

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇAN KORPUS KAVERNOZUMDA KASICI AJANLAR  
ÜZERİNE LEPTİNİN ETKİSİ**

Mevra AL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç.Dr. Burak Cem Soner

KONYA 2017

T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇAN KORPUS KAVERNOZUMDA KASICI AJANLAR  
ÜZERİNE LEPTİNİN ETKİSİ**

Mevra AL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç.Dr. Burak Cem Soner

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 171318002 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA 2017

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Mevra AL**'ın "**SIÇAN KORPUS KAVERNOZUMDA KASICI AJANLAR ÜZERİNE LEPTİNİN ETKİSİ**" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

KONYA, 24/10/ 2017

Tez Danışmanı

Doç.Dr. Burak Cem Soner

N.E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji A.D.

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Ayşe Saide Şahin

N.E.Ü. Tıp Fakültesi

Tıbbi Farmakoloji A.D.

Jüri Üyesi

Prof.Dr. Neyhan Ergene

KTO Karatay Üniversitesi

Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.

Jüri Üyesi

Doç.Dr. Burak Cem Soner

N.E.Ü. Tıp Fakültesi

Tıbbi Farmakoloji A.D.

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 09/ 11/ 2017 tarih ve 23/ 17 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof.Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

## APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled “EFFECT OF LEPTIN ON CONSTRUCTING AGENTS ON RAT CORPUS CAVERNOSUM” by “Mevra AL” that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of **Master of Science** in department of “**Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı**”, Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan.

Principal Advisor

Assoc.Prof.Dr. Burak Cem Soner

N.E.U. Medicine Faculty, Department of Medical Pharmacology



Examination Committee Member

Prof.Dr. Ayşe Saide Şahin

N.E.U. Medicine Faculty

Department of Medical Pharmacology

Examination Committee Member

Prof.Dr. Neyhan Ergene

KTO Karatay University

Medicine Faculty

Department of Physiology

Examination Committee Member

Assoc.Prof.Dr. Burak Cem Soner

N.E.U. Medicine Faculty

Department of Medical Pharmacology

This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.



Prof.Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Sciences

## BEYANAT

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurullar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilemeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Meyra AL



% **11**

BENZERLIK ENDEKSİ

% **7**

İNTERNET  
KAYNAKLARI

% **2**

YAYINLAR

% **8**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

## BIRINCIL KAYNAKLAR

- 1** Submitted to Konya Necmettin Erbakan University  
Öğrenci Ödevi **%7**
- 2** [www.urosource.com](http://www.urosource.com)  
İnternet Kaynağı **<%1**
- 3** ŞAHNA, Engin, İLHAN, Necip and MUTLU, Emre. "L-NAME ve Tuz ile Oluşturulan Deneysel Hipertansiyon Modelinde Böbrek Dokusunda Renin, AT1, AT2, ADE1ADE2, Aldosteron Düzeylerine Novokinin, ", Fırat Üniversitesi, 2015.  
Yayın **<%1**
- 4** Submitted to Haliç Üniversitesi  
Öğrenci Ödevi **<%1**
- 5** [www.istanbulsaglik.gov.tr](http://www.istanbulsaglik.gov.tr)  
İnternet Kaynağı **<%1**
- 6** [www.konya.edu.tr](http://www.konya.edu.tr)  
İnternet Kaynağı **<%1**

Submitted to Kirikkale University

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince ve özellikle tez çalışmam sırasında değerli vakti, bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, destek olan, ilgisini ve önerilerini esirgemeyen tez danışmanım Doç.Dr. Burak Cem SONER' e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım. Eğitimim boyunca bilimsel destekleri için Tıbbi Farmakoloji Anabilim Başkanı Prof.Dr. Ayşe Saide ŞAHİN' e ve Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof.Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK' a, Yrd.Doç.Dr. Salim Yalçın İNAN' a, Yrd.Doç.Dr. Mehmet KILIÇ ve Yrd.Doç.Dr. İpek DUMAN' a teşekkür ederim. Attığım her adımda desteklerini esirgemeyen aileme minnettarım.

Mevra AL

## İÇİNDEKİLER

<i>İçerik</i> .....	i
<i>Tez Onay Sayfası</i> .....	ii
<i>Approval</i> .....	iii
<i>Beyanat</i> .....	iv
<i>Teşekkür</i> .....	v
<i>İçindekiler</i> .....	vi
<i>Şekiller Listesi</i> .....	viii
<i>Tablolar Listesi</i> .....	ix
<i>Kısaltmalar Listesi</i> .....	x
<i>Özet</i> .....	xi
<i>Abstract</i> .....	xii
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>2</b>
2.1. <i>Erektile Disfonksiyon</i> .....	2
2.2. <i>Ereksiyon Fizyolojisi</i> .....	2
2.2.1. <i>Erektile Disfonksiyon Patogenezi</i> .....	5
2.2.2. <i>Penil Anatomi</i> .....	6
2.2.3. <i>Korpus Kavernozum</i> .....	7
2.3. <i>Leptin</i> .....	8
2.3.1. <i>Leptin Hakkında Genel Bilgiler</i> .....	8
2.3.2. <i>Leptinin Yapısı</i> .....	8
2.3.3. <i>Vasküler Düz Kas ve Endotel Üzerine Etkileri</i> .....	9
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	<b>10</b>
3.1. <i>Etik Kurul Onayı, Sıçanların Beslenmesi, Gruplandırılması</i> .....	10
3.2. <i>İzole Organ Banyosu Deney Protokolü</i> .....	10
3.3. <i>Kullanılan aygıtlar</i> .....	13
3.3.1. <i>İzole organ banyosu</i> .....	13
3.3.1.1. <i>Force Displacement Transdüser</i> .....	14
3.3.1.2. <i>Su Banyosu ve Sirkülatör</i> .....	14
3.3.1.3. <i>İzole Organ Banyosu Seti</i> .....	14
3.3.2. <i>pH Metre</i> .....	14
3.4. <i>Kullanılan kimyasallar</i> .....	14
3.5. <i>Verilerin analizi</i> .....	15
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>15</b>
4.1. <i>Fenilefrin ile Kasılma Yanıtları</i> .....	15
4.2. <i>Serotonin ile Kasılma Yanıtları</i> .....	16

<i>4.3. Fenilefrin Kasılması Sonrası Asetilkolin ile Gevşeme Yanıtları</i> .....	17
<i>4.4. Serotonin Kasılması Sonrası Asetilkolin ile Gevşeme Yanıtları</i> .....	17
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>19</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	<b>24</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b> .....	<b>25</b>
<b>8. EKLER</b> .....	<b>29</b>
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>30</b>

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Penisin enine kesiti. ....	7
Şekil 2. Leptinin kristal yapısı. ....	8
Şekil 3. Anestezi altında penisin çıkartılması. ....	10
Şekil 4. Anestezi altında penisin çıkartılması. ....	11
Şekil 5. Krebs- Henseleit solüsyonu içerisinde KK dokusunun Tunica albuginea tabakasından temizlenmesi. ....	11
Şekil 6. Leptin inkübasyonunun FE kasılması üzerine etkisi .....	16
Şekil 7. Leptin inkübasyonunun serotonin kasılması üzerine etkisi .....	16
Şekil 8. FE kasılması sonrası ACh ile gevşeme yanıtları.....	17
Şekil 9. 5HT kasılması sonrası ACh ile gevşeme yanıtları.....	18
Şekil 10. Leptinin vasküler duvardaki etkileri .....	20
Şekil 11. Anjiyotensin-II aracılı vazokonstraksiyon üzerine leptinin etkisi. ....	23

## **TABLÖLAR LİSTESİ**

Tablo 1. Deney Protokolü. ....	13
--------------------------------	----

## **KISALTMALAR LİSTESİ**

5HT: Serotonin

ACh: Asetilkolin

Ang II: Anjiyotensin-II

ED: Erektıl disfonksiyon

EDHF: Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör

FE: Fenilefrin

JAK2/STAT3: Janus kinaz sinyal iletim ve transkripsiyon aktivatörü

KK: Korpus kavernozum

L-NAME: N( $\omega$ )-nitro-L-arjinin metil ester

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

NO: Nitrik oksit

NOS: Nitrik oksit sentaz

eNOS: endotelyal NOS

iNOS: İndüklenebilir NOS

nNOS: Nöronal NOS

PKA: Protein kinaz A

PGE<sub>1</sub>: Prostaglandin E1

sGC: Solübl guanilil siklaz

cGMP: Siklik GMP

cGK: cGMP bağımlı protein kinaz

## ÖZET

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sıçan Korpus Kavernozumda Kasıcı Ajanlar Üzerine Leptinin Etkisi

Mevra Al

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ/ KONYA 2017

Bu in vitro çalışmada, korpus kavernozum (KK) dokusunda etki gösteren fenilefrin (FE), serotonin (5HT) ve asetilkolin (ACh)'ın etkisinin leptin inkübasyonu sonrası neden olduğu değişiklikler ve bu etki üzerine endotel kaynaklı nitrik oksid (NO)'nun rolü olup olmadığı incelenmiştir.

Sıçanların KK dokuları sıcaklığı 37°C' de sabit tutulan %95 O<sub>2</sub>- %5 CO<sub>2</sub> karışımı ile gazlandırılan ve Krebs-Henseleit (KHS) solüsyonu içeren 10 ml' lik izole organ banyolarına alındı. Uygulanan prosedürlere verilen cevaplar izometrik olarak kaydedildi. Leptin inkübasyonunun 3x10<sup>-6</sup>M FE yanıtları üzerine olan etkisinin değerlendirildiği grupta, 30 dak süre ile KK dokusunun leptin ile inkübe edilmesi FE yanıtlarında anlamlı bir azalmaya neden oldu. Leptinin 3x10<sup>-5</sup>M 5HT kasılma yanıtları üzerine olan etkisinin değerlendirildiği diğer grupta da 30 dak süre ile KK dokusunun leptin ile inkübe edilmesi 5HT yanıtlarında anlamlı bir azalmaya neden oldu. Leptin inkübasyonu kümülatif olarak uygulanan (10<sup>-9</sup> ve 10<sup>-5</sup>M) ACh gevşeme yanıtlarını arttırmamıştır. ACh gevşeme yanıtı Leptin+L-NAME inkübasyonu yapılan grupta azalırken sadece leptin inkübasyonunun olduğu grupta artış göstermemiştir.

Bu sonuçlar; sıçan KK dokusunda leptin inkübasyonunun vazokonstriktör ajanların etkisini azalttığını, ACh gevşeme yanıtları üzerine artırıcı etki oluşturmadığını göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** korpus kavernozum, leptin, erektil disfonksiyon

## ABSTRACT

T.R.

NECMETTIN ERBAKAN UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

Effect Of Leptin On Constructing Agents On Rat Corpus Cavernosum

Mevra Al

Department of Medical Pharmacology

MASTER'S THESIS/ KONYA 2017

In this in vitro study, the effects of phenylephrine (FE), serotonin (5HT) and acetylcholine (ACh) in corpus cavernosum (KK) after leptin incubation, and the role of endothelin-derived nitric oxide (NO) on these effects were investigated.

Rat KK tissue rings were placed in tissue baths (10 ml) containing Krebs-Henseleit solution (KHS) and gassed with 95% O<sub>2</sub>- 5% CO<sub>2</sub> at constant 37°C. The responses to the applied procedures were recorded isometrically. In the group in which the effect of leptin incubation of 3x10<sup>-6</sup>M FE responses was assessed, incubation of KK tissue with leptin for 30 minutes caused a significant decrease in FE responses. In the other group in which the effect of leptin of 3x10<sup>-5</sup>M 5HT contraction responses was evaluated, incubation of KK tissue with leptin for 30 minutes resulted in a significant decrease in 5HT responses. Leptin incubation did not increase ACh cumulative response (10<sup>-9</sup> and 10<sup>-5</sup>M). ACh relaxation response decreased in the leptin + L-NAME incubation group, it did not show any increase in leptin incubation group.

These results demonstrated that leptin incubation in rat corpus cavernosum tissue reduced the effect of vasoconstrictor agents and did not have an enhancing effect on ACh relaxation responses.

**Key words:** corpus cavernosum, leptin, erectile dysfunction

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Leptin, adiposit ob geni tarafından üretilen peptid yapılı bir hormondur. Leptin seviyeleri vücut yağ miktarı ile ilişkilidir ve leptinin temel görevi iştah kontrolü ve enerji homeostazının dengelenmesidir. İlk kez 1994 yılında keşfedilmesinin ardından adipoz dokunun yanı sıra endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri ve kardiyomyositler gibi önemli periferik dokularda da bulunması leptin ile ilgili çalışmaları arttırmıştır.

Ereksiyon nörolojik, vasküler ve doku kompartımanları arasındaki hassas ve düzenli dengeyi temsil eden kompleks bir olaydır. Penis gövdesinde bulunan ve korpus sponjiyozum ile penis hacmini oluşturan KK, penil ereksiyonun anahtar düzenleyicisidir. KK'daki düz kas elemanlarının ve arterlerin gevşemesine bağlı olarak gelişen hemodinamik durumun herhangi bir yerindeki bozukluk erektil disfonksiyon (ED) ile sonuçlanır. ED etiolojisinde genellikle organik ve psikojenik faktörler birbiri içine girmiştir. Ancak, penisin özelleşmiş bir vasküler yatak olduğu göz önüne alındığında; ED etiolojisinde vasküler nedenler sıklıkla yer almaktadır.

Leptin, endotelden NO salınımını sağlayan ACh'dan farklı olarak endotelde  $Ca^{+2}$ -bağımsız NO üretimini aktive etmektedir. Leptin endotel bütünlüğü bozulmuş aortta vazodilatör etkiye sahip değildir. Bu nedenle vazodilatör etkisinin endotel aracılı olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada amacımız KK dokusunda etki gösteren kasıcı ve gevşetici ajanların etkisinin leptin inkübasyonu sonrası değişikliğini değerlendirmek ve bu etki üzerine endotel kaynaklı NO'nun rolü olup olmadığını göstermektir. Kasıcı ajan olarak FE ve 5HT, gevşetici ajan olarak ise ACh kullanılmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlar leptin inkübasyonu ile tekrar değerlendirilerek leptinin olası etkileri incelenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Erektıl Disfonksiyon

ED, tatmin edici cinsel performansa izin verecek düzeyde ereksiyona erişme ve sürdürme becerisindeki kalıcı bozukluk olarak tanımlanır (NIH Consensus Conference, 1993). ED genel olarak vasküler bir hastalıktır ve hipertansiyon, diyabet, obezite, hiperlipidemi, sigara, alkol tüketimi ve sedanter yaşam tarzı gibi kardiyovasküler hastalık risk faktörleri ile ilişkilidir (Feldman ve ark. 1994; Kloner ve ark. 2003; Solomon ve ark. 2003). ED fiziksel ve psikososyal sağlığı etkileyebileceği gibi ED şikayetine sahip kişilerin veya partnerlerinin yaşam kalitesi üzerinde de önemli etkilere sahip olabilir.

Çoğunlukla ED klinik kardiyovasküler hastalıkların ortaya çıkmasından önce görülür bunun muhtemel nedeni koroner arter çapından daha küçük bir çapa sahip olan penil arterde gelişecek eşit büyüklükteki aterosklerotik plağın kan akımını geniş koroner arterde gelişene göre daha kötü etkileyecek olmasıdır. Bu nedenle ED oluşumu farklı arteriyel yataklarda vasküler hastalığın erken belirtisi olabilir (Lahoz 2016; Mccullough 2003).

### 2.2. Ereksiyon Fizyolojisi

Ereksiyon nörolojik, vasküler ve doku kompartımanları arasındaki hassas ve düzenli dengeyi temsil eden kompleks bir olaydır (Gratzke ve ark. 2010). Pelvik sinirlerle penise ulaşan parasempatik uyarılar aracılığıyla oluşur. KK ve korpus sponjiyozum dokusundaki düz kas liflerinin trabeküler ağısı yapısının gevşemesine bağlı olarak gelişir (Hall 2017). Vasküler düz kas gevşemesini takiben, penisin erektil dokusunda bulunan geniş kavernöz sinüzoidlere kan dolmaya başlar. Genişleyen sinüzoidler ile tunika albuginea arasında küçük venüllerin kompresyonu, venöz akışın kısıtlanmasına, dolayısıyla da kanın KK içinde tutulması sonucunda da ereksiyona neden olur. Penis düz kasının (arteriyel ve trabeküler) kasılma aktivitesi; yeterli seviyede agonist (nörotransmitter, hormonlar ve endotelyum ilişkili maddeler), reseptörlerin yeterli ekspresyonu, transdüksiyon mekanizmalarının bütünlüğü, kalsiyum hemostazı, kasıcı proteinler arasındaki ilişki ve düz kas hücrelerinin hücre arası ilişkileri (gap-junctionlar) gibi birçok faktörle ayarlanmaktadır. Kasıcı ve gevşetici faktörler arasındaki denge ve etkileşim penis

düz kas tonusunda belirleyicidir (Sézn de Tejada ve ark. 2004). Penil arter ve dallarında dilatasyonun oluşması ile ereksiyon başlar.

Seksüel uyarı kavernoza sinir uçlarından nörotransmitter salınımını tetikler. Nihayetinde bu düz kaslar gevşer ve aşağıdaki olaylar meydana gelir:

1. Hem diastolik hem sistolik fazda kan akımındaki artış aracılığıyla arteriol ve arterlerde dilatasyon meydana gelir.

2. Sinüzoidler genişleyerek gelen kanı hapseder.

3. Tunika albuginea ve periferik sinüzoid arasında subtunikal venül pleksus baskılanır, venöz boşalma azalır.

4. Tunika kapasitesi kadar uzar, iç dairesel ve dış boylamsal tabakalar arasındaki emissarvenler tıkanır ve venöz boşalma daha da azaltılarak minimuma iner.

5. Tam ereksiyon fazı; oksijenin kısmi kan basıncı normalde 35mmHg civarında iken artarak yaklaşık olarak 90mmHg düzeyine çıkar ve intrakavernöz basınç yaklaşık 100mmHg olur bu basınç artışı penisi bağımlı konumdan dik duruma yükseltir.

6. Rijid-ereksiyon fazında iskiyokavernöz kasların kontraksiyonu ile birlikte daha fazla basınç artışı (birkaç yüz mmHg) meydana gelir.

Böylece ereksiyon sinüzoidal gevşeme, arteriyel dilatasyon ve venöz baskılanma olmak üzere üç aşamadan oluşur. Ereksiyon için düz kas gevşemesinin önemi hayvan ve insan çalışmaları ile gösterilmiştir (Dean ve Lue 2005).

Endotel, vasküler fizyolojinin anahtar düzenleyicisidir ve düz kas tonusunu etkileyen birçok madde endotelde üretilir. Bunlar düz kas kasılmasını (endotelin, anjiyotensin-II, TXA<sub>2</sub>) ve gevşemesini (NO, prostasiklin) sağlayan maddeleri kapsamaktadır. Humoral ve parakrin stimulusa cevap olarak endotelden düz kas gevşemesi sağlayan maddeler salgılanır. Endotel – bağımlı vazodilatörler (ACh, bradikinin) endotelyal hücrede intrasellüler kalsiyum artışı sağlayan endotelyal reseptörleri etkileyerek vasküler düz kas gevşemesini oluşturmaktadır. Kalsiyum

artışı düz kasta gevşeme oluşturan lokal mediyatörlerin sentezinden sorumlu endotelial enzim aktivitesini tetiklemektedir.

İnsan KK'sinde endotel bağımlı gevşemeden sorumlu tek mediyatör NO iken penil rezistans arterlerinde gevşeme NO yanı sıra EDHF aracılığıyla olur (Angulo ve ark. 2003). NOS, L- arjinin ve moleküler oksijeni kullanarak NO ve L-sitruilin üretmektedir. Tetrahidrobiopterin ve NADPH bu reaksiyon için gereklidir (Moncada ve Higgs 1995; Moncada, Palmer, ve Higgs 1991). nNOS ve eNOS sırasıyla penisin kolinerjik sinirlerinde ve endotelde eksprese olmaktadır (Burnett ve ark. 1992, 1993; Hedlund, Alm, ve Andersson 1999; Stanarius ve ark. 2001). Postganglionik parasempatik sinirler olan nitretrjik sinirler yapılarında nNOS içerirler ve NO salınımına aracılık ederler (Hedlund, Ny, ve ark. 2000; Hedlund ve ark. 1999; Moncada, Higgs, ve Furchgott 1997; Stanarius ve ark. 2001). Kavernoza sinir uyarımı peniste gevşemeye neden olan NO salınımını sağlayan sinir terminallerindeki nitretrjik sinir liflerini aktive eder (Ignarro ve ark. 1990; Leone ve ark. 1994). Penis kan damarlarındaki endotelde ve KK'nin endotelyumunda bulunan eNOS, NO'nun diğer bir kaynağıdır. Eretil fonksiyonu eNOS'un sağladığına dair 3 teori ileri sürülmektedir. Birincisi, postganglionik kolinerjik liflerden salgılanan ACh'in endotelden NO salınımını sağlıyor olabilmesi (izole KK veya penil arterlerde ACh'in dışardan uygulanması endotele bağımlı gevşeme oluşturmaktadır). eNOS ile ilgili ikinci olasılık, gerilim stresi ile eNOS'un aktive olmasına bağlı olabilir (Rees, Palmer, ve Moncada 1989). Ereksiyon süresince vasküler ve sinüzoidal lümenin genişlemesi gerilim stresine neden olabilir; bu da protein kinaz Akt aktivasyonu sonrasında eNOS'un fosforilasyonuna ve aktivasyonuna neden olarak endotelden NO salınımını kolaylaştırır (Hurt ve ark. 2002). Üçüncü olarak, bradikinin ve oksijen gibi plazmadaki maddeler, oksijenlenmiş kanın KK'ye girişi üzerine endotelde NO üretimini tetikleyebilir. Nitretrjik sinirlerdeki nNOS'dan oluşan NO düz kas gevşemesinin çoğunlukla başlangıcından sorumlu iken, eNOS'dan oluşan NO'nun ereksiyonun devamlılığını sağladığı konusunda fikir birliği vardır.

Düz kas hücrelerinde ATP'ye duyarlı K<sup>+</sup> kanalının (ATP- K<sup>+</sup>) ve Ca<sup>+2</sup> ile aktive edilen K<sup>+</sup> kanalının (K<sup>+</sup>-Ca<sup>+2</sup>) kapanması hiperpolarizasyona neden olur. Hiperpolarizasyon voltaj bağımlı Ca<sup>+2</sup> kanalının kapanmasını sağlar ve ekstrasellüler kompartımandan Ca<sup>+2</sup> girişi azalır. Buna bağlı olarak intrasellüler Ca<sup>+2</sup> seviyesinin

azalması sonucu da gevşeme meydana gelir. İnsan KK düz kas hücrelerinde ATP-  $K^+$  ve  $K^+$ -  $Ca^{+2}$  fonksiyonel seviyede bulunmaktadır (Christ, Spray, ve Brink 1993; Venkateswarlu ve ark. 2002). Penil düz kasın hiperpolarizasyonu, NO sentezinin engellenmesine rağmen, insan penis arterlerinde endotel bağımlı gevşemesinin sürmesini sağladığı için oldukça önemlidir. Bu hiperpolarizasyonu,  $K^+$ -  $Ca^{+2}$  blokajı ya da yüksek  $K^+$  konsantrasyonu engelleyebilir (Angulo ve ark. 2003). NO sentezinin inhibisyonuna rağmen meydana gelen endotel bağımlı gevşeme EDHF aracılı  $K^+$ -  $Ca^{+2}$  aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir.  $K^+$  kanallarının açılması cAMP'ye bağlı PKA, cGMP'ye bağlı protein kinaz (cGK) veya cGMP tarafından stimüle edilir. İnsan KK'sinde  $K^+$ -  $Ca^{+2}$  kanalları PGE<sub>1</sub> (Lee ve ark. 1999) ya da bir NO donörü (Lee ve Kang 2001) tarafından sırasıyla cAMP ve cGMP aracılığıyla aktive edilir. cGMP'nin hedeflerinden birisi olan cGK'yı bulundurmayan farelerde düz kas hücrelerinde NO-cGMP yolağı aracılı gevşeme yanıtının başarısız olması cGMP'ye bağılı olmayan (cAMP) ya da cGK'ye bağılı olmayan (cGMP'nin iyon kanalları üzerine direkt etkisi) mekanizmaların erektil fonksiyon üzerinde minör rol oynadığını göstermektedir (Hedlund, Aszodi, ve ark. 2000; Keilbach, Ruth, ve Hofmann 1992; Lee ve Kang 2001).

NO, cGMP aracılı etki göstermektedir. NO, sGC'ye bağlanır ve proteinde konformasyonel değişikliklere neden olarak enzimi aktive eder (Hobbs 1997). Aktive olmuş sGC, GTP'nin cGMP'ye dönüşümünü katalizlemektedir. İntrasellüler cGMP konsantrasyonundaki artış kontraktıl yanıtta azalmayı indükleyen intrasellüler olay kaskatını başlatmaktadır. Nitretrjik sinir stimülasyonu veya ekzojen NO verilmesi KK'de intrasellüler cGMP konsantrasyonlarında artışa neden olur (Bush, Gonzalez, and Ignarro 1992; Dahiya ve ark. 1993). sGC'nin selektif inhibitörlerinin penil düz kasta nitretrjik relaksasyon cevabını inhibe ettiği gösterilmiştir (Cellek, Kasakov, ve Moncada 1996; Cellek and Moncada 1997b; Recio ve ark. 1998). Bütün bu bulgular penil düz kastaki nitretrjik nörotransmisyonun sGC stimülasyonu ve cGMP konsantrasyonlarında artış yoluyla olduğunu göstermektedir.

### *2.2.1. Eretil Disfonksiyon Patogenezi*

KK'daki düz kas elemanlarının ve arterlerin gevşemesine bağılı olarak gelişen hemodinamik durumun herhangi bir yerindeki bozukluk ED ile sonuçlanır ve etiyoloji sıklıkla multifaktoriyeldir. Pek çok hastalık; nörojenik, vasküler ve

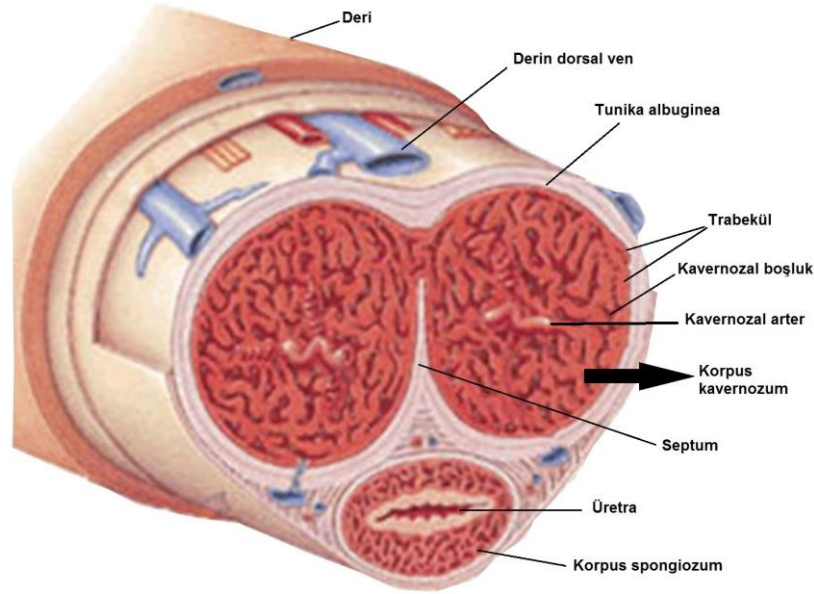
hormonal sistemi etkileyerek, KK düz kaslarında mikroskobik yapısal değişikliklere neden olarak ya da kişinin psikolojik durumunu bozarak ED'ye yol açar. ED etiolojisinde genellikle organik ve psikojenik faktörler birbiri içine girmiştir. Ancak, penisin özelleşmiş bir vasküler yatak olduğu göz önüne alındığında; ED etiolojisinde vasküler nedenler sıklıkla yer almaktadır. Vasküler ED'si olan hastaların büyük bir çoğunluğunda bozulmuş penil perfüzyon yaygın aterosklerotik hastalığın bir komponentidir. Aterosklerozisin yanı sıra arteriyel yetmezliğe yol açan en yaygın risk faktörleri arasında hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara, diabetes mellitus sayılabilir.

Aterosklerozide damarlarda endotel hasarı, hücrel migrasyon ve damar düz kas hücre proliferasyonu şeklinde morfolojik değişiklikler meydana gelir. Artan yaş aterosklerozis için güçlü bir risk faktörüdür ve NO salınımındaki değişikliklerle ilişkilidir. Yapılan çalışmalar, ED insidansı ve koroner arter hastalığının başlama yaşı arasında bir korelasyon olduğunu göstermektedir (McCullough 2003). Tavşan modellerinde aterosklerozun azalmış NOS aktivitesi, artmış kontraktıl TxA2 ve PGF<sub>2α</sub> üretimi ile birlikte olduğu ve elektrik stimülasyonuna yanıt olarak, düz kas gevşemesinde bozukluk olduğu gösterilmiştir (Mundy ve ark. 2004).

### *2.2.2. Penil Anatomi*

Penis korpus penis ve radix penis olmak üzere iki bölümden oluşur. Penisin ucundan pubis'e kadar olan bölümüne korpus penis, perineum'da bulunan sabit kısmına ise radix penis denir. Penis, deri ve fibröz doku ile sarılı üç silindirik kitleden oluşur. Bu üç kitleden ikisini bilateral KK, diğerini de orta hatta bulunan ventral korpus sponjiyozum ve glans oluşturur. Her iki cisim de hem radix peniste hem korpus peniste bulunur (Arıncı ve Elhan 2001). Penisini oluşturan bu üç yapı ereksiyon esnasında hareket serbestliği veren gevşek subkutanöz doku ve deri ile çevrilidir. KK, Tunika albuginea tabakası ile çevrilmiştir. Tunika albuginea ile deri arasında içten dışa doğru derin (Buck's) fasiya ve superfisial (Dartos) fasiya tabakaları bulunur. Tunika albuginea anatomisi ve heterojen kalınlığı ile güçlü bir yapıya sahiptir. Veno-oklüziv mekanizmadaki fonksiyonun yanı sıra erektil yapının sertliğini sağlar (Carson, Kirby, Irwin 2009). Tunica yüzeysel ve derin liflerden oluşur. Yüzeysel lifler dış boylamsal uzanır ve her iki kavernöz cismi birlikte sarar. Derin tabakadaki lifler daireseldir ve her bir kavernöz cismi ayrı ayrı sarar. Bu

tabakanın bir birine yapışan orta hattaki bölümüne septum denir (Arıncı ve Elhan 2001). Korpus sponjiyozum'u çevreleyen tunika daha incedir bu nedenle ereksiyon esnasında oluşan basınç KK basıncının 1/3'ünden azdır (Dean ve Lue 2005). Üretra sponjiyozum'da bulunur. Korpus sponjiyozum penisin yaprak gibi genişlemiş ön ucuna glans penis denir (Arıncı ve Elhan 2001).



Şekil 1. Penisin enine kesiti.

### 2.2.3. Korpus Kavernoza

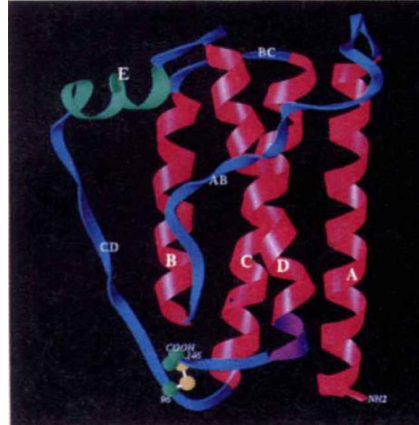
Bilateral bir yapı olan KK penisin  $\frac{3}{4}$ 'ü, birbirine sıkıca yapışmıştır. Yapışık olan bu bölüm korpus penisin büyük kısmını oluşturur. KK penislerin  $\frac{1}{4}$ 'ü, birbirinden uzaklaşarak iskiyon pubis kolunda crista phallica'ya yapışır. Bu bölüme de crus penis denilir (Arıncı ve Elhan 2001). KK, penil ereksiyona aracılık eden anahtar yapıdır. Bir çift KK, korpus sponjiyozum ile penis gövdesini, bu iki silindirik yapı da penis hacmini oluşturur. KK'da bulunan ve merkezi olarak çalışan kavernoza arter ereksiyon esnasında basınç altında arteriyel kan ile dolar. Her bir KK, erektil dokuyu çevreleyen, vasküler endotel ile birbirine bağlanmış, astarlı birden fazla laküner boşluktan oluşan tunika albuginea adlı kalın fibröz kılıfa sahiptir. Trabeküller bu boşlukların duvarını oluşturur ve hemen hemen eşit miktarlarda düz kas ve fibroelastik kolojen yapı içerir.

### 2.3. Leptin

#### 2.3.1. Leptin Hakkında Genel Bilgiler

Leptin kelimesi yağsız (lean) anlamına gelen yunanca “leptos” kelimesinden türemiştir. Adipoz dokudan salgılanan ve OB geni tarafından kodlanan 167 aminoasitten oluşan peptid yapılı bir hormondur, kanda serbest olarak ya da proteine bağlı halde bulunur. (Zhang ve ark. 2005). Leptin, hipotalamusu etkileyerek yiyecek alımını azaltır ve enerji sarfiyatını artırır. Temel görevi iştah kontrolü ve enerji hemostazının dengelenmesidir (Wolk ve Somers 2006). Leptin ve leptin reseptörleri keşfedildiği adipoz dokunun yanısıra önemli periferik dokularda da bulunurlar. Bunlar kardiyovasküler sistemde bulunan endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri ve kardiyomiyositler gibi dokulardır (Huang ve Li 2000). Kardiyovasküler sistem üzerindeki kesin rolü tam olarak anlaşılamamıştır ancak yüksek leptin seviyelerinin kötü kardiyovasküler prognoz ile ilişkili olduğu klinik çalışmalarla sürekli desteklenmektedir (Wolk ve Somers 2006).

#### 2.3.2. Leptinin Yapısı



Şekil 2. Leptinin kristal yapısı.

Leptin ilk kez 1994 yılında Zhang ve ark. tarafından fare ob geninin klonlandığı ve insandaki homologun saptandığı çalışma ile keşfedilmiştir (Zhang ve ark. 1994). Leptin 16kDa molekül ağırlığına sahip, tek zincirli polipeptid yapılı bir hormondur (Mantzoros 1999). Birbirine paralel olmayan 4  $\alpha$ -heliks yapısı içerir (A, B, C, D). AB ve CD uzun çapraz bağla bağlanmış ve BC kısa ilmek (loop) sola dönüşlü helikste yer almaktadır. (Şekil 2) (Zhang ve ark. 1997). Bu yapısal benzerlik

temel alınarak leptin Tip I helikal sitokin ailesinin bir üyesi olarak sınıflandırılmış ve büyüme hormonu, prolaktin, eritropoetin ve interlökinlerle ilişkilendirilmiştir (Huising, Kruiswijk, ve Flik 2006). Leptin de sitokin reseptör sisteminin önemli bir parçası olan JAK-STAT sinyal iletim yolağı üzerinde etkiye sahiptir (Huising ve ark. 2006).

### 2.3.3. Vasküler Düz Kas ve Endotel Üzerine Etkileri

Leptinin vazodilatör etkisinin endotel aracılı olduğu düşünülmektedir. Tavşan aortu kullanılarak yapılan çalışmalarda leptinin konsantrasyon bağımlı vazodilatör etkisi endotel hasarı görmüş aortta gözlenmemiştir (Şahin ve Bariskaner 2007). Leptinin NO salınımını stimüle ederek bu etkiye neden olduğu bilinmektedir. Vecchione ve ark. leptinin fosfatidilinozitol 3-kinaz (PI3-K) -bağımsız Akt-eNOS fosforilasyon yolağını aktive ederek NO üretimini indüklediğini kanıtlamışlardır. Endotelden NO salınımını sağlayan ACh'dan farklı olarak leptin endotelde  $Ca^{+2}$ -bağımsız NO üretimini aktive etmektedir (Vecchione ve ark. 2002). Leptin normotansif rat aortunda anjiotensin-II aracılı sistolik  $Ca^{+2}$  artışını inhibe ederek düz kas hücrelerinin vazokonstrüksiyonunu engeller (Fortuño ve ark. 2002).

Hipertansif ratlarda leptinin endotel aracılı vazodilatör etkisinin azaldığı bildirilmiştir. Gomart ve ark.'ları spontane hipertansif sıçanların endoteli alınmış torasik aort ve pulmoner arterleri üzerinde yaptıkları çalışma ile leptinin mitojen aktiveli protein kinaz-kinaz ve fosfatidilinozitol-3-kinaz aracılı yolak ile sitozolik  $Ca^{+2}$ 'u artırdığı ve voltaj duyarlı kalsiyum ve transient reseptör potansiyel katyon kanalı aracılığıyla ekstrasellüler  $Ca^{+2}$  influksunu indükleyerek vasokonstriktör etkiye neden olduğunu göstermişlerdir. Çalışmalar leptinin endotel bütünlüğüne bağlı olarak farklı mekanizmalar aracılığıyla vasküler kasılma ve gevşeme üzerinde düzenleyici olduğunu göstermektedir (Gomart ve ark. 2017).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

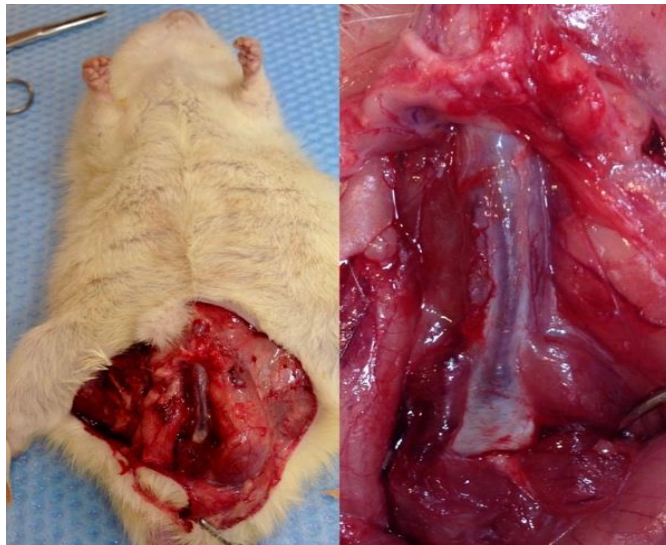
#### 3.1. Etik Kurul Onayı, Sıçanların Beslenmesi, Gruplandırılması

Çalışmamız Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğüne değerlendirilerek 2016-051 sayılı karar ile onaylanmıştır. Deneyler Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yürütülmüştür.

280-330 g ağırlığında 18 adet Wistar albino türü sıçan Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Çalışmaya alınan tüm sıçanlar standardizasyon amacı ile 30x20x20 cm boyutlarındaki özel sıçan kafeslerine alındıktan sonra bir hafta süre ile 12 saatlik siklusun sağlandığı ortamda standart yem ve içme suyu ile beslenerek ortama uyumları sağlanmıştır. Tüm deney süresi boyunca oda ısıları 24°C'de sabit tutulmuştur. Çalışmaya alınacak hayvanların 12 saat önceden yemleri alınmış, sıvı alımlarına ise izin verilmiştir.

#### 3.2. İzole Organ Banyosu Deney Protokolü

Sıçanlara 80 mg/kg ketamin ve 6 mg/kg ksilazin uygulanarak i.p. enjeksiyon ile anestezi yapılmıştır. Anestezi esnasında alt abdominal kavite açılarak penis çıkartılmıştır (Şekil 3,4).



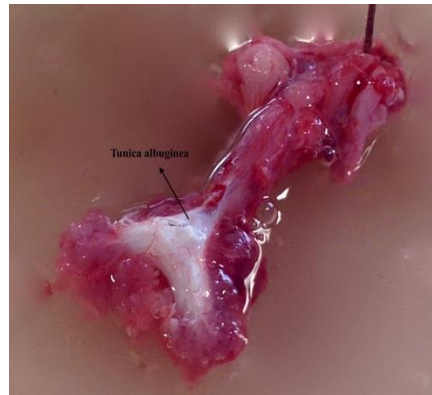
Şekil 3. Anestezi altında penisin çıkartılması.



Şekil 4. Anestezi altında penisin çıkartılması.

Sıçanların penisi eksize edildikten sonra +4°C krebs solüsyonu içerisine alınmış ve sıçanın yaşamı kanama ile sonlandırılmıştır. KK dokusunu çevreleyen tunika albuginea endotel hasarına sebep olmayacak şekilde krebs solüsyonu içinde dikkatlice temizlenmiştir (Şekil 5).

Çıkarılan KK dokusu eşit iki parçaya ayrıldıktan sonra her bir parça alt ve üst ucundan ipek iplikle bağlanmış ve bir ucu sabit metale diğer ucu ise izometrik transdüsera bağlanarak %95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> ile gazlandırılan ve sıcaklığı 37°C'de sabit tutulan Krebs solüsyonu içeren izole organ banyolarına asılmıştır.



Şekil 5. Krebs- Henseleit solüsyonu içerisinde KK dokusunun tunica albuginea tabakasından temizlenmesi.

KK şeriteri izole organ cihazına asılmalarını takiben 1 g lık gerilimden sonra 1 saat süre ile dinlendirilerek bazal tonusa gelmeleri sağlanmıştır. Dinlenme süresi boyunca her 15 dakikada bir Krebs solüsyonu değiştirilerek bekletilmişlerdir. Bu sürenin sonunda cevaplar izometrik transdüser yardımı ile bilgisayara aktarılmış ve kaydedilmiştir.

Dinlenme süresi sonunda KK dokusu 80 mM KCl ile kasılmıştır. Kasılma sabit bir platoya ulaşıktan sonra Krebs çözeltisi ile 15 dak. aralıklar ile yıkanarak yarım saat süre ile dinlendirilmiştir.

Çalışmamızda leptin'in FE ve 5HT kasılma yanıtları üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesi amacı ile KK dokusu leptin ( $10^{-8}$ M) inkübasyonu varlığında ve yokluğunda submaksimal dozda FE ( $3 \times 10^{-6}$ M) ile kasılmıştır (n=6). Aynı protokol kasıcı ajan olarak 5HT ( $3 \times 10^{-5}$ M) kullanılarak tekrarlanmıştır (n=6). Çalışma sonrası leptin inkübasyonunun FE ve 5HT kasılma yanıtları üzerine etkisi ilk gruptan elde edilen kasılma yanıtları ile kıyaslanarak değerlendirilmiştir.

Diğer bir grupta KK dokusu FE ( $3 \times 10^{-6}$ M) ile kasılmıştır. Kasılma yanıtları sabit bir platoya ulaşıktan sonra kümülatif olarak ACh ( $10^{-9}$ M- $10^{-5}$ M) artan dozlarda uygulanarak endotel bağımlı gevşeme yanıtları (EBGY) değerlendirilmiştir. Elde edilen yanıtlar sonrasında farklı gruplarda leptin ve/veya L-NAME varlığı ve yokluğunda değerlendirilmiştir (n=9). Aynı protokol çalışma kasıcı ajan olarak 5HT ( $3 \times 10^{-5}$ M) kullanılarak tekrarlanmıştır (n=9). Deney protokolü ve çalışma grupları Tablo 1 ile gösterilmiştir.

1g gerilim ve 1saat dinlenme	80 mM KCl Kasılması	30 dak Dinlenme	$3 \times 10^{-6}$ M FE Kasılması	30 dak Dinlenme	$10^{-8}$ M Leptin İnkübasyonu	$3 \times 10^{-6}$ M FE Kasılması
1g gerilim ve 1saat dinlenme	80 mM KCl Kasılması	30 dak Dinlenme	$3 \times 10^{-6}$ M FE Kasılması	$10^{-9}$ M- $10^{-5}$ M ACh Gevşemesi		
1g gerilim ve 1saat dinlenme	80 mM KCl Kasılması	30 dak Dinlenme	$10^{-8}$ M Leptin İnkübasyonu	$3 \times 10^{-6}$ M FE Kasılması	$10^{-9}$ M- $10^{-5}$ M ACh Gevşemesi	
1g gerilim ve 1saat dinlenme	80 mM KCl Kasılması	30 dak Dinlenme	$10^{-8}$ M Leptin+ $10^{-5}$ M L-NAME İnkübasyonu	$3 \times 10^{-6}$ M FE Kasılması	$10^{-9}$ M- $10^{-5}$ M ACh Gevşemesi	
1g gerilim ve 1saat dinlenme	80 mM KCl Kasılması	30 dak Dinlenme	$3 \times 10^{-5}$ M 5HT Kasılması	30 dak Dinlenme	$10^{-8}$ M Leptin İnkübasyonu	$3 \times 10^{-5}$ M 5HT Kasılması
1g gerilim ve 1saat dinlenme	80 mM KCl Kasılması	30 dak Dinlenme	$3 \times 10^{-5}$ M 5HT Kasılması	$10^{-9}$ M- $10^{-5}$ M ACh Gevşemesi		
1g gerilim ve 1saat dinlenme	80 mM KCl Kasılması	30 dak Dinlenme	$10^{-8}$ M Leptin İnkübasyonu	$3 \times 10^{-5}$ M 5HT Kasılması	$10^{-9}$ M- $10^{-5}$ M ACh Gevşemesi	
1g gerilim ve 1saat dinlenme	80 mM KCl Kasılması	30 dak Dinlenme	$10^{-8}$ M Leptin+ $10^{-5}$ M L-NAME İnkübasyonu	$3 \times 10^{-5}$ M 5HT Kasılması	$10^{-9}$ M- $10^{-5}$ M ACh Gevşemesi	

Tablo 1. Deney Protokolü.

### 3.3. Kullanılan aygıtlar

#### 3.3.1. İzole organ banyosu

İzole organ banyosu sistemi; veri toplanmasına uygun yüksek performanslı veri toplama ünitesi içermektedir. Dört kanal izole organ banyosu seti, dört adet force displacement transducer ve sirkülatörlü su banyosunu içeren bir sistemden oluşmaktadır. Doz cevap eğrilerini; sinyallerin ayrı amplifikatörler gerektirmeden tümünü algılayabilen dört kanal kayıt sistemi bulunmaktadır.

### 3.3.1.1. Force Displacement Transdüser

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

### 3.3.1.2. Su Banyosu ve Sirkülator

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

### 3.3.1.3. İzole Organ Banyosu Seti

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

### 3.3.2. pH Metre

Hanna instruments HI 8521 markalı pH ölçme aleti kullanılmıştır.

### 3.4. Kullanılan kimyasallar

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

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

Serotonin HCL, Sigma Aldrich, (St. Louis, MO, A.B.D) (Ürün Numarası: H9523); distile suda çözünmüştür.

Leptin, Sigma Aldrich, (St. Louis, MO, A.B.D) (Ürün Numarası: L4146); %0,1'lik HCl'de çözünmüştür.

HCl, Sigma Aldrich, (St. Louis, MO, A.B.D).

KK, Krebs- Henseleit solüsyonu(mM), NaCl 119, KCl 4.6, CaCl<sub>2</sub> 1.5, MgCl 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 15, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, glikoz 5.5.; pH:7.4

KK, 80 mM KCl solüsyonu (mM), NaCl 43.6, KCl 80, CaCl<sub>2</sub> 1.5, MgCl 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 15, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, glikoz 5.5.; pH:7.4

Krebs solüsyonu ve KCl solüsyonları için gerekli olan tüm kimyasallar Merck KGaA (Darmstadt, Germany) firmasından elde edilmiştir.

### 3.5. Verilerin analizi

Çalışmada FE kasılmaları yüzde cevap olarak değerlendirilmiştir. Yüzde kasılma değerinin belirlenmesi için KK'ya 80 mM KCl uygulanması ile elde edilen maksimum kasılma cevabı %100 olarak alınmış ve FE uygulaması sonrası elde edilen cevap bu değere göre oranlanarak hesaplanmıştır.

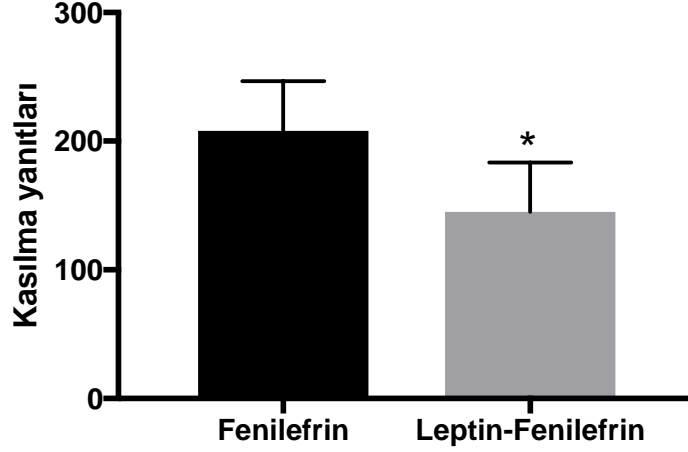
Gevşetici ajanların cevaplarında ise ACh için FE gruplarında submaksimal FE kasılma yanıtı, 5HT gruplarında submaksimal 5HT kasılma yanıtı %100 olarak alınmış ve ACh yanıtları, bu değere göre yüzde olarak hesaplanarak elde edilmiştir.

Çalışmadaki tüm değerler, ortalama±standart hata olarak verilmiştir. Çalışmanın sonunda FE ile leptin inkübasyonu+FE uygulamasının oluşturduğu kasılma yanıtları ve 5HT ile leptin inkübasyonu+ 5HT uygulamasının oluşturduğu kasılma yanıtlar kendi aralarında değerlendirilmiştir. Bunun yanında kontraksiyon oluşturulan gruplar, leptin ve leptin+L-NAME inkübasyonu uygulanan gruplarla kıyaslanarak gevşeme yanıtları değerlendirilmiştir. Tablo ve grafiklerde verilen n sayıları kullanılan doku sayılarını göstermektedir. Deney grupları arasındaki istatistiksel anlamlılık için grup ortalamaları ve standart hataları alınarak "student t-test" aracılığı ile gruplar arası farkın önemlilik kontrolü yapılmıştır. p değerinin 0.05 in altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Fenilefrin ile Kasılma Yanıtları

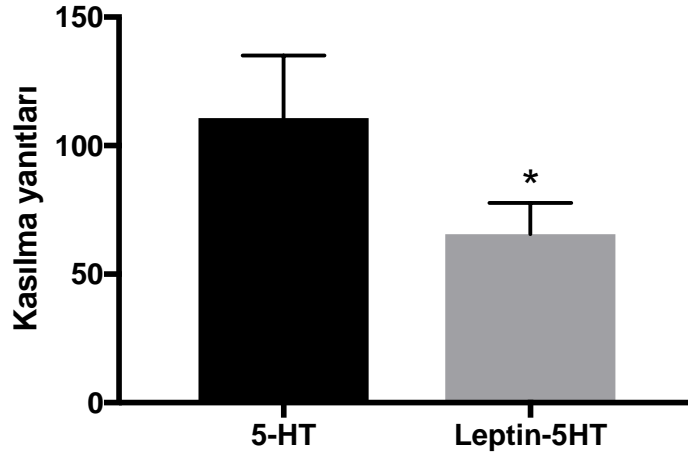
Deney protokolümüzde leptin inkübasyonunun  $3 \times 10^{-6}$  M FE yanıtları üzerine olan etkisi değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre 30dak süre ile KK dokusunun leptin ile inkübe edilmesi FE yanıtlarında azalma ile sonuçlanmıştır ( $p < 0.01$ ). FE kasılma sonuçları inkübasyon yapılmayan grupta ( $n=8$ )  $207.9 \pm 13.58$  olarak gözlenirken leptin inkübasyonu sonrasında kasılma yanıtları ( $n=8$ )  $145.2 \pm 13.47$  olarak elde edilmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Leptin inkübasyonunun FE kasılma yanıtı üzerine etkisi. KK dokusunun 30 dak süre ile leptinle inkübe edilmesi FE kasılmasında anlamlı bir düşüşe neden olmuştur ( $p<0.01$ ).

#### 4.2. Serotonin ile Kasılma Yanıtları

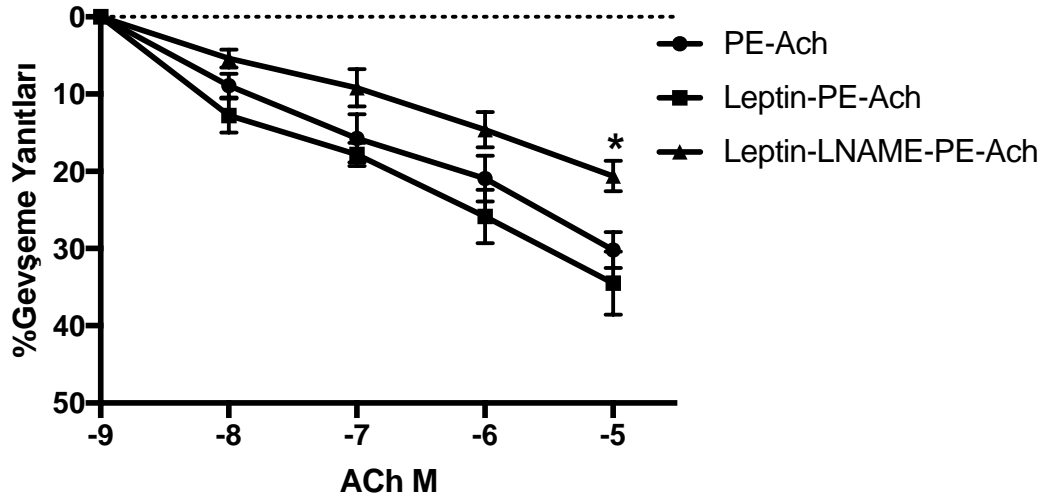
Deney protokolümüzde leptinin  $3 \times 10^{-5}$  M serotonin kasılma yanıtları üzerine olan etkisi değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre 30dak süre ile KK dokusunun leptin ile inkübe edilmesi serotonin yanıtlarında azalma ile sonuçlanmıştır ( $p<0.01$ ). Serotonin kasılma sonuçları inkübasyon yapılmayan grupta ( $n=6$ )  $110.70 \pm 9.96$  olarak gözlenirken leptin inkübasyonu sonrasında kasılma yanıtları ( $n=6$ )  $65.62 \pm 4.93$  olarak elde edilmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Leptin inkübasyonunun serotonin kasılma yanıtı üzerine etkisi. KK dokusunun 30 dak süre ile leptinle inkübe edilmesi serotonin kasılmasında anlamlı bir düşüşe neden olmuştur ( $p<0.01$ ).

#### 4.3. Fenilefrin Kasılması Sonrası Asetilkolin ile Gevşeme Yanıtları

Deney protokolü sırasında  $10^{-9}$ M- $10^{-5}$ M ACh, L-NAME ekübasyonu ile veya inkübasyonsuz olarak kümülatif uygulanmış ve oluşan gevşeme yanıtlarında leptin inkübasyonunun etkisi değerlendirilmiştir. Elde edilen ACh maksimum gevşeme yanıtları inkübasyonsuz grup için (n=9)  $30.17 \pm 2.28$ , leptin inkübasyonu sonrasında (n=9)  $34.49 \pm 4.04$  ve L-NAME+leptin inkübasyonu sonrasında ise  $20.60 \pm 1.89$  olarak bulunmuştur. ACh'e bağlı gevşeme yanıtları leptin inkübasyonu sonrasında L-NAME ile azalma göstermiştir. L-NAME inkübasyonu gevşeme yanıtlarını istatistiksel olarak azaltmıştır ( $p < 0.05$ , Leptin-L-NAME-FE-ACh grubuna karşı FE-ACh grubu ve Leptin-FE-ACh grubu). Leptin ile 30 dak süre ile inkübasyon ise maksimum gevşeme yanıtlarında inkübasyon yapılmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır (Şekil 8).

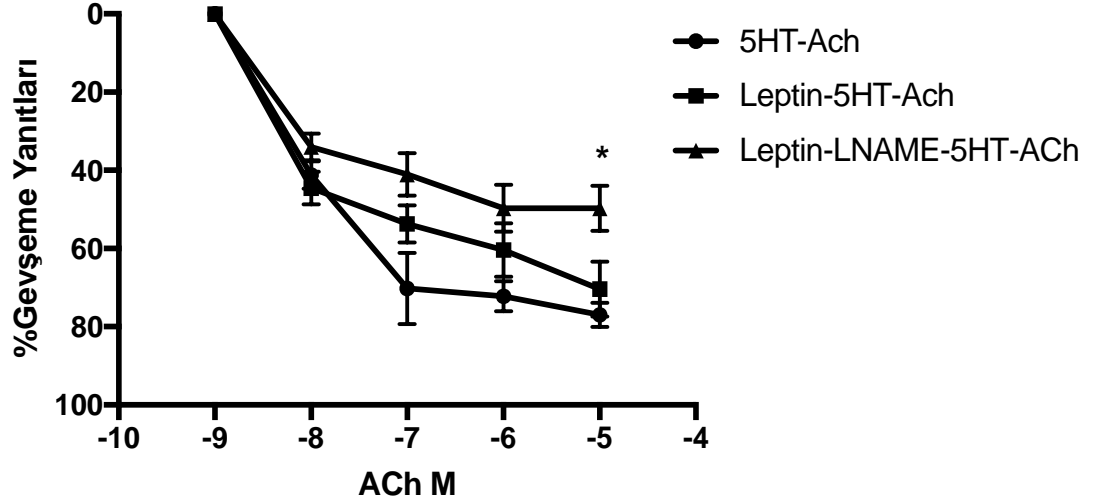


Şekil 8. FE kasılması sonrası ACh ile gevşeme yanıtları. ( $p < 0.05$ , Leptin-LNAME-FE-ACh grubuna karşı FE-ACh grubu ve Leptin-FE-ACh grubu).

#### 4.4. Serotonin Kasılması Sonrası Asetilkolin ile Gevşeme Yanıtları

Deney protokolü sırasında  $3 \times 10^{-5}$  M 5HT kasılması sonrasında  $10^{-9}$ M- $10^{-5}$ M arasındaki ACh gevşeme yanıtları leptin inkübasyonu L-NAME varlığında ve yokluğunda değerlendirilmiştir. Elde edilen yanıtlarda maksimum ACh gevşeme yanıtları inkübasyonsuz grup için (5HT-ACh) (n=9)  $76.99 \pm 3.03$ , leptin

inkübasyonu sonrasında (Leptin-5HT-ACh) (n=9)  $70.358 \pm 6.89$  ve L-NAME+leptin inkübasyonu sonrasında ise (Leptin-L-NAME-5HT-ACh)  $49.75 \pm 5.73$  olarak bulunmuştur. Leptin inkübasyonu sonrasında ACh yanıtlarında anlamlı bir artış gözlenmemiştir. ACh'e bağlı gevşeme yanıtları leptin inkübasyonu sonrasında L-NAME ile azalma göstermiştir ( $p < 0.05$ , Leptin-L-NAME-5HT-ACh grubuna karşın 5HT-ACh grubu ve Leptin-5HT-ACh grubu). (Şekil 9).



Şekil 9. 5HT kasılması sonrası ACh ile gevşeme yanıtları. ( $p < 0.05$ , Leptin-LNAME-5HT-ACh grubuna karşın 5HT-ACh grubu ve Leptin-5HT-ACh grubu).

## 5. TARTIŞMA

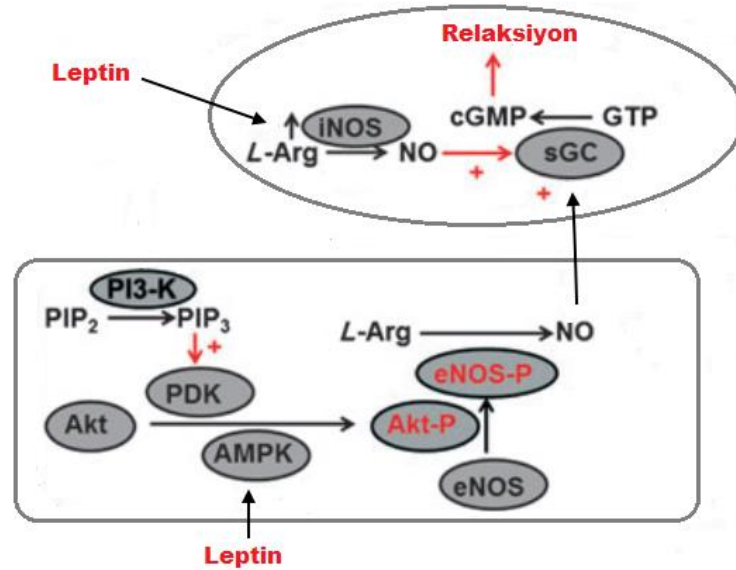
Rat KK dokusunda yapılan bu çalışmada leptin inkübasyonu FE ve 5HT kasılma yanıtlarında azalmaya neden olmuştur. Hem FE hem de 5HT grubunda leptin+L-NAME inkübasyonu ACh gevşeme yanıtlarını azaltırken yalnız leptin inkübasyonu ACh'ın gevşeme yanıtlarında anlamlı bir farklılığa neden olmamıştır.

Vasküler hastalıkların patogeneğinde yer aldığı klinik ve deneysel çalışmalarla gösterilen leptin, endotel fonksiyonun düzenlenmesinde önemli bir hormondur. Leptinin vasküler etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda dört farklı etki mekanizması üzerinde durulmuştur. Leptin iNOS ve eNOS aracılı vazorelaksan etkisinin yanı sıra Ang II aracılı  $Ca^{+2}$  artışını inhibe ederek düz kaslarda gevşemeye neden olmaktadır. Ayrıca, leptinin kan basıncı değişimine neden olmaksızın sempatik sinir sistemi aktivasyonu yapması vasküler hemostazın düzenlenmesinde etkili olduğunu göstermektedir.

Vasküler tonusun düzenlenmesinde temel faktör olan eNOS, L-arjinden NO sentezlenmesine aracılık eder. NO, düz kas hücrelerinde sGC'yi stimüle eder ve intrasellüler cGMP'yi artırır. Endotel hücrelerinde kısa sürede eNOS aktivitesini düzenleyen iki ana mekanizma vardır. İlki ACh, bradikinin ve P-maddesi gibi endotel bağımlı vazodilatörler tarafından  $Ca^{+2}$  içe alımının ve  $Ca^{+2}$ -kalmodulin kompleksinin uyarılarak eNOS aktivasyonunun artırılmasıdır. İkinci yolak orta düzeyde ve daha uzun etki sağlayan protein kinaz B/Akt aracılı eNOS aktivasyonudur. Akt aktivasyonunda PI3-K etkindir. PI3-K, fosfotidilinozitol 4,5 bifosfatı fosfotidilinozitol 3,4,5 trifosfata (PIP3) fosforilize eder. PIP3, fosfoinozitol bağımlı protein kinaz (PKB) aracılığıyla Akt aktivasyonunu başlatır. eNOS, insülin, insülin benzeri büyüme faktörü-1, VEGF, östrojenler gibi birçok uyarıcı tarafından PI3-K/ Akt bağımlı yol ile aktive edilir (Oudit ve ark. 2004).

Vecchione ve arkadaşları insan aortik endotel hücresinde ve izole rat aortunda leptinin Akt ve eNOS fosforilasyonunu artırdığını ilk defa göstermişlerdir. Daha sonraki çalışmalarında ekstrasellüler  $Ca^{+2}$ 'un çıkarılmasının leptin indüklü eNOS aktivasyonunu etkilemediğini bulmuşlardır. Bu veriler leptin aracılı eNOS aktivasyonunun  $Ca^{+2}$  ve kalmodulin bağımsız fakat PI3-K/ Akt bağımlı mekanizma ile düzenlendiğini desteklemektedir (Vecchione ve ark. 2002). PI3-K inhibitörü

wortmanin ve LY294002 ile yapılan çalışmalar leptin aracılı eNOS aktivasyonunun PI3-K inhibisyonu ile bloke olmadığını göstermemiştir. Ancak leptin aracılı eNOS aktivasyonu Akt inhibisyonu ile ortadan kalkmıştır (Beltowski ve ark. 2007; Vecchione ve ark. 2002). Propico ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalar leptinin eNOS'u aktive etmesinde AMP ile aktive edilen protein kinaz (AMPK) aracılı Akt aktivasyonunun etkili olduğunu göstermiştir (Procopio ve ark. 2009). Fizyolojik durumlar altında leptin PI3-K/ Akt mekanizmaları aracılığıyla NOS ekspresyonunu ve aktivitesini stimüle etmektedir (Rodríguez ve ark. 2007). Obezite, hipertansiyon gibi hiperleptinemi ile karakterize patolojik durumlarda leptin sitozolik  $Ca^{+2}$  düzeyinin artmasına neden olabilirken fizyolojik durumlarda bu etki oluşmamaktadır (Gomart ve ark. 2017).



Şekil 10. Leptinin vasküler duvardaki etkileri. Endotel hücrelerinde leptin AMPK aktivasyonunu başlatarak Akt'nin fosforilasyonunu ve aktivasyonunu sağlar. Akt fosforilasyonu eNOS'u fosforilleyerek aktivasyonunu artırır. Fosforile olan eNOS, L-argininden NO sentezlenmesini sağlar. NO, sGC'yi aktive ederek cGMP düzeyini artırır ve düz kas hücrelerinin gevşemesini sağlar. Ayrıca leptin düz kas hücrelerinde iNOS ekspresyonunu artırarak NO üretimi sağlar (Beltowski2012).

NO aracılı vasküler etkilerinin yanı sıra leptinin i.v. akut infüzyonu arteriel kan basıncını değiştirmeksizin sempatik sinir sistemi aktivasyonuna neden olmaktadır. Sempatik aktivasyonundaki artışa rağmen kan basıncının artmaması leptinin karşıt bir etkisinin olabileceğini göstermektedir. Leptin, kronik kullanımda ise sempatik sinir sisteminin aşırı aktivasyonu sonucu kan basıncında

yükselmeye neden olmaktadır (Haynes ve ark. 1997). Lembo ve ark. kimyasal sempatektomi uyguladıkları sıçanlarda sempatik sinir sistemi etkisinin ortadan kalkması sonucu leptinin hipotansif etkiye neden olduğunu göstermişlerdir. Böylece leptinin kan basıncı hemostazı üzerine etkisinin hormonun hipotansif etkisi ile sempatik aktivasyon aracılı pressör etki arasındaki dengeden kaynaklandığı iddia edilmektedir (Lembo ve ark. 2000). Ancak leptinin akut intraserebroventriküler infüzyonunun sempatik aktiviteyi aşırı artırarak kan basıncında artışa neden olması çok düşük miktarlarda dahi sistemik dolaşıma salınan leptinin sempatik aracılı pressör etkisinin hipotansif etkisi ile dengelenemediğini göstermektedir. Bu nedenle leptinin hipotansif etkisi hormonun periferal etkisine atfedilmiştir (Dunbar, Hu, ve Lu 1997).

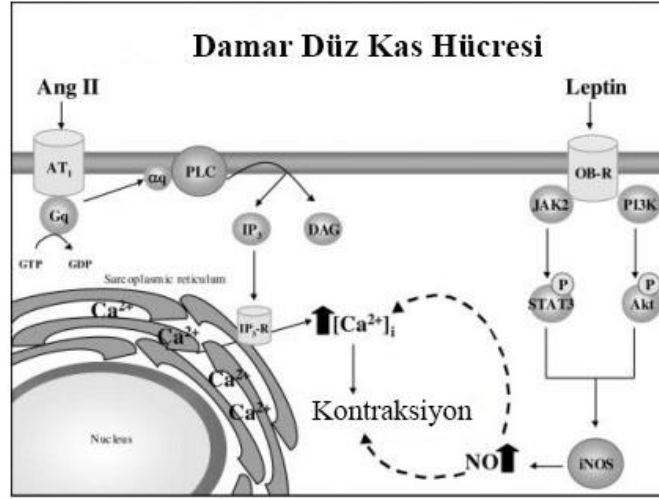
Lembo ve ark. leptinin aortik ve mezenterik arterde oluşturduğu vazorelaksan etkinin endotel hasarı ile ortadan kalktığını dolayısıyla leptinin vasküler etkisinde endotel bütünlüğünün önemli olduğunu göstermişlerdir (Lembo ve ark. 2000). Lembo ve ark. sıçan aortunda leptin aracılı vazorelaksan etkinin NO fonksiyonunu inhibe eden L-NAME tarafından, mezenterik arterde ise leptinin etkisini L-NAME'den etkilenmeyerek NO fonksiyonuna etkisi olmayan CYP bağımlı-EDHF sentez inhibitörü brefeldin A tarafından ortadan kaldırıldığını göstermiştir (Lembo ve ark. 2000). Sahin ve Bariskaner tavşan aortunda leptinin vazodilatör etkisinin endotelin çıkarılmasıyla ortadan kalktığını ancak L-NAME inkübasyonunun kısmi azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir (Şahin ve Bariskaner 2007). Bu çalışmalar muhtemel mekanizmanın heterojen ve vasküler yatağa bağlı olduğunu göstermektedir. Yaptığımız çalışmada leptin inkübasyonu sonrası FE ve 5HT kasılma yanıtlarında gözlenen anlamlı azalma leptinin KK dokusunda da etki oluşturduğunu göstermektedir.

Leptin reseptörlerinin damar endotelinde olduğunu gösteren kanıtlar (Sierra-Honigmann ve ark. 1998), direkt leptin aracılı vazorelaksasyonun endotel mekanizmalara tamamen bağımlı olduğu fikrini daha da güçlendirmiştir. NO üretimi inhibe edilse bile leptinin endotel bütünlüğü tam sıçanlarda kan basıncını artırıcı etki göstermediği ve sempatektomi yapılmış sıçanlarda hipotansif etkiyi sürdürdüğü

gözlenmiştir (Lembo ve ark. 2000).

Diğer taraftan, Momin ve ark. insan safen veni kullanarak yaptıkları çalışmada leptinin vazorelaksan etkisinin L-NAME ve endotel hasarından etkilenmediğini bu nedenle leptin aracılı gevşemenin endotelden bağımsız olacağını iddia etmişlerdir (Momin ve ark. 2006). Gomar ve ark. ise endoteli çıkarılmış torasik aort ve pulmoner arterde leptin aracılı kasılma yanıtlarını değerlendirmiş ve torasik aortta kasılma yanıtı gözlemlenmezken pulmoner arterde doza bağımlı gevşeme oluşmuştur (Gomart ve ark. 2017).

Endotel aracılı etkilerinin yanı sıra leptinin vasküler sistem üzerindeki etkisinde leptin reseptörleri de rol almaktadır. Leptin reseptörleri tek bir gen tarafından kodlanan membrana yayılmış reseptörlerdir (Myers, Cowley, ve Münzberg 2008). Leptin vasküler düz kas hücrelerinde (VDKH) bulunan leptin reseptörü aracılığıyla anjiyotensin-II (Ang II) aracılı intrasellüler  $Ca^{+2}$  artışını ve böylece vazokonstriksiyonu inhibe etmektedir. Leptinin fizyolojik konsantrasyonlarda endoteli çıkarılmış VDKH, Ang II aracılı intrasellüler  $Ca^{+2}$  artışını inhibe ettiği gözlenmiş ancak bu etki endotel bütünlüğü tam olan VDKH'de gözlenememiştir. Ancak leptin  $Ca^{+2}$ 'lu ve  $Ca^{+2}$ 'suz ortamda Ang II aracılı intrasellüler  $Ca^{+2}$  artışını inhibe etmiştir. Bu etki hormonun intrasellüler depolardan Ang II aracılı  $Ca^{+2}$  salınımını bloke ettiğini desteklemektedir. Leptin reseptör mutasyonuna sahip sıçan aortu ve VDKH'sinde ise leptinin etkisi bulunamamıştır. (Fortuño ve ark. 2002). Ang II aracılı vazokonstraksiyon üzerine leptinin etkisi Şekil 10 ile gösterilmiştir.



Şekil 11. Anjiyotensin-II aracılı vazokonstraksiyon üzerine leptinin etkisi. Normotansif durumda leptin Ang II aracılı  $[Ca^{+2}]_i$  artışını inhibe eder ve iNOS aracılı NO indüksiyonu ile vasküler kontraktıl yanıtı engeller. Ancak hipertansiyonda, belirgin hiperleptinemiye rağmen, leptinin vasküler düzenleyici etkisi Ang II tarafından maskelenir. Kesik çizgiler inhibisyonu, bütün çizgiler stimülasyonu göstermektedir. AT1, Anjiyotensin II tip 1 reseptör; PLC, fosfolipaz C; IP3, inozitol 1,4,5-trifosfat; DAG, diaçilgliserol; IP3-R, inozitol 1,4,5-trifosfat reseptörü; OB-R, leptin reseptörü; P, fosforile edilmiş rezidü; Gq, guanin nükleotid bağlayıcı protein (9);  $\alpha q$ , Gq proteinin  $\alpha$  alt tipi.

Renin- anjiyotensin- aldosteron sisteminin önemli bir bileşeni olan Ang II, anjiyotensin tip 1 (AT 1) reseptörleri aracılığıyla KK düz kaslarında kasılmaya neden olarak penil ereksiyonu sonlandırır (Kılarkaje ve ark. 2013). Ang II aktivasyonu KK'da apoptozis ve fibroze neden olarak veno-oklüzif disfonksiyona ve ED'ye yol açabilir (Li ve ark. 2017). Yapılan çalışmalar Ang II' nin aynı zamanda diyabet ve hipertansiyon ile ilişkili olarak KK' da meydana gelen yapısal değişiklikler için potent fibrotik faktör olduğunu göstermiştir (Kılarkaje ve ark. 2013; Toblli ve ark. 2004). Bu çalışmada leptin inkübasyonu sonucu FE ve 5HT'nin vazokonstriktör etkisininin anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Heterojen ve vasküler yatağa bağlı etki gösteren leptinin FE ve 5HT kasılma yanıtlarını anlamlı derecede azaltması KK dokusunda da etkin olduğunu göstermektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan bu çalışmada sıçan KK dokusunda FE ve 5HT aracılı kasılma yanıtları leptin inkübasyonu sonrası anlamlı olarak azalmıştır. Hem FE hem de 5HT gruplarında leptin inkübasyonu ile L-NAME varlığında ve yokluğunda değerlendirilen ACh gevşeme yanıtlarında L-NAME olmadığında artma gözlenmezken, L-NAME varlığında azalma gözlenmiştir.

Leptin inkübasyonu KK'da vazokonstriktör ajanların etkisini azaltırken ACh gevşeme yanıtlarında anlamlı bir artışa neden olmamıştır. Leptin inkübasyonu sonrası FE ve 5HT aracılı kasılma yanıtlarının anlamlı olarak azalması ancak ACh aracılı gevşeme yanıtlarında anlamlı bir farklılık oluşmaması leptinin vazodilatör etkisinin kompleks olabileceğini düşündürmektedir. Yapılmış olan bazı çalışmalarda kasılma esnasında hücre içi kalsiyum düzeyi üzerine olan etkilerinin belirtilmiş olması muhtemel bir mekanizmayı düşündürmektedir. Bu nedenle, leptinin etki mekanizmasının tam anlaşılabilmesi için yeni çalışmalar yapılabilir.

## 7. KAYNAKLAR

- Angulo J, et al. Calcium Dobesilate Potentiates Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor-Mediated Relaxation of Human Penile Resistance Arteries. *British Journal of Pharmacology*. 2003; 139(4):854–62.
- Arıncı, Kaplan ve Alaittin Elhan. *Anatomi*. Güneş Kitabevi, 200, 1. Cilt, Ankara, 2001; p. 322–26.
- Beltowski J, Wójcicka G, Jamroz-Wiśniewska A, and Borkowska E. Role of PI3K and PKB/Akt in Acute Natriuretic and NO-Mimetic Effects of Leptin. *Regulatory Peptides*. 2007; 140(3):168–77.
- Beltowski J. Leptin and the regulation of endothelial function in physiological and pathological conditions *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2012; 39: 168–178
- Burnett AL. et al. Immunohistochemical Localization of Nitric Oxide Synthase in the Autonomic Innervation of the Human Penis. *The Journal of Urology*. 1993; 150(1):73–76.
- Burnett AL, Lowenstein CJ, Bredt DS, Chang TS and Snyder SH. Nitric Oxide: A Physiologic Mediator of Penile Erection. *Science*. 1992; 257(5068):401–3.
- Bush PA, Gonzalez NE, and Ignarro LJ. Biosynthesis of Nitric Oxide and Citrulline from L-Arginine by Constitutive Nitric Oxide Synthase Present in Rabbit Corpus Cavernosum. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1992; 186(1):308–14.
- Cellek S, Kasakov L, and Moncada S. Inhibition of Nitroergic Relaxations by a Selective Inhibitor of the Soluble Guanylate Cyclase. *British Journal of Pharmacology*. 1996; 118(1):137–40.
- Cellek S, and Moncada S. Modulation of Noradrenergic Responses by Nitric Oxide from Inducible Nitric Oxide Synthase. *Nitric Oxide : Biology and Chemistry*. 1997a; 1(3):204–10.
- Cellek S, and Moncada S. Nitroergic Control of Peripheral Sympathetic Responses in the Human Corpus Cavernosum: A Comparison with Other Species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1997b; 94(15):8226–31.
- Christ GJ, Spray DC, and Brink PR. Characterization of K Currents in Cultured Human Corporal Smooth Muscle Cells. *Journal of Andrology*. 1993; 14(5):319–28.
- Culley CC, Kirby RS, Goldstein I, Willey MG. *Textbook of Erectile Dysfunction*. Informa healthcare, 2009, 2nd ed. New York, p:25-27.
- Dahiya R, Trigo-Rocha F, Brock G, Narayan P, and Lue TF. Sodium Nitroprusside and Neurostimulation Cause Increased Levels of Cyclic Guanosine Monophosphate and Not Cyclic Adenosine Monophosphate during Canine Penile Erection. *Biochemistry and Molecular Biology International*. 1993; 29(1):167–73.
- Dean RC, and Lue TF. Physiology of Penile Erection and Pathophysiology of Erectile Dysfunction. *Urologic Clinics of North America*. 2005; 32(4):379–95.
- Dunbar JC, Hu Y, and Lu H. Intracerebroventricular Leptin Increases Lumbar and Renal Sympathetic Nerve Activity and Blood Pressure in Normal Rats. *Diabetes*, 1997; 46(12):2040–43.
- Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou DG, Krane RJ, and McKinlay JB. Impotence and Its Medical and Psychosocial Correlates: Results of the Massachusetts Male Aging Study. *The Journal of Urology*. 1994; 151(1):54–61.
- Fortuño A, et al. Leptin Inhibits Angiotensin II-Induced Intracellular Calcium Increase and Vasoconstriction in the Rat Aorta. *Endocrinology*. 2002; 143(9):3555–60.

- Gomart S, et al. Leptin-Induced Endothelium-Independent Vasoconstriction in Thoracic Aorta and Pulmonary Artery of Spontaneously Hypertensive Rats: Role of Calcium Channels and Stores. *Plos One*. 2017; 12(1):e0169205.
- Gratzke C, et al. Anatomy, Physiology, and Pathophysiology of Erectile Dysfunction. *Journal of Sexual Medicine*. 2010; 7(1pt2):445–75.
- Hall JE, *Guyton ve Hall Tibbi Fizyoloji*. Elsevier Turkey, 2017, 13th ed. Ankara, p:1027.
- Haynes WG, Morgan DA, Walsh SA, Mark AL, and Sivitz WI. Receptor-Mediated Regional Sympathetic Nerve Activation by Leptin. *Journal of Clinical Investigation*. 1997;100(2):270–78.
- Hedlund P, Aszodi A, et al. Erectile Dysfunction in Cyclic GMP-Dependent Kinase I-Deficient Mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000; 97(5):2349–54.
- Hedlund P, Ny L, Alm P, and Andersson KE. Cholinergic Nerves in Human Corpus Cavernosum and Spongiosum Contain Nitric Oxide Synthase and Heme Oxygenase. *The Journal of Urology*. 2000; 164(3 Pt 1):868–75.
- Hedlund P, Alm P, and Andersson KE. NO Synthase in Cholinergic Nerves and NO-Induced Relaxation in the Rat Isolated Corpus Cavernosum. *British Journal of Pharmacology*. 1999; 127(2):349–60.
- Hobbs AJ. Soluble Guanylate Cyclase: The Forgotten Sibling. *Trends in Pharmacological Sciences*. 1997; 18(12):484–86.
- Huang L, and Li C. Leptin: A Multifunctional Hormone. *Cell Research*. 2000; 10:81–92.
- Huising MO, Kruiswijk CP, and Flik G. Phylogeny and Evolution of Class-I Helical Cytokines. *The Journal of Endocrinology*. 2006; 189(1):1–25.
- Hurt KJ, et al. Akt-Dependent Phosphorylation of Endothelial Nitric-Oxide Synthase Mediates Penile Erection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002; 99(6):4061–66.
- Ignarro LJ, et al. Nitric Oxide and Cyclic GMP Formation upon Electrical Field Stimulation Cause Relaxation of Corpus Cavernosum Smooth Muscle. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1990; 170(2):843–50.
- Keilbach A, Ruth P, and Hofmann F. Detection of cGMP Dependent Protein Kinase Isozymes by Specific Antibodies. *European Journal of Biochemistry*. 1992; 208(2):467–73.
- Kilarkaje N, et al. Role of Angiotensin II and Angiotensin-(1-7) in Diabetes-Induced Oxidative DNA Damage in the Corpus Cavernosum. *Fertility and Sterility*. 2013; 100(1):226–33.
- Kloner RA, et al. Erectile Dysfunction in the Cardiac Patient: How Common and Should We Treat? *The Journal of Urology*. 2003; 170(2 Pt 2):S46–50; discussion S50.
- Lahoz C. Peripheral Atherosclerosis in Patients With Erectile Dysfunction : A Population-Based Study. *The Journal of Sexual Medicine*. 2016; 13:63–69.
- Lee SW, et al. Prostaglandin E1 Activates the Large-Conductance KCa Channel in Human Corporal Smooth Muscle Cells. *International Journal of Impotence Research*. 1999; 11(4):189–99.
- Lee SW, and Kang TM. Effects of Nitric Oxide on the Ca<sup>2+</sup>-Activated Potassium Channels in Smooth Muscle Cells of the Human Corpus Cavernosum. *Urological Research*. 2001; 29(5):359–65.
- Lembo G, et al. “Leptin Induces Direct Vasodilation through Distinct Endothelial Mechanisms.” *Diabetes*. 2000; 49(2):293–97.

- Leone AM, Wiklund NP, Hökfelt T, Brundin L, and Moncada S. Release of Nitric Oxide by Nerve Stimulation in the Human Urogenital Tract. *Neuroreport*. 1994; 5(6):733–36.
- Li WJ, et al. Losartan Preserves Erectile Function by Suppression of Apoptosis and Fibrosis of Corpus Cavernosum and Corporal Venous Occlusive Dysfunction in Diabetic Rats. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2017; 42(1):333–45.
- Mantzoros CS. The Role of Leptin in Human Obesity and Disease: A Review of Current Evidence. *Annals of Internal Medicine*. 1999; 130(8):671–80.
- Mccullough AR. The Penis as a Barometer of Endothelial Health. *Reviews in Urology*. 2003; 5:3–8.
- Momin AU, et al. Leptin Is an Endothelial-Independent Vasodilator in Humans with Coronary Artery Disease: Evidence for Tissue Specificity of Leptin Resistance. *European Heart Journal*. 2006; 27(19):2294–99.
- Moncada S, Higgs A, and Furchgott R. International Union of Pharmacology Nomenclature in Nitric Oxide Research. *Pharmacological Reviews*. 1997; 49(2):137–42.
- Moncada S, and Higgs EA. Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies Related to Nitric Oxide. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 1995; 9(13):1319–30.
- Moncada S, Palmer RM, and Higgs EA. Nitric Oxide: Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. *Pharmacological Reviews*. 1991; 43(2):109–42.
- Mundy AR, Fitzpatrick J, Neal DE, and Nicholas GJR. *The Scientific Basis of Urology*. CRC Press, 2004, 2nd ed, New York, P:355
- Myers MG, Cowley MA, and Münzberg H. Mechanisms of Leptin Action and Leptin Resistance. *Annual Review of Physiology*. 2008; 70:537–56.
- NIH Consensus Conference. Impotence. NIH Consensus Development Panel on Impotence. *JAMA*. 1993; 270(1):83–90.
- Oudit GY, et al. The Role of Phosphoinositide-3 Kinase and PTEN in Cardiovascular Physiology and Disease. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2004; 37(2):449–71.
- Procopio C, et al. Leptin-Stimulated Endothelial Nitric-Oxide Synthase via an Adenosine 5-Monophosphate-Activated Protein kinase/Akt Signaling Pathway Is Attenuated by Interaction with C-Reactive Protein. *Endocrinology*. 2009; 150(8):3584–93.
- Recio P, et al. Nitric Relaxation of the Horse Corpus Cavernosum. Role of cGMP. *European Journal of Pharmacology*. 1998; 351(1):85–94.
- Rees DD, Palmer RM, and Moncada S. Role of Endothelium-Derived Nitric Oxide in the Regulation of Blood Pressure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1989; 86(9):3375–78.
- Rodríguez A, et al. The Inhibitory Effect of Leptin on Angiotensin II-Induced Vasoconstriction in Vascular Smooth Muscle Cells Is Mediated via a Nitric Oxide-Dependent Mechanism. *Endocrinology*. 2007; 148(1):324–31.
- Sénz de Tejada I, et al. Physiology of Erectile Function. *Journal of Sexual Medicine*. 2004; 1(3):254–65.
- Sierra-Honigsmann MR, et al. Biological Action of Leptin as an Angiogenic Factor. *Science*. 1998; 281(5383):1683–86.
- Solomon H, Man JW, Wierzbicki AS, and Jackson G. Relation of Erectile Dysfunction to

- Angiographic Coronary Artery Disease. *The American Journal of Cardiology*. 2003; 91(2):230–31.
- Stanarius A, et al. Immunocytochemical Distribution of Nitric Oxide Synthase in the Human Corpus Cavernosum: An Electron Microscopical Study Using the Tyramide Signal Amplification Technique. *Urological Research*. 2001; 29(3):168–72.
- Şahin AS and Bariskaner H. The Mechanisms of Vasorelaxant Effect of Leptin on Isolated Rabbit Aorta. *Fundamental and Clinical Pharmacology*. 2007; 21(6):595–600.
- Toblli JE, Stella I, Mazza ON, Ferder L, and Inserra F. Different Effect of Losartan and Amlodipine on Penile Structures in Male Spontaneously Hypertensive Rats. *American Journal of Nephrology*. 2004; 24(6):614–23.
- Vecchione C, et al. Leptin Effect on Endothelial Nitric Oxide Is Mediated through Akt-Endothelial Nitric Oxide Synthase Phosphorylation Pathway. *Diabetes*. 2002; 51(1):168–73.
- Venkateswarlu K, et al. Potassium Channels and Human Corporeal Smooth Muscle Cell Tone: Diabetes and Relaxation of Human Corpus Cavernosum Smooth Muscle by Adenosine Triphosphate Sensitive Potassium Channel Openers. *The Journal of Urology*. 2002; 168(1):355–61.
- Wolk R, and Somers VK. Leptin and Vascular Function: Friend or Foe? *European Heart Journal*. 2006; 27(19):2263–65.
- Zhang F, et al. Crystal Structure of the Obese Protein Ieptin-E100. *Nature*. 1997; 387(6629):206–9.
- Zhang F, Chen Y, Heiman M, and DiMarchi R. Leptin: Structure, Function and Biology. *Vitamins and Hormones*. 2005; 71(5):345–72.
- Zhang Y, et al. Positional Cloning of the Mouse Obese Gene and Its Human Homologue. *Nature*. 1994; 372(6505):425–32.

## 8. EKLER



T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve  
Araştırma Merkezi Müdürlüğü



Karar Sayısı: 2017 – 017

Karar Tarihi: 31.03.2017

### HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

Etik kurulumuzdan **30.09.2016** tarihli, **2016-051** etik karar sayılı, "**Korpus Kavernosumda Kasıcı Etki Gösteren Ajanlar Üzerine Leptin'in Etkisi**" isimli projeye proje yürütücüsünün başvurusu doğrultusunda ilave 18 adet sıçanın verilmesinin "**Uygun**" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Not: KONÜDAM'da tadilat çalışması olduğu için deney hayvanı üretimi şu anda yapılamamaktadır. Projeyi kısa sürede sonuçlandırmak için kullanılacak olan deney hayvanlarının deney hayvanı üretiminde yetkin, başka bir kuruluştan temin edilmesi gerekmektedir.

Prof.Dr.Selim KUTLU  
Başkan

Prof.Dr.Lema TAVLI  
Üye-Katılmadı

Prof.Dr.Ayşe Saide  
ŞAHİN  
Üye

Prof.Dr.Mehmet GÜL  
Üye

Doç.Dr.Ercan KURAR  
Üye

Doç.Dr.Tevfik  
KÜÇÜKARTALLAR  
Üye

Yrd.Doç.Dr.Hasan  
Hüseyin KOZAK  
Üye

Yrd.Doç.Dr.Ömer  
TANYELİ  
Üye

Vet.Hek.Hani Aydın  
ŞİMŞEK  
Üye

Vet.Hek.Alpaslan ÖZKÜRÇÜLER  
Üye

Mustafa ŞİRİN  
Üye

Adres : Meram Tıp Fakültesi Kampüsü 42080 Akyokuş — Meram / KONYA

Tel : +90 332 223 71 11

e-posta : [konudam@konya.edu.tr](mailto:konudam@konya.edu.tr)

Faks : +90 332 223 71 24

Elektronik Ağ : <http://www.konya.edu.tr/merkezler/konudam>

## 9. ÖZGEÇMİŞ

1988 yılı Konya Çumra doğumluyum. Ortaöğretimimi Konya Selçuklu Anadolu Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2012 yılında Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden mezun oldum. 2013 yılında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladım. 2015 yılından bu yana KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.