

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

**HİPERLİPİDEMİK ORTAMDA PPAR
AGONİSTİ ROSİGLİTAZONUN KAVERNÖZ
DOKU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

DR. İSMAİL ÖZDEMİR

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2008

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

**HİPERLİPİDEMİK ORTAMDA PPAR
AGONİSTİ ROSİGLİTAZONUN KAVERNÖZ
DOKU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. İSMAİL ÖZDEMİR

TEZ SORUMLUSU: Doç. Dr. AYKUT KEFİ

Bu araştırma DEÜ Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projesi Destekleme Dairesi tarafından 2005.KB.SAG.061 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

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

Tezimin hazırlanmasında her aşamada büyük desteklerini gördüğüm, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım hocalarım Prof. Dr. Adil Esen, Doç. Dr. Aykut Kefi, Yard. Doç. Dr. Nergis Murat, Öğr. Gör. Uzm Dr. Ömer Demir ve Uzm Dr. Bora İrer'e ayrıca teşekkür ederim.

Tıpta Uzmanlık süresi boyunca yaptığım işten büyük keyif almamı sağlayan ve eğitimim boyunca uyum içinde çalıştığım ağabeylerim; Uzm Dr. Bora İrer, Uzm Dr. Hikmet Köseoğlu ve Uzm Dr. Sertaç Çimen'e, asistan arkadaşlarım Dr. Ahmet Cihan, Dr. Asif Cahangirov, Dr. Ozan Bozkurt, Dr. Hatice Sıçramaz, Dr. Bilgin Öztürk, Dr. Elnur Mammadov, Dr. Önder Çınar ve Dr. Onur Kizer'e, tüm servis ve ameliyathane hemşireleri ve personel arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Benim bugünlere gelmemi sağlayan babam, annem ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Maddi ve manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim eşime ve kızıma teşekkür ediyorum.

Dr.İsmail Özdemir

İÇİNDEKİLER

1. Tablo, Resim ve Şekil listesi	v
2. Kısaltmalar	vi
3. Özet	1
4. Özet (İngilizce)	2
5. Giriş ve Amaç.....	3
6. Genel Bilgiler	4
7. Gereç ve Yöntemler	33
8. Bulgular.....	43
9. Tartışma	47
10. Sonuç ve Öneriler	51
11. Kaynaklar	52

TABLO, RESİM ve ŞEKİLLER

Tablo 1- Penisi oluşturan yapıların fonksiyonu

Tablo 2- ED patofizyolojisinde rol oynayan faktörler

Tablo 3- Psikojenik ED tipleri

Tablo 4- ED'li hastalarda tedavi yaklaşımı

Tablo 5- Endotelyopatiler

Tablo 6- Örneklerin RNA konsantrasyonları

Tablo 7- 4 µg RNA için gereken hacim miktarları

Tablo 8- Plazma kolesterol düzeyleri.

Tablo 9- Deney hayvanlarının deney başlangıcı ve sonundaki ağırlıkları

Tablo 10- Tavşan GAPDH, ABCA-1 ve caveolin-1 primer mRNA dizaynları

Tablo 11- LabWorks programında hesaplanan ABCA-1 ve caveolin-1'in dansitometrik değerleri

Şekil 1- Penisi oluşturan anatomik yapılar

Şekil 2- Penisin arteriyel yapısı

Şekil 3- Penisin nöral inervasyonu ve vasküler yapısı

Şekil 4- Cinsel uyarı sonrası kavernozaal yapıda görülen genişleme

Şekil 5- L-arjinin / nitrik oksit / guanilat siklaz / cGMP yolağı

Şekil 6- Endotel hücresinde ters kolesterol transportu

Şekil 7- Çalışmaya alınana kadar deney hayvanlarına uygulanan protokol

Şekil 8- GAPDH mRNA ekspresyonları

Şekil 9- Gruplardaki caveolin-1 mRNA ekspresyonlarının Stratagene Egle Eye® görüntüleme sistemi kullanılarak alınan agaroz jel görüntüleri

Şekil10- Kontrol ve tedavi grupları ile hiperkolesterolemi grubu arasındaki caveolin-1 mRNA ekspresyonu farkı

Şekil11- Gruplardaki ABCA-1 mRNA ekspresyonlarının Stratagene Egle Eye® görüntüleme sistemi kullanılarak alınan agaroz jel görüntüleri

Şekil12- Kontrol ve tedavi grupları ile hiperkolesterolemi grubu arasındaki ABCA-1 mRNA ekspresyonu farkı

Resim 1: Tavşanların barınma koşulları

Resim 2: Agaroz jele yüklenmiş PCR örneklerinin EC100-90 elektroforez cihazında yürütülmesi

KISALTMALAR

ABCA-1: ATP Binding Cassette Transporter A-1

ADE: Anjiotensin dönüştürücü enzim

ADMA: Asimetrik dimetilarjinin

ART: Androjen replasman tedavisi

ATP: Adenozin trifosfat

cAMP: Siklik adenozin monofosfat

cGMP: Siklik guanizin monofosfat

CGRP: Calsitonin Gen Related Peptid

COX: Siklooksijenaz

DEPC: Diethyl pyrocarbonate

ED: Erektile disfonksiyonun

EDHF: Endotel bağımlı hiperpolarizan endotel faktör

EDRF: Endotel kaynaklı gevşetici faktör

ELAM: Endotelyal Lökosit Adezyon Molekülü

eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentaz

ET-1: Endotelin-1

HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein

ICAM-1: İntersellüler adezyon molekülü-1

ICP: Kavernoza yapılarıdaki basınç

iNOS: İndüklenebilir NOS

KK: Kopus kavernoza

LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein

LOX: Lipoksijenaz

MAP: Sistemik kan basıncı

MCP-1: Monosit Kemotaktik Protein -1

MMAS: Massachusetts Erkek Yaşlanma Çalışması

MMP: Metalloproteinaz

MPOA: Medial preoptik alan

MAPK: Mitojen aktive protein kinaz

NA: Noradrenalin

NANC: Nonadrenerjik-nonkolinerjik

NFκB: Nükleer faktör-kappa B

NMMA: N-mono-metil-L-arjinin

nNOS: Nöronal NOS
NO: Nitrik oksit
NOS: Nitrik oksit sentaz
Ox-LDL: Okside-LDL
PAF-1: Trombosit Aktive Edici Faktör-1
PBS: Phosphate buffer saline
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
PDEs: Fosfodiesterazlar
PGE: Prostaglandin E1
PKG: Protein kinaz G
PPAR : Peroxisome-proliferator activated receptor
ROS: Reaktif oksijen türleri
sGC: Soluble guanilat siklaz
tPA: Doku plazminojen aktivatörü
VCAM-1: Vasküler hücre adezyon molekülü-1
VDKH: Vasküler düz kas hücresi
VIP: Vazointestinal polipeptid

Hiperlipidemik ortamda PPAR agonisti rosiglitazonun kavernöz doku üzerindeki etkileri

Dr. İsmail Özdemir

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji AD, İnciraltı, İzmir

AMAÇ

KVH'ın ve ED'nin kontrol altına alınabilir risk faktörlerinin başında hiperlipidemi gelmektedir. TKT hiperlipidemik ortamda hücre içi artmış kolesterolün hücre dışına taşınmasında ve endotel fonksiyonunun devamlılığının sağlanmasında önemli bir yoldur. Çalışmamızda hiperlipidemik ortamda oral rosiglitazonun KK dokusunda etkisi araştırılmıştır.

YÖNTEM

Çalışmada 21 adet Yeni Zeland türü erkek tavşanlar kullanıldı. Her grupta 7 tavşan olmak üzere kontrol, hiperkolesterolemi ve tedavi grupları oluşturuldu. Altı hafta süreyle kontrol grubu normal yem, hiperkolesterolemi ve tedavi grupları %2'lik kolesterol diyeti ile beslendi. Tedavi grubuna ayrıca rosiglitazon 3mg/kg/gün verildi. Bu süre sonunda plazma kolesterol düzeyleri değerlendirildi. KK dokusundan elde edilen RNA'lardan PCR yöntemiyle ABCA-1 ve Caveolin-1'in mRNA ekspresyonlarına bakıldı.

BULGULAR

Hiperkolesterolemi ve tedavi gruplarında plazma total kolesterol ve ve LDL düzeyleri, kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksekti ($p<0,001$). Tedavi grubunda 6 haftalık tedavi sonrası plazma HDL konsantrasyonu, hiperkolesterolemi ve kontrol gruplarına göre artış gösterdi ($p<0,05$). Bu grupta LDL seviyesi, hiperkolesterolemi grubuna göre düşük saptandı ($p<0,001$). Caveolin-1 mRNA ekspresyonunun hiperkolesterolemi grubunda kontrol grubuna göre azaldığı tedavi grubunda ise anlamlı derecede arttığı gösterildi ($p<0,001$). ABCA-1 mRNA ekspresyonunun ise hiperkolesterolemi grubunda kontrol grubuna göre arttığı ve tedavi sonrası azaldığı görüldü ($p=0,07$).

SONUÇ

Rosiglitazon TKT'ünü arttırarak plazma lipid profilini olumlu yönde etkilemektedir. KK dokusunda ABCA-1 ilk defa bu çalışma ile gösterilmiştir. Caveolin-1 ise KK dokusunda ilk defa moleküler düzeyde gösterilmiştir. TKT'unda önemli rol oynayan ABCA-1 ve caveolin-1'in KK dokusundaki etkisini ortaya koymak için protein ekspresyonlarına bakılması gereklidir. Ayrıca bu moleküllerin eNOS enzimiyle olan ilişkisinin ortaya konması için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Hiperkolesterolemi, rosiglitazon, korus kavernozum, ABCA-1, caveolin-1

The impact of rosiglitazone, a PPAR agonist, on the cavernous tissue in a hyperlipidemic environment

Dr. İsmail Özdemir

Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Urology Department, Inciraltı, Izmir

OBJECTIVE

Hyperlipidemia is one of the leading controllable risk factors of cardiovascular disease and erectile dysfunction. The reverse cholesterol transport (RCT) plays an important role in carrying increased cellular cholesterol out of the cell in hyperlipidemic environment and maintaining the function of the endothelium. In our study, we investigated the impact of oral rosiglitazone on CC tissue in a hyperlipidemic environment.

METHOD

21 New Zealand male rabbits were divided into control, hypercholesterolemia and treatment groups with 7 rabbits each. For 6 weeks the control group was fed regular feed, while hypercholesterolemia and treatment groups were given a diet of 2% cholesterol. The treatment group was also administered 3mg/kg/day rosiglitazone. At the end of the 6 weeks, plasma cholesterol levels were measured. PCR method was used to check mRNA expressions of ABCA-1 and Caveolin-1 in RNAs obtained from the CC tissue.

FINDINGS

The total cholesterol and LDL levels of the hypercholesterolemia and treatment groups were significantly higher than the control group ($p<0,001$). At the end of the 6 weeks, the plasma HDL concentration of the treatment group was higher than the hypercholesterolemia and control groups ($p<0.05$). The LDL level of the treatment group was lower than the hypercholesterolemia group ($p<0.001$). Caveolin-1 mRNA expression decreased in the hypercholesterolemia group compared with the control group, while it elevated significantly in the treatment group. ABCA-1 mRNA expression elevated in the hypercholesterolemia group compared with the control group, while it decreased in the treatment group ($p=0.07$).

CONCLUSION

By increasing the RCT, rosiglitazone exerts a positive impact on the plasma lipid profile. This study has been the first study to show ABCA-1 in the CC tissue. Caveolin-1 has also been shown for the first time at molecular level in the CC tissue. Protein expressions must be checked to see how CC tissue is affected by ABCA-1 and caveolin-1 that play important roles in the RCT. Further studies are also needed on their relationships with eNOS enzyme.

Keywords: hypercholesterolemia, rosiglitazone, corpus cavernosum, ABCA-1, caveolin-1

GİRİŞ VE AMAÇ

Hiperlipidemi, kardiyovasküler sistem hastalıklarının önemli nedenlerinden biridir (1). Hiperlipidemik ortam, damar endoteli tarafından salgılanan nitrik oksit (NO)'in serbest oksijen radikalleri tarafından yıkımını arttırarak ve üretimini azaltarak, aort ve korpus kavernozum (KK) gibi endotel tabakasıyla döşenmiş vasküler yapılarda endotel disfonksiyonu ve ardından ateroskleroz gelişimine neden olur (2,3). Hiperlipidemi kaynaklı endotel disfonksiyonunun ve aterosklerozun önlenmesi amacıyla günümüzde yaygın olarak statinler kullanılmaktadır (4). Statinlerin LDL (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein) düzeyini düşürme yoluyla indirekt olarak (lipid etki) ve bunun yanında pleotropik etkileriyle direkt olarak (non-lipid etki) NO miktarını arttırdıkları ve böylelikle endotel disfonksiyonunu düzelttikleri bilinmektedir (4). Statinlerin endotel disfonksiyonunu düzeltici non-lipid etkileri, hiperlipidemik ortamda, LDL kolesterol düzeyinden bağımsız olarak endotel disfonksiyonunu düzeltebilecek ajanlara ilgi duyulmasını sağlamıştır. Oral antidiyabetik olarak kullanılan PPAR (Peroxisome-proliferator activated receptor) agonistleri bu ajanlar arasında yer alır (5). PPAR agonistlerinin ters kolesterol transportunda (TKT) rol alan ABCA1 (ATP Binding Cassette Transporter A1), caveolin-1 proteinleri ve HDL (Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein) ile etkileşimleri incelenmiş; PPAR aktivasyonunun ABCA-1 proteinini indüklediği ve HDL düzeyini arttırdığı gösterilmiştir (6,7,8). TKT'nu konu alan çalışmalar, caveolin-1 proteininin hücre içindeki fazla kolesterolü hücre membranındaki 'caveola' yapısına taşıdığını, hücre membranındaki ABCA1 proteininin ise 'caveola'ya gelen kolesterolün HDL'e taşınmasını sağladığını göstermiştir (9). PPAR agonistlerinin etkilerini ortaya koyan çalışmalarda, bu ajanların endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) ekspresyon düzeyini değiştirmeksizin NO aktivitesini arttırdıkları ve böylece endotel disfonksiyonunu düzelttikleri saptanmış, ancak bu çalışmalarda çeşitli damar yatakları (aort, renal arter) üzerinde çalışılmış olmasına karşın, penil KK dokusu üzerinde çalışılmamıştır (5,10). Çalışmamızda bir PPAR agonisti olan rosiglitazonun hiperlipidemik ortamda penil KK dokusunda TKT'unu indükleyeceği ve böylelikle KK endotel disfonksiyonunu düzeltereği öngörülmektedir. Vasküler risk faktörü varlığında erkeklerde erektil disfonksiyonun (ED), endotel disfonksiyonunun göstergesi olduğu bilindiğinden rosiglitazonun hiperlipidemik KK endotel disfonksiyonunu düzeltmesi, hiperlipidemi nedeniyle gelişen ED'unun nedene yönelik tedavisine LDL düzeyini düşürmekten farklı bir yaklaşım getirebilir.

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 biçimde tanımlanır (11,12). 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 diyabet, ateroskleroz ve yaşlanma ile oluşan değişikliklerin patofizyolojisi de belirlenmiştir.

Eretil disfonksiyon prevalansı:

Eretil disfonksiyon insidansı yaşlabirlikte artmaktadır. ED prevalansına ilişkin en kapsamlı ve güvenilir verileri Feldman ve arkadaşları tarafından 1987 ile 1989 yılları arasında yapılan Massachusetts Erkek Yaşlanma Çalışması (MMAS) sağlamıştır (13). 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 (13). Bu grubun 1995 ile 1997 tarihlerinde yaptığı araştırma sonuçları 1987 ile 1989'da yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında komplet erekil 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 (14).

Penisin fonksiyonel anatomisi:

Penis, gevşek bir cilt ve ciltaltı dokusu ile sarılı bir çift KK ile uretrayı içeren bir adet korpus spongiozumdan oluşan erekil bir organdır. Penis boyutu ereksiyon ve flask durumuna göre değişmektedir. Bir çalışmada penis flask durumda pubopenil bileşkedeki eksternal

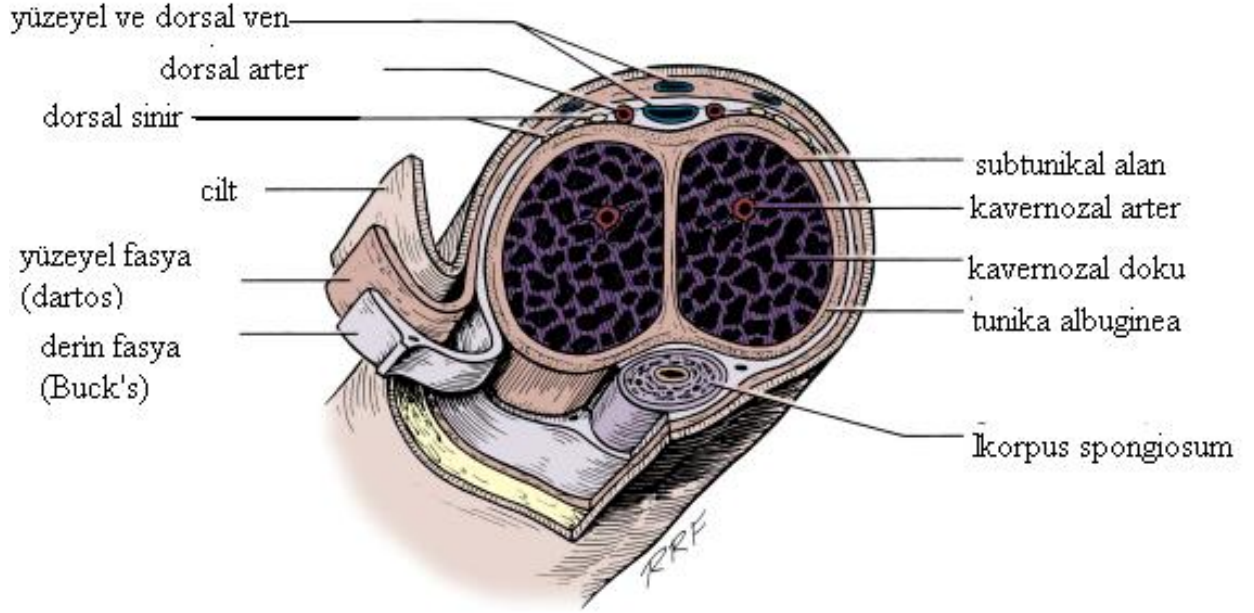
meaya kadar 8,8 cm, gerilmiş olarak 12,4 cm, ereksiyonda 12,9 cm ölçülmüştür (15). Penisini oluşturan yapıların fonksiyonu Tablo 1’de gösterilmiştir.

Korpus kavernozumlar	Korpus spongiozum ve glansı destekler.
Tunika albuginea	Eretil 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

Kavernöz cisimler: Sinüslerin oluşturduğu vasküler bir yapıdır. Derin penil kavernozaal arter ve devamı olan rezistans heliksin arterlerden kan temin ederler. Trabeküller, emisser venülleri kavernozaal vene bağlayan subtunikaal venler 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, iskion-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).

Korpus spongiozum ve glans penis: Korpus spongiozum iki kavernöz cismi birlikte çevreleyen Buck fasyası ile kavernöz cisimlerden ayrılan bir yapıdır (Şekil 1). Korpus spongiozumun distale doğru uzantısı glans penisini oluşturur ve KK’ların distal uçlarını şapka gibi kapatır. Korpus spongiozumun içinden üretra geçer. Korpus spongiozumun proksimal tarafı daha kalın olup urogenital diyafragmaya bağlıdır, üretranın bulbus kısmını içerir ve kruslar arasında kalan bu bölüme penis bulbusu ismi de verilir (16).



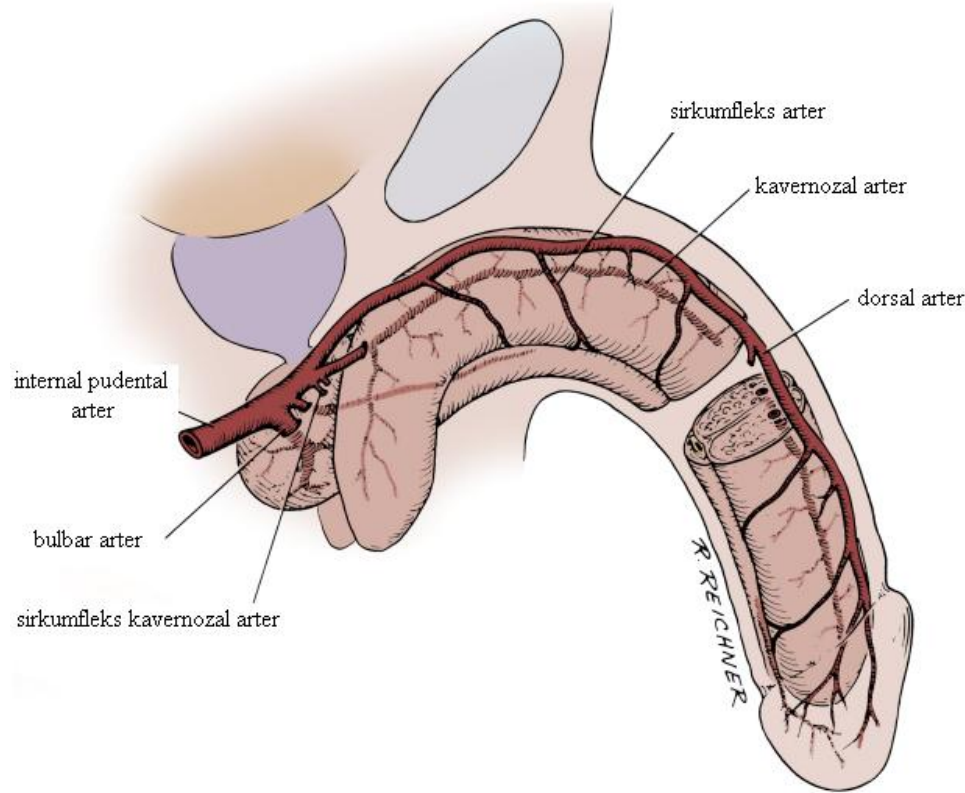
Şekil 1: Penisini oluşturan anatomik yapılar (From Devine CJ Jr, Angermeier KW: *Anatomy of the penis and male perineum. AUA Update Series 1994;13:10-23.*)

Tunika Albuginea: İçte sirküler ve dışta longitudinal olmak üzere kavernöz cisimleri saran çok tabakalı bir dokudur (17,18). 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 (18). 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. Kolajen tunikaya asıl sertliğini veren yapıdır. Elastin içeriği tunika albugineanın kompliyansını ve gergin haldeki penis uzunluğunun belirlenmesini sağlar (18). 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 kavernöz 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 (19).

Penisin vasküler yapısı:

Arteriyel Dolaşım: Penisin arteriyel kan akımı internal iliak arterden çıkan internal pudental arter ile sağlanır (20,22). Bununla birlikte eksternal iliak, obturator, vezikal ve femoral arterlerden aksesuar arterler gelebilir (21). İnternal pudental arter bulboüretal, dorsal ve kavernozaal arterlere ayrılır (Şekil 2). Bulboüretal arterler glansı ve üretrayı besler. Kavernozaal arterler iki kururanın birleştiği noktadan kavernöz cisme girerler. Kavernozaal arterler distalde trabekülleri besleyen helisin arterlere dönüşür. Dorsal penil arter ikiye dallanarak peniste saat 11 ve 1 pozisyonunda dorsal sinirler boyunca yayılır ve peniste yüzeysel yapıları ve kavernöz 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 (20,22).



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

Venöz drenaj: Üç korpusun venöz drenajı, hemen tunika albugineanın altındaki periferik sinüzoidlerden kaynaklanan ince venüllerden başlar. Bu venüller tunika ve periferik sinüzoidlerin arasındaki trabekülalar içinde seyreder ve emisser venler olarak çıkmadan önce

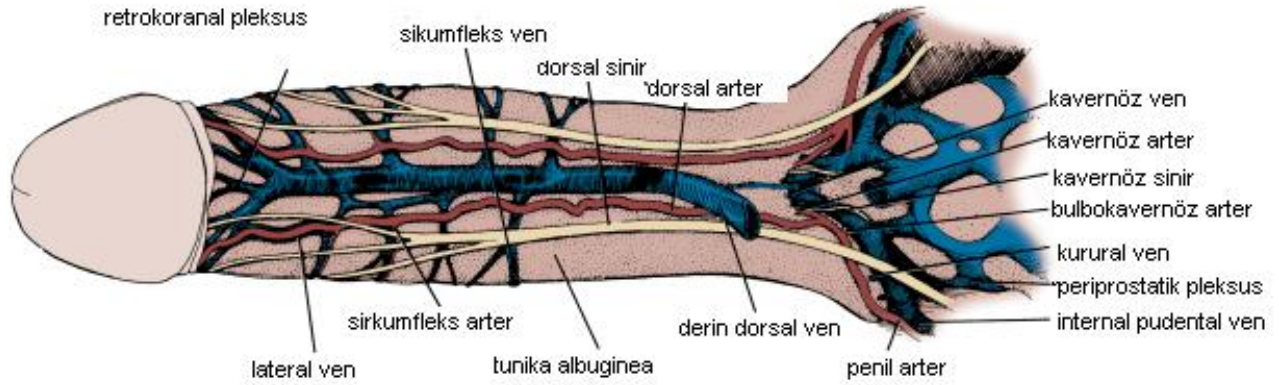
subtunikal venüler pleksusu yaparlar. Tunika albugineanın dışında venöz drenaj aşağıdaki gibidir.

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 periüretal 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 seyreder.
3. İnfrapubik penis: Proksimal KK'ları drene eden emisser venler kaverno ve krural venleri oluşturmak üzere birleşirler. Bu venler bulböz üretradan gelen periüretal venlerle birleşerek internal pudental venleri oluştururlar.

Üç sistemin venleri birbiriyle değişen oranda ilişkilidir. Venöz sistemlerin sayısı, dağılım ve sonlanmadaki değişkenliği sıktır (20,22).

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. Kavernöz sinirin çıkış noktası pelvik pleksustur. Prostat kapsülüne kadar pelvik faysa boyunca ilerler ve prostatın posterolateraline uzanır. Kavernöz sinir dalları membranöz üretranın distalinde süngersi cismin tunika albugineasını penetre eder. Diğer dallar, pudental arter ve kavernoal venler boyunca kavernöz cisimlerin kururasına girer. Geri kalan iki dal penisin distal kısımlarını uyararak üzere dorsal sinire doğru yayılır (Şekil 3). 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 sinirlerindeki 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

sipinal korda pudental sinirle iletilmiş olur. İkinci, 3. ve 4. sakral vertebradan çıkan penisin motor inervasyonu, bulbokavernöz ve iskiyokavernöz kaslara sakral ve pudental sinirlerle iletilir. İskiyokavernöz kas kontraksiyonu ile rijit ereksiyon safhasında kavernöz cismi baskılayarak sıkıştırır. Bulbokavernöz kas ise ritmik kontraksiyon ile ejakülasyon esnasında semen atımını sağlar (20,22).



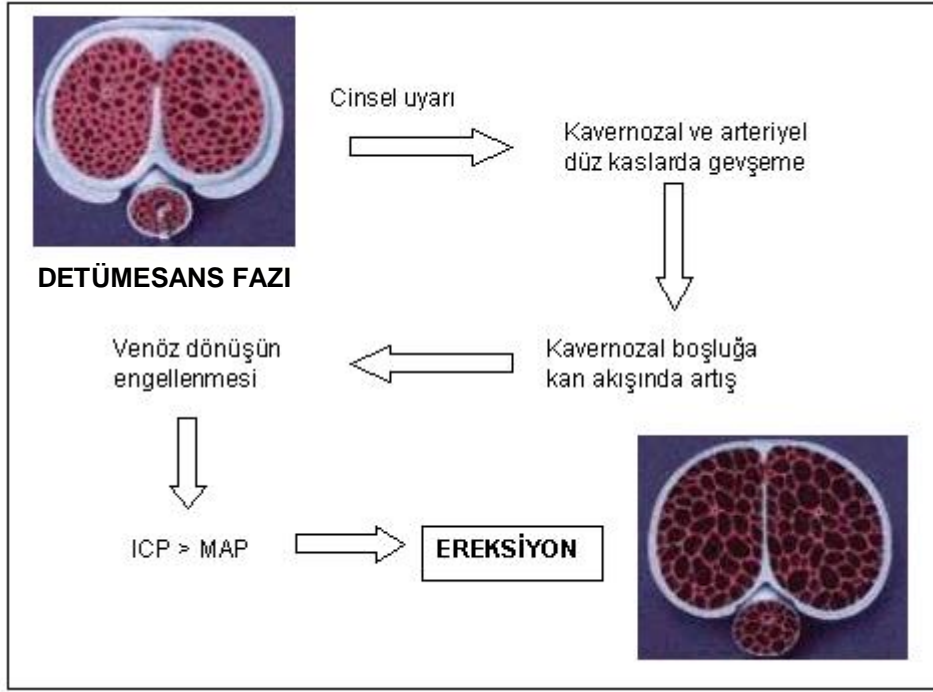
Şekil 3: Penisin nöral inervasyonu ve vasküler yapısı (From Hinman F Jr: Atlas of Urosurgical Anatomy. Philadelphia, WB Saunders, 1993, p 445.)

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 (23). 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 (24-25). Penil ereksiyon, KK ve korpus spongiosum düz kas liflerinde gevşeme ve penil arteriel dilatasyon sonrası penise kan dolması sonucu oluşur (11). Ereksiyonu başlatan uyarın geldiğinde sinüzoidal düz kaslar gevşer, sinüzoidlerin kompliance 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 (26,27),

II. Kanla dolan sinüzoidlerle tunica albuginea arasında yer alan emisser venlerin basıyla kapanıp sinüzoidler içindeki göllenmenin artması (Şekil 4).



Şekil 4: Cinsel uyarı sonrası kavernozal yapıda görülen genişleme.
ICP: Kavernozal 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 (28). Detümesans ve penisin istirahat hali büyük oranda, sempatik sinir terminallerinden salınan NA'in, korporal düz kaslardaki postsinaptik yerleşimli alfa reseptörleri aktive etmesi sonucu oluşur (29). Noradrenalin ile artan düz kas tonusu penise olan kan akımının düşük düzeyde kalmasına yol açar (29). Sempatik deşarj ile düz kaslar tonik olarak kontrakte halde kalırlar ve yalnızca nütrisyonel amaçlı arteriyel kan akımına izin verilir

2. Latent faz: Seksüel uyarı ile kavernöz sinir uçlarından nörotransmitter salınımı olur. Uyarıların penisi besleyen arter ve kavernozal düz kaslardaki reseptörlere ulaşması, ereksiyon mekanizmasını tetikler (30). Hem diastolik hem de sistolik fazda arter ve arteriyollerin dilatasyonu ile kavernöz 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 intrakavernozal basınç artmaya devam eder. Penis hızla genişler ve tam kapasiteye ulaşana kadar uzamaya devam eder (31).

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

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

6. Detūmesans fazı:

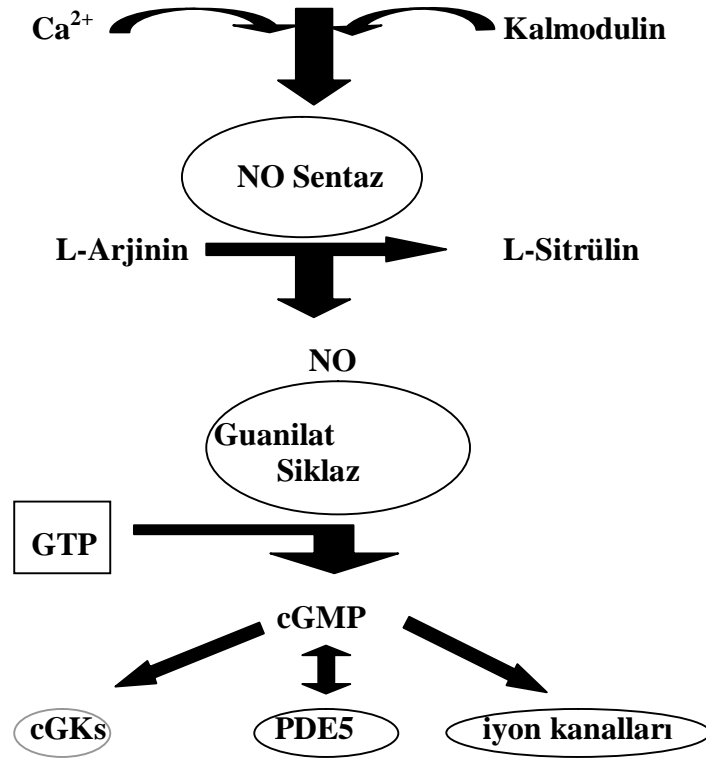
a. İnisial detūmesans: Ejakülasyon veya stimülasyonun bitmesinden sonra istirahat fazındaki gibi kavernoza cisim içinde tekrar sempatik sinirlerden salınan NA'in hakimiyeti başlar. Sempatik sistemde artan aktivite, helisin arter tonusunun artmasına ve trabeküler düz kaslarda kasılmaya yol açar

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

c. Hızlı detūmesans: İntrakavernozal basınç hızla düşer ve veno-oklusiv mekanizma inaktif hale gelir. Arteriyel akımın da uyarı öncesi haline dönmesiyle penis flak hale yeniden döner.

Penil ereksiyon oluşumunda, temel olarak santral ve periferik sistemler tarafından düzenlenen, birçok santral ve periferik nörotransmitter ve biyokimyasal sinyaller yer alır (20-32). Ereksiyonu başlatan ve devamında rol oynayan nörotransmitterler arasında NO, dopamin, asetilkolin, vazointestinal polipeptid (VIP), prostaglandin E₁ ve Calsitonin Gen Related Peptid (CGRP) proteini bulunur (33). Penisin detūmesans 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 (34).

Penil ereksiyon için gerekli olan kavernoza düz kas gevşemesinde NO/siklik guanizin monofosfat (cGMP), VIP/siklik adenzin monofosfat (cAMP) gibi pek çok yolak rol oynar (35,36). Lokal olarak endotelial hücreler ve kavernoza damarların nonadrenerjik-nonkolinerjik (NANC) uyarılması ile oluşan NO'nun KK gevşemesinde ve penil ereksiyonda ana mediyatör olduğu kabul edilmektedir (35,37). NO'nun sentezi ve soluble guanilat siklaza bağlanması erektil süreç için gereklidir. Bu yolakta farmakolojik aracılık eden pek çok basamak vardır (Şekil 5).



Şekil 5: L-arjinin / nitrik oksit / guanilat siklaz / cGMP

Nitrik oksid, L-arjindən NO sentaz (NOS) aracılığıyla sentezlenir. Korpus kavernozumda endotel ve sinir inervasyon noktaları NO'nun esas olarak salgılandığı yerlerdir. NO sentezinden sorumlu olan NOS'un birden fazla izoformu vardır; endotelyal NOS (eNOS), nöronal NOS (nNOS), indüklenebilir NOS (iNOS) (38). Nöronal NOS; NANC sinir uçları, dorsal penil sinir dalları ve derin dorsal arter adventisyasındaki sinir pleksuslarından, eNOS ise kavernoza endotelden ve intrakavernoza helisin arterlerden salgılanır (38,39). İndüklenebilir NOS ise inflamatuvar mediyatörlerin ve bakteriyel ürünlerin indüksiyonunu takiben farklı hücrelerden izole edilebilir ancak iNOS peniste ekspres olmaz (40).

Seksüel uyarı sonrası NANC sinirlerin uyarılması NOS salınımına neden olur. Salınan NO arteriyel ve kavernoza düz kas yapısına diffüze olur (38,41,42). 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^{2+} kanal aktivitesini ve hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunu azaltır. Azalan (Ca^{2+}), Ca^{2+} bağımlı K^+ kanallarını açılmasını sağlayarak düz kas hücresinde hiperpolarizasyona neden olur (43). Protein kinaz G aynı zamanda diğer proteinleri fosforilleyerek Ca^{2+} konsantrasyonunu etkiler veya miyozin hafif

zincirin (MLC) fosforilasyon durumunu değiştirir. Hepsi birden NO bağımlı KK döz kas gevşemesine neden olur (şekil 5) (43,44).

Eretil disfonksiyonun patofizyolojisi:

Normal erektil fonksiyon, birçok dözlenleyici sistemin varlığı ve koordinasyonunu, ayrıca fizyolojik, hormonal, nörolojik, vasküler ve kavernoza 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) (45).

Vaskülojenik
- Kardiyovasküler hastalıklar
- Hipertansiyon
- Diabetes mellitus
- Hiperlipidemi
- Sigara
-Major cerrahi veya radyoterapi (pelvik veya retroperitonyum)
Nörojenik
- <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
Anatomik
- Peyronie hastalığı
- Penil kurvatur
- Mikropenis
- Hipospadyas, epispadyas
Hormonal
- Hipogonadizm
- Hiperprolaktinemi
- Hiper veya hipotiroidi
- Cushing hastalığı
İlaçlar
- Antihipertansifler
- Antipsikotikler
- Antidepresanlar
- Antihistaminikler
- Antiandrojenler
- Bağımlılık yapan maddeler (eroin, kokain, kodein)
Psikojenik
- Generalize tip
- Durumsal tip

Tablo 2: ED patofizyolojisinde rol oynayan faktörler

Vaskülojenik erektil disfonksiyon:

Hipogastrik-kavernöz-helisin arter dallanmasında aterosklerotik yada 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. Arteriyel yetmezlikle birlikte görülebilen yaygın risk faktörleri aterosklerotik koroner arter hastalığı, hipertansiyon, hiperlipidemi, diabetes mellitus, sigara, perineal veya pelvik künt travma, pelvik radyasyondur. Korner 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 (46).

Tavşan modelinde, iliak arterler balon ile deendotelize edilerek ve tavşanlar bol kolesterolü diyet ile beslenerek iliak arterde oluşturulan proksimal ateroskleroz sonrası vaskülojenik ED geliştirilmiştir. ED hem iliak damarlardaki azalmış kan akımı, hem de trabeküler düz kaslarda azalmış genişleyebilme özelliğine bağlı venookluzif disfonksiyon ile açıklanmaktadır (47,48,49) Yapılan diğer tavşan 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 gevşemesine, serbest oksijen radikallerinin salınımına, N-mono-metil-L-arjinin (NMMA) ve asimetrik 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 (50).

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 (51,52). Medial preoptik alan (MPOA), paraventriküler nükeus 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

birliktedir. 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 (53,54).

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 (22).

Endokrinolojik erektil disfonksiyon:

ED'u olan hastalarda hipogonadizm nadir rastlanan bir durum değildir. Androjenlerin libido ve seksüel davranışa etkileri iyi bilinmektedir (55). 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 (56). Androjenlerin etki mekanizmasını ortaya koymak için yapılan hayvan çalışmalarında, kastrasyon sonrası arteriyel akımın azaldığı, venöz kaçak oluştuğu, penis düz kaslarında alfa adrenerjik reseptörlerinin ve apoptozisin arttığı, KK'daki düz kas içeriğinin, kavernöz sinir uyarısının ve nNOS aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (57,58). Hipotalamohipofizer aksı etkileyen tümör, konjenital anomaliler, travma, cerrahi gibi nedenler ED'a neden olabilir. Hipofiz adenomu veya ilaçlara bağlı olarak gelişen hiperprolaktinemi de libido azalması, ED, glaktore, jinekomasti ve infertilite gibi semptomlar oluşabilir. Ayrıca yüksek prolaktin seviyelerinin gonadotropin salgılatıcı hormon sekresyonunu baskılayarak testosteron seviyesinin azalmasına neden olabilir.

ED hem hipertiroidi hem de hipotirodi ile birlikte görülebilir. Hipertiroidi sıklıkla dolaşımdaki östrojen seviyesi artışına bağlı olduğu düşünülmektedir. 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, endotelial, nörolojik ve psikolojik komplikasyonları nedeniyle ED'a yol açmaktadır.

Psikojenik erektil disfonksiyon:

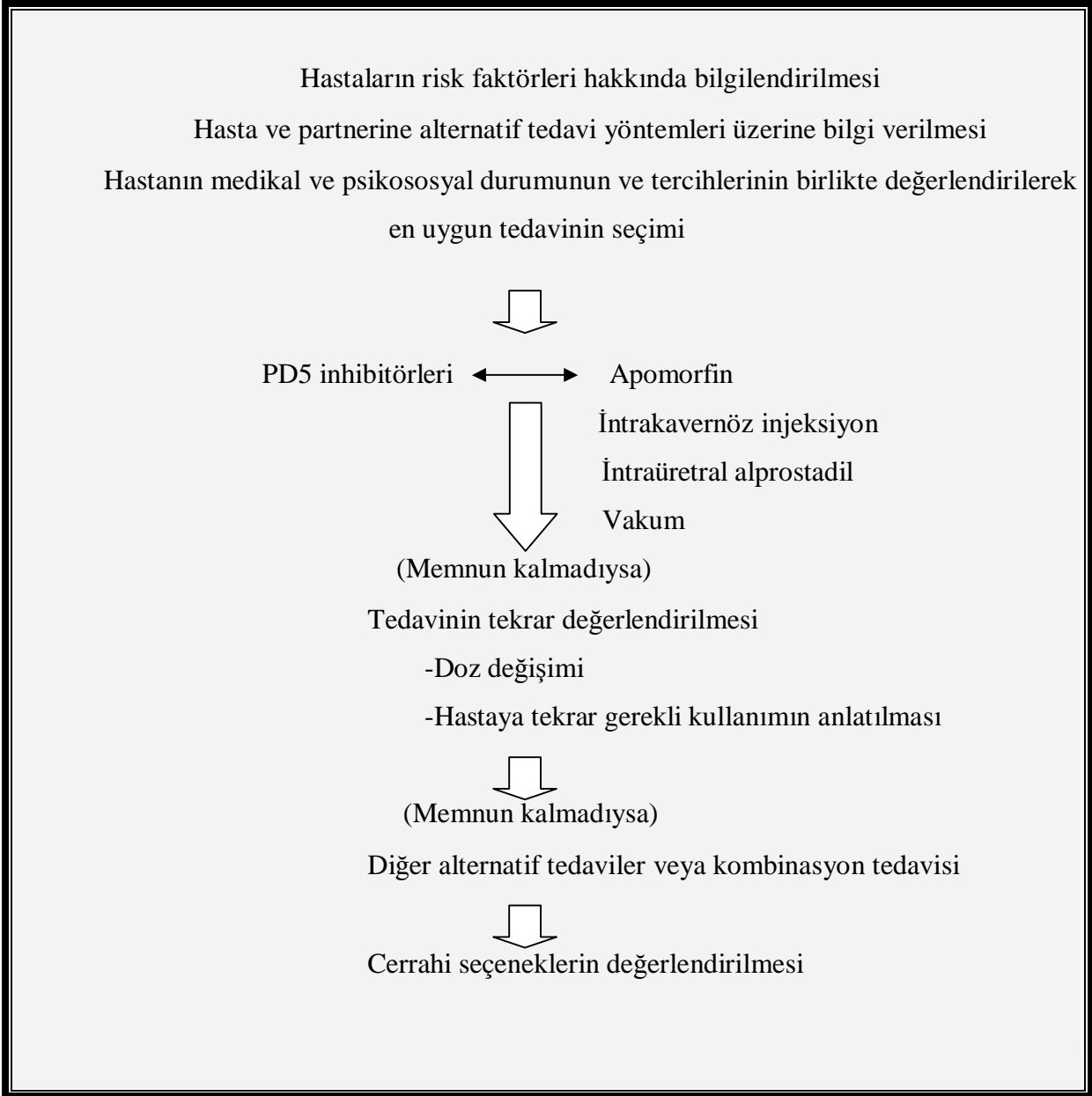
Seksüel davranışlar ve penil ereksiyon, hipotalamus, limbik sistem, serebral korteks tarafından kontrol edilir. Bundan dolayı uyarıcı ya da inhibe edici mesajlar ereksiyonu kolaylaştırmak ya da engellemek için spinal ereksiyon merkezlerine aktarılabilir. Psikojenik ED tipleri Tablo 3’de verilmiştir. Psikojenik disfonksiyonda ereksiyonun inhibisyonunu açıklayan iki olası mekanizma ileri sürülmektedir: Bunlardan ilki, normal suprasakral inhibisyonun aşırılığı şeklinde beynin spinal ereksiyon merkezini inhibe ederek, penis düz kas tonusunu arttırarak, ereksiyon için gerekli gevşemeyi engelleyen aşırı sempatik deşarj ya da yükselmiş periferik katekolamin seviyeleri; diğer teori ise, erkeklerde seksüel cevap merkezi sinir sistemi içindeki uyarıcı ve engelleyici uyarılar arasındaki dengeye bağlıdır. Bu dengenin bozulması sonucu meydana geldiği düşünülmektedir (45)

<p>I. Jeneralize tip</p> <p>A. Jeneralize cevapsızlık</p> <ol style="list-style-type: none">1. Seksüel uyarılmanın primer yokluğu2. Seksüel uyarılmada yaşlanmaya bağlı düşme <p>B. Jeneralize inhibisyon</p> <ol style="list-style-type: none">1. Kronik seksüel mahramiyet hastalığı	<p>II. Durumsal tip</p> <p>A. Partnerle ilişkili</p> <ol style="list-style-type: none">1. İlişkiye özel uyarılma yokluğu2. Seksüel obje tercihine bağlı uyarılma yokluğu3. Partner anlaşmazlığına ya da tehdidine bağlı yüksek santral inhibisyon <p>B. Performansla ilişkili</p> <ol style="list-style-type: none">1. Diğer seksül disfonksiyonlarla birlikte2. Durumsal performans anksiyetesi <p>C. Psikolojik stres ya da denge ile ilişki</p> <ol style="list-style-type: none">1. Negatif mood durumu ile birliktelik
---	--

Tablo 3: Psikojenik ED tipleri

Erektil 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 (59).



Tablo 4: ED'li hastalarda tedavi yaklaşımı

1. Farmakolojik Tedavi:

Farmakolojik tedaviler, merkezi, periferik veya her iki şekilde etkili olabilirler. Bu tedavide iki grup ilaç vardır (60).

1. Merkezi sinir sistem üzerine etkili olanlar
 - Apomorfin
 - Yohimbin
2. Periferik etkili ilaçlar

Oral

- PDE5 inhibitörleri (sildenafil, tadalafil, vardenafil)
- Yohimbin
- Apomorfin

Intrakavernoza ve topikal

- Fentolamin
- PGE1
- Papaverin

PDE5 inhibitörleri

PDE5 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, penil aktivitede son derece önemli bir rol oynamaktadır. PDE5 enzimini inhibe eden ilaçlar, seksüel uyarı olduğunda cGMP yıkımını önleyerek NO'nin 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

vazavagal 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 düşüslere 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, polistemi, prostat ve meme kanseri, mesane boynu obstrüksiyonları, agresiv 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 adenozin trifosfatı (ATP) siklik adenozin 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.

Intraüretral- 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 gözlenebilmektedir.

2.Cerrahi tedavi

Vasküler cerrahiler

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

Penil protezler

1. Bükülebilir
2. Şişirilebilir

Endotelin fonksiyonu:

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 (61(- 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 (62,63,64) .

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 subendotelyal 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 (62,63).

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 hiperpolarizan faktörler
- Prostasiklin (PGI2)
- Bradikinin, asetilkolin, serotonin, histamin, substans P

3- Antitrombotik (homeostaz) maddeler

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

4- Büyüme modülatör / mediatörleri

a) Büyüme promotörleri

- Heparin sülfat
- TGF- β
- NO
- Bradikinin
- Prostatiklin

b) Büyüme inhibitörleri

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

5- İnflamatuvar mediatörler

Adezyon molekülleri;

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

Antijenler;

- Major histokompatibilite kompleks-2 (MHCII)

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.

Vazodilatasyon Oluşturan Faktörler

Endotel hücreleri tarafından salınan ana gevşetici faktör NO'dur. NO, L-arjininin, L-sitruiline oksidasyonu sırasında NOS enzimi tarafından oluşturulan serbest radikaldir (65). Bu enzimin, nöronal NOS (nNOS), indüklenebilir NOS (iNOS) ve endotelial NOS (eNOS) olmak üzere 3 alt tipi vardır. Endotelium hücreleri esas olarak eNOS eksprese ederler ve buna bağlı olarak devamlı bir biçimde sistemik ve pulmoner dolaşıma düşük miktarlarda NO salıverirler (66). Endotelium 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 bağlı olarak ise vasküler düz kas hücrelerinde (VDKH) gevşemeye neden olur (67). Prostatiklin ve endotel bağımlı hiperpolarizan faktör (EDHF), endotelium tarafından salgılanan ve damar tonusunun düzenlenmesi üzerine etkili diğer vazodilatör ajanlardır.

Prostasiklinler endotelyum tarafından hümorale ve hemodinamik yanıt olarak üretilirler (68). Araşidonik asidi substrat olarak kullanılarak siklooksijenaz (COX) enzimi aracılığı ile sentezlenirler. Prostasiklinler gevşetici etkilerini adenilat siklaz stimulasyonuna bağılı olarak VDKH'de hücre içi cAMP konsantrasyonunu arttırarak gösterirler (68,69). Endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) ise gevşetici etkisini hücre membranında potasyum geçirgenliğini arttırarak gösterir (70).

Vazokonstriksiyon Oluşturan Faktörler

Normal vasküler tonusun devamlılığı için endotelyum hücreleri endotelinler, tromboksan A₂ ve prostaglandin H gibi birçok kasıcı mediyatör salgılar. Bunların içerisinde ET-1 endotelyum hücreleri tarafından salınan en güçlü kasıcı ajandır (71). Trombin, adrenalin, Anjiotensin II, hipoksi ve artmış gerilim stresi gibi uyarılara yanıt olarak üretilir (72). VDKH'de spesifik reseptörlerine bağlanarak hücre içerisindeki kalsiyum konsantrasyonunun artışına sebep olur ve NO'nin etkisini antagonize eder. İlginç olarak sağlam endotelyumda ET-1, NO ve prostasiklin üretimini stimule ederek ve vazokonstriktör etkiyi ayarlayarak kendi sentezini azaltır (73).

Endotel hücreleri tarafından sentezlenen tromboksan A₂ ve prostaglandin H₂ 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 endotelyum hücrelerinden hümorale ve hemodinamik uyarılar sonucunda sentezlenen ve salınan vazomotor tonus ayarlayıcı başka bir kasıcı ajandır. Son olarak endotelyum 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.

Enflamasyon ve Trombozisin Endotelyum Tarafından Düzenlenmesi:

Vasküler tonusun devamlılığının sağlanması dışında, normal endotelyum anti-proliferatif ve anti-enflamatuvar özelliklere de sahiptir. Endotelyum bağımlı vazodilatör olan NO; lökositlerin endotelyum duvarına adezyonunu (74,75), vasküler düz kas hücrelerinin

migrasyon ve proliferasyonunu inhibe eder (76,77) ve endotelyum hücrelerinin proliferasyonunu stimule eder (78). Bunun yanında NO trombosit agregasyonunun inhibisyonu ve trombosit deagregasyonunun stimulasyonunu sağlar (79).

Prostasiklinler; 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 (69). Bunun yanında sağlıklı endotelyum hücrelerinin yüzeyleri negatif yüklü olarak heparanlar ile sarılmıştır ve kontakt inhibisyon sağlarlar (80). Endotelyum hücreleri doku plasminojen aktivatörleri (tPA), trombin inaktivatörleri ve trombomodülün gibi antikoagulan faktörler sentezlerler (81). Sonuç olarak lökositler vasküler yüzeye tutunamaz ve hücre proliferasyonunu sıkıca kontrol ederler (82). Bunlar endotelial disfonksiyon ve ateroskleroz karşısında görev alan savunma sistemleridir.

Endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz:

Damar endoteli kan damarlarının iç yüzeyini kaplayan bir yapıdır. Yıllarca; kan ve interstisyum arasında geçirgenliği sağlayan yarı geçirgen bir yapı olarak düşünülmüştür. Endotel hücrelerinin korunması ve normal fonksiyonunun devam etmesi tedavi yönünden büyük önem taşımaktadır. Birçok hastalıkların nedeni ve seyrinde endotel hücre fonksiyonlarında patolojik dönüşümler olmaktadır. Bu dönüşümlerde aterojenik, hemorajik, protrombojenik ve vazospastik olaylara neden olmaktadır. Günümüzde aşağıdaki patolojiler “endotelopatiler” olarak tanımlanmaktadır. Endotel hastalıkları olarak da isimlendirilmektedir. Bu endotel hastalıkları aşağıdaki Tablo 5’de verilmiştir (83).

-Ateroskleroz	- Diabetes mellitus
-Primer pulmoner hipertansiyon	-Reperfüzyon hasarı
-Toksemi	-Vaskulit
-Enfeksiyonlar	-Hemolitik üremik sendrom
-Amiloidoz	-Kawasaki hastalığı
-SLE	-Romatoid artrit
-Transplantasyon endotelopatisi	-Von Willebrand Hastalığı
-DİC	-AİDS

Tablo 5: Endotelopatiler

Travma ve birçok patolojik faktörlere bağlı olarak oluşan endotelyum aktivasyonu, kendi düzenleyici fonksiyonlarında değişiklikler oluşmasına neden olur. Endotelyum vasküler hemostazın sağlanmasında yetersiz hale gelir. Bu olay ise gevşetici ve kasıcı ajanlar, prokoagülan ve antikoagülan mediyatörler, hücre büyümesi uyarıcıları ve inhibe edicileri arasında sırası ile oluşan dengesizliğe neden olarak endotelial disfonksiyon olarak tanımlanan olaya neden olur.

Endotelial Disfonksiyona Bağlı Vasküler Tonus Azalması:

Vasküler tonus kaybı endotelial disfonksiyon oluşumunda ilk ortaya çıkan olaydır. Kasıcı ajanların artması ve gevşetici ajanların azalması ile karakterize bir olaydır. Birçok çalışma NO'nin kullanılabilir miktarında azalma ve endotelial disfonksiyon arasında güçlü bir ilişki olduğunu bildirmiştir (84,85). Bu olay eNOS'in aktivitesinde azalmaya veya NO'nin indirgenmesindeki artışa bağlı olabilir. NO kan damarlarındaki endotelyum bağımlı gevşemeden temel olarak sorumlu olduğu için, ateroskleroz sırasında bu gevşetici etkinin bozulması koroner ve periferik arterlerde gevşeme yanıtlarında ciddi azalmaların oluşmasına neden olmaktadır (86,87).

Vazodilatör NO'nin kaybına ek olarak, ET-1 gibi vazokonstriktör faktörlerin üretiminde artış da endotelyum hasarı ile ilişkilidir (89). Bu olay ise NO kaybında daha fazla artışa neden olmakta ve damar yapısının kontrolsüz kasılması ile sonuçlanmaktadır. İlerleyen dönemlerde ise hipertansiyona ve koroner kalp hastalıkları, ED, periferik arter hastalıkları gibi hastalıklara neden olmaktadır.

Ateroskleroz patogeneğinde NO çok önemli bir yere sahiptir. Dış uyarılara yanıt olarak oluşan endotelyumun NO üretiminde azalma aterosklerozun başlangıcı olarak değerlendirilmektedir (90). Bu nedenle aterosklerozun önlenmesi için asıl önlenmesi gereken basamağın endotelial disfonksiyon basamağı olduğu ileri sürülmektedir.

Enflamasyon ve Tromboziste Kontrol Kaybı:

Endotelial fonksiyonun kaybı normal antikoagülan savunma mekanizmasında bozukluk ile sonuçlanır. NO azalması, anormal heparanlar, lokal trombin aktivasyonu, PAF-1 ve trombomodülin, lokal koagülasyona katkıda bulunurlar (91). Benzer olarak artmış tPA inhibisyonu ve doku PAF-1'inin azalması pıhtı lizisinde azalmaya neden olur (92,93). Trombin aktivasyonu, membrana bağlı trombosit adezyon molekülleri, kollajen maruziyeti, doku faktörlerinin üretiminde artış ve NO azalması trombosit adezyon ve agregasyonuna neden olur (94,95).

Endotelial disfonksiyon gelişmesine aracılık eden birçok risk faktörü ve patolojik uyarılar aynı zamanda damar duvarının anormal çalışmasına neden olur. Bu olay ise sinyal kaskatı sonucu adezyon ve enflamasyonun tetiklenmesini sağlar ve damar duvarındaki VDKH'lerinin, fibroblastların ve matriksin anormal büyümesi ile sonuçlanır. Bu süreç ise intimal kalınlaşma ve plak formasyonuna ilerler (96).

Endotelial Disfonksiyonda Oksidatif Stresin Rolü:

Endotelial disfonksiyon gelişimi bazı fizyolojik belirleyicilerin azalması ile ilişkilidir. Oksidatif stres veya reaktif oksijen türleri (ROS) endotelial disfonksiyon gelişimindeki ana unsurlardan biridir. Hücre içi ROS oluşumundaki mekanizma NAD(P)H oksidaz, ksantin oksidaz, lipoksigenaz (LOX), sitokrom p450, monooksijenaz ve COX gibi çoklu enzim sistemlerini içerir (97,98). Damar yapısında ROS oluşması NO azalmasına ve peroksinitrit oluşumuna neden olur (99). Böylece NOS'ın normalde NO üreten oksijenaz kısmı yerine ROS üreten redüktaz aktivitesi görmesine yol açar. Bu olay ise pozitif geri-bildirim yolu ile daha yüksek miktarda ROS üretimi ile sonuçlanır (100). Peroksinitrit LDL moleküllerinin oksidasyonunda önemli bir mediyatördür (101). Okside-LDL (Ox-LDL) oluşumundan sonra endotelial disfonksiyonu arttırabilir ve ateroskleroz patogeneziye katkıda bulunabilir. Yapılmış olan çalışmalar LDL partiküllerinin yoğunluğunun, Ox-LDL düzeyinin, bireylerde LDL'nin oksidasyona olan eğilimini ve Ox-LDL' e karşı oluşan otoantikörlerin miktarının endotelial disfonksiyon ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (102). Ox-LDL, NO üretimini birçok farklı mekanizma ile etkileyebilir.

- a. Ox-LDL, endotelial hücre agonistleri hücrelerine agonistler tarafından stimule edilmiş olan arjinin transportunu inhibe edebilir.
- b. Ox-LDL, eNOS ekspresyonunu hem mRNA hem de protein düzeylerinde inhibe ederek NO üretimini direkt olarak inhibe edebilir (103).
- c. Ox-LDL, ADMA miktarlarını arttırabilir. ADMA NOS'ın kompetitif inhibitörüdür ve L-arjinin ile substrat düzeyinde yarışarak NO üretimini azaltabilir (104,105).

NO üretiminin azalmasına bağlı olarak Ox-LDL trombin oluşumuna ve trombosit agregasyonunun artışına neden olur (106). Ek olarak Ox-LDL prostasiklinler ve ET-1 gibi diğer endotelial ürünler arasındaki dengenin bozulmasına neden olarak trombosit agregasyonuna neden olur (97,107). Bunun sonucunda Ox-LDL'nin oluşması moleküler mekanizmalar aracılığı ile endotelial disfonksiyona neden olur.

Ox-LDL'nin ateroskleroz gelişimi üzerine etkisi olan günümüzde ayrıntılı bir şekilde araştırılmıştır. Ox-LDL endotelial hücreleri, makrofajlar ve VDKH'leri gibi damarsal içeriği

aktive eder. Aynı zamanda monositler için kemotaktik uyarıları aktive ederek onları makrofajlar haline çevirir. Bu makrofajlar Ox-LDL'yi yakalayıcı reseptörleri (SR) (CD-36, SR-A, SR-PSOX) aracılığı ile alırlar ve "köpük hücreleri"ne dönüşürler. Bu hücreler ise ateroskleroz için anahtar özelliğindedirler (108).

ROS ve onun modifiye hedef biyomolekülleri (ör: Ox-LDL) gerçek ikincil mesajcı moleküller olarak adlandırılırlar. Bunlar nükleer transkripsiyon faktörlerinin artışı, kalsiyum sinyali, protein kinaz ve protein fosfataz yollarının modülasyonu gibi birçok önemli sinyal transdüksiyon kaskadının düzenlenmesinde rol alırlar (109,110).

Mitojen aktive protein kinaz (MAPK), nükleer faktör-kappa B (NFκB) ve aktivatör protein-1 gibi redoks duyarlı nükleer transkripsiyon faktörlerinin transkripsiyonel aktivitelerini artırır ve fosforile eder (97). Bu nükleer faktörlerin aktivasyonu ise adezyon ve makrofaj ve lökositlerin endotele yapışmasını kontrol eden proteinleri kodlayan genlerde upregülasyona neden olur.

Monosit Kemotaktik Protein -1 (MCP-1)'in artmış olan üretimi mononükleer fagositlerin toplanmasına, intersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1)'in ekspresyonunda artışa ve E-selektin ile de bu hücrelerin damar duvarına yapışmasında artışa neden olur. Bu artış hem Ox-LDL tarafından hem de endotelyum hücrelerinin redoks durumundaki değişikliğine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (111,112). Azalmış NO ve artmış oksidatif stres aynı zamanda özellikle aktive matriks metalloproteinazları (MMP)-2 ve MMP-9'yi aktive eder ve ateroskleroz ilerleyişinde hızlanmaya neden olur (113,114). Sonuç olarak NO bioyararlanımının azalması, artmış oksidatif stres ve adezyon moleküllerinin ekspresyonu ve sitokinler ile birlikte oluşan endotelial disfonksiyon sadece başlangıç aşamasında değil aynı zamanda aterosklerotik hastalığın progresyonu ile de ilişkilidir (115).

Vazokonstriktör ajan olan anjiyotensin II (Anj II) NADPH oksidazı aktive ederek ROS oluşumuna ve süperoksit radikallerini arttırarak NO miktarında azalmaya ve buna bağlı vasküler fonksiyonlarında bozulmaya neden olur (116). Anj II sadece vazokonstriktör olarak görev almaz; aynı zamanda ET-1 üretimini de stimule eder (117). ET-1 ve Anj II VDKH'nin proliferasyonunu arttırarak ateroskleroz gelişimine katkıda bulunurlar (118, 119).

eNOS ve Caveolin-1'in hücredeki lokalizasyonu ve etkileşimi:

Caveola 50-100 nm büyüklüğünde, kolesterol, glikosfingolipid ve seramidden zengin hücre yüzey invajinasyonudur. Caveola'nın yapısı kolesterol metabolizmasının, lipid alımının ve kolesterol eflüsünün regülasyonundan sorumlu caveolin adlı yapısal proteinler ile sağlanmaktadır (120,121). Yapısal olarak, caveolin-1 caveola membranında bulunan,

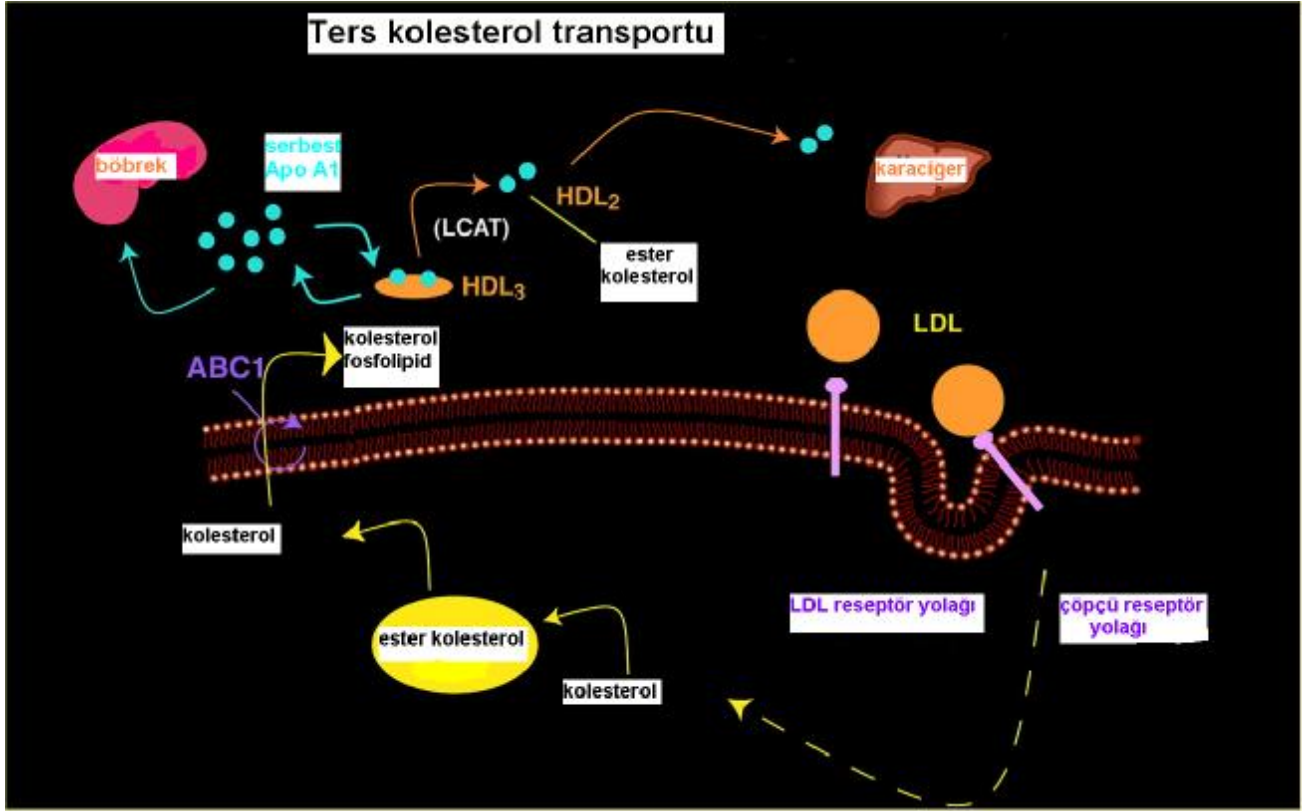
kolesterol metabolizmasının, lipid alımının ve kolesterol eflüsünün düzenlenmesi gibi birçok fonksiyonu olan kompleks oligomerik bir proteindir. Caveolin iki fonksiyonel parçadan oluşmaktadır. Karboksi parçası palmitoilasyona uğrayan parçadır (122,123). Bu parça ile caveolin-1'e kolesterol bağlanması ve bu kolesterolün plazma membranına taşınmasından sorumludur. Bunun yanında amino terminali caveolin-1 proteinin yapısal ve devamlılık fonksiyonundan sorumludur. eNOS, caveolada caveoline bağlanmış bir şekilde inaktif olarak bulunmaktadır. Hücre içi kalsiyum miktarının artması ve calmodulin/Ca² kompleksinin oluşmasıyla kompetitif olarak eNOS'un caveolinden ayrılmasına, calmodulinin eNOS'a bağlanarak aktivasyonuna neden olmaktadır (124). Ekstrasellüler LDL kolesterolün artması gibi hücre içi serbest kolesterol düzeylerinin arttığı durumlarda caveolin-1 proteini hücre içi havuzlardan hücre yüzeyine doğru hareket etmekte ve caveolin-1 sentezi ve transkripsiyonu artmakta, hücredeki serbest kolesterol miktarı normale dönene kadar caveola, caveolar serbest kolesterol ve kolesterol eflüsü artış göstermektedir (125). Bununla beraber caveolin protein ekspresyonunun ve miktarının artması kolesterolün hücre içerisinden plasmalemmal caveolaya kolesterol transportunu attırmakla beraber HDL miktarını da arttırdığı gözlenmiştir (126). Birçok çalışmada NO sentazın endotelial izoformu olan eNOS'ın caveolada yerleştiği ve caveolin-1'in eNOS enzimatik aktivitesinin negatif düzenleyicisi olarak görev yaptığı gösterilmiştir (127).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda Ox-LDL'nin plazma membran yapısındaki kolesterol miktarını azalttığı gösterilmiştir. Ox-LDL'nin, eNOS'ın caveoladan intraselüler membran kompartmanına geçişine neden olduğu ve eNOS aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (128). Kolesterolün yüksek konsantrasyonu, caveolada invajinasyona neden olurken, kolesterolün düşük konsantrasyonda olması durumunda morfolojide jeneralize bir düzleşme meydana gelmektedir (129). Artmış LDL-kolesterol seviyelerinin endotel hücrelerindeki NO seviyelerini azaltmasındaki neden yüksek kolesterolün calmodulin ve caveolin arasında eNOS için kompetisyona yol açması ile açıklanmıştır (130). Başka bir çalışmada ise Ox-LDL'nin caveola içerisindeki kolesterol dağılımını bozarak eNOS'ın internal membran alanlarına göçmesine neden olduğunu ve böylece eNOS aktivitesinde azalmanın meydana geldiğini ve ortama HDL verildiği zaman LDL'nin etkilerinin geri döndüğü gösterilmiştir (90).

Endotel hücresinde ters kolesterol transportu ABCA-1 ve caveolin-1'in transporttaki rolü:

Hücre içinde bulunan fazla kolesterolün sitozolde bulunan caveolin-1 proteini ile caveolada bulunan, hücre membranında simetrik bir şekilde transmembranal olarak yerleşmiş olan ABCA-1 proteinine taşınır. Kolesterol ABCA-1 proteini aracılığıyla HDL'de bulunan Apolipoprotein A1 mevcudiyetinde HDL'ye aktarılıp ester kolesterol şeklinde depolanır. Buradan kolesterol iki şekilde karaciğere taşınır: Birincisi HDL partiküllerinin, periferden topladıkları ve esterleştirdikleri kolesterolü VLDL partiküllerine aktararak, kolesterolü dolaylı yoldan karaciğere gönderdikleri yoldur. İkincisi ise HDL partiküllerinin kolesterolü karaciğere doğrudan doğruya taşıdıkları, yani karaciğer hücreleri tarafından tanınıp tutuldukları yoldur. Hücredeki fazla kolesterolün caveolin1, ABCA-1 ve HDL aracılığıyla karaciğere taşınmasına “ters kolesterol transportu” denir (şekil 6) (131).

Hücre membranının bir yanından diğer yanına uzanan bir protein olan ABCA-1 etkin kolesterol eflüsü için esastır. ABCA-1, caveolin-1 ve HDL'nin hücre yüzeyindeki caveolada aynı lokalizasyonda olduğu ve birbirleri ile ilişkili çalıştığı birçok çalışmada gösterilmiştir. ABCA-1 ve caveolin-1 arasındaki ilişkinin bozulması HDL aracılıklı kolesterol eflüsünün bozulmasına ve ateroskleroz gelişmesine neden olduğu gösterilmiştir (132). ABCA-1 ve caveolin-1'deki ekspresyon artışı HDL seviyesini yükselterek ateroskleroza karşı koruyucu (ateroprotektif) etki göstermektedir. ABCA-1 "knockout" farelerde plazma HDL seviyesinin düştüğü, subendotelial alanda lipidle yüklü makrofajların biriktiği gösterilmiştir. Ayrıca makrofajlardaki ABCA-1'in selektif inaktivasyonu plazma lipidleri ve HDL düzeylerinden bağımsız olarak belirgin ateroskleroza yol açtığı yapılan çalışmalar sonucunda ortaya konmuştur (8). Her ne kadar, yakın bir süre önce varlığı belirlendiyse de, ABCA-1'in makrofajlardan kolesterol eflüsünde de yaşamsal bir rol oynadığı açıktır. Bu gerçek, onun kardiyovasküler hastalık için yeni bir terapötik hedef olacağını düşündürmektedir ve bu ABCA-1 ekspresyonunu artıran ajanların ters kolesterol transportunu indüklediği ve ateroskleroza önlediği birçok çalışmada gösterilmiştir.



Şekil 6: Endotel hücrelerinde ters kolesterol transportu (LCAT: Lesitin kolesterol açıl transferaz, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, Apo A1: Apolipoprotein A1)

PPAR γ reseptörünün fonksiyonları ve ateroskleroz ilişkisi:

PPAR γ reseptörü nükleer reseptör ailesinin bir üyesidir (133). Liganda bağlanmaya yanıt olarak gen ekspresyonunu düzenler. Birçok yağ asidi PPAR için endojen ligand görevi yapar. PPAR'nin tanımlanmış üç grubu vardır. Bunlar PPAR α , PPAR β ve PPAR γ dir. Liganda bağlanma sonrasında PPAR spesifik yapısal değişikliğe uğrayarak bir veya daha fazla koaktivatör proteine bağlanır. Ligandların koaktivatörlerle etkileşim yetenekleri değişiktir. Bu da farklı biyolojik yanıtların sebebinin oluşturur. PPAR gen regülasyonu iki mekanizma ile düzenlenir. Transaktivasyon DNA'ya bağımlıdır. Hedef genlere PPAR yanıtı olarak oluşan moleküller aracılığıyla oluşur. İkinci mekanizma olan transrepresyon PPAR'ların antiinflamatuvar etkilerini açıklar. Bu mekanizma diğer transkripsiyon faktör yollarını kullanır ve DNA'dan bağımsızdır. PPAR γ asıl olarak yağ dokusunda bulunur. Ancak pankreatik β hücreleri, vasküler endotel ve makrofajlarda da bulunduğu gösterilmiştir (134). PPAR γ sentetik ligandı olan tiyazolidindionlar tarafından aktive edilir. Rosiglitazon tiyazolidindionlar ailesinin bir üyesidir. Çalışmalarda açlık ve postprandiyal kan şekeri ve serbest yağ asidi düzeyini düşürdükleri gösterilmiştir (135). Bu ilaçlar temel olarak anti-hiperglisemik

etkisinden faydalanılarak tip 2 diyabetin tedavisinde kullanılırlar. Antihiperglisemik etkilerini periferik dokularda ve karaciğerde insülin duyarlılığını arttırıp glukoz alınımını artırarak, karaciğerden glukoz atılımını azaltarak yapmaktadırlar. Tiyazolidindionlar diğer önemli etkisi ise lipid metabolizmasının düzenlenmesi ve aterosklerozun engellenmesidir (136). Ayrıca hayvan deneylerinde thiazolidinedionların kan basıncını düşürdükleri de gösterilmiştir (137). Birçok çalışmada tiyazolidindionların aterosklerozun oluşmasındaki tüm basamaklardaki etkilerine bakılmıştır. PPAR γ reseptör aktivasyonunun kanser hücrelerinde ve THP1 makrofajlarda, TKT'da önemli rol oynadığı bilinen caveolin-1'in ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (138). PPAR γ agonistleri ABCA-1 gen ekspresyonunu arttırarak da TKT'unu arttırdığı bir çok çalışma sonucunda ortaya çıkmıştır (139). Klinik çalışmalarda tiyazolidindionların inflamasyonda rol oynayan CRP, TNF alfa, Serum Amiloid A'nın miktarlarını azalttığını, diğer bir çalışmada ise ana karotis arterde intima media kalınlığını azalttığını göstermişlerdir (136). Rosiglitazon endotelial koruyucu etkisini, diyabetik olmayan ratlarda yapılan çalışmalarda NO biyoyararlanımını belirgin olarak düzelterek ve O₂⁻ radikallerinin üretimini azaltarak yaptığını ortaya koymuşlardır. Aynı zamanda PPAR γ agonistleri antioksidan enzim ekspresyonunu arttırdığı ve süperoksit üretimini azalttığı gösterilmiştir (140). PPAR γ agonistlerinin MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 (136), monosit ve makrofaj miktarını azaltarak antienflamatuar ve aterosklerozu önleyici etki göstermektedir (139).

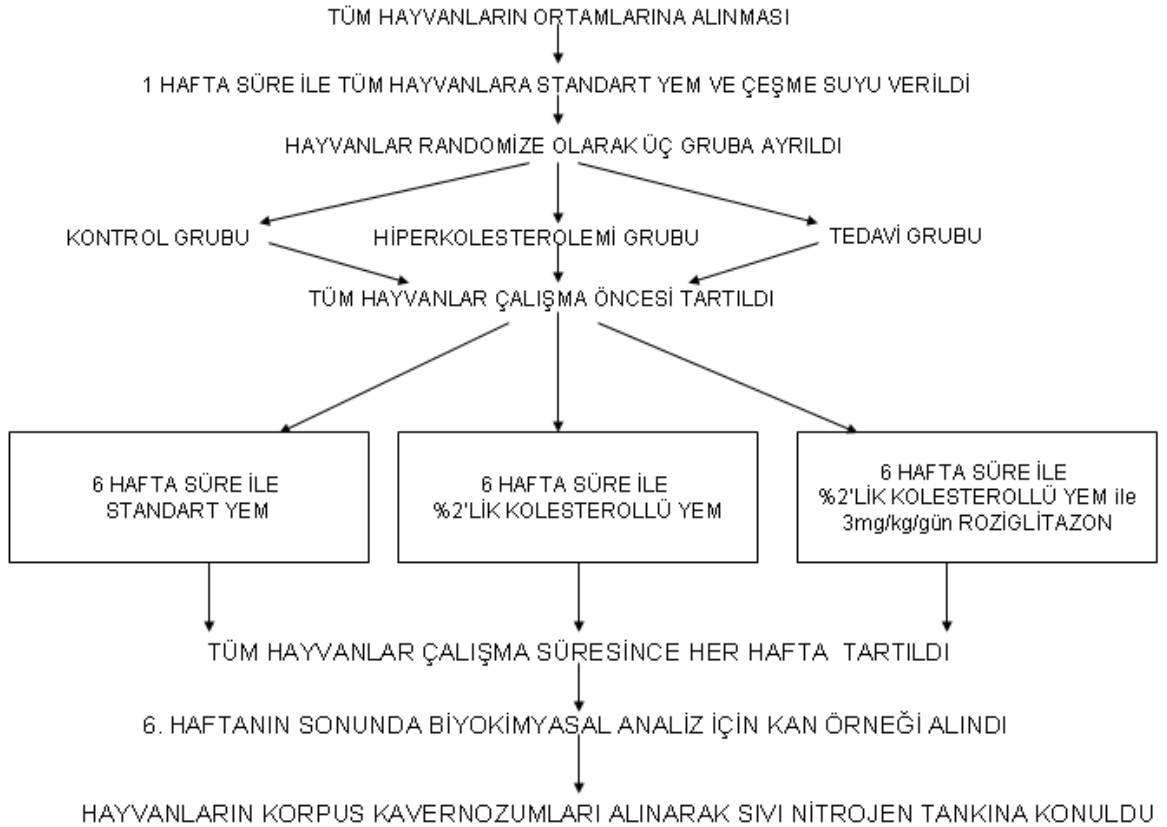
GEREÇ VE YÖNTEMLER

Etik Kurul Onayı, Tavşanların Beslenmesi, Gruplandırılması:

Randomize kontrollü deneysel bir araştırma olan tez çalışmamız, Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığınca değerlendirildi ve çalışmaya onay verildi. Deneyler Androloji laboratuvarında gerçekleştirildi.

Deneysel hiperkolesterolemi modeli için 2600 – 3200g ($2896 \pm 32,9$) ağırlığında Beyaz Yeni Zelanda tavşanları Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Anabilim Dalından temin edildi. Tavşanlar uygulanacak protokole göre 3 gruba ayrıldı (Şekil 7).

1. Kontrol grubu: Tavşanlar sınırsız standart yem ve içme suyu ile beslendi (n=7).
2. Hiperkolesterolemi grubu: %2'lik kolesterol içeren sınırsız yem ve içme suyu ile altı hafta süre ile beslendi (n=7).
3. Tedavi (Rosiglitazon) grubu: %2'lik kolesterol içeren sınırsız yem ile beslenirken aynı zamanda oral rosiglitazon 3 mg/kg/gün dozda altı hafta süreyle tedavi edildi (n=7).



Şekil 7: Çalışmaya alınana kadar deney hayvanlarına uygulanan protokol

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 sağlandı. Tavşanların beslenme süresi 6 hafta olarak belirlendi. Tüm deney süresi boyunca oda ısıları 24°C’de sabit tutuldu (Resim 1).



Resim 1: Tavşanların barınma koşulları

Kolesterol yemleri ve rosiglitazon içeren içme suları günlük olarak hazırlandı.

%2'lik 1kg Kolesterol yemi= 900g yem + 80g zeytinyağı + 20g kolesterol içeriğinden oluşmaktadır. Rosiglitazonlu içme suları ise; özel olarak ışıktan muhafaza edecek şekilde hazırlanmış olan tavşan suluklarında günlük olarak verilip, rosiglitazonlu sıvıyı tamamen bitirdikleri gözlemlendi. Ertesi gün çalışmaya alınacak olan hayvanların 12 saat öncesinden yemleri alınarak, sıvı alımlarına ise izin verildi.

Plazma kolesterol düzeylerinin ölçümü:

Deney sürelerinin sonunda tavşanların plazma total kolesterol düzeyleri marjinal kulak venlerinden alınan 2cc'lik kan örneklerinden ölçüldü. Plazmadan total kolesterol, LDL kolesterol ve HDL kolesterol düzeyleri bakıldı. Total kolesterol, LDL ve HDL düzeyleri homojen enzimatik kalorimetrik yöntemeye dayalı kitler ile Roche COBAS Integra 800 cihazı kullanılarak ölçüldü.

Tavşanların korpüs kavernozum ve aort dokusunun alınması:

Tavşanlar, kulak venlerinden enjekte edilen yüksek doz tiopental ile öldürüldü. KK dokusu ve torasik aortaları alındı. PBS (Phosphate buffer saline) içerisinde tunika albuginea KK dokusundan ayrıldı. Aort PBS içerisine koyularak periaortik dokular uzaklaştırıldı. Daha sonra dokular çalışmanın yapılacağı zamana kadar sıvı nitrojende saklandı.

Hücrelerden RNA İzolasyonu:

Dokular nitrojen takından çıkartılarak kullanılacak dokular tartılarak ağırlıkları saptandı. Daha sonra dokular kuru buzda soğutulmuş cam tüplere (corex tüp) konularak toz haline gelinceye kadar ezildi. Her bir tüpe 100 mg'a 1 ml olacak şekilde trizol reaktifi eklenerek süspansiyon haline getirildi. Doku süspansiyonu, 1,5 ml'lik ependorf tüplere alınarak oda sıcaklığında 5 dakika inkübasyon sonrası Sigma 3K30 santrifüj cihazında, +4°C'de 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüpte oluşan şeffaf sıvı kısım başka bir ependorf tüpe pipet yardımıyla alındı. Alınan miktarın üzerine, kullanılan trizolün 1/5'i kadar %99'lük kloroform (Sigma) eklendi. Tüpler elde 5 dakika sallanarak homojenizasyon sağlandı. Daha sonra 4°C'de 8000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant alınıp üzerine RNA'nın çökmesi için aynı miktarda izopropanol (Merck) eklenerek -20 °C'de 24 saat bekletildi. Daha sonra örnekler -20°C'den çıkartılarak 4°C'de 8000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüpteki izopropanol uzaklaştırıldı ve dipteki RNA 1 ml %75 etanol (Merck) ile yıkanıp +4°C'de 8000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Bu işlem iki kez

daha yapıldı. Santrifüjden sonra etanol pipet yardımıyla uzaklaştırıldı ve tüpteki RNA 3 saat kurumaya bırakıldı. Kuruyan RNA uygun miktarda Diethyl pyrocarbonate (DEPC) (Sigma) uygulanmış steril distile suda çözüldü. RNA konsantrasyonu Lambda 25 UV/VIS Spektrofotometresi (PerkinElmer) kullanılarak ölçüldü. 260 nm'deki absorbans değeri kullanılarak RNA konsantrasyonu, A_{260}/A_{280} değerleri kullanılarak ise RNA kalitesi değerlendirildi. RNA örnekleri daha sonra kullanılmak üzere -80°C 'lik buzdolabında saklandı. Tablo 6'da hücrelerden elde edilen RNA'ların konsantrasyonları sunulmuştur.

Doku adı	RNA konsantrasyonu ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Doku adı	RNA Konsantrasyonu ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Doku adı	RNA konsantrasyonu ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)
Kontrol aort	2,7				
Kontrol 1	1,05	Hiperkolesterolemi 1	0,7	Rosiglitazon 1	0,46
Kontrol 2	1,5	Hiperkolesterolemi 2	2,21	Rosiglitazon 2	1,84
Kontrol 3	0,22	Hiperkolesterolemi 3	0,81	Rosiglitazon 3	2,81
Kontrol 4	0,87	Hiperkolesterolemi 4	1,63	Rosiglitazon 4	0,76
Kontrol 5	0,47	Hiperkolesterolemi 5	1,63	Rosiglitazon 5	0,38
Kontrol 6	0,73	Hiperkolesterolemi 6	0,9	Rosiglitazon 6	0,33
Kontrol 7	0,22	Hiperkolesterolemi 7	1,55	Rosiglitazon 7	0,51

Tablo 6: Örneklerin RNA konsantrasyonları

RNA'lardan cDNA sentezi:

cDNA sentezinde örnekler $4 \mu\text{g}$ olacak şekilde hacimeri hesaplandı (Tablo 7). Örnekler $10 \mu\text{l}$ olacak şekilde DEPC'li su eklendi. Örneklerin üzerine 1'er μl Random Hexamer ($0,2 \text{ u}/\mu\text{l}$) eklenerek termal cycle cihazında (Tchne TC-412) 70°C 'de 5 dk muamele edildi. Örnekler buz üzerine alındıktan sonra üzerine $2 \mu\text{l}$ 5X Reaction Buffer, $2 \mu\text{l}$ 10 Mm dNTP MIX, $1 \mu\text{l}$ RNase inhibitör ($20 \text{ u}/\mu\text{l}$) karışımı eklenerek termal cycle'da 25°C 'de 5 dk muamele edildi. Daha sonra örneklerin üzerine $2 \mu\text{l}$ 5X Reaction Buffer, $1 \mu\text{l}$ Reverse Transcriptase ($200 \text{ u}/\mu\text{l}$)'dan oluşan karışım eklenerek termal cycle'da 1 siklus 25°C 'de 0,1dk, 25°C de 10 dk, 42°C 1 saat, 70°C 10 dk muamele edildi. Örnekler alınarak -20°C derece soğutucuda korunmaya alındı.

Örnek adı	RNA konsantrasyonu (µg/µl)	4 µg için RNA hacmi (µl)
kontrol aort	2,7	1,5
kontrol 1	1,05	3,8
kontrol 2	1,5	2,7
kontrol 3	0,44	9
kontrol 4	0,87	4,6
kontrol 5	0,47	8,5
kontrol 6	0,73	5,5
kontrol 7	0,44	9
hiperkolesterolemi 1	0,7	5,7
hiperkolesterolemi 2	2,21	1,8
hiperkolesterolemi 3	0,81	4,9
hiperkolesterolemi 4	1,63	2,5
hiperkolesterolemi 5	1,63	2,5
hiperkolesterolemi 6	0,9	4,5
hiperkolesterolemi 7	1,55	2,6
rosiglitazon 1	0,46	8,8
rosiglitazon 2	1,84	2,2
rosiglitazon 3	2,81	1,4
rosiglitazon 4	0,76	5,3
rosiglitazon 5	0,38	10
rosiglitazon 6	0,66	6
rosiglitazon 7	0,51	7,8

Tablo 7: 4 µg RNA için gereken hacim miktarları

cDNA'dan DNA sentezi:

DNA sentezi için 2 µl cDNA kullanılarak sentezlendi. 10,2 µl distile su, 0,4 µl 10 MM dNTPmix, 1,2 µl MgCl, 2 µl Taq Buffer, 2 µl ileri primer, 2 µl geri primer, 0,2 µl Taq Polymerase'dan oluşan karışım 18'er µl epondorf tüplere dağıtılarak üzerine 2'şer µl cDNA eklendi. Karışım Termal cycl'a konuldu. Burada GAPDH için 95 C'de 5 dakikalık denatürasyon, 50 C'de 30 saniye primer bağlanması ve 72 C'de 1 dakikalık zincir uzaması basamaklarını oluşturacak şekilde 30 döngüden oluşan PCR tepkimesi, caveolin-1 için 95 C'de 5 dakikalık denatürasyon, 55 C'de 30 saniye primer bağlanması ve 72 C'de 1 dakikalık zincir uzaması basamaklarını oluşturacak şekilde 30 döngüden oluşan PCR tepkimesi, ABCA-1 için 95 C'de 5 dakikalık denatürasyon, 55 C'de 30 saniye primer bağlanması ve 72 C'de 1 dakikalık zincir uzaması basamaklarını oluşturacak şekilde 35 döngüden oluşan PCR tepkimesi uygulandı. Sentezlenen örnekler +4 derece soğutucuya kaldırıldı.

Agaroz jel hazırlanması (%1,5'lik):

2,25 gr agaroz 150 ml 1X TAE Buffer içine konup mikrodalga fırında 3-5 dakika ısıtılarak eritildi. Erimiş agaroz içine 6 µl 10 mg/ml etidyum bromür eklendi. Karışım yatay elektroforez sistemi içine dökülüp jelin polimerize olması için 30 dk beklendi. Jel katılaştıktan sonra üzerine 1X TAE Buffer konuldu.

Örneklerin jele yüklenmesi ve elektroforezde yürütülmesi:

%1,5'luk agaroz jele, 10 µl PCR ürünü ile 2 µl loading boyasından oluşan karışım yüklendi. Thermo EC1000-90 elektroforez cihazında 200 V, 60 mA' de 2 saat yürütüldü (Resim 2).



Resim 2: Agaroz jele yüklenmiş PCR örneklerinin EC100-90 elektroforez cihazında yürütülmesi

Jeldeki görüntülerin alınması ve bantların dansitometrik olarak hesaplanması:

PCR ürünleri, agaroz jel elektroforezi ile ayrıldıktan sonra Stratagene Egle Eye® Görüntüleme Sistemi kullanılarak jel görüntüleri elde edildi. PCR ürünlerine ait bantlar LaBworks® analiz programı kullanılarak dansitometrik olarak ölçüldü ve yarı-kantifiye edildi.

ARAÇ-GEREÇ

1. Spektrofotometre- Lambda 25 UV/VIS Spektrometer –PerkinElm
2. Soğuk santrifüj- Hettich Universal 16 R
3. pH metre- InoLab WTW
4. Hassas terazi-Precisa XB 220A
5. Tartı- Acculab
6. Derin dondurucu- Sanyo Ultra Low
7. Spektrofotometrik mikro cam ve kuartz küvet-Hellma
8. Otomatik pipetler- Eppendorf
9. Horizontal elektroforez sistemi-BİORAD
10. Vertikal elektroforez sistemi-BİORAD
11. Tank Electrobloiting Sistem -Owl
12. Gene Genius görüntüleme cihazı- Sygene
13. Otomatik karıştırıcı: Labart

Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

Genel deneysel aşamalarda kullanılan malzemeler:

1. 15 ml Falcon tüp: *Sarstedt*
2. 50 ml Falcon tüp: *Sarstedt*
3. Pipetman P10 0-10 fİl
4. Pipetman P20 0-20 fİl
5. Pipetman P200 0-200 fİl
6. Pipetman P1000 0-1000 fİl
7. 5 ml pipet: *Sarstedt*
8. 10 ml pipet: *Sarstedt*
9. 25 ml pipet: *Sarstedt*
10. 1,5 ml ependorf tüp: *grenier bio-one*
11. 2 ml ependorf tüp: *grenier bio-one*
12. 0,1-10 µl pipet ucu: *Thermo, grenier bio-one*
13. 0,5-200 µl pipet ucu: *Thermo, grenier bio-one*
14. 100-1000 µl pipet ucu: *Thermo, grenier bio-on*
15. 50 ml Falcon tüp: *Corning*
16. Cell Star Flask 100x20 mm: *grenier bio-one*

Hücreden RNA izolasyonu:

TriZOL: *AppliChem*

İsopropanol: *Merck*

Ethanol: *Merck*

Chloroform: *AppliChem*

Diethyl pyrocarbonate (DEPC): *Sigma*

Sodium chloride (NaCl): *Merck*

Potassium chloride (KCl): *Merck*

Di potassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4): *Merck*

Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4): *Merck*

DNA restriksiyonu ve PCR:

Agarose: *Sigma*

Diethyl pyrocarbonate (DEPC): *Sigma*

Ethidium bromide solution: *Sigma*

MOPS: *Sigma*

Bromophenol blue: *Sigma*

EDTA: *Sigma*

Taq polymerase: *fermantas*

dNTPmix: *fermantas*

$MgCl_2$: *fermantas*

Taq Buffer: *fermantas*

Random Hexamer: *fermantas*

5X Reaction Buffer: *fermantas*

RNase inhibitör: *fermantas*

Reverse Transcriptase: *fermantas*

Loadin dye: *fermantas*

100 bp DNA Ladder: *Invitrogen*

Solüsyonlar:**PBS (Phosphate buffer saline) 10X:**

80 gr Sodium chloride (Merck)

2 gr Potassium chloride (Merck)

18 gr Di potassium hydrogen phosphate (Merck)
2,4 gr Potassium dihydrogen phosphate (Merck)
1 lt d H₂O de çözüldü. 1X'e dilüe edildiği zaman pH'ı 7,4'e ayarlandı.

DEPC uygulanmış distile su (1 lt):

999 ml distile su
1 ml Diethyl pyrocarbonate (DEPC) (Sigma)
Karıştırıldıktan sonra 24 saat oda sıcaklığında inkübe edildi ve sonrasında otoklavlandı.

TAE buffer 50X (1 lt):

242 gr Tris amino (Merck)
57,1 ml Acetic acid (Merck)
100 ml 0,5M EDTA pH:8,0 (Sigma)
1lt'ye distile su ile tamamlandı. 1X'e dilüe edilip kullanıldı.

BULGULAR

Plazma parametrelerinin sonuçları:

Tavşanlara altı hafta süre ile %2 kolesterol ile beslenmenin ve rosiglitazon tedavisinin (3mg/kg/gün, oral); plazma total kolesterol, LDL ve HDL düzeyleri üzerine olan etkilerini değerlendirmek amacı ile altıncı hafta sonunda kan örnekleri alındı.

Hem hiperkolesterolemi grubunda hem de tedavi grubunda; 6 haftalık kolesterol diyeti sonucu; plazma total kolesterol, LDL ve HDL düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde artış görüldü ($p<0,001$). Tedavi grubunda, kontrol ve hiperkolesterolemi grubuna göre HDL düzeyinde anlamlı yükselme saptandı (Tablo 8).

Gruplar	Total kolesterol (mg/dl)	LDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)
Kontrol (n:7)	29,6 ± 1,9	5,57 ± 2,4	5,42 ± 0,5
Hiperkolesterolemi (n:7)	1851 ± 163,4	1750 ± 188,2**	21,3 ± 3,7*
Tedavi (n:7)	1665 ± 342,9	649,3 ± 131,6**	32,6 ± 3,9*

Tablo 8: Plazma kolesterol düzeyleri. * $p<0,05$ ** $p<0,001$, Tedavi sonrası plazma LDL seviyesi düşerken HDL seviyesi artmaktadır.

Hayvan ağırlıklarının karşılaştırılması:

Deney hayvanlarının vücut ağırlıkları her hafta düzenli olarak ölçüldü. Hayvanların deney süresince izlenen vücut ağırlıkları her 3 grupta da; çalışma başlangıcı ve altı hafta sonunda değerlendirilmiştir. Gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 9). Grupların hiçbirinde başlangıç kilolarına göre belirgin artış veya düşme gözlenmedi.

	Vücut Ağırlığı(g)	
	Başlangıç	6. hafta sonunda
Kontrol G. (n=7)	2851 ± 58,0 g	2894 ± 68,5 g
Hiperkolesterolemi G. (n=7)	2894 ± 67,0 g	2691 ± 142,2 g
Tedavi G. (n=7)	2943 ± 47,3 g	2986 ± 49,2 g

Tablo 9: Deney hayvanlarının deney başlangıcı ve sonundaki ağırlıkları

PCR sonuçları:

GAPDH

Aort ve her üç grubun KK dokularında GAPDH bantları net olarak gösterildi. (Şekil 8). KK ve pozitif kontrol olarak kullanılan tavşan aort dokularından elde edilen cDNA'lar ile gerçekleştirilecek PCR çalışması öncesinde kullanılacak cDNA karışımında, bir housekeeping gen olan GAPDH'den ne kadar bulunduğunu belirlemek amacıyla özgül primerler (Tablo 10) ile PCR yapıldı. Örneklerdeki GAPDH miktarları dansitometrik olarak hesaplandı ve elde edilen değerler hedef gen olan ABCA-1 ve caveolin-1'e ait PCR sonuçlarının normalizasyonunda kullanıldı (Tablo 11).



Şekil 8: GAPDH mRNA ekspresyonları

Gen adı	İleri primer	Geri primer
GAPDH	5'-CCA CTG GCG TCT TCA CCA	5'-CCT GCT TCA CCA CCT TCT TG
ABCA-1	5'-TCA CCC TCA GGA AGA TGT CA	5'-CCT TTG AGG ACA TGC GGT AT
Caveolin-1	5'ACG AGG TGA ACG AGA AGC	5'-ATG CCA AAG ATG GTA GAC AG

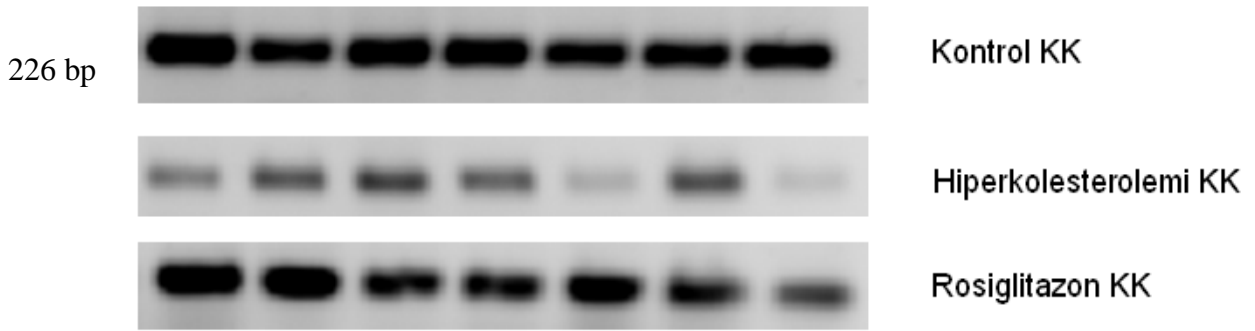
Tablo 10: Tavşan GAPDH, ABCA-1 ve caveolin-1 primer mRNA dizaynları

	Kontrol	Rosiglitazon	Kolesterol	P
ABCA-1	0,96 ± 0,07	1,04 ± 0,08	1,21 ± 0,07	0,07
Caveolin-1	1,13 ± 0,08*	1,09 ± 0,06*	0,73 ± 0,09	0,0023
*: p<0,01				

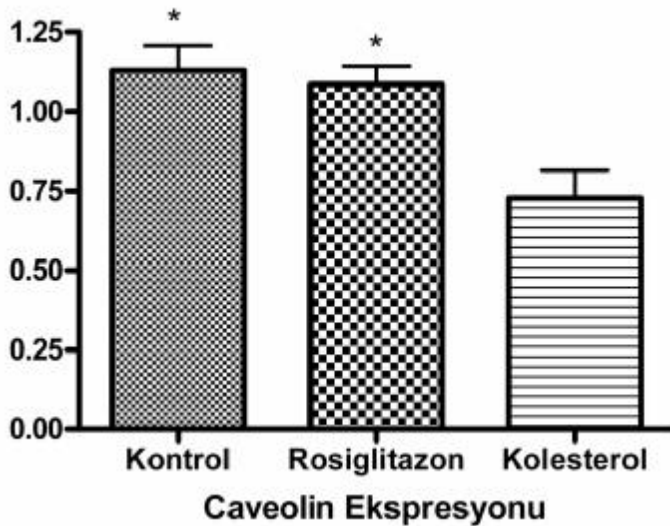
Tablo 11: LabWorks programında hesaplanan ABCA-1 ve caveolin-1'in dansitometrik değerleri

Korpus kavernosum dokusunda caveolin-1 gen ekspresyonu:

Pozitif kontrol olarak kullanılan aort ve KK dokularında caveolin-1 mRNA ekspresyonlarını gösterdik. Literatürde daha önce KK dokusunda caveolin-1 immünfloran mikroskopi yöntemiyle gösterilmiştir. Moleküler düzeyde ilk kez bu çalışma ile KK dokusunda mRNA ekspresyonu gösterildi (Şekil 9). Hiperkolesterolemi grubunda caveolin-1 mRNA ekspresyonunun kontrol grubuna göre belirgin olarak azaldığı görüldü. Tedavi grubunda caveolin-1 mRNA ekspresyonunun hiperkolesterolemi grubuna göre arttığı görüldü. (Şekil 10).



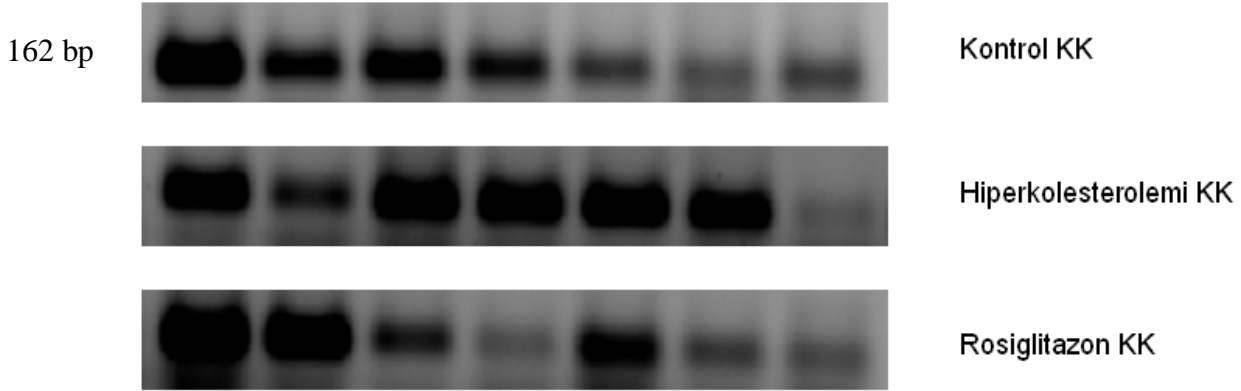
Şekil 9: Gruplardaki caveolin-1 mRNA ekspresyonlarının Stratagene Egle Eye® görüntüleme sistemi kullanılarak alınan agaroz jel görüntüleri.



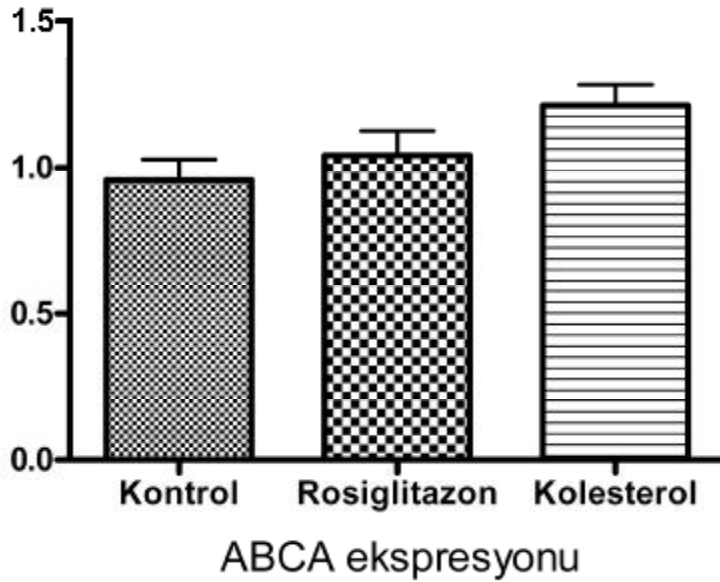
Şekil 10: *: $p < 0.01$ Kontrol ve tedavi (rosiglitazon) grupları ile hiperkolesterolemi grubu arasındaki caveolin-1 mRNA ekspresyon farkları

Korpus kavernosum dokusunda ABCA-1 gen ekspresyonu:

Aort ve KK dokularında ABCA-1 mRNA ekspresyonları gösterildi. İlk kez bu çalışma ile KK dokusunda ABCA-1 mRNA ekspresyonu gösterildi (Şekil 11). Hiperkolesterolemi grubunda ABCA-1 mRNA ekspresyonunun kontrol ve tedavi grubuna göre arttığı görüldü. Ancak istatistiksel olarak anlamlılık yoktu. Tedavi grubunda ABCA-1 mRNA ekspresyonunun hiperkolesterolemi grubuna göre arttığı görüldü (Şekil 12).



Şekil 11: Gruplardaki ABCA-1 mRNA ekspresyonlarının Stratagene Egle Eye® görüntüleme sistemi kullanılarak alınan agaroz jel görüntüleri



Şekil12-Grupların ABCA-1 mRNA ekspresyonları: Gruplar arası fark saptanmadı.

TARTIŞMA

ED tüm dünyada yaygın olarak görülen, hastaların fiziksel ve psikososyal sağlığını bozan, yaşam kalitesini de olumsuz yönde etkileyen bir hastalıktır. Organik sebepler ED'nin gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Organik nedenli ED'de temel patoloji vasküler yapılardaki aterosklerozdur. Endotel disfonksiyonu, aterosklerozun gelişmesindeki en erken bulgudur (141,142). Çalışmalarda aterosklerozun önlenmesi için endotel fonksiyonlarının devamının sağlanması ve endotel disfonksiyonunun düzeltilmesi temel hedef haline gelmiştir. Ama şimdiye kadar endotel disfonksiyonunu düzelten spesifik bir molekül bulunamamıştır. Hiperlipidemi ile endotel disfonksiyonunun ilişkisini konu alan çalışmalarda, hiperlipidemik ortamın endotel disfonksiyonuna ve ateroskleroza neden olduğu gösterilmiştir. Bunun nedeni olarak NO sentezinin azalması gösterilmektedir. NO'deki bu azalmanın nedeni sadece eNOS aktivitesindeki azalma değil aynı zamanda caveola membran yapısındaki bozulmaya da bağlanmıştır (142). LDL miktarındaki artışa paralel olarak Ox-LDL miktarı artmakta bu da endotelyum tabakasından reseptör bağımlı NO salınımında azalmaya neden olmaktadır. Olası açıklama olarak; Ox-LDL'nin eNOS aktivitesini olumsuz yönde etkilediği düşünülmektedir. Blair ve ark. Ox-LDL'nin caveolada kolesterol deplesyonuna neden olarak caveolar membran yapısının bozulmasına yol açtığını, caveolada aynı lokalizasyonda olduğu gösterilen eNOS'ın internal membran alana doğru hareket ettiğini göstermişlerdir (90). Ox-LDL'ye bağlı oluşan bu yer değişikliği normal agonist uyarı ile oluşan yer değiştirme ile farklılıklar gösterir. Ox-LDL'e bağlı oluşan bu etkide eNOS-caveolin kompleksi membran yapısı ile beraber intermembranal alana doğru göç eder. Bu yer değişikliğinin olması durumunda ise herhangi bir agonist uyarı sonrasında eNOS aktive olamaz. Normal şartlarda eNOS'un aktive olması için enzimin hiperfosforile olması gerekmektedir. Ox-LDL varlığında enzim herhangi bir spesifik aktivasyon alanından hiperfosforile olmaz ve NO sentezini gerçekleştiremez (142).

Rosiglitazonun antiaterojenik etkisi değişik vasküler yapılar üzerinde yapılan çalışmalarda gösterilmiş olup vasküler yapının bir parçası olan KK üzerinde çalışılmamıştır. Bizim çalışmamız rosiglitazonun KK dokusu üzerine olan etkilerini gösteren ilk moleküler çalışmadır.

Çalışmamızda hiperkolesterolemik diyet sonrası plazma LDL seviyesinin belirgin olarak yükseldiğini, rosiglitazonun ise LDL seviyesini düşürdüğünü belirledik. HDL seviyesinin ise rosiglitazon tedavisi sonrası yükseldiğini saptadık. Hiperkolesterolemik hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda rosiglitazonun plazma HDL konsantrasyonunu arttırdığı (143), total kolesterol ve LDL konsantrasyonlarını düşürdüğü gösterilmiştir (144). Bazı çalışmalarda ise

rosiglitazonun plazma lipid profili üzerinde önemli düzeyde bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir (140,145). Rosiglitazon, LDL miktarını düşürerek Ox-LDL miktarının düşmesini sağlar. Dolayısıyla Ox-LDL'nin eNOS ve caveolar membran üzerinde oluşturduğu olumsuz etkisinin azalmasına yol açabilir. HDL miktarını arttırarak da, HDL'nin endotelial membran üzerindeki koruyucu etkisi nedeniyle endotel disfonksiyonun oluşmasını önleyerek ateroskleroz gelişimini engelleyebilir. Bu HDL miktarındaki artışın, rosiglitazonun TKT'ünü arttırması sonucu meydana geldiğini düşünmekteyiz. Rosiglitazonun lipid profili üzerine olan bu olumlu etkisi nedeniyle kavernoöz dokuda ve vasküler yapılarda ateroskleroz oluşumunu önleyerek organik ED gelişimini engelleyeceğini öngörebiliriz.

TKT'da birçok mekanizmanın rol oynadığı belirtilmektedir. ABCA-1 ve caveolin-1 TKT'unda rol oynayan iki önemli moleküldür (146). ABCA-1'in büyük çoğunluğu hücre membranındaki caveolada bulunurken az miktarda stoplazmada bulunur. Caveolin-1'in ise hücre membranındaki caveolada ve stoplazmada ABCA-1 ile aynı lokalizasyonda yer aldığı immünfloresan mikroskopide gösterilmiştir. İki proteinin etkileşiminin bozulması TKT'un bozulmasına (132) ve vasküler yapılarda aterosklerozun gelişmesine neden olmaktadır. Yapılan birçok çalışmada caveolin-1'in hücre içinde sentezlenen kolesterolün hücre yüzeyine taşınmasını sağladığı gösterilmiştir (147,148). Caveolin-1'den yoksun hücreye caveolin-1 transenfeksiyonu sonrası kolesterol transportunun hücre yüzeyinde belirgin olarak arttığı gösterilmiştir. Hücre içi kolesterol ve LDL artışı sonrası caveolin-1 artmakta ve kolesterolün caveolaya taşınmasını sağlamaktadır (149). Ox-LDL özellikle subsellüler caveolin-1'i daha fazla etkileyerek TKT'un bozulmasına ve caveoladaki kolesterol içeriğinin değişmesine neden olmaktadır (150). Wei-Wen Lin ve arkadaşlarının tavşanlarda yaptığı bir çalışmada 12 haftalık hiperkolesterolemik diyet sonrası torasik aortada caveolin-1 ekspresyonunun 5. haftada arttığı, düz kas hücre proliferasyonunun azaldığı 8. ve 12. haftalarda ise caveolin-1 ekspresyonunun azaldığını, hücre proliferasyonunun arttığını, hiperkolesterolemi grubunda eNOS aktivitesinin azaldığını göstermişlerdir (151). ED modelinde, yaşlı ratlarda KK dokusunda caveolin-1 ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (152). Hiperkolesterolemik ED rat modelinde bitkisel ilaçların erektil yanıtı düzelttiği ve aynı zamanda caveolin-1 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (153). A. Elizabeth Linder ve arkadaşları tarafından caveolin-1 ve Soluble Guanilat Siklazın (sGC) sinüzoidal endoteliumda aynı lokalizasyonda olduğu immünfloresan mikroskopisi ile gösterilmiştir. Bu çalışmada caveolar yapıyı bozan metil- β -siklodekstrinin intrakavernoöz olarak verilmesi sonucu KK'daki endotelial gevşeme yanıtının bozulduğunu bildirilmiştir (154).

PPAR γ reseptör agonistleri, caveolin-1 ekspresyonunu ve TKT'ünü arttırmaktadırlar. Köpüksü hücrelerde, monosit hücrelerine göre caveolin-1 ekspresyonu belirgin olarak azalırken PPAR γ ve PPAR α caveolin-1 ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (155). Diğer bir çalışmada ise rosiglitazonun THP-1 makrofajlarda caveolin-1 ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (138). Çalışmamızda, hiperkolesterolemik diyet sonrası KK dokusunda caveolin-1 mRNA ekspresyonunun belirgin olarak azaldığını, rosiglitazon alan grupta ise hiperkolesterolemi grubuna göre arttığını saptadık. Rosiglitazon, vasküler sistemin bir parçası olan KK dokusunda TKT'ünde önemli rol oynayan caveolin-1 miktarının arttırarak hücre içi kolesterol miktarının düşmesini ve böylelikle Ox-LDL miktarının da azalmasını sağlayacaktır. Ox-LDL miktarının azalması caveolar yapının korunmasını, eNOS enzim aktivitesinin artmasını ve NO yıkımının azalmasına neden olacaktır. Böylelikle KK'daki endotel fonksiyonun korunmasını sağlayarak ereksiyonu koruması beklenir. Rosiglitazon sadece TKT'ünü arttırmakla kalmayıp aynı lokalizasyonda bulunan fakat ilişkisi net olarak konulamayan caveolin-1 ile sGC bütünlüğü koruyarak erektil fonksiyonun korunmasını sağlayacağı öngörüsündeyiz.

TKT'nun diğer önemli molekülü ABCA-1'in gen transkripsiyonuna "nükleer hormon reseptörü" (Liver X receptor-LXR) aracılık eder. ABCA-1 transkripsiyonunun başlaması için LXR'nün Retinoid X reseptörü (RXR) ile zorunlu bir heterodimer oluşturmaktadır. LXR, hücrel kolesterol düzeyleri yükseldikçe artış gösteren oksisteroller tarafından etkinleşmektedir (156). ABCA-1 gen mutasyonu ile karakterize Tangier hastalığında kolesterol ve fosfolipid geri transportu bozukluğu ve plazma HDL yokluğu sonucunda vasküler yapılarda yaygın aterosklerotik lezyonlar oluşmaktadır (157). Makrofajlardaki ABCA-1 aktivite eksikliği sonucu makrofajların köpüksü hücreye dönüştüğü ve ateroskleroz geliştiği gösterilmiştir (158). HUVEC (İnsan umbilikal ven endotel hücresi) ve HAEC (İnsan aort endotel hücresi) hücre kültür ortamına, kolesterol ve LDL eklenmesi sonrası ABCA-1'in mRNA ve protein ekspresyonlarının arttığını göstererek hücre içerisindeki artmış kolesterolün taşınmasında ABCA-1 miktarının arttığını, Ox-LDL'nin ise ABCA-1 ve LXR ekspresyonunu azalttığını saptamışlardır (159). Aterosklerotik plakta normal aort dokusuna göre ABCA-1 protein ekspresyonunun belirgin olarak azaldığı fakat mRNA ekspresyonunun değişmediği gösterilmiştir (160). PPAR γ agonistleri LXR α ekspresyonunu uyardığı ve bundan dolayı LXR α reseptörleri tarafından ABCA-1 transkripsiyonunun arttığı gösterilmiştir (161,162,163). Invitro çalışmalar PPAR γ agonistlerinin, insan makrofajlarında ve köpüksü hücrelerde ABCA-1 ekspresyonunu arttırarak kolesterol eflüsünü arttırdığı gösterilmiştir (8).

Birçok çalışmada makrofaj ve endotel hücre kültürlerinde PPAR γ agonistlerinin ABCA-1 mRNA ve protein ekspresyonlarının arttığı ortaya konulmuştur.

KK dokusunda ABCA-1 mRNA ekspresyonunu ilk kez PCR yöntemiyle göstermeyi başardık. Bizim çalışmamızda ABCA-1 mRNA ekspresyonlarının, hiperkolesterolemi grubunda kontrol ve tedavi grubuna göre, tedavi grubunun ise kontrol grubuna göre yüksek olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlılık olmadığını saptadık. Albrecht C. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda PPAR γ ekspresyonunun normal arteriyel dokuya göre aterosklerotik dokuda azaldığı, ABCA-1 ve LXR α mRNA ekspresyonlarının arttığı (146), ABCA-1 protein ekspresyonunun ise azaldığı (164) saptanmıştır. Bizim çalışmamızdaki ABCA-1 mRNA ekspresyonunun artışı hiperkolesteroleminin oluşturduğu aterosklerotik plakta ABCA-1 protein ekspresyonunun azalmasını yol açtığı oxisterolden zengin aterosklerotik mikroçevrenin tekrar LXR α reseptörünün uyarılması sonucu meydana geldiğini düşünüyoruz. Rosiglitazonun hiperkolesterolemi grubuna göre ABCA-1 mRNA ekspresyonunu azaltması; protein ekspresyonunu arttırarak LXR α üzerine olan negatif geribildirim sonucu meydana gelmiş olabileceği düşüncesindeyiz. Ayrıca tedavi grubunda plazma LDL seviyesinin düşmesi, HDL seviyesinin artması da TKT'unda rol oynayan ABCA-1 protein ekspresyonunun artmış olabileceğinin önemli bir bulgusudur. Bizim çalışmamızda sadece mRNA ekspresyonlarına bakılmıştır. Rosiglitazonun KK dokusundaki ABCA-1 üzerindeki etkisinin ayrıntılı bir şekilde ortaya konulması için ABCA-1'in protein ekspresyonunun incelenmesine yönelik ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Rosiglitazon TKT'nunu arttırarak plazma LDL miktarını düşürmekte ve HDL miktarını arttırmaktadır. Rosiglitazonun bu etkileri nedeniyle ortamdaki fazla LDL'nin neden olduğu oksidatif stresin azalması beklenebilir. HDL miktarının artması caveolar membran yapısının korunmasını sağlayarak eNOS enzim aktivitesinin artmasına yol açabilir. Rosiglitazon, lipid profilindeki bu olumlu etkileri sayesinde, endotel ve erektil fonksiyonun korunmasını sağlayabilir.

Bu çalışma ile KK dokusunda ABCA-1 ilk defa gösterilmiştir. Caveolin-1 ise KK dokusunda ilk defa moleküler düzeyde gösterilmiştir. Rosiglitazon KK dokusunda ABCA-1 mRNA ekspresyonunu azaltmakta, caveolin-1 mRNA ekspresyonunu arttırmaktadır. TKT'da önemli rol oynayan ve aynı lokalizasyonda bulunan ABCA-1 ve caveolin-1'in TKT'daki etkileşimini ortaya koymak için bu moleküllerin protein ekspresyonlarına bakılması gerekmektedir. Ayrıca ereksiyonun ve endotel fonksiyonun devamını sağlayan NO ile bunun sentezinde rol oynayan eNOS enziminin bu moleküllerle olan ilişkisini ortaya koymak için daha ileri moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Chen J Z, Zhang F R, Tao Q M, Wang X X et al: Number and activity of endothelial progenitor cells from peripheral blood in patients with hypercholesterolemia: *Clinical Science* 107: 273-280, 2004
2. Koga T, Kwan P, Zubik L, Ameho C et al: Vitamin E supplementation suppresses macrophage accumulation and endothelial cell expression of adhesion molecules in the aorta of hypercholesterolemic rabbits: *Atherosclerosis* 176(2): 265-272, 2004
3. Kim JH, Klyachkin ML, Svendsen E, Davies MG et al: Experimental hypercholesterolemia in rabbits induces cavernosal atherosclerosis with endothelial and smooth muscle cell dysfunction: *J Urol* 151(1): 198-205, 2004
4. Laufs U: Beyond lipid lowering effects of statins on endothelial nitric oxide: *Eur J Clin Pharmacol* 58: 719-731, 2003
5. Moroe H, Fujii H, Honda H, Arai K et al: Characterization of endothelium dependent relaxation and modulation by treatment with pioglitazone in the hypercholesterolemic rabbit renal artery: *Eur J Pharmacol* 497: 317-325, 2004
6. Hsueh W A, Law R E: PPAR and atherosclerosis: *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21: 1891-1895, 2001
7. Michel J B, Feron O, Sase K, Prabhakar P et al: Caveolin versus calmodulin: counterbalancing allosteric modulators of endothelial nitric oxide synthase: *J Biol Chem* 272: 25907-25912, 1997
8. Chinetti G, Lestavel S, Bocher V, Remaley A T et al: PPAR- and PPAR- activators induce cholesterol removal from human macrophage foam cells through stimulation of the ABCA1 pathway: *Nat Med* 7:53-58, 2001
9. Chao W T, Tsai S H, Lin Y C, Lin W W et al: Cellular localization and interaction of ABCA1 and caveolin-1 in aortic endothelial cells after HDL incubation: *Biochem Biophys Res Commun* 332: 743-749, 2005
10. Calnek D S, Mazzella L, Roser S, Roman J et al: Peroxisome-proliferator activated receptor ligands increase release of nitric oxide from endothelial cells: *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23: 52-57, 2003
11. NIH Consensus Conference. Impotence. NIH Consensus Development Panel on Impotence. *Jama*, 1993; 270: 83-90.
12. Montague D.K., Barada J.H., Belker A.M. et al. 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.

13. Feldman H.A., Goldstein I., Hatzichriston D.G. et al: Impotence and its medical and psychosocial correlates :results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Urol*, 1994; 151: 54-61.
14. Akkus E., Kadioglu A., Esen A. et al: Prevalence and correlates of erectile dysfunction in Turkey: a population-based study. *Eur Urol*, 2002; 41: 298-304.
15. Wessells H, Lue TF, McAninch JW: Penile length in the flaccid and erect states: Guidelines for penile augmentation. *J Urol* 1996; 156:995-997.
16. Cabpbell-Walsh Urology: sekizinci baskı, sayfa74
17. Hsu GL, Brock GB, Martinez-Pineiro L et al: The three-dimensional structure of the tunica albuginea: anatomical and structural levels. *Int J Impot Res*, 4:117-132, 1992.
18. Brock G, Hsu G-L, Nunes L et al: The anatomy of the tunica albuginea in the normal penis and in Peyronie's disease. *J Urol*, 157:276-281, 1997.
19. Cabpbell-Walsh Urology: sekizinci baskı, sayfa 1593
20. Anderson K-E, Wagner G: Physiology of erection. *Physiol Rev*, 75:191-236,1995.
21. 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)
22. 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), pp59-72.
23. Carrier S., Brock G., Kour NW et al: Pathophysiology of erectile dysfunction. *Urology*, 1993; 42: 468-481
24. Saenz de Tejada I., Moroukian P., Tessier J. et al: Trabecular smooth muscle modulates the capacitor function of the penis. Studies on a rabbit model. *Am J Physiol*, 1991; 260: H1590-1595.
25. Udelson D., Nehra A., Hatzichristou D.G. et al: 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.
26. Lerner S.E., Melman A., Christ G.J: A review of erectile dysfunction: new insights and more questions. *J Urol*, 1993; 149: 1246-1255.
27. Lue T.F., Tanagho E.A.: Hemodynamics of erection. Baltimore.: Williams&Wilkins, pp. 28-38, 1992

28. Zhao W., Christ G.J: 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.
29. Kirkeby H.J., Forman A., Sorensen S et al: Alpha-adrenoceptor function in isolated penile circumflex veins from potent and impotent men. *J Urol*, 1989; 142: 1369-1371.
30. Newman H.F., Tchertkoff V: Penile vascular cushions and erection. *Invest Urol*, 1980; 18: 43-45.
31. Lue T.F.: 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 et al. Philadelphia: Saunders, vol. 38, pp. 1157-1170., 1998
32. Tejada I.S: In the physiology of erection, signposts to impotence. *Contemporary Urol*, 1992; 7: 52-58.
33. Andersson K.E: Pharmacology of penile erection. *Pharmacol Rev*, 2001; 53: 417-450.
34. Mills T.M., Chitale K., Lewis R.W: Vasoconstrictors in erectile physiology. *Int J Impot Res*, 2001; 13 Suppl 5: S29-34.
35. Burnett A.L: Role of nitric oxide in the physiology of erection. *Biol Reprod*, 1995; 52: 485-489.
36. 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.
37. Giuliano F.A., Rampin O., Benoit G et al: Neural control of penile erection. *Urol Clin North Am*, 1995; 22: 747-766.
38. Burnett A.L: Nitric oxide in the penis: physiology and pathology. *J Urol*, 1997; 157: 320-324.
39. Bloch W., Klotz T., Sedlacek P et al: 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.
40. Moncada S., Higgs E. A: Molecular mechanisms and therapeutic strategies related to nitric oxide. *FASEB J*, 1995; 9: 1319-1330.
41. Ignarro L.J., Bush P.A., Buga G.M et al: Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990; 170: 843-850.

42. Rajfer J., Aronson W.J., Bush P.A et al: Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission. *N Engl J Med*, 1992; 326: 90-94.
43. Chitaley K., Webb R.C., Mills T.M: RhoA/Rho-kinase: a novel player in the regulation of penile erection. *Int J Impot Res*, 2001; 13: 67-72.
44. Wu X., Haystead T.A., Nakamoto R.K et al: 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.
45. 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
46. Michal V, Ruzbarsky V: Histological changes in the penile arterial bed with aging and diabetes. In Zorngniotti AW, Rossi G (eds): *Vasculogenic impotence: Proceedings of the First International Conference on Corpus Cavernosum Revascularization*. Springfield,111, Charles C Thomas, 1980, pp 113-119.
47. Azadzoï KM, Goldstein I. Erectile dysfunction due to atherosclerotic vascular disease: the development of an animal model. *J Urol*, 147: 1675-1681, 1992
48. Azadzoï KM, Park K, Andry C et al: Relationship between cavernosal ischemia and corporal veno-occlusive dysfunction in an animal model. *J Urol* 157:1011-1017, 1997.
49. Nehra A, Azadzoï KM, Moreland RB et al: Cavernosal expandability is an erectile tissue mechanical property which predicts trabecular histology in an animal model of vasculogenic erectile dysfunction. *J Urol* 159: 2229-2236, 1998
50. Azadzoï KM, Goldstein I, Sroky MB et al: Mechanisms of ischemia-induced cavernosal smooth muscle relaxation impairment in a rabbit model of vasculogenic erectile dysfunction. *J Urol*, 160:2216-2222,1998.
51. Abicht JH. Testing the autonomic system. In:Jonas U, Thon WF, Stief CG, editors. *Erectile dysfunction*. Berlin: Springer Verlag , 187-194,1991.
52. Aboseif S, Shinohara K, Borirakchanyavat S ve ark. The effect of cryosurgical ablation of the prostate on erectile function. *Br J Urol*, 80:918-922,1997.
53. Sachs BD, Meisel RL: The physiology of male sexual behavior. In: Knobil E, Neill JD, Ewing LL, et al ed. *The Physiology of Reproduction*, New York: Raven Press; 1988:1393-1423
54. Wermuth L, Stenager E: Sexual aspects of Parkinson's disease. *Semin Neurol* 1992; 12:125-127.

55. Mulligan T, Schmitt B: Testosterone for erectile failure. *J Gen Intern Med* 1993; 8:517-521.
56. Granata AR, Rochira V, Lerchl A et al: Relationship between sleep-related erections and testosterone levels in men. *J Androl* 1997; 18:522-527.
57. 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.
58. Penson DF, Ng C, Cai L, et al: Androgen and pituitary control of penile nitric oxide synthase and erectile function in the rat. *Biol Reprod* 1996; 55:567-574.
59. Wespes E, Amar E, Hatzichristou F et al: EAU Guidelines on erectile dysfunction, 2006 edition.
60. Anafartalar K., Bedük Y., Arıkan N. Temel Üroloji, Üçüncü baskı, s1031-1038.
61. Neal CR, Michel CC: Transcellular openings through microvascular walls in acutely inflamed frog mesentery. *Exp Physiol* 77:917-20, 1992.
62. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium - derived relaxing factor. *Nature*, 327: 524-26, 1987.
63. Gardiner SM, Campton AM, Bennett T et al: Regional hemodynamic changes during oral ingestion of N- monomethyl-L-Arginin methyl ester in conscious Brattleboro rats. *Br J Pharmacol* 101:10-12, 1990.
64. Pahl U, Holtz J, Busse R et al: Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo. *Hypertension* 8: 27-44, 1986.
65. Fishman AP: Endothelium: a distributed organ of diverse capabilities. *Ann NY Acad Sci* 1982; 401: 1-8.
66. Stamler JS, Singel DJ, Loscalzo J: Biochemistry of nitric oxide and its redoxactivated forms. *Science* 1992; 258: 1898-1902.
67. Arnold WP, Mittal CK, Katsuki S, Murad F: Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3', 5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74: 3203-3207.
68. Fitz Gerald GA, Pedersen AK, Patrono C: Analysis of prostacyclin and thromboxane biosynthesis in cardiovascular disease. *Circulation* 1983; 67: 1174-1177.
69. Stamler JS, Vaughan DE, Loscalzo J: Synergistic disaggregation of platelets by tissue-type plasminogen activator, prostaglandin E1, and nitroglycerin. *Circ Res* 1989; 65: 796-804.

70. Garland CJ, Plane F, Kemp BK, Cocks TM: Endothelium-dependent hyperpolarization: a role in the control of vascular tone. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16:23–30.
71. Levin ER: Endothelins. *N Engl J Med* 1995; 333: 356–363.
72. Haynes WG, Webb DJ: Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet* 1994; 344: 852–854.
73. Pigazzi A, Heydrick S, Folli F, Benoit S et al. Nitric oxide inhibits thrombin receptor-activating peptide-induced phosphoinositide 3-kinase activity in human platelets. *J Biol Chem* 1999; 274: 14368–14375.
74. Kubes P, Suzuki M, Granger DN: Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA*: 1991; 88: 4651–4655.
75. De Caterina R, Libby P, Peng HB, et al: Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest*, 1995; 96: 60–68.
76. Marks DS, Vita JA, Folts JD et al: Inhibition of neointimal proliferation in rabbits after vascular injury by a single treatment with a protein adduct of nitric oxide. *J Clin Invest* 1995; 96: 2630–2638.
77. Grag UC, Hassid A: Nitric oxide (NO) and 8-bromo-cyclic GMP inhibits mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1989, 83: 1974–1978.
78. Fukuo K, Inoue T, Morimoto S et al: Nitric oxide mediates cytotoxicity and basic fibroblast growth factor release in cultured vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* , 1995; 95: 669–672.
79. Mendelsohn ME, O'Neill S, George D, Loscalzo J: Inhibition of fibrinogen binding to human platelets by S-nitroso-N-acetylcysteine. *J Biol Chem* 1990; 265:19028–19034.
80. Simari RD, San H, Rekhter M et al: Regulation of cellular proliferation and intimal formation following balloon injury in atherosclerotic rabbit arteries. *J Clin Invest* 1996; 98: 225–235.
81. Garcia-Cardena F, Fan R, Stern DF, Liu J et al: Endothelial nitric oxide synthase is regulated by tyrosine phosphorylation and interacts with caveolin-1. *J Biol Chem* 1996; 271: 27237–27240.
82. Rubanyi GM: The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22: S1–S14.

83. TTB, İzmir Tabip Odası, Tıpta Temel Bilimler Kolu, Sonbahar Okulu. Endotel, 16-21 Ekim 1994, Seferihisar-İzmir
84. Freiman PC, Mitchell GG, Heistad DD et al: Atherosclerosis impairs endothelium-dependent vascular relaxation to acetylcholine and thrombin in primates. *Circ Res* 1986; 58: 783–789.
85. Zeiher AM, Drexler H, Wollschlager H, Just H: Modulation of coronary vasomotor tone in humans. Progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991; 83: 391–401.
86. Zeiher AM, Drexler H, Saurbier B, Just H: Endothelium-mediated coronary blood flow modulation in humans: effects of age, atherosclerosis, hypercholesterolemia and hypertension. *J Clin Invest* 1993; 92: 652–662.
87. Adams MR, Robinson J, McCredie R et al: Smooth muscle dysfunction occurs independently of impaired endothelium-dependent dilation in adults at risk of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 123–127.
88. Cernacek P, Stewart DJ: Immunoreactive endothelin in human plasma: marked elevations in patients in cardiogenic shock. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 161:562–567.
89. Lopez JA, Armstrong ML, Piegors DJ, Heistad DD: Vascular responses to endothelin-1 in atherosclerotic primates. *Arteriosclerosis* 1990; 10: 1113–1118.
90. Blair A, Philip W. Shaul, Ivan S. et al. Smart: Oxidized Low Density Lipoprotein Displaces Endothelial Nitric-oxide Synthase (eNOS) from Plasmalemmal Caveolae and Impairs eNOS Activation. *The Journal Of Biological Chemistry*; 1999Vol. 274, No. 45, Issue of November 5, pp. 32512–32519.
91. Adams MR, Kinlay S, Blake GJ, Orford JL et al: Atherogenic lipids and endothelial dysfunction: mechanisms in the genesis of ischemic syndrome. *Annu Rev Med* 2000; 51: 149–167.
92. Arnman V, Nilsson A, Stemme S, Risberg B et al: Expression of plasminogen activator inhibitor 1 mRNA in healthy, atherosclerotic and thrombotic human arteries and veins. *Thromb Res* 1994; 76: 487–499.
93. Hamsten A: Hemostatic function and coronary disease. *N Engl J Med* 1991; 332: 677–678.
94. Szczeklik A, Musial J, Undas A et al: Inhibition of thrombin generation by aspirin is blunted in hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 948–954.

95. Davi G, Ganci A, Averna M et al: Thromboxane biosynthesis, neutrophil and coagulation activation in type IIa hypercholesterolemia. *Thromb Haemost* 1995; 74: 1015–1019.
96. Fleming I, Busse R: Signal transduction of eNOS activation. *Cardiovascular Res* 1999; 43: 532–541.
97. Abe J, Berk BC: Reactive oxygen species as mediators of signal transduction in cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med* 1998; 8: 59–64.
98. Freeman BA, Crapo JD: Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412–426.
99. Koppenol WH, Moreno JJ, Pryor WA, et al: Peroxynitrite, a cloaked oxidant formed by nitric oxide and superoxide. *Chem Res Toxicol* 1992; 5: 834–842.
100. Landmesser U, Dikalov S, Price SR et al: Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension. *J Clin Invest* 2003; 111: 1201–1209.
101. Griendling KK, FitzGerald GA: Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: Basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation* 2003; 108: 1912–1916.
102. Anderson TJ, Meredith IT, Charbonneau F et al: Endothelium-dependent coronary vasomotion relates to the susceptibility of LDL to oxidation in humans. *Circulation* 1996; 93: 1647–1650.
103. Hernandez-Perera O, Perez-Sala D et al: Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelium-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1998; 101: 2711–2719.
104. Bode-Böger SM, Böger RH, Kienke S et al: Elevated L-arginine/ dimethylarginine ratio contributes to enhanced systemic NO production by dietary L-arginine in hypercholesterolemic rabbits. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 219: 598–603.
105. Vallance P, Leone A, Calver A et al: Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572–575.
106. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S: Comparative pharmacology of endothelial-derived relaxing factor and prostacyclin in platelets. 1987; *J Pharmacol* 92: 181–187.
107. Boulanger CM, Tanner FC, Béa ML et al: Oxidized low density lipoproteins induce mRNA expression and release of endothelin from human and porcine endothelium. *Circ Res* 70: 1992; 1191–1197.

108. Kita T, Kume N, Minami M et al. Role of Oxidized LDL in atherosclerosis. *Ann NY Acad Sci* 2001; 947: 199–206.
109. Palmer HJ, Paulson KE: Reactive oxygen species and antioxidants in signal transduction and gene expression. *Nutr Rev* 1997; 55: 353–361.
110. Sundaresan M, Yu ZX, Ferrans VJ, Irani K et al: Requirements for generation of H₂O₂ for PDGF signal transduction. *Science* 1995; 270: 296–299.
111. Cybulsky MI, Gimbrone MA Jr: Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* 1991; 251: 788–791.
112. Kume N, Cybulsky MI, Gimbrone MA: Lysophosphatidylcholine, a component of atherogenic lipoproteins, induces mononuclear leukocyte adhesion molecules in cultured human and rabbit arterial endothelial cells. *J Clin Invest* 1992; 90: 1138–1144.
113. Lopez-Garcia E, Schulze MB, Meigs JB et al: Consumption of trans fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction. *Nutrition* 2005; 135: 562–566.
114. De Caterina R, Liao JK, Libby P: Fatty acid modulation of endothelial activation. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 213S–223S.
115. Wallace FA, Miles EA, Evans C et al: Dietary fatty acids influence the production of Th1-but not Th2-type cytokines. *J Leuk Biol* 2001; 69: 449–457.
116. Griending KK, Sorescu D, Lassègue B, Ushio-Fukai M: Modulation of protein kinase activity and gene expression by reactive oxygen species and their role in vascular physiology and pathophysiology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:2175–2183.
117. Sowers JR: Hypertension, angiotensin II, and oxidative stress. *N Engl J Med* 2002; 346: 1999–2001.
118. Drexler H: Factors involved in the maintenance of endothelial function. *Am J Cardiol* 1998; 82: 3S–4S.
119. Langheinrich AC, Bohle RM: Atherosclerosis: humoral and cellular factors of inflammation. *Virchows Arch* 2005; 446: 101–111.
120. Brown D, Rose JK: Sorting of GPI-anchored proteins to glycolipid-enriched membrane subdomains during transport to the apical cell surface. *Cell* 68: 533–544, 1992.
121. Schnitzer J, McIntosh D, Dvorak AM: Separation of caveolae from associated microdomains of GPI-anchored proteins. *Science* 269: 1435–1439, 1995.

122. Dietzen DJ, Hastings WR, Lublin DM: Caveolin is palmitoylated on multiple cysteine residues. Palmitoylation is not necessary for localization of caveolin to caveolae. *J Biol Chem* 270: 6838–6842, 1995.
123. Garcia-Cardena G, Oh P, Liu J at al: Targeting of nitric oxide synthase to endothelial cell caveolae via palmitoylation: Implications for nitric oxide signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 6448–6453, 1996.
124. Venema RC, Sayegh HS, Arnal J-F: Identification, characterization, and comparison of the calmodulin-binding domains of the endothelial and inducible nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 270: 14705–14711, 1995.
125. Fielding CJ, Fielding PE: Intracellular cholesterol transport. *J Lipid Res.* 1997 Aug;38(8):1503-21.
126. Frank P.G, Galbiati F, Volonte D at al: Influence of caveolin-1 on cellular cholesterol efflux mediated by high-density lipoproteins, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 280: C1204–C1214, 2001.
127. Martin-Morales A, Sanchez-Cruz JJ, Saenz de Tejada I at al: Prevalence and independent risk factors for erectile dysfunction in Spain: results of the Epidemiologia de la Disfuncion Erectil Masculina study. *J Urol*; 166: 569–74, 2001.
128. Lue T. F: Erectile dysfunction. *N Engl J Med*, 342: 1802, 2000.
129. Fournier, G. R., Jr., Juenemann, K.-P., Lue, T. F. and Tanagho, E. A.: Mechanisms of venous occlusion during canine penile erection: an anatomic demonstration. *J Urol*, 137: 163, 1987.
130. Knight B.L.. ATP-binding cassette transporter A1: regulation of cholesterol efflux. *Biochemical Society Transactions*. Volume 32, part 1, 2004.
131. Attie, A. D. *et al.* *J. Lipid Res.* 2001;42:1717-1726
132. Lin Y-C, Ma C, Hsu W-H et al: Molecular interaction between caveolin-1 and ABCA1 on high-density lipoprotein-mediated cholesterol efflux in aortic endothelial cells. *Cardiovascular Research* 75: 575–583, 2007.
133. Yki-Järvinen H, M.D. F.R.C.P. Thiazolidinediones. *N Engl J Med*:351:1106-18, 2004.
134. Dubois M, Pattou F, Kerr-Conte J, et al. Expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) in normal human pancreatic islet cells. *Diabetologia*: 43:1165-1169, 2000.

135. Miyazaki Y, Glass L, Triplitt C, et al. Effect of rosiglitazone on glucose and nonesterified fatty acid metabolism in Type 2 diabetic patients. *Diabetologia* 44:2210-2219,2001
136. Blaschke F, Spanheimer R, Khan M et al. Vascular effects of TZDs: New implications. *Vascular Pharmacology* 45 (2006) 3–18
137. Law RE, Meehan WP, Xi XP, et al: Troglitazone inhibits vascular smooth muscle cell growth and intimal hyperplasia. *J Clin Invest.* 1996;98:1897–1905.
138. Llaverias G, Vázquez-Carrera M, Sánchez RM et al: Rosiglitazone upregulates caveolin-1 expression in THP-1 cells through a PPAR-dependent mechanism: *Journal of Lipid Research* 2004, Volume 45.
139. Calkin AC, Forbes JM, Smith CM et al: Rosiglitazone Attenuates Atherosclerosis in a Model of Insulin Insufficiency Independent of Its Metabolic Effects: *Thromb Vasc Biol.* 2005;25:1903-1909.
140. Tao L, Liu HR, Gao E et al. Antioxidative, Antinflammatory, and Vasculoprotective Effects of a Peroxisome Proliferator Activated Receptor Agonist in Hypercholesterolemia *Circulation* 2003 108:2805-2811.
141. Kendirci M, Nowfar S, Hellstrom WJ: The impact of vascular risk factors on erectile function: *Timely Top Med Cardiovasc Dis* 2005. April 1;9:E11.
142. Lin MT, Yen ML, Lin CY, Kuo ML: Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis by resveratrol through interruption of Src-dependent vascular endothelial cadherin tyrosine phosphorylation. *Mol Pharmacol*; 2003; 64:1029– 36.
143. Johansen OE, Jørgensen AP: Glitazone treatment of type 2 diabetes mellitus, *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2006 Aug 10;126(15):1928-30.
144. Wang ZH, Luo F, Liu XM: Effect of PPAR γ agonist rosiglitazone on regression of the atherosclerotic plaques in rabbits. *Yao Xue Xue Bao.* 2005 Nov;40(11):1051-3.
145. Liu HR, Tao L, Gao E: Anti-apoptotic effects of rosiglitazone in hypercholesterolemic rabbits subjected to myocardial ischemia and reperfusion. *Cardiovascular Research* 62 2004,135– 144.
146. Soumian S, Gibbs R, Davies A: mRNA expression of genes involved in lipid efflux and matrix degradation in occlusive and ectatic atherosclerotic disease. *J. Clin. Pathol.* 2005;58:1255-1260.

147. Conrad PA, Smart EJ, Ying YS et al: Caveolin cycles between plasma membrane caveolae and the Golgi complex by microtubule-dependent and microtubule-independent steps. *J. Cell Biol.* 1995.131:1421–1433.
148. Liu P, Li WP, Machleidt T et al: Identification of caveolin-1 in lipoprotein particles secreted by exocrine cells. *Nat. Cell Biol.* 1:369–375. 1999
149. Zhu Y, Liao HL, Wang N et al: Lipoprotein promotes caveolin-1 and Ras translocation to caveolae: role of cholesterol in endothelial signaling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2465– 70.
150. Hoekstra M, Kruijt JK, Van Eck M et al: Specific gene expression of ATP-binding cassette transporters and nuclear hormone receptors in rat liver parenchymal, endothelial, and Kupffer cells. *J Biol Chem* 2003;278:25448– 53.
151. Lin W, Lin Y-C, Chang T-Y et al :Caveolin-1 Expression Is Associated with Plaque Formation in Hypercholesterolemic Rabbits; *Wei Journal of Histochemistry & Cytochemistry*: 2006 Volume 54(8): 897–904.
152. Bakircioglu ME, Sievert KD, Nunes L et al: Decreased trabecular smooth muscle and caveolin-1 expression in the penile tissue of aged rats. *J Urol* 166: 734–738, 2001.
153. Bakircioglu ME, Hsu K, El-Sakka A et al: Effect of a Chinese herbal medicine mixture on a rat model of hypercholesterolemic erectile dysfunction. *J Urol* 164: 1798–1801, 2000.
154. Elizabeth LA, Leite R, Lauria K et al. Penile erection requires association of soluble guanylyl cyclase with endothelial caveolin-1 in rat corpus cavernosum. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R1302–R1308, 2006.
155. Xue ZX, Zhi GBZ :Effects of peroxisome proliferators activated receptors on caveolin-1 expression in foam cells: 2007 Jul;35(7):661-5.
156. Chawla A, Boisvert WA, Lee CH et al: PPAR gamma-LXR-ABCA1 pathway in macrophages is involved in cholesterol efflux and atherogenesis. *Mol. Cell* 7, 161–171, 2001.
157. Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee SM et al: Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high density lipoprotein deficiency. *Nat Genet.* 1999;22:336 –345.
158. Van Eck M, Bos IS, Kaminski WE et al: Leukocyte ABCA1 controls susceptibility to atherosclerosis and macrophage recruitment into tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:6298–6303.

159. 159.Zhu Y, Liao H, Xie X et al: Oxidized LDL downregulates ATP-binding cassette transporter-1 in human vascular endothelial cells via inhibiting liver X receptor (LXR): *Cardiovascular Research* 68 (2005) 425 – 432
160. Forcheron F, Legedz L, Chinetti G: Genes of Cholesterol Metabolism in Human Atheroma: Overexpression of Perilipin and Genes Promoting Cholesterol Storage and Repression of ABCA1 Expression, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005;25;1711-1717
161. 161, Costet P, Luo Y., Wang N et al: Sterol-dependent transactivation of the ABC1 promoter by the liver X receptor/retinoid X receptor. *J. Biol. Chem.* 2000. 275, 28240–28245.
162. Chawla A, Boisvert WA, Lee C.H et al: PPAR gamma-LXR-ABCA1 pathway in macrophages is involved in cholesterol efflux and atherogenesis. *Mol. Cell* 7, 161–171.(2001)
163. Schwartz K, Lawn RM, Wade DP: ABC1 gene expression and ApoA-I-mediated cholesterol efflux are regulated by LXR. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000. 274, 794–802.
164. Albrecht C, Soumian S, Amey JS et al: ABCA1 expression in carotid atherosclerotic plaques. *Stroke* 2004;35:2801–6.