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

FARE KORPUS KAVERNOSUM DÜZ KASINDA L-SİSTEİN/HİDROJEN SÜLFÜR YOLAĞI İLE MUSKARİNİK RESEPTÖRLERİN İLİŞKİSİ

Ecz. Fatma Tuğçe DALKIR

TIBBİ FARMAKOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI
Prof. Dr. Nuran ÖĞÜLENER

ADANA-2016

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

FARE KORPUS KAVERNOSUM DÜZ KASINDA L-SİSTEİN/HİDROJEN SÜLFÜR YOLAĞI İLE MUSKARİNİK RESEPTÖRLERİN İLİŞKİSİ

Ecz. Fatma Tuğçe DALKIR

TIBBİ FARMAKOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI
Prof. Dr. Nuran ÖĞÜLENER

Bu çalışma TYL-2015-3468 nolu proje olarak Çukurova Üniversitesi Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir.

ADANA-2016

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS / DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI
ETİK BEYANI

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 28/12/2016

İMZA
Adı Soyadı
Fatma Tuğçe DALKIR

Kayıtlı olunan Program : Tıbbi Farmakoloji Tezli Yüksek Lisans Programı
Tezin Konusu : Fare Korpus Kavernosum Düz Kasında L-Sistein/Hidrojen Sülfür Yolağı ile Muskarinik Reseptörlerin İlişkisi
Tezin Türü Yüksek Lisans : [X] Doktora: [ ]
Danışmanın Adı-Soyadı : Prof. Dr. Nuran ÖĞÜLENER
Danışmanın İletişim Bilgileri
Telefon : 0322 338 60 60…3521-3239
E-Posta : ogulener@cu.edu.tr
Öğrencinin İletişim Bilgileri
Telefon : 0537 298 36 70
E-Posta : tugcedalkir@hotmail.com
Adresi : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

**Bu belgenin Lisansüstü eğitim tezleri savunmaya alınmadan önce öğrenci tarafından doldurulup imzalanarak Enstitü Müdürlüğüne teslim edilmesi gerekmektedir.*

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bana değerli tecrübe ve fikirleri ile yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nuran Öğülener'e değerli katkılarından dolayı şükranlarımı sunarım. Çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ergin Şingirik'e ve diğer hocalarıma teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Verdikleri değerli katkılar için değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Fatma Aydınoğlu'na, çalışma arkadaşım Uzm. Ecz. Elif Adıbelli'ye, teknik ve idari personele emekleri için teşekkür ederim. Daima tecrübe ve fikirlerinden yararlandığım, üzerimdeki emekleri yadsınamaz olan sevgili annem, babam ve kardeşime, ayrıca tüm sevdiklerime destekleri için çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR iii

İÇİNDEKİLER iv

ŞEKİLLER DİZİNİ vii

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xi

ÖZET xiii

ABSTRACT xiv

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİ 3

2.1. Hidrojen Sülfür 3

2.1.1. Hidrojen Sülfürün Sentezi 3

2.1.1.1. Sistatiyon-beta-sentaz (CBS) 4

2.1.1.2. Sistatiyon-gama-liyaz (CSE) 4

2.1.1.3. 3-Merkaptopürivat Sülfürtransferaz (3-MST) 5

2.2. Hidrojen Sülfürün Fizyolojik Etkileri 7

2.2.1. H_2S ve Ürojenital Sistem 7

2.2.1.1. H_2S ve Korpus Kavernosum 7

2.2.2. H_2S ve Kardiyovasküler Sistem 8

2.2.3. H_2S ve Solunum Sistemi 9

2.2.4. H_2S ve Gastrointestinal Sistem 9

2.2.5. H_2S ve Santral Sinir Sistemi 9

2.3. Hidrojen Sülfürün Etki Mekanizmaları 10

2.3.1. Kolinerjik Sistem 10

2.3.2. Endoteliyum 10

2.3.3. Nitrik Oksit/Siklik Guanozin Monofosfat Yolağı 10

2.3.4. Adenilil Siklaz/Siklik Adenozin Monofosfat Yolağı 11

2.3.5. Potasyum Kanalları 11

2.3.6. Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EDHF) 12

2.4. Penil Erektil Doku 12

2.4.1. Penil Erektil Dokunun Periferik İnervasyonu 13

2.4.1.1. Parasempatik Etkinleşme 13

2.4.1.2. Sempatik Etkinleşme 14
2.4.1.3. Non-Adrenerjik Non-Kolinerjik İnervasyon 14
2.4.1.3.1. Nitrik Oksit 14
2.4.1.3.2. Vazoaktif İntestinal Polipeptit (VIP) 15
2.4.1.3.3. Adenozin trifosfat (ATP) 15
2.4.1.3.4. Endotelin (ET) 16
2.4.1.3.5. RhoA/Rho-kinaz Yolağı 16
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER 18
3.1. In vitro Çalışmalar 18
3.1.1. Korpus Kavernosum Dokusunda Fenilefrin Kasılmaları Üzerinde L-Sisteinin Gevşetici Etkileri 18
3.1.2. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine CBS ve CSE Enzim İnhibitörlerinin Etkileri 19
3.1.2.1. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine AOAA'nın Etkisi 19
3.1.2.2. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine PAG'ın Etkisi 19
3.1.2.3. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine AOAA ve PAG Kombinasyonunun Etkisi 20
3.1.3. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Muskarinik Reseptör Blokörlerinin Etkileri 20
3.1.3.1. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici M_1 Reseptör Blokörü Pirenzepinin Etkisi 20
3.1.3.2. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici M_2 Reseptör Blokörü AF-DX 116'nın Etkisi 20
3.1.3.3. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici M_3 Reseptör Blokörü 4-DAMP'ın Etkisi 21
3.1.3.4. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici Olmayan Muskarinik Reseptör Blokörü Atropinin Etkisi 21
3.1.4. Korpus Kavernosum Dokusunda Fenilefrin Kasılmaları Üzerinde Kümülatif Ekzojen H_2S'in Gevşetici Etkileri 22
3.1.5. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Muskarinik Reseptör Blokörlerinin Etkileri 22

3.1.5.1. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici M_1 Reseptör Blokörü Pirenzepinin Etkisi 22
3.1.5.2. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici M_2 Reseptör Blokörü AF-DX 116'nın Etkisi 23
3.1.5.3. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici M_3 Reseptör Blokörü 4-DAMP'ın Etkisi 23
3.1.5.4. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici Olmayan Muskarinik Reseptör Blokörü Atropinin Etkisi 23
3.1.6. Korpus Kavernosum Dokusunda Fenilefrin Kasılmaları Üzerinde Asetilkolinin Gevşetici Etkileri 24
3.1.7. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Muskarinik Reseptör Blokörlerinin Etkileri 24
3.1.7.1. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici M_1 Reseptör Blokörü Pirenzepinin Etkisi 24
3.1.7.2. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici M_2 Reseptör Blokörü AF-DX 116'nın Etkisi 25
3.1.7.3. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici M_3 Reseptör Blokörü 4-DAMP'ın Etkisi 25
3.1.7.4. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici Olmayan Muskarinik Reseptör Blokörü Atropinin Etkisi 25
3.1.8. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine L-Sistein Sentez Enzimlerinin Etkileri 26
3.1.8.1. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine AOAA'nın Etkisi 26
3.1.8.2. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine PAG'ın Etkisi 26
3.1.8.3. Asetilkolin Gevşemeleri AOAA ve PAG Kombinasyonunun Etkisi 27
3.2. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz 27
3.3. Kullanılan İlaçlar ve Çözeltilerin Hazırlanması 27
4. BULGULAR 28
4.1. Korpus Kavernosum Dokusunda Fenilefrin Kasılmaları Üzerinde L-Sisteinin Gevşetici Etkileri 28

4.2. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine CBS ve CSE Enzim İnhibitörlerinin Etkileri 30
4.2.1. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine AOAA'nın Etkisi 30
4.2.2. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine PAG'ın Etkisi 32
4.2.3. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine AOAA ve PAG Kombinasyonunun Etkisi 34
4.3. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Muskarinik Reseptör Blokörlerinin Etkileri 36
4.3.1. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici M_1 Reseptör Blokörü Pirenzepinin Etkisi 36
4.3.2. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici M_2 Reseptör Blokörü AF-DX 116'nın Etkisi 38
4.3.3. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici M_3 Reseptör Blokörü 4-DAMP'ın Etkisi 40
4.3.4. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici Olmayan Muskarinik Reseptör Blokörü Atropinin Etkisi 42
4.4. Korpus Kavernosum Dokusunda Fenilefrin Kasılmaları Üzerinde Kümülatif Ekzojen H_2S'in Gevşetici Etkileri 44
4.5. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Muskarinik Reseptör Blokörlerinin Etkileri 46
4.5.1. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici M_1 Reseptör Blokörü Pirenzepinin Etkisi 46
4.5.2. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici M_2 Reseptör Blokörü AF-DX 116'nın Etkisi 48
4.5.3. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici M_3 Reseptör Blokörü 4-DAMP'ın Etkisi 50
4.5.4. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici Olmayan Muskarinik Reseptör Blokörü Atropinin Etkisi 52
4.6. Korpus Kavernosum Dokusunda Fenilefrin Kasılmaları Üzerinde Asetilkolinin Gevşetici Etkileri 54
4.7. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Muskarinik Reseptör Blokörlerinin Etkileri 56

4.7.1. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici M_1 Reseptör Blokörü Pirenzepinin Etkisi 56
4.7.2. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici M_2 Reseptör Blokörü AF-DX 116'nın Etkisi 58
4.7.3. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici M_3 Reseptör Blokörü 4-DAMP'ın Etkisi 60
4.7.4. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici Olmayan Muskarinik Reseptör Blokörü Atropinin Etkisi 62
4.8. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine L-Sistein Sentez Enzimlerinin Etkileri 64
4.8.1. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine AOAA'nın Etkisi 64
4.8.2. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine PAG'ın Etkisi 66
4.8.3. Asetilkolin Gevşemeleri AOAA ve PAG Kombinasyonunun Etkisi 68
5. TARTIŞMA 70
6. SONUÇ ve ÖNERİLER 73
KAYNAKLAR 74
ÖZGEÇMİŞ 83

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Hidrojen sülfürün sulu çözeltilerde çözünmesi [24]	3
Şekil 2.	Sistatiyon beta sentaz (CBS) enzimi aracılığıyla H_2S sentezi[38]	4
Şekil 3.	Sistatiyon gama liyaz (CSE) enzimi aracılıklı H_2S sentezi[37]	5
Şekil 4.	3-Merkaptosülfürtransferaz (3-MST) ve sistein aminotransferaz (CAT) aracılığıyla H_2S sentezi	5
Şekil 5.	H_2S'in hücre içindeki sentez yolakları[44]	6
Şekil 6.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde L-sistein (10^{-3} M) gevşeme yanıtarı	29
Şekil 7.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde L-sistein (10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine AOAA (10^{-3} M)'nın etkisi	31
Şekil 8.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde L-sistein (10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine PAG (10^{-2} M)' ın etkisi	33
Şekil 9.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde L-sistein (10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine AOAA(10^{-3} M) ve PAG (10^{-2} M) kombinasyonunun etkisi	35
Şekil 10.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde tek doz L-sistein (10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine pirenzepin (10^{-6} M)'in etkisi	37
Şekil 11.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde L-sistein (10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine AF-DX 116 (10^{-6} M)'nın etkisi	39
Şekil 12.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde L-sistein (10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine 4-DAMP (10^{-7} M)'nın etkisi	41
Şekil 13.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde L-sistein (10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine atropin ($5x10^{-5}$ M)' in etkisi	43
Şekil 14.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif ekzojen H_2S'in (10^{-6}-10^{-3} M) I. ve II. seri gevşeme yanıtları	45
Şekil 15.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif ekzojen H_2S'in (10^{-6}-10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine pirenzepin (10^{-6} M)'in etkisi	47
Şekil 16.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif ekzojen H_2S'in (10^{-6}-10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine AF-DX 116 (10^{-6} M)'nın etkisi	49
Şekil 17.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif ekzojen H_2S'in (10^{-6}-10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine 4-DAMP (10^{-7} M)'in etkisi	51
Şekil 18.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif ekzojen H_2S'in (10^{-6}-10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine atropin ($5x10^{-5}$ M)'in etkisi	53
Şekil 19.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde tek doz asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtarı	55
Şekil 20.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde tek doz asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtları üzerine pirenzepin (10^{-6} M)'in etkisi	57
Şekil 21.	İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtları üzerine AF-DX 116 (10^{-6} M)'nın etkisi	59

Şekil 22. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtları üzerine 4-DAMP (10^{-7} M)'nın etkisi 61

Şekil 23. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtları üzerine atropin ($5x10^{-5}$ M)' in etkisi 63

Şekil 24. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtları üzerine AOAA (10^{-3} M)' nın etkisi 65

Şekil 25. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtları üzerine PAG (10^{-2} M)' ın etkisi 67

Şekil 26. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtları üzerine AOAA (10^{-3} M) PAG (10^{-2} M)' ın etkisi 69

SİMGELER ve KISALTMALAR

ATP	: Adenozin trifosfat
α	: Alfa
AF-DX 116	: 11-[[2-[(Dietilamino)metil-1-piperidinil]asetil]-5,11-dihidro-6H-pirido[2.3-b][1,4]benzodiazepin-6-on
AOAA	: Aminooksiasetik asit
4-AP	: 4-aminopiridin
β	: Beta
$BaCl_2$	: Baryum klorür
BH_4	: Tetrahidrobiyopterin
BK_{Ca}^{2+}	: Yüksek kondüktanslı Ca^{2+} ile etkinleşen K^+ kanalı
Ca^{2+}	: Kalsiyum
CAT	: Sistein aminotransferaz
CBS	: Sistatiyon beta sentaz
CSE	: Sistatiyon gama liyaz
CO	: Karbonmonoksit
COX	: Siklooksijenaz
4-DAMP	: 4-Difenil-asetoksi-N-metil-piperidin metiyodit
EDHF	: Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör
EDRF	: Endotel kaynaklı gevşetici faktör
eNOS (NOS III)	: Endoteliyal nitrik oksit sentaz
Fe^{2+}	: Demir
H^+	: Hidrojen
H_2S	: Hidrojen sülfür
IK^{Ca2+}	: Orta kondüktanslı Ca^{2+} ile etkinleşen K^+ kanalı
iNOS (NOS II)	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
K^+	: Potasyum
K_{ATP}	: ATP'ye-duyarlı potasyum kanalı
K_{Ca}^{2+}	: Kalsiyum ile etkinleşen potasyum kanalı
KCl	: Potasyum klorür
K_{IR}	: İçe-doğrultucu potasyum kanalı

L-NAME : N^{ω}-nitro-L-arjinin metil ester

L-NA : N^{ω}-nitro-L-arjinin

3-MP : 3-Merkaptopürivat

mRNA : Mitokondriyel ribonükleik asit

3-MST : 3-Merkaptopürivat sülfürtransferaz

NAD : Nikotin adenin dinükleotit

NADPH : Nikotinamit adenin dinükleotid fosfat

NaHS : Sodyum hidrojen sülfür

NANK : Non-adrenerjik non-kolinerjik

NEM : N-Etilmalemeit

NO : Nitrik oksit

NOS : Nitrik oksit sentaz

nNOS (NOS I) : Nöronal nitrik oksit sentaz

qRT-PCR : Gerçek zamanlı kantitatif PCR

PAG : D,L-Proparjil glisin

PKC : Protein kinaz C

PKG : Protein kinaz G

PLP : Piridoksal 5'-fosfat

S^{2-} : Sülfür

sAMP : Siklik adenozin monofosfat

sGMP : Siklik guanozin monofosfat

sGK I ve II : sGMP'ye bağımlı protein kinaz

SK^{Ca2+} : Küçük kondüktanslı Ca^{2+} ile etkinleşen K^{+} kanalı

SQ 22536 : 9-(Tetrahidro-2-furanil)-9*H*-purin-6-amin

VIP : Vazoaktif intestinal polipeptit

ÖZET

Fare Korpus Kavernosum Düz Kasında L-Sistein/Hidrojen Sülfür Yolağı ile Muskarinik Reseptörlerin İlişkisi

Hidrojen sülfür (H_2S)'ün gevşetici etkisi fare, sıçan, tavşan, maymun ve insan korpus kavernosum dokularında gösterilmiştir. Ancak bu gevşetici etkilerin mekanizmaları hala bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı fare korpus kavernosum dokusunda L-sistein/H_2S ve muskarinik reseptörler arasındaki etkileşimi araştırmaktır.

Fare korpus kavernosum dokularında L-sistein (endojen H_2S; 10^{-3} M), sodyum hidrojen sülfür (NaHS; ekzojen H_2S; 10^{-6}–10^{-3} M) ve asetilkolin (10^{-6} M) ile gevşeme yanıtları elde edildi. İlk olarak L-sistein ve asetilkolin gevşeme yanıtları üzerinde H_2S sentez enzimleri olan sistatiyon gama liyaz (CSE) inhibitörü proparjilglisin (PAG; 10^{-2} M) ve sistatiyon beta sentaz (CBS) inhibitörü aminoksiasetik asit (AOAA; 10^{-3} M)'in tek başlarına ve kombinasyonlarının etkileri araştırıldı. L-sistein ile oluşan gevşeme yanıtları PAG ile azalırken, AOAA ile değişmedi. Diğer yandan PAG, asetilkolin ile oluşturulan gevşeme yanıtlarını azaltırken AOAA anlamlı olarak artırdı. Ayrıca fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırılan dokularda asetilkolin, L-sistein ve ekzojen H_2S ile oluşturulan gevşeme yanıtları üzerine seçici olmayan muskarinik reseptör blokörü atropin ($5x10^{-5}$ M), seçici M_1 reseptör blokörü pirenzepin (10^{-6} M), seçici M_2 reseptör blokörü AF-DX 116 (10^{-6} M) ve seçici M_3 reseptör blokörü 4-DAMP (10^{-7} M)'ın etkileri araştırıldı. Atropin, pirenzepin, AF-DX 116 ve 4-DAMP asetilkolinin gevşeme yanıtlarını azalttı. Atropin, pirenzepin ve 4-DAMP L-sisteinin gevşetici yanıtlarını azaltırken AF-DX 116 anlamlı bir değişikliğe yol açmadı. Ekzojen H_2S aracılıklı gevşeme yanıtları atropin, pirenzepin, 4-DAMP ve AF-DX 116 tarafından anlamlı olarak azaldı.

Sonuç olarak, fare korpus kavernosum dokusunda L-sistein aracılıklı gevşeme yanıtlarına CSE enzim etkinleşmesinin aracılık ettiği, muskarinik reseptörlerden M_1 ve M_3'ün L-sisteinin gevşetici etkisinde rolü olduğu, fakat M_2'nin herhangi bir katkısının olmadığı ve ekzojen H_2S ile oluşturulan gevşemelerde M_1, M_2 ve M_3 muskarinik reseptörlerin rol oynadığı gösterilmiştir.

<u>Anahtar Kelimeler:</u> asetilkolin, hidrojen sülfür, korpus kavernosum, L-sistein, muskarinik reseptörler

ABSTRACT

The Interaction of L-Cysteine/Hydrogen Sulfide Pathway and Muscarinic Acetylcholine Receptors in Mouse Corpus Cavernosum

The relaxant effect of hydrogen sulfide (H_2S) has been demonstrated in mouse, rat, rabbit, primate and human corpus cavernosum (CC) tissues. However, the mechanism of this relaxant effect is still unclear. The aim of this study was to investigate the possible interaction of L-cysteine/H_2S pathway and muscarinic receptors in the mouse CC.

The relaxant responses to L-cysteine (endogenous H_2S substrate;10^{-3}M), sodium hydrogen sulfide (NaHS;exogenous H_2S; 10^{-6}–10^{-3} M) and acetylcholine (10^{-6} M) were obtained in isolated mouse CC tissues. Firstly, the effects of endogenous H_2S synthesis inhibitors propargylglycine (PAG; cystathionine-gamma-lyase(CSE) inhibitor; 10^{-2} M), aminooxyacetic acid (AOAA; cystathionine-β-synthase(CBS) inhibitor; 10^{-3} M); seperately or their combination, on the relaxant response to L-cysteine and acetylcholine were investigated. PAG, but not AOAA, significantly reduced the relaxant responses to L-cysteine. PAG reduced the relaxant response to acetylcholine, while AOAA increased. The role of non-selective muscarinic receptor antagonist atropine ($5x10^{-5}$ M), selective M_1 antagonist pirenzepine (10^{-6} M), selective M_2 antagonist AF-DX 116 (10^{-6} M) and selective M_3 antagonist 4-DAMP (10^{-7} M) were investigated on the relaxant responses to L-cysteine, NaHS and acetylcholine in the tissues which were pre-contracted by phenylephrine ($5x10^{-6}$ M). Atropine, pirenzepine and 4-DAMP, but not AF-DX 116 inhibited the relaxant responses to L-cysteine. Acetylcholine- and NaHS-induced relaxations were reduced by atropine, pirenzepine, AF-DX 116 and 4-DAMP.

We conclude that L-cysteine-induced relaxant response is mediated via activation of CSE. Muscarinic receptors M_1 and M_3, but not M_2, contributes to relaxant effect of L-cysteine in mouse CC. Also, it is shown that M_1, M_2 and M_3 receptors play role in NaHS-induced relaxation in this tissue.

Keywords: **acetylcholine, corpus cavernosum, hydrogen sulfide, L-cysteine, muscarinic receptors**

1. GİRİŞ

Penil ereksiyonu, arterler ve kavernozal dokulardan endoteliyal faktörlerin ve intramural sinirlerden nörotransmiterlerin salıverilmesini de içeren kompleks bir nörovasküler olaydır. Penil ereksiyonu korpus kavernosum trabeküler düz kas gevşemesinin sonucu olarak gerçekleşmektedir. Düz kas gevşemesi lokal olarak vasküler endoteliyumdan salıverilen endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) aracılığı ile ve aynı zamanda kolinerjik, adrenerjik ve non-adrenerjik non-kolinerjik nörotransmiterler aracılığıyla da kontrol edilmektedir[1].

Korpus kavernosum ve penil damar yapısının yaygın bir şekilde kolinerjik sinirlerle inerve edildiği gösterilmiştir[2]. Asetilkolin insan korpus kavernosum şeritlerindeki kolinerjik sinirlerde üretilip salıverilmektedir[3]. Kolinerjik sinirlerden salıverilen asetilkolin, korpus kavernosum düz kas hücrelerinde, sinusoid ve damar endoteliyumunda bulunan muskarinik reseptörler üzerinden etkisini göstermektedir[4]. İnsan penil arterlerinde ve korpus kavernosum şeritlerinde yapılan *in vitro* deneylerde asetilkolin ve karbakol endoteliyuma bağımlı gevşemeye neden olmuştur[5-7]. Vasküler endoteliyumdan muskarinik reseptör aracılığıyla gevşetici faktörlerin salımının kolinerjik proerektil bir etki oluşturabileceği öne sürülmüştür[1]. Bu durumun fare erektil dokuları için de geçerli olduğu düşünülmektedir.

Son yıllarda memelilerde yapılan çalışmalarda hidrojen sülfür (H_2S)'ün sinir iletiminin düzenlenmesi ve damarların gevşemesini de içeren çeşitli fizyolojik süreçleri düzenlemede rol alan bir sinyal molekülü olduğu gösterilmiştir[8-11]. Hücrelerde endojen H_2S, L-sistein ve homosisteinden piridoksal-5'-fosfat (vitamin B6)'ya bağımlı enzimler olan sistatiyon gama liyaz (CSE), sistatiyon beta sentaz (CBS) ve 3-merkaptopürivat sülfürtransferaz (3-MST) enzimleri aracılığıyla sentezlenmektedir[12-16]. İnsan ve diğer memelilerde L-sistein/H_2S yolağının penil ereksiyonunun düzenlenmesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. İnsan korpus kavernosum dokusunda gerçek zamanlı kantitatif PCR (qRT-PCR) ve Western Blott yöntemi kullanılarak CBS ve CSE enzimleri tespit edilmiştir[17]. Ayrıca, sıçan[18], tavşan[19] ve insan[17] korpus kavernosum dokularında L-sisteinden H_2S sentezi ve gevşetici etkileri gösterilmiştir. L-sistein/H_2S yolağının insan korpus kavernosumunun erektil işlevinde rol alabileceği öne sürülmüştür[17].

H_2S'in fizyolojik olarak üretiminden sorumlu enzimlerden birisi olan CSE enzimin geninin silinmesi ile serum, kalp, aort ve diğer dokularda H_2S düzeylerinin belirgin ölçüde düştüğü ve CSE geni silinmiş farelerde endoteliyuma bağımlı damar gevşemesinin azaldığı gözlenmiştir[9]. Ayrıca, CSE geni silinmiş farelerde fenilefrinle kastırılmış mezenterik arterlerin metakolin aracılıklı gevşemeleri belirgin ölçüde azalmıştır. Aynı çalışmada hem sağlıklı hem de mutant farelerde endotelinin uzaklaştırılması ile metakolin gevşemeleri ortadan kalkmıştır[9]. Fare korpus kavernosum dokusunda yapılan çalışmada, endojen H_2S gevşemelerinin endoteliyuma bağımlı olduğu ve özgül olmayan muskarinik reseptör blokörü atropinin ekzojen H_2S gevşemelerini azalttığı gösterilmiştir[20]. Atropin ile elde edilen sonuçlar, korpus kavernosum dokusunda H_2S'in gevşetici yanıtının muskarinik reseptörlerin etkinleşmesi ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür.

Literatür araştırmalarımıza göre, şimdiye kadar korpus kavernosum dokusunda L-sistein/H_2S yolağı ile muskarinik reseptörler arasındaki etkileşimini özgül olarak araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada muskarinik reseptörlerin endojen ve ekzojen H_2S kaynaklı gevşemelere katkıda bulunup bulunmadığını araştırmayı amaçladık. Bu amaç doğrultusunda, H_2S substratı olan L-sistein, ekzojen H_2S ve asetilkolin aracılıklı gevşemeler üzerinde CBS enzim inhibitörü aminoksiasetik asit (AOAA) ve CSE enzim inhibitörü proparjilglisin (PAG) etkileri ve ayrıca seçici ve non seçici muskarinik reseptör blokörleri pirenzepin (M_1 reseptör blokörü), 11-[[2-[(Dietilamino)metil-1-piperidinil]asetil]-5,11-dihidro-6H-pirido[2.3-b][1,4]benzodiazepin-6-on (AF-DX 116; M_2 reseptör blokörü), 4-difenil-asetoksi-N-metil-piperidin metiyodit (4-DAMP; M_3 reseptör blokörü) ve atropin (seçici olmayan blokör)'in etkileri araştırıldı.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Hidrojen Sülfür

Hidrojen sülfürün (H_2S) karakteristik ve kötü çürük yumurta kokusu ile yalnızca zehirli bir gaz olduğu düşünülmekteydi[21]. Fakat sonradan Abe ve Kimura[12] tarafından H_2S'in endojen olarak üretilen bir nöromodülatör olduğu öne sürülmüştür. Son yıllarda, H_2S'in memelilerde Nitrik oksit (NO) ve karbonmonoksit (CO) gibi bir gaz nörotransmiter olduğu kabul edilmiştir[22]. H_2S'in insan ve memeli dokularında enzimatik ve non-enzimatik yollarla sentezlendiği belirlenmiştir[10].

Yüksek derişimlerde yanıcı ve zehirli bir gaz olan H_2S'in, 500 ppm'lik akut maruziyette ölüme neden olabildiği gösterilmiştir[21]. H_2S suda çözünebilmektedir[23]. H_2S'in sudaki çözeltisi uçucudur. H_2S gaz fazı ile sıvı fazı arasında daima denge halindedir[24](Şekil 1). H_2S lipofiliktir ve bu nedenle membranlardan kolaylıkla geçebilmektedir[25].

$$H_2S_{(g)} \rightleftharpoons H_2S_{(aq)} \rightleftharpoons HS^- + H^+ \rightleftharpoons S2^- + 2H^+$$

Şekil 1. Hidrojen sülfürün sulu çözeltilerde çözünmesi[24].

H_2S'in, biyolojik dokularda ve sıvılardaki derişimi değişiklik göstermektedir[26,13]. H_2S'in belirli derişimlerde fizyolojik olarak önemli etkilerinin olduğu ve çeşitli hastalıkların patolojisinde rol aldığı ileri sürülmüştür[27,28,29].

2.1.1. Hidrojen Sülfürün Sentezi

H_2S'in enzimler aracılığıyla kardiyovasküler, gastrointestinal, ürojenital sistemlerde ve sinir sisteminde, ayrıca karaciğer, iskelet kası ve adipoz dokularda sentezlendiği belirlenmiştir[13,30-33].

H_2S üretiminin üç enzimatik yolağı gösterilmiştir. Bunlardan ikisi homosisteinin sisteine metabolize edildiği transsülfürasyon yolağının piridoksal 5'-fosfat (PLP; B6 vitamini)'a bağımlı sitozolik enzimleri olan sistatiyon beta sentaz (CBS) ve sistatiyon gama liyaz (CSE)'dır[34]. Ayrıca üçüncü bir yolak olan 3-merkaptopürivat sülfürtransferaz (3-MST) enziminin, H_2S sentezinden sorumlu olduğu ve α-ketoglutarat

varlığında sisteinden sistein aminotransferaz (CAT) enzimi ile birlikte H_2S sentezlendiği bildirilmiştir[14,35].

2.1.1.1. Sistatiyon-beta-sentaz (CBS)

CBS enzimi ilk kez beyinde Abe ve Kimura[12] tarafından eksprese edilmiş ve CBS enzim inhibitör ve etkinleştiricileri kullanılarak sisteinden H_2S oluşumunu katalize ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, memeli karaciğer, böbrek, ileum, plasenta ve pankreas gibi birçok dokuda da CBS enzimi eksprese edilmiştir[15]. CBS aracılıklı H_2S oluşumundaki ana mekanizmanın, homosistein ve sisteinden sistatiyonin oluşumu ile ilişkili olduğu ve bu tepkime sonrasında H_2S'in açığa çıktığı bildirilmiştir[36] (Şekil 2). İnsanlarda CBS enziminin PLP ve hem olmak üzere iki farklı ko-faktörü olduğu bildirilmiştir[37].

1. Sistein + H_2O $\xrightarrow{CBS}$ L-serin + H_2S

2. Sistein + homosistein $\xrightarrow{CBS}$ sistatiyonin + H_2S

3. Sistein + sistein $\xrightarrow{CBS}$ lantionin + H_2S

Şekil 2. Sistatiyon beta sentaz (CBS) enzimi aracılığıyla H_2S sentezi[38].

2.1.1.2. Sistatiyon-gama-liyaz (CSE)

CSE enziminin sisteinden H_2S, amonyak (NH^{4+}) ve pürivat oluşumunu katalize ettiği gösterilmiştir[37] (Şekil 3). Ayrıca, H_2S sentezinde homosistein ve sistein kombinasyonunu da kullanabilmektedir. Bunlardan başka, sistin'in β-eliminasyonu ile tiyosistein oluşumunu katalize edebilir ve tiyosisteinden enzimatik olmayan bir şekilde H_2S oluşur.

CSE'nin ekspresyonu beyin, karaciğer, böbrek, torasik aort, mezenterik arter, pulmoner arter, portal ven, ileum, kolon, uterus, plasenta ve endotel hücrelerinde de gösterilmiştir[26,13,39-42].

1. Sistein + homosistein $\xrightarrow{CSE}$ sistatiyonin + H_2S

2. Sistein + sistein $\xrightarrow{CSE}$ lantionin + H_2S

3. Sistein $\xrightarrow{CSE}$ Pürivat + NH_3^+ + H_2S

4. Homosistein $\xrightarrow{CSE}$ α-ketobütirat + NH_3^+ + H_2S

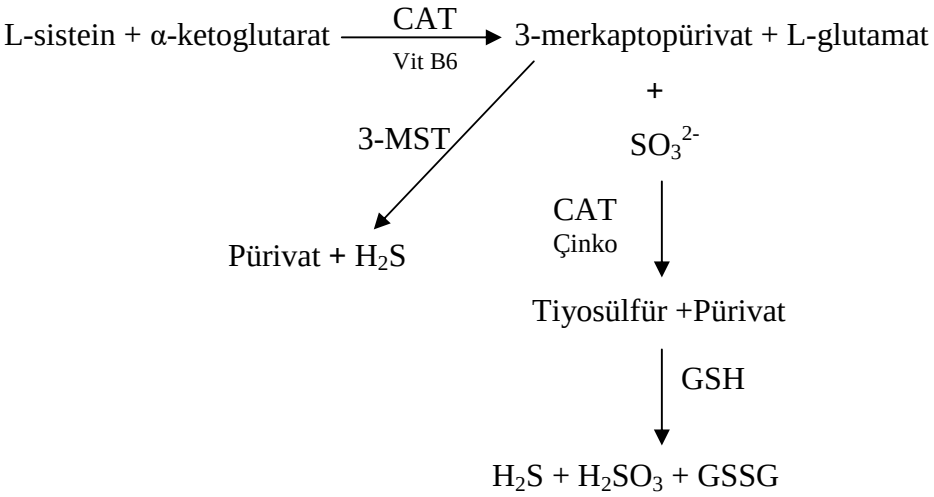
5. Homosistein + homosistein $\xrightarrow{CSE}$ homolantionin + H_2S

Şekil 3. Sistatiyon gama liyaz (CSE) enzimi aracılıklı H_2S sentezi[37]

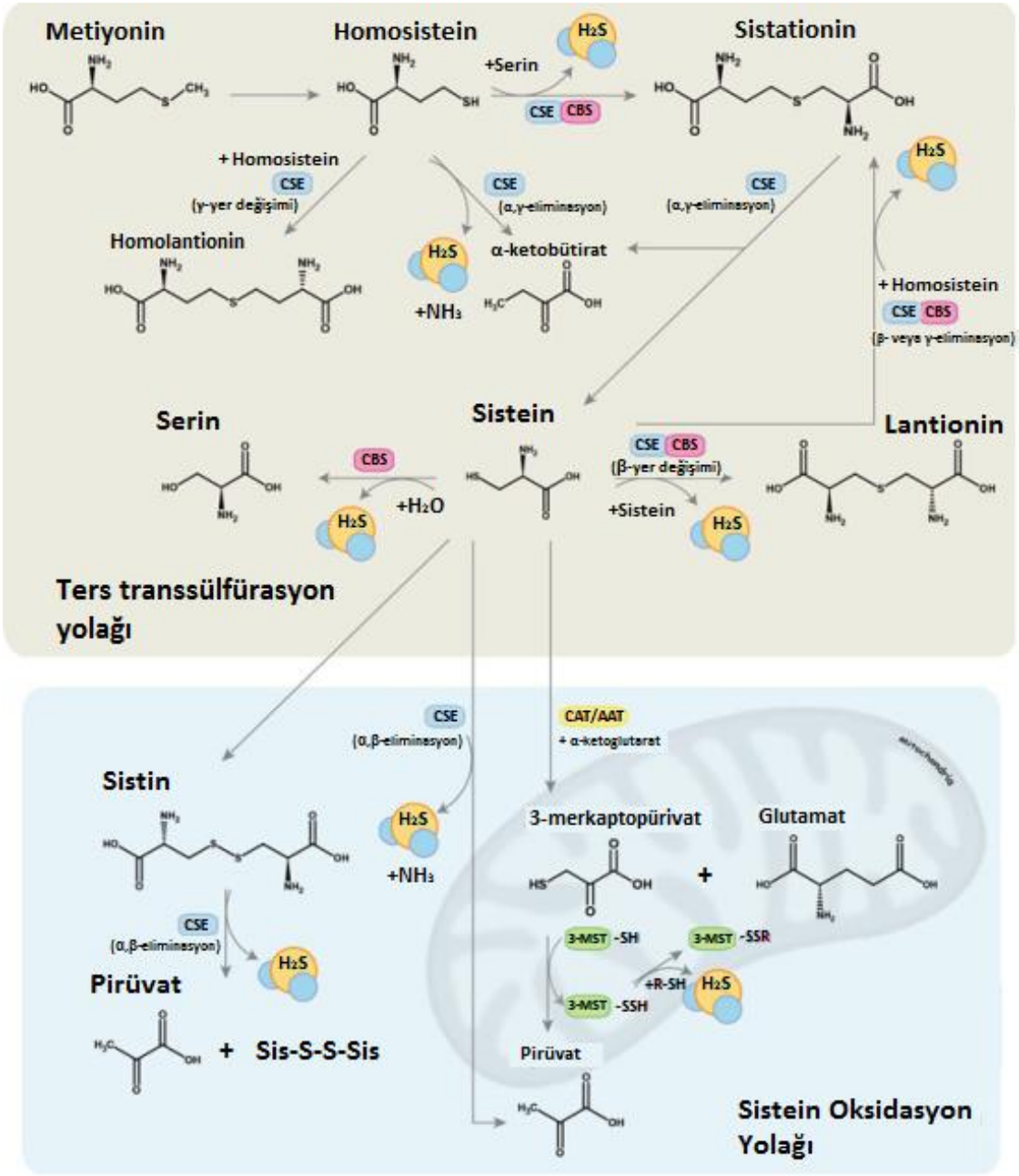
2.1.1.3. 3-Merkaptopürivat Sülfürtransferaz (3-MST)

3-MST enzimi beyinde nörogliyal hücrelerde, karaciğerde perisantral hepatositlerde, böbrekte proksimal tübüler epitelyumda, kardiyak hücrelerde, akciğer, torasik aort endoteliyumunda, timus ve testiste tespit edilmiştir[14,15,43].

CAT enzimi, sistein ve α-ketoglutarat arasındaki tepkimeyi katalize ederek 3-merkaptopürivat (3-MP)'ı oluşturmaktadır. 3-MST enzimi ise, 3-MP'den H_2S oluşmasına neden olmaktadır (Şekil 4). CAT, PLP'ye bağımlı bir enzim iken, 3-MST'nin ko-faktörü çinkodur. CAT/aspartat aminotransferaz (AAT) ve 3-MST, mitokondriyel ve sitoplazmik kompartmanlarda bulunmaktadır[10,14].



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



Şekil 5. H_2S'in hücre içindeki sentez yolakları. Endojen H_2S üretimi iki temel yolak üzerinden meydana gelmektedir: revers transsülfürasyon ve kısmen mitokondri içinde gerçekleşen sistein oksidasyonu[44].

2.2. Hidrojen Sülfürün Fizyolojik Etkileri

H_2S'in, kardiyovasküler sistem, santral sinir sistemi, solunum sistemi, gastrointestinal sistem, endokrin ve ürojenital sistemlerdeki birçok işlevi düzenlemede rolü olduğu gösterilmiştir[10,45].

2.2.1. H_2S ve Ürojenital Sistem

H_2S ve sentez enzimlerinin memeli türlerin alt üriner yollarında bulunduğu gösterilmiştir[46]. İnsan, sıçan ve fare vas deferens dokularında CSE ve CBS enzimleri işlevsel olarak eksprese edilmiştir[47]. H_2S, sıçan mesane düz kasında derişime bağımlı olarak kasılmayı indüklemiş[48]; domuz üreter ve mesane boynunda düz kas gevşemesi meydana getirmiş[49,50]; sıçan vas deferensinde H_2S derişime bağlı olarak gevşeme yanıtı oluşturmuş[51]; kobay mesane düz kasının spontan kasılmalarında artışa neden olmuş; sıçan mesanesinde, detrusor kasında yine derişime bağımlı kasılma yanıtı oluşturmuştur[52].

İnsan prostatik doku ve hücrelerinde, endojen H_2S ve sentez enzimleri CBS ve CSE'nin varlığı gösterilmiş ve H_2S'in benign prostat hiperplazisi ve prostat kanseri gibi hastalıklarda bazı etkiler oluşturabileceği düşünülmüştür[11].

Endojen H_2S'in mesane fizyolojik işlevinde ve/veya aşırı aktif mesane gibi patolojik durumlarda rolü olabileceği düşünülmektedir[46]. Sıçanlarda yapılan çalışmada ekzojen H_2S ve sistein uygulaması penil ereksiyonuna neden olmuş, CSE inhibitörü varlığında sistein ile oluşan ereksiyonun önlendiği gösterilmiştir[53]. İnsan ve diğer memelilerdeki penil ereksiyonuna L-sistein/ H_2S yolağının katkıda bulunabileceği ileri sürülmüştür[8,17].

İnsan ve sıçan intraüterin dokularında, CBS ve CSE enzimleri eksprese edilmiş, bu dokularda H_2S'in *in vitro* olarak bu enzimler aracılığıyla sentez edildiği belirlenmiştir[54]. İnsan miyometrium dokusunda, doğum sırasında CBS ve CSE enzim düzenlenmesinin ve H_2S düzeyinin azaldığı bildirilmiştir[55].

2.2.1.1. H_2S ve Korpus Kavernosum

Maymunlara kavernoz içi H_2S donörü NaHS uygulanması ve sinirsel uyarı sonucunda kavernoz içi basıncının arttığı; sıçanlarda kavernoz sinir stimülasyonu ile elde edilen perfüzyon basıncının proparjilglisin ile CSE enziminin inhibe edilmesiyle

anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışma endojen H_2S'in sinir aracılıklı penil tümesansını kolaylaştırmada rolü olabileceğini düşündürmektedir[18].

İnsan korpus kavernosum dokusunda, CBS ve CSE enzimleri eksprese edilmiş, her iki enzimin seçici inhibitörleri varlığında H_2S oluşumunun azaldığı gösterilmiştir. İnsan korpus kavernosum dokusunda, H_2S'in endojen olarak oluştuğu ve L-sistein/H_2S yolağının ve ekzojen olarak uygulanan H_2S'in derişime bağımlı olarak bu dokunun gevşemesine neden olduğu, H_2S'in insan korpus kavernosum düz kasını regüle ettiği gösterilmiştir[17].

Tavşan korpus kavernosum dokusunda, H_2S'in endojen olarak sentezlenmesi ve bu dokuda NaHS'in gevşetici etkisinin adenilat siklaz inhibitörü ile bloke edilmesi, H_2S'in etkisinin sAMP yolağı ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür[19]. NaHS uygulaması sıçan korpus kavernosum dokusunda, nNOS'un protein ve mRNA düzeyini etkilemezken, eNOS'un protein ve mRNA düzeyini arttırmıştır. H_2S'in proerektil etkisini NO oluşumunu artırarak gerçekleştirdiği belirtilmiştir[56]. Kobay mesane düz kası üzerine yapılan bir çalışmada H_2S'in nöronal kalsiyum influksuna bağlı olarak nöronal asetilkolin salımını artırdığı ve doğrudan yüksek-kondüktanslı voltaj bağımlı ve kalsiyum ile aktive olan potasyum (BK) kanallarının inhibisyonuna sebep olduğu gösterilmiştir[57]. Ayrıca, H_2S'in yaşlılığa bağlı olarak gelişen erektil işlev bozukluğunun bir göstergesi olabileceği bildirilmiştir[58].

Son zamanlarda H_2S'in erektil işlev bozukluğunun potansiyel tedavisinde etkili olabileceği belirlenmiştir. Ancak H_2S'in moleküler etki mekanizmasının tam olarak anlaşılmasının, erektil işlev bozukluğu için yeni bir tedavi olarak geliştirilmesi için gerekli olduğu düşünülmektedir[56].

2.2.2. H_2S ve Kardiyovasküler Sistem

Endojen veya ekzojen H_2S'in, vasküler veya myokardiyal hücrelerde çok geniş etki oluşturduğu bildirilmiştir[59]. Sıçan mezenterik arter ve aortunda yapılan in vitro deneylerde, H_2S derişime bağlı olarak gevşeme yanıtı oluşturmuş ve H_2S'in intravenöz olarak uygulanması sıçanlarda kan basıncında geçici bir azalmaya yol açmıştır[26].

CSE geni silinmiş farelerde, kalp, damar ve diğer dokulardaki H_2S düzeyinin ve endoteliyuma bağlı gevşeme yanıtının anlamlı olarak azaldığı ve bu farelerde yaşa bağlı olarak hipertansiyon geliştiği bildirilmiştir[9].

2.2.3. H_2S ve Solunum Sistemi

H_2S'in, memeli solunum sisteminde önemli bir gaz transmitter olduğu kabul edilmektedir. Memelilerin akciğer ve diğer solunum yolu dokularında, CSE ve CBS enzimleri eksprese edilmiş, endojen H_2S'in solunum sistemindeki fizyolojik işlevler ve astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi patolojik olaylarla ilişkili olduğu bildirilmiştir[60]. KOAH hastalarının ve sigara içen kişilerin akciğer dokuları üzerinde yapılan çalışmada CSE ekspresyonunun azaldığı ve H_2S metabolizmasının değiştiği gösterilmiştir[61].

2.2.4. H_2S ve Gastrointestinal Sistem

H_2S'in gastrointestinal sistemle yakından ilişkili olduğu, gastrointestinal yapıda birçok etkiye aracılık ettiği gösterilmiştir[62]. Sıçan kolon düz kasında CBS ve CSE enzimlerinin varlığı ve H_2S'in endojen olarak sentezlendiği gösterilmiştir[63].

H_2S donörü olan NaHS, farklı türlere ait mide fundus, ileum ve distal kolon preparatlarında derişime bağlı olarak gevşeme yanıtı oluşmasına neden olmuştur[13,64,65,66]. H_2S'in gastrointestinal yapının çeşitli dokularında düz kası gevşeterek ve peristaltizmi inhibe ederek motiliteyi regüle ettiği ileri sürülmüştür[63].

2.2.5. H_2S ve Santral Sinir Sistemi

Fizyolojik ve patofizyolojik olaylarda rol oynayan H_2S'in beyinde görece fazla eksprese edildiği, hipokampal uzun-dönem potansiyelizasyonu NMDA reseptör-aracılıklı yanıtları artırarak kolaylaştırdığı öne sürülmüştür[12]. Ayrıca nöronlarda, mikroglial hücrelerde ve astrositlerde intrasellüler Ca^{2+} ve pH homeostazını modüle ettiği ve bu nedenle nöromodülatör etkilerinin olduğu gösterilmiştir[67,68]. Alzheimer hastalığı ve parkinson hastalığı gibi çeşitli santral sinir sistemi rahatsızlıklarında bozulmuş H_2S metabolizmasına rastlanmış, felçli hastalarda plazma H_2S seviyelerinin uzun dönem klinik sonuçlarla ilişkili olduğu rapor edilmiştir[69].

2.3. Hidrojen Sülfürün Etki Mekanizmaları

2.3.1. Kolinerjik Sistem

Farelerde yapılan bir çalışmada CSE geninin silinmesiyle, asetilkolin ile oluşan endotel'e bağlı gevşeme yanıtı anlamlı olarak azalmış ve endotel hücrelerinde metakolin ve kalsiyum iyonoforu A23187'in neden olduğu H_2S düzeyindeki artışta anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. A23187'nin endotel hücrelerde H_2S sentezi üzerindeki bu artırıcı etkisi, intrasellüler kalsiyumun şelasyonu ile ortadan kalkmıştır[9]. CSE enziminin proparjilglisin ile inhibe edilmesiyle sıçan aort preparatında asetilkolin ile oluşan gevşeme yanıtlarının azaldığı bildirilmiştir[70]. Kobay mesane düz kası üzerinde yapılan bir çalışmada ise H_2S donörü GYY4137 kullanılmış ve H_2S'in nöronal Ca^{2+} influksuna bağlı olarak nöronal asetilkolin salımını artırdığı gösterilmiştir[71].

2.3.2. Endoteliyum

CSE enziminin vasküler endoteliyal hücrelerde varlığı ve endotel-bağımlı gevşemelere katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmada endoteliyum tabakasının uzaklaştırılması H_2S ile oluşan gevşemeleri azaltmıştır[26]. Ayrıca, sıçan aortunda endojen H_2S sentezinin inhibisyonunun endoteliyum bağımlı ve bağımsız gevşemeleri azalttığı gösterilmiştir[70]. Bu bulguların tersine izole fare torasik aortunda H_2S ile oluşan gevşemenin endoteliyumdan bağımsız olduğu bildirilmiştir[13]. Sıçan vasküler endoteliyumunda 3-MST ve CAT'ın varlığı gösterilmiş, H_2S sentezinden sorumlu enzimlerin 3-MST ve CAT olduğu bildirilmiştir[14]. H_2S'in endotel koruyucu etkisinin olduğu ve bu etkinin anjiyotensin II reseptörlerinin inhibisyonunu, oksitazların düzenlenmesinin azalması ve antioksitant enzimin düzenlenmesinin artmasını da içeren vasküler oksitatif stresi baskılamasına bağlı olduğu öne sürülmüştür[72].

2.3.3. Nitrik Oksit/Siklik Guanozin Monofosfat Yolağı

H_2S'in düşük derişimde NO'nun vazodilatör etkisini arttırdığı gösterilmiş ve düz kas tonusunun H_2S ile NO arasındaki etkileşimle regüle edilebileceği öne sürülmüştür[13]. Vasküler dokularda H_2S üretiminin NO tarafından artırıldığı gösterilmiştir[26]. Son yıllarda, mürin korpus kavernosum dokusunda CSE ve 3-MST aracılıklı endojen H_2S

kaynaklı gevşemenin artışı gözlenerek, H_2S'in NO yokluğunda dengeleyici etki gösterdiği bildirilmiştir[73].

H_2S'in NO donörlerinin vazorelaksan etkilerinde inhibisyona neden olduğu ve bu inhibisyonun NO ve H_2S arasındaki doğrudan bir tepkime sonucunda oluşan nitrozotiyole benzeyen bir molekül ile ilişkili olduğu bildirilmiştir[74]. Ayrıca, yüksek derişimlerde NaHS'ün eNOS'u inhibe ettiği rapor edilmiştir[75]. Son yıllarda sıçan serebral arterinde yapılan bir çalışmada NaHS aracılıklı vazokonstrüksiyonun endoteliyumun silinmesi ile veya NOS inhibitörü L-NAME varlığında arttığı gösterilmiştir[76].

2.3.4. Adenilil Siklaz/Siklik Adenozin Monofosfat Yolağı

H_2S'in fizyolojik derişimde serebral korteks, serebellum sinir hücreleri ve beyin hücrelerinde sAMP oluşumunu artırdığı gösterilmiştir[77]. NaHS'in gastrik asit sekresyonu artırıcı etkisinin adenil siklaz inhibitörü SQ22536 ile ortadan kalktığı, bu etkinin oluşmasında adenilil siklaz/sAMP yolağının etkinleşmesinin etkili olduğu gösterilmiştir[78]. Rat aortunda H_2S'in vazokonstrüktif etkilerine sAMP'nin rolünün araştırıldığı bir çalışmada, NaHS'in derişime bağımlı olarak β-adrenoseptör agonistlerinin ve adenilil siklaz etkinleştiricisinin meydana getirdiği gevşeme yanıtını ve sAMP oluşumunu inhibe ettiği belirlenmiştir. Bu dokuda H_2S'in vazokonstrüktif etkisinin adenilil siklaz/sAMP yolağı ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür[79]. H_2S'in normal başlangıç geriliminde serebral arterlerin vazokonstrüksiyonunu indüklediği, bu etkinin serebral vasküler düz kas hücrelerinde sAMP düzeyini düşüren adenilil siklaz inhibisyonunun aracılık ettiği gösterilmiştir[76].

2.3.5. Potasyum Kanalları

Sıçan aort ve mezenterik arter düz kaslarında, ekzojen H_2S'in K_{ATP} kanallarını aktive ederek, hücre membranında hiperpolarizasyona neden olduğu pacth-clamp yöntemi ile gösterilmiş ve in vivo H_2S uygulamasının neden olduğu hipotansif etkinin K_{ATP} kanal inhibitörü varlığında ortadan kalktığı bildirilmiştir[26]. Benzer şekilde sıçan mezenterik arterinde yapılan bir başka çalışmada da voltaj bağımlı potasyum kanal blokörlerinin NaHS gevşemelerini inhibe ettiği rapor edilmiş; H_2S'in düşük mikromolar derişimlerinin düz kas kalsiyum düzeyini düşürmesini takiben potasyum kanallarının

açılmasına neden olduğu gösterilmiştir[80]. GYY4137'nin yüksek kondüktanslı voltaj bağımlı ve kalsiyumla aktive olan potasyum kanallarını (BK kanalları) doğrudan inhibe ederek kobay mesane düz kasının spontan fazik ve sinirsel uyarımlı kasılmasını artırığı gösterilmiştir[71]. Kardiyovasküler sistemdeki H_2S ile oluşan gevşemelerin kısmen K_{ATP} kanalları, kısmen de küçük kondüktanslı kalsiyumla etkinleşen potasyum (SK_{Ca}^{2+}) ve orta-kondüktanslı kalsiyumla etkinleşen potasyum (IK_{Ca}^{2+}) kanallarının etkinleşmesi üzerinden gerçekleştiği belirlenmiştir[81].

2.3.6. Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EDHF)

Sıçan mezenterik arterinde yüksek derişimlerde ekzojen H_2S ile oluşan gevşemelerin araşidonik asid kaskadındaki sitokrom P450 metabolitleri ile ilişkili olduğu belirlenmiş ve H_2S'in EDHF salıverilmesine neden olduğu ileri sürülmüştür[82]. H_2S'in sıçan serebral arterlerindeki EDHF aracılıklı yanıtlarının K_{Ca}^{2+} kanallarını aktive etmesine bağlı ortaya çıktığı gösterilmiştir[83]. Sıçan mezenterik ve karotid arterde EDHF aracılıklı gevşemeler CSE inhibitörü proparjilglisinle ortadan kalkmıştır[84].

2.4. Penil Erektil Doku

Penis, lateralde bulunan iki korpus kavernosum dokusu ile ortada yer alan korpus spongiosum dokularından oluşmaktadır. Her bir erektil yapı tunica albuginea adlı özel bir bağ dokusu ile çevrilmiştir. Bir çift vasküler erektil doku olan korpus kavernoza, ramus iskiyopubica boyunca yerleşmişlerdir ve her biri kök penisi oluşturmaktadır[85]. Erektil doku geniş kavernozal sinusoidlerinden ibarettir. Bu sinusoidler normalde boş olup, arteriyal kan ereksiyon anında venöz damarların kısmen kapalı olması nedeniyle büyük bir basınç ve hızla sinusoidlere dolar[86]. Kavernozal ve arter düz kasının gevşemesi, kanın korpus kavernosumdaki sinusoidal boşluklara geçmesine ve intrakavernozal basıncın artmasına ve buna bağlı olarak da penil ereksiyonuna neden olur[87].

Penil ereksiyonu, kavernoz düz kas ve kan damarlarında sempatik, parasempatik ve nitrerjik sinirler arasındaki dengeye bağlı olarak gerçekleşmektedir[1]. İnsan penisinde erektil doku, korpora kavernoza ve düz kas demetini saran sinusoidal boşluğu çevreleyen endoteliyumdan oluşmaktadır. Korpus kavernosum düz kasının gevşemesi penil ereksiyonunun başlaması ve devam etmesi için önemlidir. Korpus kavernosum

düz kasının tonusu sinirler ve endoteliyum tarafından kontrol edilmektedir[88]. Bu düz kasın gevşemesine yol açan mekanizmanın bozulması impotense neden olur[89].

2.4.1. Penil Erektil Dokunun Periferik İnervasyonu

Korpus kavernosum düz kas tonusu adrenerjik, kolinerjik ve non-adrenerjik non-kolinerjik (NANK) olmak üzere en az üç nöroefektör sistem ve endoteliyumdan salıverilen gevşetici ve kasıcı faktörler tarafından kontrol edilmektedir[90].

2.4.1.1. Parasempatik Etkinleşme

Penil erektil dokunun düz kas tonusu, pelvik parasempatik sinirler tarafından kontrol edilmektedir. Pregangliyonik otonom sinir liflerinin tümünün ve postgangliyonik parasempatik sinirlerin çoğunun nörotransmiteri asetilkolin olup, insan korpus kavernosumunda kolinerjik sinirlerin[91], muskarinik reseptörlerin bulunduğu[92] ve bu sinirlerden asetilkolin sentez edilip salıverildiği gösterilmiştir[7]. Penil ereksiyonunda öncelikle, pelvik parasempatik sinir etkinleşmesi ile penil arteriyel dilatasyon meydana gelmektedir. asetilkolin kolinerjik sinir uçlarında kolin asetiltransferaz enzimi aracılığı ile kolin'in enzimatik asetilasyonuyla sentez edilir[93]. Asetil kaynağı, sinir ucundaki mitokondrilerde sentez edilen asetilkoenzim A'dır. Kolin sinir ucuna sinaps veya kavşak aralığında bulunan transportör molekülleri tarafından aktif transport yoluyla alınır. Sinirlerden salıverilen asetilkolinin etkisine korpus kavernosum düz kası, sinüzoitlerdeki endoteliyum ve damarlarda bulunan muskarinik tipteki kolinerjik reseptörler aracılık ederler. İnsan korpus kavernosum 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 endoteliyumda lokalize olduğu saptanmıştır[4]. asetilkolin ile oluşan gevşemelerin noradrenalin gibi kasıcı bir faktörün inhibisyonuna ve NO gibi gevşeme oluşturan bir faktörün salıverilmesine bağlı oluştuğu bilinmektedir. Adrenerjik sinir uçlarında inhibitör presinaptik muskarinik reseptörler yerleşim göstermektedir; parasempatik sinirlerin etkinleşmesi, adrenerjik sinir terminallerindeki muskarinik reseptörlerin stimülasyonuyla noradrenalin salıverilmesini inhibe ederek[94] ve ayrıca endoteliyumdan ve sinirlerden NO ve diğer vazodilatör peptitlerin salıverilmesini sağlayarak ereksiyon ve penil tümesansını oluşturur[87].

2.4.1.2. Sempatik Etkinleşme

Korpus kavernosum düz kası sempatik sinirler aracılığıyla kasılmaktadır[95]. Adrenerjik sinirlerden salıverilen noradrenalin penil damar ağındaki α-adrenerjik reseptörleri stimüle ederek damarların ve korpus kavernosumun kasılmasına neden olmaktadır[96]. İnsan korpus kavernosumunda α adrenerjik reseptörler daha fazla olmak üzere hem α hem de β adrenerjik reseptörler mevcuttur[97]. α adrenerjik reseptör alt tiplerinden α_1- ve α_2-adrenerjik reseptörler bu dokuda bulunmakta olup, α_1-adrenerjik reseptörlerin işlevsel olarak daha baskın olduğu gösterilmiştir[98]. Ayrıca insan korpus kavernosumunda α_{1A}, α_{1B} ve α_{1D} reseptör alt tiplerinin varlığı tespit edilmiş olup, noradrenalin ile oluşan kasılmalara bu üç reseptör alt tipinin aracılık ettiği ileri sürülmüştür[99]. Noradrenalin ile oluşan kasılma, L-tipi voltaj bağımlı veya reseptörle-kenetli Ca^{2+} kanalları ve Rho-kinaz, Trozin kinaz veya Protein Kinaz C (PKC) aracılıklı Ca^{2+} sensitivitesi ile ilişkilidir. Ayrıca, noradrenalin'in kontraktil etkisine presinaptik uçtaki α_2-reseptörlerin stimülasyonu sonucu vazodilatörlerin salınmasını inhibe etmesi de aracılık etmektedir[97]. İnsan korpus kavernosumunda presinaptik α_2-adrenerjik reseptörlerin stimülasyonu sonucu adrenerjik sinir ucundan noradrenalin sentezinin inhibe olduğu gösterilmiştir[100].

2.4.1.3. Non-Adrenerjik Non-Kolinerjik İnervasyon

2.4.1.3.1. Nitrik Oksit

NO, NOS enziminin katalizlediği bir tepkime ile L-argininden sentez edilmektedir[101]. NOS'un, yapısal nöronal NOS (nNOS veya NOSI), indüklenebilir NOS (iNOS veya NOSII) ve yapısal endoteliyal NOS (eNOS veya NOS III) olmak üzere üç farklı izoformu vardır[102]. nNOS ve eNOS Ca^{2+} ve kalmodulin bağımlı yapısal nitelikte izoformlardır[103]. 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[104]. iNOS indüklenmesinden birkaç saat sonra nanomolar derişimlerde proinflamatuvar NO salıverir ve bu uzun süreli devam edebilir.

NO, biyolojik etkilerini sGMP'ye bağımlı ve sGMP'den bağımsız mekanizmalar olmak üzere temel olarak iki mekanizma ile göstermektedir[104]. NO, düz kas

hücresindeki çözünür guanilat siklaz (çGS) enziminin hem molekülünde bulunan demir (Fe^{+2}) atomuna bağlanarak enzimin aktif hale gelmesini sağlar[105]. Aktifleşen enzim guanozin trifosfattan sGMP yapımını artırır; sGMP, tip I çözünür sGMP'ye bağımlı protein kinaz G'ye (PKG) bağlanarak hücre içi etkilerini oluşturur. Aktive olmuş PKG, hücre içi Ca^{2+} derişimini veya kontraktil sistemin Ca^{2+}'a duyarlılığını azaltarak düz kas gevşemesine neden olur[106].

NO'nun, erektil işlevin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir. Korpus kavernosumda nitrerjik sinirlerden ve sinusoidal endoteliyumdan salıverilen NO proerektil nörotransmiterdir ve kavernoz düz kasında gevşemeye neden olmaktadır[87]. NO, hem sinirsel hem de endoteliyuma bağımlı gevşemelere aracılık etmektedir[107]. NO erektil işlevindeki etkisini GS-sGMP sinyal transdükleme sistemini aktive ederek oluşturmaktadır[108].

2.4.1.3.2. Vazoaktif İntestinal Polipeptit (VIP)

İnsan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda, penil damar yapısında ve korpus kavernosum trabeküler düz kasında vazoaktif intestinal polipeptit (VIP) içeren sinirlerin bulunduğu ve NOS ve VIP'in birlikte lokalize olduğu gösterilmiştir[109]. Bu sinirlerin çoğunun kolinerjik sinirler için özgül marker olan veziküler asetilkolin transporter'ı içermesi nedeniyle NO ve VIP içeren sinirlerin kolinerjik olduğu düşünülmektedir[110,111]. VIP korpus kavernosum dokusundaki etkisini VIP reseptörleri (tip 1 ve 2) ve sAMP'ye bağımlı sinyal transdükleme kaskadı aracılığı ile oluşturmaktadır[112]. VIP'in peniste transmiter veya modülatör olarak rolü kesin olarak ortaya konulamamıştır.

2.4.1.3.3. Adenozin trifosfat (ATP)

ATP ve diğer purinlerin izole tavşan korpus kavernosumunda, hem bazal hem de fenilefrin ile uyarılmış 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[113]. Ancak, purinlerin kavernoz düz kasında elektriksel uyarı ile oluşan yanıtları etkilememesi bu maddelerin, nörotransmiter olarak davranmadıklarını, yalnızca ereksiyonun modülasyonunda rol oynayabileceklerini göstermektedir[114]. Adenozin'in penil

ereksiyonunda önemli nöromodülatör rolü olduğu ileri sürülmüştür[115]. Ancak, ATP'nin ereksiyonun fizyolojik mekanizmasındaki rolü henüz tamamen aydınlatılamamıştır.

2.4.1.3.4. Endotelin (ET)

İnsan korpus kavernosum dokusunda endotelinler (ET), endoteliyum tabakasında yoğun olarak bulunurken, düz kasta daha az tespit edilmiştir[116]. İnsan korpus kavernosum düz kasının membranında ET_A ve ET_B reseptörleri[87], sıçan korpus kavernosumunda ise yalnızca ET_A reseptörleri tespit edilmiştir[117]. Korpus kavernosum dokusundaki ET_B reseptörlerinin rolü aydınlatılamamıştır. ET_B reseptör etkinleşmesinin NO-aracılığıyla penil vasküler tonusunu azalttığı ileri sürülmüştür[118].

ET'ler güçlü vazokonstriktör peptitler olup korpus kavernosumdaki trabeküler düz kaslarda yavaş gelişen fakat uzun süren kasılmaya neden olmaktadır. Bu etkilerinin, transmembranal Ca^{2+} girişi (voltaja bağımlı veya reseptörle-kenetli Ca^{2+} kanalları), İnozitol trifosfat (IP_3)'a duyarlı intraselüler Ca^{2+} depolarından Ca^{2+} salıverilmesi ve RhoA/Rho-kinaz yolağı aracılığıyla Ca^{2+} sensitizasyonu olmak üzere çeşitli mekanizmalar ile gerçekleştirdikleri ileri sürülmüştür[119].

In vitro çalışmalarda ET'lerin ereksiyonun fizyoloji ve fizyopatolojisinde rolü olabileceğinin ileri sürülmesine rağmen, bu peptitlerin ereksiyondaki rolü henüz aydınlatılamamıştır.

2.4.1.3.5. RhoA/Rho-kinaz Yolağı

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, RhoA/Rho-kinaz yolağının kavernozal düz kas tonusunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir[114]. İnsan[115], tavşan[121], sıçan[122] ve fare[123] korpus kavernosum dokularında RhoA ve Rho-kinaz eksprese edilmiştir. Yapılan çalışmalarda, RhoA/Rho-kinaz yolağının seçici Rho-kinaz inhibitörleri ile antagonize edilmesi korpus kavernosum dokusunun gevşemesine yol açmıştır[121,124]. Birçok çalışmada, NO'nun, RhoA/Rho-kinaz aktivitesini inhibe ettiği rapor edilmiştir[125,126,127].

Diyabet, yaşlılık ve hipertansiyon gibi erektil işlev bozukluğunun beraberinde görülen hastalıklarda korpus kavernosumdaki anormal kontraktilitenin artmış olan RhoA/Rho-kinaz ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür[128,129,130]. Erektil işlev

bozukluğu tedavisinde yeni yöntemlerin geliştirilmesi için Rho/Rho-kinaz yolağının potansiyel bir hedef olabileceği düşünülmektedir[131].

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

Deneylerde Ç.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (DETAUM)'dan sağlanan 20-25 gram ağırlığında Swiss-albino erkek fareler kullanıldı. Deneyde kullanılacak fareler pleksiglas kafeslerde oda sıcaklığında (20±0.5 ºC) ve ışık kontrollü (12 saat aydınlık 12 saat karanlık) ortamda muhafaza edildi. Çalışma Ç.Ü. Tıbbi Bilimler Deneysel araştırma ve Uygulama Merkezi Etik Kurulundan alınan izin çerçevesinde yapıldı.

3.1. In vitro Çalışmalar

Servikal dislokasyon ile öldürülen farelerin penisleri çıkarılarak Krebs solüsyonu (mM olarak; NaCl 119, KCl 4.6, $CaCl_2$ 1.5, $MgCl_2$ 1.2, $NaHCO_3$ 15, $NaPO_4$ 1.2, glukoz 11) içeren Petri kabına aktarıldı. Glans penis ve üretra çıkarılıp, iki korpus kavernosum arasındaki fibröz septum kesilerek her bir korpus kavernosum stribi tunika albuginea intakt bırakılmak üzere bağlı bulunan dokulardan ayrıldı ve iki ayrı korpus kavernosum preparatı elde edildi. İzole edilen korpus kavernosum dokuları 200 mg bazal tonus altında, 37^oC sıcaklıkta, %95 oksijen ve %5 karbondioksit gazı ile havalandırılan Krebs solüsyonunda ilk 30 dakika 10'ar dakikalık aralıklarla yıkanarak 60 dakikalık denge periyodunda bekletildi. Tüm deneylerin başlangıcında bu işlem uygulandı. 60 dakikalık inkübasyon sonunda dokulara deneysel protokol uygulandı. Doku yanıtları izotonik güç dönüştürücü (Ugo Basile, 7006) ve kaydedici (Ugo Basile Gemini, 7070) ile kaydedildi.

3.1.1. Korpus Kavernosum Dokusunda Fenilefrin Kasılmaları Üzerinde L-Sisteinin Gevşetici Etkileri

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-3} M derişimde L-sistein ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve Krebs solüsyonunda 30 dakikalık ara inkübasyondan sonra ikinci seri gevşemeleri elde etmek için fenilefrin kasılmaları üzerine L-sistein uygulaması yapıldı. Doku tekrar yıkanarak 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon

sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.2. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine CBS ve CSE Enzim İnhibitörlerinin Etkileri

3.1.2.1. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine AOAA'nın Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-3} M derişimde L-sistein ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici CBS enzim inhibitörü AOAA (10^{-3} M) içeren Krebs solüsyonu ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak L-sistein yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.2.2. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine PAG'ın Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-3} M derişimde L-sistein ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici CSE enzim inhibitörü PAG (10^{-2} M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak L-sistein yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.2.3. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine AOAA ve PAG Kombinasyonunun Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-3} M derişimde L-sistein ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika AOAA (10^{-3} M) ve PAG (10^{-2} M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak L-sistein yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.3. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Muskarinik Reseptör Blokörlerinin Etkileri

3.1.3.1. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici M_1 Reseptör Blokörü Pirenzepinin Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-3} M derişimde L-sistein ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici M_1 reseptör blokörü pirenzepin (10^{-6} M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak L-sistein yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.3.2. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici M_2 Reseptör Blokörü AF-DX 116'nın Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-3} M derişimde L-sistein ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha

sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici M_2 reseptör blokörü AF-DX 116 (10^{-6} M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak L-sistein yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.3.3. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici M_3 Reseptör Blokörü 4-DAMP'ın Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-3} M derişimde L-sistein ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici M_3 reseptör blokörü 4-DAMP (10^{-7} M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak L-sistein yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.3.4. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici Olmayan Muskarinik Reseptör Blokörü Atropinin Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-3} M derişimde L-sistein ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici olmayan muskarinik reseptör blokörü atropin ($5x10^{-5}$ M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak L-sistein yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.4. Korpus Kavernosum Dokusunda Fenilefrin Kasılmaları Üzerinde Kümülatif Ekzojen H_2S'in Gevşetici Etkileri

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-6}-10^{-3} M konsantrasyonlarda kümülatif ekzojen H_2S ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve Krebs solüsyonunda 30 dakikalık ara inkübasyondan sonra ikinci seri gevşemeleri elde etmek için fenilefrin kasılmaları üzerine ekzojen H_2S uygulaması yapıldı. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.5. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Muskarinik Reseptör Blokörlerinin Etkileri

3.1.5.1. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici M_1 Reseptör Blokörü Pirenzepinin Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-6}-10^{-3} M konsantrasyonlarda kümülatif ekzojen H_2S ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici M_1 reseptör blokörü pirenzepin (10^{-6} M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak H_2S yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.5.2. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici M_2 Reseptör Blokörü AF-DX 116'nın Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-6}-10^{-3} M konsantrasyonlarda kümülatif ekzojen H_2S ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici M_2 reseptör blokörü AF-DX 116 (10^{-6} M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak H_2S yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.5.3. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici M_3 Reseptör Blokörü 4-DAMP'ın Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-6}-10^{-3} M konsantrasyonlarda kümülatif ekzojen H_2S ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici M_3 reseptör blokörü 4-DAMP (10^{-7} M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak H_2S yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.5.4. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici Olmayan Muskarinik Reseptör Blokörü Atropinin Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-6}-10^{-3} M konsantrasyonlarda kümülatif ekzojen H_2S ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici olmayan muskarinik reseptör blokörü atropin ($5x10^{-5}$ M) ile inkübe edildi ve

inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak H_2S yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.6. Korpus Kavernosum Dokusunda Fenilefrin Kasılmaları Üzerinde Asetilkolinin Gevşetici Etkileri

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-6} M derişimde asetilkolin ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika Krebs solüsyonunda inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak asetilkolin yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.7. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Muskarinik Reseptör Blokörlerinin Etkileri

3.1.7.1. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici M_1 Reseptör Blokörü Pirenzepinin Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-6} M derişimde asetilkolin ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici M_1 reseptör blokörü pirenzepin (10^{-6} M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak asetilkolin yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve Krebs solüsyonunda 30 dakikalık ara inkübasyondan sonra ikinci seri gevşemeleri elde etmek için fenilefrin kasılmaları üzerine asetilkolin uygulaması yapıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon

sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.7.2. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici M_2 Reseptör Blokörü AF-DX 116'nın Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-6} M derişimde asetilkolin ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici M_2 reseptör blokörü AF-DX 116 (10^{-6} M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak asetilkolin yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.7.3. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici M_3 Reseptör Blokörü 4-DAMP'ın Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-6} M derişimde asetilkolin ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici M_3 reseptör blokörü 4-DAMP (10^{-7} M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak asetilkolin yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.7.4. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici Olmayan Muskarinik Reseptör Blokörü Atropinin Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-6} M derişimde asetilkolin ile ilk seri gevşemeler elde edildi.

Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici M_3 reseptör blokörü atropin ($5x10^{-5}$ M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak asetilkolin yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.8. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine L-Sistein Sentez Enzimlerinin Etkileri

3.1.8.1. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine AOAA'nın Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-6} M derişimde asetilkolin ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici CBS enzim inhibitörü AOAA (10^{-3} M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak asetilkolin yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.8.2. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine PAG'ın Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-6} M derişimde asetilkolin ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika seçici CBS enzim inhibitörü PAG (10^{-2} M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak asetilkolin yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.1.8.3. Asetilkolin Gevşemeleri AOAA ve PAG Kombinasyonunun Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları 60 dakikalık inkübasyon sonunda $5x10^{-6}$ M derişimde fenilefrin ile kastırıldı. Maksimum kasılma ve plato yanıtı elde edildikten sonra 10^{-6} M derişimde asetilkolin ile ilk seri gevşemeler elde edildi. Daha sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakika AOAA (10^{-3} M) ve PAG (10^{-2} M) ile inkübe edildi ve inkübasyon sonunda doku tekrar fenilefrin ile kastırılarak asetilkolin yanıtları kaydedildi. İkinci seri yanıtlar elde edildikten sonra doku tekrar yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İstatistiksel olarak % gevşemeyi hesaplayabilmek için, dokular inkübasyon sonrasında fenilefrin ile kastırıldı ($5x10^{-6}$ M) ve papaverin (10^{-4} M) uygulaması ile gevşeme yanıtı elde edildi.

3.2. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

Asetilkolin, NaHS ve L-sistein ile oluşturulan birinci ve ikinci seri gevşemeler, papaverin gevşemelerinin yüzdesi olarak değerlendirildi. Papaverin gevşemesi 100 olarak kabul edildi. Birinci ve ikinci serideki gevşemeler papaverine göre oranlandı. Papaverin ile oluşan gevşeme değeri (A) ve diğer gevşetici ajanlar ile elde edilen gevşeme değeri ise (B) gösterildi. Milimetre olarak ölçülen bu değerlere aşağıdaki formül uygulandı.

% gevşeme: Bx100/A

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

3.3. Kullanılan İlaçlar ve Çözeltilerin Hazırlanması

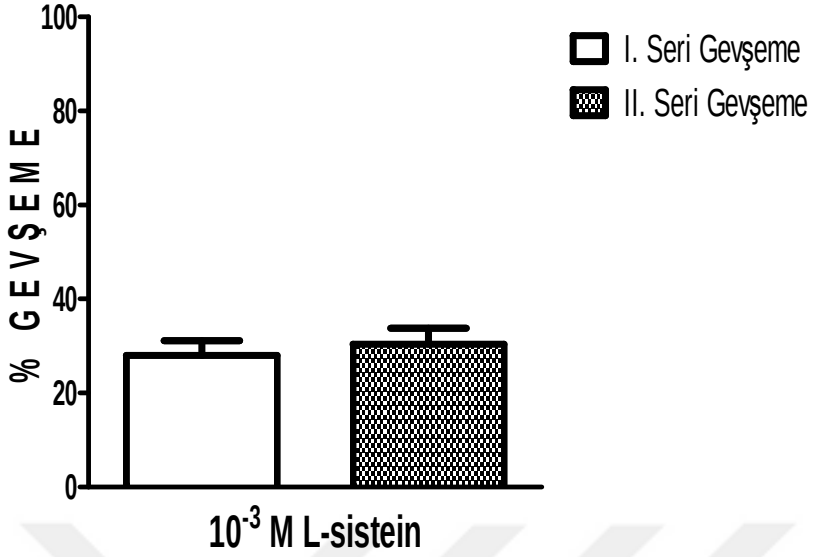
Fenilefrin, asetilkolin, L-sistein, NaHS, atropin, pirenzepin, AF-DX 116, 4-DAMP, AOAA, PAG ve papaverin SIGMA firmasından elde edildi.

Sodyum hidrojen sülfür buzlu ortamda hazırlandı ve -4C^0'de muhafaza edildi. AF-DX 116 ve 4-DAMP stok solüsyonları dimetil sülfoksit (DMSO) ve diğer tüm maddeleri solüsyonları distile su içerisinde hazırlandı. L-sistein, sodyum hidrojen sülfür, amino-oksiasetik asit, AF-DX 116, atropin, fenilefrin, papaverin, pirenzepin, proparjil glisin, 4-DAMP ve Krebs solüsyonu günlük olarak hazırlandı. DMSO'nun kasılma ve gevşeme yanıtları üzerine etkisi gözlenmedi.

4. BULGULAR

4.1. Korpus Kavernosum Dokusunda Fenilefrin Kasılmaları Üzerinde L-Sisteinin Gevşetici Etkileri

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara tek doz L-sistein (10^{-3} M) uygulanması ile gevşeme meydana geldi. Dokular Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyondan sonra ikinci seri L-sistein (10^{-3} M) gevşemesi elde edildi. Birinci ve ikinci olarak elde edilen tek doz L-sistein (10^{-3} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değerleri sırası ile 28.01±3.1 ve 30.35±3.5 idi. Birinci seri ve ikinci seri gevşemeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Şekil 6; $P > 0.05$; n=9).

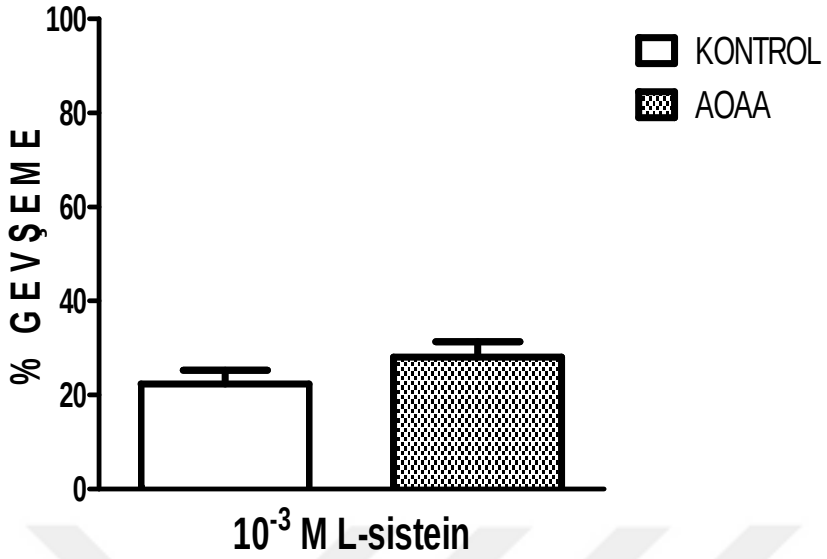


Şekil 6. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde L-sitein (10^{-3} M) gevşeme yanıtarının bar grafiği. Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=9).

4.2. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine CBS ve CSE Enzim İnhibitörlerinin Etkileri

4.2.1. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine AOAA'nın Etkisi

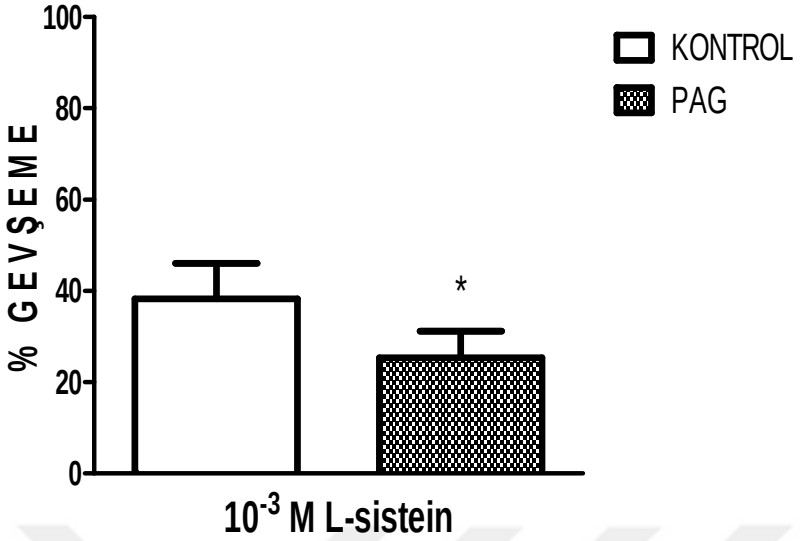
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara L-sistein (10^{-3} M) uygulaması ile gevşeme meydana geldi. Dokular CBS enzim inhibitörü AOAA (10^{-3} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri L-sistein (10^{-3} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen L-sistein (10^{-3} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 22.34±2.9 iken AOAA ortamında inkübasyondan sonra L-sistein (10^{-3} M) ile elde edilen yüzde değeri 28.16±3.2 idi. Birinci ve ikinci seri gevşemeler arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 7; $P > 0.05$; n=6).



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

4.2.2. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine PAG'ın Etkisi

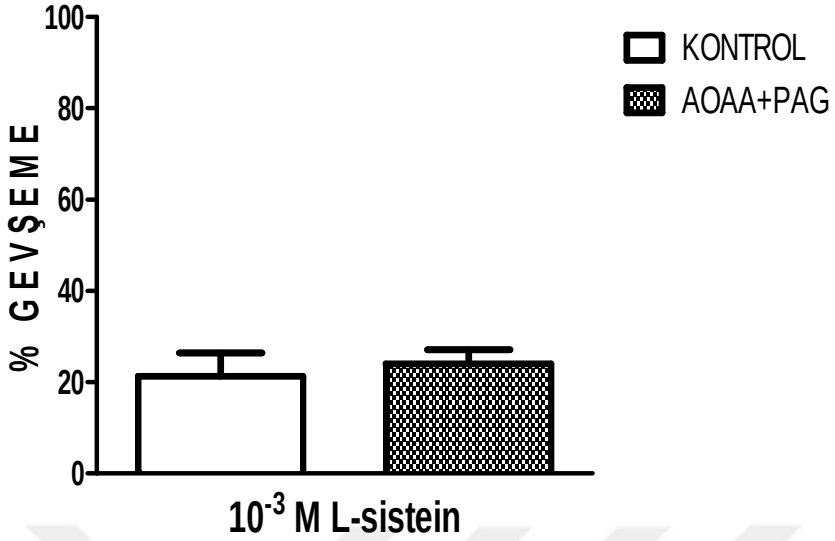
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara L-sistein (10^{-3} M) uygulaması ile gevşeme meydana geldi. Dokular CSE enzim inhibitörü PAG (10^{-2} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri L-sistein (10^{-3} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen L-sistein (10^{-3} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 38.27±7.8 iken PAG ortamında inkübasyondan sonra L-sistein (10^{-3} M) ile elde edilen yüzde değeri 25.42±5.8 idi. PAG varlığında, ikinci seri gevşemelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi (Şekil 8; $P < 0.05$; n=6)



Şekil 8. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde L-sistein (10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine PAG (10^{-2} M)' nın etkisinin bar grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.2.3. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine AOAA ve PAG Kombinasyonunun Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara L-sistein (10^{-3} M) uygulaması ile gevşeme meydana geldi. Dokular CBS ve CSE enzim inhibitörleri PAG (10^{-2} M) ve AOAA (10^{-3}) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri L-sistein (10^{-3} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen L-sistein (10^{-3} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 21.28±5.2 iken AOAA ve PAG ortamında inkübasyondan sonra L-sistein (10^{-3} M) ile elde edilen yüzde değeri 24.03±3.1 idi. AOAA ve PAG varlığında, ikinci seri gevşemelerde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 9; P >0.05; n=6)

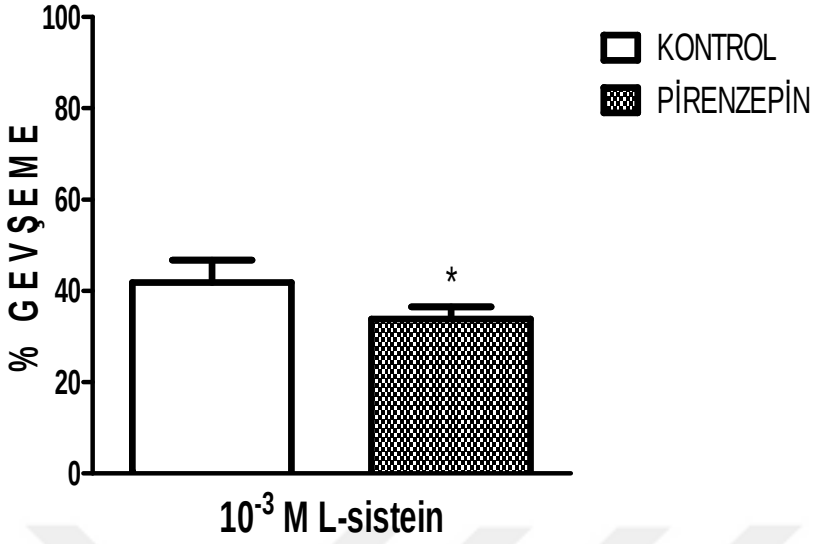


Şekil 9. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde L-sistein (10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine AOAA(10^{-3} M) ve PAG (10^{-2} M) kombinasyonunun etkisinin bar grafiği. Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.3. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Muskarinik Reseptör Blokörlerinin Etkileri

4.3.1. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici M_1 Reseptör Blokörü Pirenzepinin Etkisi

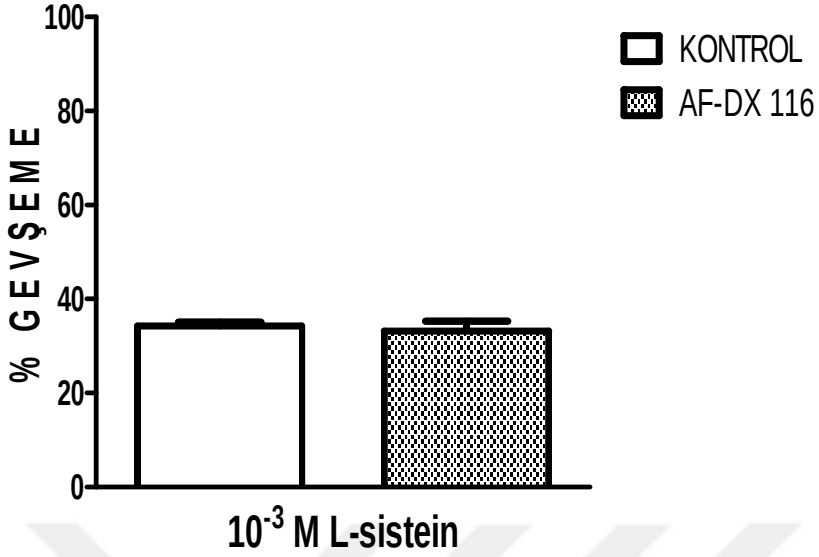
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuların fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırıldıktan sonra L-sistein (10^{-3} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme yanıtı elde edildi. Dokular M_1 reseptör blokörü pirenzepin (10^{-6} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri L-sistein (10^{-3} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen L-sistein (10^{-3} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 41.86±4.9 iken pirenzepin ortamında inkübasyondan sonra L-sistein (10^{-3} M) ile elde edilen yanıtının yüzde değeri 33.85±2.7 idi. Pirenzepin varlığında, ikinci seri gevşemelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi (Şekil 18; $P<0.05$; n=6).



Şekil 10. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde tek doz L-sistein (10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine pirenzepin (10^{-6} M)'in etkisinin bar grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.3.2. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici M_2 Reseptör Blokörü AF-DX 116'nın Etkisi

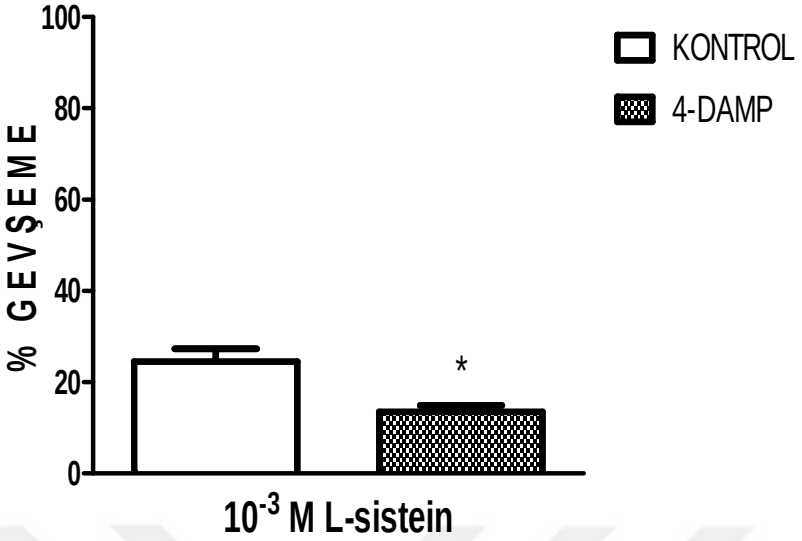
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırıldıktan sonra L-sistein (10^{-3} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme yanıtıı elde edildi. Dokular M_2 reseptör blokörü AF-DX 116 (10^{-6} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri L-sistein (10^{-3} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen L-sistein (10^{-3} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 34.27±0.8 iken AF-DX 116 ortamında inkübasyondan sonra L-sistein (10^{-3} M) ile elde edilen yüzde değeri 33.17± 2.2 idi. Birinci ve ikinci seri gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 11; P >0.05; n=6).



Şekil 11. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde L-sistein (10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine AF-DX 116 (10^{-6} M)'nın etkisinin bar grafiği. Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.3.3. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici M_3 Reseptör Blokörü 4-DAMP'ın Etkisi

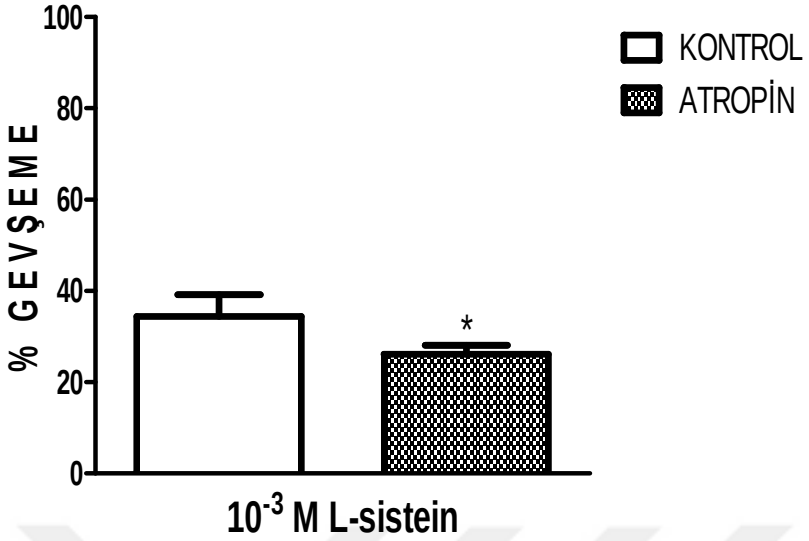
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara L-sistein (10^{-3} M) uygulaması ile gevşeme meydana geldi. Dokular M_3 reseptör blokörü 4-DAMP (10^{-7} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri L-sistein (10^{-3} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen L-sistein (10^{-3} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 24.56±2.8 iken 4-DAMP ortamında inkübasyondan sonra asetilkolin (10^{-6} M) ile elde edilen yüzde değeri 13.52±1.5 idi. 4-DAMP varlığında, ikinci seri gevşemelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi (Şekil 12; P <0.05; n=6)



Şekil 12. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde L-sistein (10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine 4-DAMP (10^{-7} M)'nın etkisinin bar grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.3.4. L-Sistein Gevşemeleri Üzerine Seçici Olmayan Muskarinik Reseptör Blokörü Atropinin Etkisi

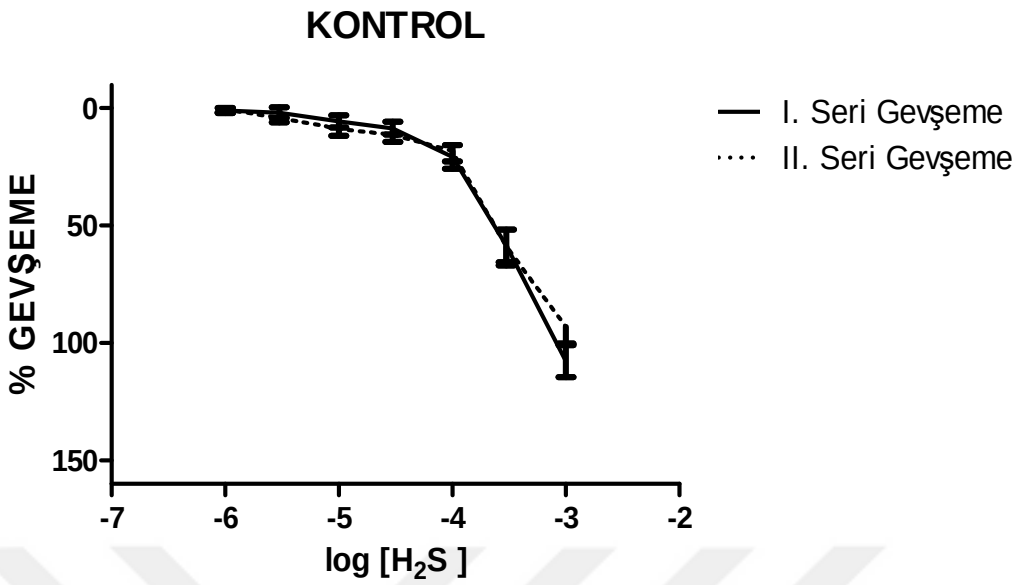
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara L-sistein (10^{-3} M) uygulaması ile gevşeme meydana geldi. Dokular seçici olmayan muskarinik reseptör blokörü atropin ($5x10^{-5}$ M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri L-sistein (10^{-3} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen L-sistein (10^{-3} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 34.43±4.8 iken atropin ortamında inkübasyondan sonra L-sistein (10^{-3} M) ile elde edilen yüzde değeri 26.15±2.0 idi. Atropin varlığında, ikinci seri gevşemelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi (Şekil 21; P <0.05; n=6)



Şekil 13. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde L-sistein (10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine atropin ($5x10^{-5}$ M)' in etkisinin bar grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P<0.05$). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.4. Korpus Kavernosum Dokusunda Meydana Getirilen Kasılmalar Üzerinde Kümülatif Ekzojen H_2S'in Gevşetici Etkileri

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme yanıtları elde edildi. Dokular Krebs solüsyonu ile yıkanarak banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) uygulaması yapıldı Birinci seri kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6}-10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 1.03±1.1, 1.98±2.21, 5.65±2.5, 8.58±2.8, 20.82±5.1, 58.65±7.0, 107.80±6.8 olup, pD_2 değeri 3.18±0.12 iken ikinci seri kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 0.61±1.2, 4.18±1.9, 8.9±2.8, 11.41±3.0, 18.36±4.3, 58.89±8.13, 93.27±7.0 olup, pD_2 değeri 3.30±0.14 idi. NaHS gevşemelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 14; $P>0.05$; n=11).

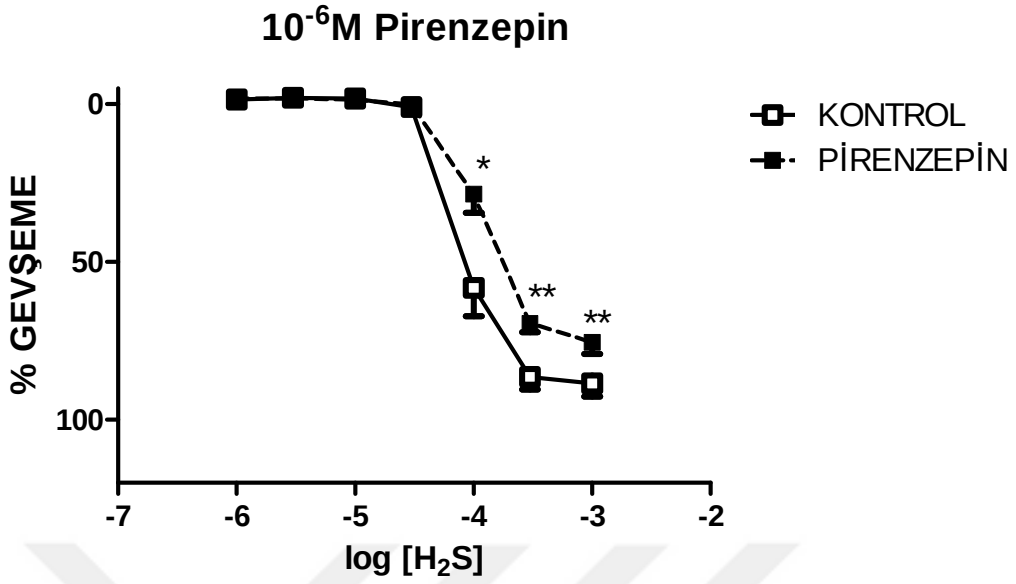


Şekil 14. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif ekzojen H_2S'in (10^{-6}-10^{-3} M) I. ve II. seri gevşeme yanıtlarının grafiği. Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=11).

4.5. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Muskarinik Reseptör Blokörlerinin Etkileri

4.5.1. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici M_1 Reseptör Blokörü Pirenzepinin Etkisi

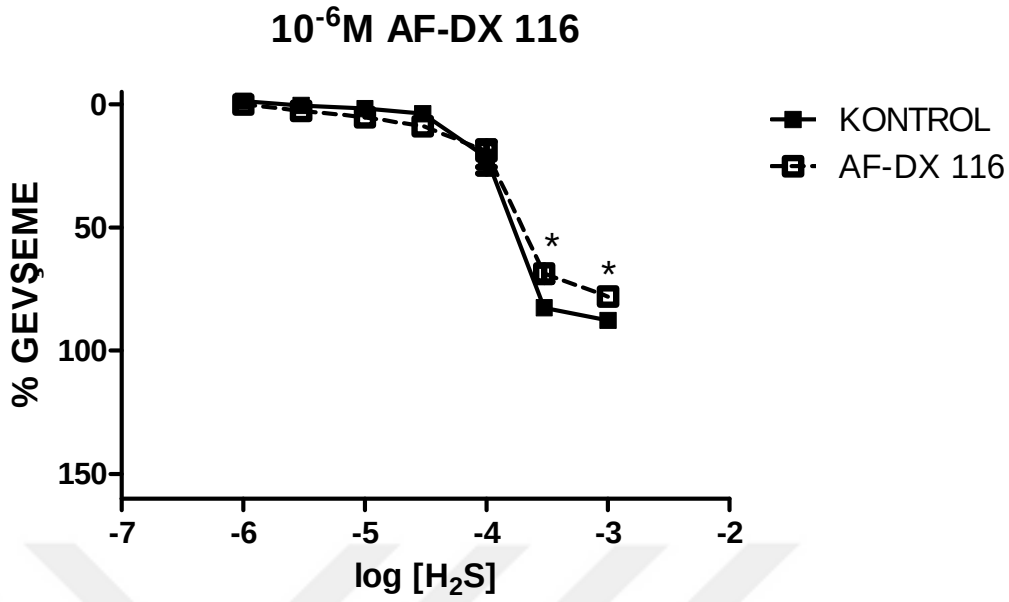
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme yanıtları elde edildi. Dokular seçici M_1 reseptör blokörü pirenzepin (10^{-6} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile -1.41±0.9, -1.92±1.1, -1.75±1.1, 0.99±1.5, 58.25±9.0, 86.55±4, 88.55±4.2 olup pD_2 değeri 4.01±0.10 iken pirenzepin ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile -1.63±1, -1.75±1, -1.27±1.5, 0.28±2.1, 28.60±5.9, 69.58±2.8, 75.54±3.7 olup, pD_2 değeri 3.78±0.09 idi. Pirenzepin, düşük konsantrasyonlardaki ekzojen H_2S (10^{-6}-$3x10^{-5}$ M) gevşemelerini etkilemezken yüksek konsantrasyonlardaki ekzojen H_2S (10^{-4}-10^{-3} M) gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden oldu (Şekil 15; $P < 0.05$; n=6).



Şekil 15. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif ekzojen H_2S'in (10^{-6}-10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine pirenzepin (10^{-6} M)'in etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.5.2. Ekzojen H_2S gevşemeleri üzerine Seçici M_2 Reseptör Blokörü AF-DX 116'nın etkisi

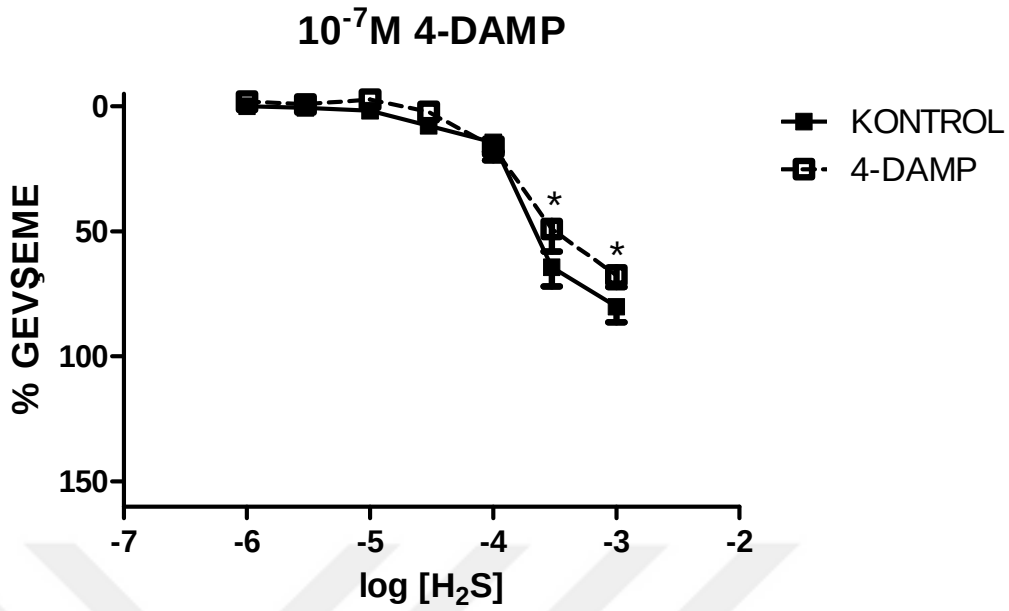
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme yanıtları elde edildi. Dokular seçici M_2 reseptör blokörü AF-DX 116 (10^{-6} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile -1.18±0.8, 0.57±2.2, 1.78±2.8, 3.87±3.1, 21.59±6.4, 82.60±2.3, 87.73±2.2 olup, pD_2 değeri 3.67±0.11 iken AF-DX 116 ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 0.12±0.8, 2.72±1.9, 5.45± 2.4, 8.93±2.6, 19.19±6.4, 68.77±3.4, 78.12±2.3 olup, pD_2 değeri 3.63±0.11 idi. AF-DX 116, düşük konsantrasyonlardaki ekzojen H_2S (10^{-6}-10^{-4} M) gevşemelerini etkilemezken yüksek konsantrasyonlardaki ekzojen H_2S ($3x10^{-4}$-10^{-3} M) gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden oldu (Şekil 16; $P < 0.05$; n=6).



Şekil 16. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif ekzojen H_2S'in (10^{-6}-10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine AF-DX 116 (10^{-6} M)'nın etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.5.3. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici M_3 Reseptör Blokörü 4-DAMP' ın Etkisi

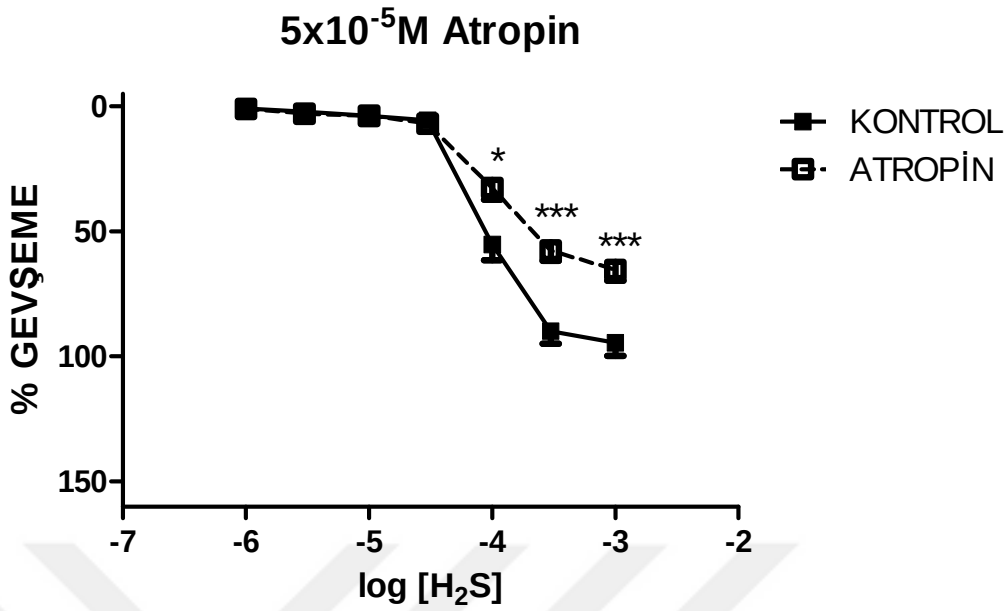
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme yanıtları elde edildi. Dokular seçici M_3 reseptör blokörü 4-DAMP (10^{-7} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile -0.01±1, 0.70±1.5, 1.83±2.5, 7.84±2.8, 14.47±3.7, 64.31±7.8, 80.19±6.2 olup, pD_2 değeri 3.52±0.13 iken 4-DAMP ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile -1.79±1.6, -0.70±1.7, -2.65±3.0, 2.40±1.62, 16.25±5.41, 49.05±9.2, 67.72±4.6 olup, pD_2 değeri 3.54±0.15 idi. 4-DAMP, düşük konsantrasyonlardaki ekzojen H_2S (10^{-6}-10^{-4} M) gevşemelerini etkilemezken yüksek konsantrasyonlardaki ekzojen H_2S ($3x10^{-4}$-10^{-3} M) gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden oldu (Şekil 17; $P< 0.05$; n=6).



Şekil 17. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif ekzojen H_2S'in (10^{-6}-10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine 4-DAMP (10^{-7} M)'in etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.5.4. Ekzojen H_2S Gevşemeleri Üzerine Seçici Olmayan Muskarinik Reseptör Blokörü Atropin' in Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırıldıktan sonra kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme yanıtları elde edildi. Dokular seçici olmayan muskarinik reseptör blokörü atropin ($5x10^{-5}$ M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) uygulaması yapıldı. İlaçsız ortamda kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) gevşemelerinin yüzde değerleri sırası ile 0.94±1.1, 2.25±1.6, 3.85±2.3, 5.72±2.8, 55.24±6.4, 89.88±5.1, 94.61±5.2 olup, pD_2 değeri 3.95±0.10 iken, atropin ortamında inkübasyondan sonra elde edilen kümülatif ekzojen H_2S (10^{-6} -10^{-3} M) yüzde değerleri sırası ile 1.06±1, 3.08±1.7, 3.81±1.8, 7.04±2.7, 32.80±4.6, 57.74±4.2, 65.44±4.3 olup, pD_2 değeri 3.87±0.10 idi. Atropin, düşük konsantrasyonlardaki ekzojen H_2S (10^{-6}-$3x10^{-5}$ M) gevşemelerini etkilemezken yüksek konsantrasyonlardaki ekzojen H_2S (10^{-4}-10^{-3} M) gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden oldu (Şekil 18; $P < 0.05$; n=6).



Şekil 18. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde kümülatif ekzojen H_2S'in (10^{-6}-10^{-3} M) gevşeme yanıtları üzerine atropin ($5x10^{-5}$ M)'in etkisinin grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.6. Korpus Kavernosum Dokusunda Fenilefrin Kasılmaları Üzerinde Asetilkolinin Gevşetici Etkileri

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda özgül α_1-adrenerjik reseptör agonisti fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara tek doz asetilkolin (10^{-6} M) uygulanması ile gevşeme meydana geldi. Doku Krebs solüsyonu ile yıkandı ve 30 dakikalık inkübasyondan sonra ikinci seri asetilkolin (10^{-6} M) gevşemesi elde edildi. Birinci ve ikinci olarak elde edilen tek doz asetilkolin (10^{-6} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değerleri sırası ile 28.95±4.9 ve 30.87±3.8 idi. Birinci seri ve ikinci seri gevşemeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Şekil 19; $P > 0.05$; n=6).

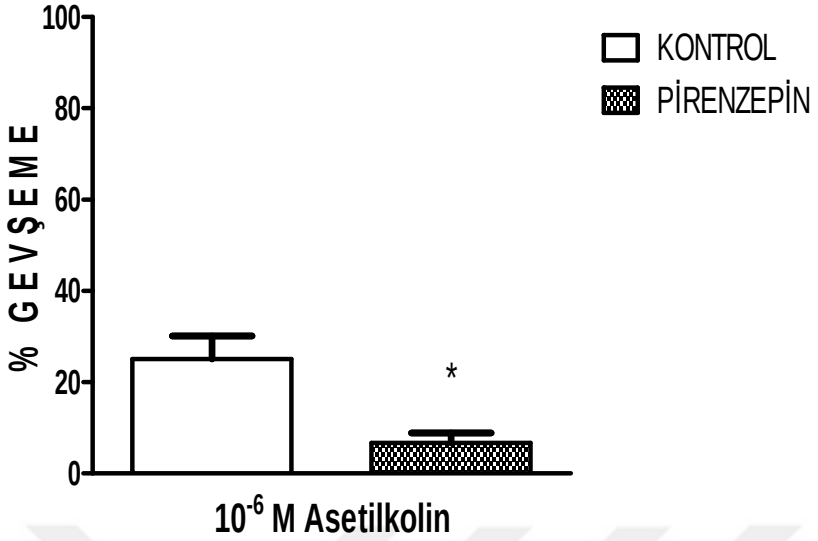


Şekil 19. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde tek doz asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtarının bar grafiği. Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.7. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Muskarinik Reseptör Blokörlerinin Etkileri

4.7.1. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici M_1 Reseptör Blokörü Pirenzepinin Etkisi

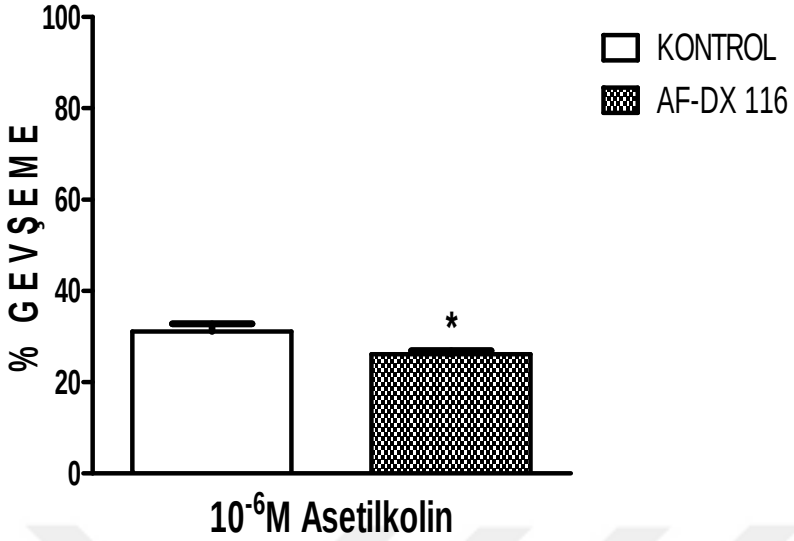
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuların fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırıldıktan sonra asetilkolin (10^{-6} M) uygulaması ile birinci seri gevşeme yanıtı elde edildi. Dokular M_1 reseptör blokörü pirenzepin (10^{-6} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri asetilkolin (10^{-6} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen asetilkolin (10^{-6} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 25.11±5.0 iken pirenzepin ortamında inkübasyondan sonra asetilkolin (10^{-6} M) ile elde edilen yanıtının yüzde değeri 6.697± 2.2 idi. Pirenzepin varlığında, ikinci seri gevşemelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi (Şekil 20; $P<0.05$; n=6).



Şekil 20. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde tek doz asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtları üzerine pirenzepin (10^{-6} M)'in etkisinin bar grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P<0.05$). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.7.2. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici M_2 Reseptör Blokörü AF-DX 116'nın Etkisi

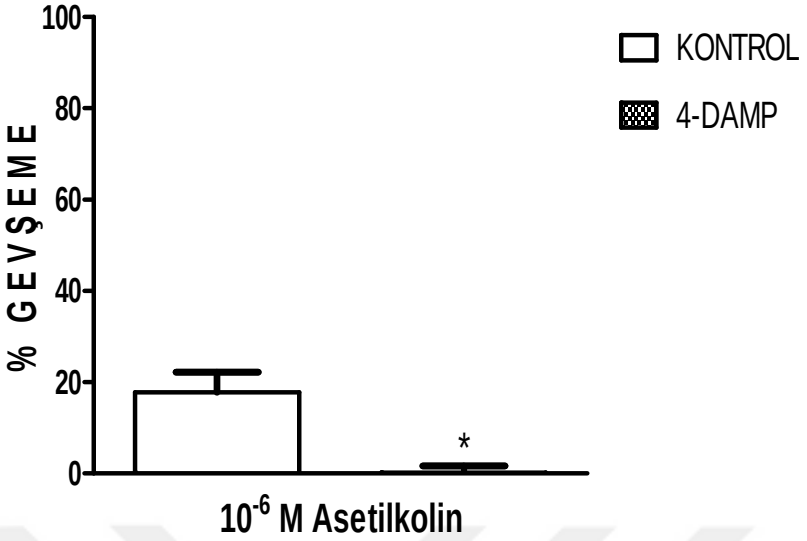
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokuları fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) ile kastırıldıktan sonra asetilkolin (10^{-6} M) uygulanması ile birinci seri gevşeme yanıtı elde edildi. Dokular M_2 reseptör blokörü AF-DX 116 (10^{-6} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri asetilkolin (10^{-6} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen asetilkolin (10^{-6} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 31.10±1.7 iken AF-DX 116 ortamında inkübasyondan sonra asetilkolin (10^{-6} M) ile elde edilen yüzde değeri 26.14±0.8 idi. AF-DX 116 varlığında, ikinci seri gevşemelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi (Şekil 21; $P<0.05$; n=6).



Şekil 21. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtları üzerine AF-DX 116 (10^{-6} M)'nın etkisinin bar grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.7.3. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici M_3 Reseptör Blokörü 4-DAMP' ın Etkisi

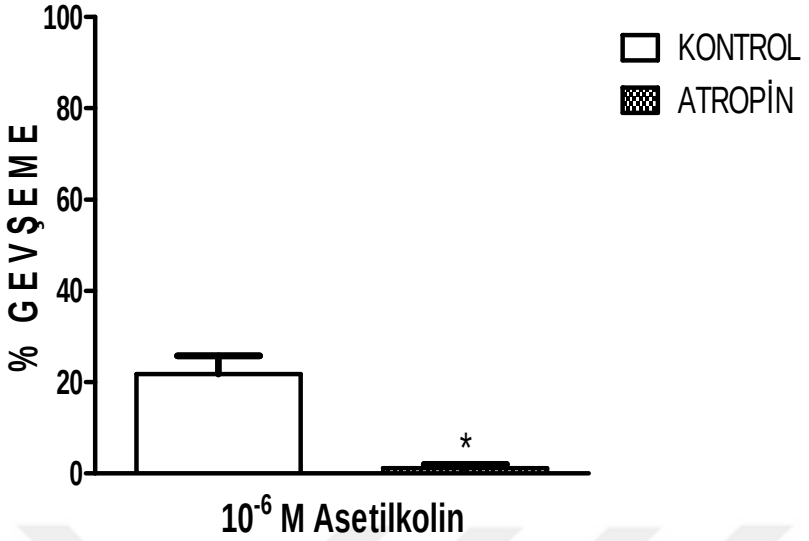
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara asetilkolin (10^{-6} M) uygulaması ile gevşeme meydana geldi. Dokular M_3 reseptör blokörü 4-DAMP (10^{-7} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri asetilkolin (10^{-6} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen asetilkolin (10^{-6} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 17.83±4.4 iken 4-DAMP ortamında inkübasyondan sonra asetilkolin (10^{-6} M) ile elde edilen yüzde değeri 0.24±1.4 idi. 4-DAMP varlığında, ikinci seri gevşemelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi (Şekil 22; P <0.05; n=6)



Şekil 22. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtları üzerine 4-DAMP (10^{-7} M)'nın etkisinin bar grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P<0.05$). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.7.4. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine Seçici Olmayan Muskarinik Reseptör Blokörü Atropinin Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara asetilkolin (10^{-6} M) uygulaması ile gevşeme meydana geldi. Dokular seçici olmayan muskarinik reseptör blokörü atropin ($5x10^{-5}$ M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri asetilkolin (10^{-6} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen asetilkolin (10^{-6} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 21.80±4.0 iken atropin ortamında inkübasyondan sonra asetilkolin (10^{-6} M) ile elde edilen yüzde değeri 1.18±0.8 idi. Atropin varlığında, ikinci seri gevşemelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi (Şekil 23; $P < 0.05$; n=6)

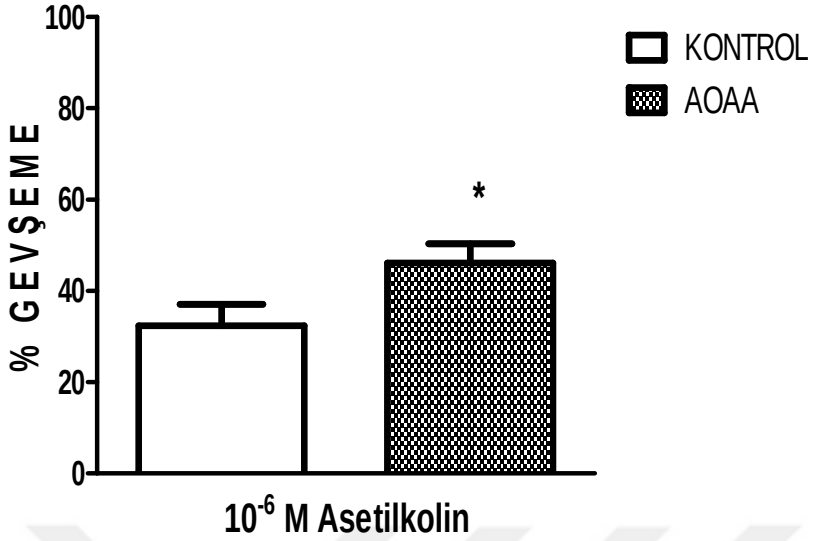


Şekil 23. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtları üzerine atropin ($5x10^{-5}$ M)' in etkisinin bar grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($P<0.05$). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.8. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine L-Sistein Sentez Enzimlerinin Etkileri

4.8.1. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine AOAA'nın Etkisi

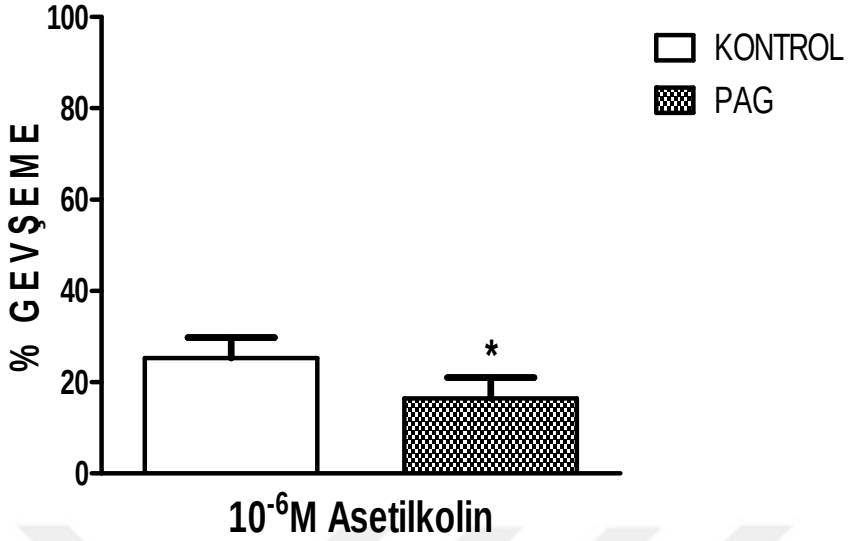
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara asetilkolin (10^{-6} M) uygulaması ile gevşeme meydana geldi. Dokular CBS enzim inhibitörü AOAA (10^{-3} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri asetilkolin (10^{-6} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen asetilkolin (10^{-6} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 32.40± 4.7 iken AOAA ortamında inkübasyondan sonra asetilkolin (10^{-6} M) ile elde edilen yüzde değeri 46.12±4.2 idi. AOAA varlığında, ikinci seri gevşemelerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlendi (Şekil 24; P <0.05; n=6)



Şekil 24. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtları üzerine AOAA (10^{-3} M)' nın etkisinin bar grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.8.2. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine PAG'ın Etkisi

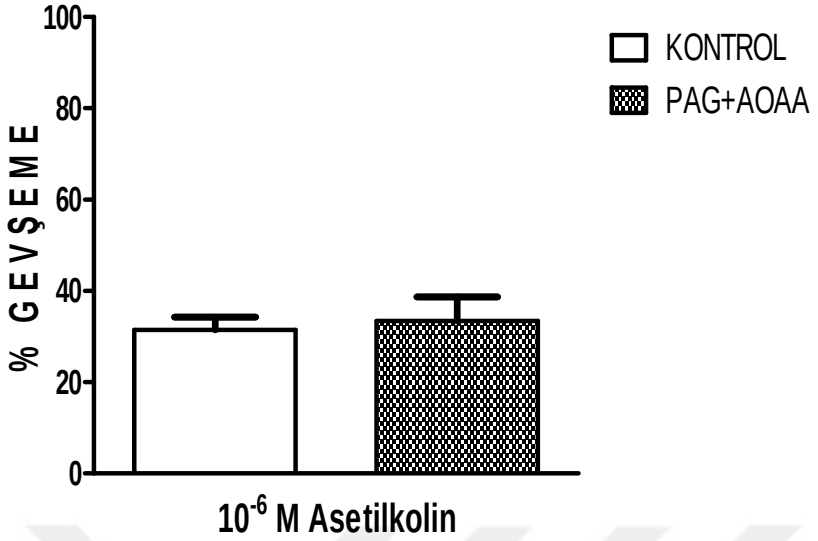
Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara asetilkolin (10^{-6} M) uygulaması ile gevşeme meydana geldi. Dokular CSE enzim inhibitörü PAG (10^{-2} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri asetilkolin (10^{-6} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen asetilkolin (10^{-6} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 25.29±4.5 iken PAG ortamında inkübasyondan sonra asetilkolin (10^{-6} M) ile elde edilen yüzde değeri 16.47±4.6 idi. PAG varlığında, ikinci seri gevşemelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi. (Şekil 25; $P < 0.05$; n=6)



Şekil 25. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtları üzerine PAG (10^{-2} M)' ın etkisinin bar grafiği. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

4.8.3. Asetilkolin Gevşemeleri Üzerine AOAA ve PAG Kombinasyonunun Etkisi

Farelerden izole edilen korpus kavernosum dokusunda fenilefrin ($5x10^{-6}$ M) uygulaması kasılma yanıtı ve bunu izleyen plato fazı oluşturdu. Fenilefrin ile kastırılmış dokulara asetilkolin (10^{-6} M) uygulaması ile gevşeme meydana geldi. Dokular AOAA (10^{-3} M) ve PAG (10^{-2} M) içeren Krebs'li banyo ortamında 30 dk inkübasyona bırakıldı ve bu sürenin sonunda fenilefrin ile kastırılmış dokularda ikinci seri asetilkolin (10^{-6} M) gevşemesi elde edildi. Birinci seri olarak elde edilen asetilkolin (10^{-6} M) yanıtlarının papaverin gevşemelerine göre ortalama yüzde değeri 31.48±2.9 iken AOAA ve PAG ortamında inkübasyondan sonra asetilkolin (10^{-6} M) ile elde edilen yüzde değeri 33.45±5.3 idi. AOAA ve PAG varlığında, ikinci seri gevşemelerde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi. (Şekil 26; $P > 0.05$; n=6)



Şekil 26. İzole fare korpus kavernosum şeritlerinde asetilkolin (10^{-6} M) gevşeme yanıtları üzerine AOAA (10^{-3} M) PAG (10^{-2} M)' ın etkisinin bar grafiği. Veriler ortalama ± SH olarak ifade edildi (n=6).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada korpus kavernosum dokusunda seçici muskarinik reseptör alt tiplerinin endojen ve ekzojen H_2S kaynaklı gevşemelere katkıda bulunup bulunmadığı ilk defa araştırılmıştır. Çalışmanın temel bulguları fare korpus kavernosum dokusunda L-sistein kaynaklı gevşeme yanıtlarının CSE etkinleşmesi aracılığıyla olduğu; ayrıca L-sisteinin bu dokudaki gevşeme yanıtlarına muskarinik reseptörlerden M_1 ve M_3'ün katkıda bulunduğu, fakat M_2 reseptörlerin bir katkısının olmadığı yönündedir. Buna ek olarak ekzojen H_2S'in korpus kavernosum dokusu üzerindeki gevşetici etkilerine M_1, M_2 ve M_3 reseptörlerinin katkıda bulunduğu görülmüştür.

L-sisteinin endojen H_2S sentezinin ana substratı olduğu bilinmektedir[132]. Mevcut çalışmamızda, dokulara CSE inhibitörü PAG uygulanması ile L-sistein ile oluşturulan gevşemeler anlamlı ölçüde inhibe olurken CBS inhibitörü AOAA varlığında bu gevşemelerde bir değişiklik olmamıştır. Fare korpus kavernosum dokusunda L-sistein/H_2S yolağının gevşemeye neden olduğu ve CSE'nin endojen H_2S sentezinden sorumlu enzimlerden biri olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Ghasemi ve ark. tarafından sıçan korpus kavernosum dokusunda CSE enziminin varlığı gösterilmiş ve L-sistein kaynaklı H_2S sentezinin CSE inhibitörü PAG tarafından ortadan kalktığı rapor edilmiştir[53]. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada L-sisteinin oluşturduğu erektil yanıtlar PAG ile bloke edilmiş[17], böylece vasküler düzeyde H_2S üretiminde CSE'nin CBS'den daha önemli olduğunu gösterilmiştir. Bu görüşü destekleyen diğer bir çalışma ise CSE knockout farelerde yapılmış ve CSE'nin penil dokudaki rolü $CSE^{-/-}$ farelerde H_2S üretiminin azalması ile teyit edilmiştir[73].

Fare mezenterik arter endotel hücrelerinde muskarinik reseptör agonisti metakolin'in H_2S seviyelerini üç katına çıkarttığı, seçici olmayan muskarinik reseptör blokörü atropinin ise H_2S seviyelerindeki bu artışı bloke ettiği rapor edilmiştir[9]. Aynı çalışmada, CSE'nin RNA interferansıyla deplesyonu metakolin ile artan H_2S oluşumunu önemli ölçüde azaltmış ve vasküler endotel hücrelerindeki bazal H_2S seviyelerini düşürmüştür[9]. İnsan mesanesi ve ürotelial endoteliyumunda da M_1 ve M_3 reseptörlerinin bloke edilmesiyle H_2S üretimindeki artış inhibe olmuştur[133]. Penil ereksiyonu ve korpus kavernosum düz kas tonusunun sürdürülmesinde kolinerjik sinirlerin ve endoteliyumun önemi ve rolü ile ilgili çalışmalar yapılmasına karşın, L-sistein/H_2S yolağı ile

muskarinik reseptörler arasındaki olası etkileşimi araştıran yayınlanmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada korpus kavernosum dokusunda H_2S'in gevşeme yanıtlarında muskarinik reseptörlerin rolünü araştırmak amacıyla seçici ve seçici olmayan muskarinik reseptör blokörleri kullanılmıştır. Çalışmamızda, fare korpus kavernosum şeritlerinde L-sisteine bağlı olarak gelişen gevşemeler seçici olmayan muskarinik reseptör blokörü atropin'le anlamlı olarak inhibe oldu. Ayrıca, M_1 reseptör blokörü pirenzepin ve M_3 reseptör blokörü 4-DAMP, L-sistein ile oluşan gevşemeyi anlamlı ölçüde azaltırken, M_2 reseptörlerinin AF-DX 116 ile blokajı L-sistein gevşemelerini etkilememiştir. Bu bulgu, M_1 ve M_3 reseptörlerinin endojen H_2S ile indüklenen gevşeme yanıtlarına katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. Muskarinik reseptör inhibitörlerinin endojen H_2S gevşemeleri üzerindeki inhibitör etkisinin bir H_2S donörü olan NaHS kullanarak elde edilen ekzojen H_2S gevşemelerinde gözlenmesi, muskarinik reseptörlerin L-sistein/H_2S gevşemelerinde rolü olduğu görüşünü desteklemektedir.

Pirenzepin, 4-DAMP ve AF-DX 116 ekzojen H_2S gevşemelerini anlamlı bir şekilde inhibe etmiştir. Mevcut bulgular, ekzojen H_2S'in korpus kavernosum dokusu üzerindeki gevşetici etkilerine M_1, M_2 ve M_3 reseptörlerinin katkıda bulunduğunu düşündürmektedir.

Fonksiyonel çalışmalar sonucu elde edilen bulgular L-sisteine bağlı oluşan gevşeme yanıtlarından CSE enzimi aracılığı ile sentez edilen endojen H_2S'in sorumlu olabileceğini ve muskarinik reseptörlerden M_1 ve M_3'ün endojen H_2S'in gevşetici etkisine aracılık ettiğini, M_2 reseptörlerin ise bu gevşemeye katkıda bulunmadığını düşündürmektedir. Aydınoğlu ve Öğülener tarafından farede yapılan bir çalışmada, korpus kavernosum dokusunda endoteliyumun uzaklaştırılmasının L-sisteine bağlı gevşemeleri azaltması; fakat ekzojen H_2S oluşan gevşemeleri değiştirmemesi sonucu H_2S üretiminin endoteliyum kaynaklı olduğu ileri sürülmüştür[20]. Mevcut çalışmada da M_2 reseptör blokörü AF-DX 116'ın L-sistein gevşemelerini etkilemezken eksojen H_2S gevşemelerini inhibe etmesi de L-sisteinden H_2S sentezinin endotel kaynaklı M_1 ve M_3 aracaıklı olabileceği görüşünü desteklemektedir. Yapılan immünohistokimyasal çalışmalarla da CSE proteinlerinin ağırlıklı olarak endoteliyumda lokalize olduğu gösterilmiştir[9]. Ayrıca insan korpus kavernosum dokusunda ve bu dokudan alınan endotel hücre kültüründe M_1 ve M_3 reseptörlerinin varlığı gösterilmiş; M_2 reseptör alttipi

ise trabeküler düz kasta eksprese edilmiştir[135,136]. Bu verilerden yola çıkılarak, M_1 ve M_3 muskarinik reseptör alt tiplerinin endoteliyuma bağımlı vazodilatasyona katkıda bulunduğu, M_2 reseptör alttipinin ise düz kas kasılmasının sürdürülmesinde rol aldığı öne sürülmüştür.

Fare korpus kavernozum dokusunda L-sistein/H_2S yolağı ile kolinerjik aşırım arasındaki etkileşimi teyit eden diğer bir bulgumuz asetilkolin gevşemelerinin CSE enzim inhibitörü PAG ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmasıdır. Bu bulgu, asetilkolin gevşemelerinde H_2S'in rolünün olduğunu düşündürmektedir. Yang ve arkadaşları tarafından yapılan, CSE mutant farelerin mezenterik arterlerinde metakolin gevşemelerinin inhibisyonunun gösterildiği çalışma, bizim hipotezimizi desteklemektedir. Diğer taraftan CBS enzim inhibitörü AOAA, asetilkolin gevşemelerinde bir artışa neden oldu. Murin korpus cavernosum dokusunda yapılan çalışmada $eNOS^{-/-}$ farelerde CSE ve 3-MST ekspresyonunda artış gözlenirken, CBS ekspresyonunda bir azalma bulunmuştur[73]. Bizim çalışmamızda asetilkolin gevşemelerinde AOAA ile oluşan artışın CBS ile eNOS arasındaki etkileşimden kaynaklanabileceği düşünülebilinir. Ancak, bu mekanizmanın aydınlatılabilmesi için ilave deneylere ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, mevcut bulgular fare korpus kavernosum dokusunda, L-sistein ile oluşturulan gevşeme yanıtlarına endoteliyumunda bulunan muskarinik M_1 ve M_3 reseptörlerinin etkinleşmesi ile H_2S'in aracılık ettiği ve CSE enzim aracılıyla salıverilen endojen H_2S'in bir EDRF gibi davranabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca H_2S'in ekzojen olarak uygulanması ile ortaya çıkan gevşeme yanıtlarının M_1, M_2 ve M_3 reseptör blokörleri ile azalması, bu reseptör alt tiplerinin eksojen H_2S'in gevşetici etkisine katkıda bulunduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. **Andersson KE**, **Wagner G.** Physiology of penile erection. *Physiol Rev*, **1995**; 75(1): 191-236.

2. **Stief C, Benard F, Bosch R, Aboseif S, Nunes L, Lue TF, Tanagho EA**. Acetylcholine as a possible neurotransmitter in penile erection. *J Urol*, **1989;** 141:1444–1448.

3. **Saenz de Tejada I, Blanco R, Goldstein I, Azadzoi K, de las Morenas A, Krane RJ, Cohen RA:** Cholinergic neurotransmission in human corpus cavernosum. I. Responses of isolated tissue. *Am J Physiol*, **1988;**254:H459–H467.

4. **Traish AM**, **Palmer MS, Goldstein I, Moreland RB.** Expression of functional muscarinic acetylcholine receptor subtypes in human corpus cavernosum and in cultured smooth muscle cells. *Receptor*, **1995a**; 5(3): 159-76.

5. **Hedlund H, Andersson KE**. Comparison of the responses to drugs acting on adrenoreceptors and muscarinic receptors in human isolated corpus cavernosum and cavernous artery. *J Auton Pharmacol*, **1985;** 5:81–88.

6. **Simonsen U, Prieto D, Delgado JA, Hernandez M, Resel L, Saenz de Tejada I, Garcia-Sacristan A.** Nitric oxide is involved in the inhibitory neurotransmission and endothelium-dependent relaxations of human small penile arteries. *Clin Sci*, **1997;** 92:269–275.

7. **Blanco R, Saenz de Tejada I, Goldstein I, Krane RJ, Wotiz HH, Cohen RA.** Cholinergic neurotransmission in human corpus cavernosum. II. Acetylcholine synthesis. *Am J Physiol*, **1988;** 254:H468–H472.

8. **Qiu X, Villalta J, Lin G, Lue TF.** Role of hydrogen sulfide in the physiology of penile erection. *J Androl*, **2012;** 33(4): 529-35.

9. **Yang G, Wu L, Jiang B, Yang W, Qi J, Cao K, Meng Q, Mustafa AK, Mu W, Zhang S, Snyder SH, Wang R.** H2S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase. *Science*, **2008;** 322(5901): 587-90.

10. **Li L, Rose P, Moore PK.** Hydrogen sulfide and cell signaling. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2011.** 51:169–87.

11. **Guo H, Gai JW, Wang Y, Jin HF, Du JB, Jin J.** Characterization of hydrogen sulfide and its synthases, cystathionine β-synthase and cystathionine γ-lyase, in human prostatic tissue and cells. *Urology*, **2012;** 79(2): 483.e1-5.

12. **Abe K and Kimura H.** The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci*, **1996;** 16(3): 1066-71.

13. **Hosoki R, Matsuki N, Kimura H.** The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun*, **1997;** 237(3): 527-31.

14. **Shibuya N, Mikami Y, Kimura Y, Nagahara N, Kimura H.** Vascular endothelium expresses 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase and produces hydrogen sulfide. *J Biochem*, **2009;** 146(5):623-6.

15. **Kimura H.** Hydrogen sulfide: its production, release and functions. *Amino Acids*, **2011**; 41(1):113-21.

16. **Rashid S, Heer JK, Garle MJ, Alexander SP, Roberts RE.** Hydrogen sulphide-induced relaxation of porcine peripheral bronchioles. *Br J Pharmacol*, **2013;** 168(8): 1902-10.

17. **d'Emmanuele di Villa Bianca R, Sorrentino R, Maffia P, Mirone V, Imbimbo C, Fusco F, De Palma R, Ignarro LJ, Cirino G.** Hydrogen sulfide as a mediator of human corpus cavernosum smooth-muscle relaxation. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2009**; 106(11):4513-8.

18. **Srilatha B, Adaikan PG, Moore PK.** Possible role for the novel gasotransmitter hydrogen sulphide in erectile dysfunction--a pilot study. *Eur J Pharmacol*, **2006;** 535(1-3): 280-2.

19. **Srilatha B, Adaikan PG, Li L, Moore PK.** Hydrogen sulphide: a novel endogenous gasotransmitter facilitates erectile function. *J Sex Med*, **2007;** 4(5): 1304-11.

20. **Aydinoglu F, Ogulener N.** Characterization of relaxant mechanism of H_2S in mouse corpus cavernosum. *Clin and Exp Pharmacol Physiol*, **2016;** 43, 503–511.

21. **Beauchamp RO Jr, Bus JS, Popp JA, Boreiko CJ, Andjelkovich DA.** A critical review of the literature on hydrogen sulfide toxicity. *Crit Rev Toxicol*, **1984;** 13(1): 25-97.

22. **Wang R.** Two's company, three's a crowd: can H_2S be the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB J*, **2002;** 16(13):1792-8.

23. **Kabil O, Banerjee R.** Redox biochemistry of hydrogen sulfide. *J. Biol. Chem*, **2010;** 285: 21903-21907.

24. **Li Q, Lancaster Jr JR.** Chemical foundations of hydrogen sulfide biology. *Nitric Oxide*, **2013;** 35:21–34.

25. **Mathai JC, Missner A, Kugler P, Saparov SM, Zeidel ML, Lee JK, Pohl P.** No facilitator required for membrane transport of hydrogen sulfide. *Proc. Natl. Acad. Sci*, **2009;** 106:16633–16638.

26. **Zhao W, Zhang J, Li Y, Wang R.** The vasorelaxant effect of H(2)S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener. *EMBO J*, **2001**; 20(21): 6008-16.

27. **Gadalla MM, Snyder SH.** Hydrogen sulfide as a gasotransmitter. *J. Neurochem*, **2010;** 113(1):14–26.

28. **Fiorucci S, Distrutti E, Cirino G, Wallace JL.** The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver. Gastroenterology. **2006;** 131(1): 259-71.

29. **Predmore BL, Lefer DJ, Gojon G.** Hydrogen sulfide in biochemistry and medicine. Antioxid Redox Signal. **2012;** 17(1): 119-40.

30. **Doeller JE, Isbell TS, Benavides G, Koenitzer J, Patel H, Patel RP, Lancaster JR Jr, Darley-Usmar VM, Kraus DW.** Polarographic measurement of hydrogen sulfide production and consumption by mammalian tissues. *Anal Biochem*, **2005;** 341(1): 40-51.

31. **Patel P, Vatish M, Heptinstall J, Wang R, Carson RJ.** The endogenous production of hydrogen sulphide in intrauterine tissues. Reprod Biol Endocrinol. **2009; 7:10.**

32. **Fang L, Zhao J, Chen Y, Ma T, Xu G, Tang C, Liu X, Geng B.** Hydrogen sulfide derived from periadventitial adipose tissue is a vasodilator. *J Hypertens*, **2009;** 27(11): 2174-85.

33. **Du JT, Li W, Yang JY, Tang CS, Li Q, Jin HF.** Hydrogen sulfide is endogenously generated in rat skeletal muscle and exerts a protective effect against oxidative stress. *Chin Med J (Engl)*, **2013;** 126(5): 930-6.

34. **Kabil O, Banerjee R.** Enzymology of H2S biogenesis, decay and signaling. *Antioxid Redox Signal*, **2014;** 20(5):770–82.

35. **Kimura H.** Hydrogen sulfide: from brain to gut. *Antioxid Redox Signal*, **2010;** 12(9):1111-23.

36. **Chen X, Jhee KH, Kruger WD.** Production of the neuromodulator H2S by cystathionine beta-synthase via the condensation of cysteine and homocysteine. *J Biol Chem*, **2004;** 279(50): 52082-6.

37. **Meier M, Janosik M, Kery V, Kraus JP, Burkhard P.** Structure of human cystathionine beta-synthase: a unique pyridoxal 5'-phosphate-dependent heme protein. *EMBO J*, **2001;** 20(15): 3910-6.

38. **Singh S, Banerjee R.** PLP-dependent H(2)S biogenesis. *Biochim Biophys Acta*, **2011;** 1814(11): 1518-27

39. **Martin GR, McKnight GW, Dicay MS, Coffin CS, Ferraz JG, Wallace JL.** Hydrogen sulphide synthesis in the rat and mouse gastrointestinal tract. *Dig Liver Dis*, **2010;** 42(2): 103-9.

40. **Patel P, Vatish M, Heptinstall J, Wang R, Carson RJ.** The endogenous production of hydrogen sulphide in intrauterine tissues. Reprod Biol Endocrinol. **2009; 7:10.**

41. **Diwakar L**, **Ravindranath V.** Inhibition of cystathionine-gamma-lyase leads to loss of glutathione and aggravation of mitochondrial dysfunction mediated by excitatory amino acid in the CNS. Neurochem Int. **2007;** 50(2):418-26.

42. **Wang R**. **Hydrogen sulfide**: a new EDRF. Kidney Int. **2009**;76(7):700-4.

43. **Nagahara N, Ito T, Kitamura H, Nishino T.** Tissue and subcellular distribution of mercaptopyruvate sulfurtransferase in the rat: confocal laser fluorescence and immunoelectron microscopic studies combined with biochemical analysis. *Histochem Cell Biol*, **1998;**110(3):243-50.

44. **Moore PK, Whiteman M.** *Handbook of Experimental Pharmacology* 230, Switzerland: Springer International Publishing, **2015;** 3-25.

45. **Martelli A, Testai L, Marino A, Breschi MC, Da Settimo F, Calderone V.** Hydrogen sulphide: biopharmacological roles in the cardiovascular system and pharmaceutical perspectives. *Curr Med Chem*, **2012;** 19(20): 3325-36.

46. **Gai JW, Wahafu W, Guo H, Liu M, Wang XC, Xiao YX, Zhang L, Xin ZC, Jin J.** Further evidence of endogenous hydrogen sulphide as a mediator of relaxation in human and rat bladder. *Asian J Androl*, **2013;** 15: 692–696.

47. **Li J, Li Y, Du Y, Mou K, Sun H, Zang Y, Liu C.** Endogenous hydrogen sulfide as a mediator of vas deferens smooth muscle relaxation. *Fertil Steril*, **2011; 95**(5): 1833-5.

48. **Patacchini R, Santicioli P, Giuliani S, Maggi CA.** Hydrogen sulfide (H_2S) stimulates capsaicin-sensitive primary afferent neurons in the rat urinary bladder. *Br J Pharmacol*, **2004;** 142: 31–34.

49. **Fernandes VS, Ribeiro AS, Barahona MV, Orensanz LM, Martínez-Sáenz A, Recio P, Martínez AC, Bustamante S, Carballido J, García-Sacristán A, Prieto D, Hernández M.** Hydrogen sulfide mediated inhibitory neurotransmission to the pig bladder neck: role of K_{ATP} channels, sensory nerves and calcium signaling. *J Urol*, **2013;** 190: 746–756.

50. Fernandes VS, Ribeiro AS, Martínez P, López-Oliva ME, Barahona MV, Orensanz LM, Martínez-Sáenz A, Recio P, Benedito S, Bustamante S, García-Sacristán A, Prieto D, Hernández M. Hydrogen sulfide plays a key role in the inhibitory neurotransmission to the pig intravesical ureter. *PloS one*, **2014;** 9(11): e113580.

51. Li Y, Zang Y, Fu S, Zhang H, Gao L, Li J. H2S relaxes vas deferens smooth muscle by modulating the large conductance Ca2+ -activated K+ (BKCa) channels via a redox mechanism. *J Sex Med*, **2012;** 9(11): 2806-13.

52. Patacchini R, Santicioli P, Giuliani S, Maggi CA. Pharmacological investigation of hydrogen sulfide (H2S) contractile activity in rat detrusor muscle. *Eur J Pharmac*ol, **2005;** 509(2-3): 171-7.

53. Ghasemi M, Dehpour AR, Moore KP, Mani AR. Role of endogenous hydrogen sulfide in neurogenic relaxation of rat corpus cavernosum. *Biochem Pharmacol*, **2012**; 83(9):1261-8.

54. Patel P, Vatish M, Heptinstall J, Wang R, Carson RJ. The endogenous production of hydrogen sulphide in intrauterine tissues. Reprod Biol Endocrinol. **2009; 7:10.**

55. You XJ, Xu C, Lu JQ, Zhu XY, Gao L, Cui XR, Li Y, Gu H, Ni X. Expression of cystathionine β-synthase and cystathionine γ-lyase in human pregnant myometrium and their roles in the control of uterine contractility. *PLoS One*, **2011;** 6(8): e23788.

56. Meng J, Ganesan Adaikan P, Srilatha B. Hydrogen sulfide promotes nitric oxide production in corpus cavernosum by enhancing expression of endothelial nitric oxide synthase. *Int J Impot Res*, **2013;** 25(3): 86-90.

57. Fernandes VS, Xin W, Petkov GV. Novel mechanism of hydrogen sulfide-induced guinea pig urinary bladder smooth muscle contraction: role of BK channels and cholinergic neurotransmission. *Am J Physiol Cell Physiol*, **2015;** 309: C107–C116.

58. Srilatha B, Muthulakshmi P, Adaikan PG, Moore PK. Endogenous hydrogen sulfide insufficiency as a predictor of sexual dysfunction in aging rats. *Aging Male*, **2012;** 15(3):153-8.

59. Elsey DJ. Regulation of cardiovascular cell function by hydrogen sulfide (H(2)S). *Cell Biochem Funct*, **2010;** 28(2): 95-106.

60. Chen Y, Wang R. The message in the air: hydrogen sulfide metabolism in chronic respiratory diseases. *Respir Physiol Neurobiol*, **2012;** 184(2): 130-8.

61. Sun Y, Wang K, Li M, He W, Chang J, Liao C, Lin F, Qi Y, Wang R, Chenb Y. Metabolic changes of H2S in smokers and patients of COPD which might involve in inflammation, oxidative stress and steroid sensitivity. *Sci Rep*, **2015;** 5: 14971.

62. Linden DR. Hydrogen sulfide signaling in the gastrointestinal tract, *Antioxid Redox Signal*, **2014;** 20(5): 818–830.

63. Gil V, Gallego D, Jiménez M. Effects of inhibitors of hydrogen sulphide synthesis on rat colonic motility. *Br J Pharmacol*, **2011;** 164(2b): 485-98.

64. Dhaese I, Lefebvre RA. Myosin light chain phosphatase activation is involved in the hydrogen sulfide-induced relaxation in mouse gastric fundus. *Eur J Pharmacol*, **2009;** 606(1-3): 180-6.

65. Dhaese I, Van Colen I, Lefebvre RA. Mechanisms of action of hydrogen sulfide in relaxation of mouse distal colonic smooth muscle. *Eur J Pharmacol*, **2010;** 628(1-3): 179-86.

66. Teague B, Asiedu S, Moore PK. The smooth muscle relaxant effect of hydrogen sulphide in vitro: evidence for a physiological role to control intestinal contractility. *Br J Pharmacol*, **2002;** 137(2): 139-45.

67. Yong QC, Choo C H, Tan BH, Low CM, Bian J S. Effect of hydrogen sulfide on intracellular calcium homeostasis in neuronal cells. *Neurochem. Int,* **2010;** 56, 508−515.

68. Lu M, Choo C H, Hu LF, Tan BH, Hu G, Bian JS. Hydrogen sulfide regulates intracellular pH in rat primary cultured glia cells. *Neurosci. Res,* **2010;** 66, 92−98.

69. Wong PT, Qu K, Chimon GN, Seah AB, Chang HM, Wong MC, Ng YK, Rumpel H, Halliwell B, Chen CP. High plasma cyst(e)ine level may indicate poor clinical outcome in patients with acute stroke: Possible involvement of hydrogen sulfide. *J. Neuropathol. Exp. Neurol,* **2006;** 65, 109−115.

70. Bucci M, Papapetropoulos A, Vellecco V, Zhou Z, Pyriochou A, Roussos C, Roviezzo F, Brancaleone V, Cirino G. Hydrogen sulfide is an endogenous inhibitor of phosphodiesterase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2010;** 30(10): 1998-2004.

71. Fernandes VS, Xin W, Petkov GV. Novel mechanism of hydrogen sulfide-induced guinea pig urinary bladder smooth muscle contraction: role of BK channels and cholinergic neurotransmission. *Am J Physiol Cell Physiol,* **2015;** 309(2):C107-16.

72. Xue H, Zhou S, Xiao L, Guo Q, Liu S, Wu Y. Hydrogen sulfide improves the endothelial dysfunction in renovascular hypertensive rats. *Physiol Res,* **2015;** 64(5):663-72.

73. Yetik-Anacak G, Dikmen A, Coletta C, Mitidieri E, Dereli M, Donnarumma E, d'Emmanuele di Villa Bianca R, Sorrentino R. Hydrogen sulfide compensates nitric oxide deficiency in murine corpus cavernosum. *Pharmacol Res,* **2016;** 113(Pt A):38-43.

74. Whiteman M, Li L, Kostetski I, Chu SH, Siau JL, Bhatia M, Moore PK. Evidence for the formation of a novel nitrosothiol from the gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulphide. *Biochem Biophys Res Commun*, **2006;** 343(1): 303-10.

75. Webb GD, Lim LH, Oh VM, Yeo SB, Cheong YP, Ali MY, El Oakley R, Lee CN, Wong PS, Caleb MG, Salto-Tellez M, Bhatia M, Chan ES,Taylor EA, Moore PK. Contractile and vasorelaxant effects of hydrogen sulfide and its biosynthesis in the human internal mammary artery. *J Pharmacol Exp Ther,* **2008;** 324(2): 876-82.

76. Li S, Ping NN, Cao L, Mi YN, Cao YX. H_2S induces vasoconstriction of rat cerebral arteries via cAMP/adenylyl cyclase pathway. *Toxicol Appl Pharmacol,* **2015;** 289(3):389-96.

77. Kimura H. Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, **2000;** 267(1): 129-33.

78. Sun H, Zhang J, Shi Y, Gao Y, Shi G, Wang X, Guo P, Huang Y, Ren Y, Zheng S. Effect of exogenous hydrogen sulfide on gastric acid secretion. *J Gastroenterol Hepatol.* **2016;** 31(7):1280-3.

79. Lim JJ, Liu YH, Khin ES, Bian JS. Vasoconstrictive effect of hydrogen sulfide involves downregulation of sAMP in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, **2008;** 295(5): C1261-70.

80. Hedegaard ER, Gouliaev A, Winther AK, Arcanjo DD, Aalling M, Renaltan NS, Wood ME, Whiteman M, Skovgaard N, Simonsen U. Involvement of Potassium Channels and Calcium-Independent Mechanisms in Hydrogen Sulfide-Induced Relaxation of Rat Mesenteric Small Arteries. *J Pharmacol Exp Ther.* **2016;** 356(1):53-63.

81. **Cheng Y, Ndisang JF, Tang G, Cao K, Wang R.** Hydrogen sulfide-induced relaxation of resistance mesenteric artery beds of rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2004;** 287(5): H2316-23.

82. **d'Emmanuele di Villa Bianca R, Sorrentino R, Coletta C, Mitidieri E, Rossi A, Vellecco V, Pinto A, Cirino G, Sorrentino R.** Hydrogen sulfide-induced dual vascular effect involves arasetilkolinidonic acid cascade in rat mesenteric arterial bed. *J Pharmacol Exp Ther*, **2011;** 337(1): 59-64.

83. **Wang M, Hu Y, Fan Y, Guo Y, Chen F, Chen S, Li Q, Chen Z.** Involvement of Hydrogen Sulfide in Endothelium-Derived Relaxing Factor-Mediated Responses in Rat Cerebral Arteries. *J Vasc Res*, **2016;** 53(3-4):172-185.

84. **d'Emmanuele di Villa Bianca R, Mitidieri E, Donnarumma E, Tramontano T, Brancaleone V, Cirino G, Bucci M, Sorrentino R.** Hydrogen sulfide is involved in dexamethasone-induced hypertension in rat. *Nitric Oxide*, **2015;** 46:80-6.

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

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

87. **Andersson KE**. Pharmacology of penile erection. *Pharmacol Rev*, **2001;** 53(3): 417-50.

88. **Krane RJ, Goldstein I, Saenz de Tejada I.** Impotence. *N Engl J Med*, **1989**; 321(24): 1648-59.

89. **Pickard RS, King P, Zar MA, Powell PH**. Corpus cavernosal relaxation in impotent men. *Br J Urol.* **1994** Oct;74(4):485-91.

90. **Saenz de Tejada I, Goldstein I, Krane RJ.** Local control of penile erection. Nerves, smooth muscle, and endothelium. *Urol Clin North Am*, **1988;** 15(1): 9-15**.**

91. **Benson GS, McConnell J, Lipshultz LI, Corriere JN Jr, Wood J.** Neuromorphology and neuropharmacology of the human penis: an in vitro study. *J Clin Invest*, **1980;** 65(2): 506-13.

92. **Godec CJ, Bates H.** Cholinergic receptors in corpora cavernosa. *Urology*, **1984;** 24(1):31-3.

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

94. **Klinge E, Sjöstrand NO.** Suppression of the excitatory adrenergic neurotransmission; a possible role of cholinergic nerves in the retractor penis muscle. *Acta Physiol Scand*, **1977;** 100(3):368-76.

95. **Saenz de Tejada I, Blanco R, Goldstein I, Azadzoi K, de las Morenas A, Krane RJ, Cohen RA.** Cholinergic neurotransmission in human corpus cavernosum. I. Responses of isolated tissue. *Am J Physiol*, **1988a**; 254: H459-67.

96. **Simonsen U, García-Sacristán A, Prieto D.** Penile arteries and erection. *J Vasc Res*, **2002**; 39(4): 283-303.

97. **Levin RM, Wein AJ.** Adrenergic alpha receptors outnumber beta receptors in human penile corpus cavernosum. *Invest Urol*, **1980;** 18(3):225-6.

98. **Traish AM, Gupta S, Toselli P, de Tejada IS, Goldstein I, Moreland RB.** Identification of alpha 1-adrenergic receptor subtypes in human corpus cavernosum tissue and in cultured trabecular smooth muscle cells. *Receptor*, **1995b;** 5(3): 145-57.

99. **Traish AM, Netsuwan N, Daley J, Padman-Nathan H, Goldstein I, Saenz de Tejada I.** A heterogeneous population of alpha 1 adrenergic receptors mediates contraction of human corpus cavernosum smooth muscle to norepinephrine. *J Urol*, **1995c;** 153(1): 222-7.

100. **Molderings GJ, Göthert M, Van Ahlen H, Porst H.** Noradrenaline release in human corpus cavernosum and its modulation via presynaptic alpha 2-adrenoceptors. *Fundam Clin Pharmacol*, **1989;** 3(5): 497-504.

101. **Palmer RM, Rees DD, Ashton DS, Moncada S.** L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun*, **1988;**153(3): 1251-6.

102. **Förstermann U.** Biochemistry and molecular biology of nitric oxide synthases. *Arzneimittelforschung*, **1994;** 44(3A): 402-7.

103. **Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG.** Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J*, **2001;** 357(Pt 3): 593-615.

104. **Janssen LJ, Premji M, Lu-Chao H, Cox G, Keshavjee S.** NO(+) but not NO radical relaxes airway smooth muscle via sGMP-independent release of internal Ca(2+). *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **2000**; 278(5): L899-905.

105. **Gupte SA**, **Rupawalla T, Phillibert D Jr, Wolin MS.** NADPH and heme redox modulate pulmonary artery relaxation and guanylate cyclase activation by NO. *Am J Physiol*, **1999;** 277(6 Pt 1): L1124-32.

106. **Burnett AL, Lowenstein CJ, Bredt DS, Chang TS, Snyder SH.** Nitric oxide: a physiologic mediator of penile erection. *Science*, **1992;** 257(5068): 401-3.

107. **Andersson KE**. Erectile physiological and pathophysiological pathways involved in erectile dysfunction. *J Urol*, **2003;** 170(2 Pt 2): S6-13.

108. **Hedlund P, Aszodi A, Pfeifer A, Alm P, Hofmann F, Ahmad M, Fassler R, Andersson KE.** Erectile dysfunction in cyclic GMP-dependent kinase I-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2000;** 97(5): 2349-54.

109. **Ehmke H, Jünemann KP, Mayer B, Kummer W.** Nitric oxide synthase and vasoactive intestinal polypeptite colocalization in neurons innervating the human penile circulation. *Int J Impot Res*, **1995;** 7(3): 147-56.

110. **Arvidsson U, Riedl M, Elde R, Meister B.** Vesicular acetylcholine transporter (VasetilkolinT) protein: a novel and unique marker for cholinergic neurons in the central and peripheral nervous systems. *J Comp Neurol*, **1997;** 378(4): 454-67.

111. **Hedlund P, Alm P, Andersson KE.** NO synthase in cholinergic nerves and NO-induced relaxation in the rat isolated corpus cavernosum. *Br J Pharmacol*, **1999;** 127(2): 349-60.

112. **Fahrenkrug J.** Transmitter role of vasoactive intestinal peptite. *Pharmacol Toxicol*, **1993;** 72(6): 354-63.

113. **Tong YC, Broderick G, Hypolite J, Levin RM.** Correlations of purinergic, cholinergic and adrenergic functions in rabbit corporal cavernosal tissue. *Pharmacology*, **1992;** 45(5): 241-9.

114. **Wu HY, Broderick GA, Suh JK, Hypolite JA, Levin RM.** Effects of purines on rabbit corpus cavernosum contractile activity. *Int J Impot Res*, **1993;** 5(3): 161-7.

115. Noto T, Inoue H, Mochida H, Kikkawa K. Role of adenosine and P2 receptors in the penile tumescence in anesthetized dogs. *Eur J Pharmacol*, **2001;** 425(1): 51-5.

116. Saenz de Tejada I, Carson MP, de las Morenas A, Goldstein I, Traish AM. Endothelin: localization, synthesis, activity, and receptor types in human penile corpus cavernosum. *Am J Physiol*, **1991;** 261(4 Pt 2): H1078-85.

117. Bell CR, Sullivan ME, Dashwood MR, Muddle JR, Morgan RJ. The density and distribution of endothelin 1 and endothelin receptor subtypes in normal and diabetic rat corpus cavernosum. *Br J Urol*, **1995;** 76(2): 203-7.

118. Parkkisenniemi UM, Palkama A, Virtanen I, Klinge E. The endothelin ET(B) receptor agonist [125I]BQ-3020 binds predominantly to nerves in the bovine retractor penis muscle and penile artery. *Pharmacol Toxicol*, **2000;** 87(5): 234-41.

119. Ritchie R, Sullivan M. Endothelins & erectile dysfunction. *Pharmacol Res*, **2011;** 63(6): 496-501.

120. Jin L, Burnett AL. RhoA/Rho-kinase in erectile tissue: mechanisms of disease and therapeutic insights. *Clin Sci (Lond)*, **2006;** 110(2): 153-65.

121. Wang H, Eto M, Steers WD, Somlyo AP, Somlyo AV. RhoA-mediated Ca^{2+} sensitization in erectile function. *J Biol Chem*, **2002;** 277(34): 30614-21.

122. Mills TM, Chitaley K, Wingard CJ, Lewis RW, Webb RC. Effect of Rho-kinase inhibition on vasoconstriction in the penile circulation. *J Appl Physiol*, **2001;** 91(3): 1269-73.

123. Priviero FB, Jin LM, Ying Z, Teixeira CE, Webb RC. Up-regulation of the RhoA/Rho-kinase signaling pathway in corpus cavernosum from endothelial nitric-oxide synthase (NOS), but not neuronal NOS, null mice. *J Pharmacol Exp Ther*, **2010; 333(1): 184-92.**

124. 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.

125. Sauzeau V, Le Jeune H, Cario-Toumaniantz C, Smolenski A, Lohmann SM, Bertoglio J, Chardin P, Pacaud P, Loirand G. Cyclic GMP-dependent protein kinase signaling pathway inhibits RhoA-induced Ca^{2+} sensitization of contraction in vascular smooth muscle. *J Biol Chem*, **2000;** 275(28):21722-9.

126. Sauzeau V, Rolli-Derkinderen M, Marionneau C, Loirand G, Pacaud P. RhoA expression is controlled by nitric oxide through sGMP-dependent protein kinase activation. *J Biol Chem*, **2003;** 278(11):9472-80.

127. Sawada N, Itoh H, Yamashita J, Doi K, Inoue M, Masatsugu K, Fukunaga Y, Sakaguchi S, Sone M, Yamahara K, Yurugi T, Nakao K. sGMP-dependent protein kinase phosphorylates and inactivates RhoA. *Biochem Biophys Res Commun*, **2001**; 280(3): 798-805.

128. Chang S, Hypolite JA, Changolkar A, Wein AJ, Chacko S, DiSanto ME. Increased contractility of diabetic rabbit corpora smooth muscle in response to endothelin is mediated via Rho-kinase beta. *Int J Impot Res*, **2003;** 15(1): 53-62.

129. Jin L, Liu T, Lagoda GA, Champion HC, Bivalacqua TJ, Burnett AL. Elevated RhoA/Rho-kinase activity in the aged rat penis: mechanism for age-associated erectile dysfunction. *FASEB J*, **2006;** 20(3): 536-8.

130. **Villalba N, Contreras C, Hernández M, García-Sacristán A, Prieto D**. Impaired Ca^{2+} handling in penile arteries from prediabetic Zucker rats: involvement of Rho kinase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2011;** 300(6): H2044-53.

131. **Andersson KE.** Mechanisms of penile erection and basis for pharmacological treatment of erectile dysfunction. *Pharmacol Rev*, **2011;** 63(4): 811-59.

132. **Kamoun P.** Endogenous production of hydrogen sulfide in mammals. *Amino Acids*, **2004;** 26: 243–254.

133. **d'Emmanuele di Villa Bianca R, Mitidieri1 E, Fusco F, Russo A, Pagliara1 V, Tramontano1 T, Donnarumma E, Mirone V, Cirino G, Russo1 G, Sorrentino R.** Urothelium muscarinic activation phosphorylates CBS^{Ser227} via cGMP/PKG pathway causing human bladder relaxation through H_2S production. *Sci Rep*, **2016;** 6: 31491.

134. **Tang G, Yang G, Jiang B, Ju Y, Wu L, Wang R.** H□S is an endothelium-derived hyperpolarizing factor. *Antioxid Redox Signal*, **2013;** 19(14):1634-46.

135. **Traish AM, Carson MP, Kim N, Goldstein I, 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(4):103640.

136. **Toselli P, Moreland R, Traish AM.** Detection of m2 muscarinic acetylcholine receptor mRNA in human corpus cavernosum by in-situ hybridization. *Life Sci*, **1994;** 55(8):6217.

ÖZGEÇMİŞ

Fatma Tuğçe Dalkır, 04.01.1990 tarihinde Adana'da doğdu. Orta öğrenimini Adana'da tamamladı. 2013 yılında Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden mezun oldu. 2013 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda ' Tezli Yüksek Lisans' eğitimine başladı.