

Eretil disfonksiyonda gen tedavisi

Uzm. Dr. B. Cem Özgür, Uzm. Dr. Haşmet Sarıcı, Uzm. Dr. Onur Telli
Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği, Ankara

Başarılı bir cinsel ilişki için gerekli olan penil ereksiyonun sağlanamaması ya da devam ettirilememesi eretil disfonksiyon (ED) olarak tanımlanmaktadır (1). ED son yıllarda yapılan sayısız araştırmalar ve bunlara bağlı gelişmeler sonucunda oldukça başarılı şekilde tedavi edilmeye başlanmıştır. Günümüzde uygulanan gerek oral, gerek intrakavernozal ve intraüretral medikal ajanlar gerekse penil protez implantasyonları sayesinde en ağır formda ereksiyon problemleri çözüme kavuşturulmuştur. Ancak kullanılmakta olan tüm yöntemlerin farklı yan etkileri mevcuttur ve her biri kendine göre maliyet problemleri ve uygulama güçlükleri içermektedir. Ayrıca oral ajanlarla cevap alamayan ancak daha invaziv tedavileri de istemeyen bir grup hasta da bulunmaktadır. Dolayısı ile bu çok sık rastlanan sağlık probleminin çözümünde de diğer birçok kronik hastalıkta olduğu gibi, genetik araştırmalar önem taşımaya devam etmektedir. Bu bilgiler ışığında ED çözümünde gen tedavisinin yeri önemli literatür bilgileri eşliğinde özetlenmeye çalışılacaktır. Doğal olarak yapılan araştırmaların tamamına yakınının hayvan çalışmaları olduğu görülecektir.

ED tedavisinde gen terapisinin hedefini ve rolünü anlayabilmek aslında normal ereksiyon fizyolojisini kavrayarak mümkündür. Normal eretil fonksiyon için hepimizin bildiği gibi; nörolojik yolla uyarılan artmış arteriyel kan akımı, kavernozaal düz kas relaksasyonu, kısıtlanmış venöz dönüş gereklidir.

ED bu yollardan herhangi birinde oluşan yetersizliğe bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (2). Korpus spongiosum penisin ventral yüzü boyunca üretrayı desteklerken dorsalde yer alan ve birbirine komşu iki bölümden oluşan korpus kavernozaal kan ile dolarak penil ereksiyonu sağlamaktadır. Penis flask haldeyken vasküler sinusleri destekleyen düz kas hücreleri tonik olarak kontrakte durumdadır ve bu durum düşük düzeyde kan dolaşımına izin vermektedir. Buna karşılık, seksüel stimülasyonlara yanıt olarak ortaya

çıkan ve kavernozaal sinir terminalleri ile endotelyumdan oluşan nöromedyatör salınımı, kavernozaal düz kasların relaksasyonuna ve venöz dönüşü kısıtlayarak ereksiyona neden olmaktadır.

Erkek genital organı hem otonomik hem de somatik sinirler tarafından innerve edilmiştir. Kolinerjik sinirler, nonadrenerjik/nonkolinerjik sinirler (nitrik oksit yolu ile), Vazo-Intestinal Polipeptid (VIP) ve Calsitonin Gene Related Peptid (CGRP) gibi diğer bazı faktörler düz kas relaksasyonuna neden olmaktadır. Trabeküler endotelyumda yer alan muskarinik reseptörler de NO üretimini artırır. Nitrik oksit (NO) düz kas hücrelerine diffüze olmakta ve guanilat siklaz ile etkileşime geçerek hücre içi cGMP düzeylerini arttırmaktadır. cGMP düzeylerinin yükselmesi de düz kas relaksasyonu ile sonuçlanan ve cGMP ye bağlı protein kinaz ve iyon kanalları yoluyla etki eden hücrel olaylarla devam eder. Bu mekanizma, hücre içi kalsiyum düzeylerinin azalması ve düz kas hücre hiperpolarizasyonuna neden olan potasyum iyon kanallarının açılmasına neden olmaktadır (3,4). Benzer şekilde; VIP, CGRP ve prostaglandin aracılığı ile olan yollar da hücre içi cAMP düzeylerini arttırmak yoluyla düz kas hücre relaksasyonuna sebep olmaktadır (5). Gap junction olarak bilinen ve kavernozaal düz kas hücre membranında yer alan iyon kanalları ise sıkı bir iletişim sağlarlar ve eretil fizyolojide çok önemli bir rolü olan sinsisyel relaksasyon ve kontraksiyon oluşur (6).

Erkek genital organının gen tedavisinin birkaç açıdan uygun olduğunu bilmekteyiz. Öncelikle dolaşımını istediğimiz zaman bloke edebildiğimiz ve mevcut gen ürününü rahatlıkla uygulayabildiğimiz bir organdır. Uygulanan ürün sistemik dolaşıma katılmadan hedef hücreye ulaşabilmektedir. Detümesans halinde penil akımın ortamları 5 ml/sn gibi düşük düzeylerde seyretmesi de başarıyı olumlu etkileyebilecek bir durumdur. Bunların yanı sıra hedef düz kas hücreleri düşük yıkım oranına sahiptir. Bu da uygulanacak gen tedavisinin uzun süreli (haftalar hatta aylar boyu) etkili

olmasını sağlayacaktır.

Uygulanacak gen tedavisi şu esasları içermelidir. Defektli bir gen nedeni ile ortama yeterince verilemeyen ürünler oluşturulabilir. Ortama hücreleri sitotoksik etkili ajanlardan koruyabilecek ajanlar salınabilir. Ayrıca normal hücrelerde suprafizyolojik etkiler yaratabilecek ajanların (farklı büyüme faktörleri gibi) salınımı sağlanabilir. Gen tedavisini temelde rekombinant DNA teknolojisi oluşturur. Bu yöntem, doğada kendiliğinden oluşması mümkün olmayan, farklı DNA moleküllerinin, oluşturulması ve elde edilen farklı DNA parçalarının yeniden birleştirilmesi işlemlerini kapsar. Oluşan DNA' lar farklı şekillerde vücuda verilerek tedavi amaçlı uygulanır. Uygulama şekilleri ise plasmid denilen vektörler aracılığı ile olur. Bu vektörler viral veya non viral kökenli yapılardır. Bundaki amaç hedef hücrenin sitoplazmasına girişi kolaylaştırmaktır. Gen tedavisinin başarı ile sonuçlanması için proteini kodlayan genin belirlenmesi ve izole edilebilmesi, hedef genin uygun bir vektör ile konak hücreye nakledilmesi ve nakledilen genetik materyel ile negatif etkileşime girilmemesi gereklidir (7).

Önemli noktalardan biri de uygulanacak tedavinin geniş etki alanı bulup bulamayacağıdır. Yaklaşık iki dekad önceki çalışmalar penisin yapısında bulunan gap aralıkları (gap junctions) koordineli kasılmada etkili olduğunu kesin kanıtlarla ortaya koymuştur. Bu aralıklar verilen genetik materyalin de uygun miktarda hücrelere alınmasını ve tutulmasını sağlar. Belli bir hücrede gen nakli sonrası sağlanan etki bu aralıklar vasıtası ile, tüm hücreler transfekte edilmiş gibi penis boyunca yayılabilmektedir. Bunun avantajı ise çok düşük dozlarda dahi bu tedavinin etkili olabilmesidir. Vücutta birçok organda kısıtlı etkisi olabilen gen terapisi bu yolla ED tedavisinde hedef organda daha etkili olabilmektedir.

ED tedavisinde farklı yollardan hedefe ulaşmak amaçlanmıştır. Bunlar nitrerjik sisteme yönelik tedaviler, farklı büyüme hormonlarının arttırılmasına yönelik tedaviler ve potasyum kanallarına yönelik tedaviler olarak sıralanabilir.

Nitrerjik sistemin modülasyonu (nitrik oksit sentetaz genleri)

NO yapımını arttıracak mekanizmalar yıllardan beri tedavinin temelini oluşturmaktadır. Bu konuda adenovirüsler eşliğinde endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) oluşturacak genlerin transferi ile ilgili araştırmalar mevcuttur.

Ratlara bu gen transfer edildiğinde cGMP düzeyinde artış ve kavernoöz sinir stimülasyonu ile artmış intrakavernoöz basınç saptanmıştır (8,9). Takiben ülkemizden Dr. Usta'nın da dahil olduğu bir çalışmada eNOS gen tedavisi yapılan diabetik ratlardaki kavernoöz uyarının sonuçlarının normal ratlarla benzer seviyeye geldiği gösterildi. Aynı çalışmanın sonraki aşamasında; diabetik ratlara eNOS gen nakli ile birlikte sildenafil sitrat tedavisi yapılarak intrakavernoöz basınç artışları ile birlikte, ereksiyon sürelerinin de uzatılabildiği gösterilmiştir (10). Benzer birçok çalışma ışığında NOS geninin transfeksiyonunun ereksiyona olumlu katkısı olduğu ispatlandı ve kombine NOS geni ve fosfodiesteraz inhibitörlerinin tedavisinin gelecekte, tek başına PDE5 inhibitörlerine yanıt alınamayan çok sayıdaki diabetik ED hastasının tedavisinde önemli bir alternatif tedavi seçeneği olabileceği düşünülmüştür.

NOS enzimlerinin yanı sıra arginazın da ereksiyonda rolü gösterilmiştir. Arginazın ereksiyon için inhibisyonu ve ortamda daha fazla arjinin gereklidir (11). Yıkılmayan arginin NO yolağına katılır ve ereksiyon fizyolojisindeki basamaklar devreye girer. Anti arginazın adenovirüs vektörleri ile transferi arginaz artışı ile NO ve cGMP miktarını yükseltir ve kavernoöz sinir uyarımına artmış cevap sağlar (12). Arginazın ekstraselüler bazı enzimlerle inhibe edilmesi de diyabetik ratlarda ereksiyon üzerine olumlu etkide bulunmuştur (13).

Büyüme hormonları modülasyonu

Vasküler patolojiler ED patogenezinde yer alır, buna yönelik olarak yeni damar oluşumunu arttıran genetik çalışmalar mevcuttur. Ayrıca diabetik hastalar başta olmak üzere otonomik nöropatinin ED etyolojisinde primer faktörden biri olduğu olduğu çeşitli araştırmacılarca gösterildi (14,15). Bu nedenle yeni sinir fiberleri ve sinapsların oluşumunu arttırmaya yönelik terapiler ED'da yer bulmuştur.

Nörotropin-3(NT-3)

Nörotropin-3 (NT-3) nörotropin ailesinin önemli üyelerinden biridir. NT-3 santral ve periferik sinir sistemine yeni nöronlar, sinapslar oluşumuna katkı sağlayarak etkir. Farklı yayınlarda ED'da bu genin verilmesinin olumlu etkisi olduğu ispatlandı (16). Yaklaşık on yıl önce bu genin pelvik gangliona verilmesi ile sinir uçlarında fiber sayısında artış olduğu gösterildi (17). Takiben yapılan çalışmalarda NT3'ün peniste duyuşal nöronlarda artışa sebep olarak ereksiyona pozitif etkide bulunduğu da ispatlanmıştır (18).

Glial hücre kaynaklı nörotropik faktör (GDNF)

GDNF' nin transforming growth factor-beta (TGF- β) ailesinden bir üye olduğunu ve hem sempatik hem de parasempatik axonların sağ kalımı ve yayılımında etkili olduğunu biliyoruz. Ratlarda HSV vektörü ile verilen GDNF kavernoöz sinir hasarı ile oluşan ED tedavisinde başarı ile denenmiştir.

Literatüre yeni giren çalışmasında May ve ark. kavernoöz sinir hasarı sonrası hasarlı segmente silikon tüp yerleştirdikleri ve takiben schwan hücre kaynaklı GDNF verdikleri ratlarda 2-10 haftalık takiplerle ereksiyon düzeyi ölçmüşler ve kontrol grubuna göre hem uyarım sonrası kavernoöz cisim içindeki basınçta artış izlemişler hem de elektron mikroskopisinde preganglionik myelinize liflerde ve postganglionik myelinize olmayan axonlarda artış rapor etmişlerdir (19).

GDNF'nin alt üyesi olarak kabul edilen neurturin (NTN)'in de ereksiyonda önemli rolü olduğu gösterildi. 2007 yılında Bela bu genin verilmesi ile kavernoöz ve pelvik otonomik sinirlerde hasar sonrası iyileşmede artış bildirdi (20).

Beyin Kaynaklı Nörotropik Faktörü (BDNF)

Bu faktörün de sinir gelişimine katkısı olduğu bilinmektedir. Ayrıca bu faktörün diyabetik ratlarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük seyrettiği ve bunun da diyabetik ED ile ilişkili olabileceği savunulmaktadır (21). Gholami ve ark. yüksek yağ içerikli diet ile hiperkolesterolemi ve erektil disfonksiyon oluşturulmuş ratlarda BDNF gen transferi ile artmış kavernoöz yanıt gözlemlerini bildirdiler (22). Udenafil ile birlikte verilen BDNF' nin prostatektomi yapılmış ve kavernoöz sinir hasarı yaratılmış ratlarda anjiyogenezi arttırarak uzun dönemde ereksiyonda artış sağlandığı bildirilmiştir (21).

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

VEGF anjiyogenezi sağlayan çok fonksiyonlu bir proteindir. Farklı rat deneylerinde diğer büyüme faktörleri gibi VEGF kodlayacak DNA verilmesi intrakavernoöz basınçlarda artışa sebep olmuştur. Liu ve ark. Ağustos 2013'de yayınlanan makalelerinde de VEGF geni içeren kök hücrelerin intrakavernoöz verilmesi ile endotel fonksiyonlarında iyileşme ve ereksiyon kapasitesinde artış gösterdiler (23).

İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (ILGF-1)

Bu faktör somatomedin C olarak da adlandırılır ve aynı isimli (ILGF-1) geni tarafından üretilir. İnsüline benzer ya-

pısı nedeni ile bu ismi almıştır. Anabolik ve büyüme üzerine etkilidir. Çeşitli nöropatilerde düzeyinin düştüğüne dair yayınlar bulunmakla birlikte eksikliğin erektil disfonksiyona da neden olabileceği savunulmaktadır. Bu konuda ILGF-1 bağlayıcı proteinin düzeyinin de etkili olabileceği bilinmektedir (24). ILGF-1 geninin adenovirüs aracılı korpus kavernoözumlara verilmesi de diğer büyüme faktörlerine benzer etki gösterir ve ereksiyon üzerine pozitif etkide bulunur (25).

Potasyum kanallarının modülasyonu

Başlangıç kısmında özetlendiği gibi potasyum kanalları membran potansiyelini sabit tutarak sinir ve penil düz kasların uyarılabilirliğini düzenlerler. Bu nedenle bu kanalların yapılanmasını sağlayan aşağıda belirtilen genler ED tedavisinde önem taşır.

Maksi-K kanalları: (hSlo)

Kalsiyum ile aktive edilen potasyum kanalları yedi önemli transmembran potasyum selektif kanaldan biridir. Membranda potansiyel depolarizasyon olursa bu kanallar hücre içi kalsiyum girişini azaltır ve penil korporal kas relaksasyonuna sebep olurlar Christ ve arkadaşları, maksi-K kanallarını kodlayan hSlo cDNA naklinin yaşlı ve diyabetik ratlarda erektil disfonksiyon üzerine olan terapotik etkisini bildirmişlerdir (26). Aynı araştırmacının maymunlar üzerinde yaptığı intrakorporal hSlo gen transferi ise gerek seksüel davranışlarda gerekse ereksiyonda dramatik artış olarak sonuçlanmıştır (27). Daha yakın zamanda intrakavernoöz olarak pSMAA-hSlo adlı vektör ile transfer edilen genin kavernoöz basınç cevabında artışa sebep olduğunu bildirildi (28).

Bu konuda Melman ve arkadaşlarının Faz1 çalışmaları insanda yapılan ilk ED tedavisi amaçlı gen terapisi olması nedeni ile önemlidir. Her ne kadar kontrol grubu bulunmayan ve sadece 11 hastayı içeren bir çalışma olsa da, sonuçta; semende plasmid bulguları olmaması, hastalarda fiziksel muayenede herhangi bir yan etki saptanmaması, iki hastada görülen ereksiyon kalitesindeki artışın preklinik deneylerdekine benzer şekilde 24 hafta kadar sürmesi yüz güldüren sonuçlardır (29). Bu konuda yapılabilecek insan çalışmalarının önünü açmıştır.

Bunlara ek olarak farklı genlerin ED tedavisindeki yeri tartışılmaktadır. Örneğin siklooksijenaz yolu üzerinden etki eden ve araşidonik asidi prostasiklin (PGI2) ye çeviren COX-2-10aa-PGIS geni fareler üzerinde antifibrotik and

anti-apoptotik mekanizmalarla başarılı olmuştur (30). Benzer şekilde Vazo İntestinal Polipeptid (VIP) ve Calsitonin Gene Related Peptid (CGRP) gibi ereksiyon mekanizmasında rol oynadığı bilinen bazı faktörler ile ilgili yeni araştırmalara gerek vardır (31).

Sonuç

Özellikle mevcut PDE5 inhibitörlerine cevap vermeyen erektil disfonksiyon tedavisinde gen terapisi umut vaat eden bir konumdadır. Ancak gerek viral gerekse non viral gen terapilerinin uzun dönem sonuçları ve güvenilirlik-

leri hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır. Günümüzde bahsedilen tek çalışma dışlandığında literatürde FDA onaylı gen çalışmasının bulunmadığını belirtmek isteriz. İleride çalışmalar plazmid vektörlerin etkinliğini arttırmak ve cevap zamanını uzatmak yönünde olacaktır. Gen tedavisine alternatifin ise kök hücre nakli olacağını düşünüyoruz. Günümüzde özellikle endotel üzerine yoğunlaşan kök hücre araştırmaları mevcuttur ancak nöron, arter vs. nin de potansiyel hedef olduğu bilinmelidir. Aynı bir derleme konusu olabilecek kök hücre tedavisi üzerine kısıtlı hasta grupları ile başarılı sonuçlar bildirilmeye başlanmıştır (32).

Kaynaklar

- Rosen RC, Riley A, Wagner G, Osterloh IH, Kirkpatrick J, Mishra A. The international index of erectile function (IIEF): a multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction.; *Urology*. 1997 Jun;49(6):822-30.
- Lue TF. Erectile dysfunction.; *N Engl J Med*. 2000 Jun 15;342(24):1802-13.
- Burnett AL, Lowenstein CJ, Breedt DS, Chang TSK, Synder SH: Nitric oxide: physiologic mediator of penile erection.; *Science*. 1992 Jul 17;257(5068):401-3.
- Rajfer J, Aronson WJ, Bush PA, Dorey FJ, Ignarro LJ. Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission.; *N Engl J Med*. 1992 Jan 9;326(2):90-4.
- Bivalacqua TJ, Champion HC, Rajasekaran M, Sikka SC, Kadowitz PJ, Doherty PC, Hellstrom WJG. Potentiation of erectile response and cAMP accumulation by combination of prostaglandin E1 and rolipram, a selective inhibitor of the type 4 phosphodiesterase (PDE 4).; *J Urol*. 1999 Nov;162(5):1848-55.
- Christ GJ. The "syncytial tissue triad": a model for understanding how gap junctions participate in local control of penile erection. *World J Urol* 1997;15(1):36-44.
- Bivalacqua TJ, Hellstrom WJG. Potential application of gene therapy for the treatment of erectile dysfunction.; *J Androl*. 2001 Mar-Apr;22(2):183-90.
- Schlenker B, Matiasek K, Saur D, Gratzke C, Bauer RM, Herouy Y, Arndt C, Blesch A, Hartung R, Stief CG, Weidner N, May F. Effects of cavernous nerve reconstruction on expression of nitric oxide synthase isoforms in rats.; *BJU Int*. 2010 Dec;106(11):1726-31.
- Champion HC, Bivalacqua TJ, Hyman AL, Ignarro LJ, Hellstrom WJ, Kadowitz PJ. Gene transfer of endothelial nitric oxide synthase to the penis augments erectile responses in the aged rat.; *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Sep 28;96(20):11648-52.
- Bivalacqua TJ, Usta MF, Champion HC, Adams D, Namara DB, Abdel-Mageed AB, Kadowitz PJ, Hellstrom WJ. Gene transfer of endothelial nitric oxide synthase partially restores nitric oxide synthesis and erectile function in streptozotocin diabetic rats. *J Urol*. 2003 May;169(5):1911-7.
- Bivalacqua TJ, Burnett AL, Hellstrom WJ, Champion HC. Overexpression of arginase in the aged mouse penis impairs erectile function and decreases eNOS activity: influence of in vivo gene therapy of anti-arginase.; *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007 Mar;292(3):H1340-51.
- Masuda H. Significance of nitric oxide and its modulation mechanisms by endogenous nitric oxide synthase inhibitors and arginase in the micturition disorders and erectile dysfunction.; *Int J Urol*. 2008 Feb;15(2):128-34.
- Nunes KP, Toque HA, Caldwell RB, Caldwell RW, Webb RC. Extracellular signal-regulated kinase (ERK) inhibition decreases arginase activity and improves corpora cavernosal relaxation in streptozotocin (STZ)-induced diabetic mice.; *J Sex Med*. 2011 Dec;8(12):3335-44.
- Melman A, Gingell JC. The epidemiology and pathophysiology of erectile dysfunction.; *J Urol*. 1999 Jan;161(1):5-11.
- Bemelmans BL, Meuleman EJ, Doesburg WH, Notermans SL, Debruyne FM. Erectile dysfunction in diabetic men: the neurological factor revisited.; *J Urol*. 1994 Apr;151(4):884-9.
- Hiltunen JO, Laurikainen A, Klinge E, Saarma M. Neurotrophin-3 is a target-derived neurotrophic factor for penile erection-inducing neurons. *Neuroscience*. 2005;133(1):51-8.
- Lin G, Chen KC, Hsieh PS, Yeh CH, Lue TF, Lin CS. Neurotrophic effects of vascular endothelial growth factor and neurotrophins on cultured major pelvic ganglia.; *BJU Int*. 2003 Oct;92(6):631-5.
- Bennett NE, Kim JH, Wolfe DP, Sasaki K, Yoshimura N, Goins WF, Huang S, Nelson JB, de Groat WC, Glorioso JC, Chancellor MB. Improvement in erectile dysfunction after neurotrophic factor gene therapy in diabetic rats.; *J Urol*. 2005 May;173(5):1820-4.
- May F, Buchner A, Schlenker B, Gratzke C, Arndt C, Stief C, Weidner N, Matiasek K. Schwann cell-mediated delivery of glial cell line-derived neurotrophic factor restores erectile function after cavernous nerve injury. *Int J Urol*. 2013 Mar;20(3):344-8.
- Bella AJ, Fandel TM, Tantiwongse K, Brant WO, Klein RD, Garcia CA, Lue TF. Neurturin enhances the recovery of erectile function following bilateral cavernous nerve crush injury in the rat.; *J Brachial Plex Peripher Nerve Inj*. 2007 Mar 6;2:5.
- Jeong HH, Piao S, Ha JN, Kim IG, Oh SH, Lee JH, Cho HJ, Hong SH, Kim SW, Lee JY. Combined therapeutic effect of udenafil and adipose-derived stem cell (ADSC)/brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-membrane system in a rat model of cavernous nerve injury.; *Urology*. 2013 May;81(5):1108.
- Gholami SS, Rogers R, Chang J, Ho HC, Graziottin T, Lin CS, Lue TF. The effect of vascular endothelial growth factor and adeno-associated virus mediated brain derived neurotrophic factor on neurogenic and vasculogenic erectile dysfunction induced by hyperlipidemia.; *J Urol*. 2003 Apr;169(4):1577-81.
- Liu G, Sun X, Bian J, Wu R, Guan X, Ouyang B, Huang Y, Xiao H, Luo D, Atala A, Zhang Y, Deng C. PLoS One Correction of diabetic erectile dysfunction with adipose derived stem cells modified with the vascular endothelial growth factor gene in a rodent diabetic model.; *PLoS One* 2013; 30: 72790.
- Pu XY, Wen AM, Zheng XG, Liu JM, Zhou XX, Xu ZP, Wang HP, Zhang RL, Xiao HJ, Situ J. Insulin-like growth factor-1 gene therapy improves the levels of mRNA and protein of endothelial nitric oxide synthase in aging related erectile dysfunction in rats.; *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2012 Jan;92(2):128-30.
- Pu XY, Zheng XG, Zhang Y, Xiao HJ, Xu ZP, Liu JM, Wang HP, Wen AM, Zhou XX, Wu YL. Higher expression of mRNA and protein of insulin-like growth factor binding protein-3 in old rat penile tissues: implications for erectile dysfunction.; *J Sex Med*. 2011 Aug;8(8):2181-90.
- Christ GJ, Rehman J, Day N, Salkoff L, Valcic M, Melman A, Geliebter J. Intracorporal injection of hSlo cDNA in rats produces physiologically relevant alterations in penile function.; *Am J Physiol*. 1998 Aug;275:600-8.

27. Christ GJ, Andersson KE, Williams K, Zhao W, D'Agostino R Jr, Kaplan J, Aboushwareb T, Yoo J, Calenda G, Davies KP, Sellers RS, Melman A. Smooth-muscle-specific gene transfer with the human maxi-k channel improves erectile function and enhances sexual behavior in atherosclerotic cynomolgus monkeys.; *Eur Urol.* 2009 Dec;56(6):1055-66.
28. Melman A, Biggs G, Davies K, Zhao W, Tar MT, Christ GJ. Gene transfer with a vector expressing Maxi-K from a smooth muscle-specific promoter restores erectile function in the aging rat.; *Gene Ther.* 2008 Mar;15(5):364-70.
29. Melman A, Bar-Chama N, McCullough A, Davies K, Christ G. hMaxi-K gene transfer in males with erectile dysfunction: results of the first human trial.; *Hum Gene Ther.* 2006 Dec;17(12):1165-76.
30. Lin H, Yuan J, Ruan KH, Yang W, Zhang J, Dai Y, Wang R. COX-2-10aa-PGIS gene therapy improves erectile function in rats after cavernous nerve injury.; *J Sex Med.* 2013 Jun;10(6):1476-87.
31. He SH, Wei AY, Ye TY, Yang Y, Luo XG, Liu Y, Zhang T. Calcitonin gene-related peptide induces phenotypic transformation of corpus cavernosum smooth muscle cells in diabetic rats with erectile dysfunction.; *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2011 Oct;17(10):913-7.
32. Bahk JY, Jung JH, Han H, Min SK, Lee YS. Treatment of diabetic impotence with umbilical cord blood stem cell intracavernosal transplant: preliminary report of 7 cases.; *Exp Clin Transplant.* 2010 Jun;8(2):150-60.