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

ALKOL BAĞIMLI FARELERDEN İZOLE EDİLEN KORPUS KAVERNOZUM DÜZ KASINDA NİTRERJİK GEVŞEMELERİN ARAŞTIRILMASI

Fatma AYDINOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI
Prof. Dr. Nuran ÖĞÜLENER

ADANA-2007

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

ALKOL BAĞIMLI FARELERDEN İZOLE EDİLEN KORPUS KAVERNOZUM DÜZ KASINDA NİTRERJİK GEVŞEMELERİN ARAŞTIRILMASI

Fatma AYDINOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI
Prof. Dr. Nuran ÖĞÜLENER

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TF2005YL5 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

ADANA-2007

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın oluşumunda ve gelişiminde bana değerli katkı ve fikirleri ile yol gösteren ve tezimin tamamlanmasında emeklerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nuran Öğülener'e şükran duygularımı sunarım. Çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ergin Şingirik'e ve diğer hocalarıma en derin saygılarımla teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, çalışma arkadaşlarıma, teknik ve idari personele katkılarından dolayı teşekkür ederim. Tezim sırasında benden değerli yardımlarını esirgemeyen, Ç.Ü. Adli Tıp Anabilim Dalı'na ve Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalına katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca bana verdikleri destekten dolayı, sevgili anneme, sevgili babama, sevgili kardeşlerime ve tüm sevdiklerime çok teşekkür ederim.

Bu çalışma Ç.Ü. Araştırma Fonu tarafından, TF2005YL5 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1. Penil Erektil Doku	3
2.2. Penil Erektil Dokunun İnnervasyonu	3
2.2.1. Santral Regülasyonu	4
2.2.1.1. Serotonin	4
2.2.1.2. Dopamin	4
2.2.1.3. Noradrenalin	5
2.2.1.4. Eksitatör amino asidler	5
2.2.1.5. Gama-aminobutirik asid	6
2.2.1.6. Oksitosin	6
2.2.1.7. Adrenokortikotropin	6
2.2.1.8. Opioid peptidler	7
2.2.1.9. Asetilkolin	8
2.2.1.10. Nitrik Oksid	8
2.2.2. Periferik Regülasyonu	9
2.2.2.1. ParaSHpatik Aktivasyon	9
2.2.2.2. Sempatik Aktivasyon	10

2.2.2.3. Non-Adrenerjik Non-Kolinerjik Aktivasyon 10
2.2.2.3.1. Nitrik Oksid 10
2.2.2.3.1.2. Nitrik Oksid ve Korpus kavernozum 12
2.2.2.3.2. Vazoaktif İntestinal Polipeptid 13
2.2.2.3.3. ATP 13
2.3. Etanol 14
2.3.1. Alkol ve Nitrik Oksid 19

3. GEREÇ VE YÖNTEM 20
3.1. Kronik Etanol Uygulaması 20
3.1.1. Kandaki Etanol Düzeyinin Ölçülmesi 21
3.2. İn Vitro Çalışmalar 21
3.2.1. Elektriksel Saha Stimülasyonu, Ekzojen Nitrik Oksid ve Asetilkolin Gevşemeleri 22
3.2.2. H-[1,2,4]oksadiazol[4,3]kuinoksalin-1 (ODQ) ve N^{ω}-Nitro-L-arjinin (L-NOARG) Uygulanan Deneyler 22
3.3. Histolojik Çalışmaları 23
3.4. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz 23
3.5. Kullanılan İlaç ve Solüsyonların Hazırlanması 24
4. BULGULAR 25
4.1. Kandaki Alkol Düzeyleri 25
4.2. Kontrol Gruplarında Elektriksel Saha Stimülasyonu, Ekzojen Nitrik Oksid ve Asetilkolin Gevşemeleri 26
4.3. Kontrol Grubunda Elektriksel Saha Stimülasyonu, Ekzojen Nitrik Oksid ve Asetilkolin Gevşeme Cevapları Üzerine L-Nitroarjinin'in Etkisi 30
4.4. Kontrol Grubunda Elektriksel Saha Stimülasyonu, Ekzojen Nitrik Oksid ve Asetilkolin Gevşeme Cevapları Üzerine 1H-[1,2,4]oksadiazol[4,3]kuinoksalin-1 (ODQ)'nun Etkisi 33

4.5. Alkol Gruplarında Elektriksel Saha Stimülasyonu, Ekzojen Nitrik Oksid ve Asetilkolin Gevşeme Cevapları 35
4.6. Alkol Grubunda Elektriksel Saha Stimülasyonu, Ekzojen Nitrik Oksid ve Asetilkolin Gevşeme Cevapları Üzerine L-nitroarjin'in Etkisi 42
4.7. Alkol Grubunda Elektriksel Saha Stimülasyonu, Ekzojen Nitrik Oksid ve Asetilkolin Gevşeme Cevapları Üzerine 1H-[1,2,4]oksadiazol[4,3]kuinoksalin-1 (ODQ)'nün Etkisi 45
4.8. Elektron Mikroskobu Bulguları 47
4.8.1. Kontrol Grubu İçin Elektron Mikroskobu Bulguları 47
4.8.2. Alkol Grubunun Elektron Mikroskobu Bulguları 50
5. TARTIŞMA 55
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 60
7. KAYNAKLAR 61
ÖZGEÇMİŞ 73

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 7 gün süresince hava inhalasyonu yapılan kontrol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşemelerinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)** . Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (*n*= 12)**.**. 27

Şekil 2. 14 gün süresince hava inhalasyonu yapılan kontrol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşemelerinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)**. Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (*n= 15*)**.** 29

Şekil 3. 14 gün süresince hava inhalasyonu yapılan kontrol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşeme cevapları üzerine L-nitroarjinin'nin (L-NOARG; 10^{-4}M) etkisinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)** . * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (*P*<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (*n*=8). 31

Şekil 4. 14 gün süresince hava inhalasyonu yapılan kontrol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşeme cevapları üzerine L-nitroarjinin (L-NOARG; 10^{-4}M) + L-arjinin (10^{-4}M)'nin etkisinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)** . ***** Kontrol grubuna göre, **+** L-NOARG grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (*P*<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (*n*=8). 32

Şekil 5. 14 gün süresince hava inhalasyonu yapılan kontrol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşeme cevapları üzerine ODQ (10^{-4}M)'nün etkisinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)** . * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (*P*<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (*n*= 5) 34

Şekil 6. 7 gün süresince alkol inhalasyonu yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşemelerinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)**. Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (*n*= 12)**.** 36

Şekil 7. 7 gün süresince hava (KONTROL) ve alkol inhalasyonu (ALKOL) yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşemeleri. Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi. 37

Şekil 8. 14 gün süresince alkol inhalasyonu yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşemelerinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)**. Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n= 17)**.** 39

Şekil 9. 14 gün süresince hava (KONTROL) ve alkol inhalasyonu (ALKOL) yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşemeleri. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05).Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi. 40

Şekil 10. 7 ve 14 gün süresince alkol inhalasyonu yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşemeleri. * 7 günlük alkol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi**.** 41

Şekil 11. 14 gün süresince alkol inhalasyonu yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşeme cevapları üzerine L-nitroarjinin'nin (L-NOARG; 10^{-4}M) etkisinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)** . * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=8). 43

Şekil 12. 14 gün süresince alkol inhalasyonu yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşeme cevapları üzerine L-nitroarjinin (L-NOARG; 10^{-4}M) + L-arjinin (10^{-4}M)'nin etkisi. * Kontrol grubuna göre, $^{+}$ L-NOARG grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=8) . 44

Şekil 13. 14 gün süresince alkol inhalasyonu yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşeme cevapları üzerine ODQ (10^{-4}M)'nün etkisinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)** . * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n= 5) 46

Şekil 14. Kontrol grubu. Endotel hücresi (E), lümende eritrosit (Er), düz kas hücresi (DK) ve bazal lamina (ok). (Uranil asetat-Kurşun sitrat) 48

Şekil 15. Kontrol grubu. Endotel hücresi (E), sitoplazmada pinositotik veziküller (ok), eritrosit (Er). (Uranil asetat-Kurşun sitrat) 48

Şekil 16. Kontrol grubu. Endotel hücresi (E), sitoplazmada pinositotik veziküller (ok), eritrosit (Er). (Uranil asetat-Kurşun sitrat) 49

Şekil 17. Kontrol grubu. Endotel hücresi nükleusu (N), sitoplazmada pinositotik veziküller (asterisk) ve mitokondriyonlar (m). (Uranil asetat-Kurşun sitrat) 49

Şekil 18. Deney grubu. Endotel hücresi nükleusunda derin çöküntüler (ok), düz kas hücresi (DK) ve eritrosit (Er). (Uranil asetat-Kurşun sitrat) 51

Şekil 19. Deney grubu. Endotel hücresi nükleusunda derin çöküntüler (ok). (Uranil asetat-Kurşun sitrat) 51

Şekil 20. Deney grubu. Endotel hücresi nükleusunda derin çöküntüler (ok), düz kas hücresi (DK) ve eritrosit (Er). (Uranil asetat-Kurşun sitrat) 52

Şekil 21. Deney grubu. Endotel hücresi nükleusunda derin çöküntüler (ok). (Uranil asetat-Kurşun sitrat) 52

Şekil 22. Deney grubu. Endotel hücresi nükleusu (N), düz kas hücresi (DK). (Uranil asetat-Kurşun sitrat) 53

Şekil 23. Deney grubu. Endotel hücresi nükleusu (N), düz kas hücresi (DK). (Uranil asetat-Kurşun sitrat) 53

Şekil 24. Deney grubu. Endotel hücresi sitoplazmasında vakuoler değişiklikler (ok başı), bazal lamina (ok), düz kas hücresi (DK) ve bağ dokusu (BD). (Uranil asetat-Kurşun sitrat) 54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Tablo 1. 7 ve 14 gün süre ile alkole maruz kalan farelerin 7. ve 14. günlerde kandaki alkol düzeyleri. Kan alkol düzeyleri ortalama konsantrasyon (mg/dl) ± Standart Hata şeklinde ifade edildi. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). 25

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	**Adenozin trifosfat**
α	**Alfa**
ASK	**Asetilkolin**
ACTH	**Adrenokortikotropin**
ALDH	**Aldehid dehidrojenaz**
β	**Beta**
Ca^{2+}	**Kalsiyum**
$CaCl_2$	**Kalsiyum klorür**
cAMP	**Siklik adenozin monofosfat**
CO_2	**Karbondioksit**
çGS	**Çözünür guanilil siklaz**
DDL	**Düşük dansiteli lipoprotein**
DNA	**Deoksi ribonükleik asit**
EDRF	**Endotel kaynaklı gevşetici faktör**
eNOS (NOS III)	**Yapısal endotelyal nitrik oksid sentaz**
ESS	**Elektriksel saha stimülasyonu**
PF	**Prostaglandin $F_{2\alpha}$**
FAD	**Flavin adenin dinükleotid**
FMN	**Flavin mononükleotid**
GABA	**Gamaamino butirik asid**
YDL	**Yüksek dansiteli lipoprotein**
5-HT	**Serotonin**
iNOS (NOS II)	**İndüklenebilir nitrik oksid sentaz**
i.s.v.	**İntraserebroventriküler**
i.v.	**İntravenöz**
κ	**Kappa**

KCl	**Potasyum klorür**
L-NAME	**N^{ω}-nitro-L arginin metil ester**
L-NA	**N^{ω}-Nitro-L-arjinin**
$MgCl_2$	**Magnezyum klorür**
MPOA	**Medial preoptik bölge**
mRNA	**Mitokondriyel ribonükleik asid**
µ	**Mü**
NaCl	**Sodyum klorür**
Na^+/ Ca^{2+} pompası	**Sodyum/Kalsiyum pompası**
NAD	**Nikotin adenin dinükleotid**
NaF	**Sodyum florür**
$NaHCO_3$	**Sodyum bikarbonat**
$NaHPO_4$	**Sodyum hidrojenfosfat**
NMDA	**N-metil D-aspartat**
$NaNO_2$	**Sodyum nitrit**
NANK	**Non-adrenerjik non-kolinerjik**
NO	**Nitrik oksid**
NOS	**Nitrik oksid sentaz**
nNOS (NOS I)	**Nöronal nitrik oksid sentaz**
O_2	**Oksijen**
ω	**Omega**
ODQ	**1H-[1,2,4]oksadiazolo[4,3]kuinoksalin-1-one**
OsO_4	**Osmiyum oksid**
PKG	**Protein kinaz G**
PGE	**Prostaglandin E**
PGF	**Prostaglandin F**
PVN	**Paraventriküler çekirdek**
sGMP	**Siklik guanozin monofosfat**
sGK I ve II	**sGMP-bağımlı protein kinaz**
SOD	**Süperoksid dismutaz**

SSS	**Santral Sinir Sistemi**
SSRİ	**Selektif serotonin re-uptake inhibitörleri**
TXA_2	**Tromboksan A2**
TX	**Tromboksan**
VIP	**Vazoaktif intestinal peptid**
YDL	**Yüksek dansiteli lipoprotein**

ÖZET

Alkol Bağımlı Farelerden İzole Edilen Korpus Kavernozum Dokusundaki Nitrerjik Gevşemelerin Araştırılması

Kronik etanol inhalasyonu yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum dokusunda kronik alkol alımının nitrerjik gevşemeler üzerindeki etkisi araştırıldı. Farelere kronik etanol uygulaması 7 ve 14 gün süresince inhalasyon yoluyla yapıldı. Kontrol grubu ve kronik etanol grubuna ait farelerden izole edilen korpus kavernozum preparatı 200 mg tansiyon altında, %95 O_2 ve %5 CO_2 ile gazlandırılmış Krebs solüsyonu içeren, sıcaklığı 37^0C olan, 15 ml'lik organ banyolarına asıldı. Dokular fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırılarak plato fazı oluşturulduktan sonra ardışık olarak elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen nitrik oksid (NO; 10^{-4}M) ve asetilkolin (10^{-7} M) gevşemeleri elde edildi. Etanole 7 gün maruz kalan grubun ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşeme cevapları ile kontrol grubunun ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşeme cevapları arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak, 14 gün süresince etanol uygulanan grubun asetilkolin gevşemelerinde anlamlı bir azalma gözlendi. Kontrol ve 14 gün süresince etanol inhalasyon yapılan gruba ait dokularda, nitrik oksit sentaz inhibitörü olan L-nitroarjinin (10^{-4} M) ESS ve asetilkolin gevşemelerini anlamlı olarak azalttı; ekzojen NO gevşemesini değiştirmedi. L-nitroarjinin'in ESS ve asetilkolin gevşemeleri üzerindeki inhibitör etkisi, L-arjinin (10^{-4} M) ile geri döndü. Ayrıca, guanilat siklaz inhibitörü ODQ (10^{-4} M) ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşemelerini inhibe etti. Kontrol ve14 gün süresince etanol inhalasyonu yapılan gruptan elde edilen korpus kavernozum dokularının endotelyumu elektron mikroskobu ile histolojik olarak incelendi; alkol grubunda endotelyum hasarı tespit edildi.

Sonuç olarak, 14 gün süresince inhalasyon yoluyla kronik etanole maruz bırakılan farelerden izole edilen korpus kavernozum dokusunda ESS ve ekzojen NO gevşemelerinde değişme olmaksızın asetilkolin gevşemelerinde azalma gözlenmesi ve histolojik incelemelerde endotelyumda hasar tespit edilmesi, kronik etanolün endotelyum hasarına bağlı olarak NO salıverilmesini azaltması sonucu erektil disfonksiyona neden olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar sözcükler: Fare, korpus kavernozum, kronik etanol, nitrerjik gevşeme, nitrik oksid

ABSTRACT

Investigation of Nitrergic Relaxations of Corpus Cavernosum Smooth Muscle in Chronic Ethanol-Dependent Mice

The effect of chronic ethanol intake on nitrergic relaxations was investigated in the corpus cavernosum isolated from chronically ethanol inhalated mice for 7 and 14 days. Corpus cavernosum from control mice and the mice exposed to chronic alcohol vapour were mounted under a load of 200 mg in tissue baths (15 ml) containing Krebs solution, maintained 37^0C , %95 O_2 and %5 CO_2 gassed. Tissues were contracted with, phenylephrine ($5x10^{-6}$ M), an α_1-receptor agonist. When a stable contraction was obtained, consecutive electrically filed stimulation (EFS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), exogenous nitric oxide (NO; 10^{-4} M) and acetylcholine (10^{-7} M) relaxations induced. There was no significantly difference in relaxations between the 7 days-ethanol inhalated mice and control mice. However, acetylcholine-induced relaxation was significantly decreased in the 14 days-ethanol inhalated mice. L-nitroarginine (10^{-4} M), NOS synthase inhibitor, significantly reduced EFS and acetylcholine-induced relaxations but not those to exogenous NO in both control mice and 14 days-ethanol inhalated mice. Addition of L-arginine (10^{-4} M) reversed this inhibitory effect of L-nitroarginine on EFS and acetylcholine-induced relaxations. Also, ODQ (10^{-4} M), guanylate cyclase inhibitor, inhibited EFS, NO and acetylcholine-induced relaxations in both control mice and 14 days-ethanol inhalated mice. Furthermore, corpus cavernosum tissues were investigated under electron microscopy. Endothelium damage was observed in 14 days-ethanol inhalated mice, however, there was no ultrastructural change in the control mice.

In conclusion, acetylcholine-induced relaxation significantly reduced in corpus cavernosum tissue from 14 days-ethanol inhalated mice, whereas there was no difference between ESS and NO-induced relaxations, and it was determined endothelium damage in ethanol-inhalated mice, suggesting that chronic ethanol may lead to erectile dysfunction through a decreasing NO release from endothelium via an endothelial impairment.

Key words: Mice, corpus cavernosum, chronic ethanol, nitrergic relaxation, nitric oxide

1. GİRİŞ

Penil ereksiyonu, korpus kavernozum düz kasının gevşemesine bağlı olarak gelişen nörovasküler bir fenomendir. Penil ereksiyonunun kontrolünde nitrik oksid (NO) önemli bir rol oynamaktadır. Kavernoz düz kasında NO, çözünür guanilil siklazı (çGS) aktive ederek siklik guanozin monofosfat (sGMP) düzeyinin artışına bağlı gevşeme yapması sonucu penil ereksiyonuna neden olmaktadır[1,2]. NO-aracılıklı korpus kavernozum düz kas gevşemelerinin NO sentaz (NOS) ve çGS inhibitörleri tarafından inhibe edilmesi ve sGMP'ye bağımlı gevşemelerin fosfodiesteraz inhibitörleri tarafından artırılması, erektil fonksiyonun NO-çGS-sGMP yolağı tarafından modülasyonunu göstermektedir[3,4,5]. İnsanda ve hayvanlarda erektil cevabın sinirlerden ve vasküler endotelyumdan salınan NO'ya bağlı olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir; korpus kavernozumu innerve eden sinirlerde nöronal NO sentaz (nNOS)[6], kavernoz düz kasında ve endotelyumda ise endotelyal NO sentaz (eNOS) proteini[7] eksprese edilmiştir. Ayrıca, asetilkolin stimülasyonuna bağlı NO salınımının endotelyumdaki kolinerjik M_3 reseptörlerinin uyarılması sonucu oluştuğu bilinmektedir[8]. İnsan korpus kavernozum dokusunda ve bu dokunun endotelyal hücre kültüründe muskarinik asetilkolin reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir[9].

Düşük düzeyde düzenli alkol alınımının koroner arter hastalıkları, iskemik felç, miyokard enfarktüsü ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı kaydedilmiştir[10,11]. Ancak yüksek dozda kronik alkol tüketiminin hipertansiyon da dahil olmak üzere kardiyovasküler komplikasyonlara neden olduğu ve mortaliteyi artırdığını gösteren bulgular mevcuttur[12,13]. Klinik ve deneysel çalışmalarda kronik etanolün endotel hücrelerinden NO salıverilmesini azalttığı gösterilmiştir[14]. Endotelyal NO üretiminin azalmasının, NO'nun etanolün biyoinaktivasyonu sonucu oluşan serbest superoksid anyonları ile reaksiyona girip peroksinitrit radikallerine dönüşmesine ve/veya eNOS'un

oksidatif inaktivasyonuna bağlı olabileceği ileri sürülmektedir[15]. Yapılan araştırmalarda, kronik etanol uygulamasının endotelyum üzerinde farklı etkiler yaptığı görülmektedir; sıçan aortasında kronik etanolün endotelyuma bağlı asetilkolin gevşemelerini artırdığı bulunmuştur[16]. Diğer yandan, aynı dokuda kronik etanol, endotelyuma bağlı asetilkolin gevşemelerini anlamlı olarak azaltmıştır[17]. Williams ve ark.[18] ise sıçan torasik aortasında kronik etanol uygulamasının asetilkolin gevşemelerini değiştirmediğini göstermişlerdir. Tavşan korpus kavernozumunda ise kronik etanol betanekol gevşemelerini artırmıştır[19].

Literatür taramalarında kronik etanolün, korpus kavernozum düz kası endotel hücreleri ve nitrerjik gevşemeler üzerine etkisinin yeterince araştırılmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada, fare korpus kavernozum dokusunda kronik etanol inhalasyonunun elektriksel saha stimülasyolu (ESS), ekzojen NO ve asetilkolin gevşeme cevapları üzerine etkisi araştırıldı. Ayrıca, kronik etanol inhalasyonun korpus kavernozum dokularının endotelyumu üzerine etkileri elektron mikroskobu ile histolojik olarak incelendi.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Penil Erektil Doku

Penis, ikisi lateralde olan korpora kavernoza ile birisi ortada yer alan korpus spongiosum isimli vasküler sinusoidlerden ibarettir. Her bir erektil yapı, özel bir bağ dokusu tabakası olan tunica albuginea ile sarılıdır. Bir çift vasküler erektil doku olan korpora kavernoza, ramus ischiopubica boyunca yerleşmişlerdir ve her biri radix penis oluştururlar[20]. Erektil doku geniş kavernoz sinusoidlerinden ibarettir. Bu sinusoidler normalde boştur. Ancak, arteriyel kan, ereksiyon anında venöz damarların o anda kısmen kapalı olması nedeniyle büyük bir basınç ve hızla sinusoidlere dolar. Ayrıca, erektil cisimcikler, özellikle korpora kavernoza güçlü bir fibröz örtü ile kaplıdır[21].

Penil ereksiyonu, somatik yolakların periferik veya santral aktivasyon ile tetiklenebilen oldukça koordineli bir reflekstir**.** Erektil fonksiyon kavernoz düz kas ve kan damarlarında sempatik, parasempatik ve nitrerjik sinirler arasındaki dengeye bağlıdır[3,4]. İnsan penisinde erektil doku, korpora kavernoza ve düz kas demetini saran sinusoidal boşluğu çevreleyen endotelyumdan oluşmaktadır. Korpus kavernozum düz kasının gevşemesi penil ereksiyonunun başlaması ve devam etmesi için önemlidir**.** Korpus kavernozum düz kasının tonusu sinirler ve endotelyum ile kontrol edilmektedir[22]**.** Kavernozal ve arter düz kasının gevşemesi, kanın korpora kavernozadaki sinusoidal boşluklara geçmesine ve intrakavernozal basıncın artmasına ve buna bağlı olarak da penil ereksiyonuna neden olur[3]. Bu düz kasın gevşemesine yol açan mekanizmanın bozulması impotense neden olur[23].

2.2 Penil Erektil Dokunun İnnervasyonu

Penil ereksiyonu, santral ve periferik sinir sistemindeki fizyolojik yolaklar ve biyokimyasal olayların integrasyonuyla düzenlenmektedir[3].

2.2.1. Santral regülasyon

Erektil fonksiyonun santral sinir sistemi regülasyonunda, spinal ve supraspinal yolaklar ve mekanizmalar rol oynamaktadır. Penil ereksiyonun santral nörotransmisyonu oldukça karışıktır ve sadece bir kısmı bilinmektedir. Yapılan araştırmalarda erektil fonksiyonun santral regülasyonunda çeşitli nörotransmiterlerin rol oynadığı saptanmıştır.

2.2.1.1 Serotonin

İnsanlarda ve hayvanlarda, seksüel davranışların kontrolünde serotonin (5-Hidroksitriptamin; 5-HT) nöronlarının katkısı gösterilmiştir. Serotonerjik yolak erkek seksüel davranışında genel inhibitör etki göstermektedir[24]. Ancak, serotonin santral sinir sistemindeki değişik bölgelere yerleşmiş farklı 5-HT-reseptör alt-tiplerine bağlı olarak inhibitör veya fasilatör etki oluşturabilirler. Yapılan araştırmalarda beyinde serotonin düzeyinin azalması veya serotonerjik nöronların hasarı sonucu seksüel aktivitenin arttığı gösterilmiştir[25]. Diğer yandan, intraserebroventriküler (i.s.v.) veya intratekal yoldan selektif serotonin re-uptake inhibitörlerinin (SSRİ) veya amin sentez ve salınmasını artıran ilaçların verilmesinin seksüel aktiviteyi azalttığı bulunmuştur[26]. Bu bulgulara göre serotonin penil ereksiyonunun santral nöroregülasyonunda majör modülatör olarak reseptör alt-tipine göre inhibitör veya fasilatör etki yapmaktadır. Spinal kordun çeşitli düzeylerinde 5-HT_{1A}, 5-$HT_{1B,}$ 5-HT-$_{2A}$ ve 5-HT_{2C} reseptör alt tiplerinin bulunduğu gösterilmiştir[27,28]. Bu reseptörlerden 5-HT_{1A} ve 5-HT_{1B} ereksiyon üzerindeki inhibitör, 5-HT_{2C} reseptörleri ise fasilatör etkiye aracılık etmektedir[29,30]. 5-HT reseptör alt-tipleri, G proteini (GTP'ye bağımlı düzenleyici proteinler) ve iyon-kanalıyla kenetli reseptör alt familyasındandır[31]. 5-HT reseptör agonist ve antagonistlerinin seksüel fonksiyonlar üzerindeki zıt etkileri, reseptörlerin farklı hücrelerde farklı efektör sistemlerini kullanmasıyla açıklanabilir [27,28].

2.2.1.2. Dopamin

Çeşitli çalışmalarda santral dopaminerjik yolağın penil ereksiyonunda önemli bir

rol oynadığını gösterilmiştir[32]. Santral dopaminerjik nöronlar medial preoptik bölge (MPOA) ve paraventriküler çekirdek (PVN)'te bulunmaktadır[33]. MPOA ve PVN bölgesinde oluşan lezyonların erkek seksüel davranışları ortadan kaldırması nedeniyle bu bölgelerin seksüel davranış ve duyarlılıkta önemli olduğu sanılmaktadır[34]. Maymunlarda, non-selektif dopaminerjik reseptör agonisti apomorfinin sistemik uygulaması penil ereksiyonunu fasilite ettiği, ve bu etkinin dopaminerjik reseptör antagonisti haloperidol ile bloke olduğu gösterilmiştir[35]. Santral erektil fonksiyonda dopaminerjik D_1 ve D_2 benzeri reseptörler rol oynamaktadır; yapılan araştırmalarda primer olarak D_2 reseptörlerinin ereksiyonu fasilite ettiği gösterilmiştir[36]. Dopaminerjik nöronların PVN'de oksitosinerjik nöronları aktive ederek oksitosin salınmasına bağlı erektil cevap oluşturması nedeniyle paraventriküler D_2 reseptör stimülasyonuna bağlı ereksiyonda oksitosinerjik nörotransmisyonun işe karıştığı düşünülmektedir[37].

2.2.1.3. Noradrenalin

Kısıtlı sayıdaki çalışmalar, spinal kortta yerleşim gösteren alfa(α)-adrenoseptörlerin penil ereksiyonunun santral regülasyonunda rol oynadığını göstermiştir[38]. Sıçanlarda MPOA'ya α_2-adrenoseptör agonisti klonidin'in direkt injeksiyonu erkek seksüel davranışını baskılamış ve bu etki selektif α_2-adrenoseptör antagonisti ile inhibe olmuştur[39].

2.2.1.4. Eksitatör amino asidler

Yapılan çeşitli araştırmalar, eksitatör amino asitler olan glutamat ve aspartatın penil ereksiyonunda bir rolü olabileceğini ileri sürmektedirler. L-glutamat'ın MPOA'a mikroinjeksiyonu intrakavernoz basınçta artış yaptığı gözlenmiştir[40]. Ayrıca, yapılan davranış çalışmalarında N-metil D-aspartat (NMDA)'ın PVN içerisine injeksiyonunun penil ereksiyon sayısını arttırdığı ve bu etkinin oksitosin antagonisti ile ortadan kalktığı bulunmuştur. NO sentaz inhibitörlerinin NMDA ile oluşan ereksiyonu inhibe etmesi nedeniyle NMDA'nın etkisine NO sentaz-sinyal transdüksiyon sisteminin aracılık ettiği

düşünülmektedir[41].

2.2.1.5. Gama-aminobutirik asid

Gama-aminobutirik asidin otonomik ve somatik refleks yolakların aracılık ettiği penil ereksiyonunda inhibitör modülatör bir fonksiyonu olduğu sanılmaktadır. $GABA_b$ reseptör agonisti olan baklofenin sistemik uygulanması veya lumbosakral bölgeye intratekal injeksiyonu sıçanlarda ereksiyon frekansını azaltmıştır[24]. Erkek sıçanlarda yapılan bir çalışmada, PVN'deki $GABA_A$ reseptörlerinin aktivasyonunun apomorfin, NMDA ve oksitosinin oluşturduğu penil ereksiyonunu azalttığı gösterilmiştir[42].

2.2.1.6. Oksitosin

PVN'de oksitosin içeren nöronların bulunduğu ve plazma oksitosin konsantrasyonunun seksüel stimülasyon arttığı bulunmuştur[43]. Laboratuar hayvanlarında, oksitosinin PVN içine lateral serebral ventriküle veya hipokampusa injekte edildiğinde güçlü penil ereksiyonu oluşturduğu gözlenmiştir[44]. Erektil cevap, oksitosin antagonisti ve elektrolitik PVN lezyon ile bloke edilmiştir[45]. Oksitosin ile oluşan ereksiyon ayrıca kastrasyon ile ortadan kalkmış ve testosteron replasmanıyla düzeltilmiştir[46]. PVN'de oksitosin aracılı penil ereksiyonunda kalsiyum (Ca^{2+})'un ikinci ulak olduğu ve Ca^{2+} kanalları ile kenetli oksitosinerjik reseptörlerin aracılık ettiği bulunmuştur[47]. NO sentaz-sinyal transdükleme yolağını inhibe eden maddelerin oksitosine bağlı penil ereksiyonunu önlemesi, bu yolağın oksitosinerjik sistemi etkileyebileceğini göstermektedir[48].

2.2.1.7. Adrenokortikotropin (ACTH)

Pro-opiomelanokortinin proteolitik yıkımıyla adrenokortikotropin (ACTH) ve α-melanosit stimüle edici hormon (α-MSH) dahil olmak üzere çeşitli peptidlerin miktarı artmaktadır. Çeşitli hayvan modellerinde, i.s.v. veya hipotalamik periventriküler ACTH ve α-MSH injeksiyonu, penil ereksiyonu, ejakülasyon, esneme ve gerilme oluşmasına neden olmuştur[49]. α-MSH/ACTH peptidlerinin tamamı olmasa da çoğunun etkilerini

spesifik melanokortin (MC) reseptör alt-tipleri üzerinden oluşturdukları anlaşılmıştır; erektil fonksiyon için önemli olduğu bilinen hipotalamus ve limbik sistemde MC_3 reseptörlerin yüksek yoğunlukta bulunduğu gösterilmiştir[50]. ACTH'ın etkisinin N-tipi kalsiyum Ca^{2+} kanal blokörü olan Omega (ω)-conotoxin'in i.s.v. injeksiyonu ile önlenmesi ACTH'ın etkisine Ca^{2+} kanallarının aracılık ettiğini düşündürmektedir[51]. N^{ω}-nitro-L-arginin metil ester (L-NAME)'in i.s.v. injeksiyonu, ACTH'ın neden olduğu ereksiyonu anlamlı olarak ortadan kaldırdığı gösterilmiştir ve ACTH'ın etkisine, NO'nun aracılık ettiği ileri sürülmektedir[52].

2.2.1.8. Opioid Peptidler

Kronik opioid kullanan erkeklerde klinik olarak seksüel disfonksiyonun gözlenmesi nedeniyle endojen opioid peptidlerin erkek seksüel cevabın düzenlenmesine karıştığı varsayılmıştır[53]. Morfin veya diğer opioidlerin sistemik uygulanması erkek sıçanların çiftleşme davranışlarını deneysel olarak deprese etmiştir[54]. Morfin'in erkek sıçanlara sistemik veya PVN içine injeksiyonunun, NMDA'nın PVN'ye injeksiyonu ile[55] veya i.s.v. oksitosin uygulamasıyla[56] oluşan penil ereksiyonunu önlediği gösterilmiştir. Ancak, selektif Kappa (κ)-opioid reseptör agonistleri apomorfin veya oksitosin'in neden olduğu erektil cevabı değiştirmemiştir. Opioid antagonisti nalokson'ın, morfinin sıçan ereksiyonu üzerindeki santral önleyici etkisini ortadan kaldırması, morfinin etkisinden PVN'deki mü (μ) reseptörlerinin sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. PVN'de NO metabolit konsantrasyonlarının, apomorfin, NMDA veya oksitosinin lokal uygulanması artması ve morfin uygulanması ile azalması, morfinin NO-aracılı ereksiyonu deprese edici etkisinin olduğunu işaret etmektedir[57].

2.2.1.9. Asetilkolin

Asetilkolin'in santral düzeyde penil ereksiyonunu düzenleyici rolü, çoğunlukla muskarinik agonistler ve antagonistlerin sistematik/intraserebral uygulaması ve beyindeki lezyonlar ile ilgili sınırlı sayıda nörofarmakolojik çalışmalar ile yorumlanmakta ve hipokampus ve MPOA'da kolinerjik mekanizmaların erektil fonksiyonda düzenleyici rolü olabileceği öne sürülmektedir[58].

2.2.1.10. Nitrik Oksid

Sıçanlarda dopamin agonistleri, oksitosin, ACTH, 5-HT_{2C} agonistleri veya NMDA aracılığıyla oluşan erektil cevapların, NOS inhibitörlerinin i.s.v. veya PVN'ye injeksiyonu ile önlemesi penil ereksiyonunun santral nöromediyasyonunda NO' un rolü olduğunu göstermektedir[41,48,52,59,60]. NO'nun, penil ereksiyonunda oksitosinerjik mekanizma ile etkileşme yerinin PVN olduğu sanılmaktadır[61]. Bu beyin çekirdeğinin beyindeki en yüksek NOS konsantrasyonu içeren yerlerden biri olduğu belirlenmiştir[62]. Bir NO donörü olan nitrogliserinin PVN içerisine injeksiyonu sıçanlarda penil ereksiyonuna neden olmuştur[60]. Ayrıca, sıçanlarda seksüel aktivitede MPOA'dan NO salındığı gösterilmiştir. MPOA'daki NO düzeyinin direkt ölçümü, çiftleşme davranışları ile NO salınımının ilişkili olduğunu göstermiştir. NOS inhibitörünün lokal olarak uygulanması, NO salınımını ve çiftleşme davranışı azaltmıştır[63]**.** GS inhibitörlerinin (metilen mavisi gibi) PVN içerisine injeksiyonunun ilaç ile oluşan penil ereksiyonunu engellememesi ve 8-bromo-sGMP'nin PVN'ye injeksiyonunun ereksiyon oluşturmaması, NO'in etkisinde GS'nin rol oynamadığını düşündürmektedir. NO yakalayıcısı hemoglobinin PVN'de NO üretimini bloke edebilmesine rağmen penil ereksiyonunu ortadan kaldırmaması nedeniyle NO'nun PVN'de erektil cevapları interselülerden ziyade intraselüler modülatör olarak etkilediği ileri sürülmüştür[64].

2.2.2. Periferik regülasyon

Korpus kavernozum düz kas tonusu, adrenerjik, kolinerjik ve non- adrenerjik non-kolinerjik (NANK) olmak üzere en az üç nöroefektör sistem ve endotelyumdan salınan gevşetici ve kasıcı faktörler tarafından kontrol edilmektedir[65].

2.2.2.1. Parasempatik Aktivasyon

Penil düz kası pelvik parasempatik sinirler tarafından kontrol edilmektedir. Pregangliyonik otonomik sinir liflerinin tümünün ve postgangliyonik parasempatik sinirlerin çoğunun nörotransmiteri asetilkolindir. İnsan korpus kavernozumunda, kolinesteraz içeren kolinerjik sinirlerin[66], muskarinik reseptörlerin bulunduğu[67] ve bu sinirlerden asetilkolinin sentez edilip salıverildiği gösterilmiştir[68]. Penil ereksiyonu, penil arteriyel dilatasyona neden olan pelvik parasempatik sinirlerin aktivasyonuyla başlamaktadır. Asetilkolin, kolinerjik sinir uçlarında kolin'in enzimatik asetilasyonu suretiyle sentez edilir[8]. Bu olayı katalize eden enzim kolin asetiltransferaz enzimidir. Asetil kaynağı, sinir ucundaki mitokondrilerde sentez edilen asetilkoenzim A'dır. Kolin sinir ucuna sinaps veya kavşak aralığından membranda bulunan transportör molekülleri tarafından aktif transport suretiyle alınır. Asetilkolinin penil arteriyel dilatör etkisine muskarinik tipteki kolinerjik reseptörleri aracılık ederler. İnsan korpus kavernozum dokusunda, dört muskarinik reseptör alt tipinin (M_1-M_4) bulunduğu gösterilmiş ve bunlardan M_2 alt tipinin düz kasta, M_3 alt tipinin ise endotelyumda yerleştiği saptanmıştır[69]. Asetilkolin ile oluşan gevşemelerin, noradrenalin gibi kasıcı bir faktörün inhibisyonuna veya NO gibi gevşeme oluşturan faktörün salınımına bağlı oluştuğu bilinmektedir. Adrenerjik sinir uçlarında inhibitör presinaptik muskarinik reseptörler yerleşim göstermektedir; parasempatik sinirlerin aktivasyonu, adrenerjik sinir terminallerindeki muskarinik reseptörlerin stimülasyonuyla noradrenalin salınımını inhibe ederek[70] ve ayrıca endotelyumdan ve sinirlerden NO ve diğer vazodilatör peptidlerin salınmasını sağlayarak ereksiyon ve penil tumesensini oluşturur[3].

2.2.2.2. Sempatik Aktivasyon

Trabeküler korpus kavernozum düz kası, penil arter ve venleri adrenerjik innervasyon bakımından zengindir. Korpus kavernozum düz kasının kasılması sempatik sinirler aracılıdır[71]. Adrenerjik sinirlerden salınan noradrenalin penil damar ağındaki α-adrenerjik reseptörleri stimüle ederek damarların ve korpus kavernozumun kasılmasına neden olur. Noradrenalin, hem α hem de beta (β)- adrenerjik reseptörleri aktive eder; ancak radyoligand reseptör bağlama yöntemi ile yapılan çalışmalar insan korpus kavernozum dokusunda α adrenerjik reseptörlerin β-adrenerjik reseptörlere oranla 10 kat daha fazla bulunduğunu göstermiştir[72]. İnsan korpus kavernozumunda α_1 ve α_2-adrenerjik reseptörler bulunmaktadır[73,74], fakat α_1-adrenerjik reseptörler fonksiyonel olarak daha baskındır. Traish ve ark.[74] insan korpus kavernozumunda α_{1A}, α_{1B} ve α_{1D} reseptör alt tiplerinin varlığını tespit etmişler ve noradrenalinle oluşan kasılmalara bu üç reseptör alt tipinin aracılık ettiğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca postsinaptik α_2-adrenerjik reseptörlerinin alt tipleri (α_{2A}, α_{2B} ve α_{2C}) insan korpus kavernozumunda tespit edilmiş ancak bu reseptörlerin kavernoz düz kas tonusunun düzenlenmesindeki rolü henüz aydınlatılamamıştır[75]. İnsan korpus kavernozumunda presinaptik α_2-adrenerjik reseptörlerin stimülasyonu sonucu adrenerjik sinir ucundan noradrenalin sentezinin inhibe olduğu gösterilmiştir[76]. Diğer bir çalışmada ise, at penil rezistans arterlerinde, presinaptik α_2-adrenerjik reseptörlerin stimülasyonu NANK transmitter salınımını inhibe etmiştir[77].

2.2.2.3. Non-Adrenerjik Non-Kolinerjik İnnervasyon

2.2.2.3.1. Nitrik Oksid

Serbest radikal gaz özelliğinde olan NO, çevre kirleticisi ve toksik madde olarak biliniyordu; fakat son yıllarda fizyolojik olaylarda endojen hücre-sinyal molekülü olarak çok önemli rol oynadığı bulunmuştur. İlk olarak 1980'de Furchgott ve Zawadzki[78] tarafından asetilkolinin etkisi altında tavşan aortası endotel hücrelerinden salıverildiği

gösterilen NO çok labil bir vazodilatör otakoiddir. Daha sonra insan dahil, çeşitli memeli türlerinde çeşitli kimyasal ve fiziksel etkenlerin endotelyumdan endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) salıverdikleri[7] ve EDRF ile NO'nun aynı madde olduğu bulunmuştur[1,2].

NO, NOS enziminin katalizlediği bir reaksiyon ile L-argininden sentez edilir[79]. NOS sitosolik bir enzim olup flavoprotein yapısındadır; bu enzimin kofaktörleri nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) , flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN), tetrahidrobiopterin (BH_4), hem ve kalmodulindir. NOS'un, yapısal nöronal NOS (nNOS veya NOSI), indüklenebilir NOS (iNOS veya NOSII) ve yapısal endotelyal NOS (eNOS veya NOS III) olmak üzere üç farklı izoformu vardır[80]. nNOS ve eNOS Ca^{2+} ve kalmodulin bağımlı[81] yapısal nitelikte izoformlardır; selektif agonist ile reseptör stimülasyonuna veya sinir ucunun depolarizasyonuna bağlı olarak NO'yu fentomolar (10^{-15} M) veya pikomolar (10^{-12} M) konsantrasyonlarda salıverirler. Sinir ucunun depolarizasyonu sonucu hücre içerisine giren Ca^{2+}, kalmodulin ile birleştikten sonra NOS'u aktive eder, NO sentez ve salıverilmesini artırır. Makrofajlarda oluşan ve sitokinler ve endotoksin tarafından sentezi artırılan iNOS Ca^{2+} ve kalmodulin-bağımlı değildir[82]. iNOS indüklenmesinden birkaç saat sonra nanomolar (10^{-9} M) konsantrasyonlarda proinflamatuvar NO salıverir ve bu uzun süreli devam edebilir.

NO, biyolojik etkilerini sGMP'e bağımlı ve sGMP'den bağımsız mekanizmalar olmak üzere temel olarak iki mekanizma ile gösterir[82]. NO, düz kas hücresindeki çGS enziminin hem molekülünde bulunan demir (Fe^{+2}) atomuna bağlanarak molekülün üç boyutlu konfigürasyonunu değiştirmek suretiyle enzimin aktif hale gelmesini sağlar[83,84]. Aktifleşen enzim guanozin trifosfattan sGMP yapımını artırır; sGMP, tip I çözünür sGMP-bağımlı protein kinaz G'ye (PKG) bağlanarak hücre içi etkilerini oluşturur Aktive olmuş PKG, hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunu veya kontraktil sistemin Ca^{2+}'a duyarlılığını azaltarak düz kas gevşemesine neden olur[6]. Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalarda kavernozal düz kas tonusunun regülasyonunda RhoA/Rho-kinazın önemli bir rol oynadığı saptanmıştır[85,86]. İnsan endotelyum hücresi ve korpus kavernozum düz kas hücrelerinde RhoA ve Rho-kinaz ekspresyonu gösterilmiştir[87]. Sıçan penisinde nitrik oksidin Rho-kinaz aktivitesini inhibe etmesi endojen NO gevşemesinin Rho-kinaz

vazokonstriktör aktivitesinin inhibisyonuna bağlı olarak oluşabileceğini düşündürmektedir[88]. RhoA/Rho-kinaz sinyal transdüksiyon yolağının insan endotelyal hücrelerinde eNOS gen ekspresyonunu ve enzim aktivitesini inhibe ederek endotel kaynaklı NO biyosentezini azalttığı gösterilmiştir[89].

2.2.2.1.1. NO ve Korpus kavernozum

NO'nun, erektil fonksiyonun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir[3,90,91]. Korpus kavernozumda nitrerjik sinirlerden ve sinusoidal endotelyumdan salınan NO proerektil nörotransmitterdir ve kavernoz düz kasında gevşeme yapmaktadır. Yapılan çalışmalarda NANK sinirlerden salıverilen NO'nun ereksiyona aracılık eden en önemli gevşetici endojen mediyatör olduğu gösterilmiştir[3,92]. NO, hem sinir hem de endotelyuma bağımlı gevşemelere aracılık etmektedir. Nörojenik NO, korpus kavernozum ve penil damarlarında gevşemeden sorumlu en önemli faktördür. Ancak, ereksiyonun sürdürülmesinden endotelyum kaynaklı NO'nun sorumlu olduğu ileri sürülmektedir[93]. Son yıllarda yapılan araştırmalarda korpus kavernozumu innerve eden penil nöronlarında nNOS[6], kavernoz düz kası ve endotelyumunda ise eNOS'un eksprese edildiği gösterilmiştir[7]**.** Yapılan araştırmalarda, nNOS geni "silinmiş" farelerde ereksiyon gözlenmesi[94,95] ve aynı farelerde nNOS'un mitokondriyel ribonükleikasit (mRNA) ekspresyonunun gösterilmesi[96], farelerde ve sıçanlarda nNOS'un penil nNOS olarak farklı bir isoformunun olabileceğini düşündürmektedir[97,98,99]. Ayrıca, sitokinlere maruz kalındığında veya patofizyolojik durumların upregülasyonunda eksprese edildiği kabul edilen iNOS izoformunun penil kavernozal düz kasında yapısal olarak eksprese edildiği bulunmuştur [100,101,102,103] fakat iNOS'un erektil fonksiyondaki önemi henüz aydınlatılamamıştır.

NO'nun erektil fonksiyonundaki etkisini GS-sGMP sinyal transdükleme sistemini aktive ederek oluşturmaktadır[104]. NO, kavernozal düz kasta GS' yi aktive ederek ve sGMP düzeylerini artırarak vazodilatasyon yapmaktadır[90,91]. Erektil fonksiyonun NO-sGMP sistemi tarafından modülasyonu, NO-aracılıklı korpus kavernozum gevşemelerinin NOS inhibitörü L-N^G-nitroarjinin metil esteri ve GS inhibitörü 1H-

[1,2,4]oksadiazol[4,3]kuinoksalin-1 (ODQ) tarafından inhibe olması[105,106]; ayrıca sildenafil, verdanafil gibi fosfodiesteraz inhibitörlerin sGMP aracılıklı gevşeme cevaplarını artırmasıyla desteklenmektedir[107,108]. Hemen hemen bütün hücre tiplerinde GS'nin çözünür ve membrana bağlı izoformları eksprese edilmiştir[109]. Ancak, çözünür GS peniste NO için en önemli sinyal molekülüdür. Genel olarak intraselüler sGMP konsantrasyonu sadece çözünür GS değil aynı zamanda sGMP'i 5'-sGMP'e hidroliz eden sGMP-fosfodiesteraz enzimi tarafından da regüle edilmektedir[110]. Memelilerde iki farklı sGMP-bağımlı protein kinaz (sGK I ve II) belirlenmiştir[111,112]. Fare korpus kavernozum düz kasında, sGMP-bağımlı protein kinaz I 'in erektil fonksiyonda öneminin büyük olduğu gösterilmiştir[104].

2.2.2.2. Vazoaktif İntestinal Polipeptid

İnsan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda, penil damar yapısında ve korpus kavernozum trabeküler düz kasında vazoaktif intestinal polipeptid (VIP) içeren sinirlerin bulunduğu ve NOS ve VIP'in birlikte lokalize olduğu gösterilmiştir[113,114]. Bu sinirlerin çoğunun kolinerjik sinirler için spesifik marker olan veziküler asetilkolin transporter'ı içermesi nedeniyle NO ve VIP içeren sinirlerin çoğunun kolinerjik olduğu düşünülmektedir[115,116]. VIP korpus kavernozum üzerindeki etkisini VIP reseptörleri (tip 1 ve 2) ve siklik adenozin monofosfat (sAMP)'a bağımlı sinyal transdükleme kaskadı aracılığı ile oluşturmaktadır[117]. VIP reseptörlerinin stimülasyonu sonucunda stimülator tipteki G-proteinleri tarafından aktive edilen adenilil siklaz, sAMP artışına ve bunun sonucunda sAMP'ye bağımlı protein kinazın aktivasyonuna neden olur; bu protein kinazın aktivasyonu korpora düz kasında gevşeme yapar. VIP'in peniste transmiter veya modülatör olarak rolü kesin olarak ortaya konulamamıştır.

2.2.2.3. Adenozin trifosfat (ATP)

ATP ve diğer purinlerin izole tavşan korpus kavernozumunda, hem bazal hem de fenilefrin ile stimüle edilmiş tonusu azalttığı gösterilmiştir; bu dokuda ATP'nin NANK

bir transmitter olduğu ve purinerjik transmisyonun, penil ereksiyonunun başlaması ile sürdürülmesinde önemli bir komponent olabileceği ileri sürülmüştür[118,119]. Ancak, purinlerin korporal düz kasında elektriksel uyarı ile oluşan cevapları etkilememesi bu maddelerin, nörotransmiter olarak davranmadıklarını sadece ereksiyonun modülasyonunda rol oynayabileceklerini göstermektedir[119]. İnsan korpus kavernozum şeritlerinde P2Y purinoseptörlerin stimülasyonun NO aracılıklı gevşemeye neden olduğu ve bu cevaba endotelyum-bağımlı mekanizmanın aracılık ettiği bulunmuştur[120]. Ancak, ATP'nin ereksiyonun fizyolojik mekanizmasındaki rolü henüz tamamen aydınlatılamamıştır.

2.3. Etanol

Etanolün, cilt antiseptiği olarak kullanılması dışında, ilaç olarak fazla bir önemi yoktur. Ancak alkollü içkiler şeklinde alınması nedeniyle, bazı kişilerde ilaçtan da sık kullandıkları bir maddeyi oluşturur. Alkollü içkiler, meyve suları, yaş ve kurutulmuş meyveler ve tahıl taneleri içinde bulunan şekerler ve polisakkaridlerin maya mantarları tarafından anaerobik bir biçimde fermantasyonu suretiyle elde edilir. Ağız yolundan alınan alkol, mide-barsak kanalından pasif difüzyonla hızlı bir şekilde ve tam olarak absorbe edilir. Absorpsiyon hızının fazla olması, sıvı olmasına, molekül ağırlığının ufak olmasına ve iyonize olmamasına bağlıdır Alkol ve alkollü losyonlar koklandığında, akciğer alveollerinden az da olsa alkol absorbe edilir. Alkol vücutta bütün sıvı kompartımanlarına kolayca geçer. Plazma proteinlerine bağlanmaz. Vücut boşluklarındaki sıvılarda alkol konsantrasyonu kandakine yaklaşık olarak eşittir.

Vücuda giren alkolün %98'i biyotransformasyon suretiyle elimine edilir. Vücuda fazla alkol girmişse bu oran %90'a kadar inebilir. Geri kalan kısmı, akciğerlerde alveollerden nefese atılmak, böbreklerden idrar içine itrah edilmek ve ter bezleri tarafından salgılamak suretiyle uzaklaştırır. Ekspirasyon havasındaki alkol konsantrasyonu, kandaki konsantrasyonu gecikmeksizin ve düzenli bir oranda yansıtır. Bu nedenle nefesteki alkol kandaki miktarın oldukça iyi bir göstergesidir. Alkol esas olarak karaciğerde ve diğer ufak ölçüde diğer dokularda metabolize edilir. Diğer dokular

içinde alkolü en fazla metabolize eden mide mukozasıdır. Alkolün biyotransformasyonunda birinci basamak, asetaldehide oksitlenmesidir. Bu dönüşüm iki yolak üzerinden olur.

1) **Alkol dehidrojenaz yolağı:** Bu enzim esas itibariyle karaciğer hücrelerinde sitoplazma içinde bulunan ve çinko içeren sistolik bir enzimdir. Mutad dozda alkol alındığında dönüşüm bu yolak üzerinden olur. Büyük miktarda alkol alındığında, dönüşümün büyük kısmı yine bu yolak üzerinden olur. Alkolün oksidasyonu, nikotinamid adenin dinükleotid kofaktörü'nün, nikotin adenin dinükleotid (NAD)'e indirgenme olayına kenetlidir. Bu reaksiyon etanol metabolizmasında hız kısıtlayıcı bir basamaktır.
2) **Mikrozomal karma fonksiyonlu oksidazlar:** Karaciğerde endoplazmik retikulumda yerleşmiş olan bu enzimlerin etanolün oksidasyonunu yapan bölümüne, mikrozomal etanol oksidleyici sistem adı verilmiş ve daha sonra bunun Sitokrom P2E1 (CYP2E1) olduğu anlaşılmıştır. Alkolü oksidleyen mikrozomal oksidazın Km değeri, alkol dehidrojenaz enziminkinden 4-40 kat yüksek olduğundan; CYP2E1 alkol konsantrasyonu yükseldiğinde ve artan bir ölçekte devreye girer.

Alkolün oksidasyonunda ikinci basamak, asetaldehidin asetik aside dönüşümüdür. Asetaldehidin %90'ından fazlası bu reaksiyona girer. Olayı NAD'a-bağımlı mitokondriyel bir enzim olan aldehid dehidrojenaz (ALDH) kataliz eder; bu olaya karaciğer mikrozomal enzimlerinin katkısı düşük derecededir. İkinci basamaktaki dönüşümün hızı, birincininkinden çok daha fazladır. Bu nedenle, alkol alındıktan sonra vücutta asetaldehid birikmez; bu maddenin kandaki konsantrasyonu alkolünkinin %1'i kadardır. Alkoliklerde muhtemelen mitokondrilerin bozulmasına bağlı olarak asetaldehid oksidasyonu yavaşlar. Asetaldehidden oluşan asetik asid kısmen metabolize edilerek karbon dioksit (CO_2) ve suya dönüşür. Alkoliklerde CYP2E1 indüklenir; fakat alkol, vücutta bulunduğu süre boyunca bu enzim akut olarak inhibe edilmiş durumdadır. Bu durum alkolün barbitürat ve benzodiazepin gibi diğer bazı ilaçlarla karmaşık bir şekilde etkileşmesine neden olur.

Alkolün en önemli farmakolojik etkileri santral sinir sistemi üzerinde depresyon ve bu

arada disinhibisyon yapmasına bağlı olarak oluşan behevyoral etkilerdir. Yüksek dozda vücuda girdiğinde genel anestezi oluşturur; fakat bu amaçla kullanılmaz.

1. Behevyoral etkiler: Alkol ufak miktarda alındığında sedasyon yapar. Kişide anksiyete, endişe, sıkılganlık ve sorumluluk duygusunu azaltır; öfori oluşturur. Davranışı baskı altında tutan moral inhibisyonu hafifletir ve baskı altında tutulan içgüdülerin, isteklerin, ve eğilimlerin eyleme dönüşümünü kolaylaştırır. Başlangıçta, konuşma ve hareket etme eğilimini arttırır; disinhibisyona bağlı eksitasyon yapar. Alkol, kişide kendini kontrol ve özeleştiri yeteneğini azaltır. Usa-vurma yeteneğini bozar.

Alkolün etkisi altında kognitif yeteneklerde azalma olur. Zihinde aritmetik işlem yapılması zorlaşır; beceri isteyen işlerin hatasız yapılması zorlaşır ve psikomotor testlerde başarı oranı düşer. Etanol, serebeller fonksiyonu nisbeten belirgin şekilde bozar. Alkolün afrodizyak etkisi olduğu ileri sürülmüştür.

2. Kardiyovasküler etkisi: Alkol alındığında cilt damar yatağında genellikle belirgin vazodilatasyon olur. Periferik damar rezistansı düşer. Ciltte kızarma olur ve terleme artar. Benzer ilaçlar (barbitüratlar) eşit derecede behevyoral depresyon yapan dozlarda vazodilatasyon yapmaz. Bu iki bulgu, alkolün ufak dozda alındığında yaptığı vazodilatasyonun santral etkiden ziyade damar düz kası üzerindeki direkt etkiye bağımlı olduğunu düşündürür. Son zamanlarda yapılan incelemeler alkolün yaptığı vazodilatasyonun, ondan oluşan asetaldehide bağlı olduğunu göstermiştir. Asetaldehid oldukça güçlü vazodilatör bir maddedir; ufak dozda i.v. infüzyonu, belirgin vazodilatasyon ve zonklayıcı başağrısı yapabilir. Alkol cilt damarlarında oluşan vazodilatasyon nedeniyle kişiye ısınma hissi verir. Vazodilatasyon ciltte ısı kaybını azaltır. Alkol, soğukta kalındığında kolayca hipotermi oluşmasına neden olur ve donmayı kolaylaştırır. Alkol koroner ve serebral kan akımlarını artırmaz. Alkolün anginalı hastalarda ekzersize bağlı ağrıyı azalttığı ve önlediği saptanmıştır. Bunun, alkolün periferik damar rezistansını düşürerek kalbin yaptığı işi azaltması ile ve anginal nöbeti tetikleyen psişik gidermesi ile ilgili olabilir. Ufak dozda veya aşırı dozda alkol alındığında kalp atış hızı azalabilir; bunun asetaldehide bağlı olması muhtemeldir. Orta miktarda alındığında, genellikle kan basıncı düşmesine bağlı olarak gelişen refleks sempatik uyarı nedeniyle, kalp hızını ve atış hacmini arttırabilir. Orta veya fazla miktarda

alkol uzun süre kullanıldığında miyokard kontraktilitesinde azalma olur; bu etkinin asetaldehidin miyokartta sempatik sinir uçlarındaki noradrenalin deposunu azaltmasına (deplesyona) bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Bu durum miyokard fonksiyonu normal düzeyde olanlarda kısa süreli bir sorun oluşturmayabilir.

3. Solunum üzerine etkisi: Oluşan asetaldehide bağlı olarak ufak ve orta dozdaki alkol, solunum merkezini stimüle eder; Solunumu hızlandırır.

4. Emetik etki: Aşırı dozda alkol alındığında bulantı ve kusma gelişir. Bu, akut alkol intoksikasyonunu önleyen "yararlı" bir etki gibi gözükür. Ancak mide içeriğinin aspirasyonu ile pnömoni ve bazen boğulmaya neden olabilir. Emetik etkinin alkollü içkinin mideyi tahrişine bağlı olması yanında, santral sinir sistemin (SSS)'de kusma ile ilgili kusma ile ilgili merkezlerin uyarılmasından ileri gelmesi de muhtemeldir. Nitekim i.v. yoldan infüzyonla alkol çevrilmesi sırasında bulantı ve kusma sık görülen bir yan tesirdir.

5. Gastrointestinal etki: Alkol iştahı arttırır. Bunda alkollü içkinin lezzeti, öfori hali, inhibisyondan kurtulma ve alkol mide asid salgısının uyarılması gibi etkenlerin katkısı vardır. Alkol midede antrum bölgesindeki lokal ve belki de santral etkisi ile gastrin salgılanmasını arttırır; böylece hidroklorik asid salgısını arttırır. Yüksek konsantrasyonda alkol içeren içkiler sulandırılmadan ve fazla miktarda alınırsa, midede şiddetli irritasyon, motilitede ve asit salgısında azalma, pilor spazmı, mukus salgısında artma, mide boşalma süresinde boşalma ve bir sure sonra bulantı ve kusma oluşur. Fazla miktarda alınan alkol barsak tahrişi ile diyareye neden olabilir. Aşırı miktarda alındığında kolonun hareketini deplese eder ve kabızlık yapar. Alkol pankreasın dış salgısını artırır; bu organda da mukoza bariyerini bozabildiği için aşırı miktarda alkol alınması akut pankreatite neden olabilir.

6. Diüretik etkisi: Alkol hipofiz arka lobundan antidiüretik hormon salgılanmasını inhibe eder. Alkollü içki alanlarda diürez olur.

7. Uterus üzerine etkisi: İntravenöz verilen veya ağızdan alınan alkol, oksitosin salgılanmasını inhibe eder. Oksitosinin uterus kası üzerindeki büzücü etkisini azaltır.

8. Metabolik etkiler: Kronik olarak az veya orta miktarda alkollü içki kullananlarda plazmada yüksek dansiteli lipoprotein (YDL) düzeyinin arttığı, düşük dansiteli

lipoprotein (DDL) düzeyinin ise düştüğü saptanmıştır. YDL, kolestrolün dokularda ve arter çeperinde mobilizasyonu ve yıkılmasını sağladığı için ateroskleroz gelişimini önleyen "yararlı" lipoproteindir. Çeşitli epidemiyolojik incelemelerde alkol kullanma ile koroner kalp hastalığı insidensi arasında ters bir ilişki bulunduğu saptanmıştır. Aşırı miktarda alkol kullananlarda ise karaciğer bozukluğu geliştiğinde aterojenik lipoprotein olan DDL'nin düzeyi artmaya başlar. Alkol plazma trigliserid düzeyini daima arttırır.

9. Endokrin sisteme etkisi: Alkol adrenal medulladan adrenalin ve noradrenalin salgılanmasını arttırır. Bu etki hiç olmasa kısmen asetaldehid bağlı olabilir. Yüksek dozda ACTH ve buna bağlı olarak kortikosteroid salgılanmasını stimüle eder. Prolaktin salgılanmasını arttırır. Hipofiz arka lobundan hormon salgılanmasını daha önce belirtildiği gibi inhibe eder. Alkol erkeklerde plazmada testosteron düzeyini azaltır. Bunda hipofiz ön lobunda luteinleyici hormon salgılanmasını inhibe etmesi ve ayrıca direkt etkisiyle testiste steriodojenezi inhibe etmesi rol oynar. Steriodojenez üzerinde asetaldehid, alkolden daha güçlü bir direkt inhibisyonu yapar. Alkol bilinmeyen bir mekanizma ile erkeklerde estrojen düzeyini yükseltir. Alkolün seks hormonları üzerindeki etkisi belirgin derecede ortaya çıkar.

10. Teratojenik etki: Gebelik esnasında sık alkol alınması, doz pek fazla olmasa bile fötüsta morfolojik bozukluklara neden olabilir. Alkolik gebe kadınlardan doğan bebeklerde bu bozukluklar oldukça sık görülür. Bu duruma fötal alkol sendromu denilir. Alkol fotüsta somatik ve mental fonksiyonların gelişmesini kapsayan intrauterin büyüme gecikmesi (retardasyon) yapar.

11. Alkolün organik toksik tesirleri: Alkoliklerde oluğu gibi uzun sure aşırı miktarda alkol alınması hepatotoksik, nörotoksik, kardiyotoksik ve rabdomyotoksik (çizgili kasıcı bozucu etki yapar).

Alkol bağımlılığı: Alkol, psişik ve fiziksel bağımlılık oluşturan ve böylece kişiyi kompülsif olarak alkol içmeye sevk edebilen bir maddedir. Alkol bağımlılığı, diğer bazı ilaç bağımlılığı durumlarında olduğu gibi kendini psikotik belirtilerle gösterir. Alkole fiziksel bağımlılık gelişmesi genellikle geç olarak ve belirgin derecede tolerans geliştikten sonra olur. Diğer bağımlılık tiplerinden farklı olarak alkol bağımlılığında karaciğer, beyin, miyokard ve çizgili kaslarda anatomopatolojik bozukluklarda gelişir. Bu

nedenle alkol bağımlılığı aynı zamanda kronik alkol zehirlenmesidir; alkol bağımlılığı alkolizm diye adlandırılır. Alkolizm, batıda en yaygın olan kronik bir psişik hastalıktır[121,122].

2.3.1 Alkol ve NO

Kronik etanolün endotelyal hücrelerden NO sentezini veya salınımını etkilediği gösterilmiştir[14,123]. Etanolün düşük düzeyde koroner damar arter hastalıkları, iskemik felç, miyokard enfarktüsü ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı kaydedilmiştir[10,11]. Ancak yüksek dozda kronik etanolün hipertansiyon da dahil olmak üzere kardiyovasküler komplikasyonlara neden olduğu ve mortaliteyi artırdığını gösteren bulgular mevcuttur[12,13]. Sıçanlarda etanolün kronik olarak ağızdan verilmesinin kalp ve diğer dokularda oksidatif strese neden olduğu gösterilmiştir[124,125]. Sıçanlarda yüksek miktarda etanolün oksidatif doku hasarını arttırdığı, NO ve antioksidanları deplese ederek hipertansiyona yol açtığı ileri sürülmüştür[126]. Endotelyal NO üretiminin azalmasının, NO'nun etanolün biyoinaktivasyonu sonucu oluşan serbest süperoksid anyonları ile reaksiyona girip peroksinitrit radikallerine dönüşmesine ve/veya eNOS'un oksidatif inaktivasyonuna bağlı olabileceği ileri sürülmektedir [15,127]. Klinik çalışmalarda, alkolik hastalarda endotelyum hasarına bağlı kardiyavasküler hastalıkların ortaya çıktığı gösterilmiştir[128]. Penil vasküler endotelyum hasarının erektil disfonksiyona neden olabileceği ileri sürülmektedir[129,130]. Alkolün erkek seksüel aktivitesi üzerindeki farmakolojik ve behevyoral etkileri uzun zamandan beri tartışılmaktadır. Tavşan korpus kavernozum dokusunda %1-5'lik akut etanol uygulamasının bazal tonusu ve elektriksel stimülasyona bağlı gevşemeleri anlamlı olarak inhibe ettiği bulunmuş ve asetilkolin-L-arjinin-NO yolağın aracılık ettiği korpus kavernozum gevşemelerinin etanole daha duyarlı olduğu gösterilmiştir[131].

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deneylerde Ç.Ü. Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinden (TIBDAM) sağlanan 20-25 g ağırlığında Swiss albino türü beyaz erkek fareler kullanıldı. Deneylere alınacak hayvanlar oda sıcaklığı 22±0.5 ^{0}C olan ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde aydınlatılması yapılan ortamda barındırıldı.

Kontrol grubu ve kronik etanol grubuna ait fareler kullanıldı.

3.1. Kronik Etanol Uygulaması

İnhalasyon yolu ile etanol uygulamak için Goldstein[132] tarafından tanımlanan ve daha önce modifiye edilmiş yöntem kullanıldı. Bu amaçla 7.5 L hacminde pleksiglastan yapılan ve bir hava çıkış borusu bulunan yarı kapalı bir sistem kullanıldı. Kabın altına içinde filtre kağıdı bulunan bir petri kutusu sabitlendi. Fareler kabın ortasındaki delikli platform üzerine konuldu. % 95' lik alkol perfüzyon sistemi ile dakikada 35 µl olacak şekilde kap içerisine yerleştirilen petri kutusundaki filtre kağıdına damlatılarak emdirildi. Aynı filtre kağıdı üzerine bir hava motoru aracılığıyla hava gönderildi. Bu şekilde alkolün buharlaşması ve kap içerisindeki havaya karışması sağlandı. Sistemdeki diğer bir boru yardımı ile yarı kapalı devreden havanın çıkması temin edildi. Farelerin bir grubuna 7 gün, diğer gruba ise 14 gün süresince etanol inhalasyonu yapılarak iki ayrı alkol grubu oluşturuldu. Ayrıca, alkol verilmeden sadece hava verilen bu yarı kapalı sistem içerisinde farelerin 7 ve 14 gün yaşatılmasıyla iki ayrı kontrol grubu oluşturuldu. Bu süre içinde hayvanlar için gerekli su ve yeterli yiyecek sağlandı.

3.1.1 Kandaki Etanol Düzeyinin Ölçülmesi

Etanole maruz bırakılan farelerin kanlarındaki alkol düzeyleri Ç.Ü. Adli Tıp Anabilim Dalında ölçüldü. 7 ve 14 gün alkole maruz bırakılmış fareler dekapite edilmeden önce halotan (% 2) ile anestezi edildi. Anestezi altındaki farelerin göğüs kafesi açılarak kan örnekleri pasteur pipetleri ile kalp ve göğüs boşluğundan alınıp önceden hazırlanan steril sodyum florürlü (1cc'ye 10 mg NaF) tüplerin içine aktarıldı. Ağızları kapatılarak, hava ile temasları kesildi, numaralandırıldı, çalışılıncaya kadar $+4^0$C'da saklandı. Gaz Kromatografisi/Headspace cihazı kullanılarak kanda etanol düzeyleri ölçüldü. 0.2 ml kan otomatik pipet yardımı ile 6 ml'lik gaz kromatografi/headspace şişesine konuldu. Üzerine 0.8 ml internel standart hamilton şırınga ile eklenerek şişe kapağı klamp ile bekletilmeden kapatıldı. İyice karıştırılarak analiz için cihaza yerleştirildi. 15 dakika 65 ^{0}C'da bekleme sonrası (sıvı buhar dengesi sağlandı) örneğin cihaza enjeksiyonu yapıldı.

3.2. İn Vitro Çalışmalar

Kontrol grubu ve kronik etanol inhalasyonu yapılan fareler servikal dislokasyon ile öldürüldü. Penisleri çıkarılıp Krebs solüsyonu (mM olarak NaCl 119, KCl 4.6, $CaCl_2$ 1.5, $MGSl_2$ 1.2, $NaHCO_3$ 15, $NaHPO_4$ 1.2, glukoz 11) içeren petri kutusunda izole edildi. Glans penis ve üretra ayrılıp her iki korpus kavernozum dokusu arasındaki fibröz septum kesilerek ve turnika albuginea intakt bırakılarak iki ayrı korpus kavernozum preparatı elde edildi. Her iki preparat 200 mg tansiyon altında %95 O_2 ve %5 CO_2 ile gazlandırılan Krebs solüsyonu içeren 15 ml'lik organ banyolarına asıldı. Banyo sıcaklığı 37^0 C derecede muhafaza edildi. Dokular daha sonra bir saat süresince inkübasyona bırakıldı. Bu inkübasyon sırasında dokular her 15 dakikada bir Krebs solüsyonu ile yıkandı. Bir saatlik inkübasyon sonunda dokulara deneysel protokol uygulandı**.** Cevaplar izotonik transduser aracılığı ile (Ugo Basile, 7006) bir poligraf (Ugo Basile Gemini 7070) üzerine kaydedildi.

3.2.1. Elektriksel Saha Stimülasyonu (ESS), Ekzojen Nitrik Oksid (NO) ve Asetilkolin Gevşemeleri

Kontrol grubu ve kronik etanol inhalasyonu yapılan (7 ve 14 günlük gruplar) farelerden izole edilen korpuz kavernozum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato cevabı elde edildikten sonra dokulara ardışık olarak elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn; Grass S88 stimülatörü), ekzojen NO (asidifiye $NaNO_2$; 10^{-4} M) ve asetilkolin (10^{-7} M) verilerek gevşeme cevapları elde edildi. Uygulamalar sonrasında doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakikalık ara inkübasyona bırakıldı. Bu ara inkübasyondan sonra aynı deney protokolü bir kez daha tekrarlanarak ikinci seri cevaplar elde edildi. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için ikinci seri uygulamadan sonra dokuya papaverin (10^{-4} M) uygulaması yapılarak gevşeme cevabı elde edildi.

3.2.2. 1H-[1,2,4]oksadiazol[4,3]kuinoksalin-1 (ODQ) ve L-Nitroarjinin (L-NA) Uygulanan Deneyler

Kontrol grubu ve kronik etanol inhalasyonu yapılan (7 ve 14 günlük gruplar) farelerden izole edilen korpus kavernozum dokuları bir saatlik inkübasyon süresinden sonra fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırıldı. Maksimum kasılma cevabı platoya ulaştıktan sonra dokulara ardışık olarak elektriksel saha stimülasyonu (ESS, 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (10^{-4} M) ve asetilkolin (10^{-7} M) uygulanarak gevşeme cevapları elde edildi. Dokular Krebs solüsyonu ile yıkandıktan sonra ODQ ve L-NA içeren banyo ortamında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin sonunda dokulara ikinci kez ESS, ekzojen NO ve asetilkolin uygulandı. Diğer bir deney grubunda ise L-arjininli ortamda L-NA'nin etkileri araştırıldı. Bu grup deneylerde fenilefrin ile kastırılan dokuya (8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (10^{-4} M) ve asetilkolin (10^{-7} M) uygulanarak gevşeme cevapların elde edildi. Dokular Krebs solüsyonuyla yıkandıktan sonra L-NA ve L-arjinin

kombinasyonu içeren ortamda 30 dakika inkübe edildi ve tekrar ESS, ekzojen NO ve asetilkolin uygulaması yapıldı.

3.3. Histolojik Çalışmalar

Kontrol ve 14 günlük alkol gruplarından alınan korpus kavernozum dokusu %2.5'luk gluteraldehit ile fikse edildi, %1'lik osmiyum oksit (OsO_4) ile postfiksasyon yapıldı. Dehidrasyon işlemi yükselen derecelerde alkol kullanılarak gerçekleştirildi. Propilen oksitle şeffaflandırma ve resine alıştırma aşamalarından sonra, dokular resine (Araldite, EMS) gömüldü. 24 saatlik polimerizasyon işleminden sonra, bloklardan Leica Ultracut UCT-125 ile öncelikle 1 ìm kalınlığında yarı ince, sonra da 50-70 nm kalınlığında ince kesitler alındı. Yarı ince kesitler toluidin mavisi ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi ve hangi alandan ince kesit alınacağı belirlendi. İnce kesitler ise uranil asetat-kurşun sitrat ile kontrastlandılar. Kesitler JEOL-JEM 1011 elektron mikroskobunda incelendiler. Mikroskoba eklenmiş dijital kamera ile fotoğrafları çekildi.

3.4. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

ESS, ekzojen NO ve asetilkolin ile oluşturulan birinci ve ikinci seri gevşemeler, papaverin gevşemelerinin yüzdesi olarak değerlendirildi. Papaverin gevşemesi 100 olarak kabul edildi. Birinci ve ikinci serideki ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşemeleri papaverine göre oranlandı. Papaverin ile oluşan gevşeme değeri (A) ve ESS, ekzojen NO ve asetilkolin ile elde edilen gevşeme değeri ise (B) gösterildi. Milimetre olarak ölçülen bu değerlere aşağıdaki formül uygulandı.

% gevşeme: Bx100/A

Grupların % değerleri ortalama ($\overline{X}$) ± Standart Hata şeklinde ifade edildi. L-NA ve ODQ deneylerinde ilaçsız ortamda elde edilen birinci seri gevşeme cevapları kontrol grubu olarak kabul edildi. Gruplar arası istatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one way ANOVA) ve Benferroni-t testi yapıldı ve 0.05'ten küçük P değerleri anlamlı olarak kabul edildi ($P<0.05$).

3.5. Kullanılan İlaçlar ve Solüsyonların Hazırlanması

Kullanılan ilaçlardan asetilkolin (asetilkolin klorid), fenilefrin hidroklorür ($_{L}$-Fenilefrin hidroklorür), L-Arjinine (L-Arjinin hidroklorür), L-nitroarjinin (N^{ω}-Nitro-L-arjinin), ODQ (1H-[1,2,4]oksadiazol[4,3]kuinoksalin-1), papaverin (6,7-Dimetoksi-1-veratri-isokuinolin) SIGMA firmasından, sodyum nitrit ($NaNO_2$) MERCK firmasından, etanol (%95'lik) ise SİSMED Medikal Limited şirketinden temin edildi.

Asetilkolin, $5.5x10^{-4}$ M stok solüsyonlar halinde distile suda hazırlanıp, bu stok solüsyondan seyreltilerek banyoya 10^{-7} M olacak şekilde verildi. ODQ, 10^{-2} M stok solüsyondan banyo ortamına 10^{-4} M konsantrasyonda verildi. Asidifiye sodyum nitrit, sodyum nitrit'in buzlu ortamda pH 2'de çözülmesiyle hazırlandı ve $-4C^{0}$'de muhafaza edildi. Alkol çalışmalarında %95'lik etanol kullanıldı. Deneylerde kullanılan tüm maddelerin solüsyonları distile suda hazırlandı. Asidifiye sodyum nitrit, fenilefrin, L-arjinin, L-nitroarjinin, papaverin ve krebs solüsyonu günlük olarak hazırlandı.

4. BULGULAR

4.1. Kandaki Alkol Düzeyleri

Farelere inhalasyon yolu ile 7 ve 14 gün boyunca etanol verildi. 7. ve 14. günlerde alkol inhalasyonu uygulaması sonlandırıldı ve her iki grup farelerde alkol kan düzeyleri ölçüldü. Kontrol grubunun kan alkol düzeyleri ile 7 ve 14 gün süresince etanole maruz kalan farelerin kandaki etanol düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($P<0.05$); ancak 7 ve 14 gün süresince etanole maruz kalan grupların kan alkol düzeyleri arasında istatistiksel olarak bir fark yoktu (Tablo 1, $P>0.05$)

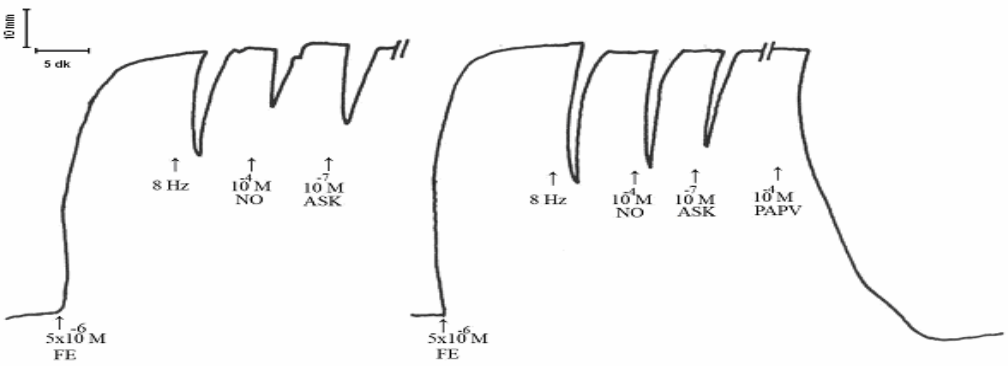
Alkole maruz kalma süresi (gün)	*n*	*Kandaki alkol düzeyi (mg/dl)*
Kontrol	3	53.3±12.8
7	8	110.4 ± 13*
14	8	114.8 ± 11*

Tablo 1. 7 ve 14 gün süre ile alkole maruz kalan farelerin 7. ve 14. günlerde kandaki alkol düzeyleri. Kan alkol düzeyleri ortalama konsantrasyon (mg/dl) ± Standart Hata şeklinde ifade edildi. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P<0.05$).

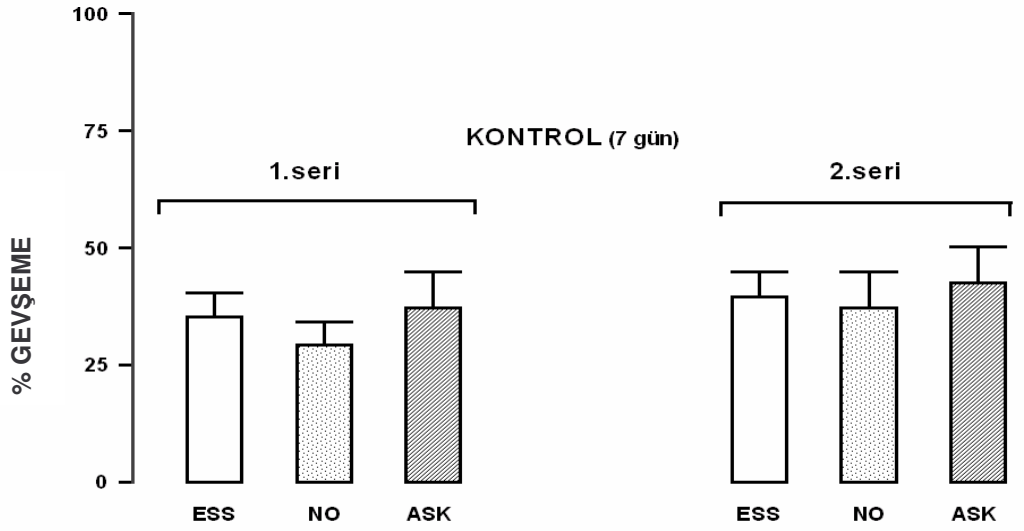
4.2. Kontrol Gruplarında Elektriksel Saha Stimülasyonu, Ekzojen NO ve Asetilkolin cevapları

7 gün boyunca alkol yerine hava inhalasyonu yapılan kontrol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum dokusunda spesifik α_1- adrenerjik reseptör agonisti fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara ardışık olarak ESS (8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (10^{-4} M) ve asetilkolin (10^{-7} M) uygulanması hızlı ve geçici gevşemeye neden oldu. Doku Krebs solüsyonu ile yıkanıp 30 dakikalık inkübasyondan sonra ikinci seri ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşemeleri elde edildi (Şekil 1A). Birinci seri olarak elde edilen ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşeme yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değerleri sırası ile 27.1±2.9, 35.4±6.5, 33.2±5.1 ve ikinci seri ortalama değerler ise 32.9±2.9, 40.4±5.7, 34.8±6 idi. Birinci seri gevşemeler ve ikinci seri gevşemeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Şekil 1B, $P>0.05$, n=12).

A.

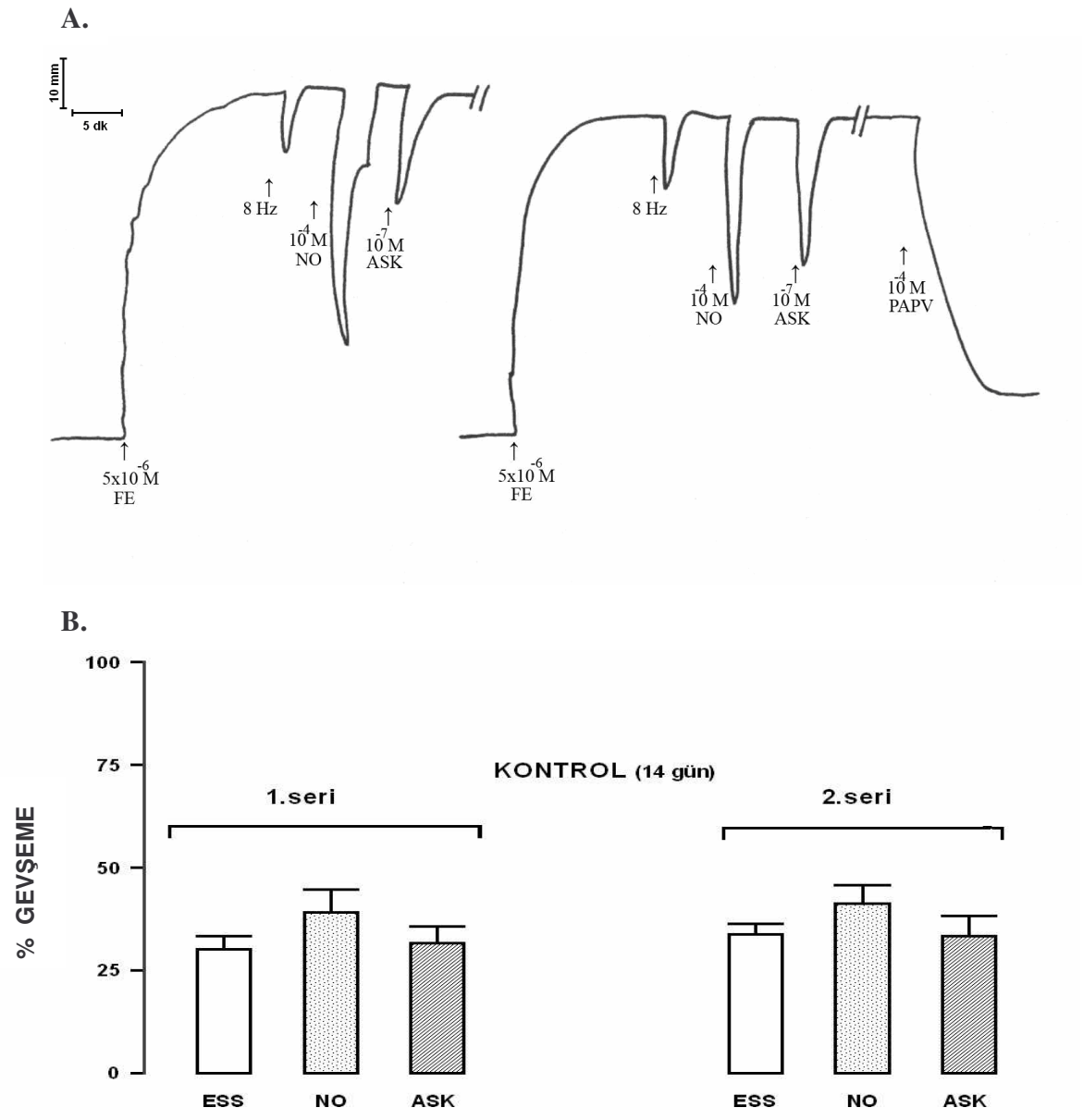


B.



Şekil 1. 7 gün süresince hava inhalasyonu yapılan kontrol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin ($5x10^{-6}$) ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşemelerinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)** . Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (*n*= 12)**.**

14 gün süresince alkol yerine hava verilen deney gruplarında kontrol cevaplarını almak için, fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırılmış dokulara ardışık olarak ESS (8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (10^{-4} M) ve asetilkolin (10^{-7} M) uygulaması yapıldı. ESS, ekzojen NO ve asetilkolin korpus kavernozum dokusunda hızlı ve geçici gevşeme oluşturdu. Doku Krebs solüsyonu ile yıkanıp 30 dakikalık inkübasyondan sonra ikinci seri ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşemeleri elde edildi (Şekil 2A). Birinci seri ESS, NO, asetilkolin gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 30.2±3.2, 39.1±5.5, 31.7±4.1 idi. Bu grubun ikinci seri ESS, NO, asetilkolin gevşemelerinin yüzde değerleri ise sırası ile 33.7±2.6, 41.2±4.6, 33.3±4.9 idi. Birinci seri gevşemeler ve ikinci seri gevşemeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Şekil 2B, $P>0.05$, n=15).

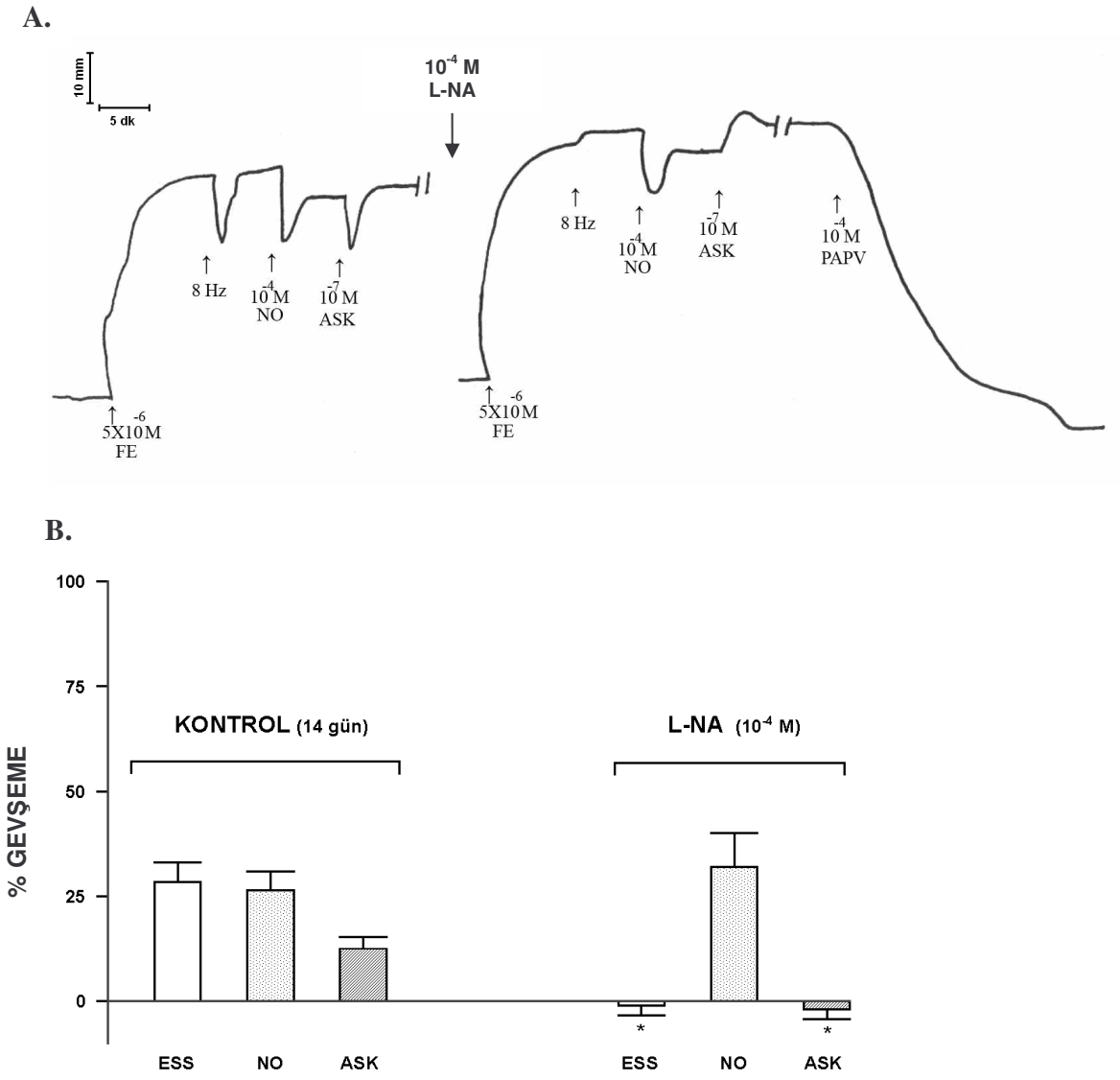


Şekil 2. 14 gün suresince hava inhalasyonu yapılan kontrol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşemelerinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)** . Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (*n= 15*).

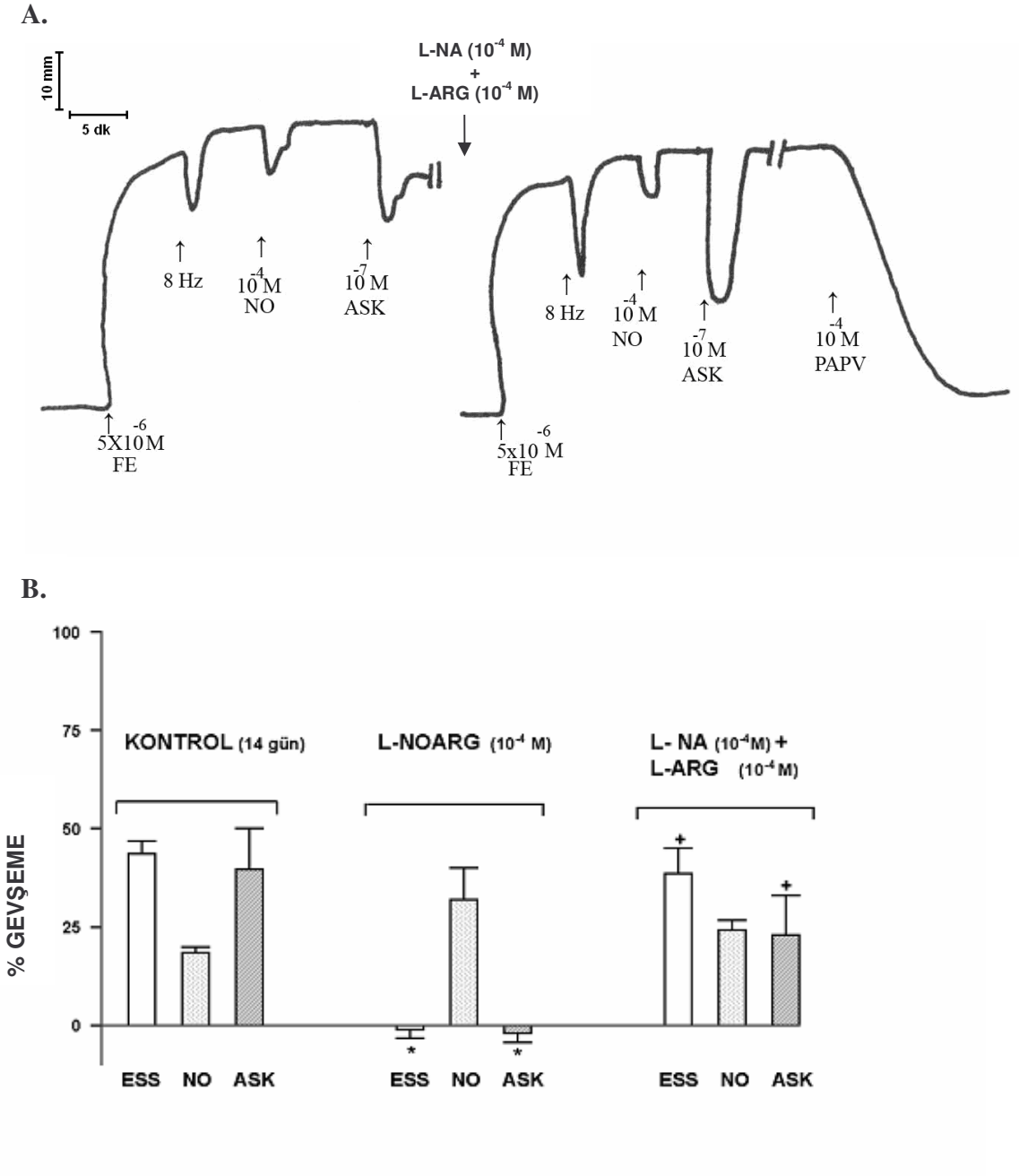
4.3. Kontrol Grubunda Elektriksel Saha Stimülasyonu, Ekzojen NO ve Asetilkolin Gevşeme Cevapları Üzerine L-Nitroarjinin (L-NA)'in Etkisi

14 günlük kontrol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum dokuları fenilefrin ($5x10^{-6}$) ile kastırıldıktan sonra ESS (8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (10^{-4} M) ve asetilkolin (10^{-7} M) uygulamaları ile birinci seri gevşeme cevapları alındı. Dokular NOS inhibitörü L-NA (10^{-4} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri ESS, NO ve asetilkolin uygulamaları yapıldı. İlaçsız ortamda ESS, NO ve asetilkolin gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 28.4±4.6, 26.4±4.5, 12.5±2.7 iken L-NA ortamda inkübasyondan sonra elde edilen ESS, NO ve asetilkolin yüzde değerleri sırası ile -1.1±2.2, 32±8, -2±2.3 idi. L-NA, ESS ve asetilkolin gevşemelerini kasılma cevaplarına dönüştürdü ($P<0.05$); ekzojen NO gevşemelerini ise etkilemedi (Şekil 3, $P>0.05$,n=8).

L-NA ile elde edilen gevşemeler üzerindeki inhibitör cevaba NO prekürsörü olan L-Arjinin (10^{-4} M)'in etkisi araştırıldı. Bu grup deneylerde birinci seri ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşeme cevapları alındıktan sonra ortama L-NA (10^{-4}M) ve L-arjinin (10^{-4} M) kombinasyonu ilave edildi; 30 dakikalık inkübasyondan sonra ikinci seri ESS, ekzojen NO ve asetilkolin uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda ESS, NO ve asetilkolin gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 43.6±3.2, 18.4±1.5, 39.6±10.4 iken L-NA + L-arjininli ortamda elde edilen ESS, NO ve asetilkolin yüzde değerleri sırası 38.6±6.5, 24.2±2.6, 22.9±10.1 idi. L-arjinin, L-NA'in ESS ve asetilkolin gevşemeleri üzerindeki inhibitör etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttı (Şekil 4, $P<0.05$, n=8).



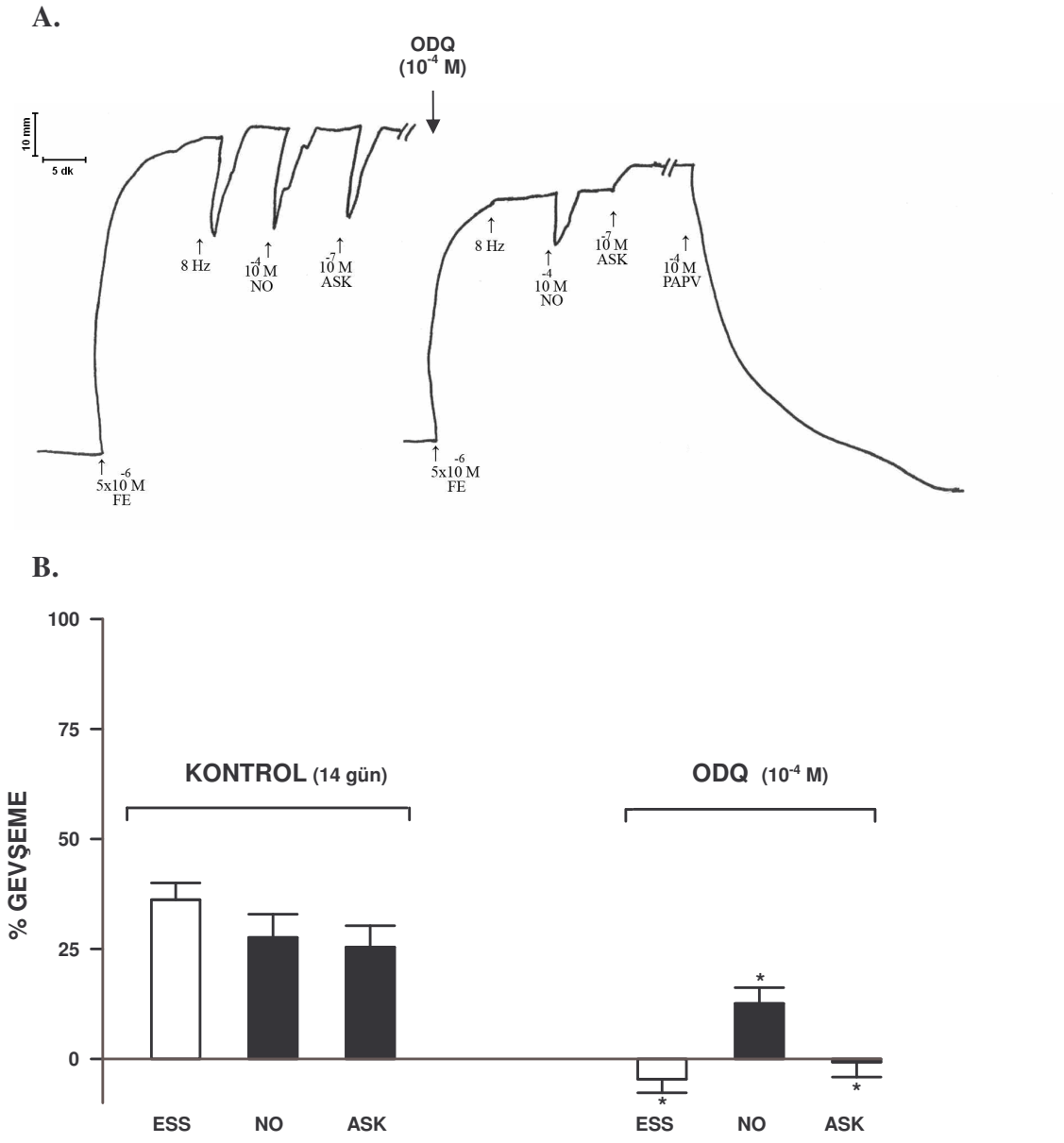
Şekil 3. 14 gün süresince hava inhalasyonu yapılan kontrol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşeme cevapları üzerine L-nitroarjinin'nin (L-NA; 10^{-4}M) etkisinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)**. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=8).



Şekil 4. 14 gün süresince hava inhalasyonu yapılan kontrol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşeme cevapları üzerine L-nitroarjinin (L-NA; 10^{-4}M) + L-arjinin (10^{-4}M)'nin etkisinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)** . * Kontrol grubuna göre, $^{+}$ L-NA grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=8).

4.4. Kontrol Grubunda Elektriksel Saha Stimülasyonu, Ekzojen NO ve Asetilkolin Gevşeme Cevapları Üzerine 1H-[1,2,4]oksadiazol[4,3]kuinoksalin-1 (ODQ)'nün Etkisi

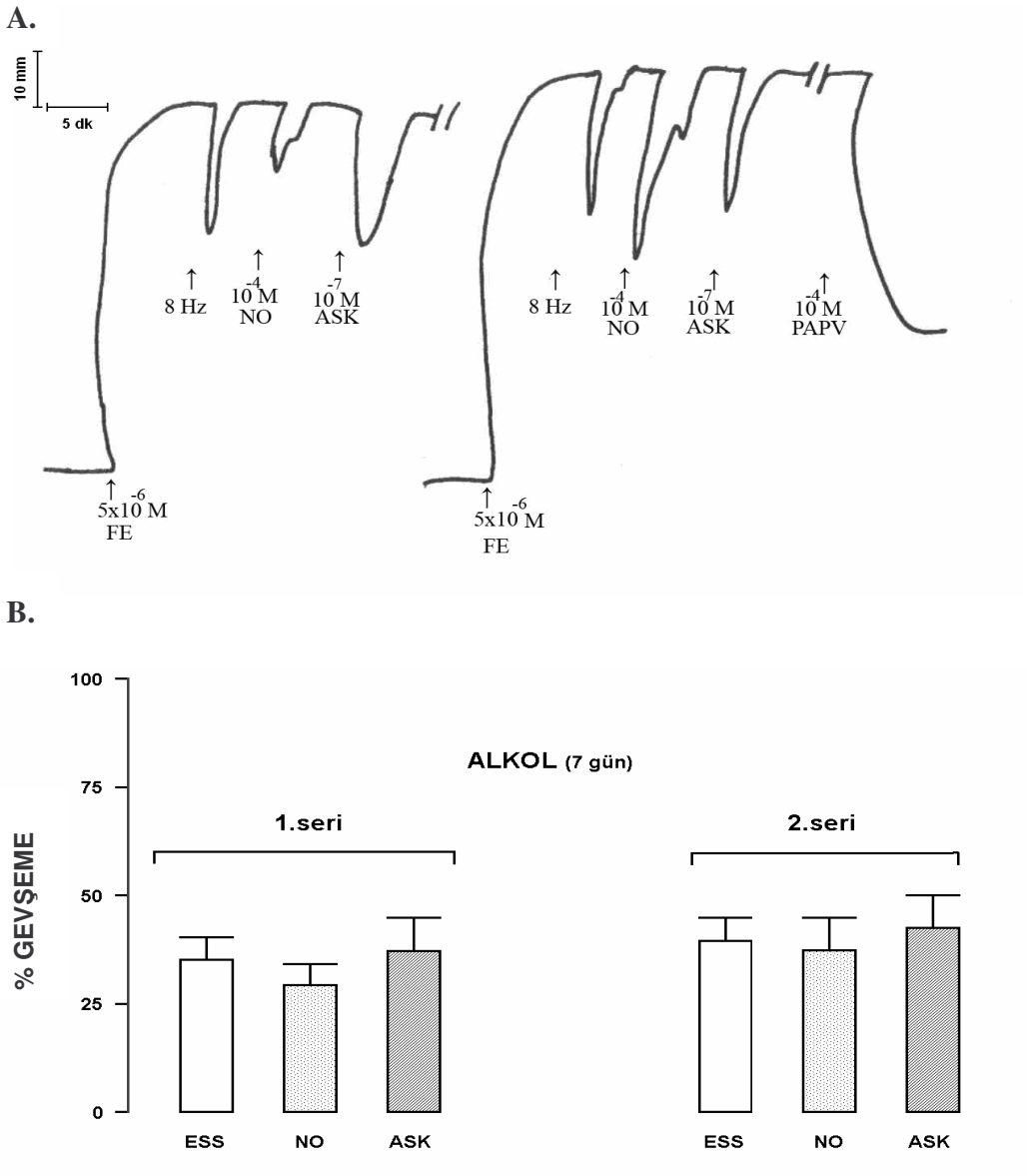
14 günlük kontrol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum dokularında fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) kasılmalarına, ESS (8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (10^{-4} M) ve asetilkolin (10^{-7} M) uygulamaları ile birinci seri gevşeme cevapları alındıktan sonra Krebs'li banyo ortamına guanilil siklaz inhibitörü ODQ (10^{-4} M) ilave edildi ve dokular bu ortamda 30 dk inkübasyona bırakıldı. İlaçsız ortamda ESS, NO ve asetilkolin gevşemelerinin yüzde değerleri sırası 36.2±3.8, 27.6±5.3, 25.4±4.9 iken ODQ içeren ortamda inkübasyondan sonra elde edilen ESS, NO ve asetilkolin yüzde değerleri sırası ile -4.6±3.1, 12.6±3.6, -0.70±3.4 idi. ODQ, ESS ve asetilkolin gevşemelerini kasılma cevaplarına dönüştürürken, ekzojen NO gevşemelerinde de istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden oldu (Şekil 5, $P<0.05$, n=5).



Şekil 5. 14 gün süresince hava inhalasyonu yapılan kontrol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7}M) gevşeme cevapları üzerine ODQ (10^{-4}M)'nün etkisinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)**. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n= 5).

4.5. Alkol Gruplarında Elektriksel Saha Stimülasyonu, Ekzojen NO ve Asetilkolin Cevapları

İnhalasyon yoluyla 7 gün süresince alkol verilen farelerden izole edilen korpus kavernozum dokusunda fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara ardışık olarak ESS (8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (10^{-4} M) ve asetilkolin (10^{-7} M) uygulanması hızlı ve geçici gevşemeye neden oldu. Birinci seri elde edilen ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşeme yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değerleri sırası ile 35.2±5.2, 293±4.8, 37.1±7.7 ve ikinci seri ortalama değerler ise 39.6±5.3, 37.3±7.5, 42.6±7.5 idi. Birinci seri gevşemeler ve ikinci seri gevşemeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Şekil 6, $P>0.05$, n=12). Kontrol grubunun ikinci seri gevşeme cevapları ile alkol grubu farelerin ikinci seri gevşeme cevapları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 7, $P>0.05$).



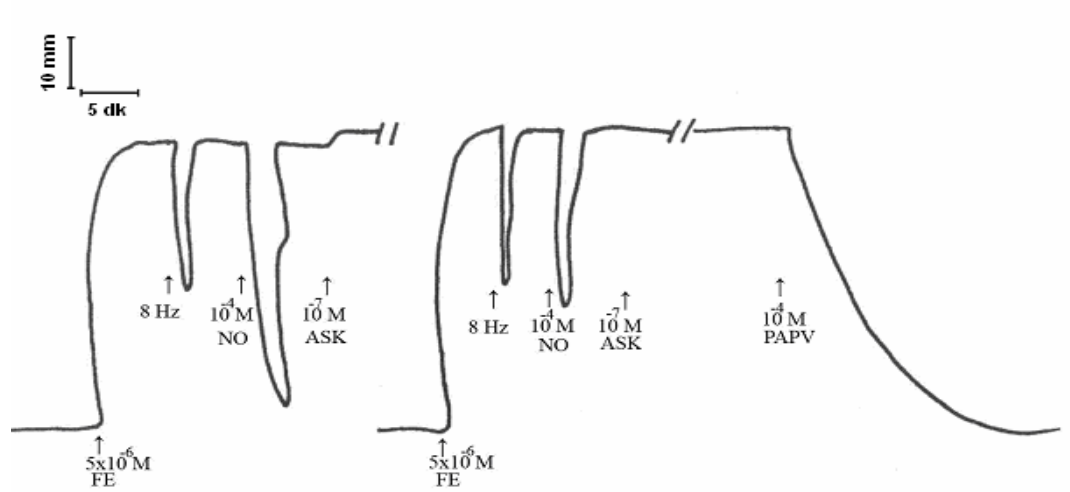
Sekil 6. 7 gün süresince alkol inhalasyonu yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşemelerinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)**. Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (*n*= 12)**.**



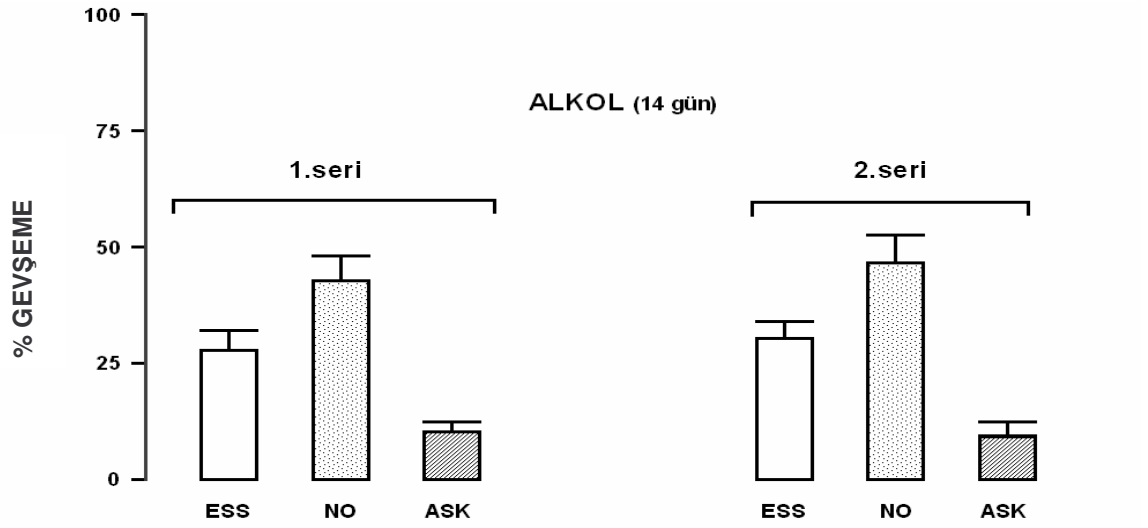
Şekil 7. 7 gün süresince hava (KONTROL) ve alkol inhalasyonu (ALKOL) yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşemelerinin sütün grafiği . Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi.

14 gün süresince inhalasyon yolu ile alkol verilen deney gruplarında, fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırılmış dokulara ardışık olarak ESS (8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (10^{-4} M) ve asetilkolin (10^{-7} M) uygulaması yapıldı. Birinci seri ESS, NO ve asetilkolin gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 27.8±4.2, 42.7±5.4, 10.2 ±2.1 ve ikinci seri gevşemelerin yüzde değerleri 30.26±3.7, 46.66±5.9, 9.25±3.07 idi. Birinci seri gevşemeler ve ikinci seri gevşemeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Şekil 8, $P>0.05$, n=17). Bu grup deneylerde ESS ve ekzojen NO uygulaması, kontrol cevaplarına benzer şekilde hızlı ve geçici bir gevşeme yaptı; ancak asetilkolinin gevşeme cevaplarında azalma oldu. Kontrol grubunun ikinci seri asetilkolin gevşeme cevapları ile alkol grubu farelerin ikinci seri asetilkolin gevşeme cevapları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (Şekil 9, $P<0.05$). Alkol grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında, 14 gün alkole maruz kalan farelerden izole edilen korpus kavernozum dokularının ikinci asetilkolin gevşemelerinde 7 gün süresince alkol alan farelerden izole edilen dokuların asetilkolin gevşemelerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi (Şekil 10, $P<0.05$).

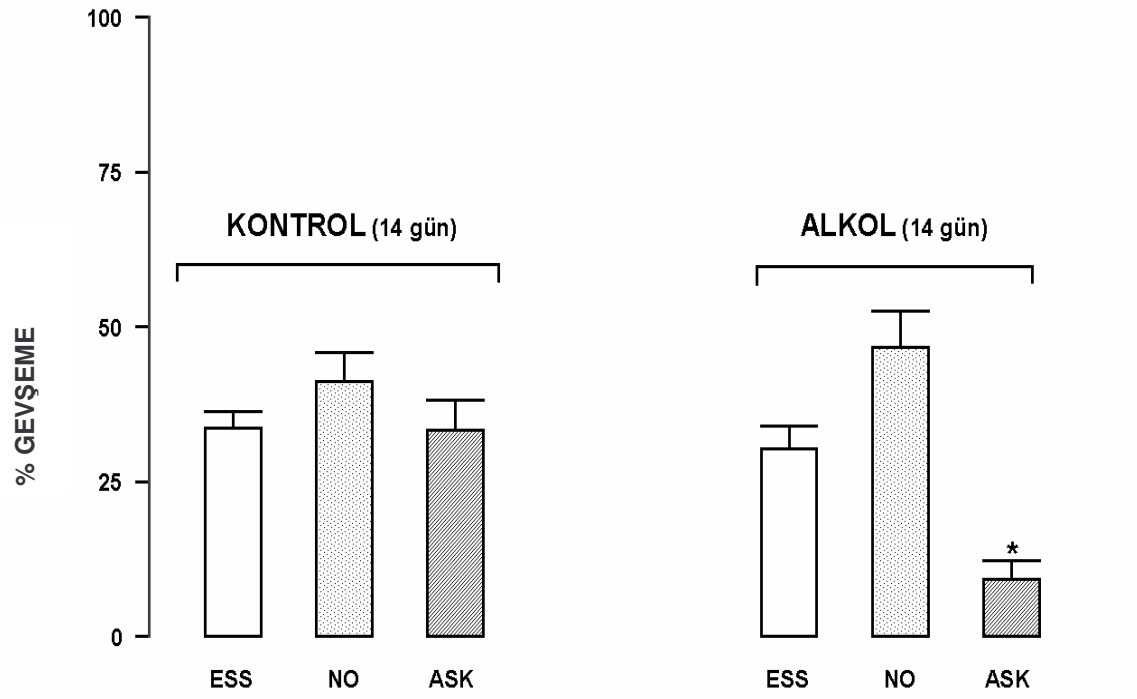
A.



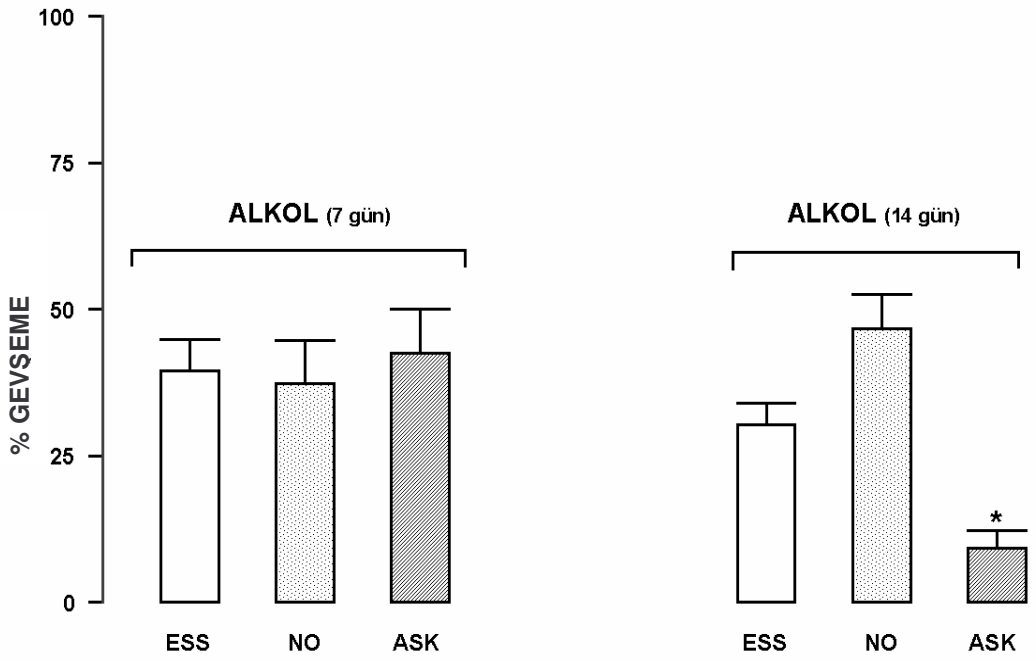
B.



Şekil 8. 14 gün süresince alkol inhalasyonu yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS, 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşemelerinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)**. Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (*n*= 17)**.**



Şekil 9. 14 gün süresince hava (KONTROL) ve alkol inhalasyonu (ALKOL) yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz: 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşemelerinin sütün grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P<0.05$).Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi



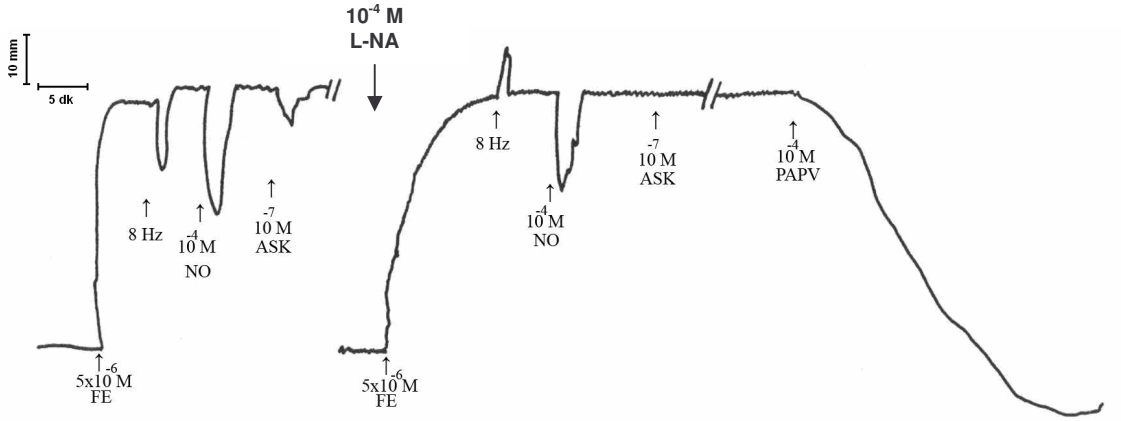
Şekil 10. 7 ve 14 gün süresince alkol inhalasyonu yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile oluşturulan kasılma cevapları üzerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşemelerinin sütün grafiği. * **7** günlük alkol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir. ($P<0.05$). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi**.**

4.6. Alkol grubunda Elektriksel Saha Stimülasyonu, Ekzojen NO ve Asetilkolin Gevşeme Cevapları üzerine L-Nitroarjininin Etkisi

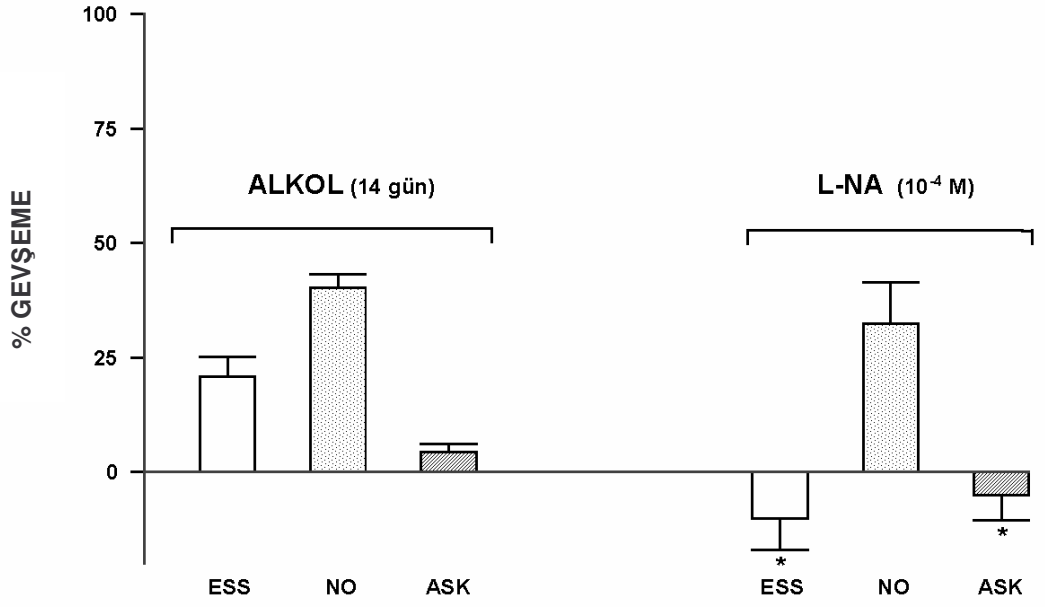
14 günlük alkol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum dokuları fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırıldıktan sonra ESS (8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (10^{-4} M) ve asetilkolin (10^{-7} M) uygulamaları ile birinci seri gevşeme cevapları alındı. Dokular NOS inhibitörü L-NA (10^{-4} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri ESS, NO ve asetilkolin uygulamaları yapıldı. İlaçsız ortamda ESS, NO ve asetilkolin gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 20.8±4.3, 40.2±3, 4.4±1.8 iken L-NA ortamda inkübasyondan sonra elde edilen ESS, NO ve asetilkolin yüzde değerleri sırası ile **-** 10.1±5.9, 32.4±8.9, -5.1±5.4 idi. L-NA, ESS ve asetilkolin gevşemelerini kasılma cevaplarına dönüştürdü (*P<0.05*); ekzojen NO gevşemelerini ise etkilemedi (Şekil 11, *P>0.05*, n=8).

L-NA'in gevşemeler üzerindeki inhibitör cevabı üzerinde NO prekürsörü L-arjinin (10^{-4} M)'in etkisi araştırıldı. Bu grup deneylerde birinci seri ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşeme cevapları alındıktan sonra ortama L-NA (10^{-4}M) ve L-arjinin (10^{-4} M) kombinasyonu ilave edildi; 30 dakikalık inkübasyondan sonra ikinci seri ESS, ekzojen NO ve asetilkolin uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda ESS, NO ve asetilkolin gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 20.8±10.3, 25.2±1.2, 17.5±6.6 iken L-NA + L-arjininli ortamda elde edilen ESS, NO ve asetilkolin yüzde değerleri sırası 25.8±8.5, 34.9±7.1, 8.1±8.2 idi. L-arjinin, L-NA'nin ESS ve asetilkolin gevşemeleri üzerindeki inhibitör etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttı (Şekil 12, *P<0.05*).

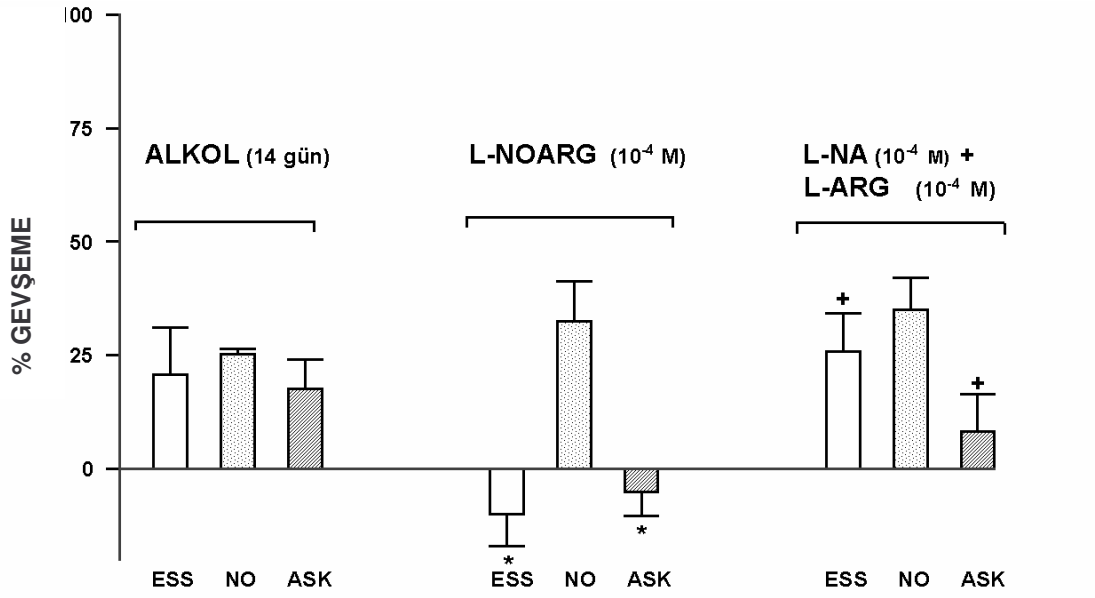
A.



B.



Şekil 11. 14 gün süresince alkol inhalasyonu yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşeme cevapları üzerine L-nitroarjinin'nin (L-NA; 10^{-4}M) etkisinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)**. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=8).

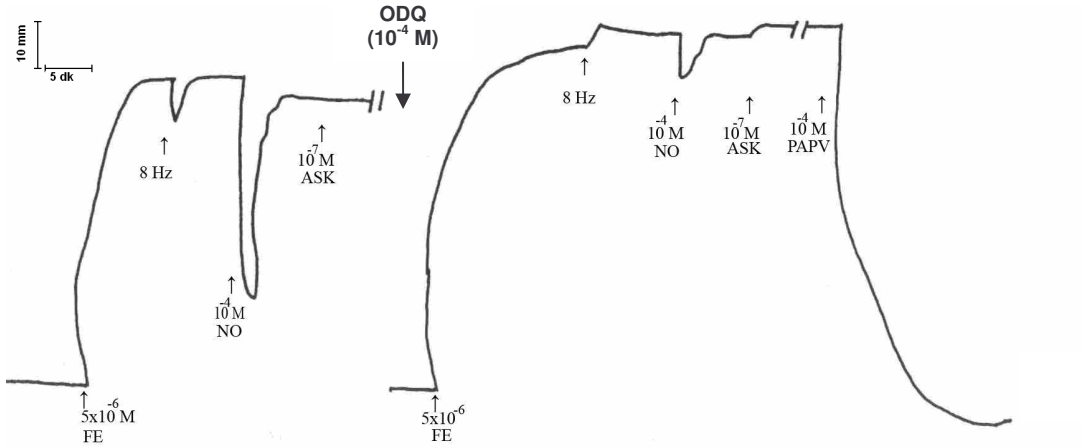


Şekil 12. 14 gün süresince alkol inhalasyonu yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 Hz: 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşeme cevapları üzerine L-nitroarjinin (L-NA; 10^{-4}M) + L-arjinin (10^{-4}M)'nin etkisinin sütün grafiği. * Kontrol grubuna göre, $^{+}$ L-NA grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=8) .

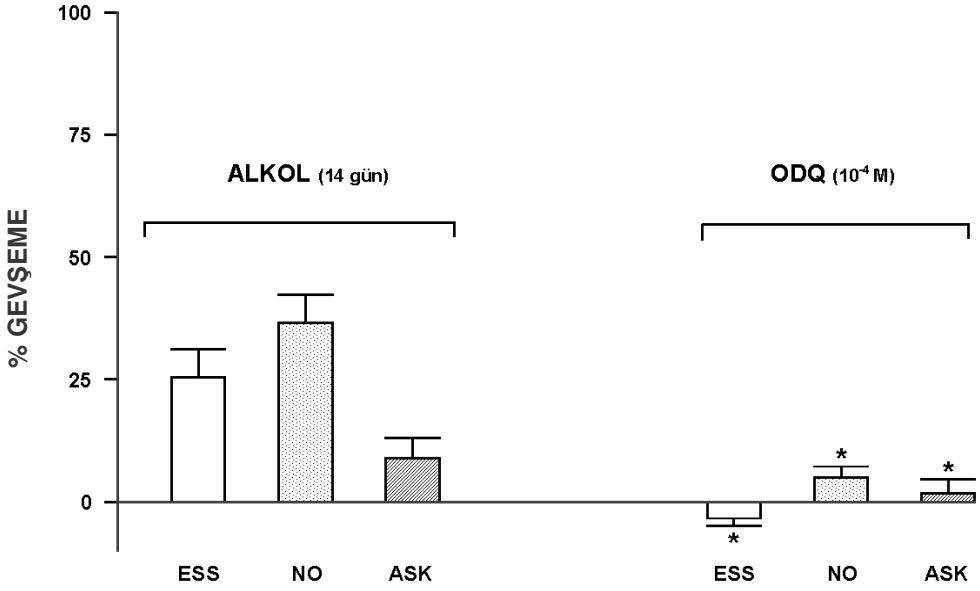
4.7. Alkol Grubunda Elektriksel Saha Stimülasyonu, Ekzojen NO ve Asetilkolin Gevşeme Cevapları Üzerine 1H-[1,2,4]oksadiazol[4,3]kuinoksalin-1 (ODQ)'nün Etkisi

14 günlük alkol grubu farelerden izole edilen korpus kavernozum dokuları fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırıldıktan sonra ESS (8 Hz, 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (10^{-4} M) ve asetilkolin (10^{-7} M) uygulamaları ile birinci seri gevşeme cevapları alındı. Dokular guanilil siklaz inhibitörü ODQ (10^{-4} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri ESS, NO ve asetilkolin uygulamaları yapıldı. İlaçsız ortamda ESS, NO ve asetilkolin gevşemelerinin yüzde değerleri sırası 25.5±5.7, 36.5±5.9, 8.9±4.1 iken ODQ içeren ortamda inkübasyondan sonra elde edilen ESS, NO ve asetilkolin yüzde değerleri sırası ile -3.4±1.5, 4.9±2.3, 1.8±2.7 idi. ODQ, ESS gevşemelerini kasılma cevaplarına dönüştürürken, ekzojen NO ve asetilkolin gevşemelerinde de istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden oldu (Şekil 13, $P<0.05$, n=5).

A.



B.

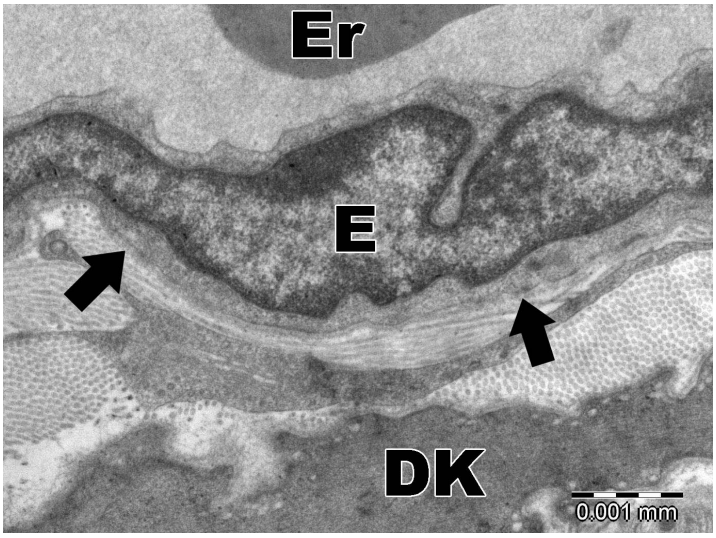


Şekil 13. 14 gün süresince alkol inhalayonu yapılan farelerden izole edilen korpus kavernozum şeritlerinde elektriksel saha stimülasyonu (ESS; 8 H,: 30 V, 0.5 msn, 15 sn), ekzojen NO (NO; 10^{-4} M) ve asetilkolin (ASK; 10^{-7} M) gevşeme cevapları üzerine ODQ (10^{-4}M)'nun etkisinin trase örneği **(A)** ve sütün grafiği **(B)**. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n= 5)

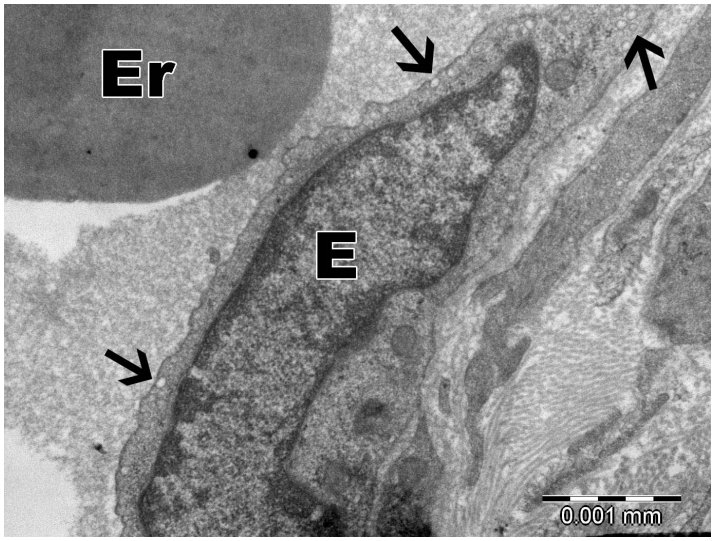
4.8. Elektron Mikroskobu Bulguları

4.8.1. Kontrol Grubu İçin Elektron Mikroskobu Bulguları

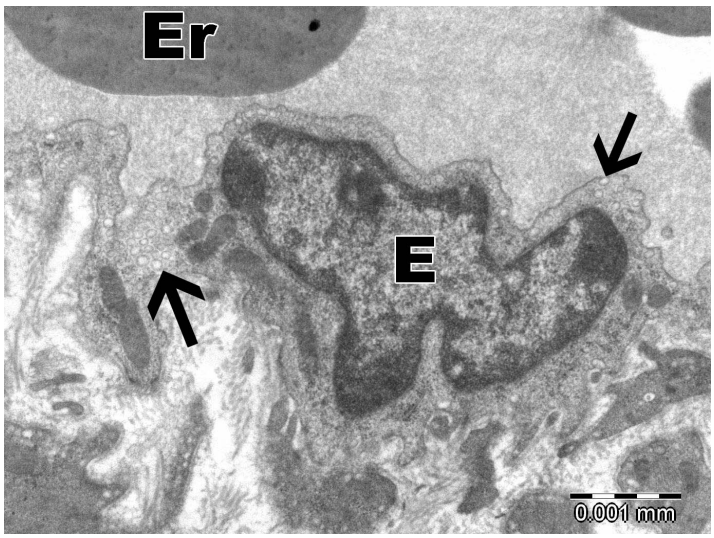
İnhalasyon yoluyla 14 gün süresince alkol yerine hava verilen kontrol grubu farelerin korpus kavernozumundan izole edilen ve elektron mikroskobunda incelenen endotel hücreleri, oldukça sağlıklı şekilde ökromatik nükleuslu, belirgin nükleoluslu, ince sitoplazmalı olarak izlendi (Şekil 14-17). Sitoplazmalarında mitokondriyonların yanısıra, çok sayıda pinositotik vezikül dikkati çekti (Şekil 15-17). Ayrıca, bağlantı kompleksleri ve bazal lamina da normal olarak görüldü (Şekil 14).



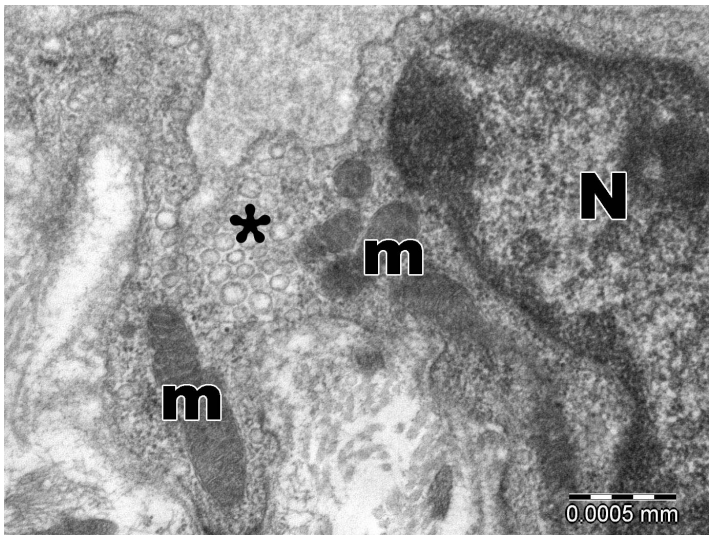
Sekil 14. Kontrol grubu. Endotel hücresi (E), lümende eritrosit (Er), düz kas hücresi (DK) ve bazal lamina (ok). (Uranil asetat-Kurşun sitrat)



Sekil 15. Kontrol grubu. Endotel hücresi (E), sitoplazmada pinositotik veziküller (ok), eritrosit (Er). (Uranil asetat-Kurşun sitrat)



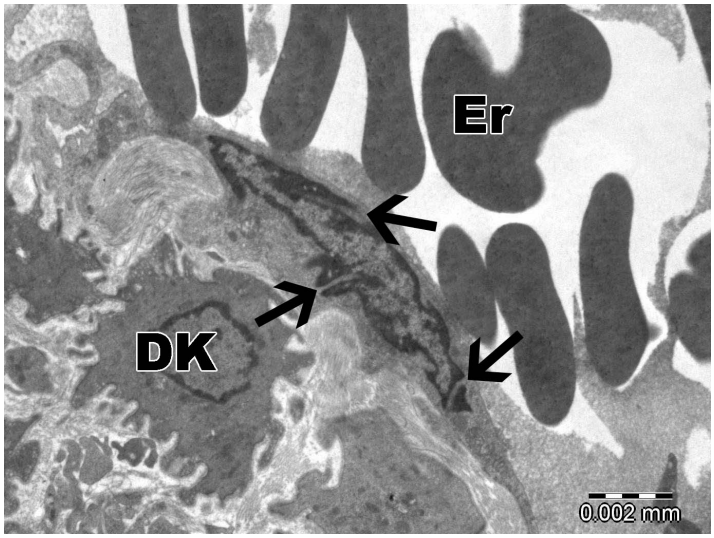
Sekil 16. Kontrol grubu. Endotel hücresi (E), sitoplazmada pinositotik veziküller (ok), eritrosit (Er). (Uranil asetat-Kurşun sitrat)



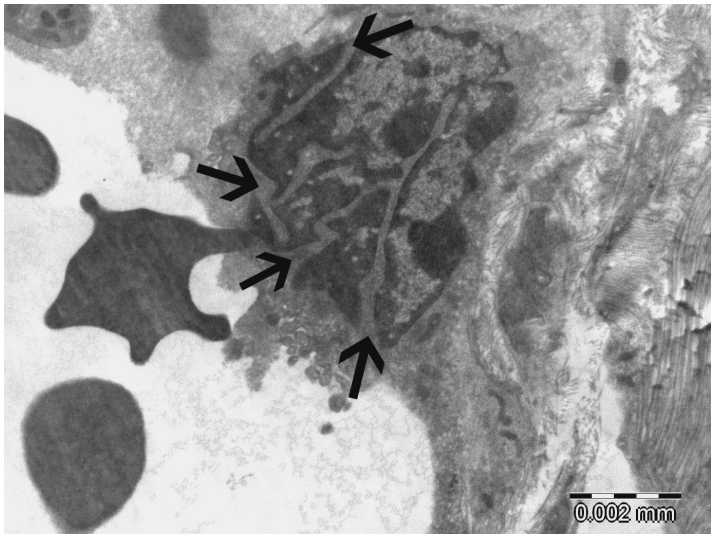
Sekil 17. Kontrol grubu. Endotel hücresi nükleusu (N), sitoplazmada pinositotik veziküller (asterisk) ve mitokondriyonlar (m). (Uranil asetat-Kurşun sitrat)

4.8.2. Alkol grubunun elektron mikroskobu bulguları

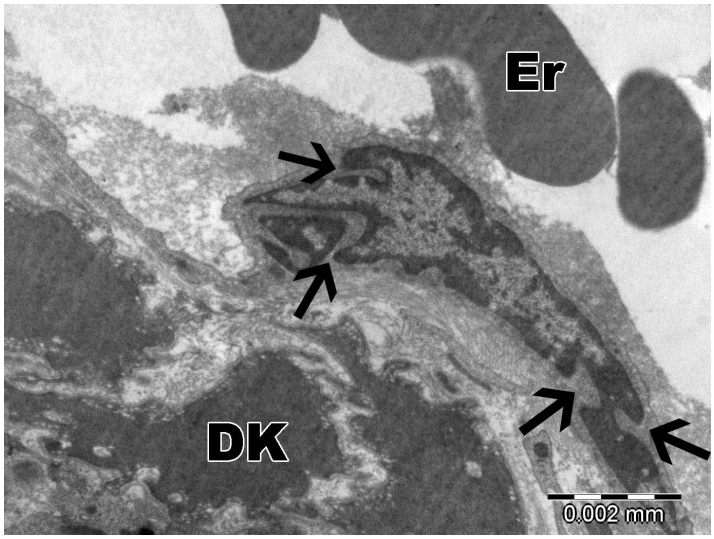
14 günlük alkol grubu farelerin korpus kavernozumundan izole edilen ve elektron mikroskobunda incelenen endotel hücrelerindeki en büyük değişiklik nükleuslarındaydı. Nükleuslarda belirgin heterokromatik görüntü izlendi. Ayrıca, heterokromatin özellikle nükleus periferinde yoğunlaşmış olarak görüldü (Şekil 18-24). Bunun yanısıra, nükleuslarda belirgin ve derin çöküntüler dikkati çekti (Şekil 18-21, 23). Birçok hücrede, sitoplazmada pinositotik veziküllerde azalma saptandı (Şekil 22). Yer yer bazı hücrelerin sitoplazmalarında vakuoler değişiklikler belirlendi (Şekil 23, 24)**.** Hücrelerarası bağlantı komplekslerinde ya da bazal laminada bir değişikliğe rastlanmadı (Şekil 24).



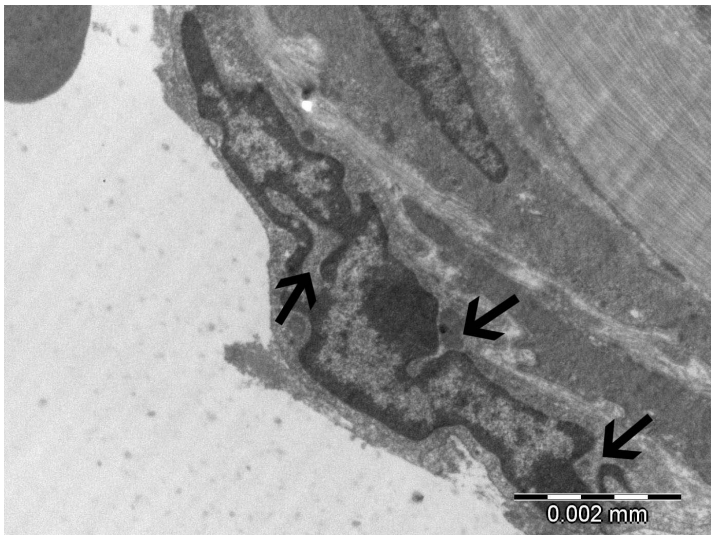
Sekil 18. Deney grubu. Endotel hücresi nükleusunda derin çöküntüler (ok), düz kas hücresi (DK) ve eritrosit (Er). (Uranil asetat-Kurşun sitrat)



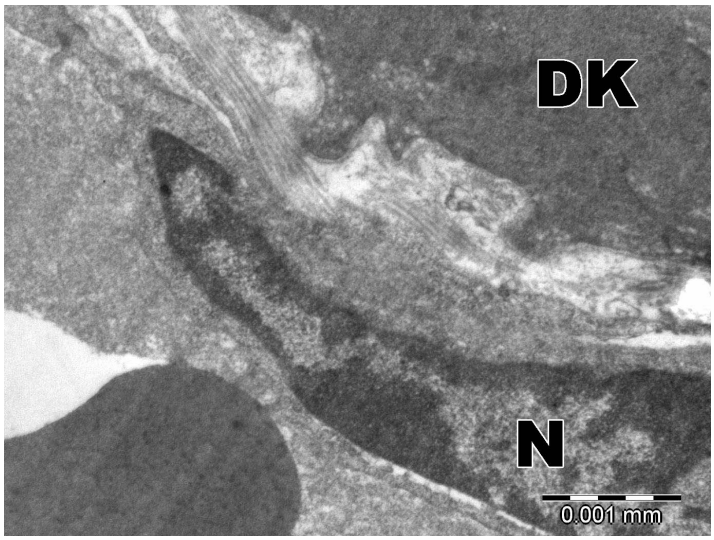
Sekil 19. Deney grubu. Endotel hücresi nükleusunda derin çöküntüler (ok). (Uranil asetat-Kurşun sitrat)



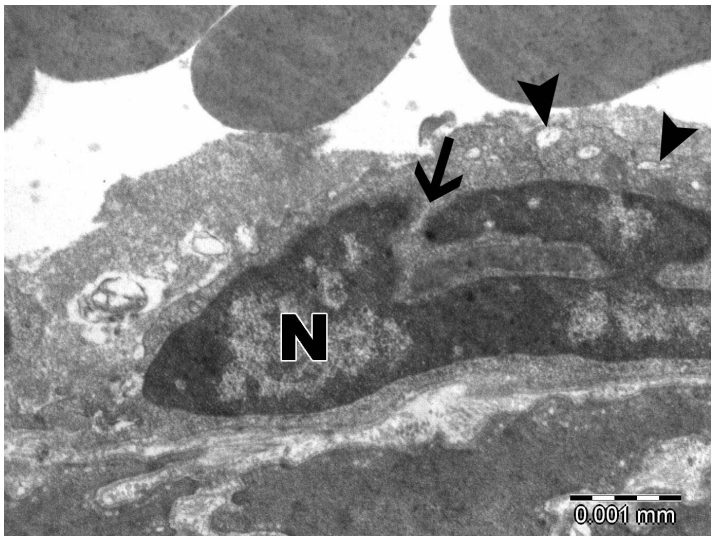
Şekil 20. Deney grubu. Endotel hücresi nükleusunda derin çöküntüler (ok), düz kas hücresi (DK) ve eritrosit (Er). (Uranil asetat-Kurşun sitrat)



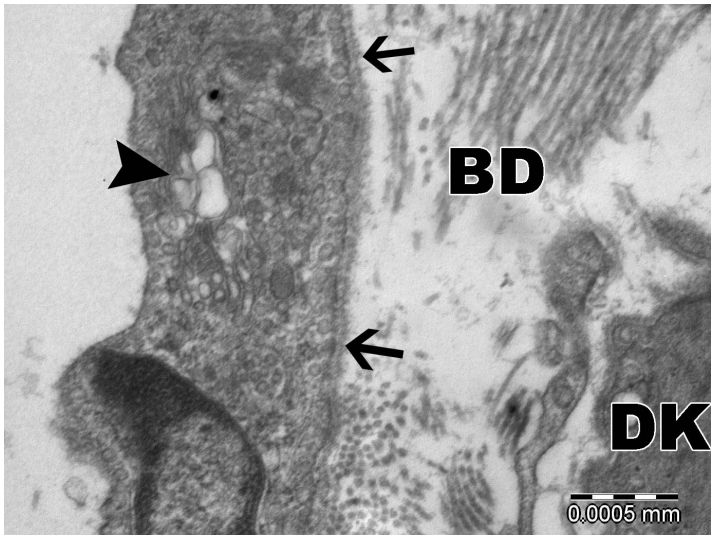
Şekil 21. Deney grubu. Endotel hücresi nükleusunda derin çöküntüler (ok). (Uranil asetat-Kurşun sitrat)



Şekil 22. Deney grubu. Endotel hücresi nükleusu (N), düz kas hücresi (DK). (Uranil asetat-Kurşun sitrat)



Şekil 23. Deney grubu. Endotel hücresi nükleusu (N), nükleusta derin çöküntüler (ok) ve sitoplazmada vakuoler değişiklikler (ok başı). (Uranil asetat-Kurşun sitrat)



Şekil 24. Deney grubu. Endotel hücresi sitoplazmasında vakuoler değişiklikler (ok başı), bazal lamina (ok), düz kas hücresi (DK) ve bağ dokusu (BD). (Uranil asetat-Kurşun sitrat)

5. TARTIŞMA

İzole fare korpus kavernozum dokusunda, inhalasyon yoluyla uygulanan kronik etanolün ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşemeleri üzerindeki etkisi araştırıldı. Kronik etanol uygulaması korpus kavernozumda ESS ve ekzojen NO gevşemelerini değiştirmedi; fakat asetilkolin gevşemelerini inhibe etti. Ayrıca, elektron mikroskobu ile yapılan histolojik incelemelerde, kronik etanole maruz kalan farelerin korpus kavernozum dokusunun endotelyumunda hasar tespit edildi. Endotel hasarı, kronik alkole maruz kalan farelerin korpus kavernozum dokusunda gözlenen asetilkolin gevşemelerinin inhibisyonu ile paralellik göstermektedir. Bulgularımız, kronik etanolün korpus kavernozum dokusunda endotelyum hasarı oluşturup NO salıverilmesini azaltarak erektil disfonksiyona yol açabileceğini düşündürmektedir.

Penil ereksiyonu kavernoz düz kasın gevşemesine bağlı olarak oluşmaktadır. İnsan dahil çeşitli memelilerin korpus kavernozumunda majör gevşetici maddenin, korpus kavernoz düz kasını innerve eden pelvik sinirler içindeki NANK nitelikteki nitrerjik sinir ucundan salıverilen NO olduğu bilinmektedir[4,116,133,134]. Fare korpus kavernozum dokusunda da L-NA ve ODQ'ya duyarlı elektriksel gevşemelerin nitrerjik sinirlerden salınan nitrik okside bağlı olduğu gösterilmiştir[96,104,105,135]. Ayrıca, fare korpus kavernozum dokusunda yapılan immünoreaktif çalışmalarda, sinir lifleri ve terminal varikozitelerde nNOS'un bulunduğu tespit edilmiş ve nNOS'un veziküler asetilkolin taşıyıcı protein, VIP, nöropeptid Y ve tirozin hidroksilaz ile birlikte lokalize olduğu rapor edilmiştir[135]. Laboratuar şartlarımızda, izole fare korpus kavernozum dokusunda elektriksel gevşemelerin nitrerjik nitelikte olduğunu teyit etmek amacıyla, fenilefrin ile kastırılmış izole korpus kavernozum dokusuna 8 Hz frekansta 15 sn elektriksel saha stimülasyonu uygulandı. Elektriksel saha stimülasyonu sonucu oluşan gevşemelerin NOS inhibitörü L-NA ve çGS inhibitörü ODQ tarafından tamamen inhibe edilmesi gevşemelerden nitrerjik sinirlerden salınan NO'nun sorumlu olduğunu göstermektedir.

Korpus kavernozumda NANK sinirlerden salınan NO'ya ilave olarak endotelyumdan salınan NO'nun de penil ereksiyonunda rol oynadığı düşünülmektedir. İmmünohistokimyasal ve moleküler çalışmalarda, penisin küçük intrakavernozal rezistans arterlerinde ve korpus kavernozumun trabeküler yapısında eNOS'un bulunduğu gösterilmiştir[5,7,116,136]. Ayrıca, fare erektil dokuda eNOS tespit edilmiştir[95,135]. Çalışmamızda, fenilefrin ile kastırılmış izole fare korpus kavernozum dokusunda asetilkolin ile elde edilen endotelyum-bağımlı gevşemeler L-NA ile tamamen inhibe oldu ve bu inhibisyon L-arjinin ile önlendi. Ayrıca, asetilkolin gevşemeleri ODQ ile tamamen ortadan kalktı. Bu bulgular asetilkolin stimülasyonu sonucu endotelyumdan salınan nitrik oksidin gevşemeye neden olduğunu göstermektedir. Benzer bulgular tavşan[137], sıçan[138], köpek[139] ve insan korpus kavernozumunda[65] da gözlenmiştir. Asetilkolin stimülasyonuna bağlı NO salınımının endotelyumdaki kolinerjik M_3 reseptörlerinin uyarılması sonucu oluştuğu bilinmektedir; endotel hücrelerindeki M_3 reseptörlerinin stimülasyonu intraselüler Ca^{2+} düzeyini artırıp Ca^{2+}/ kalmoduline bağlı eNOS'u aktive ederek endotel kaynaklı NO üretimini ve salıverilmesini artırmakta ve böylece damar düz kaslarını gevşetmektedir[8]. Çalışmamızda fare korpus kavernozum dokusunda elde edilen bulguların tersine, Gartwaite ve ark.[140] tarafından yapılan çalışmada, asetilkolin gevşemeleri L-NA ve ODQ tarafından tamamen inhibe olmamıştır ve yüksek potasyumlu ortamda rezidüel gevşemelerin ortadan kalkması nedeniyle araştırmacılar asetilkolinin K^+ kanallarını açarak hiperpolarizasyona neden olan madde/maddeler salabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Fenilefrin ile kastırılmış dokularda, ekzojen NO uygulaması hızlı ve geçici bir gevşemeye neden oldu. Ekzojen NO'ya bağlı gevşemeler ODQ ile tamamen bloke olmadı, rezidüel bir gevşeme kaldı. Bu rezidüel gevşeme, yüksek NO konsantrasyonunun ODQ'nun inhibitör etkisinin üstesinden gelmesine bağlı olabilir. Diğer bir olasılık ise, NO yüksek konsantrasyonlarda sGMP'nin stimülasyonu dışında başka mekanizmalar ile de etki yapabilir. Kültürel insan korpus kavernozum düz kası hücrelerinde NO'nun Sodyum/Potasyum ATPaz (Na^+/K^+ ATPaz)'ı aktive ettiği[141], diğer düz kas preparatlarında ise hiperpolarizasyon yaptığı rapor edilmiştir[142]. Fare korpuz kavernozum düz kasında rezidüel ekzojen NO gevşemelerinin mekanizmasını aydınlatmak için ilave

çalışmalar gerekmektedir.

Çalışmamızda, fare korpus kavernozum dokusunda kronik etanolün nöronal ve endotel kaynaklı nitrerjik gevşemelere etkisini araştırdık. Farelere kronik etanol, 7 gün ve 14 gün süresince devamlı alkol inhalasyonu şeklinde uygulandı. Çeşitli araştırmalarda kronik alkol uygulaması için inhalasyon tekniği kullanılmış ve fareler 12 gün veya 28 gün süresince alkole maruz bırakılmıştır[132,143,144,145]. Nantida ve Alkana[143] tarafından yapılan bir çalışmada 12 gün süresince alkol inhalasyonu yapılan farelerde kan alkol düzeyi 160-290 mg/dl olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda, alkole 7 gün ve 14 gün süresince maruz kalan gruplarda alkol kan düzeyleri sırası ile 110.4 ± 13.6 ve 114.8 ± 11 mg/dl idi ve iki grup arasında kan alkol değerleri istatistiksel olarak farklı değildi. Kronik etanole 7 gün süresince maruz kalan farelerin korpus kavernozum dokularının ESS, NO ve asetilkolin gevşemelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi; bu bulgu 7 gün süresince etanole maruz kalan farelerde kan alkol düzeyinin yüksek olmasına rağmen nitrerjik gevşemelerin etanolden etkilenmediğini göstermektedir. Ancak, 14 gün süresince etanol inhalasyonu yapılan farelerin korpus kavernozumlarında ESS ve ekzojen NO gevşemeleri değişmezken, asetilkolin gevşemelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma elde edildi. Bizim bulguların tersine, tavşan korpus kavernozumunda kronik etanol betanekol gevşemelerini artırmıştır[19]. Benzer şekilde, sıçan aortasında kronik etanolün endotelyuma bağlı asetilkolin gevşemelerini artırdığı bulunmuştur[16]. Diğer yandan, aynı dokuda kronik etanol, endotelyuma bağlı asetilkolin gevşemelerini anlamlı olarak azaltmıştır[17]. Williams ve ark[18] ise sıçan torasik aortasında kronik etanol uygulamasının asetilkolin gevşemelerini değiştirmediğini göstermişlerdir. Yapılan araştırmalarda kronik etanol uygulamasının endotelyum üzerinde farklı etkiler yaptığı görülmektedir; bu farklılık, etanolün dozuna, veriliş yoluna, maruz kalma süresine veya farklı deneysel protokollere bağlı olabilir. Çalışmamızda, fare korpus kavernozumunda kronik etanol uygulamasının endotel kaynaklı asetilkolin gevşemelerini inhibe edip, nöronal kaynaklı ESS ve ekzojen NO gevşemelerini etkilememesi, etanolün nöron veya düz kas düzeyinde bir etki oluşturmaksızın endotelyuma etki yaparak NO salınımını azalttığını göstermektedir. Çalışmamızda, elektron mikroskobu ile yapılan histolojik incelemelerde, kronik etanole

maruz kalan farelerin korpus kavernozum dokusunun endotel hücresi nükleusunda belirgin ve derin çöküntüler, sitoplazmada pinositotik veziküllerde azalma ve vakuoler değişiklikler şeklinde hasar saptanması, düz kaslarda ise herhangi bir dejeneratif değişiklik tespit edilmemesi bu bulgumuz ile örtüşmektedir. Klinik ve deneysel çalışmalarda kronik etanolün endotel hücrelerinden NO sentezini veya salıverilmesini azalttığı gösterilmiştir[14]. Endotelyal NO üretiminin azalmasının, NO'nun etanolun biyoinaktivasyonu sonucu oluşan serbest superoksid anyonları ile reaksiyona girip peroksinitrit radikallerine dönüşmesine ve/veya eNOS'un oksidatif inaktivasyonuna bağlı olabileceği ileri sürülmektedir[15]. Tavşan korpus kavernozum dokusunda, alkolün metabolizaması sonucu oluşan asetaldehitin nitrik oksid formasyonunu inhibe ederek erektil disfonksiyona neden olabileceği rapor edilmiştir[147]. Sıçan mezenterinde ise kronik etanolün reperfüzyona bağlı mikrovasküler hasarı artırdığı ve glutatyon sentezini azalttığı gösterilmiştir[148]. Ayrıca, Grattaglione ve ark.[148] alkolik hastalarda yaptıkları bir araştırmada ksantin oksidaz aktivitesinin arttığı ve glutatyon düzeyinin azaldığı bulunmuş ve bunun serbest radikallerin artışına ve oksidatif strese karşı korunmanın ortadan kalkmasına neden olabileceği ileri sürülmüştür. Alkole bağlı endotelyal hasar oluşum mekanizmalarından biri lipoprotein profilinde meydana gelen değişiklikler olabilir. Kronik alkoliklerde plazma YDL düzeyinin düştüğü ve DDL düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir[149]. DDL peroksidasyonu endotel hücrelerinde hasara neden olmakta ve ateroskleroz gelişiminde rol oynamaktadır. Okside DDL'nin korpus kavernozumda endotelyuma bağlı gevşemeleri bozduğu ve superoksid anyon oluşumunu artırarak endotelyal disfonksiyona neden olduğu gösterilmiştir[150]. Bu bulgulara paralel olarak, kronik alkolik hastalarda, serum trigliserid ve kolesterol düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı ve bunun ateroskleroz için risk faktörü olduğu bulunmuştur[151,152,153]. Etanolün oluşturduğu endotelyum hasarı, alkolün direkt sitotoksik etkisine de bağlı olabilir. Memeli serebral vasküler dokularda akut etanol uygulamasının intraselüler Ca^{2+} salınımını artırarak vazokonstriksiyon yaptığı gösterilmiştir[154]. Çalışmamızda endotelyumdan bağımsız olarak gevşeme yapan ESS ve ekzojen NO cevaplarının kontrol gruplarıyla benzer olması, alkolün bu dokuda direkt sitotoksik etkinin olmadığını ve ayrıca, NO-sGMP sinyal transdüksiyon yolağını etkilemediğini göstermektedir.

İzole fare korpus kavernozum dokusunda kronik etanol, selektif adrenerjik α_1-reseptör agonisti fenilefrin ile oluşturulan kasılma cevaplarında kontrol grubuna göre azalma yaptı; ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Tavşan korpus kavernozum dokusunda kronik etanol fenilefrin kasılmalarını artırdığı gözlenmiştir[19]. Sıçan torasik aortasında ise kronik etanolün fenilefrin kasılmalarını etkilemediği[17], azalttığı[155] veya artırdığı[14] kaydedilmiştir. Bu farklı sonuçlar, etanolün dozuna, veriliş yoluna veya süresine bağlı olabilir. Çalışmamızda kronik etanole maruz kalan farelerin korpus kavernozum dokusunda, L-NA ve ODQ'nün ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşemeleri üzerindeki inhibitör etkilerinin kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı olmaması, kronik etanolün korpus kavernozum dokusunda bu maddelere karşı bir duyarlılık oluşturmadığını göstermektedir.

Sonuç olarak, 14 gün süresince inhalasyon yoluyla kronik etanole maruz bırakılan farelerden izole edilen korpus kavernozum dokusunda ESS ve ekzojen NO gevşemelerinde değişme olmaksızın asetilkolin gevşemelerinde azalma gözlenmesi ve histolojik incelemelerde endotelyumda hasar tespit edilmesi, kronik etanolün endotelyum hasarına bağlı olarak NO salıverilmesini azaltması sonucu erektil disfonksiyona yol açabileceğini düşündürmektedir.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Fenilefrin ile kastırılmış kontrol grubu izole fare korpus kavernozum dokusunda ardışık olarak ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşemeleri elde edildi. Kontrol grubuna ait dokularda, NOS inhibitörü olan L-NA'in, ESS ve asetilkolin gevşemelerini anlamlı olarak azalttı; ekzojen NO gevşemesini değiştirmedi. L-NA'in ESS ve asetilkolin gevşemeleri üzerindeki inhibitör etkisi, L-arjinin ile geri döndü. Bu bulgular, ESS ve asetilkolin gevşemelerinin nitrerjik nitelikte olduğunu göstermektedir. Ayrıca, ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşeme cevaplarının guanilil siklaz inhibitörü ODQ inhibe edilmesi nitrerjik gevşemelerde guanilil siklaz-sGMP yolağının kullanıldığını teyit etmektedir. Etanole 7 gün süresince maruz kalan grubun ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşeme cevapları ile kontrol grubunun ESS, ekzojen NO ve asetilkolin gevşeme cevapları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Bu bulgular, 7 gün kronik etanole maruz kalan grubun kan alkol düzeyinin yeterli olmasına rağmen, dokudaki nitrerjik gevşemelerin etanol uygulamasından etkilenmediğini göstermektedir. Ancak, 14 gün süresince kronik etanol inhalasyonu yapılan grubun korpus kavernozum dokularında ESS ve ekzojen NO gevşemeleri değişmezken, asetilkolin gevşemelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir; bu etanolün düz kas veya NO-sGMP sinyal transdüksiyon yolağınında bir etki oluşturmaksızın endotelyuma bağlı gevşemeyi inhibe ettiğini göstermektedir. Bu bulgu, elektron mikroskobu ile histolojik inceleme sonucu 14 gün süresince etanol inhalasyonu yapılan farelerin korpus kavernozum dokularının endotelyumunda hasar tespit edilmesi ile desteklenmektedir.

Bu bulgular, kronik etanolün endotelyumda hasar yaparak NO salıverilmesini azaltması sonucu erektil disfonksiyona yol açabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. **Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G.** Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1987a;** (84): 9265-9269

2. **Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KS.** Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ. Res.,* **1987b;** (61): 866-879.

3. **Andersson KE.** Pharmacology of penile erection. *Pharmacol. Rev.,* **2001**; (53): 417-450.

4. **Andersson KE and Wagner G.** Physiology of penile erection. *Physiol. Rev*., **1995**; (75): 191-236.

5. **Bivalacqua TJ, Chapion HC, Hellstrom WJ, Kadowitz PJ.** Pharmacotherapy for erectile dysfunction. *Trends Pharmacol. Sci*,. **2000**; (21): 484-489.

6. **Burnett AL, Lowenstein CJ, Bredt DS, Chang TS, Snyder SH.** Nitric oxide: a physiologic mediator of penile erection. *Science*, **1992;** (257): 401-403.

7. **Gonzalez CM, Brannigan RE, Bervig T, Zelner D, Podalasek CA, McKenna KE, Macvary KT.** Protein and gene expression of nitric oxide synthase isoforms I and III in the rat penile shaft. *J. Andol.,* **2001;** (22): 54-61.

8. **Kayaalp SO**. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* 9. Baskı 2. Cilt., Ankara: Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti, **2005;** 1119-1124.

9. **Traish AM, Carson MP, Kim N, Goldstein I and Saenz de Tejada I.** Characterization of muscarinic acetylcholine receptors in human penile corpus cavernosum: studies on whole tissue and cultured endothelium*. J. Urol.,* **1990;** (144): 1036-1040.

10. **Rekik M, ElMas MM, Mustafa JS, Abdel-Rahman AA.** Role of endothelial adenosine-receptor mediated vasorelaxation in ethanol-induced hypotension in hypertensive rats. *Eur. J. Pharmacol.,***2002;** (452): 205-214.

11. **Kannel WB, Ellison RC.** Alcohol and coronary heart disease: the evidence for protective effect . *Clin. Chim. Acta.*, **1996;** (246): 59-76.

12. **Kaplan NM.** Alcohol and hypertension . Lancet, **1995;** (345): 1588-1589.

13. **Baraona E, Lieber CS.** Alcohol and lipids. *Recent. Dev. Alcohol.,* **1998**; (14): 97-134.

14. **Pinardi G, Brieva C, Vinet R, Penna M.** Effects of chronic ethanol consumption on alpha-adrenergic induced contractions in rat thoracic aorta. *Gen. Pharmacol.,* **1992;** (23): 245-248.

15. **Gryglewski RJ**, **Palmer RM and Moncada S.** Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature,* **1986;** (320): 454-456.

16. **Hatake K, Wakabayashi I, Taniguchi T, Hishida S.** Increased endothelium-dependent vascular relaxation in ethanol-fed rats. *Alcohol. Clin. Exp. Res.,* **1994;** (4): 1018-1023.

17. **Husain K, Ortiz MV and Lalla J.** Physical training ameliorates chronic alcohol-induced hypertension and aortic reactivity in rats. *Alcohol&Alcoholism*, **2006;** (41): 247-253.

18. **Williams SP, Adams RD, Mustafa SJ.** The effects of chronic ethanol treatment on endothelium-dependent responses in rat thoracic aorta. *Alcohol*, **1990;** (2): 121-127.

19. **Saito M**, **Broderick GA, Wein AJ, Levin RM.** Effect of chronic ethanol consumption on the pharmacological response of the rabbit corpus cavernosum. *Pharmacol.*, **1994;** (6): 386-391.

20. **April EW.** *NMS Klinik Anatomi.* 3. Baskı, İstanbul; Nobel Kitabevleri Ltd. Şti, **1998;** 427.

21. **Guyton CA, Hall JE.** *Tıbbi Fizyoloji.* 9. Baskı, İstanbul: Nobel Kitabevleri Ltd. Şti, **1996;** 1009.

22. **Krane RJ, Goldstein I, Saenz de Tejada I.** Impotence. *N. Engl. J. Med.,* **1989;** (321): 1648-1659.

23. **Pickard RS, King P, Zar MA, Powell PH.** Corpus cavernosal relaxation in impotent men. *Br. J. Urol.,* **1994;** (74): 485-491.

24. **Bitran D and Hull EM.** Pharmacological analysis of male rat sexual behavior. *Neurosci. Biobehav. Rev.,* **1987;** (11): 365-389.

25. **Kondo Y, Yamanouchi K and Arai Y.** p-Chlorophenylalanine facilitates copulatory behavior in septal lesioned but not in preoptic leisoned male rats. *J. Neuroendocrinol.,* **1993;** (5): 629-633.

26. **Svensson L and Hansen S.** Spinal monoaminergic modulation of masculine copulatory behavior in the rat. *Brain. Res.,* **1984;** (302): 315-321.

27. **Marlier L, Teilhac JR, Cerruti C and Privat A.** Aoutoradiographic mapping of 5-HT1, 5-HT1A, 5HT1B and 5HT2 receptors in the rat spinal cord. *Brain Res.,* **1991;** (550): 15-23.

28. **Ridet JL, Tamir H and Privat A.** Direct immunocytochemical localization of 5-hydroxytryptamine receptors in the adult rat spinal cord: a light and electron microscopic study using an anti-idiotypic antiserum. *J. Neurosci. Res.,* **1994;** (38): 109-121.

29. **Bancila M, Vergé D, Rampin O, Backstrom JR, Sanders-Bush E, Mckenna KE, Marson L, Calas A, Giuliano F.** 5-Hydroxytryptamine2C receptors on spinal neurons controlling penile erection in the rat. *Neurosci.,* **1999;** (92):1523-1537.

30. **Lee LR, Smith ER, Mas M, Davidson JM.** Effects of intrathecal administration of 8-OH-DPAT on genital reflexes and mation behavior in male rats. *Physiol. Behav.,* **1990;** (47): 665-669.

31. **Gerhardt CC and van Haerikhuizen H.** Functional characteristics heterologously expressed 5-HT receptors. *Eur. J. Pharmacol.,* **1997;** (334): 1-23.

32. **Heaton JP.** Central neuropharmacological agents and mechanisms in erectile dysfunction: the role of dopamine. *Neuroscien. Behav. Rev.,* **2000;** (24): 561-569.

33. **McKenna KE.** Some proposals regarding the organization of the central nervous system control of penile erection. *Neurosci. Behav. Rev.,* **2000;** (24): 535-540.

34. **Hull EM, Du J, Lorrain DJ and Matuszewich L.** Extracellular dopamine in the medial preoptic area: implications for sexual motivation and hormonal control of copulation. *J. Neurosci.,* **1995;** (15): 7465-7471.

35. **Pomerantz SM.** Apomorphine facilitates male sexual behavior of rhesus monkeys. Pharmacol. *Biochem. Behav.,* **1990;** (35): 659-664.

36. **Melis MR, Argiolas A and Gessa GL.** Apomorphine-induced penile erection and yawning: site of action in brain. *Brain Res.,* **1987;** (415): 98-104.

37. **Carter CS.** Oxytocin and sexual behavior. *Neurosci. Biobehav. Rev.,* **1992;** (16): 131-144.

38. **Giuliano F and Rampin O.** Central noradrenergic control of penile erection. *Int. J. Impot. Res.,* **2000;** (12): S13-S19.

39. **Clark JT, Smith ER and Davidson JM.** Evidence for the modulation of sexual behavior by alpa-adrenoceptors in male rats. *Neuroendocrinol.,* **1985;** (41): 36-43.

40. **Melis MR, Stancampiano R and Argiolas A.** Penile erection and yawning induced by paraventricular NMDA injection in male rats are mediated by oxytocin. *Pharmacol. Biochem. Behav.,* **1994a ;** (48) : 203-207.

41. **Melis MR, Stancampiano R and Argiolas A.** Nitric oxide synthase inhibitors prevent *N*-methy-D-aspartic acid-induced penile erection and yawning in male rats. *Neurosci. Lett.,* **1994b ;** (179) : 9-12.

42. **Rosaria Melis M, Spano MS, Succu S and Argiolas A.** Activation of gamma-aminobutyric acid (A) receptors in paraventricular nucleus of hypothalamus reduces apomorphine-**,** N-methyl-D-aspartic acid- and oxytocin-induced penile erection and yawning in male rats. *Neurosci. Lett.,* **2000;** (281): 127-130.

43. **Carmichael MS, Humbert R, Dixen J, Palmisano G, Greenleaf W and Davidson JM.** Plasma oxytocin increases in the human sexual response. *J. Clin. Endocrinol. Metab.,* **1987;** (64) : 27-31.

44. **Argiolas A, Melis MR, Gessa GL.** Oxytocin: an extremely potent inducer of penile erection and yawning in male rats. activation of penile erection. *Eur. J. Pharmacol.,* **1986;** (398) : 259-265.

45. **Argiolas A, Melis MR, Mauri A and Gessa L.** Paraventricular nucleus lesion prevents yawning and penile erection induced by apomorphine and oxytocin, but not by ACTH in rats. *Brain Res.,* **1987;** (421): 349-352.

46. **Melis MR, Mauri A and Argiolas A.** Apomorphine- and oxytocin-induced penile erection and yawning in intact and castrated male rats: effects of sexual steroids. *Neuroendocrinol.,* **1994c;** (59): 349-354.

47. **Stancampiano R, Melis MR and Argiolas A.** Apomorphne- and oxytocin-induced penile erection and yawning in male rats: effects of pertussis toxin. *Brain Res. Bull.*, **1992;** (28): 315-318.

48. **Melis MR and Argiolas A.** Nitric oxide synthase inhibitors prevent apomorphine- and oxytocin-induced penile erection and yawning in male rats. *Brain Res. Bull,* **1993;** ((32): 71-74.

49. **Argiolas A, Melis MR, Murgia S and Schioth HB.** Acth- and alpha-MSH-induced grooming, strectching, yawning and penile erection in male rats: site of action in the brain and role of melacortin receptors. *Brain Res Bull,* **2000;** (51): 425-431.

50. **Wikberg JE.** Melanocortin receptors: perspectives for novel drugs. *Eur. J. Pharmacol.,* **1999;** (375): 295-310.

51. **Argiolas A, Melis MR, Stancampiano R and Gessa GL.** Omega-conotoxin prevents apomorphine- and oxytocin-induced penile erection and yawning in male rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.,* **1990;** (37): 253-257.

52. **Poggioli R, Benelli A, Arletti R, Cavazzuti E and Bertolini A.** Nitric oxide involved in the ACTH-induced behavioral syndrome. *Peptides,* **1995;** (16): 1263-1268.

53. **Crowley TJ and Simpson R.** Methadone dose and human sexual behavior. *Int. J. Addict.,* **1978;** (13): 285-295.

54. **Pfaus JG and Gorzalka BB.** Opioids and sexual behaviour. *Neurosci. Biobehav. Rev.,* **1987;** (11): 1-34.

55. **Melis MR, Succu S and Argiolas A.** Prevention by morphine of N-methyl-D-aspartic acid-induced penil erection and yawning: involvement of nitric oxide. *Brain Res. Bull,* **1997a;** (44):689-694.

56. **Melis MR, Stancampiano R, Gessa L and Argiolas A.** Prevention by morphine of apomorphine- and oxytocin-induced penile erection: Site of action in the brain. *Neuropsychopharmacol.,* **1992;** (6): 17-21.

57. **Melis MR, Succu S, Iannucci U and Argiolas A.** Prevention morphine of apomorphine- and oxytocin-induced penile erection and yawning: involvement of nitric oxide. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.,* **1997b;** (355): 595-600.

58. **Hull EM, Pehek EA, Bitran D, Holmes GM, Warner RK, Band LC, Bazzett T and Clemens LG.** Brain localization of cholinergic influence on male sex behavior in rats: antagonists. *Pharmacol. Biochem. Behav.,* **1988;** (31): 175-178.

59. **Melis MR, Succu S, Iannucci U and Argiolas A.** Oxytocin increases nitric oxide production in the paraventricular nucleus of the hypothalamus of male rats: correlation with penile erection and yawning. *Regul. Pept.,* **1997c;** (69) : 105-111.

60. **Melis MR and Argiolas A.** Nitric oxide donors induce penile erection and yawning when injected in the central nervous system of male rats. *Eur. J. Pharmacol.,* **1995;** (294): 1-9.

61. **Melis MR, Stancampiano R and Argiolas A.** Prevention by N^G-nitro-L-arginine methyl ester or apomorphine- and oxytocin-induced penile erection and yawning; site of action in the brain. *Pharmacol. Biochem. Behav.,* **1994c;** (48): 799:804.

62. **Bredt DS, Hwang PM and Snyder SH.** Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature,* **1990;** (347): 768-770.

63. **Sato Y, Horita H, Kurohata T, Adachi H and Tsukamota T.** Effect of the nitric oxide level in the medial preoptic area on male copulatory behavior in rats. *Am. J. Physiol.,* **1998;** (274):R243-7.

64. **Melis MR and Argiolas A.** Role of central nitric oxide in the control of penile erection and yawning. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry,* **1997d;** (21): 899-922.

65. **Saenz de Tejada I, Goldstein I and Krane RJ.** Local control of penile erection: nerve, smooth muscle and endothelium. *Urol. Clin. North. Am.,* **1988;** (15): 9-15.

66. **Benson GS, Mcconnell J, Lipshultz LI, Corriere JR and Wood J.** Neuromorphology and neuropharmacology of the human penis. *J. Clin. Invest.,* **1980;** (65): 506-513.

67. **Godec CJ and Bates H.** Cholinergic receptors in corpora cavernosa. *Urol.,* **1984;** (24): 31-33.

68. **Blanco R, Saenz de Tejada I, Goldstein I, Krane RJ, Wotiz H and Cohen RA.** Cholinergic nörotransmission in human corpus cavernosum. II. Acetylcholine synthesis. *Am. J. Physiol.,* **1988;** H468-H472.

69. **Traish AM, Palmer MS, Goldstein I and Moreland RB.** Expression of functional muscarinic acetylcholine receptor subtypes in human corpus cavernosum and in cultered smooth muscle cells. *Receptor,* **1995a;** (5): 159-176.

70. **Klinge E and Sjostrand NO.** Supression of the excitatory adrenergic neurotransmission; a possible role of cholinergic nerves in the retractor penis muscle. *Acta Physiol. Scand.,* **1977;** (100): 368-376.

71. **Saenz de Tejada I, Blanco R, Goldstein I , Azadzoi K, Morenas de las A, Krane RJ and Cohen RA.** Cholinergic neurotransmission in human corpus cavernosum . I. Responses of isolated tissue. *Am. J. Physiol.,* **1988a;** H459-H467.

72. **Levin RM and Wein AJ.** Adrenergic alpha receptors outnumber beta receptors in human penile corpus cavernosum. *Invest. Urol.,* **1980;** (18): 225-226.

73. **Traish AM, Gupta S, Toselli P, Saenz de Tejada IS, Goldstein I and Moreland RB.** Identification of alpha 1–adrenergic receptor subtypes in human corpus cavernosum tissue and in cultured trabecular smooth muscle cells. *Receptor,* **1995b;** (5):145-157.

74. **Traish AM, Netsuwan N, Daley J, Padman-Nathan H, Goldstein I and Saenz de Tejada I.** A heterogenous population of alpha 1 adrenergic receptors mediates contraction of human corpus cavernosum smooth muscle to norepinehrine. *J. Urol.,* **1995 c;** (153): 222-227

75. **Traish AM, Moreland RB, Huang YH and Goldstein I.** Expression of functional alpha 2-adrenergic receptor subtypes in human corpus cavernosum and in cultured trabecular smooth muscle cells. *Recept. Signal Transduct*., **1997;** (7): 55-67.

76. **Molderings GJ, Gothert M, Van Ahlen H and Porst H.** Noradrenaline release in human corpus cavernosum and its modulation via presynaptic alpha 2-adrenoceptors. *Fundam. Clin. Pharmacol.,* **1989;** (3): 497-504.

77. **Simonsen U, Prieto D, Hernandez M, Saenz de Tejada I and Garcia-Sacristan A.** Prejuctional alpha 2-adrenoceptors inhibit nitrergic neurotransmission in horse penile resistance arteries. *J. Urol.,* **1997;** (157): 2356-2360.

78. **Furchgott RF and Zawadzki JV.** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature,* **1980;** (288): 373-376.

79. **Palmer RM, Rees DD, Ashton DS, Moncada S.** L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.,* **1988;** (153): 1251-1256.

80. **Forstermann U.** Biochemistry and molecular biology of nitric oxide synthases. *Arzneimttelforschung,* **1994; (3A): 402-407.**

81. **Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG.** Nitric oxide synthase; structure, function and inhibition. Biochem. J., **2001;** (357):593-615.

82. **Janssen LJ, Premji M, Lu-Chao H, Cox G and Keshavjee S.** NO^{+} but not NO radical relaxes airway smooth muscle via cGMP-independent release of internal Ca^{+2}. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.,* **2000;** (278): L899-L905.

83. **Craven PA and DeRubertis FR.** Requirement for heme in the activation of purified guanylate cyclase by nitric oxide. *Biochim. Biophys. Acta., Rev.,* **1983;** (745):310-321.

84. **Gupte SA, Rupawalla T, Phillibert D Jr, Wolin MS.** NADPH and heme redox modulate pulmonary artery relaxation and guanylate cyclase activation by NO. *Am. J. Physiol.,* **1999;** (277): L1124-32.

85. **Chitaley K, Wingard CJ, Clinton Webb R, Branam H, Stopper VS, Lewis RW, Mills TM.** Antagonism of Rho-kinase stimulates rat penile erection via a nitric oxide-independent pathway . *Nat. Med.,* **2001;** (7): 119-122.

86. **Rees RW, Ralph DJ, Royle M, Moncada S, Cellek S.** Y-27632, an inhibitor of Rho-kinase, antagonizes noradrenergic contractions in the rabbit and human penile corpus cavernosum. *Br. J. Pharmacol.,* **2001;** 133: 455-458.

87. **Rees RW, Ziessen T, Ralph DJ, Kell P, Moncada S, Cellek S.** Human and rabbit cavernosal smooth muscle cells express Rho-kinase. *Int. Impot. Res.,* **2002;** (14): 1-7.

88. **Mills TM, Chitaley K, Lewis RW, Webb RC.** Nitric oxide inhibits RhoA/Rho-kinase signaling to cause penile erection. *Eur. J. Pharmacol.,* **2002;** (439): 173-174.

89. **Bivalacqua TJ, Champion HC, Usta MF, Cellek S, Chitaley K, Webb RC, Lewis RW, Mills TM, Hellstrom WJ, Kadowitz PJ.** RhoA/Rho-kinase supresses endothelial nitric oxide synthase in the penis: a mechanism for diabetes-associates erectile dysfunction. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **2004;** (101): 9121-9126.

90. **Rajfer J, Aronson WJ, Bush PA, Dorey FJ, Ignarro LJ.** Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to nonadrenergic noncholinergic neurotransmission. *N. Engl. J. Med.,* **1992;** (326):90-94.

91. **Ignarro LJ, Bush PA, Buga GM, Wood KS, Fukuto JM, Rajfer J.** Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **1990;** (170): 843-850.

92. **Kim N, Azadzoi KM, Goldstein I, Saenz de Tejada I.** A nitric oxide-like factor mediates nonadrenergic-noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle. *J. Clin. Invest.,* **1991;** (88): 112-118.

93. **Andersson KE.** Erectile physiological and pathophysiological pathways involved in erectile dysfunction. *J. Urol*., **2003;** (170): s6-s14.

94. **Huang PL, Dawson TM, Bredt DS, Synder SH and Fishman MC.** Targeted disruption of the neuronal nitric oxide synthase gene. *Cell,* **1993;** (75): 1273-1286.

95. **Burnett AL, Nelson RJ, Calvin DC, Liu JX, Demas GE, Klein SL, Kriegsfeld LJ, Dawson VL, Dawson TM and Synder SH.** Nitric oxide-dependent penile erection in mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Mol. Med.,* **1996;** (2):288-296.

96. **Eliasson MJ, Blackshaw S, Schell MJ and Synder SH.** Neuronal nitric oxide synthase alternatively spliced forms: prominent functional localizations in the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* **1997;** (94): 2296-3401.

97. **Magge T, Fuentes AM, Garban H, Rajavashisth T, Marquez D, Rodriguez JA, Rajfer J and Gonzalez-Cadavid NF.** Cloning of novel neuronal nitric oxide synthase expressed in penis and lower urinary tract. *Biochem. Biophys. Res. Commun.,* **1996;** (226): 145-151.

98. **Gonzalez-Cadavid NF, Ignarro LJ and Rajfer J.** Nitric Oxide and Cyclic GMP System in the penis. *Mol. Urol.,* **1999;** (3): 51-59.

99. **Gonzalez-Cadavid NF, Burnett AL, Magge TR, Zeller CB, Vernet D, Smith N, Gitter J and Rajfer J.** Expression of penile neuronal nitric oxide synthase variants in the rat and mouse penile nerves. *Biol. Reprod.,* **2000;** (63): 704-714.

100. **Burnett AL.** Nitric oxide control of lower genitourinary tract functions: a review. *Urol.*, **1995;** (45): 1071-1083.

101. **Garban H, Vernet D, Freedman A, Rajfer J, Gondalez –Cadavid N.** Effect of aging on nitric oxide-mediated penile erection in rats. *Am. J. Physiol,* **1995;** (268): H467-H475.

102. **Rajasekaran M, Mondal D, Agrawal K, Chen IL, Hellstrom W, Sikka S.** Ex vivo expression of nitric oxide synthase isoforms (eNOS/iNOS) and calmodulin in human penile cavernosal cells. *J. Urol.,* **1998;** (160): 2210-2215.

103. **Podlasek CA, Zelner DJ, Bervig TR, Gonzalez CM, McKenna KE, McVary KT.** Characterization and localization of nitric oxide synthase isoforms in the BB/WOR diabetic rat . *J. Urol.,* **2001;** (166): 746-755.

104. **Hedlund P, Aszodi A, Pfeifer A, Alm P, Hofmann F, Ahmad M, Fässler A, Andersson KE.** Erectile dysfunction in cyclic GMP-dependent kinase I-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.,* **2000;** (97): 2349-2354.

105. **Gocmen C, Ucar P, Singirik E, Dikmen A. and Baysal F.** An in vitro study of nonadrenergic-noncholinergic activity on the cavernous tissue of mouse. *Urol. Res.,* **1997;** (25): 269-275.

106. **Baracat JS, Cleber ET, Teixeira CE, Okuyama CE, Priviero FBM, Faro R, Antunes E, Nucci de G.** Relaxing effects induced by the soluble guanylyl cyclase stimulator BAY 41-2272 in human and rabbit corpus cavernosum. *Eur. J. Pharmacol.,* **2003;** (477): 163-169.

107. **Boolell M, Allen MJ, Ballard SA, Gepi-Attee S, Muirhead GJ, Naylor AM, Osterloh IH, Gingell C.** Sildenafil: an orally active type 5 cyclic GMP-specific phosphodiesterase inhibitor for the treatment of penile erectile dysfunction. *Int. J. Impot. Res.,* **1996;** (8): 47-52.

108. **Stark S, Sachse R, Liedl T, Hensen J, Rohde G, Wensing G, Horstmann R, Schrott KM.** Vardenafil increases penile rigidity and tumescence in men with erectile dysfunction after a single oral dose. *Eur. Urol.,* **2001;** (40): 181-190.

109. **Lucas KA, Pitari GM, Kazerounian S, Ruiz-Stewart I, Park J, Schulz S, Chepenik KP and Waldman SA.** Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. *Pharmacol. Rev.,* **2000;** (52): 375-414.

110. **Beavo JA.** Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiol. Rev.,* **1995;** (75): 725-748.

111. **Lohmann SM, Vaandrager AB, Smolenski A, Walter U, De Jonge HR.** Distinct and specific functions of cGMP-dependent protein kinases. *Trends Biochem. Sci*, **1997;** (22): 307-312.

112. **Pfeifer A, Ruth P, Dostmann W, Sausbier M, Klatt P and Hofmann F.** Structure and function of cGMP-dependent protein kinases. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.,* **1999;** (135):105-49.

113. **Tamura M, Kagawa S, Kimura K, Kawanishi Y, Tsuruo Y, Ishimura K.** Coexistence of nitric oxide synthase, tyrosine hydroxylase and vasoactive lntestinal polypeptid in human penile tissue--a triple histochemical and immunohistochemical study. *J. Urol.,* **1995;** (153): 530-534.

114. **Ehmke H, Junemann KP, Mayer B and Kummer W.** Nitric oxide synthase and vasoactive intestinal polypeptid colocalization in neurons innervating the human penile circulation. *Int. J. Impot. Res.,* **1995;** (7): 147-156.

115. **Arvidsson U, Riedl M, Elde R and Meister B.** Vesicular acetylcholine transpoter (VAChT) protein: a novel and unique marker for cholinergic neurons in the central and peripheral nervous systems. *J. Comp. Neurol.,* **1997;** (378): 454-467.

116. **Hedlund P, Alm P and Andersson KE.** NO synthase in cholinergic nerves and NO-induced relaxation in the rat isolated corpus cavernosum. *Br. J. Pharmacol.,* **1999;** (126): 349-360.

117. **Fahrenkrug J.** Transmitter role of vasoactive intestinal peptide. *Pharmacol. Toxicol.,* **1993;** (72): 354-363.

118. **Tong YC, Broderick GA, Hypolite JA, Levin RM.** Correlations of purinergic, cholinergic and adrenergic function in rabbit corporal cavernosal tissue. *Pharmacol.,* **1992;** (5): 241-249.

119. **Wu HY, Broderick GA, Suh JK, Hypolite JA and Levin RM.** Effects of purines on rabbit corpus cavernosum contractile activity. *Int. J. Impot. Res.,* **1993;** (5): 161-167.

120. **Shalev M, Staerman F, Allain H, Lobel B and Saiag B.** Stimulation of P2y purinoceptors induces, via nitric oxide production, endothelium-dependent relaxation of human isolated corpus cavernosum. *J. Urol.,* **1999;** (161): 955-959.

121. **Katzung BG.** *Temel ve Klinik Farmakoloji* 6. Baskı 1. Cilt., İstanbul: Barış Kitabevi, **1995;** 468-469.

122. **Kayaalp SO**. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* 9. Baskı 2. Cilt., Ankara: Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti, **1999;** 921-929.

123. **Slomiany BL, Piotrowski J, Slomiany A.** Alterations in buccal mucosal endothelin-1 and nitric oxide synthase with chronic alcohol ingestion. *Biochem. Mol. Biol. Int.,* **1998**; (45): 681-688.

124. **Husain K, Scott BR, Reddy SK, Somani SM.** Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defense system*. Alcohol,* **2001;** (25): 89-97.

125. **Husain K, Somani SM.** Interaction of exercise training and chronic ethanol ingestion on hepatic and plasma antioxidant system in rat. *J. Appl. Toxicol.,* **1997;** (17): 189-194.

126. **Husain K, Jose M, Jainarine L, Sheeba K.** Dose response of alcohol-induced changes in BP, nitric oxide and antioxidants in rat plasma. *Pharmacol. Res.,* **2005;** (51): 337-343.

127. **Peterson TE, Poppa V ,Ueba H, Wu A, Yan C, Berk BC.** Opposing effects of reactive oxygen species and cholesterol on endothelial nitric oxide synthase and endothelial cell caveolae. *Circ. Res.,* **1999;** (85): 29-37.

128. **Maiorano G, Bartolomucci F, Contursi V, Minenna FS, Mise di R, Palasciano A, Allegrini B, Amoruso M and Kozáková M.** Noninvasive detection of vascular dysfunction in alcoholic patients. *A. J. Hyper.* , **1999**; (12): 137-144.

129. **Maas R, Schwedhelm E, Albsmeier J, Boger RH.** The pathophysiology of erectile dysfunction related to endothelial dysfunction and mediators of vascular function. *Vasc. Med.*, **2002;** (7): 213-225.

130. **Solomon H, Man JW, Jackson G.** Erectile dysfunction and cardiovascular patient: endothelial dysfunction is the common denominator. *Heart,* **2003;** (89): 251-253.

131. **Saito M, Broderick GA, Hypolite JA, Levin RM.** Pharmacological effect of ethanol on the fuction of rabbit corporal cavernosal tissue. *Pharmacol.*, **1994;** (5): 335-340.

132. **Goldstein DB,.**Alcohol dependence produced in mice by inhalation of ethanol: Grading the withdrawal reaction., *Sci.*, **1971**; (172): 288-290.

133. **Holmquist F, Hedlund H and Andersson KE.** Characterisation of inhibitory neurotransmission in the isolated corpus cavernosum from rabbit and man. *J. Physiol.,* **1992;** (449): 295-311.

134. **Hedlund P, Larsson B, Alm P and Andersson KE.** Distrubution and function of nitric oxide-containing nerves in canine corpus cavernosum and spongiosum. *Acta Physiol. Scand.,* **1995;** (155): 445-455.

135. **Mizusawa H, Hedlund P, Håkansson A, Alm P and Andersson KE.** Morpological and functional in vitro and in vivo characterization of the mouse corpus cavernosum. *Br. J. Pharmacol.,* **2001;** (132): 1333-1341.

136. **Bloch W, Klotz T, Sedlaczek P., Zumbe J, Engelmann U, Addicks K.**, Evidence for the involvement of endohtelial nitric oxide synthase from smooth muscle cells in the erectile fuction of the human corpus cavernosum. *Urol. Res.,* **1998;** (26): 129-135.

137. **Knispel HH, Goessl C and Beckmann R.** Basal and acetylcholine-stimulated nitric oxide formation mediates relaxation of rabbit cavernous smooth muscle. *J. Urol.,* **1991;** (146): 1429-1433.

138. **Dehghani M, Sadeghipour H, Honar H, Riazi K, Ebrahimkhani MR, Hajrasouliha AR, Tavakoli S, Dehpour AR.** Time-dependent reduction of acetylcholine-induced relaxation in

corpus cavernosum of cholestatic rats: role of nitric oxide and cyclooxygenase pathway. *Eur. J. Pharmacol.,* **2004;** (496): 181-187.

139. **Okamura T**, **Ayajiki K**, **Fujioka H, Toda M, Fujimiya M and Toda N,** Effects of endothelial impairment by saponin on the responses to vasodilators and nitrergic nerve stimulation in isolated canine corpus cavernosum*. Br. J. Pharmacol.,* **1999;** (127): 802-808.

140. **Garthwaite J, Southam E, Boulton CL, Nielsen EB, Schmidt K and Mayer B.** Potent and selective inhibition nitric-oxide sensitive guanylate cyclase by 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,4-a]quinoxalin-1-one. *Mol. Pharmacol.,* **1995;** (48): 184-188.

141. **Gupta S, Moreland RB, Munarriz R, Daley J, Goldstein I and Saenz de Tejada I.** Possible role of Na^+ K^+ ATPase in the regulation of human corpus cavernosum smooth muscle contractility . *Br. J. Pharmacol.,* **1995;** (116): 2201-2206.

142. **Ward SM, Mckeen ES and Sanders KM.** Role of nitric oxide in non adrenergic inhibitory junction potentials in canine ileocolonic sphincter. *Br. J. Pharmacol.,* **1992;** (120): 776-782.

143. **Pal N and Alkana RL.** Use of inhalation to study the effect of ethanol and ethanol dependence on neonatal mouse development without maternal separation: a preliminary study. *Life Sci.,* **1997;** (61): 1269-1281.

144. **Dahchour A and Witte de P.** Excitatory and inhibitory amino acid changes during repeated episodes of ethanol withdrawal: an in vivo microdialysis study. *Eur. J. Pharmacol.,* **2003;** (459): 171-178.

145. **Aufrére G, Bourhis LE B and Beaugé F,** Ethanol intake after chronic intoxication by inhalation of ethanol vapour in rats: behavioural dependence. *Alcohol,* **1997;** (14): 247-253.

146. **Kim HJ, Sohng I, Lee G, Kim JJ, Koh SK.** Effects of acetaldehyde on responses of rabbit corpus cavernosal smooth muscle. *J. Korean Med. Sci,* **2000;** (15): 295-298.

147. **Han J-Y, Mura S, Akiba Y, Higuchi H, Kato S, Suzuki H, Yokoyama H, Ishii H.** Chronic ethanol consumption exacerbates microcirculatory damage in rat mesentery after reperfusion. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.,* **2001;** (280): 939-948.

148. **Grattagliano I, Vendemiale G, Sabbà C, et al.** Oxidation of circulating proteins in alcoholics : role of acetaldehyde and xanthine oxidase. *J. Hepatol.,* **1996;** (25): 28-36.

149. **Weidman SW, Beard JD and Sabesin SM.** Plasma lipoprotein changes during abstinence in chronic alcoholics. 1984; (52): 151-166.

150. **Ahn TY, Gomez-Coronado D, Martinez V, Cuavas P, Goldstein I, Saenz de Tejada I.** Enhanced contractility of rabbit corpus cavernosum smooth muscle by oxidized low density lipoproteins. *Int. J. Impot. Res.,* 1999; (11): 9-14.

151. **Lifton L, Scherig L.** Ethanol-induced hypertriglyceridemia. Prevalence and contributing factors. *Am. J. Clin. Nutr.,* **1978;** (31): 614-618.

152. **Baugmgartner HP, Flippini L.** Alcohol-induced hyperlipoproteinemia. Schweiz. Med. Wochenschr., **1977;** (107): 1406-1411.

153. **Avogaro P and Cazzolato G.** Changes in the composition and physico-chemical characteristics of serum lipoproteins during ethanol –induced lipaemia in alcoholic subjects. *Metabolism*, **1975;** (24): 1231-1242.

154. **Zhang A, Altura BT, Altura BM.** Ethanol-induced contraction of cerebral arteries in diverse mammals and its mechanism of action. *Eur. J. Pharmacol.,* **1993;** (248): 229-236.

155. **Sahna E, Kürcer Z, Oztürk F, Cengiz N, Vardı N, Birincioğlu M and Olmez E.** Effects of chronic ethanol consumption on alpha-adrenergic-induced contractions and endothelium-dependent relaxations in rat throcic aorta. *Pharmacol. Res*, **2000;** (41): 629-633.

ÖZGEÇMİŞ

Fatma Aydınoğlu, 1981 yılında Adana'da doğdu. Orta öğrenimini Adana'da tamamladı. 2002 yılında Çukurova Üniversitesi Biyoloji Bölümünden Mezun oldu. 2004 yılının Şubat ayında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı'nda 'Yüksek Lisans' eğitimine başladı.