonu aterosklerozun gelişmesinde erken bir basamağıdır, bu nedenle, NO AS başlangıcına karşı koruyucudur.

Endotelyal bariyerin bütünlüğünün bozulması proinflamatuvar olayları başlatabilir. Endotelyal NOS türevli NO reaktif oksijen ürünleri (ROS) ve anjiyotensin-2 gibi proaterosklerotik faktörleri ve proinflamatuvar sitokinler tarafından uyarılan endotelyal hücre apoptozisini önler (85). Apoptozisin baskılanması eNOS türevli NO' nun anti-aterosklerotik ve anti-inflamatuvar etkilerine katkıda bulunabilir.

### ***3.2.3. Vasküler düz kas hücre proliferasyonunun kontrolü***

Vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu, koroner arter hastalıkları ve restenoz durumlarında damar lümenindeki söz konusu daralmaya aracılık eden temel mekanizmadır.

Miyofibril kaybı ve matris proteinlerinin oluşumuna bağlı olarak vasküler düz kas kasılma yeteneğinde bir azalma söz konusudur. Ayrıca trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi proliferasyon uyarılarına karşı hassasiyet artmış durumdadır. Prolifere olan düz kas hücreleri intimaya göç ederler ve intimal hiperplaziye aracılık ederler. Endotelial NOS türevli NO'nun DNA sentezini, mitogenezi ve vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (86). Bu antiproliferatif etkilerinin cGMP aracılığıyla olması muhtemeldir. Trombosit adezyonu ve agregasyonunun inhibisyonu vasküler düz kası platelet-derive büyüme faktörüne maruz kalmaktan korur. Böylece, NO aterosklerozun bir sonraki adımı olan fibröz plak oluşumunu engeller. Bu etkilerin kombinasyonuna dayanarak, endotel hücrelerinde üretilen NO anti-aterosklerotik bir ilke olarak kabul edilebilir (87). (Şekil 8)

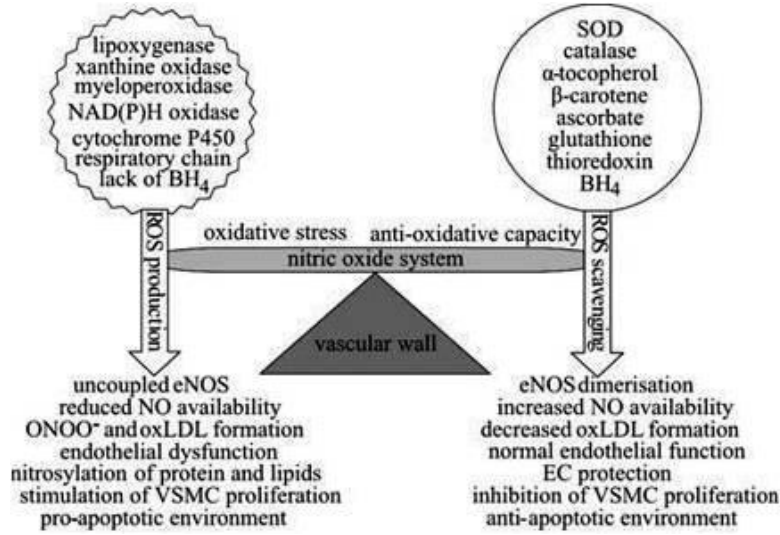


Şekil 8. Nitrik Oksitin Antiaterojenik etkileri

### 3.2.4. Antioksidan etkileri

Vasküler oksidatif stres vasküler hastalıkların patogenezi açısından önemli bir faktördür. NO, antioksidan etkisiyle vasküler yapıda koruyucu bir rol üstlenmektedir. NO, serbest yağ asitleri, fosfolipid ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunu inhibe eder ve okside lipidlerin proaterojenik etkilerine engeller (89). Oksidatif stres veya reaktif oksijen türleri (ROS) endotelial disfonksiyon gelişimindeki ana unsurlardan biridir. Çeşitli enzim sistemleri ROS üretimini arttırabilir; ancak 4 enzim sistemi ROS üretiminde baskın

gibi görünmektedir. Bunlar NADPH oksidaz, ksantin oksidaz, eNOS uncouplingi ve mitokondriyal solunum zincir enzimleridir (90). Bunlardan NADPH oksidaz damarda ROS üretiminin en önemli kaynağıdır (87). Buna karşın antioksidan etki gösteren enzim sistemleri de bulunmaktadır. Bunlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz, BH<sub>4</sub>, alfa-tokoferal ve karoten gibi bileşiklerdir (Şekil 9) (97).



Şekil 9: Oksidan ve antioksidanlar arasındaki ilişkiler ve NO sistemi, Muller at all, Antioxid. Redox Signal (2009), 1711–1731.

Süperoksit (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) reaktif oksijen ürünleri arasında en önemli olanıdır. Diğer önemli serbest radikaller arasında hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hipoklorik asit (HOCl) ve peroksinitrit (OONO<sup>-</sup>) gibi moleküller de vasküler hastalıkların patofizyolojisinde rol oynamaktadırlar. Normal koşullarda endotel hücreleri sürekli olarak düşük miktarlarda açığa çıkan bu serbest radikallerden kendilerini süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerle koruyabilmektedirler.

NO, süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) ile hızlı bir şekilde etkileşir ve süperoksitten daha potent bir oksidan olan peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>) oluşumuna neden olur. Peroksinitrit lipid peroksidasyonunu ve tirozin nitrasyonu, ditirozin formasyonu ve tiyol oksidasyonu ile protein hasarını artırırken, serbest tiyollerin hızlı oksidasyonu ile vasküler hücrelerin antioksidatif kapasitesini azaltır. Süperoksit radikalinden peroksinitrit oluşumu ile süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumu arasında bir yarışma söz konusudur. Süperoksit radikalinin NO ile reaksiyona girme yeteneğinin SOD ile reaksiyona girme yeteneğine göre 3-6 kat daha

fazla olmasına rağmen SOD düzeylerinin NO düzeylerine göre daha fazla olduğu fizyolojik koşullarda peroksinitrit oluşumu ihmal edilebilir düzeydedir. Dolayısıyla eNOS'tan fizyolojik koşullarda üretilen NO, SOD'un fizyolojik konsantrasyonlarının varlığında antioksidan etki gösterir (91).

NO'nun in vitro ve in vivo koşullarda SOD'u indüklediği (66) ve endotel hücrelerin kısa süreli olarak güçlü oksidan olan  $H_2O_2$ 'ye maruz kalması durumunda, eNOS ekspresyonu ve aktivitesinin arttığı gözlenmiştir (92).

### **3.3. NO' nun Patofizyolojik Durumlardaki Önemi**

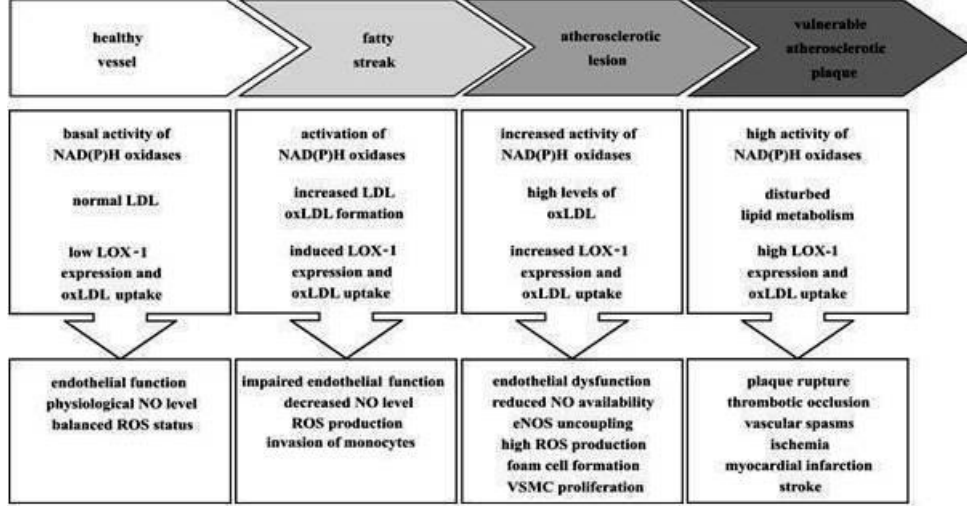
#### **3.3.1. Hiperkolesterolemi ve Ateroskleroz**

Aterosklerozun patogenezinde, hiperkolesterolemi ve ona sekonder olarak gelişen endotel disfonksiyonunun rolü çok önemlidir. Ateroskleroz gelişiminde en önemli lipoprotein lipid peroksidasyonuna yatkınlığı nedeniyle LDL'dir. LDL'nin serbest oksijen radikalleri tarafından oksitlenmesi sonucu oluşan okside-LDL makrofajlar tarafından özgün olmayan köpük hücrelerine dönüştürülür. Köpük hücrelerinin damar endoteline yapışması ateroskleroz oluşumunda ilk basamağı oluşturur. NO okside-LDL oluşumunu engelleyici etkisi ile koruyucu bir rol üstlenmektedir (95).

LDL'nin artmış oksidatif modifikasyonu damarda süperoksit üretimini artırarak proaterosklerotik bir etki gösterir ve AS patogenezinde katkıda bulunur (96). Vasküler fonksiyon açısından ox-LDL eNOS ekspresyonunu azaltarak endotel bağımlı gevşemeye zarar verir (97). LDL kolesterol ve ox-LDL kaveolaya eNOS trafiğini artırarak ve eNOS ayrışmasına yol açarak süperoksit üretimini artırır (98). ox-LDL süperoksitin güçlü bir uyarıcısıdır ve oksidatif stresin önemli bir nedenidir. ox-LDL yanısıra HDL'nin glikolizasyonu da NADPH-oksidad bağımlı ROS üretimini artırıp ve eNOS ekspresyonunu azaltarak AS ve ED'ye katkıda bulunabilir (99).

NO endotel bağımlı gevşemenin önemli bir mediyatörüdür. NO' nun düz kas hücre proliferasyonu, endotelial adezyon molekül ekspresyonu ve trombosit agregasyonunun inhibisyonu gibi antiaterosklerotik etkileri olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Endotelial NOS inhibisyonu ya da süperoksit ( $O_2^-$ ) üretiminin hızlanması endotelial hücre proliferasyonunu artırır. Ekzojen süperoksit ( $O_2^-$ ) endotel hücrelerinde prooksidatif, proinflamatuvar, proapoptotik ve prokoagulatif reaksiyonlara aracılık eder, süperoksit ( $O_2^-$ ) hızlıca NO ile reaksiyona girerek peroksinitrit ( $OONO^-$ ) oluşumuna yol açar (101). Bu azalan NO biyoyararlanımı endotel disfonksiyonunu ve AS gelişimi hızlandırır (102). Vasküler ROS

üretiminin artmasının etkisi ve NO kullanılabilirliğinin bozulması proaterojenik faktörleri etkileyebilir ve hastalığın her aşamasında AS gelişimine ve progresyonu katkıda bulunabilir (Şekil 10).



Şekil 10: ROS'un abartılı vasküler üretiminin etkisi ve proaterojenik faktörlere yanıt olarak NO biyoaktivitesinin bozulması, Muller at all, Antioxid. Redox Signal (2009), 1711–1731.

### 3.3.2. Oksidatif stres

Penisin damarsal yapılarında ateroskleroza sebep olan hiperkolesterolemi, vaskülojenik erektil disfonksiyonun (ED) en önde gelen nedenlerindedir. Hiperkolesteroleminin çoğunlukla penis dokusunda oksidatif stresi artırarak ve endotel fonksiyonunu hasara uğratarak erektil disfonksiyona sebep olduğu bilinse de, peniste reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini düzenleyen mekanizmalar tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Hiperkolesterolemik damar içi ortamda endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) fonksiyonunun bozulması ve endotelial NO mevcudiyeti, çoğu kez vasküler superoksid üretiminin artmasına bağlanmıştır. Vasküler hastalıklarda ROS üretiminde önemli bir mekanizma da ayrılmış (uncoupled) eNOS'dir. eNOS ayrışması, superoksid anyon oluşumunun artması ve NO üretiminin azalması sonucunda ateroskleroza zemin hazırlar (93).

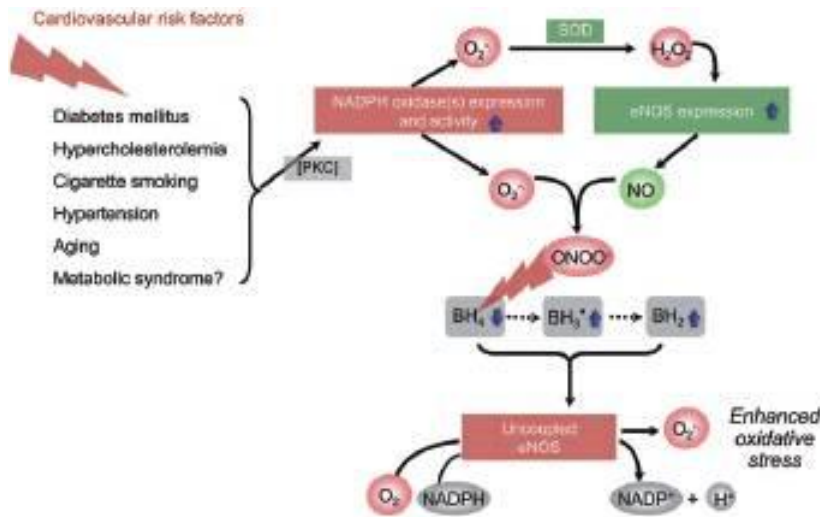
NADPH-oksidaz vasküler yapılarda ROS formasyonundan sorumlu en önemli enzimlerden biridir. Deneysel birçok çalışma, bu enzimin aterosklerotik hastalığın başlaması ve ilerlemesinde bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Kolesterolün zengin beslenen hayvanlara ait kavernoza dokü örneklerinde ROS üretiminin arttığını

gösteren, ve bu durumu NADPH-oksidadz aktivasyonuna ve eNOS ayrışmasına bağlayan çalışmalar mevcuttur (93,94).

### 3.3.3. Endotelial NOS uncoupling (ayrışması)

Fonksiyonel bir eNOS, FAD ve FMN flavinleri ile NADPH' dan aldığı elektronları Hem grubuna transfer eder ve L-arginin süstratı olarak NO ve L-sitrülin'e okside olur (100).

Hiperkolesterolemi, DM, HT, metabolik sendrom, yaşlanma, sigara içimi gibi AS ve kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörleri eNOS uncouplingi ve endotelial disfonksiyona yol açarlar. Vasküler hastalıkların bir çoğunda NADPH oksidaz enzimi upregüle olur ve süperoksit üretir. NADPH oksidaz tarafından oluşturulan süperoksit süperoksit dismutaz enzimi (SOD) ile hidrojen peroksit'e ( $H_2O_2$ ) çevrilir. Elde edilen  $H_2O_2$  eNOS ekspresyonunu arttırabilir, aslında eNOS vasküler hastalıkların çoğunda artar. NADPH oksidaz ve eNOS ürünleri; süperoksit ( $O_2^-$ ) ve NO hızlıca peroksinitrit ( $OONO^-$ ) oluşturmak için birleşirler. Oluşan peroksinitrit ( $OONO^-$ ) NO için esansiyel kofaktör olan tetrahidrobiopterini ( $BH_4$ ) okside ederek trihidrobiopterine ( $BH_3$ ) çevirir.  $BH_3$  ise enzimatik olmayan bir reaksiyonla  $BH_2$ ' ye çevrilir. Bunun bir sonucu olarak, fonksiyonel bir eNOS disfonksiyonel süperoksit ( $O_2^-$ ) üretir bir enzime dönüşür ve bu vasküler oksidatif strese katkıda bulunur. Artan eNOS ekspresyonu bu durumu daha da ağırlaştırır (80) (Şekil 11). Bu süreç eNOS uncouplingi (ayrışması) olarak tanımlanmıştır (69). eNOS ayrışmasında rol oynayan mekanizmalar, kritik NOS kofaktörü  $BH_4$ ' ün oksidasyonu, süstrat L-argininin tükenmesi ve endojen metilarginin birikimini içerir (69).



Şekil 11 : Endotelial nitrik oksit sentaz uncouplingi, Förstermann at all, British Journal of Pharmacology (2011) 164 213–223

## **4. RESVERATROL**

### **4.1. Resveratrol Hakkında Genel Bilgiler**

Bundan 4500 yıl önce Hintliler “Ayurveda” isimli eski bir tıp kitabında kırmızı üzüm suyunu “darakchasava” olarak tanımlayıp kardiyotonik olarak kullanmışlardır (110). Sonrasında bu bileşenin resveratrol olduğu anlaşılmıştır. Resveratrolün en zengin kaynağı Japonya ve Çin' de yetiştirilen Polygonum cuspidatum bitkisinin kurutulmuş kökleridir (111). Polygonum cuspidatum (Japonya’da Ko-jo-kon olarak bilinen) geleneksel Japon ve Çin tıbbında ateroskleroz, hiperlipidemi ve diğer inflamatuvar hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmıştır (112).

1970’li yıllarda ise gözlemsel çalışmalar sonucunda orta düzeyde alkol tüketen kadın ve erkeklerin KVH’lara bağlı ölüm risklerinin içmeyenlerden daha az olduğu ileri sürülmüştür (113). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar ise Güney Fransa bölgesinde yağlı diyet ve sigara tüketiminin yüksek olmasına karşın şarap tüketiminin fazla olması nedeni ile kardiyak hastalıkların az görülmesine dikkat çekerek bu tabloyu “Fransız Paradoksu” olarak isimlendirmişlerdir (114, 115, 116). Bu konu ile ilgili yapılmış olan çalışmalar bu paradoksun etkeni olarak resveratrolu göstermektedir (117,118, 119).

Üzüm kabuklarında yaklaşık olarak 50–100 µg/g resveratrol bulunmaktadır. Üzümün etli kısmından çok kabuk kısmında bulunur ve kırmızı üzüm ile karşılaştırıldığında diğer üzümlerde çok az miktarda bulunur. Kırmızı şarabın kalp üzerine olan koruyucu etkisinde ise içerdiği 0,2–7 mg/L resveratrolun sorumlu olduğu düşünülmektedir. Üzümlerin dışında resveratrol dut, yaban mersini, keklik üzümü, böğürtlen, çay üzümü, yer fıstığı gibi birçok besin maddesinde de bulunmaktadır. Amerika’da 15 mg, 50 mg, 200 mg’lık kapsülleri ve 10 mg’lık tabletleri mevcuttur.

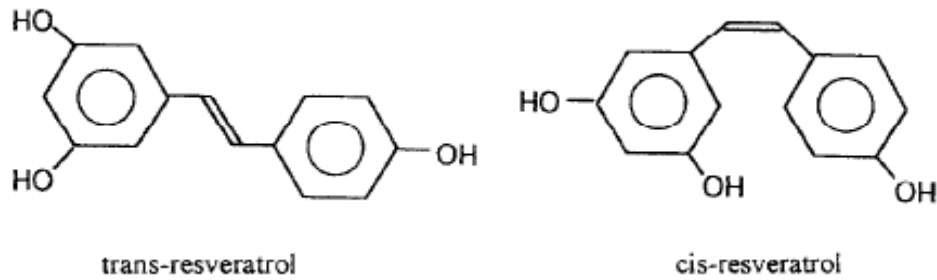
### **4.2. Resveratrolun Kimyasal Yapısı**

Resveratrol (3,4',5-Trihydroxystilbene), bitkilerin büyüme ve gelişme aşamalarının herhangi bir döneminde stres olarak tanımlanan bazı etkiler ile karşılaştıklarında, dayanıklılık mekanizmasının oluşturulması amacıyla üretilen ve genel olarak fitoaleksin olarak adlandırılan, ikincil bitki metabolitidir. Susuzluk, ultraviyole maruziyeti, fungal enfeksiyonlar, ozon maruziyeti gibi çevresel stres ve mikrobik saldırılara yanıt olarak bitkiler tarafından

sentez edilen bir metabolittir (120). Bu nedenle meyvelerdeki resveratrol üretimi savunma mekanizmasının bir parçası olarak da kabul edilebilir.

Resveratrol cis ve trans izomeri halinde bulunur fakat cis-izomeri üzüm ekstralarında gösterilememiştir (Şekil 12). Koruyucu etkisinden de trans formunun sorumlu olduğu gösterilmiştir.

Işıktan korunduğu sürece aylar boyunca bozulmadan kalabilmektedir.



Şekil 12: Resveratrolün kimyasal yapısı

### 4.3. Resveratrolün Etkileri

#### 4.3.1. Resveratrolün Düz Kas ve Endotel Üzerine Etkileri

Resveratrolün kardiyovasküler sistemde hem akut hem de kronik etkileri kanıtlanmıştır. Akut olarak karotis arter halkalarında endotel bağımlı gevşemeye neden olmuştur (121), ve resveratrolün 21 günlük sistemik uygulanması sonrası sıçan aortasında asetilkolin ile endotel bağımlı gevşemeyi önemli ölçüde geliştirdiği kanıtlanmıştır (122). Benzer olarak, farelerde resveratrol ile kronik tedavinin yaşa bağlı endotel fonksiyonun bozulmasında belirgin bir azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (123).

Resveratrolün endotel bağımlı gevşemeye yol açan bu etkisinin büyük ölçüde NO yoluyla olduğu gösterilmiş ve NO sentaz inhibitörü olan NG-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) ile bu etkinin tamamen ortadan kalktığı gözlenmiştir (124). Hsieh ve ark. tarafından yapılan çalışmada resveratrol ile tedavi edilen domuz pulmoner arter hücre kültüründe eNOS ekspresyonun anlamlı ölçüde arttığı gösterilmiştir (125). Sıçanlarda kronik resveratrol tedavisi ile kontrol grubu karşılaştırıldığında resveratrol ile NO üretiminin arttığı (122) ve eNOS mRNA seviyesinde artış olduğu gözlenmiştir (123).



Resveratrolün hiperkolesterolemik tavşan modelinde farklı çaplardaki damarlarda (mezenterik arter, renal arter ve aort) ve korpus kavernozumda endotel bağımlı ve bağımsız gevşeme yanıtları üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, resveratrol farklı çaplardaki damarlarda ve korpus kavernozumda endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında koruyucu etki göstermiştir (15). Kliniğimizde yapılan bir çalışmada hiperkolesterolemiye bağlı olarak oluşan azalmış kavernoza eNOS ekspresyonunun resveratrol ile önemli ölçüde arttığını saptanmıştır. Aynı metod ve protokolün uygulandığı bu çalışmada hiperkolesterolemi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artış gösteren plazma total ve LDL kolesterol seviyelerinin resveratrol grubunda önemli düzeyde iyileştiği saptanmıştır (yayın aşamasında).

Resveratrol ayrıca Sirtuin 1 aktivatörü olarak da bilinen bir deasetilaz proteindir ve eNOS ekspresyonu üzerindeki etkisinin belki de SIRT1 aktivasyonu ile olabileceği düşünülmektedir. SIRT1 aktivasyonu sonucu lizin rezidülerinde eNOS deasetile olur, böylece eNOS aktivitesi uyarılır (126). Arunachalam ve ark. yaptığı çalışmada insan umbilikal ven hücrelerinde oksidan maddelerle azalan SIRT1 miktarı ve eNOS asetilasyonun resveratrol ile önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir, böylece NO üretimi ve endotel fonksiyonları iyileştirilmiştir (127). RNAi (SIRT1 inhibitörü) ile endojen SIRT1 miktarı azaltıldığında resveratrol ile indüklenen eNOS mRNA ve protein ekspresyonundaki artışın önemli ölçüde zayıfladığı (128) ve NO üretiminin azaldığı saptandı (126).

Resveratrolün NO üretimini arttırıcı bütün etkileri birlikte ele alındığında, endotel ve vasküler sağlık arasında köklü bir bağlantı sağlayarak kardiyovasküler sistemdeki koruyucu etkilerine katkıda bulunabilir (129).

#### ***4.3.2. Resveratrolün Antioksidan Etkisi***

Oksidatif stres koruyucu antioksidan moleküllerle prooksidan moleküllerin arasındaki dengesizlik sonucu hücrelerin aşırı miktarda reaktif oksijen ürünlerine (ROS) maruz kalması ile kendini gösterir (137). Süperoksit ( $O_2^-$ ) reaktif oksijen ürünleri arasında en önemli olanıdır. Diğer önemli serbest radikaller arasında hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hipoklorik asit (HOCl) ve peroksinitrit ( $OONO^-$ ) gibi moleküller de vasküler hastalıkların patofizyolojisinde rol oynamaktadırlar. Bu serbest radikallerin en önemli kaynağı vasküler endotelyumdur (138). Normal koşullarda endotel hücreleri sürekli olarak düşük miktarlarda açığa çıkan bu serbest radikallerden kendilerini süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerle koruyabilmektedirler. Bu antioksidan enzimler artmış ROS üretimine yanıt olarak kompensatuvar aktivite artışı gösterirler, fakat ROS

üretimi sürekli bir şekilde artış gösterirse sonuçta bu kompensasyon mekanizması da bozulur ve artan oksidatif stres sonucunda hücre hasarı meydana gelir (139). Kim ve ark. hiperkolesterolemik tavşan modelinde yaptıkları çalışma ile azalmış endotel bağımlı korpus kavernozum relaksasyon yanıtlarının süperoksit radikal üretimindeki artıştan kaynaklanabileceğini ortaya koymuştur. Bu çalışmada serbest radikal üretiminde hiperkolesterolemik tavşanlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış olduğu ve SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi önemli antioksidan enzim sistemlerinde aktivite artışı olduğu ortaya konmuştur (140). Azadzo ve ark. tavşanlardaki vaskülojenik ED modelinde kontrol grubuna göre oksidatif stresin önemli ölçüde arttığını ve antioksidan tedavi ile erektil fonksiyonlarda önemli ölçüde düzelme meydana geldiğini göstermişlerdir (141).

Resveratrol *in vivo* ve *in vitro* olarak güçlü antioksidan özelliklere sahiptir. Antioksidan etkinliği ilk olarak Frankel ve Kanner tarafından, Cu<sup>+2</sup> ile düşük dansiteli lipoprotein' in (LDL) oksidasyonunun inhibe edilmesiyle gösterilmiştir (130).

NADPH oksidaz damarsal reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) ana kaynağıdır (131,132). Resveratrolün sıçan aortasında NADPH oksidaza bağlı oluşan süperoksit üretimini azalttığı gösterilmiştir (122).

Antioksidan özellikleri sayesinde, resveratrol hücre ölümü ile ilişkili ROS miktarını azaltır. İnsan PC12 hücrelerinde yapılan bir çalışmada resveratrolün lipid peroksidasyonu ve hücre ölümüne karşı koruyucu olabileceği gösterilmiş (133). Bir başka çalışmada Goh ve ark. kardiyomyositlerde hipoksinin neden olduğu artmış süperoksit miktarının resveratrol tedavisiyle azaldığını ve dolayısıyla hipoksi/reoksijenasyon ile ilişkili hasarı engellediğini göstermiştir (121).

Resveratrolün antioksidan enzimlerin düzenleyicisi olduğu düşünülür, böylece oksidatif stresi azaltır. Hücre içi redoks düzenleyicisi thioredoksin-1 ve sitoprotektif enzim olan hemoksijenaz-1 resveratrole yanıt olarak hücre kültüründe doza bağımlı bir şekilde upregüle olduğu gösterilmiş (134). Bir başka çalışmada H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve süperoksidin yıkımında ana antioksidan enzimler olan glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutazın mRNA ekspresyonlarının resveratrol ile arttığı gösterilmiştir (135). Ayrıca resveratrolün doz bağımlı olarak NADPH oksidazın bazı subunitlerinin downregülasyonuna neden olduğu kanıtlanmıştır (136).

Oksidatif stres NO' nun inaktivasyonuna neden olur, bu nedenle endotelial fonksiyonlar bozulabilir. Resveratrol NO üretimini arttırarak ve NO inaktivasyonunu önleyerek vasküler fonksiyonları iyileştirebilir (129).

## **5. GEREÇ VE YÖNTEMLER**

### **5.1. Çalışma Gruplarının Hazırlanması**

#### ***5.1.1 Etik Kurul Onayı, Barınma Koşulları ve Tavşanların Gruplandırılması***

##### ***Etik Kurul Onayı***

Randomize kontrollü deneysel bir araştırma olan çalışmamız Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığınca değerlendirilerek 05/2009 no'lu kararı ile onaylanmıştır. Deneyler Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Deneysel hiperkolesterolemi modeli için 2600–3200 g ( $2896\pm 32,9$  g) ağırlığında Beyaz Yeni Zelanda tavşanları Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Anabilim Dalından temin edilmiştir.

##### ***Barınma koşulları***

Tavşanlar çalışma süresince oda ısısında ve 12'şer saatlik gün ışığı/karanlık ortamında tutulup, yemleri gruplara göre ayarlanmış ve suya serbestçe ulaşabilmeleri sağlanmıştır. Tüm deney süresi boyunca oda ısıları 24°C'de sabit tutulmuştur. Çalışmaya alınan tüm tavşanlar standardizasyon amacı ile 60x60x30 cm boyutlarındaki özel tavşan kafeslerine alındıktan sonra bir hafta süre ile standart yem (TARİŞ YEMTA) ve içme suyu ile beslenerek ortama uyumları sağlanmıştır. (Resim 1). Kolesterol yemleri ve resveratrol içeren içme suları günlük olarak hazırlanmıştır.

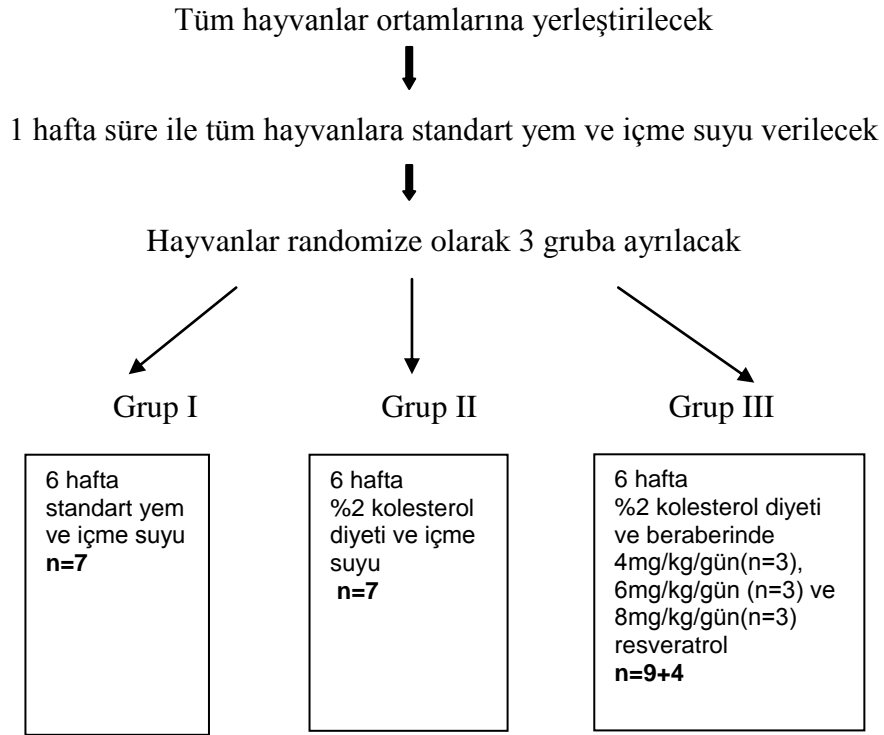


Resim 1 : Tavşanların barınma koşulları

### ***Tavşanların gruplandırılması***

1. Kontrol grubu: Tavşanlar 6 hafta süreyle sınırsız standart yem ve içme suyu ile beslenmişlerdir (n=7).
2. Kolesterol grubu: %2 a/a kolesterol içeren sınırsız yem ve normal içme suyu ile altı hafta süre ile beslenmişlerdir (n=7).
3. Kolesterol + Resveratrol grubu: %2 a/a kolesterol içeren sınırsız yem ve 4 mg/kg/gün (n=3), 6mg/kg/gün (n=3), 8 mg/kg/gün (n=3) oral resveratrol ile altı hafta süre ile beslenmişlerdir (n=9). Etkin doz belirlendikten sonra bu gurptaki hayvan sayısı n=7 olarak tamamlanmıştır.

## Çalışma şeması



Şekil 13. Çalışmaya alınan deney hayvanlarına uygulanan protokol

### 5.1.2. Kolesterol diyeti ve resveratrol tedavisi hazırlama şekli:

Kolesterol yemleri ve resveratrol içeren içme suları günlük olarak hazırlanmıştır. %2'lik a/a 1 kg kolesterol yemi: 900 g yem+80g Zeytinyağı+20g Kolesterol içeriğinden oluşmaktadır. Çalışmamızda kullanılan resveratrol dozu Zou J.ve ark.(2000) (16) yaptığı çalışmadan alınmıştır. Çalışmamızda resveratrolün doza bağımlı etkisini değerlendirebilmek için 4mg/kg/gün (n=3), 6mg/kg/gün (n=3) ve 8mg/kg/gün (n=3) resveratrol dozlarını 6 hafta boyunca kullanıp doz-yanıt ilişkisi değerlendirildi.

Daha önceki çalışmamızda resveratrol uygulaması yapılmadan önce uzman bilgisine başvurularak ve bir hafta gözlem yaparak tavşanların içtiği günlük su miktarı (100 ml) tespit edilmiştir. Çalışma boyunca tavşanlar 1 tavşan/1 kafes şeklinde barındırılmıştır. Resveratrol tedavisi uygulanacak tavşanlara hergün sabah 4mk/kg/gün dozunda resveratrol 50 ml içme sularına konularak hazırlanmıştır. Resveratrol ışıktan etkilendiği için su biberonları aliminyum korumalara sarılmıştır. Biberondaki suyun bittiğinden emin olunduktan sonra günlük ihtiyacı tamamlayacak şekilde gün içinde normal içme suyu biberonlara eklenmiştir. Bu projede de aynı uygulama yapılmıştır.

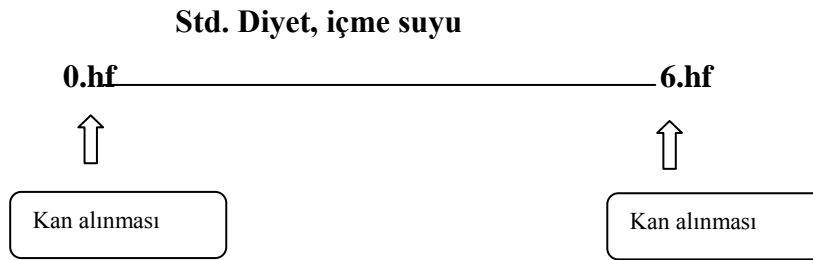
Resveratrolün korpus kavernozumda bu dozlarla koruyucu etkisi organ banyosu çalışmalarlarıyla değerlendirildikten sonra etkin dozun belirlendiği grupta hayvan sayısı n=7'ye tamamlanarak moleküler çalışmalar yapılmıştır.

### 5.1.3. Biyokimyasal analiz için kan örneklerinin alınması

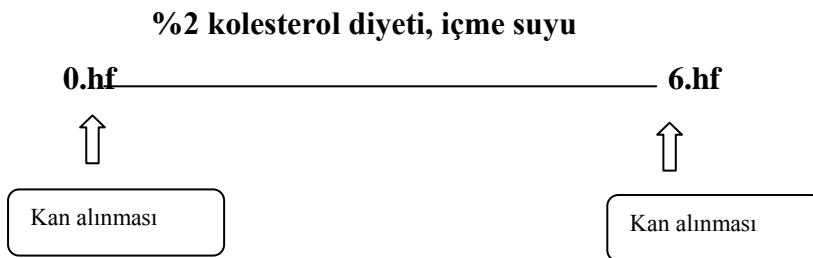
1., 2. ve 3. gruplarda başlangıç ve bitişte tartım yapıp biyokimyasal analiz için kan örneği alındı.

1., 2. ve 3. gruplarda başlangıç ve bitişte tartım yapıp total kolesterol, LDL, HDL, trigliserid ve glukoz ölçümü için yaklaşık 5 cc kan örneği alındı.

#### GRUP 1: Kontrol grubu ( n=7 tavşan)



#### GRUP 2: 6 hafta %2 lik kolesterol diyetinin uygulandığı grup (n=7 tavşan)



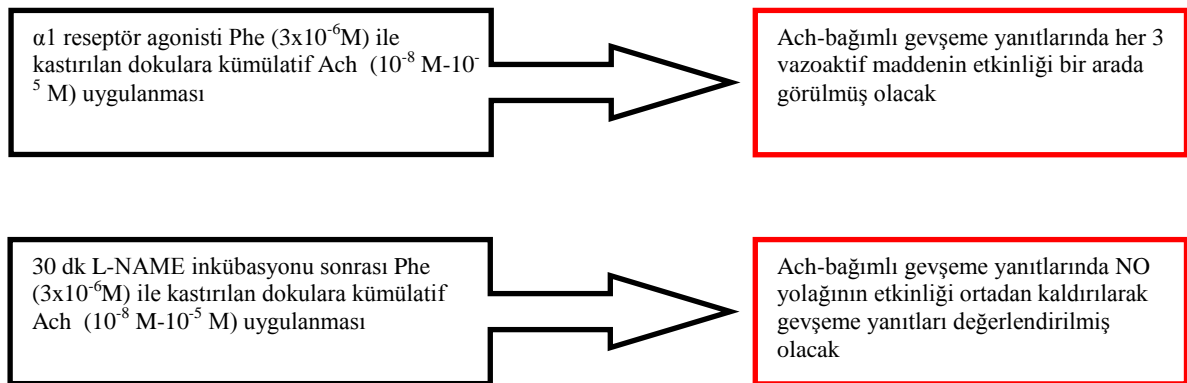


### 5.2.3. Organ banyosu çalışmaları

#### Kavernöz dokuda organ banyosu çalışması ile gevşeme yanıtlarının değerlendirilmesi

Korpus kavernozum doku fonksiyonlarının değerlendirilmesi için sakrifikasyon sonrasında penis eksize edildikten sonra soğuk (+4°C) Krebs solüsyonu içerisine alınmıştır. Burada korpus spongiozum uzaklaştırıldıktan sonra kavernöz doku etrafındaki tunika temizlenerek kavernöz doku şerit preparatlar halinde hazırlanmıştır. 3x3x7 mm<sup>3</sup> boyutlarında hazırlanan şeritler her iki ucundan ipek iplikler ile bağlanarak aynı şekilde %95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> ile gazlandırılan ve sıcaklığı 37°C'de sabit tutulan Krebs solüsyonu içeren izole organ banyolarına alınmıştır. Kavernöz doku şeritleri 1.5 g'lık gerilimin ardından stabilizasyon için 1.5 saat süre ile her 15 dakikada bir Krebs solüsyonu değiştirilerek bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda cevaplar izometrik transdüser yardımı ile bilgisayara kaydedilmiştir (Resim 4).

Dinlenme süresi sonunda ilk olarak kavernöz doku canlılığının değerlendirilmesi amacıyla 120 mM KCl ile kasılmıştır. Kasılma sabit bir platoya ulaştıktan sonra Krebs çözeltisi ile yıkanarak yarım saat süre ile dinlendirilmiştir. Endotel bağımlı gevşeme yanıtları (EBGY)'nın değerlendirilmesi için; hazırlanan preparatlar bu yarım saatlik dinlenme süresi sonucunda submaksimal dozda ( $3 \times 10^{-6}$  M) fenilefrin ile kasılıp, kasılma sabit bir platoya ulaştığında (yaklaşık olarak 10 dakika) kümülatif olarak ACh ( $10^{-8}$ M- $10^{-5}$ M) artan dozlarda uygulanarak endotel bağımlı yanıtlar değerlendirilmiştir. Tekrar yarım saatlik dinlenme periyodunun ardından NO yolağına bağlı etkiyi değerlendirebilmek amacı ile NO sentez inhibitörü L-nitro n arginin ester (LNAME) varlığında Ach-bağımlı gevşeme yanıtları tekrar elde edilmiştir.







Resim 4. Organ banyosu düzeneği

#### **5.2.4. Organ banyosunda kullanılan aygıtlar**

##### **5.2.4.1. İzole organ banyosu**

İzole organ banyosu sistemi; veri toplanmasına uygun yüksek performanslı veri toplama ünitesi içermektedir. 4 Kanal İzole Organ Banyosu Seti, 4 adet force displacement transducer ve sirkülatörlü su banyosunu içeren bir sistemden oluşmaktadır. Doz Cevap eğrilerini; sinyallerin ayrı amplifikatörler gerektirmeden tümünü algılayabilen 4 kanal kayıt sistemi bulunmaktadır (Resim 4).

##### **5.2.4.2. Force Displacement Transdüser**

Organ ve dokulara uygulanan ilaç etkilerinin kasılma ve gevşeme yanıtlarını mg düzeyinde yansıtabilir, hassasiyete mili volt değerine dönüştürebilen bir cihazdır.

##### **5.2.4.3. Su Banyosu Ve Sirkülator**

İzole organ banyosu düzeneklerinde su sirkülasyonu yaparak, banyolardaki ısının ayarlanan değerde  $\pm 0,1$  °C hassasiyette sabit kalmasını sağlayabilmektedirler.

#### 5.2.4.4. İzole Organ Banyosu Seti

Organ banyosunun bu kısmı doku tutucu ve elektrot tutucularını üzerinde bulunduran kombine bir sistemdir. 10ml çift cidarlı cam organ banyosunun içerisinde ısıtıcılı su banyosu ve sirkulatör aracılığı ile ısıtılan su geçerek organ banyosunun ısını sabit tutmaktadır. Transdüser tutucusu, organ askısı ve tutucusu ise asılan dokuda oluşabilen gerilimleri ölçebilmektedir.

#### 5.2.4.5. pH metre:

Inolab pH 720 markalı pH ölçme aleti kullanılmıştır.

#### 5.2.5 Kullanılan kimyasallar

**Kolesterol:** Sigma Aldrich, (St. Louis, MO, A.B.D) (Ürün Numarası: C8503);

**Asetilkolin HCl:** Sigma Aldrich, (St. Louis, MO, A.B.D) (Ürün Numarası: A6625); distile suda çözünmüştür.

**Fenilefrin HCl:** Sigma Aldrich, (St. Louis, MO, A.B.D) (Ürün Numarası: P6126); distile suda çözünmüştür.

**Resveratrol:** Sigma Aldrich, (St. Louis, MO, A.B.D) (Ürün Numarası: R5010); %99 Etanolde çözünmüştür.

**Etanol:** Sigma Aldrich, (St. Louis, MO, A.B.D)

**Korpus kaverosum Krebs solüsyonu(mM):** NaCl 136.9, KCl 2.7,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5,  $\text{CaCl}_2$  1.8,  $\text{MgSO}_4$  0.6,  $\text{NaHCO}_3$  11.9, glikoz 11.5. ; pH:7.4

**Korpus kaverosum 120 mM KCl solüsyonu(mM):** NaCl 19.6, KCl 120.0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5,  $\text{CaCl}_2$  1.8,  $\text{MgSO}_4$  0.6,  $\text{NaHCO}_3$  11.9, glikoz 11.5. ; pH:7.4

Krebs solüsyonu ve KCl solüsyonları için gerekli olan tüm kimyasallar Sigma Aldrich (St. Louis, MO, A.B.D) firmasından elde edilmiştir.

#### 5.2.6. Verilerin İstatistiksel Analizi

Tüm veriler Ortalama  $\pm$  Standart hata olarak gösterilmiştir. Grup içi karşılaştırmada Student'ın t testinin eşler arası farkın anlamlılık testi (paired t-test), üç grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde varyans analizi (ANOVA) ve takiben Tukey-Kramer multiple karşılaştırma testleri kullanılmıştır (Graphad Instat V2.05a-1994). Çalışmada  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## **6. BULGULAR**

### **6.1. Hayvan Ağırlıklarının Karşılaştırılması**

Çalışmanın başlangıcında ve sonlandırılmasında hayvan ağırlıkları ölçülmüştür. Resveratrolle beslenen gruplarda ara dönemlerde belirgin kilo değişimi olup olmadığını buna göre uygulanan resveratrol miktarında değişiklik olup olmadığını saptamak amacıyla ara kontroller yapılmıştır. Belirgin değişiklik olmadığı saptanmıştır. Elde edilen bulgulara göre hayvan ağırlık ortalamaları aşağıdaki tablolarda yer almaktadır.

	<b>0.hafta (gr)</b>	<b>6. hafta (gr)</b>
<b>Grup 1 (n=7)</b>	2857±72,73	<b>2856±64,47</b>
<b>Grup 2 (n=7)</b>	2509±37,19	<b>2271±72,26 *</b>
<b>Grup 3 (n=9)</b>	<b>2489±57</b>	<b>2336±58,64</b>

Tablo 6. Çalışma başlangıcı ve sonunda hayvan ağırlıkları

Grupların ağırlıklarını karşılaştırmak için yapılan grup içi karşılaştırmada Student t eşler arası farkın anlamlılık testi uygulanmıştır. Bu karşılaştırmada Grup 2’de fark gözlenirken (\* p<0.001) diğer 2 grupta istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

### **6.2. Biyokimyasal Parametre Sonuçları**

Tavşanlara altı hafta süre ile %2 kolesterol ile beslenmenin ve resveratrol tedavisinin; plazma total kolesterol düzeyleri üzerine olan etkilerini değerlendirmek amacı ile çalışmanın başlangıcında ve altıncı hafta sonunda kan örnekleri alınmıştır.

Çalışmada başlangıç döneminde alınan kanlar tavşan kulak veninden, sakrifikasyon sırasında alınan kanlar ise kalbinden alınmıştır. Alınan kanlardan serum total kolesterol düzeyi, HDL, LDL, trigliserid ve glukoz düzeyleri otoanalizörde (Hitachi 902) çalışılmıştır. Gruplara göre elde edilen bulgular aşağıdaki tablolarda yer almaktadır.

<b>GRUP 1 (n=7)</b>				
<b>T.kolesterol (mg/dl)</b>	<b>HDL(mg/dl)</b>	<b>LDL(mg/dl)</b>	<b>Trigliserid(mg/dl)</b>	<b>Glukoz(mg/dl)</b>
<b>35±12,27</b>	<b>2,14±0.29</b>	<b>2,57±0,61</b>	<b>208±21,97</b>	<b>220,9±3,93</b>

Tablo 7. Kontrol grubunun serum biyokimya sonuçları

<b>GRUP 2 (n=7)</b>					
	<b>T. kolesterol (mg/dl)</b>	<b>HDL(mg/dl)</b>	<b>LDL(mg/dl)</b>	<b>Trigliserid(mg/dl)</b>	<b>Glukoz(mg/dl)</b>
<b>0. hf</b>	45± 8,56	16.25±4.87 **	12.35 ±0,61	97.5± 14.69	<b>118.7±2.31</b>
<b>6.hf</b>	<b>1732±215,6*</b>	<b>234,6± 8,54**</b>	<b>1472 ±198,6#</b>	<b>321,4± 84,55# #</b>	<b>253,1 ±41,9□</b>

Tablo 8. Hiperkolesterolemi grubunun serum biyokimya sonuçları

\* p<0.0001, \*\*p<0.0001, # p<0.0001, ## p<0.05, □ p<0.05 (student t eşler arası farkın anlamlılık testi).

0. ve 6. hafta düzeyleri karşılaştırıldığında tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.

<b>GRUP 3 (n=9)</b>					
	<b>T. kolesterol (mg/dl)</b>	<b>HDL(mg/dl)</b>	<b>LDL(mg/dl)</b>	<b>Trigliserid(mg/dl)</b>	<b>Glukoz(mg/dl)</b>
<b>0. hf</b>	20,63 ± 2,36	2,88 ± 0,58	2,425 ± 0,81	149,3 ± 14.69	<b>201,6 ± 16,62</b>
<b>6.hf</b>	<b>1429± 225,6*</b>	<b>212,8±26,65**</b>	<b>1153 ± 197***</b>	<b>422,2 ± 137,9</b>	<b>200 ± 15,72</b>

Tablo 9. Hiperkolesterolemi + Resveratrol grubunun serum biyokimya sonuçları

\*p<0.0001, \*\* p<0.0001, \*\*\*p<0.0001(t test, paired)

0. ve 6. hafta düzeyleri karşılaştırıldığında glukoz ve trigliserid dışında tüm parametrelerde artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

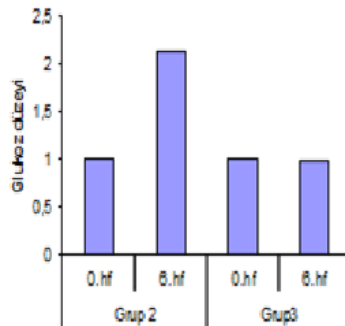
6. hafta sonunda kontrol grubu (Grup1), hiperkolesterolemik diyetle beslenen grup (Grup2) ve hiperkolesterolemik diyetle birlikte resveratrol tedavisi uygulanan gruplar (Grup3) tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldığında Grup 2'deki plazma total kolesterol, HDL, LDL ve trigliserid düzeyleri Grup 1'deki düzeylere göre artış göstermiş, trigliserid dışındaki değerlerde bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kan glukoz düzeyinde anlamlı değişiklik olmamıştır. Resveratrolle koruyucu tedavi yapılan Grup 3'de ise Grup 2'ye göre anlamlı farklılık saptanmamıştır.

	GI (n=7)	GII (n=7)	GIII (n=9)
<b>Total kolesterol (mg/dl)</b>	35±12,27	1732±215,6*	1429±225,6
<b>HDL(mg/dl)</b>	2,14±0,29	234,6±28,54**	212,8±26,65
<b>LDL (mg/dl)</b>	2,57±0,6	1472±198,6***	1153±197
<b>Trigliserid (mg/dl)</b>	208±21,97	321,4±84,5	522±137,9
<b>Glukoz (mg/dl)</b>	220±33,93	253,1±41,9	200±15,7

Tablo 10. Gruplar arası serum biyokimya sonuçlarının karşılaştırılması

\*GI vs GII  $p<0.05$  , \*\* GI vs GII  $p<0.05$ , \*\*\* GI vs GII  $p<0.05$  (Tek yönlü varyans analizi)

Glukoz düzeyleri için kolesterol diyetinin devam ettiği döneme ait hazırlanan katlı değer tablosuna baktığımızda (Tablo 11) Grup 2'de kolesterol diyetine bağlı artış gözlenmekte, resveratrol tedavisi ile birlikte kolesterol diyetinin uygulandığı Grup 3'de bu artış ortadan kalkmaktadır.

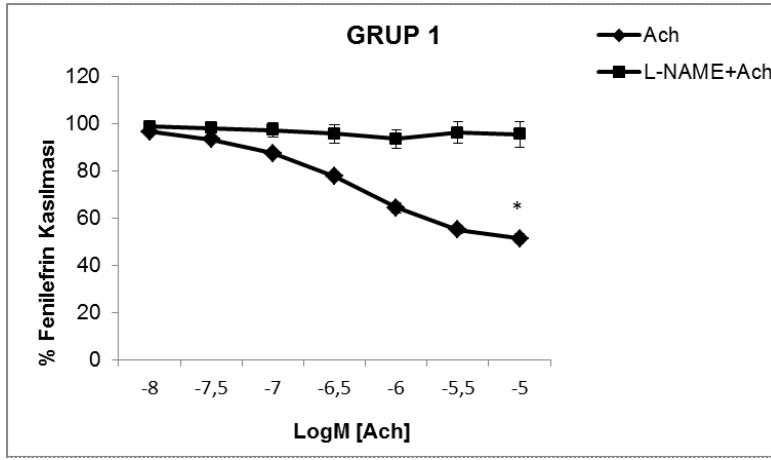


Tablo 11. Gruplar arasında glukoz düzeyinin katlı değer tablosu

### 6.3. İzole Organ Banyosu Sonuçları

#### 6.3.1. Kontrol grubu (Grup 1) organ banyosu sonuçları

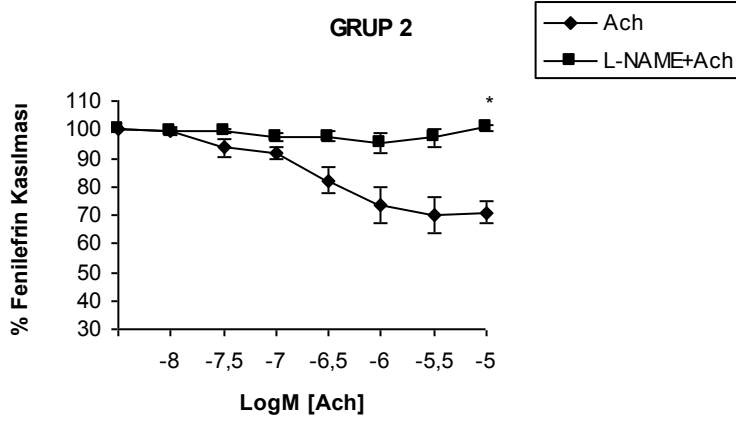
Kontrol grubu KK dokularında 120 mM KCl ile  $2867 \pm 418.7$  (n=15) mg kasılma yanıtı elde edilmiştir. Phe ile kastırılan dokularda kümülatif olarak artan dozlarda uygulanan Ach ( $10^{-8}$  M- $10^{-5}$  M) kasılma yanıtını  $48.58 \pm 4.17$  (n=14) azaltırken, aynı protokol L-NAME varlığında uygulandığında Ach ile  $4.61 \pm 2.82$  (n=15) kasılma yanıtı elde edilmiştir (Grafik 1). İki grup karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.0001$ ). Phe ile kastırılıp Ach-bağımlı gevşeme yanıtının  $pD_2$  değeri  $6.33 \pm 0.09$  olarak hesaplanmıştır. Diğer grupta doz bağımlı gevşeme yanıtı elde edilemediği için  $pD_2$  değeri hesaplanamamıştır.



Grafik 1. Kontrol grubunda Phe ile kastırılan dokulardaki Ach-bağımlı gevşeme yanıtlarına L-NAME'in etkisi (\*,  $p < 0.0001$ ).

#### 6.3.2. Hiperkolesterolemik diyetle beslenen grup (Grup2) organ banyosu sonuçları

Doku canlılığını değerlendirmek üzere uygulanan 120mM KCl ile oluşan kasılma yanıtları  $2499 \pm 274$  (n=17) olarak elde edilmiştir. Phe ile kastırılan dokularda kümülatif olarak artan dozlarda uygulanan Ach ( $10^{-8}$  M- $10^{-5}$  M) kasılma yanıtını  $29.09 \pm 3.95$  (n=16) azaltırken, aynı protokol L-NAME varlığında uygulandığında Ach ile  $0.69 \pm 1.14$  (n=13) kasılma yanıtı elde edilmiştir. İki grup arasındaki Ach ile elde edilen maksimal yanıt farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (\*,  $p < 0.0001$ ) (Grafik 2).



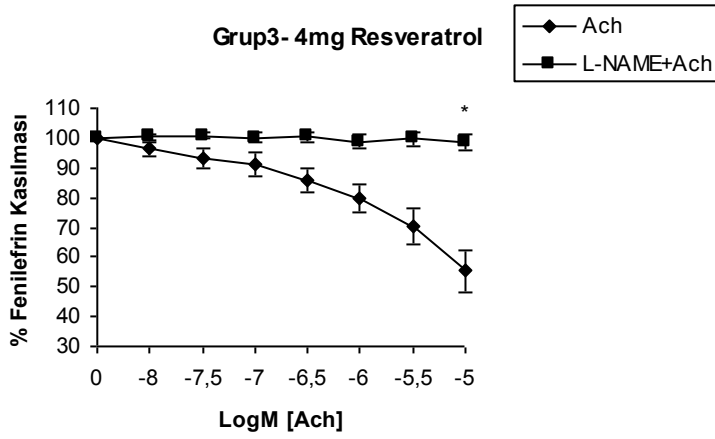
Grafik 2. Hiperkolesterolemi grubunda Phe ile kastırılan dokulardaki Ach-bağımlı gevşeme yanıtlarına L-NAME'in etkisi (\*,  $p < 0.0001$ )

Phe ile kastırılıp Ach-bağımlı gevşeme yanıtının  $pD_2$  değeri  $6.58 \pm 0.22$  olarak hesaplanmıştır.

### 6.3.3. Hiperkolesterolemik diyetle birlikte resveratrol tedavisi uygulanan grup (Grup3) organ banyosu çalışmaları

**4mg/kg/gün** resveratrolle beslenen tavşanların kavernoöz dokularında doku canlılığını değerlendirmek üzere uygulanan 120mM KCl ile oluşan kasılma yanıtları  $3055 \pm 504,9$  (n=9) olarak elde edilmiştir.

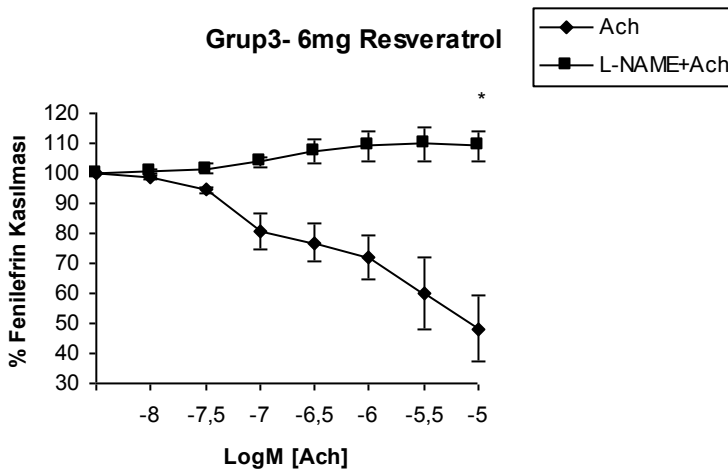
Phe ile kastırılan dokularda kümülatif olarak artan dozlarda uygulanan Ach ( $10^{-8}$  M- $10^{-5}$  M) kasılma yanıtını  $\% 44.7 \pm 7.25$  (n=9) azaltırken, aynı protokol L-NAME varlığında uygulandığında Ach ile elde edilen gevşeme yanıtı  $\% 1.52 \pm 2.92$  (n=7) olarak bulunmuştur. İki grup arasındaki Ach ile elde edilen maksimal yanıt farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (\*,  $p < 0.0001$ ) (Grafik 3). Phe ile kastırılıp Ach-bağımlı gevşeme yanıtının  $pD_2$  değeri  $5.57 \pm 0.17$  olarak hesaplanmıştır.



Grafik 3. Grup 3 - 4mg resveratrol uygulanan grupta Phe ile kastırılan dokulardaki Ach-bağımlı gevşeme yanıtlarına L-NAME'in etkisi (\*,  $p < 0.0001$ )

**6mg/kg/gün** resveratrol tedavisi uygulanan grupta korpus kavernozum dokusunda 120mM KCl ile elde edilen kasılma yanıtı  $2196 \pm 377,9$  ( $n=8$ ) olarak elde edilmiştir. Bu grupta Phe ile kastırılan dokularda Ach ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtı ( $\% 51.7 \pm 10.88$ ,  $n=7$ ) olarak bulunmuş, L-NAME varlığında aynı protokol uygulandığında Ach ile kasılma yanıtı elde edilmiş ( $9.03 \pm 5.14$ ,  $n=7$ ) ve her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0.0172$ ) (Grafik 4).

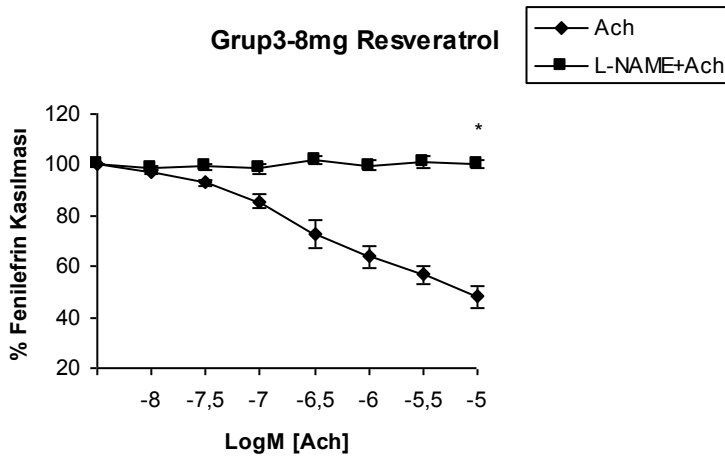
Phe ile kastırılıp Ach-bağımlı gevşeme yanıtının  $pD_2$  değeri  $6.21 \pm 0.31$  olarak hesaplanmıştır.



Grafik 4. Grup 3 - 6mg resveratrol uygulanan grupta Phe ile kastırılan dokulardaki Ach-bağımlı gevşeme yanıtlarına L-NAME'in etkisi ( $p=0.0172$ ).



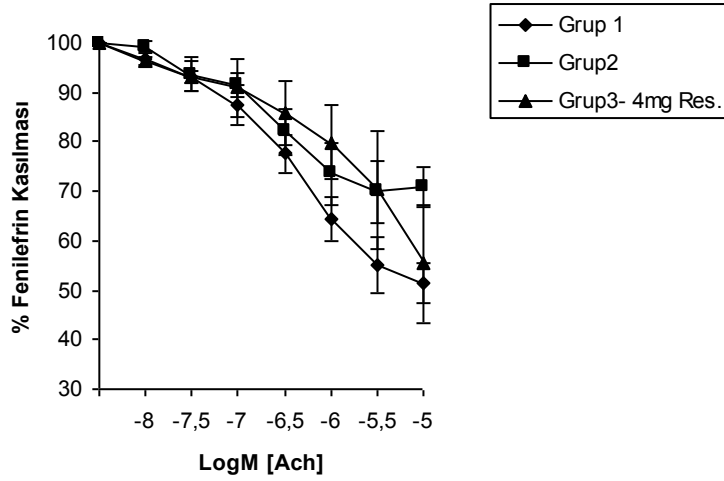
**8mg /kg/gün** resveratrol tedavisi uygulanan hayvanların korpus kavernozum dokularında 120mM KCl ile elde edilen kasılma yanıtı  $2275\pm302,6$  mg (n=9)'dır. Phe ile kastırılan dokularda Ach ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtı ( %  $52.01 \pm 4.22$ , n=9) olarak bulunmuş, L-NAME varlığında aynı protokol uygulandığında Ach ile kasılma yanıtı elde edilmiş ( $0.32\pm 1.94$ , n=9) ve her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.0001$ ) (Grafik 5). Phe ile kastırılıp Ach-bağımlı gevşeme yanıtının  $pD_2$  değeri  $6.30\pm 0.17$  olarak hesaplanmıştır.



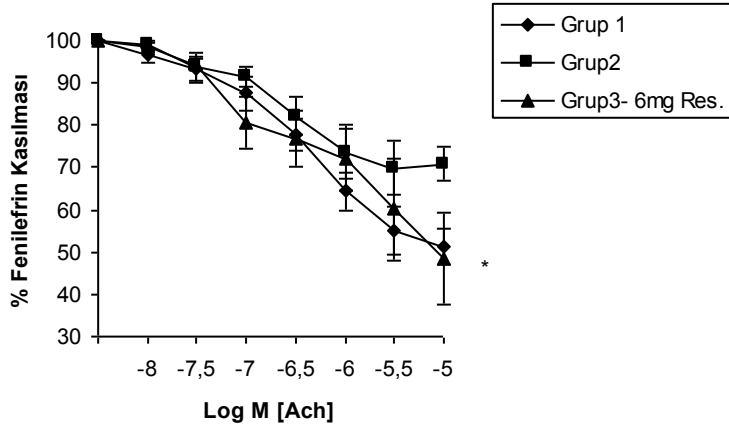
Grafik 5. Grup 3 - 8mg resveratrol uygulanan grupta Phe ile kastırılan dokulardaki Ach-bağımlı gevşeme yanıtlarına L-NAME'in etkisi (\*,  $p<0.0001$ )

#### 6.3.4. Verilerin gruplar arası karşılaştırılması

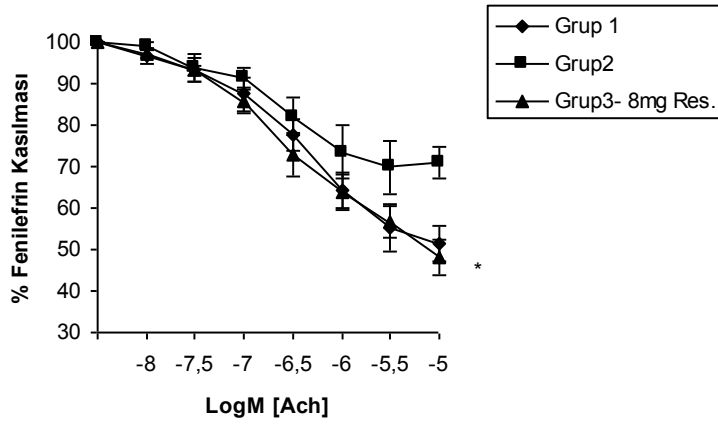
Grup1, Grup2 ve Grup3 'de elde edilen KCl kasılmaları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Grup 1, Grup 2 ve Grup3-4mg resveratrol gruplarında Ach ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtları tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldığında, Grup 3-4mg Ach ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtı Grup2'ye oranla artış göstermiştir (sırasıyla  $44.7\pm 7.24$ ,  $29.09\pm 3.95$ ) ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Grafik 6). Bu grupta elde edilen  $pD_2$  değeri de Grup1 ve Grup2'de elde edilen  $pD_2$  değerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. 6mg ve 8mg resveratrol uygulanan gruplarda ise Ach ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtında Grup2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış saptanmıştır ( $p<0.05$ , grafik 7,  $p<0.05$  grafik 8).



Grafik 6. Grup 1, Grup 2 ve Grup3- 4mg resveratrol gruplarında Ach ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtlarının karşılaştırılması



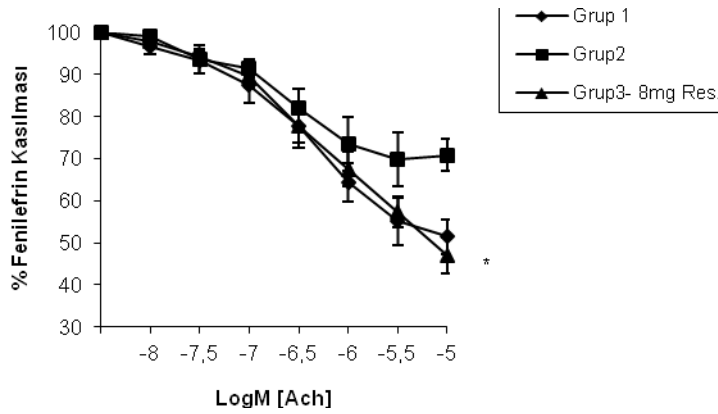
Grafik 7. Grup 1, Grup 2 ve Grup3- 6mg resveratrol gruplarında Ach ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtlarının karşılaştırılması (\*,  $p < 0.05$ )



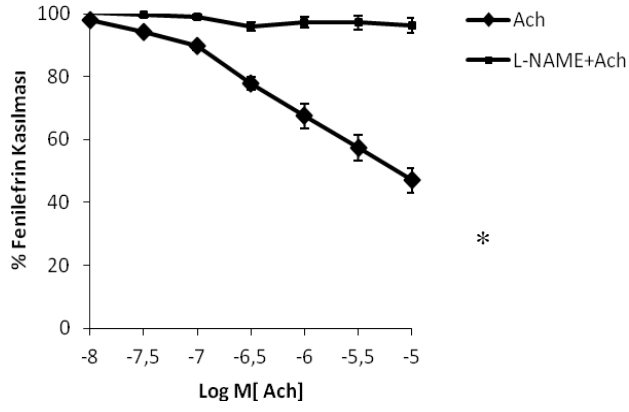
Grafik 8. Grup 1, Grup 2 ve Grup3- 8mg resveratrol gruplarında Ach ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtlarının karşılaştırılması (\*,  $p < 0.05$ ).

Uygulanan tüm dozları içeren gruplar (Grup1, Grup2, Grup3-4mg res, Grup3-6mg res, Grup3-8mg res ) tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldığında ise 8mg resveratrol tedavisi uygulan grupta elde edilen Ach maksimal gevşeme yanıtındaki artış diğer 2 doza göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Resveratrolün koruyucu etkisinin değerlendirildiği deney gruplarında etkin koruyucu doz 8mg/kg/gün olarak belirlendikten sonra bu gruptaki hayvan sayısı 7'ye tamamlandı. Hiperkolesterolemi diyetine eş zamanlı 8mg/kg/gün resveratrol tedavisi uygulanan gruptaki n sayısı artırıldıktan sonra elde edilen sonuçlara göre; KCl kasılma yanıtı  $2975\pm303$  mg ( $n=19$ ) olarak bulunmuştur. Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0.5553$ ). Endotel bağımlı yanıtları değerlendirmek amacıyla ( $3\times10^{-6}$  M) fenilefrin ile kasılıp kümülatif olarak Ach uygulandığında elde edilen maksimal gevşeme yanıtları  $\% 53.01\pm3.88$  ( $n=19$ ) olarak bulundu. Kontrole göre (Grup 1  $\% 48.58\pm4.17$ ,  $n=14$ ) hiperkolesterolemi grubunda (Grup 2  $\% 29.09\pm3.95$ ,  $n=16$ ) azalan maksimal gevşeme yanıtı ( $p<0.01$ ) 8mg/kg/gün resveratrol tedavisi ile tümüyle düzelmiştir ( $p<0.001$ )(Grafik 8). Grup 3'deki hayvan sayısı artırıldığında yine önceki sonuçla benzer olarak L-NAME varlığında Ach ile oluşan maksimal gevşeme yanıtları tümüyle ortadan kalkmıştır ( $p<0.0001$ ) (Grafik 9).



Şekil 1: Kümülatif olarak uygulanan Ach doz-cevap eğrisi.\*  $p<0.001$  Grup 3-8mg vs Grup 2, \*\* $p<0.01$  Grup 2 vs Grup 1



Şekil 2: L-NAME varlığında ve yokluğunda kümülatif olarak uygulanan Ach doz-cevap eğrisi.\*  $p < 0.0001$  L-NAME+Ach vs Ach

## **7. TARTIŞMA**

Erektile disfonksiyon (ED) tatminkar cinsel performans için yeterli bir ereksiyonu başlatma ve sürdürmede kalıcı bozukluk hali olarak tanımlanır (1). ED benign bir hastalık olmasına karşın, fiziksel ve psikososyal sağlığı etkiler ve bu sıkıntıyı yaşayan hasta ile birlikte partnerinin ve ailesinin yaşam kalitesi üzerinde önemli bir etkisi vardır (2). Yakın zamanlarda ED ile ilgili epidemiyolojik çalışmaların bir derlemesinde erkeklerin yaklaşık %5-20'sinde orta-ağır ED saptanmıştır (3). Ateroskleroz kompleks, ilerleyici ve multifaktöriyel bir etiyojolojiye sahip olsa da, günümüzde yüksek plazma kolesterol seviyeleri ateroskleroz patogeneğinde en önemli role sahiptir. ED risk faktörleri ateroskleroz gelişiminde rol oynayan vasküler risk faktörleri ile yakın benzerlik göstermektedir ve her iki durum için de son zamanlarda en kabul gören patofizyolojik mekanizma endotelial disfonksiyondur (4). Hiperkolesterolemi bu risk faktörleri arasında ED gelişimi açısından oldukça önemlidir. Hiperkolesteroleminin endotelial bağımlı damar duvarı ve korpus kavernozum düz kas gevşemesini bozduğu hem insanlarda hem de deney hayvanlarında gösterilmiştir (153, 154, 160). Hiperkolesterolemik erkeklerde ve hayvan modellerinde, penise giden kan akımı azalmakta, NO ile ilişkili olarak korpus kavernozumda endotelial bağımlı gevşeme yanıtlarında azalma ve korpus kavernozum düz kasında fibrozis gibi morfolojik değişiklikler ve dejenerasyon meydana gelmektedir (155,156,157).

Çalışmamızda tavşanları 6 hafta süreyle kolesterol diyeti ile besleyip hiperkolesterolemi modeli oluşturarak hiperkolesteroleminin korpus kavernozum dokusunda endotelial bağımlı gevşeme yanıtlarına etkisi ve farklı dozlarda resveratrolle koruyucu tedavi uygulanması sonucu endotelial gevşeme yanıtlarındaki değişikliğin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada başlangıç ve bitişte tavşan ağırlıklarının ölçümünü yaptık. Kolesterol diyeti ve tavşanların vücut ağırlıklarına olan etkisi ile ilgili yapılmış olan pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan bazılarında hayvanların kolesterol diyeti ile beslenmesi sonrası vücut ağırlıklarında artma (142) bazılarında ise azalma (143) bildirilmiştir. Bunun yanı sıra Soner ve ark. nın 2010 yılında yaptığı çalışmada tavşanların 8 hafta süre ile %2 kolesterol diyeti ile beslenmeleri sonucunda ağırlıklarında başlangıç ağırlıklarına göre herhangi bir anlamlı artış gözlenmemiştir. Aynı çalışmada kontrol grubu olan ve normal yem ile beslenen hayvanlarda da istatistiksel olarak anlamlı bir ağırlık değişikliği gözlenmemiştir (15). Çalışmamızda kolesterol diyetine bağımlı, tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlılık göstermese de bir düşme olmuş, bu sadece hiperkolesterolemik diyetle beslenen Grup 2'de istatistiksel olarak anlamlılık göstermiştir. Bu azalmanın normal diyetten sonra kolesterolden yoğun bir diyetle geçilmesine bağımlı olarak hayvanların biraz daha az beslenmesinden kaynaklanmasının yanı

sıra ek bir faktör olarak Grup 2’de beslenen hayvanlarda dişlerinin uzama miktarı başlangıçta gözden kaçmış olup daha sonra fark edilip bu grubun sonunda ve diğer gruplarda düzenli olarak kesilmiştir. Grup 2’de diğer gruplara göre kilo kaybının biraz daha fazla olmasının bundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tavşanlarda hiperkolesterolemi modeli ile ilgili birçok farklı çalışma bulunmaktadır. Uygulanan diyetdeki kolesterol miktarları %0,5-2 arasında değişkenlik göstermekle beraber beslenme süreleri ise sıklıkla 4 hafta ile 8 hafta arasında farklılık gösterebilmektedir. Literatürde yapılan çalışmalar hiperkolesterolemi modeli için hem diyet kolesterol oranının hem de beslenme süresinin önemini vurgulamaktadır. Yeni Zelanda tavşanları ile yapılmış olan çalışmalarda, plazma kolesterol düzeyleri yaklaşık olarak 20-80 mg/dl olarak bildirilmektedir (144-148). Kolesterol diyeti alan tavşanlarda ise plazma kolesterol düzeyleri beslenme süresi ve kolesterol oranı ile farklılık göstermekle beraber 1000-2000 mg/dl olarak değerlendirilmektedir (144, 146). Çalışmamızda tavşanlar %2 a/a kolesterol ile 6 hafta süre ile beslenerek hiperkolesterolemi modeli oluşturulmuştur. Kolesterol grubu hayvanların %2 kolesterol diyeti ile 6 hafta süre ile beslenmeleri sonucunda plazma total kolesterol, LDL ve HDL kolesterol düzeyleri literatür ile benzer olarak anlamlı ölçüde yükselmiştir. Çalışmamızda ayrıca glukoz ve trigliserid düzeyleri de değerlendirilmiştir. Plazma TG düzeyinde bir miktar artış olmakla beraber bu artış tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Literatürde de benzer olarak %1 kolesterol + 2mg/kg/gün resveratrol tedavisi ile kontrol grubu karşılaştırıldığında trigliserid düzeylerinde değişiklik olmadığı görülmüştür (144). Bir başka çalışmada %1 kolesterol ile 6-7 hafta beslenme sonrası TG düzeylerinin kontrol grubu ile benzer olduğu belirtilmiştir (164). Sıçanlarla yapılan bir çalışmada 8 haftalık %5 kolesterol diyeti ve sonrasında 2 haftalık 20 mg/gün resveratrol tedavisi uygulandığında, HK grubunda TG düzeylerinin yükseldiği, resveratrol sonrası ise TG düzeylerinin düştüğü gözlenmiştir (165).

Glukoz düzeylerine baktığımızda Grup 2’de kolesterol diyetine bağlı artış gözlenmekte, resveratrol tedavisi ile birlikte kolesterol diyetinin uygulandığı Grup 3’de bu artış ortadan kalkmaktadır. Bu sonuçlarla ilgili 2 öngörümüz bulunmaktadır; 1) Hayvanlarda hiperkolesterolemiye bağlı olarak glukoz düzeyi artmış olabilir ve resveratrolün bu artış da koruyucu rolü olabilir. 2) Grup 2’deki artış hiperkolesterolemiye değil deneysel değişkenlere bağlı olabilir. Kan alınma zamanları planlanırken tavşanlar çok hassas hayvanlar oldukları için ve çok çabuk çevre koşullarından etkilenip ex oldukları için (bu özellikle 3 ay beslenen gruplarda gerek maliyet, gerekse zaman kaybını önlemek açısından tedbir almak amacıyla) aç

bırakmaya bağı hayvan kaybı olmasını engellemek için tokluk kan şekeri alınması planlandı. Standardizasyon için bu tüm gruplara uygulandı. Hiperkolesterolemiye bağı glukoz artışının bireysel varyasyonlar ve aynı saatte alınmış olmasına dikkat edilmesine rağmen yemleri sürekli önlerinde olduğundan kan alma öncesi yem yeme miktarında tam bir standardizasyon sağlanamamasının yol açtığı varyasyonlara bağı olduğunu düşündürmektedir (15, 163).

Resveratrol çok çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik etkileri olan bir polifenoldür. Kırmızı üzüm, kırmızı şarap, kırmızı üzüm suyu ve polygonum cuspidatum bitki kökünden ekstrakte edilmektedir, Kalp sağlığı üzerine olumlu etkisinde rol oynayan birçok faktör mevcuttur (10). Kalp sağlığı dolayısıyla endotelial fonksiyonlar üzerindeki en önemli etki mekanizması NO biyoyararlanımını arttırmasıdır, bunu da eNOS ekspresyonunda artışa yol açarak sağlar (11). Resveratrol ile ilgili olarak daha önce yapılan çalışmalardaki genel kanı plazma kolesterol düzeylerini düşürdüğü yönündeyse de (149,150,151), etkilemediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (15,144,152).

Çalışmamızda kullandığımız resveratrol, oral olarak 4-6-8mg/kg/gün olarak uygulandığında plazma kolesterol düzeylerine olan etkisi kolesterol grubu ile anlamlı farklılık göstermemiştir. Ancak; resveratrolün insan ve hayvan çalışmalarında plazma kolesterol düzeylerini düşürdüğünü gösteren çalışmalar bulunmaktadır (149-150-151). Çalışma sonuçlarımıza benzer olarak; 2005 yılında yapılmış olan bir çalışmada %1,5 kolesterol diyeti ile 12 hafta beslenmiş olan tavşanlardaki plazma yağ düzeyleri aynı süre boyunca 3mg/kg/gün resveratrol ve %1,5 kolesterol diyeti alan tavşanlar ile farklılık göstermemiştir (152). Soner ve ark.'nın 2010 yılında yaptığı çalışmada %2 kolesterol diyeti ve 4mg/kg/gün resveratrol tedavisi ile yağ parametrelerinde iyileşme olmadığı saptanmıştır (15). Matos ve ark.'nın 2012 yılında yaptığı başka bir çalışmada resveratrolün plazma lipid düzeylerini değiştirmedeği belirtilmiştir (144). Resveratrol tedavisi sonrası lipid düzeyleri üzerine olan etkilerindeki bu çeşitliliğin doza ve tedavi süresine bağı olabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda artan dozlarda resveratrol tedavisi uygulansada çalışılan hayvan sayısı istatistiksel değerlendirme yapmak için yeterli değildir. Etkin dozu saptadıktan sonra n sayısı artırılan 8mg/kg/gün grubunda da anlamlı düzelme saptanmamıştır.

Hiperkolesterolemi, vaskülojenik ED patogenezinde en önemli risk faktörüdür ve korpus kavernozum düs kasında EBGY' nı bozduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (54, 161). Yaptığımız organ banyosu sonuçlarına göre, hiperkolesterolemik grupta (Grup 2) fenilefrin ile kastırılan dokularda kümülatif olarak artan dozlarda uygulanan Ach'e ( $10^{-8}$  M- $10^{-5}$  M) bağı

gevşeme yanıtı, kontrol grubunda (Grup 1) ACh'e bağlı gevşeme yanıtına oranla azalmıştır. Literatürde de çalışmamız ile benzer olarak hiperlipidemik tavşan KK dokusunun kullanıldığı çalışmalarda, hiperlipideminin Ach'e bağlı EBGY'nı bozduğu gösterilmiştir (15,54,162). Hiperkolesterolemik diyetle birlikte 4mg/kg/gün resveratrol tedavi verilen grupta Ach'e bağlı maksimal gevşeme yanıtları Grup 2'ye oranla artış göstermiştir, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 6mg/kg/gün ve 8mg/kg/gün resveratrol uygulanan gruplarda Ach ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtında Grup 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış saptanmıştır ( $p<0,05$ ,  $p<0,05$ ). Hiperkolesterolemi ile birlikte farklı dozlarda resveratrol tedavisi verilen Grup 3' de (4, 6,8 mg/kg/gün) elde edilen sonuçlar kontrol ve hiperkolesterolemi gruplarıyla karşılaştırıldığında 8mg resveratrol tedavisi uygulanan grupta elde edilen Ach maksimal gevşeme yanıtındaki artış diğer 2 doza göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Soner ve ark.'nın yaptığı ve benzer protokolün uygulandığı çalışmada resveratrolün 4mg/kg/gün verildiği dozlarda koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (15). Bizim çalışmamızda 4mg/kg/gün resveratrol dozu ile EBGY artmış fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. Çalışmamızda her bir resveratrol dozu için (4-6-8mg/kg/gün) 3 tavşan (n=3) çalışılmış ve etkin doz 8mg/kg/gün olarak belirlendikten sonra bu gruptaki tavşan sayısı 7'ye tamamlanmıştır. 4mg/kg/gün resveratrol dozundaki bu farklılığın çalışılan hayvan sayısı ile ilgili olduğunu düşünmekteyiz.

KK dokusunu ve buna bağlı olarak erektil fonksiyon işlevinin korunması amacı ile hiperkolesterolemik tavşan modellerinde pek çok molekül denenmiştir. Daha önce resveratrolün KK üzerine hiperkolesterolemiden koruyucu etkileri ile ilgili çok az çalışma bulunmamaktadır. Bizim sonuçlarımıza göre ise 8mg/kg günlük doz ile %2 kolesterol ile beraber uygulandığında, tümüyle hiperkolesteroleminin etkilerinden koruma sağlayabilmektedir.

Nitrik oksit (NO) kavernoöz düz kas gevşemesinde en önemli mediyatördür. Resveratrolün endotelial fonksiyonlar üzerine etkisindeki en önemli mekanizma NO biyoyararlanımını arttırmasıdır, bunu da eNOS ekspresyonunda artışa yol açarak sağlar (11). NG-nitro-L-arginine metil ester (L-NAME) nonspesifik NO sentaz inhibitörüdür ve NO miktarını azaltarak Ach bağımlı endotel gevşeme yanıtlarını tamamen ortadan kaldırdığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (124, 162). Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda NO aracılı endotele bağlı gevşeme yanıtları NO sentaz inhibitörü L-NAME varlığında ortadan kalkmıştır. Bu inhibisyon oranı hiperkolesterolemi grubunda ve resveratrol tedavisi uygulanan gruplarda değişmemiştir.



## **8. SONUÇ ve ÖNERİLER**

Çalışmamızda korpus kavernozum düz kas yapılarında endotel bağımlı gevşeme yanıtları üzerine hiperkolesteroleminin etkisi ve resveratrolün gevşeme yanıtları üzerine olan koruyucu etkisini karşılaştırılmıştır. Vaskülojenik ED modeli oluşturduğumuz hiperkolesterolemik grupta, kümülatif olarak ACh uygulanması sonucu elde edilen maksimum gevşeme yanıtları kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Resveratrol uygulanması ise doza bağımlı olarak koruyucu etkinlik göstermiştir. Resveratrolün üç farklı dozda etkisinin değerlendirildiği çalışmamızda en belirgin olarak 8mg/kg/gün dozunda uygulandığında koruyucu etkinlik göstermiştir ve kontrol grubu ile yakın sonuçlar elde edilmiştir. Resveratrolün 4mg/kg/gün dozunda uygulanması hiperkolesterolemik diyetle bozulan EBGY üzerine olan koruyucu etki göstermesine rağmen kontrol grubu cevaplarına ulaşamamıştır. Resveratrol, hiperkolesteroleminin endotel fonksiyonlarını bozucu etkisi üzerine koruyucu etki göstermektedir. Bu etkisini açıklayabilecek birkaç mekanizma belirtilmiştir; eNOS miktarını artırması, hücreiçi ROS miktarını azaltması ve ox-LDL miktarını azaltması öne sürülen mekanizmalardır. Resveratrolün etki mekanizmasını tam olarak anlaşılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Resveratrolün endotel fonksiyonlarını koruyucu etkisi ile birlikte özellikle vasküler risk faktörlerinin eşlik ettiği tedaviye dirençli ED olgularında yararlı olabileceği düşünmekteyiz.

## **KAYNAKLAR**

- 1) Wespes E, Amar E, Hatzichristou D, Hatzimouratidis K, Montorsi F, Pryor J, Vardi Y. Guidelines on Erectile Dysfunction. *European Association of Urology* 2012.
- 2) Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou DG, et al. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Urol* 1994 Jan;151(1):54-61.
- 3) Wespes E, Amar E, Hatzichristou D, Hatzimouratidis K, Montorsi F, Pryor J, Vardi Y; EAU Guidelines on erectile dysfunction: an update. *Eur Urol*. 2006 May;49(5):806-15. Epub 2006 Feb 9.
- 4) Ganz P., Erectile Dysfunction: Pathophysiologic mechanisms pointing to underlying cardiovascular disease, *Am J Cardiol*, 96, 12B, 8M-12M, (2005).
- 5) Hurt K.J., Musicki B., Palese M.A., Crone J.K., Becker R.E., Moriarity J.L., Snyder S.H., Burnett A.L., Akt-dependent phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase mediates penile erection, *Proc Natl Acad Sci USA*, 99, 6, 4061-6, (2002).
- 6) Musicki B., Burnett A.L., eNOS function and dysfunction in the penis, *Exp Biol Med*, 231, 154-165, (2006).
- 7) Kim JH, Klyachkin ML, Svendsen E, Davies MG, Hagen PO, Carson CC 3rd: Experimental hypercholesterolemia in rabbits induces cavernosal atherosclerosis with endothelial and smooth muscle cell dysfunction. *J Urol* 1994; 151: 198-205.
- 8) Azadzoï KM, Goldstein I: Erectile dysfunction due to atherosclerotic vascular disease: the development of an animal model. *J Urol* 1992; 147: 1675–1681.
- 9) Jae young et al. Penile erectile responses to electric stimulation are enhanced by a new phosphodiesterase type-5 inhibitor. *International Journal of Urology*. 2005 12 , 299-304
- 10) Das D.K., Maulik N., Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine, *Mol Interv*, 6, 1, 36-47, (2006).
- 11) Das S., Alagappan V.K., Bagchi D., Sharma H.S., Maulik N., Das D.K., Coordinated induction of iNOS–VEGF–KDR–eNOS after resveratrol consumption: a potential mechanism for resveratrol preconditioning of the heart, *Vascul Pharmacol*, 42, 281–289, (2005).
- 12) Manna S.K., Mukhopadhyay A., Aggarwal B.B., Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF- $\kappa$ B, activator protein-1, and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation, *J Immunol*, 164, 6509–6519, (2000).

- 13)** Yen G.C., Duh P.D., Lin C.W., Effects of resveratrol and 4- hexylresorcol on hydrogen peroxide-induced oxidative DNA damage in human lymphocytes, *Free Radic Res*, 37, 509–514, (2003).
- 14)** Zou J., Huang Y., Cao K., Yang G., Yin H., Len J., Hsieh T.C., Wu J.M., Effect of resveratrol on intimal hyperplasia after endothelial denudation in an experimental rabbit model, *Life Sci*, 68, 2, 153-63, (2000).
- 15)** Soner BC, Murat N, Demir O, Güven H, Esen A, Gidener S., Evaluation of vascular smooth muscle and corpus cavernosum on hypercholesterolemia. is resveratrol promising on erectile dysfunction, *Int J İmpot Res*. 2010 Jul-Aug;227-33. Epub 2010 Jul 1.
- 16)** NIH Consensus Conference. Impotence. NIH Consensus Development Panel on Impotence. *Jama*, 1993; 270: 83-90.
- 17)** Montague D.K., Barada J.H., Belker A.M. ve ark. Clinical guidelines panel on erectile dysfunction: summary report on the treatment of organic erectile dysfunction. The American Urological Association. *J Urol*, 1996; 156: 2007-2011.
- 18)** Akkus E., Kadioglu A., Esen A. ve ark: Prevalence and correlates of erectile dysfunction in Turkey: a population-based study. *Eur Urol*, 2002; 41: 298-304.
- 19)** Wessells H, Lue TF, McAninch JW: Penile length in the flaccid and erect states: Guidelines for penile augmentation. *J Urol* 1996; 156:995-997.
- 20)** Campbell-Walsh Urology: sekizinci baskı, sayfa 74
- 21)** Hsu GL, Brock GB, Martinez-Pineiro L ve ark. The three-dimensional structure of the tunica albuginea: anatomical and structural levels. *Int J İmpot Res* 1992; 4: 117-132
- 22)** Brock G, Hsu G-L, Nunes L ve ark. The anatomy of the tunica albuginea in the normal penis and in Peyronie’s disease. *J Urol* 1997; 157:276-281
- 23)** Campbell-Walsh Urology: sekizinci baskı, sayfa 1593
- 24)** Anderson KE, Wagner G: Physiology of erection. *Physiol Rev* 1995; 75:191-236
- 25)** Nitahara KS, Lue TF: “Microscopic anatomy of the penis” in *Textbook of erectile dysfunction*, Carson CC, Kirby R and Goldstein I, editors (ISIS Medical Media, Oxford, 1999)
- 26)** Chuang AT, Steers WD: “Neurophysiology of penile erection” in *Textbook of erectile dysfunction*, Carson CC, Kirby R and Goldstein I, editors (ISIS Medical Media, Oxford, 1999), sayfa 59-72.
- 27)** Carrier S, Brock G, Kour NW ve ark. Pathophysiology of erectile dysfunction. *Urology* 1993; 42: 468-481

- 28)** Saenz de Tejada I, Moroukian P, Tessier J ve ark. Trabecular smooth muscle modulates the capacitor function of the penis. Studies on a rabbit model. *Am J Physiol* 1991; 260: 1590-1595.
- 29)** Udelson D, Nehra A, Hatzichristou DG ve ark. Engineering analysis of penile hemodynamic and structural-dynamic relationships: Part I--Clinical implications of penile tissue mechanical properties. *Int J Impot Res* 1998; 10: 15-24.
- 30)** Lerner SE, Melman A, Christ GJ. A review of erectile dysfunction: new insights and more questions. *J Urol* 1993; 149: 1246-1255.
- 31)** Lue TF, Tanagho EA. Hemodynamics of erection. Baltimore: Williams&Wilkins, sayfa 28-38, 1992
- 32)** Zhao W, Christ GJ. Endothelin-1 as a putative modulator of erectile dysfunction. II. Calcium mobilization in cultured human corporal smooth muscle cells. *J Urol* 1995; 154: 1571-1579.
- 33)** Kirkeby HJ, Forman A, Sorensen S ve ark. Alpha-adrenoceptor function in isolated penile circumflex veins from potent and impotent men. *J Urol* 1989; 142: 1369-1371.
- 34)** Newman HF, Tchertkoff V. Penile vascular cushions and erection. *Invest Urol* 1980; 18: 43-45.
- 35)** Lue TF. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction and priapism. In: *Campbell's Urology*, 7th ed. Edited by P. C. Walsh, A. B. Retik, T. A. Stamey ve ark. Philadelphia: Saunders, vol. 38, pp. 1157-1170., 1998
- 36)** Tejada IS. In the physiology of erection, signposts to impotence. *Contemporary Urol* 1992; 7: 52-58.
- 37)** Andersson KE. Pharmacology of penile erection. *Pharmacol Rev* 2001; 53: 417-450.
- 38)** Mills TM, Chitale K, Lewis RW. Vasoconstrictors in erectile physiology. *Int J Impot Res* 2001; 13 Suppl 5: S29-34.
- 39)** Burnett AL. Role of nitric oxide in the physiology of erection. *Biol Reprod* 1995; 52: 485-489.
- 40)** Okamura T, Ayajiki K, Toda N. Monkey corpus cavernosum relaxation mediated by NO and other relaxing factor derived from nerves. *Am J Physiol* 1998; 274: H1075- 1081.
- 41)** Robert C. Dean, MD and Tom F. Lue, MD. Physiology of Penile Erection and pathophysiology of Erectile Dysfunction. *Urol Clin North Am.* 2005 November ; 32(4): 379–v.
- 42)** Burnett AL. Nitric oxide in the penis: physiology and pathology. *J Urol* 1997; 157: 320-324.

- 43)** Bloch W, Klotz T, Sedlacek P ve ark. Evidence for the involvement of endothelial nitric oxide synthase from smooth muscle cells in the erectile function of the human corpus cavernosum. *Urol Res* 1998; 26: 129-135.
- 44)** Moncada S, Higgs EA. Molecular mechanisms and therapeutic strategies related to nitric oxide. *FASEB J* 1995; 9: 1319-1330.
- 45)** Ignarro LJ, Bush PA, Buga GM ve ark. Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of korpus kavernozum smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 170: 843-850.
- 46)** Rajfer J, Aronson WJ, Bush PA ve ark. Nitric oxide as a mediator of relaxation of the korpus kavernozum in response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission. *N Engl J Med* 1992; 326: 90-94.
- 47)** Chitaley K, Webb RC, Mills TM. RhoA/Rho-kinase: a novel player in the regulation of penile erection. *Int J Impot Res* 2001; 13: 67-72.
- 48)** Wu X, Haystead TA, Nakamoto RK ve ark. Acceleration of myosin light chain dephosphorylation and relaxation of smooth muscle by telokin. Synergism with cyclic nucleotide-activated kinase. *J Biol Chem* 1998; 273: 11362-11369.
- 49)** Lizza EF, Rosen RC. Definition and classification of erectile dysfunction: Report of the Nomenclature Committee of the International Society of Impotence Research. *Int J Impot Res* 1999;11:141-143
- 50)** Michal V, Ruzbarsky V. Histological changes in the penile arterial bed with aging and diabetes. In Zorngiotti AW, Rossi G (eds): *Vasculogenic impotence: Proceedings of the First International Conference on Korpus kavernozum Revascularization*. Springfield,111, Charles C Thomas, 1980, pp 113-119.
- 51)** Azadzoï KM, Goldstein I. Erectile dysfunction due to atherosclerotic vascular disease: the development of an animal model. *J Urol*1992; 147: 1675-1681
- 52)** Azadzoï KM, Park K, Andry C ve ark. Relationship between cavernosal ischemia and corporal veno-occlusive dysfunction in an animal model. *J Urol* 1997;157:1011-1017
- 53)** Nehra A, Azadzoï KM, Moreland RB ve ark. Cavernosal expandability is an erectile tissue mechanical property which predicts trabecular histology in an animal model of vasculogenic erectile dysfunction. *J Urol* 1998;159: 2229-2236
- 54)** Azadzoï KM, Goldstein I, Sroky MB ve ark. Mechanisms of ischemia-induced cavernosal smooth muscle relaxation impairment in a rabbit model of vasculogenic erectile dysfunction. *J Urol*1998;160:2216-2222

- 55)** Abicht JH. Testing the autonomic system. In: Jonas U, Thon WF, Stief CG, editors. Erectile dysfunction. Berlin: Springer Verlag 1991 187-194
- 56)** Aboseif S, Shimohara K, Borirakchanyavat S ve ark. The effect of cryosurgical ablation of the prostate on erectile function. *Br J Urol* 1997; 80:918-922
- 57)** Sachs BD, Meisel RL. The physiology of male sexual behavior. In: Knobil E, Neill JD, Ewing LL, ve ark ed. *The Physiology of Reproduction*, New York: Raven Press; 1988:1393-1423
- 58)** Wermuth L, Stenager E. Sexual aspects of Parkinson's disease. *Semin Neurol* 1992; 12:125-127
- 59)** Mulligan T, Schmitt B. Testosterone for erectile failure. *J Gen Intern Med* 1993; 8:517-521
- 60)** Granata AR, Rochira V, Lerchl A ve ark. Relationship between sleep-related erections and testosterone levels in men. *J Androl* 1997; 18:522-527.
- 61)** Mills TM, Stopper VS, Wiedmeier VT: Effects of castration and androgen replacement on the hemodynamics of penile erection in the rat. *Biol Reprod* 1994; 51:234-238.
- 62)** Penson DF, Ng C, Cai L, ve ark: Androgen and pituitary control of penile nitric oxide synthase and erectile function in the rat. *Biol Reprod* 1996; 55:567-574.
- 63)** Wespes E, Amar E, Hatzichristou F ve ark: EAU Guidelines on erectile dysfunction, 2006 edition
- 64)** Anafartalar K, Bedük Y, Arıkan N. Temel Üroloji, Üçüncü baskı, s1031-1038.
- 65)** Neal CR, Michel CC. Transcellular openings through microvascular walls in acutely inflamed frog mesentery. *Exp Physiol* 1992;77:917-20
- 66)** Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium - derived relaxing factor. *Nature* 1987;327: 524-26
- 67)** Gardiner SM, Campton AM, Bennett T ve ark. Regional hemodynamic changes during oral ingestion of N- monomethyl-L-Arginin methyl ester in conscious Brattleboro rats. *Br J Pharmacol* 1990;101:10-12
- 68)** Pahl U, Holtz J, Busse R ve ark. Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo. *Hypertension* 1986;8: 27-44
- 69)** Ulrich Förstermann and William C. Sessa. Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal Advance Access published September 1, 2011*
- 70 )** Toda N, Ayajiki K, Okamura T. Control of systemic and pulmonary blood pressure by nitric oxide formed through neuronal nitric oxide synthase. *J Hypertens* 2009;27:1929–1940.

- 71)** Rosen RC, Kostis JB. Overview of phosphodiesterase 5 inhibition in erectile dysfunction. *Am J Cardiol* 2003;92:9M–18M
- 72)** Nicholson S, Bonecini-Almeida Mda G, Lapa e Silva JR, Nathan C, Xie QW, Mumford R, Weidner JR, Calaycay J, Geng J, Boechat N, Linhares C, Rom W, Ho JL. Inducible nitric oxide synthase in pulmonary alveolar macrophages from patients with tuberculosis. *J Exp Med* 1996;183:2293–2302.
- 73)** Wong JM, Billiar TR. Regulation and function of inducible nitric oxide synthase during sepsis and acute inflammation. *Adv Pharmacol* 1995;34:155–170
- 74)** Forstermann U. Regulation of nitric oxide synthase expression and activity. In: Mayer B, ed. *Handbook of Experimental Pharmacology—Nitric Oxide*. Berlin: Springer; 2000. p71–91.
- 75)** Hemmens B, Mayer B. Enzymology of nitric oxide synthases. *Methods Mol Biol* 1998;100:1–32
- 76)** Sowa G, Pypaert M, Sessa WC. Distinction between signaling mechanisms in lipid rafts vs. caveolae. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:14072–14077.
- 77)** Drab M, Verkade P, Elger M, Kasper M, Lohn M, Lauterbach B, Menne J, Lindschau C, Mende F, Luft FC, Schedl A, Haller H, Kurzchalia TV. Loss of caveolae, vascular dysfunction, and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice. *Science* 2001;293:2449–2452
- 78)** Fleming I, Busse R. Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003;284: R1–R12
- 79)** Fleming I. Molecular mechanisms underlying the activation of eNOS. *Pflugers Arch* 2010; 459: 793–806.
- 80)** Ulrich Förstermann and Huige Li. Therapeutic effect of enhancing endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression and preventing eNOS uncoupling. *British Journal of Pharmacology* (2011) 164 213–223
- 81)** Shesely EG, Maeda N, Kim HS, Desai KM, Krege JH, Laubach VE, Sherman PA, Sessa WC, Smithies O. Elevated blood pressures in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:13176–13181.
- 82)** Rudic RD, Shesely EG, Maeda N, Smithies O, Segal SS, Sessa WC. Direct evidence for the importance of endothelium-derived nitric oxide in vascular remodeling. *J Clin Invest* 1998;101:731–736.

- 83)** Zeiher AM, Fisslthaler B, Schray-Utz B, Busse R. Nitric oxide modulates the expression of monocyte chemoattractant protein 1 in cultured human endothelial cells. *Circ Res* 1995;76:980–986
- 84)** Arndt H, Smith CW, Granger DN. Leukocyte-endothelial cell adhesion in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Hypertension* 1993;21:667–673
- 85)** Dimmeler S, Zeiher AM. Nitric oxide—an endothelial cell survival factor. *Cell Death Differ* 1999;6:964–968.
- 86)** Nunokawa Y, Tanaka S. Interferon-gamma inhibits proliferation of rat vascular smooth muscle cells by nitric oxide generation. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;188:409–415.
- 87)** Förstermann U. Oxidative stress in vascular disease: causes, defense mechanisms and potential therapies. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008;5:338–349
- 88)** Kunsch C, Medford RM. Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature. *Circ Res.* 1999; 85: (8): 753-766
- 89)** Patel RP, Levonen A, Crawford JH, Darley-Usmar VM. Mechanisms of the pro- and anti-oxidant actions of the nitric oxide in atherosclerosis. *Cardiovasc Res.* 2000; 47: (3): 465-474.
- 90)** Mueller CF, Laude K, McNally JS, Harrison DG. Redox mechanisms in blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, 25: 274–278.
- 91)** Patel RP, Levonen A, Crawford JH, Darley-Usmar VM. Mechanisms of the pro- and anti-oxidant actions of the nitric oxide in atherosclerosis. *Cardiovasc Res.* 2000; 47: (3): 465-474
- 92)** Drummond GR, Cai H, Davis ME, Ramasamy S, Harrison DG. Transcriptional and posttranscriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase expression by hydrogen peroxide. *Circ Res.* 2000; 86: (3): 347-354.
- 93)** 18. Musicki B, Liu T, Strong T, Jin L, Laughlin MH, Turk JR, Burnett AL. Low-fat diet and exercise preserve eNOS regulation and endothelial function in the penis of early atherosclerotic pigs: a molecular analysis. *J Sex Med.* 2008; 5:552–561.
- 94).** Musicki B, Liu T, Lagoda GA, Strong TD, Sezen SF, Johnson JM, Burnett AL  
*J Sex Med* 2010;7:3023–3032
- 95)** Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation.* 2004; 109: (23 Suppl 1): 27-32.
- 96)** Darley-Usmar VM, Hogg N, O’Leary VJ, Wilson MT, and Moncada S. The simultaneous generation of superoxide and nitric oxide can initiate lipid peroxidation in human low density lipoprotein. *Free Radic Res Commun* 17: 9–20, 1992
- 97)** Gregor Muller and Henning Morawietz. Nitric Oxide, NAD(P)H Oxidase, and atherosclerosis. *ANTIOXIDANTS & REDOX SIGNALING* Volume 11, Number 7, 2009



- 98)** Vergnani L, Hatric S, Ricci F, Passaro A, Manzoli N, Zuliani G, Brovkovich V, Fellin R, and Malinski T. Effect of native and oxidized low-density lipoprotein on endothelial nitric oxide and superoxide production: Key role of Larginine availability. *Circulation* 101: 1261–1266, 2000
- 99)** Matsunaga T, Nakajima T, Miyazaki T, Koyama I, Hokari S, Inoue I, Kawai S, Shimomura H, Katayama S, Hara A, and Komoda T. Glycated high-density lipoprotein regulates reactive oxygen species and reactive nitrogen species in endothelial cells. *Metabolism* 52: 42–49, 2003
- 100)** Mueller CF, Laude K, McNally JS, Harrison DG. Redox mechanisms in blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:274–278
- 101)** Thomas SR, Chen K, and Keaney JF Jr. Oxidative stress and endothelial nitric oxide bioactivity. *Antioxid Redox Signal* 5: 181–194, 2003.
- 102)** Leite PF, Liberman M, Sandoli de Brito F, and Laurindo FR. Redox processes underlying the vascular repair reaction. *World J Surg* 28: 331–336, 2004.
- 103)** Simari RD, San H, Rekhter M ve ark. Regulation of cellular proliferation and intimal formation following balloon injury in atherosclerotic rabbit arteries. *J Clin Invest* 1996; 98: 225–235
- 104)** Garcia-Cardena F, Fan R, Stern DF, Liu J ve ark. Endothelial nitric oxide synthase is regulated by tyrosine phosphorylation and interacts with caveolin-1. *J Biol Chem* 1996; 271: 27237–27240
- 105)** Ersin Bal et. al. Restraint Stress Impairs Erectile Responses In Rats. *Tohoku J. Exp. Med.*, 2009, 217, 239-242
- 106)** Rubanyi GM. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22: 1–14
- 107)** Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med* 1995; 333: 356–363.
- 108)** Haynes WG, Webb DJ. Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet* 1994; 344: 852–854
- 109)** Pigazzi A, Heydrick S, Folli F, Benoit S ve ark. Nitric oxide inhibits thrombin receptor-activating peptide-induced phosphoinositide 3-kinase activity in human platelets. *J Biol Chem* 1999; 274: 14368–14375
- 110)** Paul B, Masih I, Deopujari J, Charpentier C. Occurrence of resveratrol and pterostilbene in age-old darakchasava, an Ayurvedic medicine from India. *J. Ethnopharmacol.* 1999; 68: 71–76

- 111)** Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. Wine as a biological fluid: history, production and role in disease prevention. *J. Clin. Lab. Anal* 1997; 11: 287-313
- 112)** Orallo, F. Comparative studies on the antioxidant effects of Cis and trans-resveratrol. *Curr. Med. Chem* 2006. 13, 87–98.
- 113)** St Leger AS, Cochrane AL, Moore F. Factors associated with cardiac mortality in developed countries with particular reference to consumption of wine. *Lancet*; 1979; 1: 1017-1020
- 114)** Renoud S.C. Geuguen R, Schenker J. Alcohol and mortality in middle-aged men from eastern France. *Epidemiology* 1998; 9: 184-188
- 115)** Law M, Wald N. Why heart disease mortality is low in France: The time lag explanation. *Br. Med J* 1999;318: 1471-1476
- 116)** Renoud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992; 339:1523-1526
- 117)** Koop P. Resveratrol a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the “French paradox”. *Euro J Endo* 1998; 138:619-620
- 118)** Wu JM, Wang Z, Hsieh JC. Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic present in red wine. *Int J. Molecular Medicine*. 2001; 8:3-17
- 119)** Manna SK, Mukhopadhyay A, Aggarwal BB. Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF- $\kappa$ B, activator protein-1, and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. *J. Immunol*. 2000; 164: 6509–6519
- 120)** Pedras, M. S. C. and Ahiagonu, P. W. K. Metabolism and detoxification of phytoalexins and analogs by phytopathogenic fungi. *Phytochemistry* 2005 ; 66, 391–411
- 121)** Goh, S. S., Woodman, O. L., Pepe, S., Cao, A. H., Qin, C., and Ritchie, R. H. The red wine antioxidant resveratrol prevents cardiomyocyte injury following ischemia-reperfusion via multiple sites and mechanisms. *Antioxid. Redox Signal*.2007; 9, 101–113.
- 122)** Soylemez, S., Sepici, A., and Akar, F. Resveratrol supplementation gender independently improves endothelial reactivity and suppresses superoxide production in healthy rats. *Cardiovasc. Drugs Ther*. 2009; 23, 449–458.
- 123)** Pearson, K. J., Baur, J. A., Lewis, K. N., Peshkin, L., Price, N. L., Labinskyy, N., Swindell, W. R., Kamara, D., Minor, R. K., Perez, E., Jamison, H. A., Zhang, Y., Dunn, S. R., Sharma, K., Plesko, N., Woolett, L. A., Csiszar, A., Ikeno, Y., Couteur, D. L., Elliott, P. J., Becker, K. G., Navas, P., Ingram, D. K., Wolf, N. S., Ungvari, Z., Sinclair, D. A., and de

Cabo, R. Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. *Cell Metab.* 2008; 8, 157–168.

**124)** Orallo, F., Alvarez, E., Camina, M., Manuel, J., Gomez, L. E., and Fernandez, P. The possible implication of trans-resveratrol in the cardioprotective effects of long term moderate wine consumption. *Mol. Pharmacol.* 2002; 61, 294–300.

**125)** Hsieh, T.-C., Juan, G., Darzynkiewicz, Z., and Wu, J. M. Resveratrol increases nitric oxide synthase, induces accumulation of p53 and p21 WAF1/CIP1, and suppresses cultured bovine pulmonary artery endothelial cell proliferation by perturbing progression through S and G2. *Cancer Res.* 1999; 59, 2596–2601.

**126)** Mattagajasingh, I., Kim, C. S., Naqvi, A., Yamamori, T., Hoffman, T. A., Jung, S. B., DeRicco, J., Kasuno, K., and Irani, K. SIRT1 promotes endothelium-dependent relaxation by activating endothelial nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2007; 104, 14855–14860

**127)** Arunachalam, G., Yao, H. W., Sundar, I. K., Caito, S., and Rahman, I. SIRT1 regulates oxidant- and cigarette smoke-induced eNOS acetylation in endothelial cells: role of resveratrol. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010; 393, 66–72.

**128)** Csiszar, A., Labinskyy, N., Pinto, J. T., Ballabh, P., Zhang, H., Losonczy, G., Pearson, K. J., De Cabo, R., Pacher, P., Zhang, C., and Ungvari, Z. Resveratrol induces mitochondrial biogenesis in endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 2009; 297, H13–H20.

**129)** Suwan Yap, Chengxue Qin, and Owen L. Woodman. Effects of resveratrol and flavonols on cardiovascular function: Physiological mechanisms. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology, Inc.* Volume 36, Number 5, September/October 2010, Pages 350–359

**130)** Frankel, E. N. and Kanner, J. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet* 1993; 341, 454–457.

**131)** Babior, B. M. NADPH oxidase: an update. *Blood* 1999; 93, 1464–1467.

**132)** Cai, H., Griendling, K. K., and Harrison, D. G. The vascular NAD(P)H oxidases as therapeutic targets in cardiovascular disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 2003; 24, 471–478.

**133)** Sun, A. Y., Chen, Y.-M., James-Kracke, M., Wixom, P., and Cheng, Y. Ethanol-induced cell death by lipid peroxidation in PC12 cells. *Neurochem. Res.* 1997; 22, 1187–1192.

**134)** Kaga, S., Zhan, L., Matsumoto, M., and Maulik, N. Resveratrol enhances neovascularization in the infarcted rat myocardium through the induction of thioredoxin-1, heme oxygenase-1 and vascular endothelium growth factor. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2005; 39, 813–822.

- 135)** Spanier, G., Xu, H., Xia, N., Tobias, S., Deng, S., Wojnowski, L., Forstermann, U., and Li, H. Resveratrol reduces endothelial oxidative stress by modulating the gene expression of superoxide dismutase 1 (SOD1), glutathione peroxidase 1 (GPx1) and NADPH oxidase subunit (NOX 4). *J. Physiol. Pharmacol.* 2009; 60, Supp 4, 111–116.
- 136)** Zhang, H., Zhang, J., Ungvari, Z., and Zhang, C. Resveratrol improves endothelial function. Role of TNF $\alpha$  and vascular oxidative stress. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2009; 29, 1164–1171.
- 137)** Zalba G., Beaumont J., San Jose G., Fortuno A., Fortuno M.A., Diez J., Vascular oxidant stress: molecular mechanisms and pathophysiological implications, *J Physiol Biochem*, 2000; 56, 57–64,
- 138)** Beckman J.S., Koppenol W.H., Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly, *Am J Physiol*, 1996; 271, 1424–1437.
- 139)** Jin L., Burnett A.L., NADPH Oxidase: recent evidence for its role in erectile dysfunction, *Asian J Androl*, 2008; 10, 6-13.
- 140)** Kim S.C., Kim I.K., Seo K.K., Baek K.J., Lee M.Y., Involvement of superoxide radical in the impaired endothelium dependent relaxation of cavernous smooth muscle in hypercholesterolemic rabbits, *Urol Res*, 1997; 25, 5, 341-6.
- 141)** Azadzo K.M., Schulman R.N., Aviram M., Siroky M.B., Oxidative stress in arteriogenic erectile dysfunction: Prophylactic role of antioxidants, *J Urol*, 2005; 174, 386-393.
- 142)** Moreland RS, Lichtenstein AH, Chobanian AV. Effects of hypertension on hypercholesterolemia-induced changes in contraction of rabbit aorta and carotid artery. *Eur J Pharmacol.* 1996; 20;307(1):55-64.
- 143)** Rikitake Y, Kawashima S, Takeshita S, Yamashita T et al. Anti-oxidative properties of fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, contribute to prevention of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis.* 2001; 154(1):87-96.
- 144)** Rossane Serafim Matos, Liz Andréa Villela Baroncini, Leonardo Brandão Précoma, Guilherme Winter, Pedro Henrique Lambach Caron, Flávia Kaiber, Dalton Bertolim Précoma. Resveratrol Causes Antiatherogenic Effects in an Animal Model of Atherosclerosis. *Arq Bras Cardiol* 2012;98(2):136-142

- 145)** Kojda G, Stein D, Kottenberg E, Schnaith EM, Noack E. In vivo effects of pentaerythrityl-tetranitrate and isosorbide-5-mononitrate on the development of atherosclerosis and endothelial dysfunction in cholesterol-fed rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1995; 25(5):763-73.
- 146)** Santilli SM, Kronson J, Payne WD. The effect of hypercholesterolemia on the rabbit transarterial wall oxygen gradient. *Ann Vasc Surg.* 1998; 12(5):418-23.
- 147)** Yang BC, Phillips MI, Mohuczy D, Meng H et al. Increased angiotensin II type 1 receptor expression in hypercholesterolemic atherosclerosis in rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998; 18(9):1433-9.
- 148)** Catherine M. Lenich, Aram V. Chobanian et al. Effect of dietary cholesterol and alloxan-diabetes on tissue cholesterol and apolipoprotein E mRNA levels in the rabbit . *Journal of Lipid Research* 1991 Mar;32(3):431-8.
- 149)** Miura D, Miura Y, Yagasaki K. Hypolipidemic action of dietary resveratrol, a phytoalexin in grapes and red wine, in hepatoma-bearing rats. *Life Sci.* 2003; 73(11):1393-400.
- 150)** Rimando AM, Nagmani R, Feller DR, Yokoyama W. Pterostilbene, a new agonist for the peroxisome proliferator-activated receptor alpha-isoform, lowers plasma lipoproteins and cholesterol in hypercholesterolemic hamsters. *J Agric Food Chem.* 2005; 4;53(9):3403-7.
- 151)** Penumathsa SV, Thirunavukkarasu M, Koneru S, Juhasz B et al. Statin and resveratrol in combination induces cardioprotection against myocardial infarction in hypercholesterolemic rat. *J Mol Cell Cardiol.* 2007; 42(3):508-516.
- 152)** Wang Z, Zou J, Cao K, Hsieh TC et al. Dealcoholized red wine containing known amounts of resveratrol suppresses atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits without affecting plasma lipid levels. *Int J Mol Med.* 2005; 16(4):533-40.
- 153)** Seo KK, Yun HY, Kim H, Kim SC. Involvement of endothelial nitric oxide synthase in the impaired endothelium-dependent relaxation of cavernous smooth muscle in hypercholesterolemic rabbit. *J Androl.* 1999 Mar-Apr;20(2):298-306.
- 154)** Kim SC, Kim IK, Lee MY, Uhm DY. Relaxation responses of cavernous smooth muscles to vasodilators in impotent patients with hypercholesterolemia or hypertriglyceridemia. *Kor J Androl* 1995;13: 95-101
- 155)** Q. Zhang, Z. M. Radisavljevic, M. B. Siroky and K. M. Azadzo. Dietary antioxidants improve arteriogenic erectile dysfunction. *Int J Androl.* 2011 Jun;34(3):225-35.
- 156)** Jae young et al. Penile erectile responses to electric stimulation are enhanced by a new phosphodiesterase type-5 inhibitor. *International Journal of Urology.* 2005 12 , 299-304

- 157)** Kim JH, Klyachkin ML, Svendsen E, Davies MG, Hagen PO, Carson CC 3rd: Experimental hypercholesterolemia in rabbits induces cavernosal atherosclerosis with endothelial and smooth muscle cell dysfunction. *J Urol* 1994; 151: 198-205.
- 158)** Esposito K, Giugliano F, Di Palo C, et al. Effect of lifestyle changes on erectile dysfunction in obese men: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004 Jun;291(24):2978-84.
- 159)** Sanda MG, Dunn RL, Michalski J, et al. Quality of life and satisfaction with outcome among prostatecancer survivors. *N Engl J Med* 2008 Mar;358(12):1250-61.
- 160)** Kim SC. Hyperlipidemia and erectile dysfunction. *Asian J Androl* 2000 Sep; 2: 161-166
- 161)** Ahn, T. Y., Gomez-Coronado, D., Martinez, V., Cuevas, P., Goldstein, I., Saenz de Tejada, I. (1999) Enhanced contractility of rabbit corpus cavernosum smooth muscle by oxidized low density lipoproteins. *International Journal of Impotence Research*, 11, 9 14.
- 162)** Kim SC, Seo KK, Kim HW, Lee MY. The effects of isolated lipoproteins and triglyceride, combined oxidized low density lipoprotein (LDL) plus triglyceride, and combined oxidized LDL plus high density lipoprotein on the contractile and relaxation response of rabbit cavernous smooth muscle. *Int J Androl*. 2000;23 Suppl 2:26-9.
- 163)** Aggarwal NT, Pfister SL, Campbell WB. Hypercholesterolemia enhances 15-lipoxygenase-mediated vasorelaxation and acetylcholine-induced hypotension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008 Dec;28(12):2209-15.
- 164)** Susana Jerez, Liliana Sierra, Alfredo Coviello, Maria Peral de Bruno, Susana Jerez, Liliana Sierra, Alfredo Coviello, Maria Peral de Bruno. Endothelial dysfunction and improvement of the angiotensin II-reactivity in hypercholesterolemic rabbits: Role of cyclooxygenase metabolites. *European Journal of Pharmacology* 580 (2008) 182 –189
- 165)** Suresh Varma Penumathsa, Srikanth Koneru, Samson Mathews Samuel, Gautam Maulik, Debasis Bagchi, Shaw-Fang Yet, Venogopal P. Menon and Nilanjana Maulik. Strategic Targets To induce neovascularization By Resveratrol In Hypercholesterolemic Rat Myocardium: Role of Caveolin-1, eNOS, HO-1 and VEGF. *Free Radic Biol Med*. 2008 October 1; 45(7): 1027–1034.