



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**FOSFODİESTERAZ V İNHİBİTÖRÜ SİLDENAFİL
VE KORONER ARTER HASTALIĞININ
TEDAVİSİNDE KULLANILAN BAZI İLAÇLARIN
İNSAN İNTERNAL MAMARIAN ARTER
PREPARATINA ETKİLERİ**

Uzmanlık tezi

Dr. Cahit NACİTARHAN

Tez danışmanı

Prof. Dr. Gülay ŞADAN

T1609/1-1

"Kaynakça Gösterilerek Tezimden Yararlanılabilir"

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
desteklenmiştir

(Proje No: 2003.04.0103.003)

Antalya, 2004

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

TEŞEKKÜR

Sayın Hocam Prof. Dr. Gülay ŞADAN'a uzmanlık çalışmalarımda olduğu gibi uzmanlık tezimin hazırlanmasında da gösterdiği öncülük, titizlik, özveri ve bilimsel katkılardan dolayı teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca başta Anabilim Dalımız Başkanı Prof. Dr. Çağlar ÖĞÜTMAN olmak üzere diğer öğretim üyelerimize, arkadaşlarıma ve desteklerinden dolayı aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Erektile disfonksiyon	3
2.2. Nörolojik Mekanizmalar	5
2.3. Penis düz kasının gevşemesi	7
2.4. Nitrik oksid ve sGMP yolağı	8
2.5. Fosfodiesteraz İzoenzimleri	9
2.6. Fosfodiesteraz izoenzimlerinin dokulardaki dağılımı	12
2.7. Fosfodiesteraz inhibitörleri	13
2.8. Erektile disfonksiyonda PDE-5 İnhibitörleri	14
2.9. PDE-5 inhibitörlerinin farmakokinetikleri	15
2.10. Sildenafilin PDE-5 için selektivitesi	15
2.11. Sildenafil'in spesifik etiyolojilerdeki etkinliği	16
2.12. Sildenafil ile İlaç Etkileşimleri	18
2.13. Koroner Arter Hastalığı	20

3. GEREÇ ve YÖNTEM	24
3.1. Dokunun Elde Edilişı	24
3.2. Deney protokolü	24
3.3. Deneylerde kullanılan ilaçlar	25
3.4. İstatistiksel analiz	26
4. SONUÇLAR	27
5. TARTIŞMA	46
SONUÇLAR	51
ÖZET	52
KAYNAKLAR	54

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

NOS	Nitrik oksid sentaz
eNOS	Endotelial NOS
nNOS	Nöronal NOS
iNOS	İndüklenebilir NOS
sGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
NO	Nitrik Oksid
ED	Eretil Disfonksiyon
NANK	Nonadrenerjik Nonkolinerjik
PDE	Fosfodiesteraz
ACh	Asetilkolin
GS	Guanilat Siklaz
sAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
AS	Adenilat Siklaz
PKA	Protein Kinaz A
PKG	Protein Kinaz G
VİP	Vasoaktif İntestinal Peptit
PGE 1	Prostaglandin E1
cDNA	Komplemanter DNA
SSRİ	Selektif Serotonin Re-uptake İnhibitörü

ADE	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
ADP	Adenozin Difosfat
PAF-4	Trombosit Aktive Edici Faktör 4
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
TXB2	Tromboksan B2
TXA2	Tromboksan A2
LİMA	(Sol) İnternal Mamarian Arter
EDRF	Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör
SNP	Sodyum Nitroprusid
ODQ	1H-[1,2,4] oxadiazolo-[4,3-a] quinoxalin-1-one
L-NAME	NG-nitro L-arginine methyl ester
CGRP	Kalsitonin Geni ile İlişkili Peptid

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
1. NOS/GS yolağı ve düz kasta gevşeme yanıtı	5
2. Penisin anatomik kesiti	6
3. Ereksiyonda sempatik-parasempatik tonus ve nitrik oksidin rolü	7
4. Kavernöz düz kasta NO-sGMP yolağı ve PDE-5 inhibitörlerinin etkisi	9
5. sAMP ve sGMP aracılı biyolojik yanıtlar ve fosfodiesteraz izoenzimlerinin etki yerleri	11
6. Fosfodiesteraz 5 inhibitörlerinden sildenafil, vardenafil ve tadalafil'in moleküler yapıları	14
7. LİMA preparatında 1µM fenilefrin ile oluşan kasılma yanıtına sildenafil'in tek başına ya da L-NAME ve ODQ varlığında etkisi	30
8. Önceden 1µM fenilefrin ile kasılmış LİMA preparatında sildenafil ile oluşan konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtları (Δ). Sildenafil yanıtları 100µM L-NAME (◆) ya da 10µM ODQ (□) varlığında elde edilen yanıtlarla karşılaştırılmıştır (n=7, p< 0.001). Sonuçlar fenilefrin ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir	31

9. 1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında;
a) izosorbid dinitrat'ın oluşturduğu gevşeme yanıtları,
b) 1 μ M sildenafil varlığında izosorbid dinitrat ile oluşan gevşeme yanıtları 32
10. 1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında;
a) sodyum nitroprussid'in oluşturduğu gevşeme yanıtları,
b) 1 μ M sildenafil varlığında sodyum nitroprussid ile oluşan gevşeme yanıtları 33
11. 1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında;
(a) 1 μ M sildenafil varlığında ($\diamond$) ve yokluğunda ($\blacksquare$) izosorbid dinitrat'ın kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları, (b) 1 μ M sildenafil varlığında ($\diamond$) ve yokluğunda ($\blacksquare$) sodyum nitroprussid'in kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları (n=10, p< 0.001). Sonuçlar, fenilefrin ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir 34
12. 1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında;
a) diltiazem'in oluşturduğu gevşeme yanıtları,
b) 1 μ M sildenafil varlığında diltiazem ile oluşan gevşeme yanıtları 35
13. 1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında;
1 μ M sildenafil varlığında ($\diamond$) ve yokluğunda ($\blacksquare$) diltiazem'in kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları (n=11, p< 0.05). Sonuçlar, fenilefrin ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. 36

14. 1µM fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında;
a) pinasidil'in oluşturduğu gevşeme yanıtları,
b) 1µM sildenafil varlığında pinasidil ile oluşan gevşeme yanıtları 37
15. 1µM fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında;
1µM sildenafil varlığında (◊) ve yokluğunda (■) pinasidil'in kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları
(n=11, p< 0.05). Sonuçlar fenilefrin ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. 38
16. 1µM fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında;
a) metoprolol'ün oluşturduğu gevşeme yanıtları,
b) 1µM sildenafil varlığında metoprolol ile oluşan gevşeme yanıtları 39
17. 1µM fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında;
a) propranolol'ün oluşturduğu gevşeme yanıtları,
b) 1µM sildenafil varlığında propranolol ile oluşan gevşeme yanıtları 40
18. 1µM fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında;
(a) 1µM sildenafil varlığında (◊) ve yokluğunda (■) metoprolol'ün kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları, (b) 1µM sildenafil varlığında (◊) ve yokluğunda (■) propranolol'ün kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları (n=10, p< 0.05).
Sonuçlar fenilefrin ile oluşturulan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. 41

19. 1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında;
a) enalapril'in oluşturduğu gevşeme yanıtları,
b) 1 μ M sildenafil varlığında enalapril ile oluşan
gevşeme yanıtları 42
20. 1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında;
1 μ M sildenafil varlığında (◇) ve yokluğunda (■) enalapril'in
kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları
(n=10, p< 0.05). Sonuçlar fenilefrin ile oluşan
kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. 43
21. Kalsiyum içermeyen yüksek potasyumlu Kreb's
solüsyonundaki LİMA preparatında; a) sildenafil
yokluğunda, b) 1 μ M sildenafil varlığında artan
konsantrasyonlarda eklenen kalsiyumun etkisi 44
22. Kalsiyum içermeyen yüksek potasyumlu Kreb's
solüsyonlu ortamdaki LİMA preparatında 1 μ M sildenafil
varlığında (▲) ve yokluğunda (■) artan konsantrasyonlarda
uygulanan kalsiyumun etkisi (n=7, p< 0.001) . Sonuçlar
miligram kasılma olarak verilmiştir. 45

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge

Sayfa

Tablo 1. Fosfodiesteraz izoenzim ailesinin temel özellikleri 13

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Nitrik oksid (NO), inflamatuvar olayların modülasyonunda ve damar tonusunun regülasyonunda önemli rolü olan küçük reaktif bir moleküldür. L-argininden nitrik oksid sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenir. Bilinen 3 farklı NOS vardır. Bunlardan endotelial NOS (eNOS) ve nöronal NOS (nNOS), inflamasyonun olmadığı durumlarda yapısal olarak eksprese edilir. İnflamasyon gibi durumlarda eksprese edilen indüklenebilir NOS (iNOS) ise inflamasyonda anahtar bir rol oynar. Oluşan nitrik oksid, guanilat siklazı aktive eder ve hücre içinde GTP'yi sGMP'ye dönüştürerek düz kas gevşemesine yol açar. Guanilat siklaz hemen hemen tüm hücrelerden eksprese edilen bir enzim ailesidir. Bakteri toksinleri, peptid hormonlar ve serbest radikaller gibi ekstrasellüler moleküller yanısıra ve kalsiyum ve adenin nükleotidleri gibi intrasellüler moleküller ile de regüle edilir. Penil ereksiyon sırasında non-adrenerjik non-kolinerjik sinir uçlarından ve damar endotel hücrelerinden salınan NO, guanilat siklaz aracılığı ile korpus kavernozumda sGMP düzeyini artırır. sGMP düzeyindeki artma hücre içine kalsiyum girişini azaltırken hücre dışına kalsiyum atılımını artırır. Ayrıca, sarkoplazmik retikulumu giren kalsiyum miktarını artırarak hücre içindeki kalsiyumun azalması ile damar ve trabeküler düz kaslarda gevşemeye, kan akımında artmaya bunu takiben de penil ereksiyona neden olur (1).

Sildenafil erektil disfonksiyon sorunu olan hastaların tedavisinde sıkça kullanılmaktadır. Bu ajan bilinen 7 fosfodiesteraz izoenzimi içinden korpus kavernozumdaki sGMP'yi yıkan başlıca enzim olan fosfodiesteraz 5 enzimini selektif bir şekilde inhibe eder. Enzimin inhibisyonu penil ereksiyon sırasında oluşan sGMP'yi daha da artırarak vasküler ve trabeküler düz kaslarda daha fazla gevşemeye neden olur. Sildenafil hipertansiyon ve diyabet gibi vasküler olmayan ve psikojenik nedenlere bağlı erektil disfonksiyonlarda da etkili olmaktadır.

Erektil disfonksiyon ve koroner arter hastalığı aynı yaşlarda görülmektedir. Her iki sorunun oluşumunda da hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi ve sigara içimi gibi pek çok ortak risk faktörleri bilinmektedir.

Bu nedenle koroner arter hastalığı olan bir kişinin aynı zamanda erektil disfonksiyonu da olabileceğinden ilaç kullanma olasılığı yüksektir. Koroner arter hastalığında öncelikle NO donörü ilaçlar (sodyum nitroprusid, izosorbid dinitrat), selektif veya selektif olmayan β -blokör ajanlar (metoprolol, propranolol), kalsiyum kanal blokörleri (nifedipin, diltiazem), anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (enalapril) ve potasyum kanal açıcılar (pinasidil) gibi çeşitli ilaçlar kullanılmaktadır.

Bazı klinik çalışmalarda koroner arter hastalığı olan bireylerin sildenafili iyi tolere edebildikleri gösterilmiştir (2, 3). Ancak, bu hastalarda sildenafil ile NO donörü bir maddenin birlikte kullanımı kan basıncında aşırı düşme ve dolaşım sorununa bağlı şoka neden olabileceğinden bu ilaçlarla sildenafilin etkileşiminin bilinmesinin önemi artmaktadır.

Koroner yetmezlikli hastalarda hastalığın ilerlemesi ve ilaçlara yeterince yanıt alınamaması nedenleriyle hastanın da durumu uygun ise koroner by-pass ameliyatı uygulanmaktadır. Koroner by-pass ameliyatlarında safen ven veya internal mamarian arter kullanılmaktadır. Safen veninin ven yapısında olması arter amaçlı kullanımı sırasında kısa sürede tıkanmasına neden olur. Ayrıca damarın bacadan alınması ameliyat sırasında ikinci bir müdahaleyi gerektirdiğinden bu damarın by-pass amaçlı kullanım sıklığı azalmıştır. Günümüzde arter yapısında olduğu için fizyolojik açıdan by-pass'a daha elverişli olan ve daha geç tıkanan internal mamarian arter yeğlenmektedir. Bu hastalar koroner by-pass uygulandıktan sonra da daha önce aldıkları ilaç tedavisine devam etmektedir. Bugüne kadar sildenafilin diğer vazodilatör maddelerle olan etkileşimlerini inceleyen az sayıda çalışma yapılmış olsa da bu ilaçlar arasında olası bir etkileşimin direkt koroner arterler üzerinde veya by-pass yapılmış hastalarda kullanılan greft üzerinde etkileri yeterince açık değildir.

Bu çalışmada klinik önemi nedeniyle sildenafil ve koroner arter hastalığının tedavisinde kullanılan bazı ilaçların insan internal mamarian arter preparatına direkt etkilerinin ve etkileşimlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Erektile disfonksiyon

Tarih boyunca, erkek ve kadınlarda seksüel sorunları azaltmak için veya seksüel performansı arttırmak için çeşitli iksirler kullanılmıştır (4). Bilimsel kanıtlardan daha çok kişisel veya kültürel inanışlara dayanan popüleriteleri olan bu maddelerin etkinlikleri ve güvenilirlikleri kanıtlanmış değildir. Daha yakın zamanlarda, santral ve periferik olarak aktif ajanlar ile libido, seksüel uyanış veya orgazm üzerine etkili çeşitli sınıflara ait farmakolojik ajanlar “proseksüel ilaçlar” olarak düşünülmüştür (5). Günümüzde çalışmalar erkeklerde erektil disfonksiyonu (ED) tedavi edecek daha etkili farmakolojik ajanların geliştirilmesi üzerine odaklanmıştır. Bu sınıf ilaçların geliştirilmesi ereksiyonun nörovasküler mekanizması ile ilgili yeni bilgiler ve nonadrenerjik nonkolinerjik (NANK) mekanizmaların rolünün anlaşılmasından sonra hızlanmıştır. Aynı şekilde, ED tedavisinde kullanılan yeni ilaçların etkinliği, ereksiyonun nörokimyası üzerindeki temel çalışmalara katkıda bulunmuştur. ED’deki mekanizmaların daha çok anlaşılması ile, yüksek derecede etkili ve tolere edilebilen klinik tedavilerin geliştirilmesi için potansiyel ortaya çıkmıştır. Kadın ve erkeklerdeki seksüel sorunların üstesinden gelecek seksüel disfonksiyonlara yönelik bu gelişmeler çok önemlidir.

ED nin farmakolojik tedavisinde çağdaş dönem, 1980’lerin başlarında uzun süren ereksiyonu sağlayabilen vasoaktif ilaçların (papaverin, fentolamin) bulunması ile başlamıştır (6). Bu ajanlar, penisteki korporal düz kas dokusunun hızlı dilatasyonunu stimüle ederek ereksiyona neden olurlar. Yan etkilere (örn., ağrı , fibrozis) ve güçlü psikolojik ve bireysel engellere karşın, intrakorporal enjeksiyon tedavisi 1980’lerin sonlarında ED’un tedavisinde geniş çapta kullanılmıştır ve ED tedavisinde korporal düz kas gevşemesi ve vazodilatasyonunun klinik önemini doğrulamıştır. Daha sonraları, etki mekanizması aynı olan örneğin; intraüretral prostaglandin fitillerinin kullanımı gibi ilaçlar eklenmiştir (7). Bu tedaviler penil korporadaki düz kas dokusunun gevşemesini aynı şekilde etkileyebilen oral ajanların geliştirebileceğine olan inancı desteklemiştir.

1990'ların ortalarında yeni bir farmakolojik ajan sınıfının – fosfodiesteraz tip-5 (PDE-5) inhibitörleri – oral olarak alındığında aynı etkiyi gösterdiği saptanmıştır. Bu buluş, sildenafil'in kardiyovasküler hastalıkların tedavisine yönelik araştırmalar sırasında tesadüfen gerçekleşmiştir. Bu keşif ED'nin yaygınlık ve öneminin gösterildiği pek çok çalışma ki bunlardan en göze çarpanı Massachusetts Male Aging Study (8) çalışmasıdır, ile aynı zamana denk gelmektedir. Bu çalışmada yaşları 40 ile 70 arasında değişen diabet, yüksek tansiyon, kalp hastalığı ve depresyon gibi çeşitli risk faktörleri taşıyan 1290 erkeğin %35'inde hafif ile ağır derecede ED belirlenmiştir. 1990'ların başlarında bir başka geniş çaplı epidemiyolojik çalışma olan The National Health and Social Life Survey'de, ED'ü olan erkeklerde yaşam kalitesinde önemli derecede azalma gözlemlenmiştir. Aynı bulgular başka ülkelerde daha sonra yapılan epidemiyolojik çalışmalarda da bildirilmiştir. Bunlar, ED'nin orta yaşlı ve yaşlanan erkeklerde diğer sağlık ve psikososyal faktörlerle büyük ölçüde ilişkili olduğunu gösteren dikkate değer çalışmalardır. ED'nin yaygınlığına ve psikolojik önemine karşın sildenafilen önce az sayıda ED'li hasta tedavi edilebilmiştir (9).

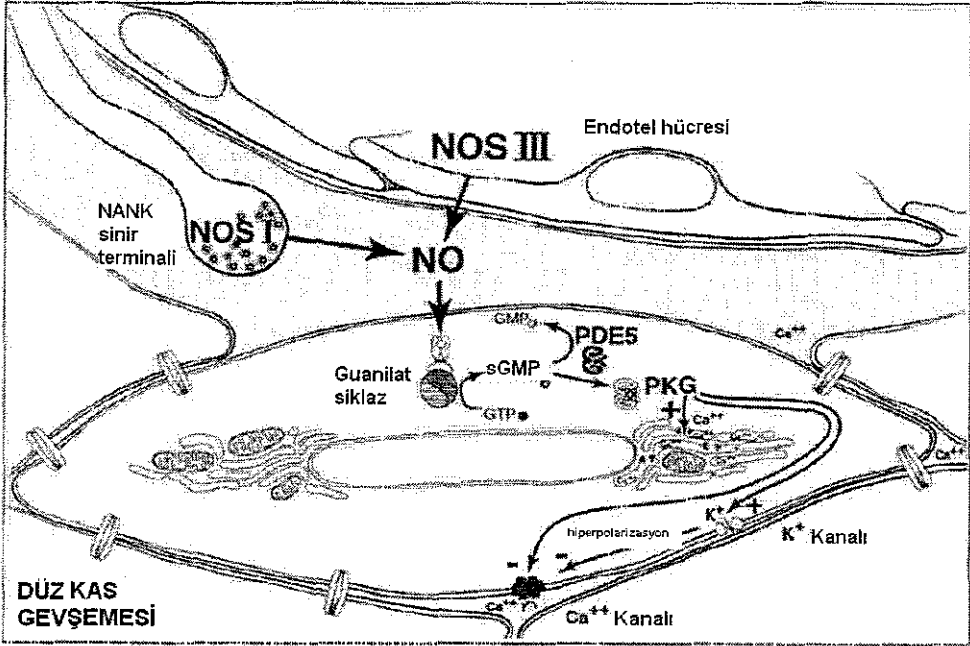
Sildenafil'in keşfi ve onaylanması ile diğer potansiyel terapötik uygulamalara ek olarak, bu sınıftaki diğer moleküllerin geliştirilmesinde yoğun bir merak oluşmuştur. PDE-5'lerin etki mekanizmalarının anlaşılması, bu alandaki klinik araştırma ve uygulamalar üzerinde önemli etkiler oluşturmuş ve kadın ve erkek seksüel disfonksiyonlarıyla ilgili araştırmaları teşvik etmiştir. Sildenafilin keşfi ED'nin farmakolojik tedavisinde sosyal ve tıbbi açıdan oldukça önemli yeni bir çağı başlatmıştır.

Araştırmalar esasen PDE-5 inhibisyonunun erkek erektile fonksiyonu üzerindeki etkilerine odaklansa da, daha sonraki çalışmalarda, bu ilaçlar sağlıklı kadınlar ile seksüel bozukluğu olan kadınlarda da araştırılmıştır. Kadınlardaki seksüel canlanmanın normal fizyolojisi veya dişi seksüel yanıtındaki NO-siklik GMP mekanizmasının rolüne ilişkin bilgiler daha azdır. Kadınlarda PDE-5 inhibitörlerinin klinik deneme sonuçları çelişkilidir ve

yeterince ikna edici değildir (10). Yine de, kadın seksüalitesi üzerine temel ve uygulanmış araştırmaların önemi korunmaktadır.

2.2.Nörolojik Mekanizmalar

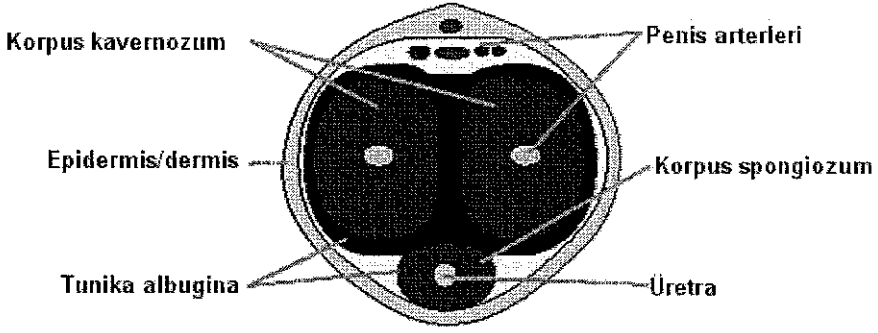
Penil ereksiyonun nörofizyolojik mekanizmasında parasempatik, sempatik ve NANK sistemlerinin etkili olduğu bilinmektedir. Parasempatik pregangliyonik nöronların aksonları pelvik sinirleri ve pelvik gangliyondaki postgangliyonik sinapsları uyarır (Şekil 1). Pregangliyonik nörotransmitter olan asetilkolin nikotinik reseptörler aracılığı ile postgangliyonik sinirleri aktive eder. Postgangliyonik sinirler de kavernöz sinir aracılığı ile penisi inerve eder. Kavernöz sinirin aktivasyonu peniste güçlü bir vazodilatasyona ve düz kas gevşemesine neden olur. Bu inervasyona neden olan nörotransmitter ne ACh ne de katekolaminlerdir. Buna non-adrenerjik non-kolinerjik, sistem denmektedir (11).



Şekil 1: NOS/GS yolu ve düz kasta gevşeme yanıtı

Seksüel uyarıya yanıt olarak kavernöz sinirler ve endotel hücrelerden sitozolik enzim guanilat siklaz (GS) aracılığı ile sGMP oluşumuna neden olan NO salınır. Bu kaskadı izleyen hücre içi kalsiyum düzeyinin azalması

düz kas hücrelerinin ve kavernöz cisimlerin gevşemesine neden olur. Penise kan akımı artar ve sinüzoidal alan genişler, venöz kanın akışının önlenmesi de ereksiyona neden olur. Bu normal süreçlerin hormonal, nörolojik, vasküler veya psikolojik faktörler tarafından bozulması farklı derecelerde erektil disfonksiyona neden olur.



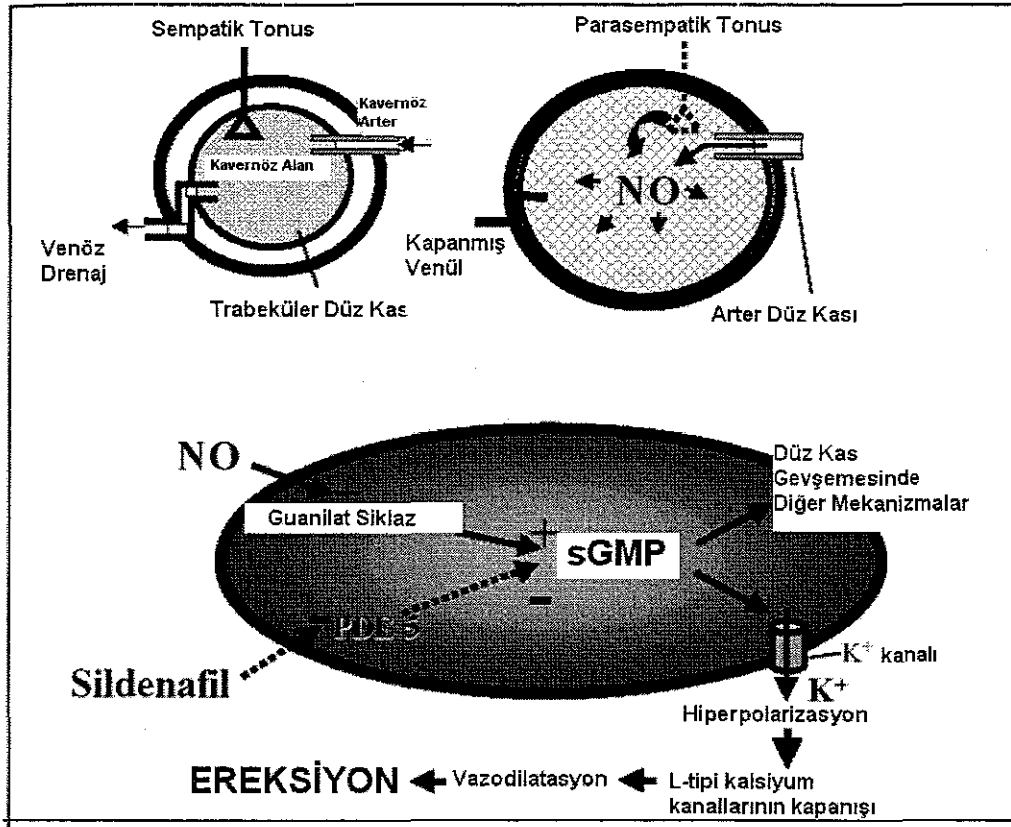
Şekil 2: Penisin anatomik kesiti

Peniste parasempatik inervasyonuna ek olarak sempatik inervasyon da vardır. Sempatik inervasyon dorsal sinir aracılığı ile penise ulaşmaktadır. Sempatik sinirler noradrenerjiktirler ve penis damarlarının vazokonstriksiyonuna neden olurlar. Bu uyarının penisteki sertliği yok etmesi ve yumuşamaya neden olması olasıdır.

Penil ereksiyon penisteki arteriollerin ve düz kas dokusunun gevşemesi sonucu oluşmaktadır. Arteriollerdeki gevşeme korpusa akan kanın artmasına ve trabeküller düz kas gevşemesi de sinüzoidlerin açılmasına neden olmaktadır (Şekil 2). Kasılma basamağı ise kasıcı ve gevşetici mekanizmalar arasındaki dengeye bağlıdır. Kasılma adrenerjik mekanizmalar, endotelin ve prostanoidler aracılığı ile olmaktadır. Gevşemeye ise NO, vasoaktif intestinal peptid (VIP) gibi bazı peptidler ve PGE1 gibi bazı prostanoidler aracılık etmektedir. Asetilkolin gevşetici ve kasıcı mediyatörlerin salınımını etkileyerek de gevşemeyi kolaylaştırıyor gibi görünmektedir (12).

Trabeküler düz kas hücrelerinin fonksiyonel olarak birbirleri ile ilişkili olduklarının belirtilmesi önemlidir. Bu hücreler arasında elektrik akımının ve ikincil mesajcıların geçişini sağlayan kavşak aralıkları bulunmaktadır. Bunun sonucunda inervasyonun tüm hücrelere tek tek yapılması

gerekmemekte, birkaç hücreye yapılan invazyon bu geçişler nedeniyle tüm dokuya yayılabilmektedir (13).



Şekil 3: Ereksiyonda sempatik-parasempatik tonus ve nitrik oksidin rolü

2.3.Penis düz kasının gevşemesi

Penis düz kas dokusunun gevşemesinde çeşitli mekanizmalar yer almaktadır. Bunların arasında adenosin 3', 5' monofosfat (sAMP), guanozin 3', 5' monofosfat (sGMP) artışı, potasyum kanallarının açılması ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artışı sonucu oluşan hiperpolarizasyonda azalma sayılabilir (Şekil 3). Bu mekanizmalar ile etkileşen pek çok yolak vardır. Gevşetici sinyaller arasındaki etkileşim sinerjistik bir etki oluşturabilir (14).

VIP, CGRP ve PGE1 gibi pek çok gevşetici madde hücre içi sAMP düzeyini yükseltir. Bunlar düz kas membranı üzerindeki kendilerine özgü reseptörlere bağlanırlar. Reseptörler en az 3 protein zincirinden oluşmuş stimülatör G proteini ile kenetlidir. Reseptörlerin membran aktivasyonu G

protein kompleksinin ayrışmasına neden olur. Protein zincirlerinden biri siklazı aktive eden adenilat siklaza (AS) bağlanır. Ardından aktive olan adenilat siklaz sAMP üretir.

İkincil ulak sAMP düz kas hücrelerinde pek çok etki oluşturmaktadır. sAMP protein kinaz A (PKA) ve bir miktar da protein kinaz G'yi (PKG) aktive eder. Bu enzimler fosforile olabilen proteinler üzerinde regülatör etki oluşturur. Bu proteinlerden biri olan fosfolamban kalsiyumun sarkoplazmik retikulumda kalmasını sağlayan kalsiyum pompasını inhibe eder. Bu proteinin fosforlanması onun kalsiyum pompası üzerindeki inhibitör etkisini ortadan kaldırıp, hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun azalmasına neden olur (15). Düşük kalsiyum konsantrasyonu da gevşeme oluşturur.

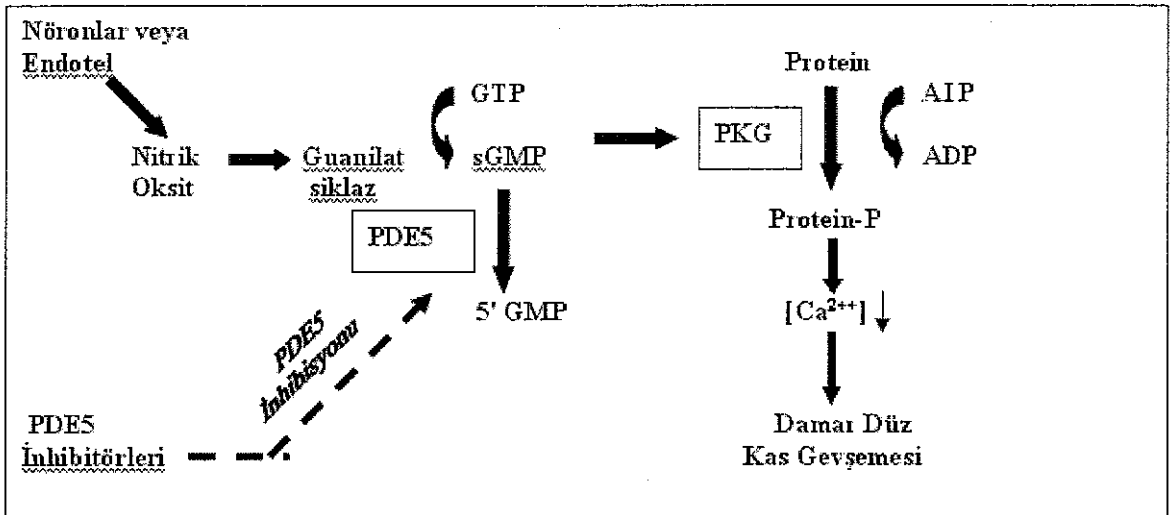
sAMP'nin diğer bir etkisi de PKA aracılığı ile potasyum kanallarını açmasıdır. Normalde hücre dışına göre hücre içinde potasyum konsantrasyonu yüksektir. Potasyum kanallarının açılması potasyumun hücre dışına çıkışına neden olur. Hücre hiperpolarize hale gelir. Bu hiperpolarizasyon depolarizasyon ile açılan, hiperpolarizasyon ile kapanan L-tipi kalsiyum kanallarının kapanmasını sağlar. Hücre içindeki kalsiyumun azalması düz kasın gevşemesine neden olur. Bu potasyum kanallarını direkt açacak ajanlar ED'nin tedavisinde kullanılabilir (16).

2.4.Nitrik oksid ve sGMP yolağı

Olasılıkla peniste düz kas gevşemesinin en önemli kısmı nitrik oksid (NO) aracılı olandır (17). Nitrik oksid nitrik oksid sentaz (NOS) tarafından üretilen ve ömrü kısa olan gaz halinde ki bir ulakçıdır. Peniste iki farklı NOS isoformu nitrik oksid üretiminden sorumludur. NOS tip-I (nöronal, nNOS) parasempatik sinirin inervasyonunun olduğu erektile dokuda yer alır. Diğer NOS formu ise tip-III (endotelial, eNOS) erektile dokudaki endotel tabakasında bulunur. Her iki izoformun rolleri tam olarak bilinmemektedir. Bir olasılık NOS-I tarafından parasempatik sistem aracılığı ile üretilen NO'nun düz kas üzerinde direkt etkiyle gevşemeye oluşturmalarıdır. Ek olarak NOS-III'ü uyarıp endotel hücrelerinden de NO sentezlenmesine

neden olması olasıdır. Nöronal aktiviteyle aşırı miktarda NO üretilmesi NOS-I ve NOS-III'ün birbirlerinin etkisini artırmasından kaynaklanıyor olabilir.

NO erektil düz kasında sGMP ikincil mesajcısını aktive eder. NO hücre zarını geçip sitoplazmadaki solubl guanilat siklaz enziminde yapısal değişikliğe neden olup, onu aktive eder. Aktive olan enzim düz kas gevşemesi ve ereksiyonun da içinde olduğu bir seri olaya yol açan sGMP üretimini sağlar. Artan sGMP PKG ve PKA'nin aktivasyonuna neden olur. Bu aktivasyon kalsiyum girişini, kalsiyum sekestrasyonunu ve hücrenin hiperpolarizasyonunu değiştirip hücreiçi kalsiyum konsantrasyonunu azaltır (Şekil 4).



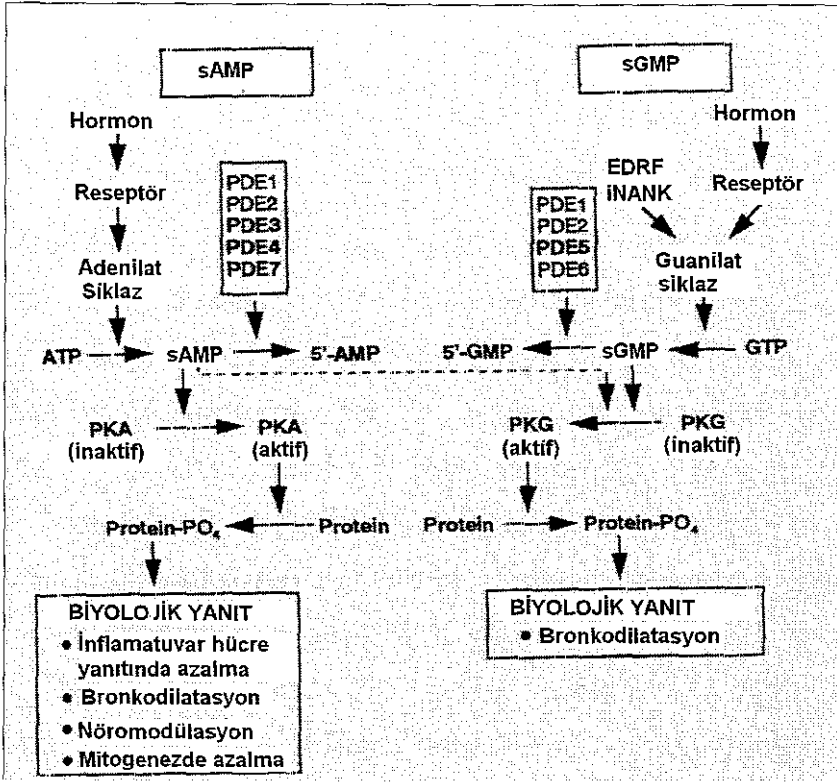
Şekil 4: Kavernöz düz kasta NO-sGMP yolağı ve PDE-5 inhibitörlerinin etkisi

2.5.Fosfodiesteraz İzoenzimleri

30 yıl önce siklik nükleotid fosfodiesteraz (PDE) aktivitesinin keşfedilmesinden bu yana, bu grup enzimler hakkındaki bilgilerde oldukça fazla ilerlemeler kaydedilmiştir (18). PDE aktivitesi, ilk olarak Dr Earl

Sutherland ve çalışma arkadaşlarının adenozin 3',5'-siklik monofosfatı keşfetmesinden kısa bir süre sonra tanımlanmıştır (19). PDE aktivitesinin ilk purifikasyonu ve karakterizasyonu 1962 yılında Butcher ve Sutherland tarafından bildirilmiştir. Bu ve bunu izleyen ilk çalışmalarda kafein ve teofilin gibi metilksantinlerin 3', 5'-pürin riboz siklik monofosfat sAMP ve sGMP'nin 3'- fosfoester bağının hidroliz reaksiyonuna spesifitesi nedeniyle, PDE aktivitesine inhibitör etkili olduğu kabul edilmiştir (20). Sırasıyla adenilil siklaz ve guanilil siklazın stimölasyonu sonucu oluşan sAMP ve sGMP'nin metabolik yıkımı ve biyolojik inaktivasyonu siklik nükleotid PDE'ların enzimatik aktivitesi aracılığıyla olur (21). Siklik nükleotid düzeylerindeki artmanın etkileri dokudan dokuya değişmektedir ve hücre yanıtlarının kontrolünde bu iki intraselüler ikincil ulak'ın göreceli önemi hücre tipine de bağlıdır. Bu fark özellikle iskelet kası dışındaki kas tiplerinde görülebilmektedir. Örneğin; hava yolu düz kasında sAMP ve damar düz kaslarında ise sGMP düzeyinin yükselmesi gevşetici yanıtta önemlidir (22). Aksine kalp kasında doku sAMP içeriğinin yükselmesi dokuyu gevşetmemekte, fakat pozitif inotropik bir etki oluşurmaktadır. Bazı dokulardaki fizyolojik yanıtlarda sAMP ve sGMP birlikte hareket etmektedir (şekil 5)(23).

Primer protein dizilimi ve başlangıç cDNA izolasyonu ve diziliminin belirlenmesi ile bir çok farklı siklik nükleotid PDE gen ailesinin varlığı tanımlanmıştır (19). Bilinen yaklaşık 11 fosfodiesteraz enzim ailesi (PDE 1-11) ve bununla ilgili çeşitli farklılıklar gösteren memelilere ait 21 gen mevcuttur. Bu eşitlilik bu enzimleri sAMP ve sGMP'ye afinitelerinin, kinetiklerinin, farmakolojilerinin ve doku dağılımlarının farklı olmasına neden olmaktadır (24). PDE 4, 7 ve 8 sAMP'ye, PDE-5, 6 ve 9 sGMP'ye spesifik olup, geri kalanlar ise çeşitli derecelerde hem sAMP hem de sGMP'yi etkilerler. Bütün PDE'lar çok iyi korunmuş ve olasılıkla enzimin katalitik bölgesini oluşturan yaklaşık 270 aminoasidlik bir bölge içermektedir.



Şekil 5: sAMP ve sGMP aracılı biyolojik yanıtlar ve fosfodiesteraz izoenzimlerinin etki yerleri

Aminoasid düzeyinde karşılaştırıldığında tüm fosfodiesterazlar kendi ailesi içerisinde birbirleriyle %65 veya daha fazla homoloji gösterirler. Ancak, farklı aileler arasındaki karşılaştırılmada bu benzerlik çoğu katalitik bölgelerinde olmak üzere %40'ın altına düşer (19).

Günümüze kadar incelenen tüm memeli PDE'ların iki katalitik alt ünite dimerleri şeklinde olduğu görülmektedir. Ayrıca, fotoreseptör PDE'lar (PDE VI) sıkıca birleşmiş 11 veya 13-kDa'luk inhibitör alt üniteler de içerirler. Kalsiyum/kalmodulin bağımlı PDE'ların (PDE1) her monomeri, mikromolar düzeylerde kalsiyum varlığında izole edildiğinde kalmodulin molekülüne sıkı bir şekilde bağlanırlar. Bugün izole edilmiş tüm fosfodiesterazların katalitik bölgesinde HDX2HX4N şeklinde sıralanan korunmuş bir 'signatur motif' tanımlanmıştır. Bu sıralı motif PDE aktivitesine sahip olmayan enzimlerde bulunmamaktadır. Bu aminoasidlerin katalitik fonksiyonda önemli olduğu kabul edilmektedir (19).

2.6.Fosfodiesteraz izoenzimlerinin dokulardaki dağılımı

Her bir izoenzim ile ilgili doku dağılım çalışmalarında fosfodiesteraz izoenzimlerinin dağılımlarında belirgin bölgesel farklılıklar görülmektedir. Bazı izoenzimler yaygın dağılım göstermesine karşın (örneğin; tip III izoenzimi kalp, trombosit, bazı düz kaslar, yağ dokusu ve karaciğer), bazıları sınırlı bir dağılım (örneğin; fosfodiesteraz tip VI izoenzimi retina çubuk hücrelerinin dış segmentinde yüksek konsantrasyonlarda) göstermektedir. Tablo 1'de fosfodiesteraz izoenzim ailesinin dağılımları ve oluşturdukları etkiler görülmektedir.

sGMP'ye spesifik ve erektile dokudaki sGMP düzeyinin modülasyonunda esas belirleyici olan PDE-5', erektile fizyolojide en önemli enzim olarak görünmektedir. Bu enzimin insan penisinde 3 izoformu belirlenmiştir (25). PDE-5'in katalitik aktivitesi fosforilasyon ile artmaktadır. Bu fosforilasyon sGMP ile aktive olan PKG ve PKA enzimleriyle oluşmaktadır (26). sGMP ile aktive olan PDE-5, sGMP yıkımını başlatıp negatif feedback oluşturur.

PDE-5 peniste sGMP'nin regülasyonunda en önemli bir fonksiyona sahip olsa da, penis dokusunun dışında aynı zamanda damarlar, gastrointestinal sistem, mesane, prostat, akciğer ve beyinde de varlığı gösterilmiştir (27).

Tablo 1. Fosfodiesteraz izoenzim ailesinin temel özellikleri

İzoform	Doku Lokalizasyonu	Olası Rolü
PDE1	Beyin,kalp,periferel sinirler, düz kas,iskelet kası, karaciğer, böbrek	SSS modülasyonu, vazodilatasyon
PDE2	Böbrek,kalp,korpus kavernozum, iskelet kası,düz kaslar,adrenal korteks	Belirsiz
PDE3	Korpus kavernozum, düz kaslar, trombositler ,karaciğer, böbrek, kalp	Pozitif inotropizm, damar ve havayolu dilatasyonu, trombosit inhibisyonu
PDE4	Böbrek, düz kaslar, kalp,akciğer lenfositleri, iskelet kası	Havayolu dilatasyonu, trombosit inhibisyon, SSS modülasyonu, spermin ve yumurtanın olgunlaşması
PDE5	Korpus kavernozum, damar düz kaslar, trombositler	Penil ereksiyon, vazodilasyon, trombosit inhibisyonu
PDE6	Retina	Fototransdüksiyon

2.7.Fosfodiesteraz inhibitörleri

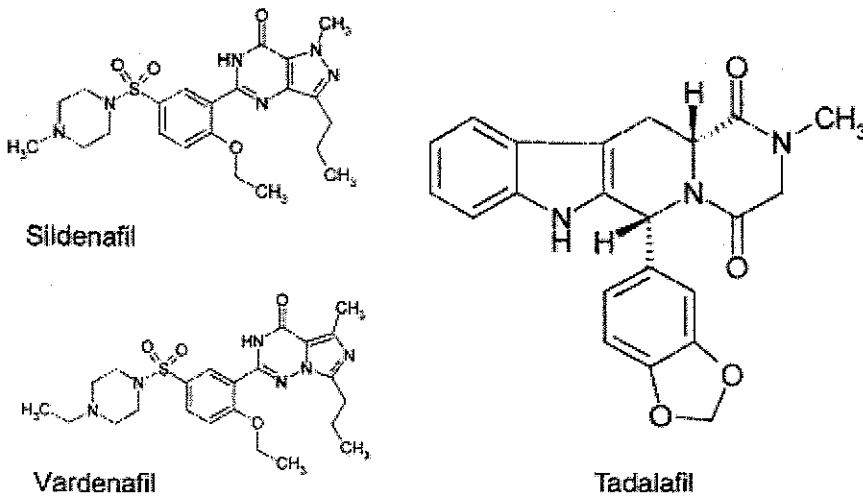
En iyi bilinen selektif olmayan fosfodiesteraz inhibitörü kafein, bir çok fosfodiesteraz enzimini inhibe edip, sAMP artışı oluşturur. PDE ailesinin farklı üyelerinin ve bunların farklı fonksiyonlarının belirlenmesi PDE'leri için selektif inhibitör ilaçların araştırılmasına neden olmuştur. Yaklaşımlardan biri de PDE-5 inhibitörü bir ilacın geliştirilmesine ilişkilidir.

Penil düz kasında olduğu gibi arteriyel düz kasta da sGMP'nin gevşeme oluşturduğu ve sGMP'nin PDE-5 ile yıkıldığı bilinmektedir. Bu yaklaşımla PDE-5 inhibitörlerinin arter yataklarında gevşemeye neden olacağı düşünülmüştür. Bu nedenle başlangıçta amaç anjında koroner arterlerin genişlemesini sağlayacak bir PDE-5 inhibitörü bulmak olmuştur. Sildenafil bu amaçla geliştirilmiş ilk ajandır. İlaç anjında başarısız olsa da çalışmaya katılanlar bu ilacın proerektel etkisini bildirmişlerdir. Bu keşif

sildenafil'in penil ereksiyondaki dilatasyonunda NO/sGMP yolağının rol oynadığının gösterildiği bir zamana denk gelmiş ve ED'deki etkisi için mekanizmaya dayanan gerçekçi bir açıklama sağlamıştır. Bu keşif ED için yeni bir oral tedavi yöntemi ortaya koymuştur.

2.8.Erektile disfonksiyonda PDE-5 İnhibitörleri

ED'de PDE-5 inhibitörleri seksüel stimülasyonla oluşan erektile yanıtı düzeltmekte ve devamını sağlamaktadır. Bu etkiyi korpus kavernozum'da selektif olarak sGMP yıkımını bloke ederek oluşturmaktadırlar (28). Bu ajanlar seksüel uyarının olmadığı ve bunun sonucunda NO salınımının da olmadığı durumlarda ereksiyonun başlaması ve devamını sağlamazlar. Bu grupta oral olarak uygulanan üç ilaç bulunmaktadır. Bunlardan sildenafil prototiptir ve mart 1998'de erkeklerde ED'nin tedavisi için FDA'dan onay almıştır. Diğer iki PDE-5 inhibitörü olan vardenafil ve tadalafil yakın zamanda klinik kullanım için onay almıştır. Günümüze kadar en fazla sildenafil ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Sildenafil farklı etiyoloji ve derecedeki ED'lerin tedavisinde etkilidir ve iyi şekilde tolere edilebilmektedir. Bu ilaç erkeklerle ilgili diğer fonksiyon bozukluklarında da denenmektedir (örn. prematüre ejakülasyon) (Şekil 6).



Şekil 6: Fosfodiesteraz 5 inhibitörlerinden sildenafil, vardenafil ve tadalafil'in moleküler yapıları

2.9.PDE-5 inhibitörlerinin farmakokinetikleri

Üç inhibitör arasında etkinin başlaması ve süresi açısından önemli farklılıklar vardır. Sildenafil oral olarak uygulandıktan sonra tam olarak gastrointestinal yoldan emilip bir saatte maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır, yarılanma ömrü 3,7 saattir ve %96 oranında plazma proteinine bağlanır, biyoyararlanımı %40 oranındadır (29) Vardenafilin absorpsiyonu biraz daha hızlıdır, 40 dakikada maksimum konsantrasyona ulaşır, yarılanma ömrü ise 4 ile 5 saattir. Tadalafil maksimum plazma konsantrasyonuna 2 saatte ulaşır, yarılanma ömrü yaklaşık 17,5 saattir. Bu uzun yarılanma ömrü ilaç uygulandıktan 24 saat sonra bile terapötik kan düzeyinin olabileceğini göstermektedir. Bu sürenin uzunluğunun hasta için yararlı olup olmadığı açık değildir.

Diğer ilginç bir farklılık ise, besinlerle alındığında tadalafil'in etkisinin değiştirmemesidir. Sildenafil'de ise besinler, emilimi bir saate kadar geciktirmekte ve plazma konsantrasyonu % 29 daha düşük olmaktadır.

2.10.Sildenafilin PDE-5 için selektivitesi

Tüm farmakolojik ajanların değerlendirilmesinde olduğu gibi PDE-5 inhibitörlerinin değerlendirilmesinde de selektivite bir kriterdir. Bu ajanlardan PDE-1 ve PDE-6 dışında kalan PDE'ler için IC50 değerleri 1000-19000 kat daha yüksektir. Sildenafil'in PDE-1 için IC50 değeri yaklaşık 280 nM, PDE-6 için ise 33 nM'dir (30).

PDE-6 yalnızca retinada eksprese edilirken PDE-1 vasküler dokularda geniş bir şekilde eksprese edilmektedir. PDE-5 inhibitörlerinin PDE-1 ile çeşitli damar yataklarında etkileşimleri flushing, baş ağrısı, nazal konjesyon gibi olası yan etkilerden sorumludur (31). PDE-5'in inhibisyonu da bu yan etkilerde rol alıyor olabilir. PDE-6 ile etkileşim görme ile ilgili yan etkilerden sorumlu tutulmaktadır (32). Bu üç PDE-5 inhibitörün selektivite farklılıklarının nedeniyle yan etkileri farklı olabilmektedir.

PDE-5 inhibitörlerinin bazı yan etkileri direkt PDE-5'in inhibisyonuna bağlanabilir. Penil olmayan yataklardaki PDE-5'in inhibisyonu NO/sGMPnin vazorelaksan etkisini potansiyelize edebilir. PDE-5'in diğer vasküler dokularda yaygın bir şekilde dağılımına karşın etkisinin göreceli olarak penil dokuda sınırlı olmasının nedeni açık değildir. Olası bir neden, PDE-5 inhibitörlerinin aktive olmuş NO/sGMP sisteminin etkisini potansiyelize edebileceğidir.

Göreceli olarak, en sık yan etki dispepsi veya özefajial reflüdür. Bunun nedeni özefagus ve alt özefajial sfinkterde varlığı bilinen PDE-5'in inhibisyonudur. PDE-5 inhibitörlerinin alt özefajial sfinkter gevşemesini potansiyelize ettiği ve buna bağlı istenmeyen semptomlar oluştuğu gösterilmiştir (33).

2.11.Sildenafil'in spesifik etiyolojilerdeki etkinliği

Spesifik etiyolojisi olan gruplar üzerinde geniş çalışmalar yapılmıştır. Diyabet, kalp ve omurilik hasarları olan hastalar ile, prostat kanseri ve depresyonu olan hastalar üzerinde geniş bir şekilde çalışılmıştır.

Diyabet:

Bu grup hastada uygulanan sildenafil ereksiyonun devamında ve süresinde fazla etkili olamamıştır. Bunların aksine ereksiyonun oluşmasında anlamlı bir düzelmeye neden olmuştur. Bu hasta grubunda başağrısı flushing, dispepsi gibi daha önce bahsedilenlerle benzer ve aynı sıklıkla yan etkiler görülmektedir (34).

Omurilik zedelenmesi:

Omuriliği zedelenmiş hastalarda peniste nöral aktivitenin kaybı nedeniyle ağır ED görülmektedir. Bu hastalar üzerinde sildenafil ile yapılan çalışmalarda hastaların % 80-88'inde ereksiyon gözlenmiştir. Yan etki diyabetli hasta grubundan daha sık olarak bildirilmiştir (35).

Kalp Hastalığı:

357 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada sildenafil'in hastaların % 70'inde ereksiyonu düzelttiği gösterilmiştir. Bu hasta grubunda normale göre daha fazla (% 25 baş ağrısı, %14 flushing, %12 dispepsi) yan etki gözlemlenmiştir. Yine de ağır kardiyovasküler yan etkilerin sıklığında artma olmamıştır (36).

Postradikal Prostatektomi:

Eretil disfonksiyon prostat kanseri nedeni ile yapılan prostatektomi veya uygulanan radyasyon tedavisini takiben sıklıkla gelişir. Pek çok araştırmacı radikal prostatektomi ameliyatından sonra gelişen ED'de sildenafil'in güvenilirliğini ve etkinliğini araştırmışlardır (37, 38). Araştırmalar radikal prostatektomi ameliyatı sonrasında gelişen ED'nin düzeltilmesinde sildenafil'in organik etiyolojisi olan ED'lere göre daha az başarılı olduğunu göstermişlerdir. Çalışmalar cerrahi sırasında sinirleri korunan hastaların korunmayanlara göre sildenafil'e daha iyi yanıt verdiğini göstermişlerdir. Yan etkiler %28 baş ağrısı, %21 flushing, %6 dispepsi ve %5,4 nazal konjesyon olarak bildirilmiştir.

Depresyon:

Epidemiyolojik çalışmaların sonuçları ED ile depresyon semptomlarının birlikteliğini güçlü bir şekilde göstermektedir. 152 depresyonlu hastayı içeren bir çalışmada sildenafil'in çok etkili olduğu gösterilmiştir. Depresyonun tedavi edilmemesi ise sildenafil'in etkinliğini azaltmamıştır. Hatta sildenafil tedavisinin ruhsal durumda ve yaşam kalitesinde artmaya neden olduğu belirtilmiştir. Yan etki sıklığı yukarıda bahsedilen etiyolojilerle benzer bulunmuştur (39).

Selektif serotonin re-uptake inhibitörleri (SSRI) kullanan hastalarda da sildenafil etkinliği çalışılmıştır. Bu grupta da sildenafil etkili bir şekilde ED'yi düzeltmiştir.

Özet olarak, spesifik etiyolojileri olan hasta alt grupları üzerinde pek çok çalışma yapılmıştır. Sildenafil nörolojik veya psikiyatrik etiyolojisi olan hastalarda çok etkili olmuşken, diabetli hastalarda etkinliği düşük bulunmuştur. Benzer şekilde postradikal prostatektomili hastalarda da daha düşük yanıt alınmaktadır.

2.12.Sildenafil ile İlaç Etkileşimleri

Antihipertansif Ajanlar

Eretil disfonksiyon daha çok hipertansiyon veya antihipertansif ilaçların kullanımı ile birlikte görülür (40). Günümüzde sıklıkla kullanılan başlıca 5 antihipertansif ajan sınıfı mevcuttur. Bunlar β -blokörler, α_1 -adrenoseptör antagonistleri, diüretikler, ADE inhibitörleri ve kalsiyum kanal blokörleridir. Sildenafil antihipertansif ilaç alan hastalara verildiğinde kan basıncında hafif ilave düşüşler görülür (41). Klinik denemeler yukarıda belirtilen sınıflara ait herhangi bir antihipertansif ilaçla birlikte alındığında sildenafilin iyi tolere edildiğini göstermiştir (42, 43). Antihipertansif tedaviye eklendiğinde sildenafilin yan etkilerinin (ciddi yan etkiler de dahil) sıklığı ve şiddeti, plasebo eklenmesine göre farklı bulunmamıştır.

Hipertansiyon hastası 16 erkekle yapılan bir çalışmanın sonuçları, sildenafil'in amlodipin ile birlikte verilmesinin kan basıncının düşmesinde sinerjistik etkiden daha çok ilave etki oluşturduğunu göstermiştir. Sinerjizmin görülmemesi olasılıkla amlodipin'in NO-sGMP yolağı üzerinden etki yapmamasındandır. Sildenafil ve diğer kalsiyum kanal blokörleri arasında aynı etki beklenebilir (43).

Bir veya daha fazla antihipertansif ilaç uygulanan 1685 erkeği içeren 18 plasebo-kontrollü denemede, sildenafil'in antihipertansif tedavi ile birlikte iyi tolere edildiği ve antihipertansif tedaviden bağımsız olarak erektile disfonksiyon tedavisinde eşit derecede etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Antihipertansif tedavinin yanında sildenafil tedavisi alan hastalarda bildirilen hipotansiyon, baş dönmesi, senkop, baş ağrısı, kızarma ve dispepsi gibi yan etkilerin oranı antihipertansif tedavi alan fakat sildenafil almayan hastalarinki ile aynı bulunmuştur. Sildenafil

antihipertansif tedavi ile oluşan kan basıncıdaki dūřmeyi az miktarda artırmıştır. Çok sayıda antihipertansif ilaç alan hastalarda sildenafil ile plasebo arasında yan etki oranları arasında fark bildirilmemiştir.

Nitratlar

Sildenafil, nitratlarla önemli derecede hipotansiyon oluşturarak yaşamı tehdit edecek şekilde etkileşime girer. Nitratlar NO kullanımının artmasına yol açacak şekilde NO donörleri olarak etki ederler. NO-aracılı sGMP oluşumunda artış ve vasküler düz kasta sildenafil aracılı PDE-5 inhibisyonu ile gerçekleştirilen sGMP katabolizmasında kısmi inhibisyon önemli derecede vazodilatasyona yol açar. Sildenafil ile NO-donörü ilaçların kombinasyonu kan basıncında önemli ölçüde dūřuřlere neden olan vazodilatör etkileri güçlendirir.

Kronik stabil anjinalı hastalarda, sildenafil'in izozorbid mononitrat veya dilaltı nitrogliserin (gliseril trinitrat) ile birlikte uygulanımının etkileri ile ilgili bir çalışma sadece nitrat alan hastalarda kan basıncı -25/-15 ve -26/-12 mm Hg ile karşılaştırıldığında sırasıyla -52/-29 ve -36/-21 mm Hg dūřmüřtr (44). Sağlıklı erkek gönüllülerde sildenafil ve nitratın kan basıncı üzerine ilave etkilerinin değerlendirilmesi ile kan basıncında ortalama 25 mmHg dūřuř bildirilmiştir. Bu nedenle sildenafil alınımindan sonraki 24 saat içinde nitratların kullanımı kontrendikedir. Bunun yanında, sildenafil alınımindan ne kadar zaman sonra nitrat alınımına izin verilmesinin güvenli olduğu tam olarak kesin değildir.

Khoury ve Kiritharides koroner anjiyoplasti geçirmiş 72 yaşındaki bir hastada diltiazem (bir sitokrom P450 [CYP] 3A4 inhibitörü), sildenafil ve nitratlar arasındaki olası bir etkileşimi bildirmişlerdir (45). Günde üç kez 30 mg diltiazem ile düzenli tedavi alan bu hastaya göğüs ağrısını geçirmek için dilaltı nitrat tableti verilmiştir. Ancak anjiyoplastiden 48 saat önce 50 mg sildenafil aldığı bilinmemektedir. 190/90 mm Hg olan kan basıncı nitrat verilmesinden sonra iki dakika içinde 90/60 mm Hg'ye dūřtė görülmüştür. Bu etki CYP3A4 tarafından metabolize edilen sildenafil'in

klerensinin diltiazem ile azaltılması sonucu metabolize edilemeyen sildenafil ile nitratların sinerjistik etkileşimi ile ortaya çıkmıştır (46).

2.13.Koroner Arter Hastalığı

Koroner arter hastalığı, çoğunlukla kalbi besleyen büyük ve orta çaptaki arterlerin subintima katında ateroskleroz çökmesi sonucu oluşur. Ateroskleroz tipik olarak sinsi başlar, sıklıkla değişik damarları düzensiz şekilde tutar (47).

Koroner arter hastalığında risk faktörleri

Hemostazda, trombositler damar duvarına yapışmadan duvarın endotel hücre tabakası ile yakın temasta dolaşmaktadır (48) Bununla birlikte, patolojik durumlarda trombositler lezyon bölgesine sıkıca tutunarak endotel hücrelerinin değişimlerine (örn., yağ çizgisi oluşumu, plak yırtılması) ve subendotel yapıların açığa çıkmasına neden olur (49). Trombosit kümeleri (trombus) daha sonra oluşur ve kardiyovasküler iskemik olaylara eşlik ederler. Ayrıca, ateroskleroz/koroner arter hastalığı, diabetes mellitus, hiperkolesterolemi, hipertansiyon, ve sigara kullanımı gibi çeşitli risk faktörleri taşıyan deneklerde trombositlerin aşırı kümeleşmeye eğilimli olduğunu gösteren kanıtlar da vardır.

Diyabetes Mellitus

Diyabetli hastalarda, diyabetli olmayanlara göre koroner arter hastalığı kardiyovasküler sistemle ilişkili ölümlerin üç kat daha fazla görülmesine neden olmaktadır (50). Ayrıca, miyokard enfarktüs öyküsü olmayan diyabet hastalar, diyabeti olmayan enfarktüs öyküsü olan hastalarla, aynı derecede enfarktüs riski taşırlar (51).

Bu artan riski açıklayan mekanizmalar yeterince anlaşılamamıştır; fakat trombositlerin aşırı kümeleşme eğiliminin, en azından kısmen, bahsedilen yüksek riske neden olduğunu düşündürecek kanıtlar vardır.

Trombositlerin ekstraselüler matrikse yapışma eğilimi karşılaştırılırken, tip II diabeti olan hastalardan alınan trombositlerin,

diyabet hastası olmayan deneklerden alınan trombositlerden daha fazla aktivasyon gösterdikleri bildirilmiştir (52). Bu sonuçlar diyabetik sıçan veya insanlardan alınan trombositlerinde kümeleşmedeki veya aktivasyondaki artış Ida ve arkadaşlarının çalışmaları (53) ile diğer çalışmalardan elde edilen bulgularla uyuşmaktadır (54, 55). Trombositlerin yüksek kümeleşmesinin gösterilmesi ile birlikte, aynı yaştaki diyabetik olmayan deneklerle karşılaştırılan tip II diyabet hastalarından elde edilen trombosit örneklerinde önemli derecede spontan trombosit kümeleşmesi gözlenmiştir (56).

Hiperkolesterolemi

Ateroskleroz, damar sisteminin duvarları içinde kısmen kolesterolün devamlı birikmesi ve daha spesifik olarak düşük yoğunlukta lipoprotein (LDL) kolesterolün birikimi ile oluşan inflamatuvar bir hastalıktır. Hiperkolesterolemili hastalarda damar yapısının ve bütünlüğünün etkilenmesinin yanında, ayrıca fonksiyonu bozuk trombositlerin de olması sürpriz olmayacaktır.

Ayrıca, aynı yaştaki kontrol denekleri ile karşılaştırıldığında hiperkolesterolemili hastalarda, β -tromboglobulin ve diğer trombosit aktivasyon belirteçlerinin yükseldiği gözlenmiştir. Aoki ve ark., hiperkolesterolemili hastalarda hipertrigliseridemili ve kontrol gruplardan farklı olarak, trombosit-bağımlı trombin üretiminin arttığını bildirmişlerdir (57).

Hiperkolesterolemili deneklerdeki trombosit disfonksiyonunun gözlemlenmesi, okside-LDL'nin pro-agregant olarak etki ettiğini gösteren bir sıra deneylerin yapılmasını sağlamıştır. Okside-LDL'e maruz kalmış trombositler dolaşım sırasında endotel hücrelerine yapışmayı arttıracak şekilde şekil değişikliğine ve psedopodia oluşumuna uğrarlar (58)

Hipertansiyon

Kjeldsen ve ark. (59) tedavi edilmemiş esansiyel hipertansiyonlu erkeklerde trombosit aktivasyonunun bir belirteci olan β -tromboglobulinin

plazma konsantrasyonlarını ölçmüşlerdir ve β -tromboglobulinin plazma konsantrasyonunun kontrol grubundaki sağlıklı normotansif erkeklerdeki düzeyden çok daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu gözlemlere uygun olarak, esansiyel hipertansiyonlu deneklerde trombosit aktivitesinde artma diğer araştırmalarda da gözlenmiştir (60, 61).

Bazı çalışmalarda esansiyel hipertansiyonlu hastalardaki trombosit disfonksiyonunun antihipertansif ilaç tedavisini takiben normale dönebileceği gösterilmiştir. Islim ve ark., β -adrenerjik blokörler veya diüretiklerle tedavi edilen esansiyel hipertansiyonlu kişilerde trombosit aktivasyon derecesinin tedavi edilmeyenlere göre önemli ölçüde farklılık göstermediğini saptanmıştır (62). Bunun yanı sıra, anjiotensin dönüştürücü enzim inhibisyonunda, kontrol denekler ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde düşük plazma β -tromboglobulin konsantrasyonu olduğu gösterilmiştir. Moser ve ark., kaptopril, enalapril ve fosinopril'in anti-trombosit özelliklerini karşılaştırmışlar ve bunların bir dizi agonistlerin indüklendiği trombosit kümeleşmesini önemli ölçüde etkilemediğini, ancak fosinopril ile tedavi edilen hipertansiyonlu hastalardan alınan trombositlerin ürettiği TXB2 düzeyinde önemli azalma olduğunu bildirmektedir (63).

Sigara Kullanımı

Sigara kullanımı ile koroner arter hastalığı arasında yakın ilişki bulunmaktadır. Bazı araştırmalarda sigaranın trombositlerin kümeleşme eğilimini arttırdığı gösterilmiştir (64). Ayrıca sigara kullananlarda kullanmayanlara göre epinefrinin indüklediği spontan trombosit kümeleşmeleri görülmektedir (65).

Hiperhomosisteinemi

Epidemiyolojik çalışmalarda hiperhomosisteineminin hiperlipidemi, sigara kullanımı ve hipertansiyon gibi faktörlerden bağımsız prematür periferik arter hastalığına, serebrovasküler hastalıklara ve koroner arter hastalığına eşlik ettiği gösterilmiştir (66). İzole endotel hücrelerine

homosistein'in eklenmesi endotel kaynaklı NO'nun salınımında bozukluğa neden olur ve hücrelerin kopmasını indükler. Ayrıca, insan dışı primatlardaki metionin ile oluşturulan orta derecede hiperhomosisteinemi anormal vazomotor aktiviteye neden olur (67, 68, 69).

İnsanlarda homozigot homosistinüri'ye aterosklerozda hızlanma ve tromboz ve 4 yaşına kadar olan çocuklarda endotel disfonksiyonu eşlik eder. Ayrıca, hiperhomosisteinemi'den başka bilinen herhangi bir vasküler risk faktörü taşımayan kişiler, arteriyel endotel-bağımlı akım-aracılı vazodilasyonda bozulma gösterir. Bu grupta, hiperhomosisteinemide böbrek bozukluğu veya folat ve B12 vitamininde yetersizlikler görülmemiştir. Sağlıklı gönüllülerde metionin tedavisi sırasında folat uygulanması plazma homosistein düzeylerini etkilemeksizin endotel fonksiyon bozukluğunu onardığı gösterilmiştir (70). Hiperhomosisteinemi aynı zamanda trombosit aktivasyonunu da etkiler. Homosistinürik hastalarda trombosit aktivasyonunda artma ile birlikte anormal yükseklikte TXA2 biyosentezi oluşur (71). Ek olarak, homosistein hızla plazmada kendiliğinden okside olur ve sonuç olarak, süperoksit anyonu, hidroksil kökü ve hidrojen peroksit gibi oksijen radikalleri oluşur. Hidroksil radikali daha sonrasında peroksidasyonu başlatır. Di Minno ve ark., düşük-dansiteli lipoproteinin oksidatif modifikasyonunu önleyen probukol'un homosistinürik hastalara kısa dönemli uygulanmasının TXA2 biyosentezini %40-60 azalttığını, sağlıklı gönüllülerde ise TXA2 biyosentezinin etkilenmediğini göstermişlerdir (72). Bu çalışmada TXA2 biyosentezindeki azalma ne plazma homosistein düzeyleri ne de plazma kolesterol düzeyleri ile ilişkili bulunmamıştır.

3.GEREÇ ve YÖNTEM

3.1.Dokunun Elde Edilişı

Kalp ve damar cerrahisinin rutin by-pass ameliyatı sırasında zedelenmeden aldığı internal mamarian arter (LİMA) örneği vakit geçirilmeden 4°C'deki %95 O₂ ve %5 CO₂ içeren gaz karışımı ile tamponlanmış (mM) NaCl: 118,2 KCl: 4,7 MgCl: 1,2 CaCl:2,5 KH₂PO₄:1,2 NaHCO₃:25,0 Glukoz:10 içeren solüsyona alınıp laboratuvar ortamına taşındı. Artere zarar verilmeden çevre dokular temizlendi ve 3-4mm uzunluğunda halka şeklinde kesilip 37°C'de ve yukarıdaki solüsyonu içeren organ banyosuna asıldı. Yanıtlar izometrik TDA 96 Transducer Data Acquisition sistem aracılığı ile kaydedildi. Doku 2g istirahat gerilimi altında her 15 dakikada bir yıkanarak 60 dakika dinlendirildikten sonra submaksimal konsantrasyonda fenilefrin ile kasıldı. Daha sonra 1µM asetilkolin uygulandı ve asetilkoline %50 ve üzeri gevşeme yanıtı veren dokuların endoteli sağlam kabul edildi. Endoteli sağlam dokular birkaç defa 40mM K⁺ solüsyonuyla kasıldı ve bu işlem sabit bir kasılma elde edilinceye kadar tekrarlandı.

3.2.Deney protokolü

Sildenafil'in internal mamarian arter üzerinde oluşturduğu gevşetici etkide, NO-guanilat siklaz yolağının rolü

NOS inhibitörü L-NAME (100 µM) veya guanilat siklaz inhibitörü ODQ (10 µM) organ banyosuna inkübe edildi ve 20 dakika sonra doku fenilefrinle submaksimal kasıldı. Kasılma yanıtı platoya ulaştığında sildenafil (10⁻⁹-10⁻⁴M) kümülatif şekilde uygulanarak konsantrasyon-bağımlı gevşeme yanıtları alındı. Bu inhibitörlerin varlığında ve yokluğunda sildenafil'in oluşturduğu gevşeme yanıtları karşılaştırıldı.

Koroner arter hastalığının tedavisinde kullanılan ilaçların internal mamarian arter üzerine etkileri

a) Dokular fenilefrinin submaksimal konsantrasyonu ile kasıldı ve kasılma platoya ulaştığında izosorbid dinitrat (10^{-10} - 10^{-4} M), sodyum nitroprussid (10^{-12} - 10^{-5} M), propranolol (10^{-9} - 10^{-2} M), metoprolol (10^{-5} - 10^{-2} M), pinasidil (10^{-9} - 10^{-3} M), diltiazem (10^{-9} - 10^{-3} M), enalapril'in (10^{-10} - 10^{-4} M) her biri ortama kümülatif olarak eklenerek konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edildi.

b) Tedavi sırasında insanlarda oluşan ortalama konsantrasyon olan 1μ M sildenafil ile 10 dakika inkübasyon sonrasında, submaksimal konsantrasyonda fenilefrin eklenmesiyle oluşan kasılma yanıtlarının platoya ulaşması beklendi. Daha sonra yukarıda belirtilen ajanların her birinin ortama kümülatif uygulanmasıyla oluşan yanıtlar kaydedildi

Sildenafil'in kalsiyum üzerinden olan etkisi

Dokuların 60 dakikalık dinlenme periyodundan sonra banyo içeriği yüksek potasyumlu (80mM) ve kalsiyum içermeyen solüsyonla değiştirildi. Daha sonra sildenafil (1μ M) inkübe edilen ortama banyo konsantrasyonu 2,4 M olacak şekilde artan dozlarda kalsiyum klorür ($3 \times 0,8$ M) eklenerek konsantrasyon-yanıt eğrisi alındı. Sildenafil varlığında ve yokluğunda elde edilen yanıtlar karşılaştırıldı.

3.3.Deneylerde kullanılan ilaçlar

- Fenilefrin, asetilkolin, sodyum nitroprussid, L-NAME, diltiazem ve metoprolol distile su,
- Sildenafil, pinasidil, izosorbid dinitrat, ODQ ve propranolol dimetil sülfoksit (DMSO),
- Enalapril ise etil alkolde çözöldü.

3.4.İstatistiksel analiz

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi. pD2 (-logEC₅₀) değerleri konsantrasyon-yanıt eğrilerinden non-lineer regresyon analizi kullanılarak elde edildi. Sonuçlar Student's t testi ve Fisher'in post hoc testi'ni takiben tek yönlü ANOVA testi kullanılarak değerlendirildi.

4.SONUÇLAR

Kalp Damar Cerrahisi tarafından çıkarılan LİMA, oksijenlenmiş, soğuk (4° C'de) krebs solüsyonu ile laboratuara taşındıktan sonra doku diğer parçalardan temizlenip, 1-3 cm uzunluğunda LİMA elde edildi. 2-3 mm uzunluğunda kesilerek hazırlanan ve organ banyosuna asılan LİMA preparatları 2 g gerilim altında 60 dakika dinlenmeye bırakıldı. Dinlenme süresince dokunun gerilimi yavaş bir şekilde düştüğünden, her defasında gerilim tekrar 2 grama ayarlandı. Dinlenme periyodu sonunda fenilefrin ile kasılan dokuya asetilkolin uygulanarak endotelin sağlamlılığına bakıldı ve endoteli %50'den daha az sağlam olan preparatlar deneyden çıkarıldı. Sildenafil inkübe edilen LİMA preparatlarının, inkübasyonsuz olanlara göre 20 ± 3 oranında daha az kasıldığı gözlemlendi.

4.1.Sildenafil ile oluşan gevşeme yanıtlarında NO/sGMP yolağının rolü

1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında, kümülatif olarak uygulanan sildenafil (10^{-10} - 10^{-4} M) konsantrasyona bağımlı gevşeme yanıtı oluşturdu ve pD₂ değeri $5,2 \pm 0,3$ (n=11) olarak belirlendi. NO sentaz inhibitörü L-NAME (100 μ M) ile inkübasyon, sildenafil'in oluşturduğu gevşeme yanıtını maksimum yanıt değiştirmeksizin (%100,7 $\pm$ 3,1) sağa kaydırıldı. pD₂ değeri $4,4 \pm 0,3$ (n=11, p<0,001) olarak hesaplandı. Benzer şekilde guanilat siklaz inhibitörü ODQ (10 μ M) varlığında da sildenafilin gevşeme yanıtında (%96,4 $\pm$ 4,3) sağa kayma gözlemlendi (pD₂=4,1 $\pm$ 0,2, p< 0,001) (Şekil 8).

4.2.Sildenafil ile oluşan gevşeme yanıtlarına izosorbid dinitrat ve sodyum nitroprusid'in etkisi

LİMA preparatında NO donörleri izosorbid dinitrat (10^{-10} - 10^{-4} M) ve sodyum nitroprusid'in (10^{-12} - 10^{-5} M) kümülatif uygulanmasıyla konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtı oluştu. $1\mu\text{M}$ sildenafil varlığında izosorbid dinitrat ve sodyum nitroprusid'in oluşturduğu gevşeme yanıtları sola kaydı. (Şekil 11a ve b) Sildenafil varlığında ve yokluğunda izosorbid dinitrat'ın pD2 değeri sırasıyla $6,62 \pm 0,24$ (n=10), $6,42 \pm 0,23$ (n=10, $p < 0,001$) olarak hesaplandı. Sodyum nitroprusid için sildenafil varlığında ve yokluğunda pD2 değerleri sırasıyla $7,91 \pm 0,22$ (n=11) ve $7,32 \pm 0,26$ (n=11, $p < 0,001$) olarak bulundu.

4.3.Sildenafil ile oluşan gevşeme yanıtlarına diltiazem'in etkisi

LİMA preparatında bir kalsiyum kanal blokörü olan diltiazem'in (10^{-9} - 10^{-3} M) kümülatif olarak eklenmesiyle doz-bağımlı gevşetici yanıt oluştu. $1\mu\text{M}$ sildenafil varlığında ve yokluğunda diltiazem'in oluşturduğu gevşeme yanıtında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ve pD2 değerleri sırasıyla $4,72 \pm 0,32$ (n=11) ve $4,74 \pm 0,23$ (n=11, $p = 0,89$) olarak bulundu (Şekil 13).

4.4.Sildenafil ile oluşan gevşeme yanıtlarına pinasidil'in etkisi

LİMA preparatında bir potasyum kanal açıcı olan pinasidil'in (10^{-9} - 10^{-3} M) kümülatif olarak uygulanmasıyla gevşetici etki oluştu. $1\mu\text{M}$ sildenafil varlığında ve yokluğunda pinasidil'in oluşturduğu gevşeme yanıtında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ve pD2 değerleri sırasıyla $4,79 \pm 0,21$ (n=9) ve $4,71 \pm 0,32$ (n=11, $p = 0,99$) olarak bulundu (Şekil 15).

4.5.Sildenafil ile oluşan gevşeme yanıtlarına metoprolol ve propranolol'ün etkileri

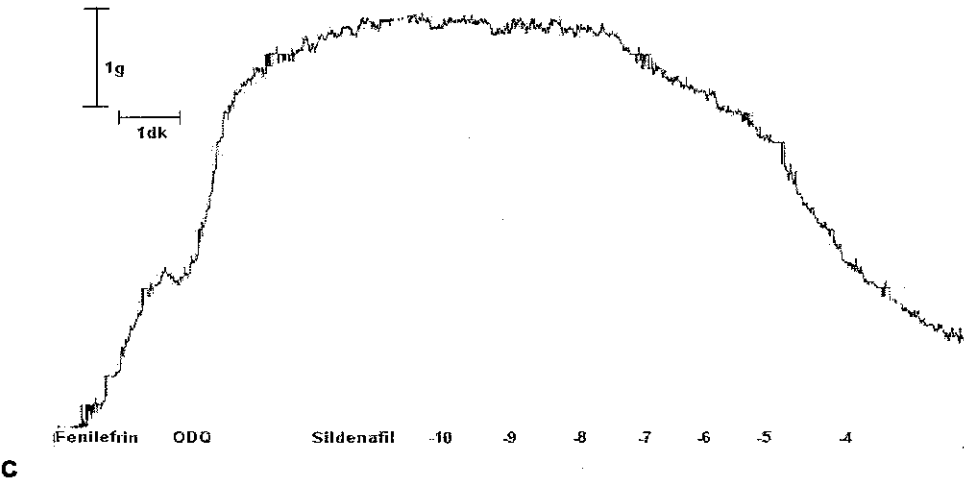
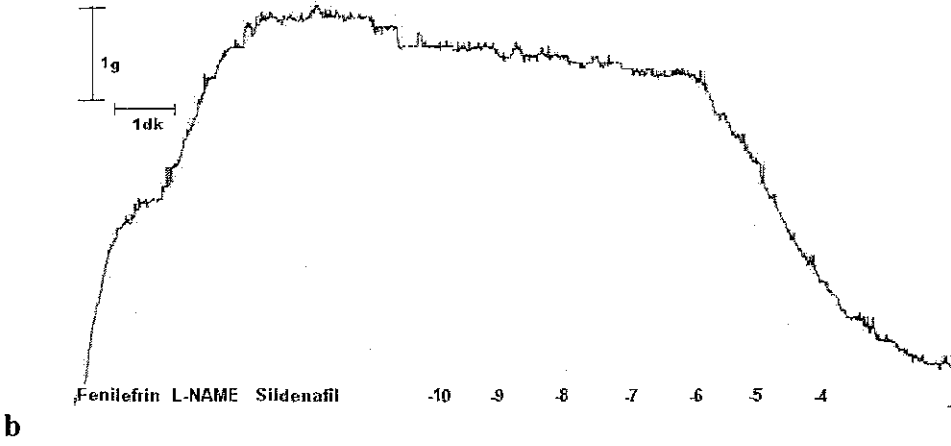
LİMA preparatında β 1-adrenoseptörlere selektif olan ve olmayan iki β -blokör; sırasıyla metoprolol (10^{-5} - 10^{-2} M) ve propranolol'ün (10^{-9} - 10^{-2} M) kümülatif olarak eklenmesiyle gevşetici etki görüldü. 1μ M sildenafil varlığında ve yokluğunda metoprolol'ün oluşturduğu gevşetici etkide istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Sildenafil varlığında ve yokluğunda pD2 değerleri sırasıyla $3,45 \pm 0,33$ (n=11) ve $3,11 \pm 0,34$ (n=11, p=0,86) olarak hesaplandı. (Şekil 18a). 1μ M sildenafil varlığında propranolol'ün düşük konsantrasyonlarında (10^{-6} - 10^{-4} M) gevşeme yanıtında artış gözlenmesine karşın, yüksek konsantrasyonda (10^{-3} M) fark görülmedi (Şekil 18b). Sildenafil varlığında ve yokluğunda pD2 değerleri sırasıyla $3,65 \pm 0,22$ (n=11) ve $3,51 \pm 0,34$ (n=11, p=0,79) olarak hesaplandı. Propranolol metoprolol'e göre daha fazla gevşetici yanıt oluşturdu.

4.6.Sildenafil ile oluşan gevşeme yanıtlarına enalapril'in etkisi

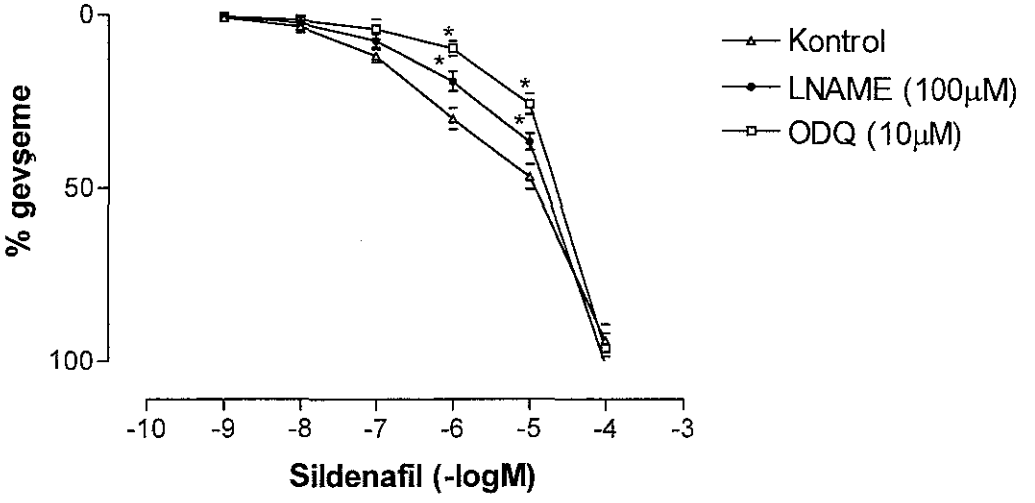
LİMA preparatında bir ADE inhibitörü olan enalapril'in (10^{-10} - 10^{-5} M) kümülatif olarak uygulanmasıyla sildenafil varlığında ve yokluğunda gevşetici etki oluştu. Gevşetici etkiler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. 1μ M sildenafil varlığında ve yokluğunda hesaplanan pD2 değerleri sırasıyla $8,23 \pm 0,21$ (n=9) ve $8,10 \pm 0,23$ (n=9, p=0,73) olarak bulundu (Şekil 20).

4.7.Sildenafil'in gevşetici etkisinde kalsiyumun rolü

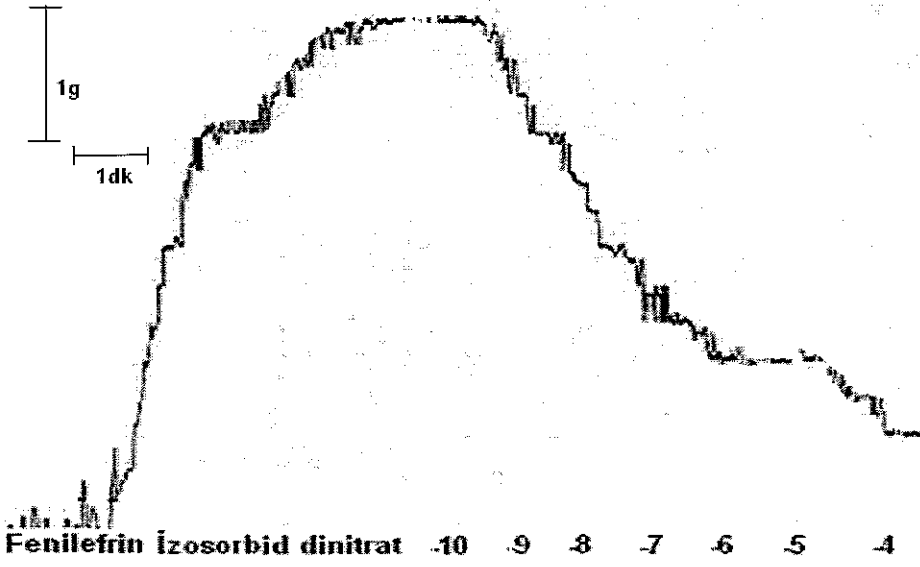
Sildenafil'in gevşetici etkisinde kalsiyumun rolünü incelemek için; LİMA preparatının bulunduğu organ banyosundaki krebs solüsyonu kalsiyum içermeyen yüksek potasyumlu krebs solüsyonu ile değiştirilerek dokunun kasılması sağlandı (Şekil 22). Kasılma platoya ulaştığında kümülatif olarak eklenen kalsiyum çözeltisi ile dokunun tekrar kasıldığı görüldü, 1μ M sildenafil varlığında ise kalsiyum ile oluşan bu kasılmanın daha düşük olduğu gözlemlendi (n=7 , p<0,001).



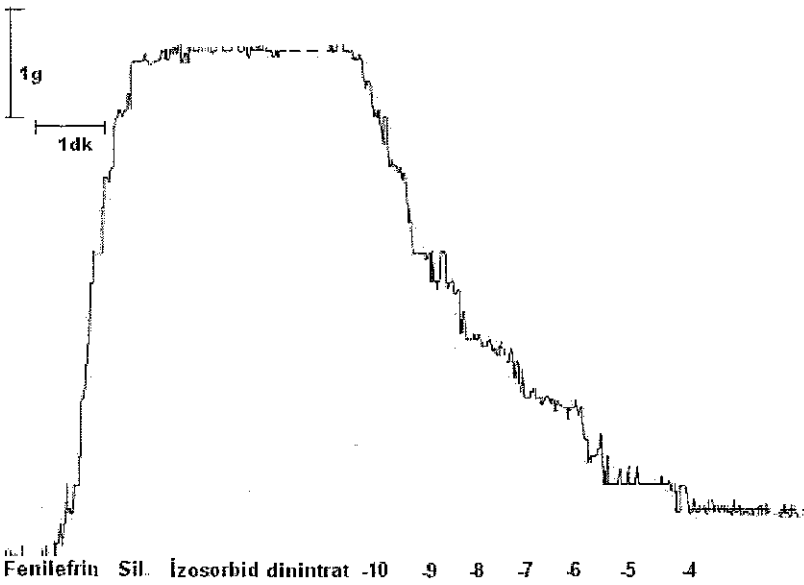
Şekil 7: LİMA preparatında 1µM fenilefrin ile oluşan kasılma yanıtına sildenafil'in tek başına ya da L-NAME ve ODQ varlığında etkisi



Şekil 8:Önceden $1\mu M$ fenilefrin ile kasılmış LİMA preparatında sildenafil ile oluşan konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtları (Δ). Sildenafil yanıtları $100\mu M$ L-NAME ($\blacklozenge$) ya da $10\mu M$ ($\square$) ODQ varlığında elde edilen yanıtlarla karşılaştırılmıştır ($n=7$, $*p < 0.001$). Sonuçlar fenilefrin ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

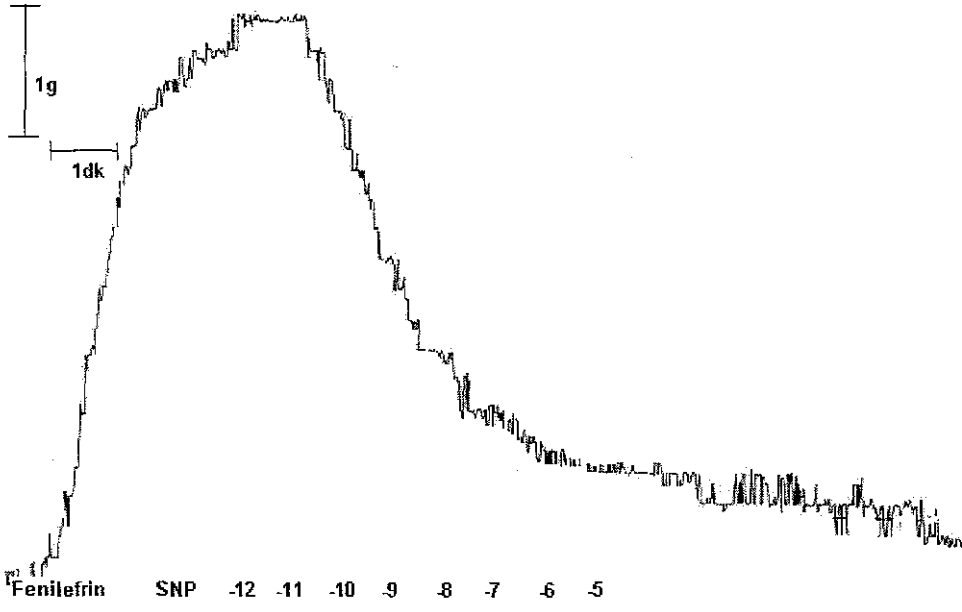


a

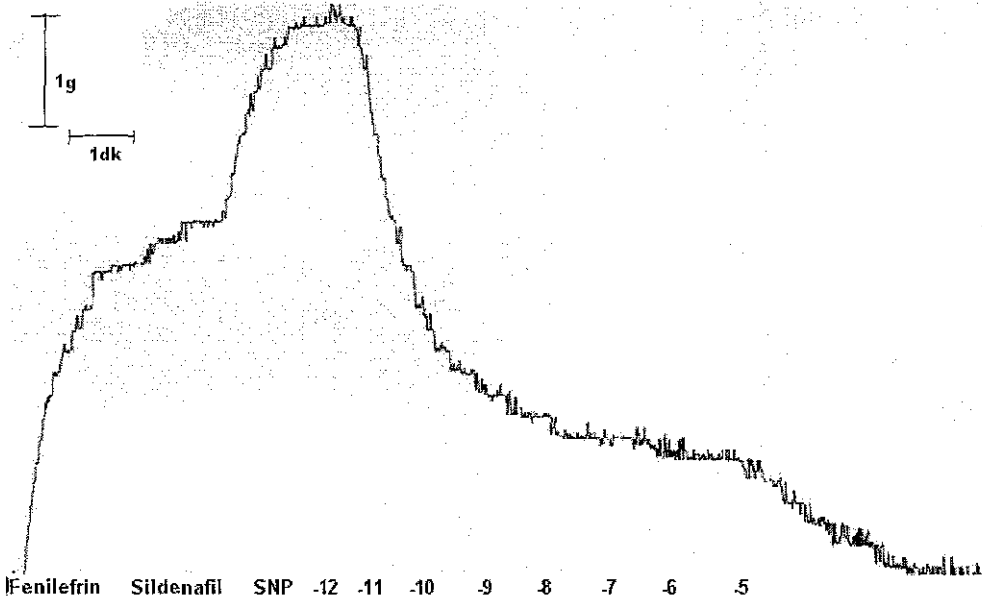


b

Şekil 9: 1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LIMA preparatında; a) izosorbid dinitrat'ın oluşturduğu gevşeme yanıtları, b) 1 μ M sildenafil varlığında izosorbid dinitrat ile oluşan gevşeme yanıtları

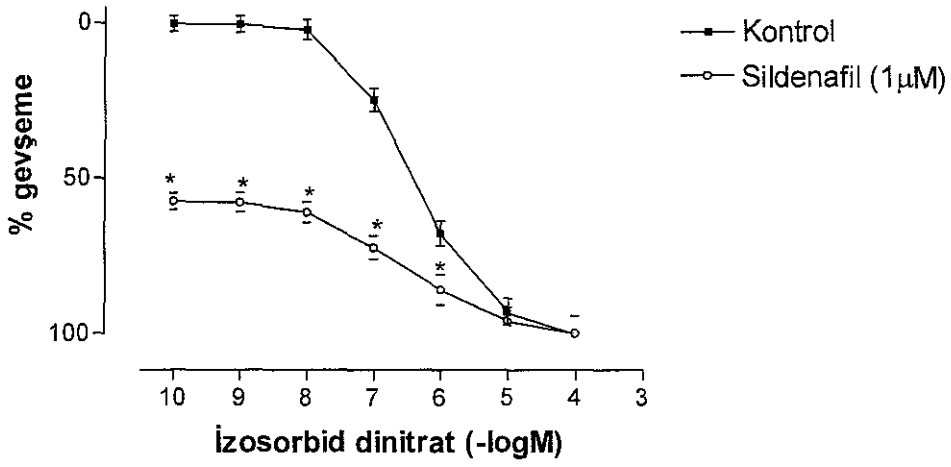


a

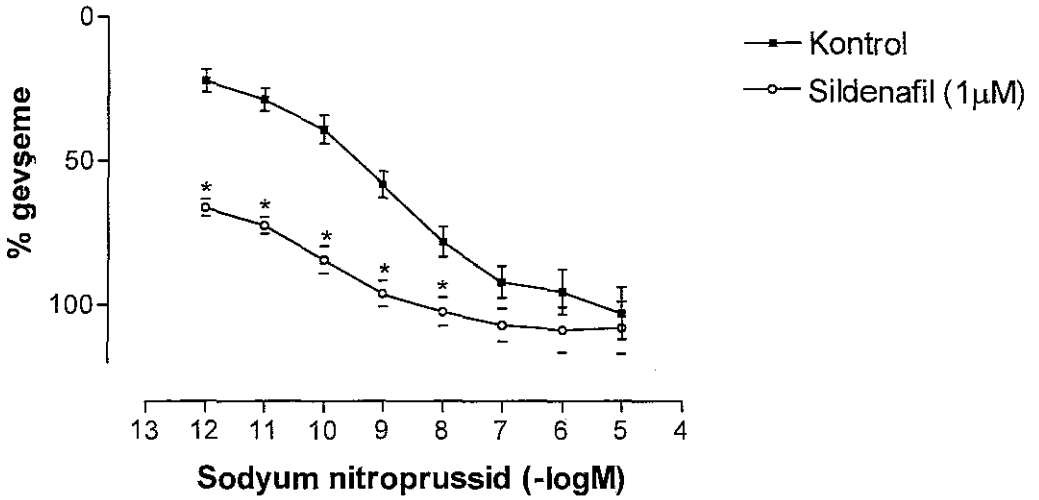


b

Şekil 10: 1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında; a) sodyum nitroprissid'in oluşturduğu gevşeme yanıtları, b) 1 μ M sildenafil varlığında sodyum nitroprussid ile oluşan gevşeme yanıtları

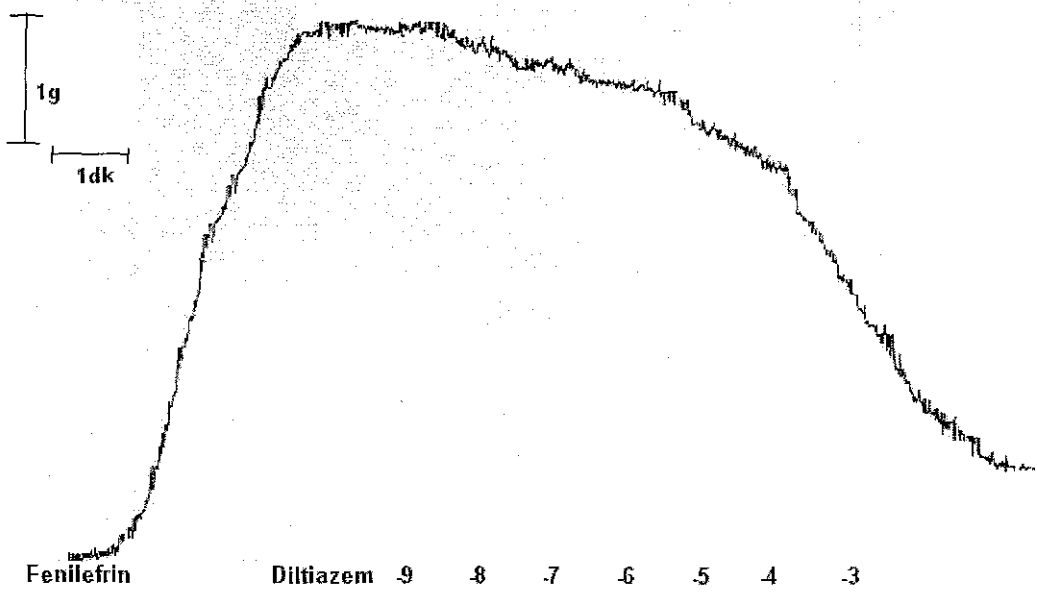


a

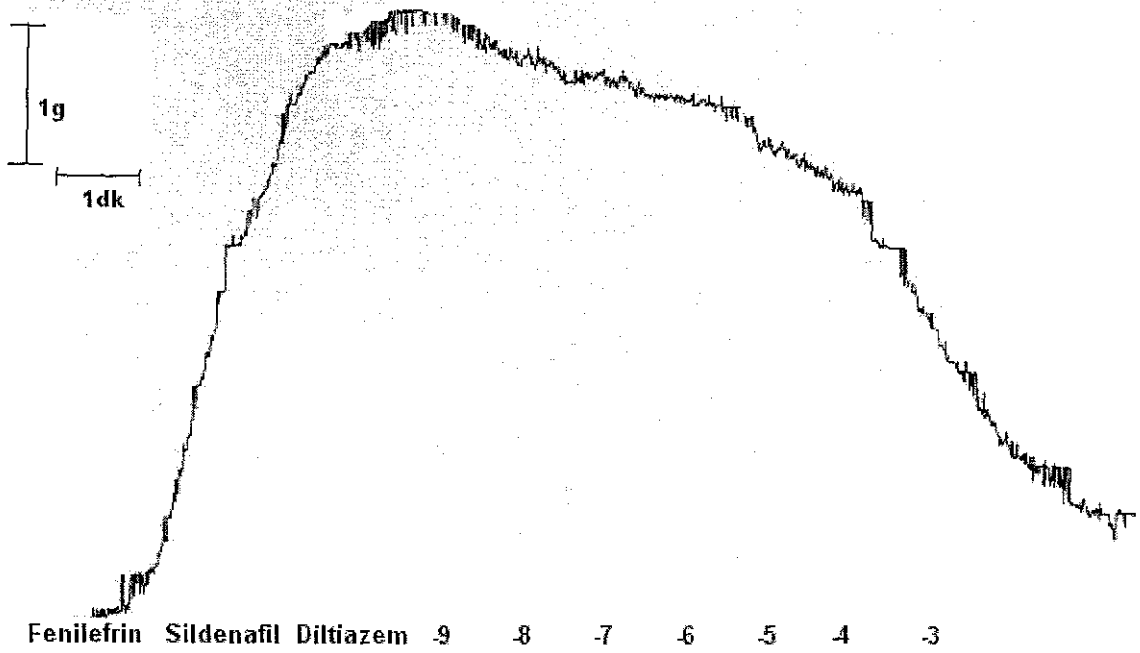


b

Şekil 11: 1μM fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında; (a) 1μM sildenafil varlığında (◇) ve yokluğunda (■) izosorbid dinitrat'ın kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları, (b) 1μM sildenafil varlığında (◇) ve yokluğunda (■) sodyum nitroprussid'in kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları (n=10, *p< 0.001) Sonuçlar, fenilefrin ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

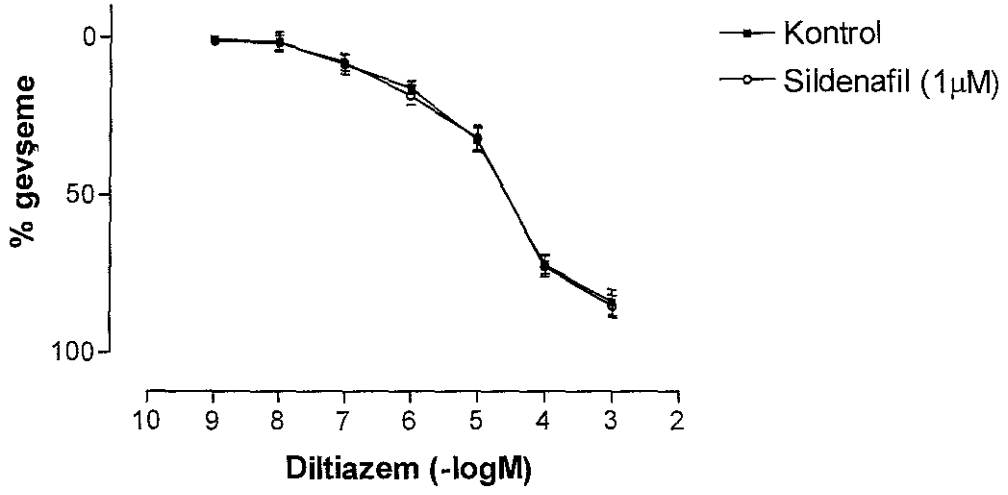


a

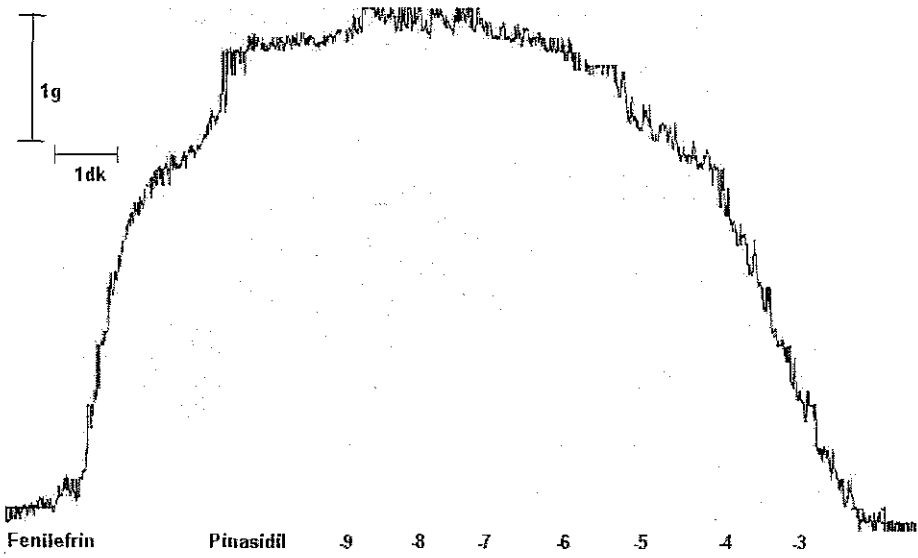


b

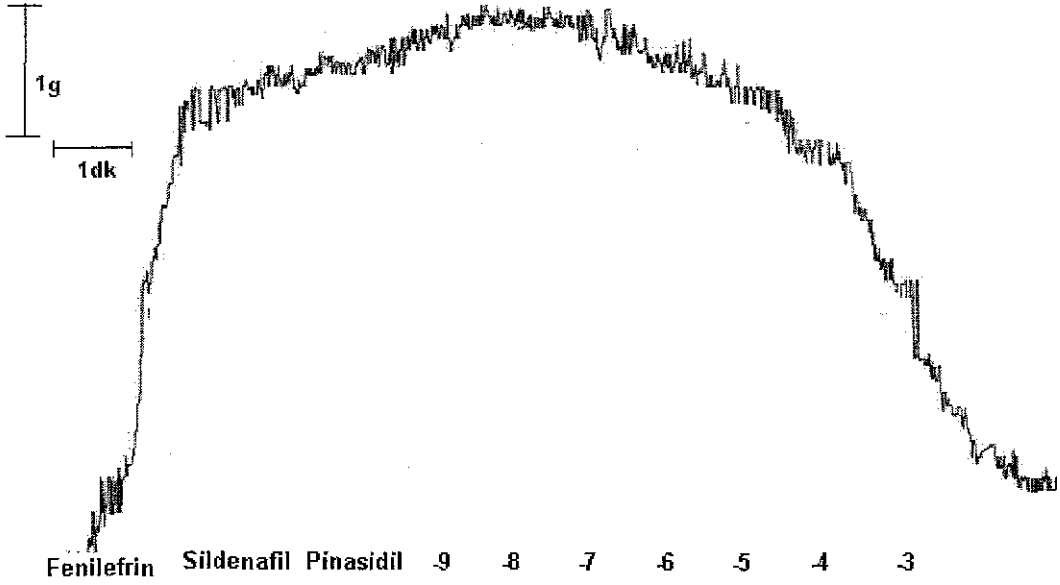
Şekil 12: 1μM fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında; a) diltiazem'in oluşturduğu gevşeme yanıtları, b) 1μM sildenafil varlığında diltiazem ile oluşan gevşeme yanıtları



Şekil 13: 1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında; 1 μ M sildenafil varlığında ($\diamond$) ve yokluğunda ($\blacksquare$) diltiazem'in kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları (n=11, *p< 0.05). Sonuçlar, fenilefrin ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

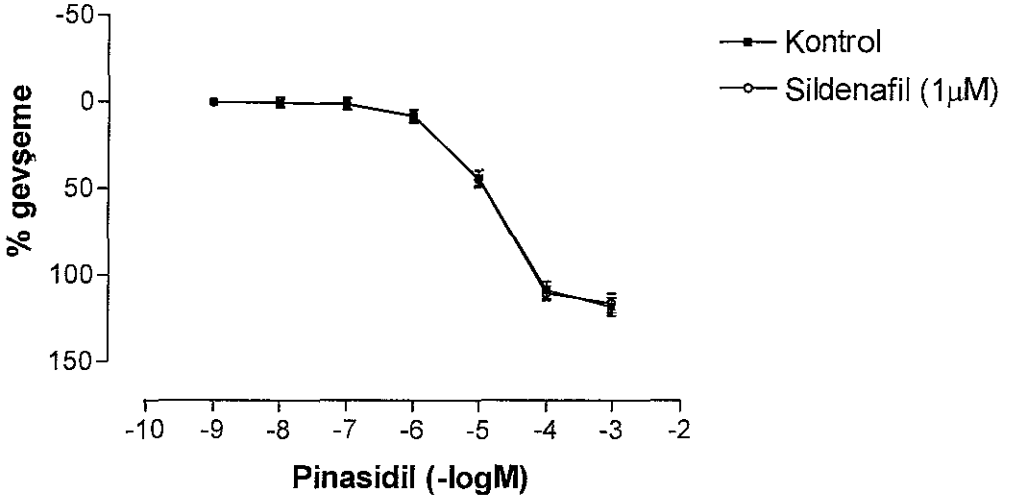


a

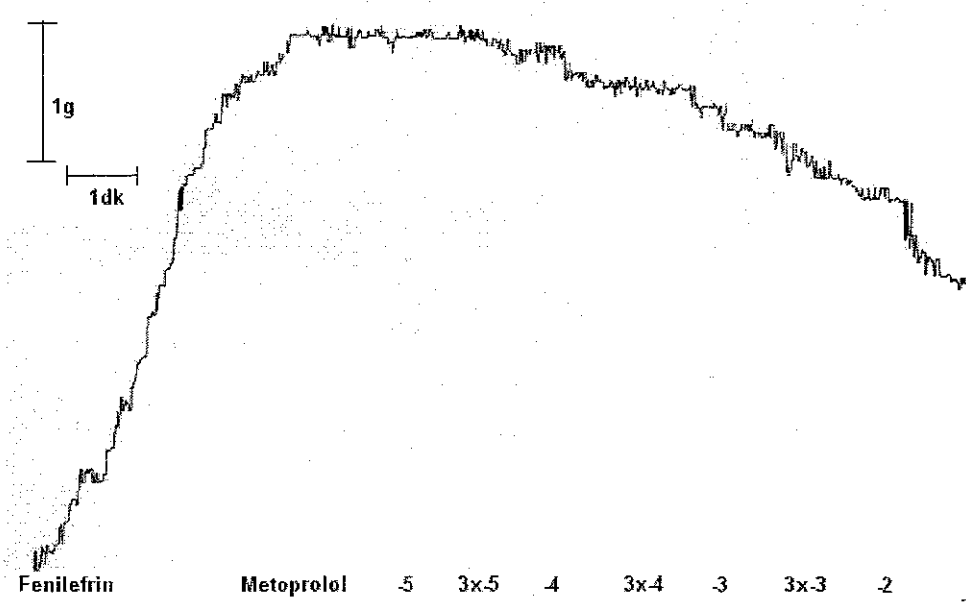


b

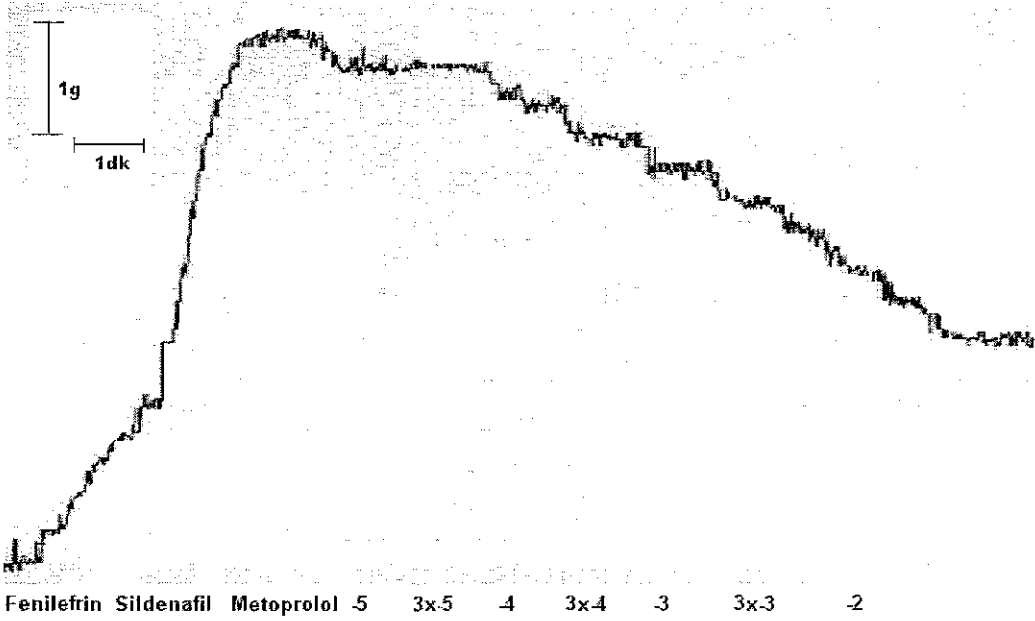
Şekil 14: 1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LIMA preparatında; a) pinasidil'in oluşturduğu gevşeme yanıtları, b) 1 μ M sildenafil varlığında pinasidil ile oluşan gevşeme yanıtları



Şekil 15: 1μM fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında; 1μM sildenafil varlığında (◇) ve yokluğunda (■) pinasidil'in kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları (n=11, *p< 0.05). Sonuçlar fenilefrin ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

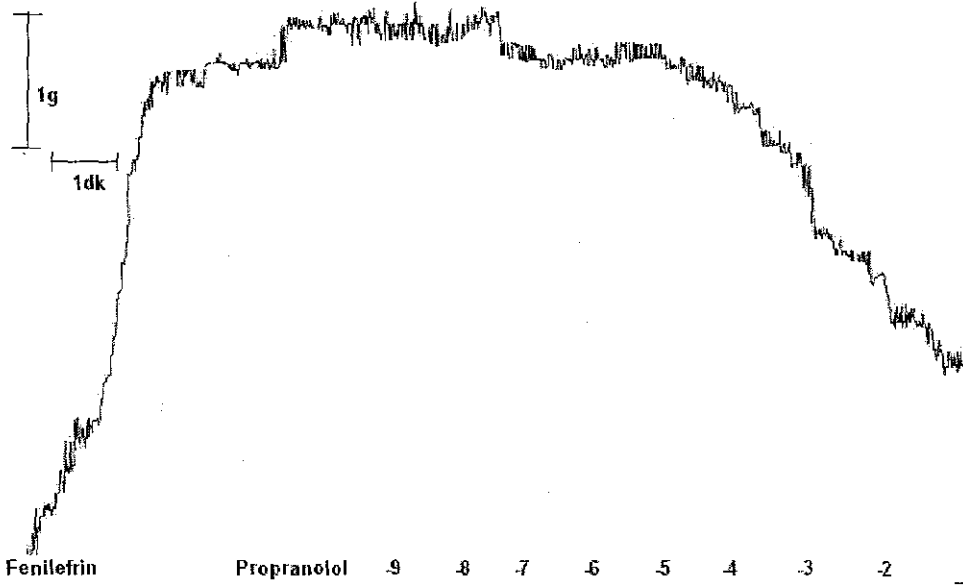


a

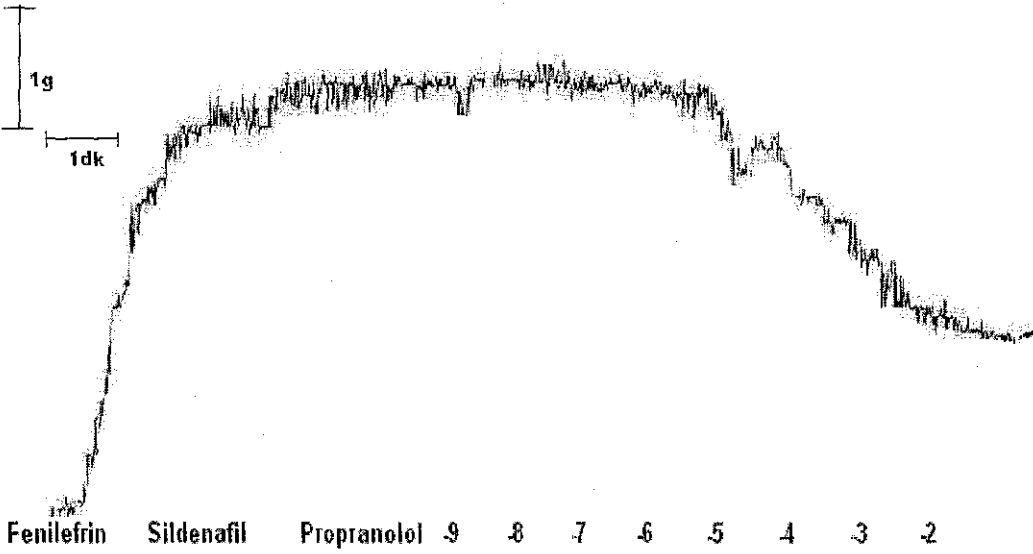


b

Şekil 16: 1μM fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında; a) metoprolol'un oluşturduğu gevşeme yanıtları, b) 1μM sildenafil varlığında metoprolol ile oluşan gevşeme yanıtları

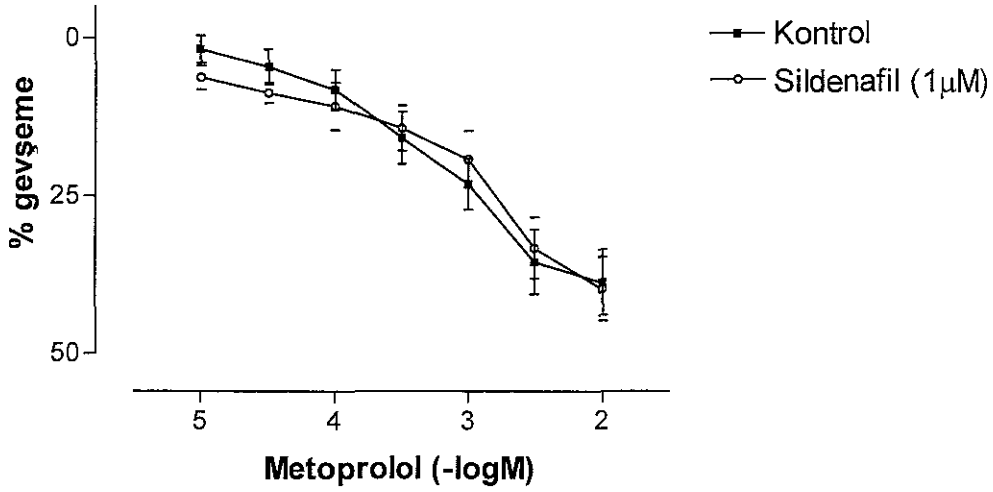


a

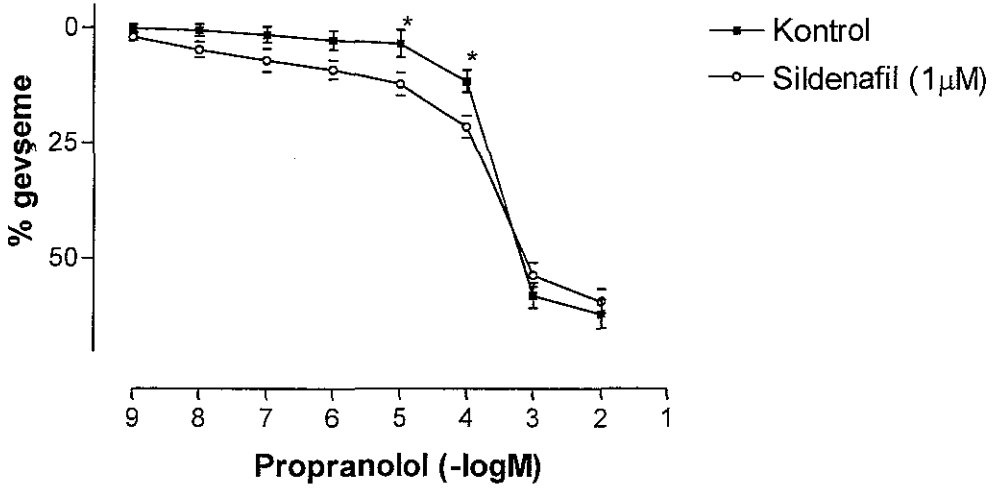


b

Şekil 17: 1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında; a) propranolol'ün oluşturduğu gevşeme yanıtları, b) 1 μ M sildenafil varlığında propranolol ile oluşan gevşeme yanıtları

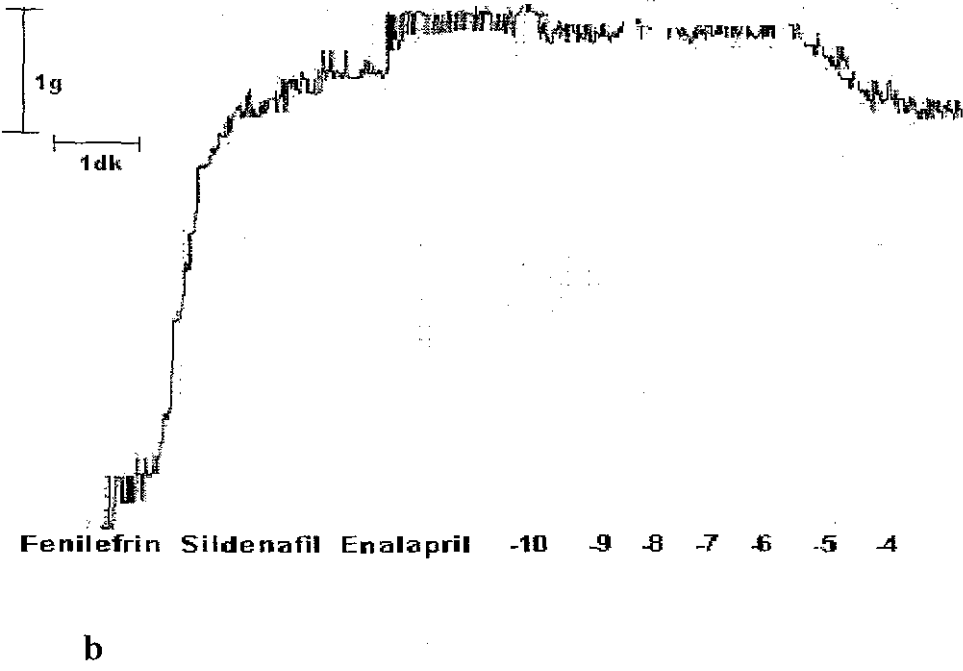
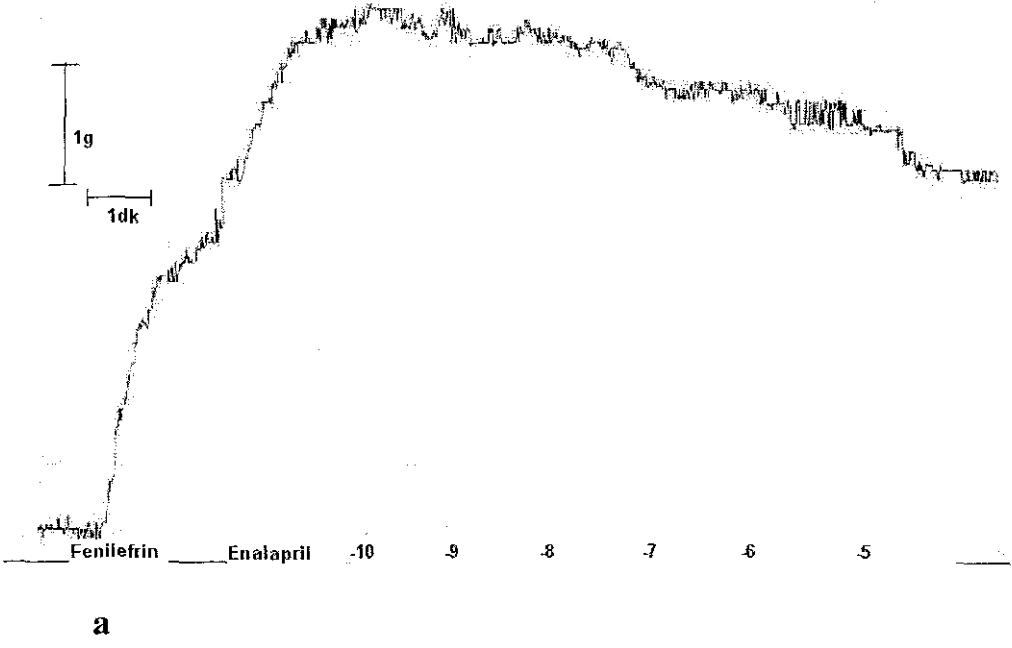


a

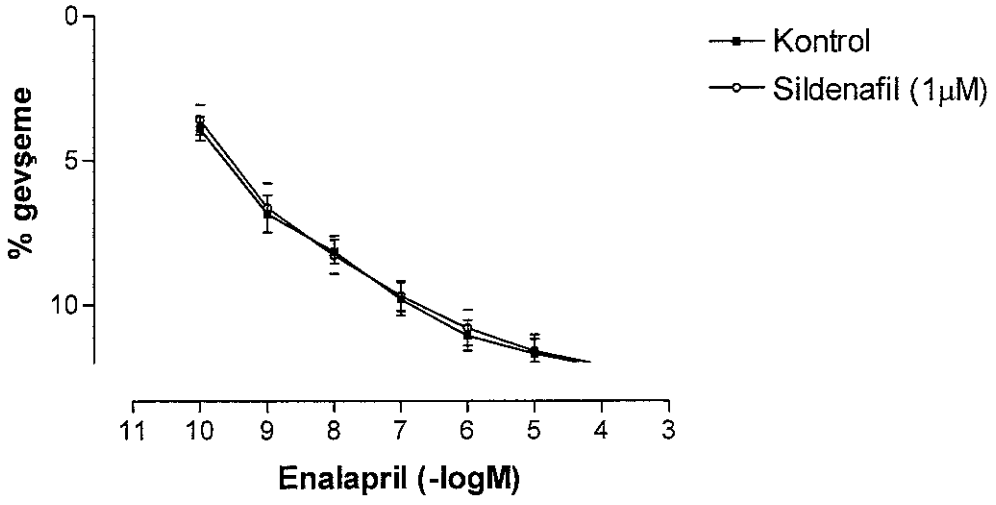


b

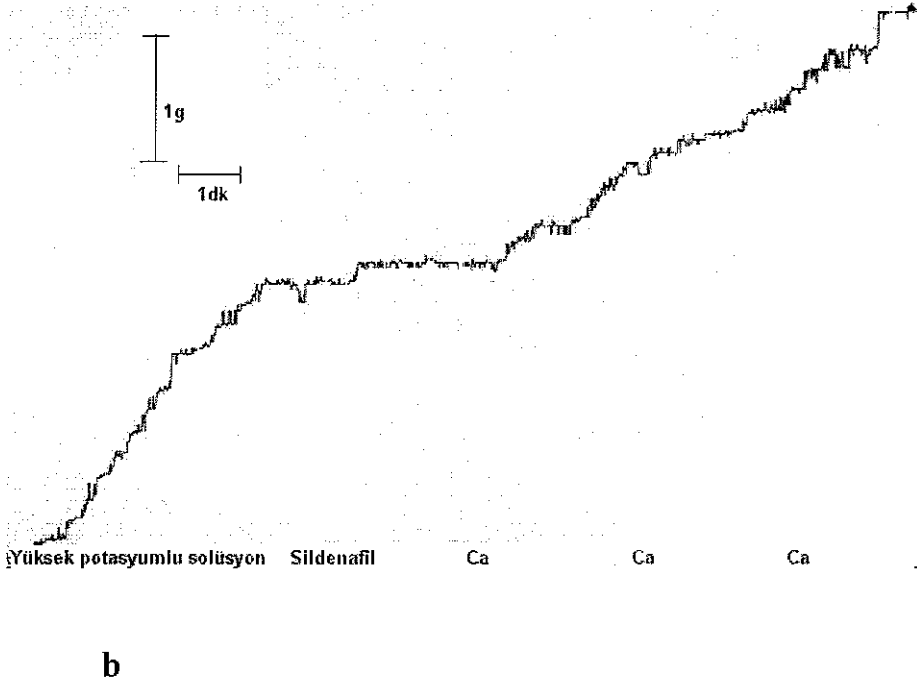
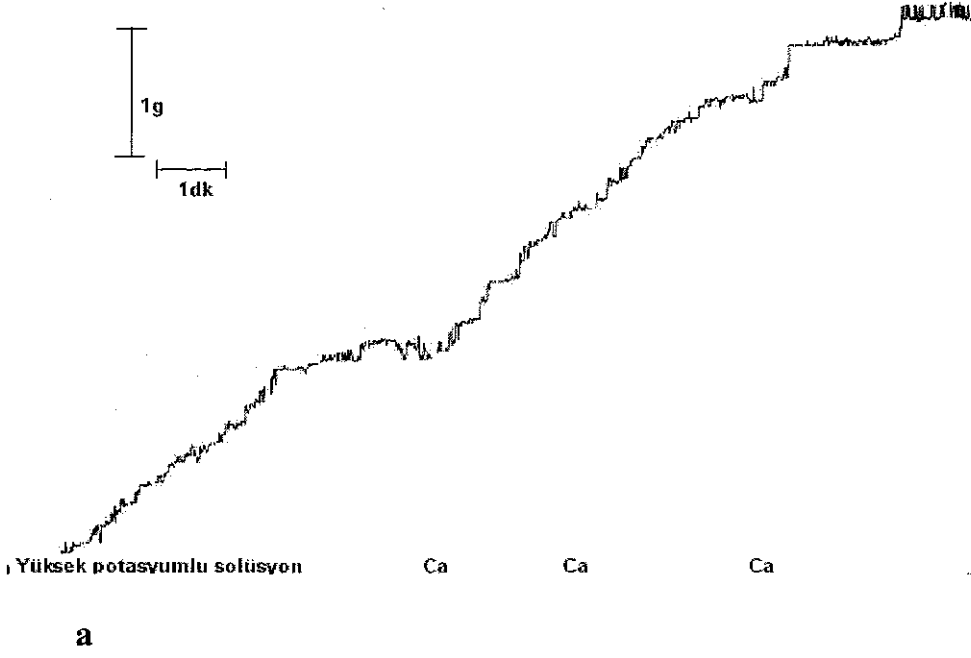
Şekil 18: 1 μM fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında; (a) 1 μM sildenafil varlığında (◇) ve yokluğunda (■) metoprolol'ün kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları, (b) 1 μM sildenafil varlığında (◇) ve yokluğunda (■) propranolol'ün kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları (n=10, *p< 0.05). Sonuçlar fenilefrin ile oluşturulan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir



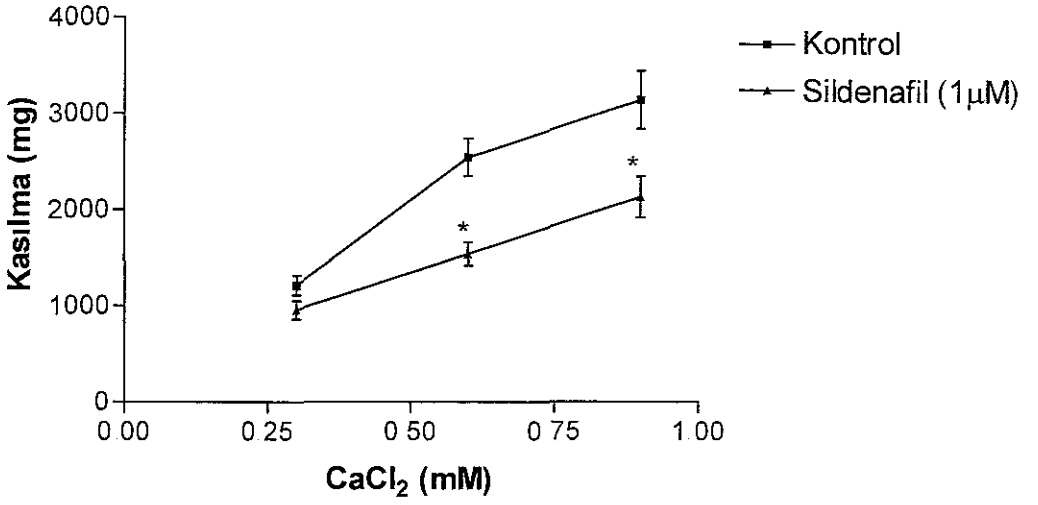
Şekil 19: 1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında; a) enalapril'in oluşturduğu gevşeme yanıtları, b) 1 μ M sildenafil varlığında enalapril ile oluşan gevşeme yanıtları



Şekil 20: 1 μ M fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında; 1 μ M sildenafil varlığında ($\diamond$) ve yokluğunda ($\blacksquare$) enalapril'in kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları (n=10, *p< 0.05). Sonuçlar fenilefrin ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.



Şekil 21: Kalsiyum içermeyen yüksek potasyumlu Krebs solüsyonundaki LİMA preparatında; a) sildenafil yokluğunda, b) 1µM sildenafil varlığında artan konsantrasyonlarda eklenen kalsiyumun etkisi



Şekil 22: Kalsiyum içermeyen yüksek potasyumlu Krebs solüsyonlu ortamdaki LİMA preparatında 1µM sildenafil varlığında (▲) ve yokluğunda (■) artan konsantrasyonlarda uygulanan kalsiyumun etkisi (n=7, *p< 0.001) Sonuçlar miligram kasılma olarak verilmiştir.

5.TARTIŞMA

15-20 yıl öncesine kadar nitrik oksidin (NO) basit bir atmosfer atığı olduğu düşünülmekteydi. Ancak 1987 yılında, damardan endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) olarak bilinen yapının izole edilmesi sırasında nitrik oksid sentazın (NOS) keşfedilmesiyle daha sonraki yıllarda EDRF'nin NO olduğu saptanmıştır. İnsanların ve hayvanların da NO üretebildiklerinin ortaya konmasıyla 1987 yılına kadar insan vücudunda bulunuş nedeni ve metabolizması hakkında çok az şey bilinen NO'nin fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolü anlaşılmış ve 1992'de yılın molekülü seçilmiştir (73)

Renksiz bir gaz olan NO kısa sürede O_2 'le oksidlenerek nitrojen dioksit'e dönüşür. Nitrojen dioksit dokular için oldukça zararlı bir bileşiktir. Diğer serbest radikaller her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol alır. Bu fizyolojik işlevleri arasında penil ereksiyonun gerçekleşmesi de vardır.

Penil ereksiyon, korpus kavernozumun kavernoza alanının genişlemesi ve düz kasların gevşemesi sonucu arteriyel kan akımının artması ve venöz kan akımının azalmasıyla penise gelen net kan akımının artması sonucu oluşur. Penil ereksiyon endotel kökenli veya nitrerjik sinirlerin salgıladığı NO ile kontrol edilir. NO, solubl guanilat siklaz enzimini aktive edip hücre içi sGMP düzeyinin artmasına neden olur. Artan sGMP protein kinazların da içinde yer aldığı bir seri biyokimyasal olayları başlatıp, hücre içi serbest kalsiyum düzeylerinin azalmasını sağlayarak, düz kasın gevşemesine neden olur (74). Penil ereksiyonun olmaması veya yeterli seksüel performansı sürdürecekt kadar devam ettirilememesi erektil disfonksiyon olarak tanımlanır (75). Erektile disfonksiyon prevalansı yaşla orantılı olarak artar. 40 ile 70 yaş arasında 1290 erkek gönüllü üzerinde yapılan bir araştırmada %52 oranında görüldüğü bildirilmiştir (9). Erektile disfonksiyonun tedavisinde pek çok değişik ajan denenmiş olsa da günümüzde PDE-5 inhibitörleri en etkili grubu oluşturmaktadır.

Sildenafil sitrat, erektojenik etkisi olan güçlü ve göreceli olarak selektif bir PDE5 inhibitörüdür. Sildenafilin bu etkisi ilk defa normal ve psikojenik erektil disfonksiyonu olan erkeklerde görsel seksüel uyarı

kullanılarak penil ereksiyonunun laboratuvar ortamında ölçülmesi ile gösterilmiştir. Erektile disfonksiyonu olan erkek hastalarda sildenafilin iyi tolere edilen etkili bir ajan olduğunun gösterilmesi bu ajanın erektile disfonksiyonda sıkça kullanılmasına yol açmıştır (4).

Ancak, 50 yaşından büyük olan ve erektile disfonksiyonu bulunan hastaların yaklaşık %50'sinde aterosklerotik damar hastalığı bulunmaktadır. Bu damar hastalıkları arasında koroner arterler ile ilgili sorunlar da yer almaktadır. Yapılan çalışmalar koroner arter hastalığında tutulan koroner arter sayısı ile erektile disfonksiyonun şiddeti arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir (76). Nitekim, erektile disfonksiyonlu hastaların yarısında koroner arter hastalığının olması ve bu hastaların mevcut vazodilatörler ile etkili biçimde tedavi edilememesi nedeniyle internal mamarian arterin kullanıldığı koroner by-pass ameliyatları yapılmaktadır. Ancak, hastalar ameliyat sonrası da daha önce aldıkları ilaç tedavisine devam etmekte ve bu hastaların bir kısmı da erektile disfonksiyon sorunu nedeniyle sildenafil kullanmaktadır. Sildenafil'in ve tedavide kullanılan diğer ajanların internal mamarian artere direkt etkileri ve etkileşimlerinin bilinmesi klinik açıdan oldukça önemli görünmektedir.

Çalışmamızda, önceden fenilefrin ile kasılmış internal mamarian arter preparatında sildenafil doz bağımlı gevşemeye neden olmuştur. Bu gevşetici etki NOS inhibitörü olan L-NAME varlığında ve guanilat siklaz inhibitörü olan ODQ varlığında azalmıştır. Ancak, bu ajanların varlığı sildenafil'in maksimum konsantrasyonda oluşturduğu gevşeme yanıtını değiştirmemiştir. Bu sonuçlar, sildenafil'in oluşturduğu gevşetici etkinin bir kısmından NO-solubl guanilat siklaz yolağının sorumlu olmadığını düşündürmüştür. Nitekim, Sakuma ve ark.'larının domuz koroner arter preparatında yaptıkları çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (77). Sildenafil'in NO-solubl guanilat siklaz yolağından bağımsız gevşetici etkisinin kalsiyum aracılı olduğuna ilişkin görüşler bulunmaktadır. Mochida ve ark.'nın izole sıçan aortunda yaptıkları çalışmada sildenafil'in yüksek konsantrasyonda PDE-5 inhibisyonundan başka ek bir gevşetici özelliğinin olduğu ileri sürülmüştür. Sildenafil'in oluşturduğu bu ek gevşetici etkinin mekanizması, kontraksiyondan sorumlu eksternal kalsiyum bağımlı

kaskadların inhibisyonuna ve/veya sGMP düzeylerinde belirgin bir artışa bağlanmıştır (78).

Çalışmamızda, kalsiyumsuz Krebs solüsyonunun bulunduğu organ banyosuna kümülatif olarak kalsiyum klorür solüsyonunun eklenmesiyle dokuda kasılma oluşurken, sildenafil ($1\mu\text{M}$) varlığında dokuda kasılmanın azaldığı saptanmıştır. Böylece sildenafil'in gevşetici etkisinden NO/sGMP yolağının yanı sıra eksternal kalsiyum kaskadlarının ve/veya hücre içi kalsiyuma duyarlı yolların duyarlılığındaki değişikliğin sorumlu olabileceği sonucuna varılmıştır.

NO donörleri olan SNP'nin ve izosorbid dinitrat'ın tek başlarına oluşturdukları gevşeme yanıtı $1\mu\text{M}$ sildenafil varlığında anlamlı olarak artmıştır. Bu durum, sildenafil'in klinik kullanımı sırasında ulaştığı ortalama kan konsantrasyonu olan $1\mu\text{M}$ 'de, NO donörlerinin internal mamarian arter preparatındaki gevşetici etkisinde istatistiksel olarak anlamlı artışa neden olduğunu göstermektedir. Oysa, potasyum kanal açıcı ajan pinasidil ile bir kalsiyum kanal blokörü diltiazem'in oluşturduğu gevşeme yanıtlarının sildenafil ile değişmediği saptanmıştır. Klinik bir araştırmada da sildenafil'in kalsiyum kanal blokörleri ile birlikte uygulanmasının sistemik kan basıncındaki düşmeyi ve kan basıncının düşmesiyle ilgili advers olayları artırmadığı bulunmuştur (2). Nitekim, Sakuma ve ark.'ın izole sığır koroner arterinde yaptıkları çalışmada da sildenafil'in diltiazem ve pinasidil'in vazodilatör etkilerini değiştirmedeği, NO donörü özelliği taşıyan SNP ve izosorbid dinitrat gibi vazodilatörlerin ise gevşetici etkilerinin sildenafil ile anlamlı olarak güçlendiği bulunmuştur. Bu etki sildenafil'in izole domuz koroner arter dokusunun sGMP düzeyini artırdığı ve sGMP'deki bu artışın NO donörü sodyum nitroprussid varlığında daha da güçlendiğinin gösterilmesi ile açıklanmıştır (77). Sildenafil'in NO donörü ajanların damarlar üzerindeki gevşetici etkisini potansiyalize edip, ölümcül hipotansiyona neden olabileceğine ilişkin yayınlar bulunmaktadır (2, 72). Hem bu yayınlar hem de bu çalışmanın sonuçları birlikte değerlendirildiğinde by-pass ameliyatı ile internal mamarian arterin koronerleri besler duruma geldiği bu hastalarda, sildenafil ve NO

donörlerinin birlikte kullanımının bu damarda kalbin beslenmesini bozacak şekilde ileri derecede dilatasyona neden olabileceği görüşü ortaya çıkmıştır.

Selektif olmayan β -blokör propranolol internal mamarian arterde doz bağımlı gevşeme yanıtları oluşturmuştur ve propranolol'ün düşük konsantrasyonlarında oluşturduğu gevşeme yanıtları sildenafil varlığında istatistiksel olarak anlamlı olmayan artış göstermiştir. Selektif β -blokör olan metoprolol internal mamarian arterde doz bağımlı gevşemeye neden olmuştur. Bu gevşeme yanıtlarında da sildenafil varlığında propranolol'de olduğu gibi artış olmamıştır. Domuz koroner arterinde yapılan in vitro bir çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuştur (77). Klinik veriler de β -adrenoseptör blokörleri ile oluşan kan basıncındaki düşmenin anlamlı olarak artmadığını göstermektedir (2, 40).

Bir anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü olan enalapril $1\mu\text{M}$ fenilefrin ile önceden kasılmış internal mamarian arter preparatında tek başına veya sildenafil ile birlikte gevşetici etki oluşturmuştur. Gevşetici yanıtlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bir klinik çalışmada serum ADE düzeyinin, özellikle de I/D polimorfik şeklinin yüksek olmasının sildenafil'e olan yanıtları azalttığı bildirilmiş olsa da (79) ADE inhibitörleri ve sildenafil'in birlikte etkisinin araştırıldığı in vitro herhangi bir çalışma olmaması nedeniyle çalışmamızda enalapril ile ilgili bu sonucu başka yayınlarla desteklemek mümkün olmamıştır.

Sonuç olarak; bu çalışmada internal mamarian arter preparatında erektil disfonksiyonun tedavisinde kullanılan sildenafil ile koroner arter hastalığında kullanılan NO donörü ilaçların (sodyum nitroprusid, izosorbid dinitrat) gevşemeye neden olduğu ve NO donörlerinin etkilerinin sildenafil ile arttığı saptanmıştır. Metoprolol, propranolol, diltiazem, enalapril ve pinasidil gibi ajanların oluşturdukları gevşetici etkide sildenafil istatistiksel olarak anlamlı artışa neden olmamıştır. Sildenafil'in oluşturduğu gevşetici etkiden NO/sGMP aracılı mekanizmanın sorumlu olduğu, ancak bu etkinin kısmen eksternal kalsiyum kaskadlarının ve/veya hücre içi kalsiyuma duyarlı yolların duyarlılığındaki değişmeye de bağlı olabileceği kanısına

varılmıştır. Sildenafil, NO donörü gibi davranan ilaçlarla birlikte kullanıldığında internal mamarian arterde belirgin vazodilatasyona bağlı kalpte beslenme yetersizliği riski oluşacağından by-pass'lı hastalarda bu ilaç etkileşimleri açısından dikkatli olunması gerektiği düşünülmektedir.

SONUÇLAR

İnternal mamarian arter preparatında, erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan PDE-5 inhibitörü sildenafil ile koroner arter hastalığında kullanılan ilaçlardan sodyum nitroprusid, izosorbid dinitrat, metoprolol, propranolol, diltiazem, enalapril ve pinasidil'in etkileri ve etkileşimlerini araştırmak için yaptığımız bu çalışmada;

1) Fenilefrin ile önceden kasılmış internal mamarian arter preparatında sildenafil'in kümülatif dozlarda oluşturduğu doz bağımlı gevşeme yanıtları, NOS inhibitörü L-NAME ve guanilat siklaz inhibitörü ODC varlığında azaldı. Ancak sildenafil'in yüksek konsantrasyonlarında bu azalma gözlenmedi.

2) Fenilefrin ile önceden kasılmış internal mamarian arter preparatında sildenafil'in, NO donörü ilaçlar olan SNP ve izosorbid dinitrat'ın etkisini anlamlı olarak artırdığı bulundu.

3) Fenilefrin ile önceden kasılmış internal mamarian arter preparatında 1 μ M sildenafil uygulanması ile β -blokör ajanların, kalsiyum kanal blokörlerinin, anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin ve potasyum kanal açıcı ajanların gevşetici etkilerinin anlamlı olarak artmadığı bulundu.

4) İnternal mamarian arter preparatında sildenafil'in NO-solubl guanilat siklaz yolağının dışında olası etki mekanizmasını incelemek için kalsiyumsuz yüksek potasyumlu Krebs solüsyonlu ortamda yapılan çalışmada, sildenafil varlığında kasılma yanıtlarının azaldığı gözlemlendi.

Böylece, sildenafil'in fenilefrin ile önceden kasılmış internal mamarian arter preparatında NO donörü ilaçların gevşetici etkisini artırdığı, NO donörü olmayan ilaçların etkisini ise anlamlı olarak değiştirmedeği ve sildenafil'in gevşetici etkisinde NOS-solubl guanilat siklaz yolağının dışında, kalsiyum ile ilişkili ek bir mekanizmanın da olabileceği sonucuna varıldı.

ÖZET

Bu çalışmada, izole insan internal mamarian arterinde erektil disfonksiyonun tedavisinde kullanılan PDE-5 inhibitörü sildenafil'in etki mekanizması ve koroner arter hastalığında kullanılan bazı ajanların etkileri ve bunların sildenafil ile etkileşimleri değerlendirildi. $1\mu\text{M}$ fenilefrin ile önceden kasılmış LİMA preparatında, kümülatif olarak uygulanan sildenafil konsantrasyona bağımlı gevşeme yanıtı oluşturdu. NOS inhibitörü, L-NAME ($100\mu\text{M}$) veya guanilat siklaz inhibitörü, ODQ ($10\mu\text{M}$) inkübasyonundan 20 dakika sonra doku $1\mu\text{M}$ fenilefrin ile kasılıp, kasılmanın platoya ulaşması beklendi. Kasılma platoya ulaştığında sildenafil kümülatif dozlarda (10^{-9} - 10^{-4}M) uygulanıp gevşeme yanıtları alındı. Sildenafil'in düşük konsantrasyonlarında L-NAME ve ODQ varlığında gevşeme yanıtları azalırken, yüksek konsantrasyonunda (10^{-4}M) bu azalma gözlenmedi. Bu nedenle sildenafil'in NO-sGMP yolağı dışında ikinci bir etki mekanizmasının da olabileceği ve bunun olasılıkla kalsiyum ile ilişkili olduğu düşünüldüğünden kalsiyumsuz Krebs solüsyonunun olduğu organ banyosuna, sildenafil varlığında ve yokluğunda artan bir şekilde kalsiyum klorür eklendi. Sildenafil varlığında dokuda kalsiyumla oluşan kasılmanın istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı bulundu.

Sildenafil ($1\mu\text{M}$) varlığında ve yokluğunda koroner arter hastalığının tedavisinde kullanılan ilaçlardan NO donörleri sodyum nitroprusid (10^{-12} - 10^{-5}M) ve izosorbid dinitrat'ın (10^{-10} - 10^{-4}M), selektif ve selektif olmayan β -blokörler, sırasıyla metoprolol (10^{-5} - 10^{-2}M) ve propranolol'ün (10^{-9} - 10^{-2}M), kalsiyum kanal blokörü diltiazem'in (10^{-9} - 10^{-3}M), ADE inhibitörü enalapril'in (10^{-10} - 10^{-4}M) ve potasyum kanal açıcı pinasidil'in (10^{-9} - 10^{-3}M) organ banyosuna kümülatif uygulanması ile internal mamarian arterde gevşeme yanıtları oluştu. NO donörleri olan SNP ve izosorbid dinitrat'ın oluşturdukları gevşetici etkide sildenafil varlığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmesine karşın, diğer ajanların gevşetici etkisinin değişmediği bulundu.

Bu bulgulardan, sildenafil'in internal mamarian arteri gevşetici etkisinde NO-sGMP yolağının dışında olasılıkla kalsiyum ile ilgili ek bir mekanizmanın da rol oynayabileceği ve sildenafil'in koroner arter hastalığının tedavisinde kullanılan ilaçlardan NO donörlerinin etkisini artırabileceği ve NO donörü özelliği olmayan ajanlarla ise bir etkileşiminin olmayacağı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Sildenafil, ereksiyon disfonksiyon, koroner arter hastalığı, internal mamarian arter, fosfodiesteraz inhibitörleri

KAYNAKLAR

1-Andersson K. E, Hedlund P, and Alm P. Sympathic pathways and adrenergic innervation of the penis. *Int J Impotence Research* 2000; 12: S5-S12.

2-Cheitlin D. M, Hutter M. A, Brindis G. R, Ganz P, Kaul S, Russell O. R, Zumsan M. R. Use of sildenafil (Viagra) in patients with cardiovascular disease. *Circulation* 1999; 99: 168-177.

3-Zusman M. R, Morales A, Glasser B. D, and Osterloh H. I. Overall cardiovascular profile of sildenafil citrate. *Am J Cardiol* 1999; 83: 35C-44C.

4-Buffon J. Pharmacosexology: The effects of drugs on sexual function. *J Psychoactive Drugs* 1982; 14: 5-44.

5-Foreman M. M, and Wernicke J. F. Approaches for the development of oral drug therapies for erectile dysfunction. *Seminars in Urology* 1990; 8: 107-112.

6-Brindley G. Cavernosal alpha-blockage: A new technique for investigating and treating erectile impotence. *Br J Psychiatry* 2001; 143: 332-337.

7-Padma-Nathan H, Rosen R. C, Shabsigh R, Saikail K, Watkins V, and Pullman B. IC351 (Cialis®) provides prompt response and extended period of responsiveness for the treatment of men with erectile dysfunction (ED). Paper presented at the 96th Annual Meeting of the American Urological Association Anaheim, CA 2001, June 2-7).

8-Katzenstein L. *Viagra (sildenafil citrate): The remarkable story of the discovery and launch.* Medical Information Press, New York, 2001.

9-Feldman H. A, Goldstein I, Hatzichrisou D. G, Krane R. J, and McKinlay J. P. Impotence and its medical and psychosocial correlates: Results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Urology* 1994; 151L: 54-61.

10-Mckinlay J. B. The worldwide prevalence and epidemiology of erectile dysfunction. *International J Impotence Research.* 2001; 13(Suppl. 4): S6-S11.

11-Levin R. J. The physiology of sexual arousal in the human female: A recreational and procreational synthesis. *Archives of Sexual Behavior* 2002; 31: 405-412.

12-Andersson K. E, and Wagner G. The physiology of penile erection. *Physiol Reviews* 1995; 75: 191-236.

13-Christ G. J. The "syncytial tissue triad": A model for understanding how gap junctions participate in the local control of penile erections. *World J Urology* 1997; 13: 36-44.

14-Carvajal J. A, Germain A. M, Huidobro-Toro J. P, and Weiner C. P. Molecular mechanism of cGMP mediated smooth muscle relaxation. *J Cellular Physiol* 2000; 184: 409-420.

15-Horowitz A, Menice C. B, Laporte R, and Morgan K. G, Mechanisms of smooth muscle contraction. *Physiol Reviews* 1996; 76: 967-1003.

16- Christ G. J. Wang H. Z, Venkateswarlu K, Zhao W, and Day N. S. Ion channels and gap junctions: Their role in erectile physiology, dysfunction and future therapy. *Molecular Urology* 1999; 3: 61-74.

17-Ignarro L. J, Cirini G, Casini A, and Napoli C. J. Nitric oxide as a signaling molecule in the vascular system: An overview. *Cardiovascular Pharmacol* 1999; 34: 879-886.

18-Vroom MB, Pffendorf M, Van Wezel HB. Effect of phosphodiesterase inhibitors on human arteries in vitro. *Br J Anaesthesia* 1996; 76: 122-129.

19-Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: Functional implications of multiple isoforms. *Physiological Reviews* 1995; 75: 4-13.

20-Torphy T, Udem BJ. Phosphodiesterase inhibitors; new opportunities for the treatment of asthma. *Thorax* 1991; 46: 512-523.

21-Torphy T, Udem BJ, Cieslinski JB. Identification, characterization and functional role of phosphodiesterase isozymes in human airway smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 265(3): 1213-1223.

22-Ellis JL, Conanan ND. Modulation of relaxant responses evoked by a nitric oxide donor and by nonadrenergic, noncholinergic stimulation by

isozyme-selective phosphodiesterase inhibitors in guinea pig trachea. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 272(3): 997-1003

23-Brunnee T, Engelstatter R, Steinijans VW. Brobchodilatory effect of inhaled zardaverine, a phosphodiesterase III and IV inhibitor, in patients with asthma. *Eur Respir J* 1992; 5: 982-985.

24-Fawcett L, Baxendaler R, Stacey P, Megrourther C, Harrow C, Soderling, et al. Molecular cloning and characterisation of a distinct human phosphodiesterase gene family: PDE11A. *Proceedings of the National Academy of Science* 2000; 97: 3702-3707.

25-Lin C. S, Lau A, Tu R, and Lue T. F. Expression of three isoforms of cGMP-binding cGMP specific phosphodiesterases in human penile cavernosum. *Biochemistry and Biophysics Research Communications* 2000; 286: 626-635.

26-Rybalkin S. D, Rybalkin I. G, Feil R, Hofmann F, and Beavo J. A. Regulation of cAMP-specific phosphodiesterase (PDE 5)phosphorylation in smooth muscle cells. *J Biological Chemistry* 2002; 277: 3310-3317.

27-Loughney K, Hill T. R, Florio V. A, Uher L, Rosman G. J, Wolda S. L, et al. Isolation and characterization of cDNA encoding PDE 5A, a human cGMP-binding , cGMP-specific 3', 5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Gene* 1998; 216: 139-147.

28-Rotella, D. P. Phophodiesterase type 5 inhibitors: Discovery and therapeutic utility. *Drugs of the Future* 2001; 26: 153-162.

29-Walker D. K, Ackland M. J, James G. C, Muirhead G. J, Rance D J, Wastall P, and Wright P. A. Pharmacokinetics and metabolism of sildenafil in mouse, rat, rabbit, dog and man. *Xenobiotica* 1999; 29: 297-310.

30-Ballard S A, Gingell C J, Tang K, Turner L. A, Price M. E, and Naylor A. M. Effects of sildenafil on the relaxation of human corpus cavernosum tissue in vitro and on the activities of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes. *J Urology* 1998; 159: 2164-2171.

31-Moreira S. G, Brannigan R. E, Spitz A, Orejuela F. J, Lipshultz L. I, and Kim E. D. Side-effect profile of sildenafil citrate (Viagra) in clinical practice. *Urology* 2000; 56: 474-476.

32-Gabrieli C. B, Regine F, Vingolo E. M, Rispoli E, Fabbri A, and Isidori A. Subjective visual halos after sildenafil (Viagra) administration: Electroretinographic evaluation. *Ophthalmology* 2001; 108: 877-881.

33-Bortolotti M, Mari C, Giovannini M, Pinna S, Miglioli M, and Pandolfo N. Effects of sildenafil on esophageal motility of normal subjects. *Digestive Diseases Sciences* 2001; 46: 2301-2306.

34-Rendell M. S, Rajfer J, Wicker P, and Smith M. Sildenafil for treatment of erectile dysfunction in the men with diabetes: A randomized controlled trial. *J Am Med Association* 1999; 281: 421-426.

35-Goldstein L, Lue T, Padma-Nathan H, Rosen R, Steers W, and Wicker P. Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. *New England J Medicine* 1998; 338: 1397-1404.

36-Conti C. R, Pepine C. J, and Sweeney M. Efficacy and safety of sildenafil citrate in the treatment of erectile dysfunction in patients with ischemic heart disease. *Am J Cardiol* 1999; 83: 29C-34C.

37-Blander D. S, Sanchez-Ortiz R. F, Wein A. J, and Broderick G. A. Efficacy of sildenafil in erectile dysfunction after radical prostatectomy. *Int J Impotence Research* 2000; 12: 165-168.

38-Feng M. I, Huang S, Kaptein J, Kaswick J, and Aboseif S. Effect of sildenafil citrate on postradical prostatectomy erectile dysfunction. *J Urology* 2000; 164: 1935-1938.

39-Araujo A, Johannes C. B, Feldman H. A, Derby C. A, and McKinlay J. B. Relation between psychosocial risk factors and incident erectile dysfunction: Prospective results from the Massachusetts Male Aging Study. *Am J Epidemiol* 2000; 152: 533-541.

40-Prisant LM, Carr AA, Bottilni PB. Sexual dysfunction with antihypertensive drugs. *Arch Intern Med* 1994; 154: 730-736.

41-Boyace EG, Umland EM. Sildenafil citrate: a therapeutic update. *Clin Ther* 2001; 23 (1): 2-3.

42-Webb DJ, Freestone S, Allen MJ. Sildenafil citrate and blood pressure lowering drugs: results of drug interaction studies with an organic nitrate and a calcium antagonist. *Am J Cardiol* 1999; 83 Suppl. 5A: 21C-28C.

43-Kloner RA, Brown M, Prisant LM. Effect of sildenafil in patients with erectile dysfunction taking antihypertensive therapy. *Am J Hypertens* 2001; 14: 70-73

44-Webb DJ, Muirhead GJ, Wulss M. Sildenafil citrate potentiates the hypotensive effects of nitric oxide donor drugs in male patients with stable angina. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 25-31.

45-Khoury V, Kritharides L. Diltiazem-mediated inhibition of sildenafil metabolism may promote nitrate-induced hypotension: case report. *Aust N Z J Med* 2000; 30: 641-662.

46-Dressa GK, Spence JD, Bailey DF. Pharmacodynamic consequences and clinical relevance of cytochrome P450 3A4 inhibition. *Clin Pharmacokinet* 2000; 38: 41-47.

47-Keklikoğlu M, Tuzcu M. The Merck Manual "Tanı-Tedavi El Kitabı" Cilt-1. 1995: 498-499.

48-Ruggeri ZM. Mechanisms initiating platelet thrombus formation. *Thromb Haemost* 1997; 78(1): 611-616.

49-Body SC. Platelet activation and interactions with the microvasculature. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 27(Suppl 1): S13-S25.

50-Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care* 1993; 16(2): 434-444.

51-Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998; 339(4): 229-234.

52-Knobler H, Savion N, Shenkman B, Kotev-Emeth S, Varon D. Shear-induced platelet adhesion and aggregation on subendothelium are increased in diabetic patients. *Thromb Res* 1998; 90(4): 181-190.

53-Iida N, Iida R, Takeyama N, Tanaka T. Increased platelet aggregation and fatty acid oxidation in diabetic rats. *Biochem Mol Biol Int* 1993; 30(1): 177-185.

54-Davi G, Catalano I, Aversa M, et al. Thromboxane biosynthesis and platelet function in type II diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1990; 322(25): 1769-1774.

55-Tomaselli L, Cerletti C, de Gaetano G, Notarbartolo A, Davi G, Pupillo M. Normal platelet function, but increased platelet activation in vivo in diabetic patients [letter]. *Thromb Haemost* 1990; 64(4): 604

56-Iwase E, Tawata M, Aida K, et al. A cross-sectional evaluation of spontaneous platelet aggregation in relation to complications in patients with type II diabetes mellitus. *Metabolism* 1998; 47(6): 699-705.

57-Aoki I, Aoki N, Kawano K, et al. Platelet-dependent thrombin generation in patients with hyperlipidemia. *J Am Coll Cardiol* 1997;30(1):91-96.

58-Dardik R, Varon D, Tamarin I, et al. Homocysteine and oxidized low density lipoprotein enhanced platelet adhesion to endothelial cells under flow conditions: distinct mechanisms of thrombogenic modulation. *Thromb Haemost* 2000; 83(2): 338-344.

59-Kjeldsen SE, Lande K, Gjesdal K, et al. Increased platelet release reaction in 50-year-old men with essential hypertension: correlation with atherogenic cholesterol fractions. *Am Heart J* 1987;113(1):151-5.

60-Lande K, Os I, Kjeldsen SE, et al. Increased platelet size and release reaction in essential hypertension. *J Hypertens* 1987; 5(4): 401-406.

61-Thomas JS, McConnell MF, Bell TG, Padgett GA. Platelet aggregation and dense granule secretion in a colony of dogs with spontaneous hypertension. *J Hypertens* 1992; 10(12): 1493-1498.

62-Islim IF, Beevers DG, Bareford D. The effect of antihypertensive drugs on in vivo platelet activity in essential hypertension. *J Hypertens* 1992; 10(4): 379-383.

63-Moser L, Callahan KS, Cheung AK, Stoddard GJ, Munger MA. ACE inhibitor effects on platelet function in stages I-II hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1997; 30(4): 461-467

64-Inoue T, Hayashi M, Uchida T, Takayanagi K, Hayashi T, Morooka S. Significance of platelet aggregability immediately after blood sampling and effect of cigarette smoking. *Platelets* 2001; 12(7): 415-418.

- 65-Fusegawa Y, Handa S. Platelet aggregation induced by ADP or epinephrine is enhanced in habitual smokers. *Thromb Res* 2000; 97(5): 287-295.
- 66-Clarke R, Daly L, Robinson K. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324(17): 1149-1155.
- 67-Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest* 1993; 91(1): 308-318.
- 68-Wall RT, Harlan JM, Harker LA, Striker GE. Homocysteine-induced endothelial cell injury in vitro: a model for the study of vascular injury. *Thromb Res* 1980; 18(1-2): 113-121.
- 69-Lentz SR, Sobey CG, Piegors DJ, et al. Vascular dysfunction in monkeys with diet-induced hyperhomocyst(e)inemia. *J Clin Invest* 1996; 98(1): 24-29.
- 70-Usui M, Matsuoka H, Miyazaki H, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T. Endothelial dysfunction by acute hyperhomocyst(e)inaemia: restoration by folic acid. *Clin Sci (Colch)* 1999; 96(3): 235-239.
- 71-Coppola A, Davi G, De Stefano V, Mancini FP, Cerbone AM, Di Minno G. Homocysteine, coagulation, platelet function, and thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26(3): 243-254.
- 72-Di Minno G, Davi G, Margaglione M, et al. Abnormally high thromboxane biosynthesis in homozygous homocystinuria. Evidence for platelet involvement and probucol-sensitive mechanism. *J Clin Invest* 1993; 92(3): 1400-1406.
- 73-Türköz Y, Özerol E. Nitrik oksid'in etkileri ve patolojik rolleri J Turgut Özal Medical Center 1997; 4(4): 453-461.
- 74-NIH Consensus Conference. Impotence: NIH Consensus Development Panel on impotence. *JAMA* 1993; 270: 83-90
- 75-Benet AE, Melman A. The epidemiology of erectile dysfunction. *Urol Clin North Am* 1995; 22: 699-709.

76-Greenstein A, Chen J, Miller H, Matzkin H, Villa Y, Braf Z Does severity of ischemic coronary disease correlate with erectile function?. Int J Impot Research 1997; 9(3): 123-126

77-Sakuma I, Akaishi Y, Tomioka H, Sato A, Kitabatake A, Hattori Y. Interactions of sildenafil with various coronary vasodilators in isolated porcine coronary artery. Euro J Pharmacol 2002; 437: 155-163.

78-Mochida H, Inoue H, Takagi M, Noto T, Yano K, Kikkawa K. Sildenafil and T-1032, phosphodiesterase type 5 inhibitors, showed a different vasorelaxant property in the isolated rat aorta. Eur J Pharmacol 2002; 440: 45-52.

79- Eisenhardt A, Sperling H, Hauck E, Porst H, Stief C, Rubben H, et al. Ace Gene I/D And A/Os3 G894t Polymorphisms And Response To Sildenafil In Men With Erectile Dysfunction. Urology 2003; 62: 152-157.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ