

15960.

T.C.

ÇUKUROVA UNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İZOLE KURBAGA MİDE KASI PREPARATI ÜZERİNDE KARBAKOL İLE
OLUŞTURULAN KONTRAKTÖRLERE ÇEŞİTLİ SPAZMOLİTİK
CİSİMLERİN ETKİLERİ

Doktora Tezi

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

NURAN ÖGÜLENER

ADANA - 1991

iÇİNDEKİLER

GİRİŞ ve AMAÇ	1
LİTERATÜRÜN GÖZDEN GEÇİRİLMESİ	1
Karbakol	1
Kalsiyum Kanal Blokörleri.....	5
izoprenalin	10
Kinakrin	17
Trifluoperazin.....	19
Papaverin	21
Metilen mavisi	24
MATERYAL ve METOD	28
BULGULAR	32
TARTIŞMA	40
ÖZET	44
SUMMARY	45
GRAFİKLER	46
TRASELER	63
LİTERATURLER	71

ÖNSÖZ

Tez çalışmalarım sırasında değerli katkılarıyla bana destek olan Sayın Hocam Prof.Dr.Firuz Baysal ve tez yöneticim Sayın Doç.Dr.Serpil Önder'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Ayrıca Doç.Dr.Atilla Dikmen, Doç.Dr. Ergin Şingirik, Dr.Fazilet Aksu ve tüm çalışma arkadaşlarım ile Farmakoloji Anabilim Dalı çalışanlarına çalışmalarım sırasındaki yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

GİRİŞ ve AMAÇ

Kurbağa mide dairevi düz kas şeriti, üzerinde nisbeten az araştırma yapılmış in vitro farmakolojik bir preparattır. Bahis konusu dokuya elektriksel uyarı, karbakol ve yüksek potasyum uygulamaları süreklilik gösteren bir aktif tonus oluşmasına neden olur (84,85,86). Bu durum söz konusu preparatı spazmolitik cisimlerin incelenmesine elverişli kılar; zira önceden kastırılmış dokuda gevşetici tesiri değerlendirmek daha kolaydır. Spazmolitik cisimler muhtelif mekanizmalar aracılığı ile vasküler veya vasküler olmayan düz kaslı dokularda gevşetici tesirler hasıl ederler (50, 68).

Çalışmamızda, mekanizma açısından çeşitlilik arzeden muhtelif spazmolitik bileşikler seçildi; böylece spazmolitik aktivite yönünden muhtelif cisimleri karşılaştırma olasılığı hasıl edilebildi. Bu amaç doğrultusunda kalsiyum kanal blokörleri olan verapamil ve nifedipin, beta adrenoseptör aktivatörü izoprenalin, fosfalipaz C ve Az enzim inhibitörü kinakrin, kalmodulin antagonisti trifluoperazin ve fosfodiesteraz enzim inhibitörü papaverin seçilerek çalışmamızda inceleme konusu yapıldı. Diğer taraftan vasküler düz kaslı dokularda guanilat siklaz inhibitörü olarak etkinlik hasıl eden ve EDRF'nin neden olduğu vazodilatör etkiyi selektif olarak inhibe eden metilen mavisi de muhtemel tesirinin ilginç olabileceği düşünülerek çalışmaya dahil edildi.

LİTERATURUN GOZDEN GEÇİRİLMESİ

Bu bölümde çalışmamız için önemli olan konular değerlendirilmiştir.

Karbakol, ilaç olarak klinik tıpta önemi az olan bir maddedir (56). Sadece oftalmik solüsyon halinde gözde kullanılması tavsiye edilir. Ancak deneysel tıpta düz kas çalışmalarında kontraktür yapıcı madde olarak önemli bir yere

sahiptir (6,14,15,16,50,63,72,73,80). Kolinesteraza dayanıklı bir cisimdir ve muskarinik etkileri yanında belirgin nikotinik etkileri de hasıl eder (56). Mamafih bazı dokularda nikotinik reseptörler düzeyindeki etki potansiyeli muskarinik reseptörlerinkine göre daha düşük bulunmuştur (21). Karbakol ve asetilkolin gibi maddelerin kolinerjik mekanizmayı aktive ederek etki geliştirdikleri düşünülmektedir; zira kobay midesi gibi düz kas içeren yapılarda kolinerjik eksitator mekanizmaların varlığı saptanmıştır (62), Y.Fukushi ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada da kobay vas deferensi sirküler düz kaslarının innervasyonu incelenerek bu görüş teyid edilmiştir (28). Histokimyasal ve elektron mikroskopik bulgular bu dokuda asetilkolinesteraza pozitif olan sinirlerin varlığını ortaya koymuştur; sirküler tabakanın kolinerjik sinirleri içerdiği saptanmış ve farmakolojik metodlar kullanılarak kolinerjik sinirlerin fizyolojik rolleri teyid edilmiştir. Bahis konusu yapının düz kası eksojen asetilkolin ile muamele edildiğinde kasılmış ve bu etkinin fizostigmin ile potansiyalize edildiği saptanmıştır; ayrıca atropine duyarlı, tetradotoksin ve d-tüboküranine ise duyarsız olduğu müşahede edilmiştir. Bu bulgular incelenen dokunun düz kas membranında muskarinik reseptörlerin bulunduğunu ve bu reseptörler aracılığı ile kolinerjik eksitator mekanizmanın etkinlik hasıl ettiğini göstermektedir.

Karbakol muskarinik tesirlerini M_1 , M_2 , M_3 ve M_4 dahil olmak üzere bütün muskarinik reseptörleri aktive ederek göstermektedir; diğer bir deyişle muskarinik reseptörler üzerindeki etkisi seçici değildir (56). M_1 ve M_3 reseptörleri bir G proteini türü aracılığı ile membranda fosfolipaz C enzimi ile kenetlenirler. Bu reseptörlerin karbakol gibi muskarinik agonistler tarafından uyarılması fosfolipaz C'yi aktive ederek membran fosfolipidlerinden fosfoinozotid'in hidrolizine neden olur; bu olay sonucu, adı geçen fosfolipid'den başlıca iki 2. ulak oluşur. Bunlar inozitol 1, 4, 5-trifosfat (IP₃) ve diasilgliserol

(DAG)'dır; ilk 2. ulak endoplazmik retikulumdaki Ca^{++} deposundan bu iyonu stoplazmaya salıverir; DAG ise protein kinaz C'yi aktive

eder. Ca^{++} , kalmodulini aktive ederek onun aracılığı ile kalmodulin kinazı sitümüle eder. Bu iki tür kinaz, hücrede belirli proteinleri fosforile ederek düz kasların kasılması gibi hücresel cevapların oluşmasında gerekli katkıyı sağlarlar. M₂ reseptörlerinin bir kısmı membranda G₁ proteini aracılığı ile adenilat siklazla ve diğer bazıları ise gene özel bir G proteini türü aracılığı ile membrandaki reseptörlerle çalıştırılan Ca^{++} kanalları ve K⁺ kanalları ile kenetlenirler. Bu reseptörlerin agonistler tarafından aktivasyonu adenilat siklazı inhibe ederek hücrede sAMP düzeyini düşürür. Bu durum düz kaslarda kasılmaya neden olur.

Düz kaslarda kontraktıl mekanizmanın aktivasyonu, sitoplazmada serbest kalsiyum düzeyinin artışı ile tetiklenmekte ve eksitatör agonistlerin böyle bir artışı sağladığına inanılmaktadır (15). Mevcut düşünceler bu tür maddelerin hücre içinde bağlı kalsiyumu salarak veya membran porlarını açarak düz kas tansiyonunu artırdığı yönündedir (14). Bu porlar veya iyon kanalları iki tip olabilir; birinci tip membran depolarize olduğu zaman açılır ve eksitabl düz kaslarda aksiyon potansiyeline katkıda bulunur. ikinci tipi ise membran potansiyeli değişmediği halde çalışır duruma geçer. Kobay intestinal düz kasının membran potansiyeli ve konduktansı üzerinde karbakolun etkileri sukroz-gap metodu ve mikroelektrod tekniği kullanılarak incelenmiştir (14). Bu çalışmada karbakol, klorür ve sodyum içermeyen Locke solüsyonunda membranı hiperpolarize ederken, kontraktür gelişmesine neden olmuştur.

Kobay tenya kolisinde karbakolun neden olduğu kontraktıl mekanizmanın aktive edilebilmesinde farklı kalsiyum kaynaklarının kullanıldığı gösterilmiştir (15). Düşük karbakol konsantrasyonunun neden olduğu tansiyon artışının inisiyal fazında spayk ile birlikte ortaya çıkan içeri doğru kalsiyum akımı intrasellüler kalsiyum artışını hasıl eden birinci mekanizmadır. Yüksek konsantrasyonda karbakol muvacehelesinde oluşan sürekli tansiyon gelişmesi sırasında membrana bağlı kalsiyumun içe akışı hücre içi kalsiyum artışından sorumlu başka

bir mekanizma olabilir; sonucu mekanizma metoksi-verapamil ile bloke edilmektedir. Yüksek konsantrasyonda karbakolun başlangıçta hasıl ettiği pik şeklindeki kısa süreli kasılma sırasında ise hücre içi kalsiyumun salıverilmesi hücre içi kalsiyum artışına neden olabilir. Pik olayından sonra tansiyonun düşmesi reseptör desensitizasyonundan ziyade depoların boşalmasına bağlı olabilir.Y. Hara ve arkadaşlarının (35) yaptığı bir çalışmada, longitudinal, iç ve dış sirküler kas tabakasından oluşan köpek jejenum intestinal düz kas dokusunda eksitasyon-kontraksiyon olayı incelenmiştir. Eksojen asetilkolin ilavesinin ve dış ortam K⁺ konsantrasyonu artırılmasının neden olduğu fazik ve tonik kasılmaların longitudinal ve sirküler iç kas tabakalarında spayka bağımlı olduğu, dış sirküler kas tabakasında ise bağımlı olmadığı saptanmıştır.

Birçok düz kas dokusunda kalsiyumsuz ortam ile uzun süre muameleden sonra kasıcı cisimler küçük bir tonik kontraksiyon oluşturmaktadır (6,64). Çeşitli vasküler düz kas ve sıçan vas deferensinde noradrenalinle, sıçan miyometriyumunda asetilkolin, oksitosin, prostaglandin Ez, vanadatla ve köpek mide kasında asetilkolinle elde edilen cevaplarda bu durumun geliştiği müşahede edilmiştir; burada muhtemelen kalsiyum kaynağı olarak hücre içi kalsiyum havuzu kullanılmaktadır. EGTA içeren kalsiyumsuz ortamda kobay midesinin dairevi kaslarında da karbakolun küçük bir tonik kontraksiyon şeklinde kasılma olayına neden olduğu saptanmıştır. K.Baba ve arkadaşları (8) kobay trakea kasında kalsiyumsuz ortamda karbakolun kısa süreli kasılmalar hasıl ettiğini ve karbakol muamelelerinin tekrarlanması halinde etkinin giderek azaldığını göstermişlerdir; burada muhtemelen sınırlı miktarda mevcut olan hücre içi kalsiyum deposu kullanılmıştır. Kedi trakeasında asetilkolinin bifazik kontraktür oluşturduğu saptanmıştır; inisiyal fazik cevabı sürekli devam eden tonik cevap izlemiştir (46). Ca²⁺ süz doku EGTA içeren ortama alındığı zaman asetilkolin sadece fazik cevap hasıl etmiştir. Agonist cismin ortama sürekli uygulanması fazik cevabın azalmasına neden olmuştur. Asetilkolin uygulanmasıyla gelişen

fazik kontraksiyonlarda intraselüler depolardan (özellikle sarkoplazmik retikulum) kalsiyum'un kullanılması ihtimal dahilindedir.

Karbakolun hücre içi kalsiyum artışına neden olan etkilerinden birinin de plazmalemmal Ca^{++} pompasını inhibe etmesi olduğu sanılmaktadır (72). Düz kas hücrelerinde elektrokimyasal gradiente karşı kalsiyumu sitoplazmadan pompalayan ATP'ye bağımlı plazmalemmal Ca^{++} pompasının mevcudiyeti kabul edilmiştir. Mide düz kası mikrozomlarında bu kalsiyum pompası gösterilmiştir. Karbakol domuz mide kasından hazırlanmış mikrozomlarda membran kalsiyum pompasını inhibe etmiştir. Bu etki atropinle bloke edilmiştir. Kalsiyum pompasının inhibe edilmiş olması karbakolle oluşan hücre içi kalsiyum düzeyi artışına önemli bir katkı sağlayabilir.

Kalsiyum kanal blokörleri. Kalsiyum kanal blokörleri selektif ve nonselektif antagonistler diye iki ana gruba ayrılırlar (30,55,92). Selektif olanlar kimyasal yapılarına ve diğer özelliklerine göre iki gruba ayrılırlar: I. gruptaki ilaçlar nifedipin, nimodipin, nitrendipin, isradipin ve diğer I, 4-dihidropiridinlerdir. II. gruptakiler verapamil ve gallopamil adlı fenilalkilaminler ile benzodiazepin türevi olan diltiazemdir. Nonselektif ilaçlar arasında ise flunarizin, prenilamin ve benzerleri ile diğer ilaçlar bulunur.

Bu bileşikler hücrelerin membranındaki kalsiyum kanallarından ekstraselüler kalsiyumun depolarizasyon sırasında hücre içine girişini bloke ederler (13,38,48,50,52,55,73,76,82). Ekstraselüler kalsiyum, hücre içine esas olarak membrandaki kalsiyum kanallarının eksitasyon sırasında aktivasyonu sonucu, konsantrasyon gradientine uyarak pasif bir şekilde girer. Hücre içine dışarıdan giren kalsiyum (kalsiyum influksü), sarkoplazmik retikulumdaki depodan ve sitoplazma membranının iç yüzüne bağlı kalsiyum kanal havuzundan kalsiyum salıverilmesine neden olur. Böylece, eksitasyon sırasında, dışarıdan içeriye giren ve içeriden salıverilen kalsiyum sayesinde, sitoplazmada kalsiyum

düzeyi bir an için ileri derecede yükselir ve hücre içi ile ilgili fonksiyon aktive edilir. istirahat halindeki hücrede sitoplazma içindeki serbest kalsiyum konsantrasyonu $0.1 \mu\text{M}$ 'dür; hücrenin uyarılması sırasında ise aynı katyonun düzeyi yaklaşık $10 \mu\text{M}$ olur. Hücre istirahat dönemine geçerken girişin durması sonucu ve ayrıca sitoplazma membranı ile endoplazmik retikulum arasındaki kalsiyum pompasının aktivasyonu ve elektrojenik $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ değiştokuşu sonucu sitoplazmik kalsiyum düzeyi tekrar $0.1 \mu\text{M}$ 'lik istirahat düzeyine döner. Kalsiyum homeostazını sağlamada $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ değiştokuş mekanizması ile sitoplazma membranındaki Ca^{++} pompasının kapasite ve önemleri kalp hücrelerinde ve damar düz kaslarında farklıdır; şöyle ki kalpte birinci mekanizma, düz kasta ise ikinci mekanizma önemlidir. Çizgili kaslar ve miyokarda sarkotübüler pompanında önemi fazladır.

Kabukluların kas lifciklerinde oluşan aksiyon potansiyeller üzerinde çalışan Fattz ve Katz 1953 yılında kas hücresi membranında kalsiyum kanallarının bulunduğuna dair ilk deneysel bulgular elde ettiler (30). Daha sonra yapılan muhtelif çalışmalarda (7,49,53,55,77,105) eksitabl hücrelerin fonksiyonel etkinliklerinde temel öneme sahip Ca^{++} girişini sağlayan kalsiyum kanallarının başlıca iki şeklinin bulunduğu saptanmıştır; i) Voltaja bağımlı (veya voltajla çalıştırılan) kalsiyum kanalları: Bunlar, hücre depolarize olurken, transmembran potansiyeli -50 , -40 mV düzeyine erişince ve yavaş olarak açılırlar ii) Reseptöre bağımlı (veya reseptörle çalıştırılan) kalsiyum kanalları: Bunlar hücre membranında özel bir G proteini aracılığı ile bir reseptöre kenetlenmiş bulunan ve reseptörün kendine uyan agonist madde molekülleri tarafından aktivasyonu sonucu açılan kanallardır. Kalsiyumdan başka sodyum iyonunu da geçirirler. Voltaja bağımlı kanalların aksine, yüksek konsantrasyonlarda K^+ ile in vitro olarak depolarize edilen hücrelerde açık duruma geçmezler. Kalsiyum antagonistleri bu tip kanalları voltaja bağımlı olan kanallar kadar güçlü bir şekilde bloke etmezler.

Nifedipin ve benzeri dihidropiridin türevlerinin kalsiyum kanalının açılma ve kapanma kinetiğini bozmadıkları, sadece açık kanal sayısını azaltarak etki yaptıkları saptanmıştır; bu ilaçlar ayrıca kanalın inaktivasyonundan kurtulma süresini uzatmazlar. Halbuki verapamil kanalın kinetiğini bozarak etki yapar; kanalın aktivasyonunu ve ayrıca inaktivasyondan kurtulmasını geciktirirler; böylece kanalın aktif şeklini daha güçlü bir şekilde etkilerler.

Kalsiyum kanal blokörlerinin kimyasal yapısı ve farmakolojik profilleri farklı olmasına rağmen düz kas ve kalp kasında voltaja bağlı olarak aktive edilen yavaş kanallardan kalsiyum influksunu inhibe ederek etki yaptıkları genellikle kabul edilmektedir (110). Bu ilaçlar, pasif difüzyon ve Na^+/Ca^{++} , K^+/Ca^{++} değiş tokuşu gibi diğer yollardan kalsiyum girişini etkilememektedir.

C. Advenier ve arkadaşlarının (1), izole kobay trakeasında yaptıkları bir çalışmada kalsiyum kanal blokörlerinin KCl ve TEA kontraktürleri üzerinde spesifik inhibitör etki gösterdikleri müşahede edilmiştir. Bu bileşikler izole trakea düz kasında, spazmolitik ilaçlar, kalmodulin inhibitörleri, spesifik asetilkolin ve histamin antagonistlerinden farklı bir şekilde etki oluşturmuştur. KCl ve TEA üzerindeki relaksan cevapları ekstraselüler Ca^{++} üzerindeki etkileriyle yakından ilgilidir. Aynı çalışmada $CaCl_2$, potasyumdan zengin kalsiyumsuz solüsyonda konsantrasyona bağlı spazm hasıl etmiştir. Verapamil, nikardipin ve diltiazem bu etkiyi doz-cevap eğrisini sağa kaydırmak suretiyle belirgin olarak inhibe etmiştir. Bu sonuçlara göre verapamil Ca^{++} influksunu inhibe ederek KCl ve TEA ile oluşan spazmı etkileyebilir. Benzer bulgular aynı dokuyu kullanan R. W. Foster ve arkadaşları tarafından da saptanmıştır (27). Verapamil, TEA ve KCl ile hasıl edilen spazmı, yavaş dalgaları veya spaykları kalsiyum iyon influksunu inhibe etmek suretiyle suprese etmiştir. Asetilkolin, histamin ve prostaglandin E_2 ile oluşturulan spazmalar ise verapamilden etkilenmemiştir; bu tür spazmolitik etkinliklerin sitoplazmik serbest kalsiyum

konsantrasyonunu artıran ve verapamile rezistan olan mekanizmalara bağımlı olduğu düşünölmüştür. Diğer yandan H.Karaki ve arkadaşları (53) KCl ve karbakolun kobay tenya kolisinde doza bağımlı olarak iki tip kanalı aktive ettiklerini düşünmüşler ve düşük konsantrasyonların verapamile az duyarlı, yüksek konsantrasyonun ise verapamile daha duyarlı kanalları açtığı görüşünü ileri sürmüşlerdir.

Kobay trakeasında verapamil ile ilgili bir çalışmada K. Baba ve arkadaşları (7) tarafından yapılmıştır; araştırmacılar yüksek potasyum, karbakol ve karbakol + yüksek potasyum içeren solüsyonlarda kalsiyum ve baryum ile oluşturulan kontraktürler üzerinde verapamilin etkilerini incelemişlerdir. Yüksek potasyum, karbakol ve yüksek potasyum + karbakol içeren kalsiyumsuz solüsyonlarda verapamil Ca^{++} ve Ba^{++} 'un doz cevap eğrilerini paralel olarak sağa kaydırmıştır. Diğer taraftan kalsiyum mevcudiyetinde karbakol kontraktürleri verapamile daha rezistan iken ortamdaki kalsiyum, Ba^{++} veya Sr^{++} ile substutiye edildiğinde karbakol kasılmaları verapamil ile daha etkili bir şekilde suprese edilmiştir. Bu deneysel bulgular verapamil duyarlılığının dış ortamdaki divalent katyonlarla modifiye olduğunu ve kanalın verapamile afinitesinin değişebileceğini göstermektedir. Kalsiyum kanal blokörlerinin kalsiyum influksu üzerindeki inhibitör etkileri insan izole gebe miyometriyumunda da saptanmıştır (10); bu çalışmada nifedipin, verapamil, sinnarizin, klorpromazin ve fenoterol'ün inhibitör etkileri araştırılmıştır. Adı geçen maddelerden fenoterol hariç diğerleri izole miyometriyumunun spontan kontraktürlerini inhibe etmiştir. Bir β_2 adrenoseptör agonisti olan fenoterol inhibitör etki oluşturmamıştır; ancak spontan kontraktürlerin frekansını azaltmıştır. Aynı döküda potasyumla oluşturulan kasılmalar fenoterol hariç diğer ilaçlar tarafından gevşetilmiştir. Spontan kasılmalar ve potasyumla oluşturulan kasılma şeklindeki etkiler kalsiyumsuz ortamda zamana bağımlı bir biçimde ortadan kalkmıştır. Kalsiyumun ortama ilavesi aktivitenin tekrar ortaya çıkmasına neden olmuştur. 3 mM kalsiyumla kastırılmış potasyumla

depolarize kasta bu maddeler gevşeme hasıl etmiştir. Mevcut bulgular insan gebe miyometriyumunun in vitro spontan kasılmalarına kalsiyum influksunun neden olduğunu gösterebilir. Nifedipin ve verapamilin potasyum kasılmaları üzerinde spontan kasılmalara göre daha etkili olması durumu ise farklı kalsiyum kanallarının devreye girdiği şeklinde bir yorum ile izah edilmiştir. Deniz midyesinin anterior byssus refraktör kasında kasılmanın başlaması için gerekli kalsiyum kaynağını aydınlatmak amacıyla kalsiyum kanal blokörleri ile papaverin ve aspaminol gibi düz kas relaksanları kullanılmıştır (77). Bu çalışmada verapamil, diltiazem, D-600, papaverin ve aspaminol, asetilkolin kasılmalarını doza bağımlı bir tarzda inhibe etmiştir. Araştırmacıların kanaatine göre bu sonuçlar, asetilkolin kasılmasında kullanılan kalsiyumun ekstraselüler ortam ve hücre içi kalsiyum depolarından geldiğini göstermektedir; zira kalsiyum kanal blokörleri kalsiyum influksunu inhibe etmektedir, antispazmodikler ise hücre içi depo yerlerinden kontraktıl elementlere kalsiyumun aktarılmasını etkilemek suretiyle gevşetici aktivite hasıl ederler. Nifedipinin izole kertenkele rektumunda karbakol, KCl ve kinin kontraktürlerini inhibe ettiği gösterilmiştir (98). Bu çalışmada kinin ve karbakolun daha kolay bir şekilde etkilendiği müşahede edilmiştir. Karbakol, KCl ve kinin ile hasıl edilen kasıcı cevaplar ortamdan kalsiyum uzaklaştırıldığı zaman diğer iki bileşiğe göre daha duyarlı bulunmuştur. Bu bulgular bahis konusu kasılmalarda farklı kalsiyum influks mekanizmalarının ve farklılık arzeden kalsiyum kanallarının kullanıldığını telkin etmektedir. Kalsiyum kanal blokörlerinin önemli bir özelliği muhtelif dokulara farklı afinitesinin olmasıdır (110). Mesela sinnarizin ve onun diflorlu türevi olan flunarizin damar düz kasındaki yavaş kalsiyum kanallarını kalptekine göre 1000 kez daha etkili bir şekilde bloke ederler. Nimodipin tercihen serebral damarları etkilerken, diltiazem ise koroner damar sistemi için daha fazla afinite gösterir. Dokuya özgü olma durumu myokardın farklı yapıları düzeyinde de müşahede edilmiştir; böylece verapamil myokardda

düğümüleri ve iletim sistemini etkiler ve antiaritmik olarak kullanılır; nifedipin ise böyle bir etkinliğe sahip değildir. Verapamil, nikardipin ve diltiazem gibi kalsiyum kanal blokörlerinin, enzimatik dispersiyonla tavşan ileumunun longitudinal düz kas tabakasından elde edilen fragmente düz kas hücre membranlarında kalsiyum iyonunun içe akımı üzerindeki etkileri incelenmiştir (105). Bu cisimlerin hepsinin içe akımı doza bağımlı bir şekilde bloke ettikleri gösterilmiştir.

Kalsiyum kanal blokörlerinin muhtemel bir diğer etki mekanizmaları kalmodulinin hidrofobik yerine (veya kalmoduline benzer proteine) bağlanmak suretiyle kalsiyum-kalmodulin-myozin hafif zincir kinaz kompleksinin oluşumunu inhibe ettikleri sanılmaktadır (110). Bu görüş bazı çalışmalarda inceleme konusu yapılmıştır. Örneğin kalsiyum kanal blokörlerinin kalmodulin ile regüle edilen membran Ca^{++}/Mg^{++} ATPaz ile etkileşmeleri araştırılmıştır (57). Bu amaçla insan eritrosit membranı kullanılmıştır. Eksojen olarak verilen kalmodulin doza bağımlı bir şekilde bazal Ca^{++}/Mg^{++} ATPaz'ı aktive etmiştir. Verapamil ve diltiazem kalmodulinin aktivasyonunu antagonize ederken, dihidropiridin türevi olan nifedipin tek başına veya verapamil ve diltiazem ile oluşturulan kombinasyonu, stimüle edilen Ca^{++}/Mg^{++} ATPaz aktivitesi üzerinde azaltıcı etkinlik hasıl etmiştir. Ancak kalsiyum kanal blokörlerinin kalmodulin-myozin hafif zincir kinaz kompleksi ile etkileştiği hipotezi, destekleyici delillerin mevcudiyetine rağmen geniş bir şekilde kabul görmemiştir.

izoprenalin. β_1 ve β_2 adrenoseptörleri etkileyen en güçlü katekolamindir (23,46,50,59,61,81,91,102). 1967 yılında Lands ve diğer araştırmacılar, Ahlquist tarafından kullanılan yaklaşıma benzeyen bir yöntemle β -adrenerjik reseptörlerin iki farklı alt-tipinin olduğunu gösteren sonuçlar elde etmişler ve bunlara dayanarak β -adrenerjik reseptörleri, β_1 ve β_2 diye adlandırılan iki alt tipe ayırmışlardır (56). β_1 reseptörler aracılığı ile oluşan etkiler (örneğin kalbi hızlandırma ve kasılma gücünü artırma, yağ dokusunda lipolizi artırma gibi) yönünden güçlülük

derecesi de saptanmış ve izoprenalin > adrenalin > noradrenalin şeklinde bir sıralama gözlemlenmiştir. β_2 reseptörler üzerinden oluşan etkilerde (bronş, damar, uterus, barsak ve diğer düz kasların gevşetilmesi gibi) ise durum izoprenalin > adrenalin > noradrenalin olarak saptanmıştır. Yeni ilaçlarla yapılan incelemelerde bulunan etki gücü β_2 reseptörler düzeyinde salbutamol > izoprenalin > prenalterol sırasını izlemiştir. Son zamanlarda klasik farmakolojik yöntemlerle sıçan yağ dokusu hücrelerinde ve kobay ileumunda β_3 - alt tipi reseptörlerinin varlığı da gösterilmiştir. Bunlar aracılığı ile gelişen olaylarda (lipoliz, oksijen tüketiminin ve çizgili kasta glikojen sentezinin azalması ve ileumun gevşemesi gibi) noradrenalin, adrenaline göre daha güçlü olduğu bulunmuştur.

Adrenerjik reseptörler hedef hücrelerin membranında yer alırlar ve yanı başlarında bulunan belirli enzimler ile veya iyon kanalları ile kenetlenme gösterirler (56). Aktive edilen reseptörle enzim veya iyon kanallarının etkilenmesinden sonraki basamakları oluşturan ve gevşeme veya kasılma şeklindeki biyolojik cevap ile sonuçlanan reseptör sonrası olaylar kısmen aydınlatılmıştır. Beta adrenozeptörler myokard, düz kas, karaciğer ve incelenen diğer bir çok hücre türü membranında adenilat siklaz ve stimulan düzenleyici protein (G_s) ile yakın ilişki halinde bulunmuşlardır. Bu üç mülkül hücre membranında üçlü fonksiyonel birim oluşturur. Düzenleyici veya diğer adıyla GTP'ye bağımlı proteinin, adenilat siklaz'ın inhibisyonunda rol oynayan inhibitör şekli (G_i) de vardır. β -adrenozeptörlerin G_i molekülü ile ilişkileri yoktur. β -adrenerjik reseptörler kısmen G_s ile kombine durumda bulunurlar ve reseptör- G_s kompleksi agoniste yüksek afinite gösterir. Agonist-reseptör- G_s üçlü kompleksi oluştuğunda, G_s üzerindeki GTP bağlama yerinden GDP ayrılır ve GTP (guanozin trifosfat) bağlanır. GTP'nin G_s 'ye bağlanması bir yandan reseptörün G_s 'den kopmasına ve düşük afiniteli şekle geçmesine neden olurken, öte yandan G_s 'nin aktiviteden sorumlu α alt birimini $\beta\gamma$ -alt birimi kompleksinden ayırır ve onu aktif yani enzimi aktive edebilir duruma getirir.

Aktif $G_{\beta\alpha}$ -GTP kompleksi adenilat siklazı aktive ederek Mg^{+2} - ATP'nin sAMP'ye dönüşümünü artırır. Tüm bu olaylar GTPaz'ın GTP'yi guanozin difosfata hidroliz etmesi ile son bulur ve sistem deaktive edilmiş olur. Ancak ortamda agonist madde bulunduğu sürece, aynı olay ardışımı membranda devamlı olarak tekrarlanır ve sitoplazmada sAMP birikimi olur. sAMP, ikinci ulak görevi yapar; sitoplazmadaki protein kinaz A enzimini (sAMP'ye bağımlı protein kinazı) aktive eder. sAMP'nin aktive ettiği protein kinaz A hücre tipine ve yerine göre farklı substratlara sahiptir ve farklı olay ardışımına neden olur; örneğin myokard, çizgili kas ve karaciğer hücrelerinde fosforilaz kinazı aktive eder, o da inaktif fosforilaz b'yi aktif fosforilaz a'ya dönüştürür; yağ dokusu hücrelerinde lipazı fosforile ederek onu aktive eder ve karaciğer hücrelerinde glikojen sentazı fosforile ederek glukojen sentezini inhibe eder. Beta-reseptör aktivasyonunun kalpte pozitif inotropik etki yapmasında, sAMP kısmen aracılık edebilir; sAMP, troponin ve fosfolamban gibi kasılma ile ilgili proteinlerin fosforile edilmesini sağlayabilirse de daha başka etkilerin de (kalsiyum kanalı proteinin fosforile edilmesi gibi) pozitif inotrop etkide rol oynadığı sanılmaktadır. Beta-reseptör aktivasyonunun düz kaslarda gevşeme yapmasında kısmen sAMP'nin aracılık ettiği sanılmaktadır (46,78); ancak protein fosforilasyonu ile düz kas gevşemesi arasında yer alan olay zinciri henüz aydınlatılmamıştır. Düz kas gevşemesinde intraselüler Ca^{+2} düzeyinin azalmasının da kaktısı olabilir; bununla beraber sAMP ile Ca^{+2} düzeyi azalması arasındaki ilişki aydınlatılmamıştır. Katekolaminlerin nihai cevabı olan kasılma ve gevşeme, intraselüler serbest kalsiyum konsantrasyonundaki değişim ile sıkı ilişki göstermektedir (20). Eksitator etki (kontraksiyon) oluşturan katekolaminler, kalsiyum influksunu artırabilirler, intraselüler depolardan kalsiyum salıverebilirler ya da kalsiyumun hücre dışına atılmasını veya sekestrasyonunu suprese edebilirler. Kas elektriksel olarak eksitabl ise aksiyon potansiyeli sırasında kalsiyum influksu artar. Daha az eksitabl ya da oldukça zayıf eksitabl kaslarda adreseptörler aktive

edildiği zaman aksiyon potansiyeli oluşmadan plazma membranında Ca^{+2} influksunu artırabilirler ya da hücre içi Ca^{++} 'u salıverirler. Katekolaminlerle elde edilen gevşemeler farklı mekanizmalar sonucu gelişmektedir; bunlar kalsiyum influksunun supresyonu, hücre dışına atılmasının hızlanması intraselüler depolarda kalsiyum tutulmasının artması veya kontraktıl mekanizmanın inhibisyonu ile ilgili olabilir (20). Kalsiyum influksu, sadece direkt olarak kalsiyum kanallarının kapanmasıyla bloke edilmemektedir, aynı zamanda indirekt olarak, örneğin, K^+ konduktansının artmış olduğu durumlarda gelişen hiperpolarizasyon sonucu aksiyon potansiyelleri oluşumunun bloke edilmesiyle de suprese edilmektedir.

Spontan olarak aktif ve yüksek eksitabiliteye sahip kobay çekum tenya kolisinde, izoprenalin ile β -reseptörlerin uyarılması sonucu hiperpolarizasyonla beraber spayk aktivite suprese olmakta ve gevşeme meydana gelmektedir (17). Bu etki nonselektif β -blokör olan propranolol ile inhibe edilirken β_1 blokörü olan praktololdan kısmen etkilenmiştir; spayk oluşumunun supresyonundan β_2 reseptörlerin sorumlu olduğu sanılmaktadır. Benzer sonuçlar β_2 selektif antagonisti olan AA 497 kullanılarak da elde edilmiştir (58). AA 497 ile spayk aktivitenin supresyonu β_2 selektif antagonisti olan butoksamin ile etkili bir şekilde inhibe edilmiştir; ancak praktolol ile inhibisyon gelişmemiştir. β_2 reseptörlerle membranda gelişen bu mekanizmaya ilave olarak izoprenalin β_1 reseptörlerini de aktive etmektedir; sonuncu tip reseptörler hücre içi mekanizmaları etkileyerek gevşeme oluşturur.

Hücre içi mikroelektrod kullanılan bir çalışmada (20) izoprenalinin β reseptörlerini aktive ederek önemli ölçüde bir hiperpolarizasyona neden olduğu gösterilmiştir. Spontan aktivite göstermeyen hücrelerde izoprenalin membran potansiyelinde herhangi bir değişiklik yapmamıştır; adrenalin ise aynı hücrede büyük bir hiperpolazisyon oluşturmuştur. izoprenalin ile hasıl edilen hiperpolarizasyon muhtemelen potasyum konduktansındaki artıştan kaynaklanır; zira hiperpolazisyon dış ortama potasyum

geçişinin hızlanması ile önemli derecede artmaktadır. Potasyumsuz solüsyonda izoprenalin ve adrenalinle hiperpolarizasyon oluştuğunda potasyumun ortama ilave edilmesi hücre membranını depolarize etmiştir; potasyum konduktansını azaltıcı cisimler olarak bilinen TEA ve Ba^{+2} katekolaminlerin neden olduğu hiperpolarizasyonu ortadan kaldırmıştır. Katekolamin içermeyen potasyumsuz ortama potasyumun ilave edilmesi elektrojenik Na^{+} pompasının aktivasyonu sonucu membranı hiperpolarize etmiştir. Memeli dokusunda depolarizasyonla aktive edilen ve repolarizasyondan sorumlu iki potasyum kanalının mevcudiyeti saptanmıştır; buna ilaveten kobay tenya kolisinde hiperpolarizasyon süreci ile ilgili üçüncü bir potasyum kanalının bulunduğu da tesbit edilmiş ve bu kanalın noradrenalin, ATP ve noradrenerjik, nonkolinerjik inhibitör transmitterlerle aktive olduğu ve apamin ile bloke edildiği müşahade edilmiştir (109). İzole kobay tenya çekumunda potasyum kanallarını açan BRL 34915, nikorandil ve izoprenalin spontan tonusu gevşetmiş, ancak bu inhibitör cevapların apamin'den etkilenmediği saptanmıştır. ATP ve noradrenalin aynı dokuyu gevşetmiş ve bu gevşemeler apamin ile inhibe olmuştur. K^{+} marker'ı olarak kullanılan işaretli ^{86}Rb eflüksünü BRL 34915, nikorandil ve noradrenalin artırmıştır; izoprenalin ise ^{86}Rb eflüksünde herhangi bir artış yapmamıştır. BRL 34915 ve nikorandilin ^{86}Rb eflüksü üzerindeki etkileri apamin ile etkilenmezken, noradrenalinin etkisi apamin ile suprese edilmiştir. Bu sonuçlara göre nikorandil ve BRL 34915 düz kaslarda potasyum kanallarını aktive etmektedir; ancak bu kanallar apamine duyarlı değildir.

izoprenalinin gevşetici etkisi yüksek potasyum depolarizasyonu ile azalmaktadır; fakat azalmanın derecesi izoprenalin konsantrasyonu, maruz kalma süresi ve mevcut sodyum konsantrasyonu gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (20). Dış ortam potasyum artışıyla spayk aktivite bloke edildiği zaman noradrenalin etki oluşturmazken izoprenalin hala tonusu düşürmeye devam etmiştir. Bununla birlikte izoprenalinin aktivitesi için bir miktar Na^{+2} ve Cl^{-} iyonunun ortamda mevcudiyeti gereklidir;

ayrıca Ba^{+2} ve Sr^{+2} kalsiyum yerine ikame edildiğinde etki devam etmektedir. NaCl'in KCl ile tamamen değiştirildiği ortamda izoprenalin tenya kolisi kasında herhangi bir gevşetici etki göstermemiştir; ancak tavşan tenya kolisi ve kolon sirküler kası gibi bazı preparatlarda benzer solüsyon kullanılmasına rağmen, kontrole göre daha küçük cevap gelişmiş olmakla beraber, gevşeme müşahede edilmiştir (4,5). Sodyumsuz solüsyonda izoprenalinin gevşetici etkisinin kaybolması kısmen Na^{+} pompasının supresyonuyla ilgili olabilir; zira $Na^{+} - K^{+}$ ATPaz inhibitörü olan ouabain relaksan aktiviteyi azaltmıştır. Ouabainin ilk uygulanışı sırasında izoprenalinin relaksan etkisi kuvvetlenmiştir; ancak uygulamadan 30 dakika sonra tamamen ortadan kalkmıştır.

izoprenalin Ca influksunu etkilemeden Ca^{45} efluksunu % 20 oranında artırmıştır; β -reseptörlerin aktivasyonunun plazma membranındaki elektrojenik Ca^{+2} pompasının aktivasyonuna neden olduğu sanılmaktadır (18). Diğer yandan kalsiyumsuz solüsyonda karbakol ile elde edilen kasılmalar üzerinde yapılan çalışmada izoprenalinin kalsiyum sekestrasyonunu artırdığı saptanmıştır; intrasellüler Ca^{++} depolarını doldurmak için 1.5 mM Ca içeren 42 mM K solüsyonla muamele edildikten sonra kalsiyumsuz ortama alınan kobay tenya kolisinde karbakol geçici bir kasılmaya neden olmuştur. Depo doldurma işlemi sırasında ortama izoprenalin ilavesi kasılmaları % 40 oranında artırmıştır. Bu sonuç izoprenalinin intrasellüler depodan kalsiyum apteyk ve sekestrasyonunu kolaylaştırdığı anlamına gelebilir.

β_1 ve β_2 adrenerjik reseptörlerin uyarılması adenilat siklazı aktive ederken, α adrenerjik reseptörlerin uyarılması ise bu enzimi inhibe etmektedir (56). β -agonistlerle oluşan gevşeme, kısmen adenilat siklazın aktivasyonu sonucu sAMP oluşumundaki artıştan kaynaklanabilir; zira gevşeme, sAMP miktarındaki artışla yakından ilgilidir; dibuturil bileşiği olarak uygulanan sAMP β -agonistlerin etkisini taklit etmiş ve fosfodiesteraz inhibitörleri gevşetici etki göstermiştir. Hücre içi sAMP, protein kinazla aktive olan düz kasın kasılma fonksiyonunu

düzenler ve muhtemelen hücre içi kalsiyum dağılımını da etkileyebilir. Ayrıca sAMP kalsiyum-kalmodulin kompleksine miyozin hafif zincir kinazın (MHZK) afinitesini azaltarak direkt olarak kasıcı mekanizmayı suprese edebilir. MHZK, sAMP'ye bağımlı protein kinaz tarafından fosforile edildiğinde afinite azalmaktadır.

Kobay tenyasında izoprenalin, β -reseptörlerin aktivasyonu sonucu hücre içi sAMP düzeyini artırmıştır (39). Deneylerde spontan konsantrasyonu % 50 oranında azaltan izoprenalin konsantrasyonu hücre içi sAMP düzeyini önemli derecede artırmamıştır; ancak izoprenalin uygulamasından 10 saat sonra gevşeme maksimumun % 57'sine ulaşmış iken sAMP düzeyinde önemli bir artışın olduğu saptanmıştır. Ayrıca izoprenalin gevşemesinde antagonist olarak kullanılan propranolol ile ilgili PAz değeri (7.52), izoprenalinle oluşturulan sAMP artışına karşı aynı cisim için bulunan PAz değerinden (8.57) farklı bulunmuştur.

Kobay izole trakeasının membran potansiyelini ve mekanik cevabını kaydederek çeşitli gevşetici maddelerin etkileri araştırılmıştır (40). izoprenalin ve diğer muhtelif maddeler (terbutalin, adrenalin, noradrenalin, teofilin, forskolin ve dibuturil siklik AMP) hücre membranını hiperpolarize etmişler ve yavaş dalgaları ortadan kaldırmışlardır. Hücre içi sAMP artışına neden olduğu bilinen bu bileşiklerin hasıl ettikleri gevşemede hiperpolarizasyon ve yavaş dalgaların supresyonu birlikte oluşmuştur. Bu sonuçlara göre gevşeme olgusu ile sAMP artışı arasında ilişki olabilir.

Kobay sıçan midesi longitudinal ve sirküler fundus kaslarında β -reseptörlerin aktivasyonu ile inhibitör etki olduğu müşahade edilmiştir (10, 32). Longitudinal fundus şeritlerinde metakolin kasılmaları, izoprenalin, fenoterol (β_2 -agonist) ile tamamen gevşetilmiştir; ancak prenalterol (β_1 -agonist) % 50 gevşeme yapmıştır; tazolol ise hiç etki göstermemiştir (66). β_1 ve β_2 blokörleri izoprenalinin doz-cevap eğrisini sağa kaydırmışlardır. Bu sonuçlara göre sıçan gastrik fundusunda kavşak sonrası hem β_1 hem de β_2 reseptörleri bulunmaktadır.

Kinakrin. Kinakrin, hücre membranındaki fosfolipidlerden hidroliz işlemi ile prostanoid ön maddesi olan yağ asidlerini oluşturan fosfolipaz Az'yi inhibe eder (12,53,87,99). Fosfolipaz Az kalsiyuma bağımlı bir enzimdir. Prostanoidlerin salıverilmesini artıran uyarılar, hücre membranında bulunan fosfolipaz Az enzimini aktive ederler. Sonuçta fosfolipidlerin (özellikle fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin'in) sn-2 ester bağının hidrolizi ile deasilasyonu sonucu yağ asidleri serbest duruma geçerler ve geride deasilfosfolipid kalır. Fosfolipaz Az yolağı prostanoid sentezinde tüm hücre çeşitlerinde aktive edilen yolaktır; fakat hücre çeşitlerinin prostanoid biyosentezine elverişli fosfolipid havuzunun kapasitesi değişiklik gösterir. Fosfolipidlerden araşidonik asid ve diğer yağ asidlerinin vücut sıvılarındaki konsantrasyonu, bazal durumda sıfırdır. Bu maddeler oluşur oluşmaz, sentezin ileri basamaklarına girerek kaybolurlar. Fosfolipaz Az etkinliği hücrelerin membranından başka, arı ve yılan venomunda da bulunmuştur. Diğer yandan fosfolipaz C yolağının varlığı da saptanmıştır. Nisbeten yeni bulunan bu yolağın trombin, kolagen, tripsin, peptidler ve kalsiyum iyonforu bir antibiyotik olan A 23187 maddesi ile trombosit ve nötrofil lökositlerde stimüle edildiği gösterilmiştir. Son verilere göre bu prostaglandin sentez yolağı hücre membranında oldukça yaygın bir sinyal transdüksiyon sistemi ile kenetlenmiştir. Fosfolipaz C'nin (yeni adıyla fosfoinozotidaz) aktive edilmesi membran fosfolipidlerinden fosfoinozotid'in (yeni adıyla fosfotidilinozitol 4,5 bifosfat [PiP₂]) hidrolizine neden olur; bu olay sonucu adı geçen fosfolipidden başlıca iki ikinci ulak oluşur. Bunlar inozitol 1,4,5-trifosfat (iP₃) ve diasilgliserol (DAG)'dır; ilki endoplazmik retikulumdaki Ca⁺⁺ deposundan bu iyonu sitoplazmaya salıverir, DAG ise protein kinaz C'yi aktive eder. Ca⁺⁺, kalmodulini aktive ederek onun aracılığı ile kalmodulin kinazı stimüle eder. Bu iki tür kinaz, hücrede belirli proteinleri fosforile ederek hücresel cevabın oluşmasını sağlar (düz kasların kasılması ve ekzokrin bez hücrelerinin salgılanması gibi). PiP₂'nin hidrolizi sonucu sitoplazmada Ca⁺⁺ düzeyinin

artması, bazı yerlerde hücrelerin kalsiyuma bağımlı potasyum veya kalsiyuma-bağımlı klorür kanallarını açarak depolarizasyon yerine hiperpolarizasyona (inhibisyona) neden olabilir. 2-Nitro-4-karboksifenil-N, N-difenilkarbamat (NCDC) ve kinakrinin fosfolipaz C ve A₂ enzimlerini inhibe ettiği saptanmıştır (50). Fosfoinozimid'in hidrolizi sonucu oluşan DAG'ın, tavşan aortasının 5HT₂ reseptör aracılığı ile kontraksiyonunda tonik komponentin oluşumundan sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (79). DAG'ın protein kinaz C'yi aktive etmek suretiyle tonik komponenti hasıl edebileceği düşünülmüştür. Bu görüşlerin ortaya atıldığı çalışmada kullanılan NCDC maddesi tavşan aortasında 5HT₂ ile hasıl edilen kontraksiyonun tonik komponentini ve fosfoinozimid hidrolizini inhibe etmiştir; fakat KCl ile oluşturulan kontraksiyonda değişiklik hasıl etmemiştir. Aynı cisim 5HT₂ kontraksiyonlarının fazik komponentini etkilememiştir; sonuncu komponentin nifedipine duyarlı olduğu saptanmıştır. Yine tavşan aortasında yapılan bir çalışmada (75) alfa adrenerjik agonistlerin (epinefrin, norepinefrin ve metoksamin gibi) fosfatidilinositol ve fosfatidil asidin [³²P] P₁ ile işaretlenmesini doza bağımlı bir şekilde artırdığı ve preparatın kasılmasına neden olduğu gösterilmiştir. Epinefrinin bu etkilerinin prazosin ve yohimbin ile inhibe olduğu da saptanmıştır; ancak prazosin bu bakımdan yohimbinden 3 defa daha potent bulunmuş ve bahis konusu etkileri α₁ adrenerjik reseptör aracılığı ile olabileceği düşünülmüştür.

Kinakrin maddesinin kobay izole perfüze akciğerinde bazal fosfolipaz A₂ aktivitesini ve muhtelif maddelerle stimüle edilmiş bazal aktivite artışını inhibe ettiği saptanmıştır; antiinflamatuvar steroidler de aynı şekilde inhibisyon hasıl etmiştir; ancak akciğer hemojenatında, kinakrinin aksine böyle etkinlikleri olduğu saptanamamıştır (12). Kinakrinin ağır sarkoplazmik retikulum membranlarına bağlandığı ve lokal anasteziklerin bu bağlanma yerlerinden kinakrinin ayrılmasına neden olduklarında gösterilmiştir (11). Kalp kası sarkolemmal veziküllerinde aynı cisim Na⁺/Ca⁺⁺ değiş tokuş sistemin

aktivitesini deney şartlarına göre ya inhibe etmiş ya da stimüle etmiştir (87).

Trifluoperazin. Fenotiyazin tipi antipsikotik bir madde olan trifluoperazin'in kalmodulin'in biyolojik aktivitesini inhibe ettiği ilk defa 1970'de Cheng tarafından çeşitli dokularda gösterilmiştir (8,42,67,71,83,90,106,111). Kalmodulin yaklaşık 17.000 dalton molekül ağırlığında ve 148 amino asidli peptid zinciri içeren kalsiyum bağlayıcı özelliğe sahip, ısıya dayanıklı bir proteindir. Kalsiyum hücrelerdeki etkilerinin çoğuna aracılık eder. Kalmodulin kalsiyumsuz iken inaktiftir. Bir molekül kalmodulin dört kalsiyum iyonuna bağlanır. Kalsiyum-kalmodulin kompleksinin oluşması, daha önce inaktif olan birçok farklı akseptör proteinleri aktif duruma geçirir. Bu sistemin aktif duruma geçmesi için hücrede 10^{-7} - 10^{-8} M konsantrasyonda iyonize kalsiyuma ihtiyaç vardır. Hücrelerde çoğu kez istirahat döneminde hücre içi kalsiyum konsantrasyonu 10^{-7} M'un altındadır; bu nedenle kalmodulin mekanizması ancak hücre içi iyonize kalsiyum konsantrasyonu arttığı zaman aktivite olmaktadır. Kalmodulin iki veya üç kalsiyuma bağlandığında ancak bazı akseptör proteinleri aktive edebilir; bu nedenle hücre içi iyonize kalsiyum konsantrasyonu ve kalmodulinin bağlama derecesi gibi parametreler kalmodulinin hasıl ettiği aktiviteleri etkilemektedir. Akseptör proteinler birer enzimdir; bunlar arasında myozin hafif zincir kinaz, sAMP ile regüle olan fosfodiesteraz, adenilat siklaz, guanilat siklaz ve kalsiyumla aktive olan ATPaz sayılabilir (67,89,90,95).

Kalmodulin ile kalsiyum iyonlarının oluşturduğu kompleks myozin başlarındaki myozin hafif zincir kinaz'ına bağlanır (33,51,67). Bu olayı myozin başındaki ATPaz'ın aktive edilmesi izler. Aktive olan ATPaz ile ATP'nin parçalanması sonucu açığa çıkan enerji aktin ve myozin tarafından kullanılmak suretiyle düz kaslarda kasılma oluşturulur. Kalsiyum bulunmadığı zaman düz kas liflerinde ATPaz aktivitesi son derece düşük kalır ve kasılma olayı gelişmez.

Yapılan çeşitli araştırmalarda difenilbutilpiperidinler, tioksantinler, butirofenonlar, dibenzapinler ve dibenzodizazepinler, trisiklik antidepresanlar, antihistaminikler, nöropeptidler, alfa-adrenerjik ilaçlar ve düz kas relaksanlarının kalmodulini inhibe ettikleri gösterilmiştir (88). Ancak en kuvvetli inhibisyonu fenotiyazin grubu antipsikotik ilaçlar yapmaktadır. Fenotiyazinler ve ilgili diğer ilaçlarla kalmodulin etkileşmesi incelenmiş ve bu ilaçların yapı-aktivite ilişkileri de araştırılmıştır. Elde edilen bulgulara göre fenotiyazin çekirdeği veya aminoasit yan zincirinin mevcudiyeti antikalmomodulin etki için esas olduğunu göstermiştir. Bu bileşiklerin kalmodulini inhibe etmeleri direkt olarak ona bağlanmaları sonucu oluşmaktadır ve ortamda kalsiyumun bulunması gereklidir. Bağlanmada hidrofobik ve iyonik bağlar rol oynamaktadır. Birinci tür bağ fenotiyazin nükleusu ile kalmodulinin nonpolar bölgesi arasında oluşur; diğer tür bağ ise ilacın molekülü üzerinde yer alan pozitif yüklü amino grubu ile kalmodulinin negatif yüklü kısmı arasında teşekkül eder.

Zimmer ve Hofmann (111) yaptıkları bir çalışmada W-7, trifluoperazin ve R24571 gibi kalmodulin antagonistlerinin kalmodulinden bağımsız etkilerinde olduğunu saptamışlardır; bu maddelerin myozin hafif zincirinin kalmodulinden bağımsız bir şekilde bağlanmak suretiyle hafif zincir kinazını in vitro şartlarda inhibe ettikleri gösterilmiştir. Trifluoperazinin kalsiyum influksunu da inhibe edebileceği düşünülmektedir (42). Kobay ileumundan hazırlanan şeritlerde intakt veya skinned (kılıfı soyulmuş) düz kas liflerinin yüksek potasyumla oluşturulan kasılmaları trifluoperazin ile inhibe edilmiştir; bu bakımdan intakt lifler takriben 20 defa daha duyarlı bulunmuştur ve skinned liflerde kontraksiyonu inhibe etmeyen trifluoperazin konsantrasyonları intakt liflerin sitoplazma kalsiyum düzeylerinde belirgin azalma hasıl etmiştir. Keza Karaki ve arkadaşları (51) da benzer bulgular elde etmişlerdir. Araştırmacılar kalmodulin antagonisti olduğu sanılan prenilamin, klorpromazin ve No.233'ün kobay tenya kolisi ve tavşan aorta

şeritlerinde yüksek potasyumla oluşturulan kasılmayı ve hücre içi kalsiyum artışını inhibe ettiğini saptamışlardır.

Kalmodulin antagonistleri olan kalmidazolyum ve trifluoperazinin mide düz kasından hazırlanan plazmalemmal veziküllerde kalsiyum ^{45}Ca transportu üzerinde muhtelif etkileri olduğu saptanmıştır (67). Plazmalemmal ATP'ye bağlı Ca^{+2} transport sisteminin doza bağımlı inhibisyon oluşturmaya ilave olarak, belirgin Ca^{+2} salıverilmesine de neden olmuştur. Araştırmacılar bu etkilerine antikalmidulin ilaçlarla elde edilen sonuçların yorumunda kullanılmasının ne derecede doğru olabileceği konusunda ciddi tereddütleri olduğunu ifade etmişlerdir.

Papaverin. Afyon içinde yaklaşık % 1 oranında bulunan ve ondan elde edilen bir alkaloiddir (55). Kimyaca izokinolin türevidir; hidroklorür tuzu halinde kullanılır. Papaverin, düz kaslı yapıları direkt etkisi ile gevşeten müskültrop tipte bir antispazmotik ilaçtır (2,24,47,54,70,74,100) ilaçların belirli bir reseptörü etkilemeksizin ve belirli bir nöromediyatörle etkileşme yapmaksızın oluşan düz kas gevşetici etkilerine, farmakolojide papaverin-benzeri etki denir. Diğer direkt düz kas gevşeticilerin etkinlikleri, farmakoloji deneylerinde papaverin ki ile kıyaslanmak suretiyle belirlenir. Damar düz kaslarından başka, mide-barsak kanalı, safra yolları, üreter, bronşlar ve gözdeki silyer kas gibi yapıların düz kaslarını da gevşetirler. Antimuskarinik etki göstermez (56). Düz kaslı yapılar spazm halinde ise gevşetici etki daha belirgin olur. Papaverin ve benzeri ilaçlar, parasempatolitik ilaçların parasempatik innervasyona sahip yapılarda yaptıkları antispazmotik etkiyi aditif etkileşme sonucu artırır. Onun için gastrointestinal ve jenido-üriner sistem hastalıklarında parasempatolitik ilaçlarla birlikte veya kombine mustahzar halinde kullanılırlar.

Papaverinin düz kas gevşetici etkisinin izahına yönelik muhtelif görüşler ileri sürülmüştür; hipotezlerden biri bu cismin hücrede fosfodiesteraz enzimini inhibe etmesini esas alır; bahis

konusu enzimin inhibe edilmesi hücre içinde siklik AMP artışı ile sonuçlanır (19,36,43,55,68,103,104). Gevşeme bu nükleotid aracılığı ile oluşur. Papaverinin kobay tenya kolisinde gevşetici etkisini dış ortamın sodyum konsantrasyonuna bağımlı olduğu saptanmıştır (103); benzer bağımlılık durumu dibutiril siklik AMP gevşemelerinde de ortaya çıkmıştır. Ancak papaverinin sodyumsuz ortamda konsantrasyonu artırıldığı zaman gevşetici etkisini belirgin olarak oluşturmak mümkün olmuş, buna karşılık dibutiril siklik AMP ile sodyumsuz ortamda gevşetici etki, konsantrasyonunun artırılmasına rağmen hasıl edilememiştir. Deneysel sonuçlar papaverinin gevşetici etkisinin bir kısmının dış ortamın sodyum mevcudiyetine bağımlı olarak çalışan siklik AMP aracılığı ile oluşabileceğini göstermektedir. Papaverinin ayrıca adenozin apteykini inhibe ettiği saptanmıştır (55); bu aktivitenin papaverinin vazodilatör etkisine önemli ölçüde katkı sağladığı düşünülmektedir.

Papaverinin etki mekanizmasının oluşmasında kalsiyum ile etkileşmesinin de göz önüne alınması gerekir. Papaverinin sıçan vaz deferensi ve mesanesinde 100 mM K kontraktürlerinin hasıl ettiği tonik komponentinde doza bağımlı belirgin azalmalar yapmıştır (43). 150 μ M papaverin konsantrasyonları preparatlarda inisiyal tansiyonun altına düşen gevşemelere neden olmuştur. Bu preparatların bulunduğu ortama 150 μ M papaverin ilavesi ^{45}Ca apteykinde % 25-30 azalma hasıl etmiştir. Kobay tenya kolisinde papaverinin Ca^{+2} efluksunu hızlandırıcı etkisi olduğu saptanmış ve bu olayın siklik AMP aracılığı ile geliştiği ve dış ortamın sodyum içeriğinden etkilendiği ileri sürülmüştür (104). Kalsiyumun düz kas hücresinden dış ortama atılmasının hızlandırılması papaverinin gevşetici etkisinden kısmen sorumlu olabilir; zira bu durum kontraktil element için gerekli kalsiyumun azalmasına neden olmaktadır. Papaverinin kalsiyum mobilizasyonu üzerindeki etkinliği kalsiyum kanalları üzerinde gelişen bir tesirine bağlı olabilir; ancak bu cismin hangi tip kalsiyum kanallarını etkilediğinin ortaya konulmasına ihtiyaç vardır.

Papaverinin çeşitli kas dokuları üzerindeki etkisi ayrıca araştırılmış ve aynı dokuda kalsiyum kanal blokörü olan verapamil ile mukayesesi yapılmıştır (68). Bu amaç için tavşan duodenumu ile sıçan kolon, portal ven ve sağ atriumu kullanılmıştır. Ayrıca aynı dokularda gevşetici etkinliği olan oktilonyum da değerlendirilmiştir. Verapamil selektif olarak dudenumda spontan kasılmaların amplitüd ve frekansını doza bağlı tarzda azaltmıştır; papaverin incelenen dokularda spontan kasılmaların amplitüdünü eşit derecede azaltırken, kasılma frekansını en belirgin olarak kolonda etkilemiştir. Oktilonyum bromür ise sıçan kolonunda gelişen kasılmaların frekansı ve amplitüdünü diğer preparatlara göre daha etkili bir biçimde inhibe etmiştir. Bu gevşetici maddeler portal vende amplitüdü konsantrasyona bağlı olarak azalttıkları halde, spontan kasılma frekansında artışa neden olmuşlardır. Bu sonuçlardaki bazı farklar, frekans ve amplitüdün oluşmasında kalsiyuma bağlı süreçlerin farklı derecede rol oynaması ile izah edilmiştir.

Bir araştırmada (54) kobay tenya kolisinde sodyumsuz sukroz veya tris ile substütiye edilmiş solüsyonda 20 mM KCl ile hasıl edilen kasılmalar üzerinde papaverin, D600 ve KCN'ün etkileri incelenmiştir. Papaverin ve D600 sukroz solüsyonunda KCl kasılmaların % 70-80 oranında gevşetirken, KCl % 11 oranında bir gevşeme yapmıştır. Konsantrasyon-gevşeme eğrileri, sodyumsuz 20 mM KCl-Tris ortamında hafifçe sağa kaymıştır. Tenya kolinin hücre sodyum içeriği, tris ve sukroz solüsyonu ile muamele edildiğinde zamana bağlı olarak azalırken, banyo ortamındaki her iki solüsyonun kalsiyum içeriği ise yine zamana bağlı bir şekilde artmıştır. Potasyum kasılmaları glukozsuz solüsyonda gevşemelere dönüşmüştür. Bu gevşeme sodyumsuz sukroz solüsyonunda tamamen inhibe edilmiştir. Deneysel sonuçlar kobay tenya kolisinde gevşetici maddelerin aktivitelerinin ortamdaki sodyum iyonunun sukroz ile ikame edilmesi ile farklı derecede değiştiğini ve sodyumsuz sukroz solüsyonundaki KCl kasılmalarının trisli sodyumsuz ortamda gelişenlere göre enerjiye daha bağımlı olduğunu göstermiştir. Sonuçlar aynı zamanda kalsiyum ve sodyum iyon

içeriklerindeki değişmelerin sodyumsuz sukroz solüsyonunda gevşetici cisimlerin büyük ölçüde azalmış aktiviteleri ile doğrudan ilişki kurma açısından yetersizliğini de ortaya koymuştur. izole sıçan uterusunda sinnamedrin ve papaverinin gevşetici etkileri mukayese edilmiştir (22). Sinnamedrin ve papaverin, spontan kasılmaları ve oksitosin muamelesi sonucu artmış olan spazmları inhibe etmiştir. Papaverin ve sinnamedrin için her iki durumda tayin edilen IC₅₀ değerleri birbirine çok yakın bulunmuştur. Papaverin ve sinnamedrinin spazmolitik etkilerini oksitosin muamelesi ve hormonal durum önemli ölçüde etkilememiştir. John S. Martin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (70) sıçan izole duodenum ve ileum segmentlerinin aktif tonus ve spontan kasılmalarının frekansları üzerinde papaverin, adrenalin ve sperminin inhibitör etkileri araştırılmıştır. Spermin, aktif tonus ve spontan kasılma frekanslarını inhibe etmiştir; ED₅₀ olarak hesaplanan relativ tesirleri adrenalin > papaverin > spermin şeklinde saptanmıştır. Kalsiyumdan zengin solüsyonda oluşan aktif tonüs değişmesi spermine duyarlı bulunmuştur; ancak frekans değişikliği açısından duyarlı olmadığı müşahede edilmiştir. Sperminin gastrointestinal motilitenin inhibisyonunda ikinci derecede bir role sahip olduğu düşünülmektedir.

Metilen Mavisii. Bir boya maddesi olan metilen mavisii, nitrik oksid (NO) ile aktive olan solübl guanilat siklazın selektif inhibitörüdür; bu nedenle intrasellüler siklik guanozin monofosfat (sGMP) oluşumunu ve buna bağlı gevşemeleri inhibe eder (3,31,44,69,93,101). Kamikawa ve arkadaşları (50) metilen mavisinin, kobay özafagus muskularis mukozasında karbakol ve KCl ile hasıl edilen kontraktürler üzerinde metilen mavisinin etkisini araştırdılar ve ilginç olarak metilen mavisinin gevşetici etkisini saptadılar; karbakol kasılmalarının daha belirgin şekilde gevşediğini gösterdiler. Bu madde damar dokusunda endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF)'ye bağlı gevşemelerin selektif inhibitörü olarak bilinmektedir (69,94,96).

Bu etkisinin solübl bir enzim olan ve hücre içinde sGMP oluşturan guanilat siklazı okside etmesi sonucu gelişebileceği düşünülmektedir. Hücre içi sGMP düzeyinin artması EDRF gibi NO grubu içeren bazı biyojen maddelerin oluşturduğu damar genişlemelerine aracılık etmesine rağmen, nonvasküler düz kasların gevşemesinde bu nükleotidin sorumlu olduğu konusunda ciddi tereddütler vardır. Kobay tenya kolisinde sGMP düzeyinde yükselme ile potasyum veya karbakolun neden olduğu kontraktür arasında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (44). Bu bulgular muvacehelesinde kobay muskularis mukozasında metilen mavisi ile gelişen gevşetici etkinin mekanizmasını açıklamak zordur; belki membran hiperpolarizasyonu sorumlu olabilir.

Furchgott ve Zawadzki 1980 yılında tavşan aortasında asetilkolinin gevşetici etkisinin endotel hücrelerinden salıverilen bir endojen madde aracılığı ile geliştiğini gösterdiler (29,41,56,60,69,97); daha sonra bu maddeye endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) adını verdiler. Asetilkolin, histamin, serotonin, vazopresin, bradikinin, prostasiklin, vazoaktif intestinal peptid, P maddesi, kalsitonin geni ile ilişkili peptid, insülin, klonidin ve katekolaminler (α_2 -reseptör aracılığı ile) EDRF salıverilmesine neden olan kimyasal etkenlerdir. EDRF'nın kimyasal yapısının nitrik oksid (NO) veya ona çok benzeyen bir madde olduğunu gösteren birçok deneysel kanıt ortaya konmuştur. Bu nedenle EDRF'ye EDRF-nitrik oksid veya endotel kaynaklı nitrik oksid adı da verilmektedir. NO, endotel hücrelerinde L-argininin guanidino nitrojeni'nin Ca^{+2} 'a bağımlı NO sentaz enzimi aracılığı ile oksidlenmesi sonucu sentez edilir. Bunun için ortamda kofaktör olarak tetrahidrobiopterin'in bulunmasına gerek vardır. Endotel hücrelerinden salıverilen EDRF, lipofilik bir madde olduğundan intima altındaki damar düz kas tabakasına sokulur ve düz kası gevşetir. EDRF, damar düz kas hücreleri üzerindeki gevşetici etkisini bu hücrelerde guanilat siklaz enzimini aktive edip guanozin trifosfat (GTP) den ikinci ulak olarak siklik guanozin monofosfat (sGMP) oluşturmak suretiyle yapar.

Diğer yandan trakea epiteli gibi bir epitel dokusundan sentezlenip salıverilen gevşetici faktör veya faktörlerin de mevcudiyeti saptanmıştır (25,26,45,107). Bu cisim veya cisimlerin tavşan aorta şeritlerini gevşettiği koaksiyal biyoessey sistemi kullanılmak suretiyle gösterilmiştir (45); aynı gevşetici faktör ve faktörlerin yine koaksiyal biyoessey sistemi kullanılmak suretiyle saptanmasında izole doku olarak sıçan anakoksigeus kasının kullanılmasının daha elverişli olacağı da saptanmıştır (34). Her iki doku önceden fenilefrinle kastırılmıştır. Epitel kaynaklı gevşetici faktör veya faktörlerin (EpDRF veya EpDRF_s) EDRF'den farklı olduğu aşağıdaki deneysel bulgulara dayanarak ileri sürülmüştür.

a) EpDRF'nin tavşan aorta şeritlerinde neden olduğu gevşeme EDRF ile oluşturulan gevşemeye göre daha uzun sürelidir. b) EpDRF gevşemesi hidrokinon ile antagonize edilememiştir; EDRF gevşemesi ise aynı madde ile etkili bir şekilde antagonize edilmiştir.

Hava yolları epitelinden sentezlenip salıverilen bir cisim veya cisimlerin epitel dokusunun altında yer alan düz kasları etkilemek suretiyle onların tonusunun ayarlanmasına katkıda bulunabileceği bir varsayım olarak ileri sürülmüştür (107). Solunum yollarında epitel tabakasının harabiyeti bronşiyal hipersensitiviteye neden olmak suretiyle astım oluşmasının kolaylaşmasına katkıda bulunabilir. Aynı cisim veya cisimlerin duyarlı hale getirilmiş kobaylarda ovalbumin kasılmalarını modüle ettikleri saptanmıştır (37). Kobay izole trakeasının epitel dokusunda EpDRF üretiminin ortam ısısına bağımlı olduğu ve salıverilen EpDRF'nin Na⁺/K⁺ pompasını stimule ettiği saptanmıştır (65).

Nitratlar, nitritler ve nitrozo bileşiklerinin damar düz kasında gevşetici etkilerini sGMP oluşumunu artırmak suretiyle geliştiği düşünülmektedir (31). Organik nitratlar, nitritler ve nitrozo bileşikleri lipofilik maddelerdir ve muhtemelen hücre içinde nitrik okside dönüşürler. Metilen mavisi hücre membranından geçebilir. Methemoglobin ise hücre içine geçemez ve

bu nedenle muhtemelen yukarıda adı geçen maddelerin koroner arter şeritlerinde gevşetici etkilerini metilen mavisinin aksine inhibe edemez (44).

Tavşan aorta halkalarında yapılan bir çalışmada (69) izoprenalinin neden olduğu gevşemenin sıklık GMP içeriğinde bir değişikliğe neden olmadığı ve bu gevşetici aktivitelerin metilen mavisinden anlamlı bir şekilde etkilenmediği saptanmıştır. İzole kobay trakea dokusunda ise nikorandil ve sodyum mitroprussiyatin gevşetici etkilerini metilen mavisini antagonize etmiş; aminofilinin gevşetici etkisini ise etkilememiştir (3). Mevcut bulgular, gevşetici aktivite üzerinde metilen mavisinin oldukça spesifik etkinliği olduğunu göstermektedir. Metilen mavisinin damar düz kasında kontraksiyondan sorumlu mekanizmaları doğrudan etkilemediği de gösterilmiştir (44). Bu cisim, asetilkolinle söz konusu dokuda oluşturulan kasılmayı güçlendirmiştir; bu etkiye sGMP düzeyindeki azalma eşlik etmiştir.

MATERYAL ve METOD

Çalışmamızda Adana ili ve çevresinden toplanan tatlı su kurbağaları kullanıldı. Dairevi mide kas şeritleri daha önce tarif edilen bir metoda (84) göre hazırlandı. Önce hayvanın başı kesildi ve bu işlemi medulla spinalisin ince uzun bir tel çubuk ile tahrip edilmesi izledi; daha sonra mide bir bütün olarak organa zarar verilmeden çıkarıldı ve küçük kurvatur boyunca kesilmek suretiyle yaklaşık olarak dikdörtgene benzeyen bir doku parçası haline getirildi. Dokuya dairevi kasların seyrine uygun bir kesi uygulandı ve böylece banyo ortamına asılmak üzere mukozalı ve mukozasız kas şeritleri elde edildi. Mukozasız preparatlar, dokudan mukoza tabakasını dikkatli bir biçimde ayırmak suretiyle hazırlandı. Elde edilen şeritlerin boyu takriben 15-20 mm ve eni ise 3-5 mm idi. Şeritler Ringer solüsyonu içeren (mM olarak NaCl 111.22, KCl 1.87, CaCl₂ 1.08, NaHCO₃ 2.38, NaH₂PO₄ 2H₂O 0.08 ve Glukoz 11.1) banyo ortamına asıldı. Banyonun ısısı 25 °C de sabit tutuldu ve ortama devamlı oksijen verildi. Preparatlara 0.5 g tansiyon uygulandı. Çalışmaların bir kısmında izotonik transduser (Ugo Basile- 7006) ve poligraf (Gemini- 7070) kullanıldı. Poligrafın hızı 0.05 mm/dakikaya ve duyarlılığı 4'e ayarlandı. Bazı çalışmalarda ise izotonik yazdırıcı kullanıldı, burada büyütme oranı X 8-10 idi ve cevaplar isli kağıt üzerine kaydedildi.

Deneylere başlamadan önce şeritler Ringer solüsyonu içerisinde 60 dakika inkübe edildi. Bundan sonra in vitro ortamda oluşan temel tonus 5 dakika süre ile kaydedildi. Müteakiben, preparatlar 0.05 µg/ml veya 0.1 µg/ml karbakol içeren fizyolojik solüsyon içine alındı ve fazik kasılmayı izleyen aktif tonus 60 dakika sürekli olarak poligraf veya kimograf durdurulmaksızın beyaz veya isli kağıt üzerine kaydedildi. Bu deneylerden elde edilen sonuçlar kontrol verileri olarak değerlendirildi.

Daha sonra çeşitli spazmolitiklerin veya spazmolitik tesir hasıl edebileceği düşünülen cisimlerin etkisini araştırmak için ayrı deney grupları oluşturuldu. Bu deneylerde, karbakol ile

hasıl edilen aktif tonus 20 dakika izlendikten sonra ortama, karbakol muvacehesinde spazmolitik madde ilavesi yapıldı. Spazmolitik ilaç için bu anın tercih edilmesinin nedeni, bu süreden sonra kontrol gruplarında önceden oluşan aktif tonusun deney sonuna kadar (60. dakika sonuna kadar) kararlı bir şekilde seyretmesi idi. Spazmolitikler karbakol içeren şişeler içerisine 4 farklı konsantrasyon teşkil edilecek şekilde ilave edildi. Dokuyu içeren ortama tedricen artan konsantrasyonlar halinde uygulandı; diğer bir deyişle kümülatif teknikle ilaç tatbiki yapıldı. Her konsantrasyonun aktif tonuste hasıl edebileceği değişmeyi gözlemlemek için şeritler spazmolitik maddenin o konsantrasyonu ile 10 dakika inkübe edildi; bu şekilde her deneyde konsantrasyonu gittikçe artan cismin total etkisi 40 dakika izlendi ve yine kontrol gruplarında olduğu gibi poligraf veya kimograf kağıdı üzerine kesintisiz kayıt yapıldı. Bazı deney gruplarında ise 20. dakikadan itibaren yıkamanın ve C vitaminin ortama ilavesinin muhtemel etkileri değerlendirildi.

Spazmolitik cisim kullanılsın veya kullanılmasın bütün deney gruplarında aktif tonusun kaydedildiği 60 dakikalık süre zarfında ortamda karbakol daima mevcuttu . Ortamın yıkanması üstten yıkama tekniği kullanılarak yapıldı; böylece şeritlerin havaya maruz kalmasının hasıl edebileceği sonuçlar bertaraf edildi.

Deneylerde spazm yapıcı olarak karbakol (0.05 $\mu\text{g/ml}$ ve 0.1 $\mu\text{g/ml}$) ve spazmolitik olarak verapamil (10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M), nifedipin (10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M), izoprenalin (10^{-8} , 10^{-8} , 10^{-7} ve 10^{-8} M), kinakrin (10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-8} ve 10^{-4} M), trifluoperazin (10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M), papaverin (10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-5} ve 10^{-4} M) ve metilen mavisi (10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M), kullanıldı.

Deneylerde uygulanan bütün ilaçlar Sigma firmasından sağlandı. Verapamil ve nifedipin asetonda, izoprenalin ise antioksidan olarak C vitamini içeren distile suda eritildi. Diğer maddelerin hazırlanması için distile su kullanıldı.

Karbakole bağlı kasılmalar kendi maksimumuna göre değerlendirildi ve ortalama \pm standart hata değerleri saptandı.

Mukozalı ve mukozasız kas şeritlerinin normal Ringer solusyonunda hasıl ettikleri ilk 5 dakikalık temel tonusun oluşturduğu hat boyunca uzatılan düz çizgi gevşemeyi değerlendirmek için bir ölçü olarak kullanıldı. Gevşetici cevap bu çizgiye ulaştığı zaman gevşeme % 100 olarak kabul edildi ve gevşetici etkinlikler buna göre değerlendirildi. Ayrıca gevşetici etkinin % 50'sini hasıl eden spazmolitik ilaç konsantrasyonu (IC₅₀) da Van Rossum (108) tekniği esas alınarak saptandı. Bu amaçla, spazmolitik maddenin her konsantrasyonunun hasıl ettiği % gevşeme, molar konsantrasyonun negatif logaritmasına karşı semi logaritmik kağıda kaydedildi. Burada her deney için aynı işlem tekrar edilmek suretiyle o ilaçla ilgili ortalama IC₅₀ değeri ve standart hatalar (±) saptandı. Grafikler "Harward Graphics" programı uygulanarak bilgisayarda çizildi. Sonuçların kontrol değerlerine göre mukayesesinde eşlendirilmesiz Student t testi kullanıldı. işlemler için aşağıdaki formüllere başvuruldu.

A-Grup ortalamasının hesaplanması (\bar{X}):

ΣX

$$\bar{X} = \frac{\Sigma X}{n}$$

X= Ölçümlerin mutlak değeri

n= deney sayısı

B- Standart hatanın saptanması (SH): "Casio fx 3600 scientific calculator" aracılığı ile elde edilen standart sapmadan (Sd) aşağıdaki formülle hesaplandı.

Sd

$$SH = \frac{Sd}{\sqrt{n}}$$

C- t değerlerinin hesaplanması:

$$\bar{M}_1 - \bar{M}_2$$

$$t = \frac{\bar{M}_1 - \bar{M}_2}{\sqrt{(SH_1)^2 + (SH_2)^2}}$$

$$\sqrt{(SH_1)^2 + (SH_2)^2}$$

Burada M_1 = Kontrol değerlerinin ortalaması

M_2 = Karşılaştırılmak istenen değer ortalaması

SH_1 = Kontrolün standart hatası

SH_2 = Karşılaştırılmak istenen değer ortalamasının standart hatası



BULGULAR**I- Karbakol ile yapılan kontrol deneyleri:**

Mukozalı mide dairesel kas şeritleri ve karbakol. Kurbağa midesi mukozalı dairesel kas şeritlerinde karbakol devamlı bir kasılmaya neden oldu. Karbakolun 0.05 µg/ml ve 0.1 µg/ml olmak üzere iki farklı konsantrasyonu kullanıldı. Mukozalı mide dairesel kas şeritleri normal Ringer solüsyonunda 60 dakika inkübe edildikten sonra temel tonus (base-line) 5 dakika süre ile kaydedildi; daha sonra mukozalı şeritler 0.05 µg/ml veya 0.1 µg/ml karbakol içeren Ringer solüsyonu ile muamele edildi ve bu solüsyon içinde gelişen cevaplar 60 dakika süre ile kesintisiz kaydedildi. Şeritlerde başlangıçta fazik ve bunu izleyen tonik komponentden oluşan iki fazlı kontraktür oluştu (Grafik 1, Trase 1A₁). Mukozalı şeritlerde 0.05 µg/ml karbakol ile hasıl olan kontraktürün fazik fazının çıkış açısı 81.2 ± 1.28 derece bulundu. Karbakolun 0.1 µg/ml konsantrasyonunda ise açı 82 ± 1.17 derece olarak saptandı. 0.05 µg/ml karbakollu ortamda kullanılan şerit sayısı 14 ve 0.1 µg/ml karbakollu ortamda şerit sayısı 16 idi.

Mukozasız mide dairesel kas şeritleri ve karbakol. Mukozası sıyrılarak hazırlanan kas şeritleri 0.05 µg/ml veya 0.1 µg/ml konsantrasyonlarda karbakol solüsyonu ile muamele edildi. Bu amaçla mukozasız şeritler önce normal Ringerli ortamda 60 dakika inkübe edildikten sonra temel tonus 5 dakika süre ile kaydedildi. Sonra şeritler 0.05 µg/ml veya 0.1 µg/ml karbakol içeren Ringer solüsyonuna alındı. Mukozasız şeritler, karbakol içeren ortamda fazik kasılma ve bunu izleyen ve süreklilik gösteren tonik kasılma şeklinde cevap hasıl etti (Grafik 2, Trase 1A₂). Mukozasız şeritlerin 0.05 µg/ml ve 0.1 µg/ml karbakollu ortamda hasıl ettikleri fazik fazın çıkış açısı değerleri sırasıyla 90.6 ± 0.33 ve 90.13 ± 0.81 bulundu. Bulunan bu değerlere göre mukozasız şeritlerin karbakol kontraktürünün fazik fazının çıkış

açısı mukozalı şeritlerin fazik fazının çıkış açısına göre istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde farklılık gösterdi ($p < 0.001$); diğer bir deyişle mukozasız şeritlerde mukozalı şeritlere göre karbakol kontraktürünün fazik fazının çıkış açısı daha dik bir şekilde gelişti. Bu durum mukozasız şeritlerde fazik fazın daha hızlı oluştuğunu gösteriyordu (Grafik 3). 0.05 $\mu\text{g/ml}$ karbakollu ortamda uygulanan deneylerde 12 şerit ve 0.1 $\mu\text{g/ml}$ karbakol için yapılan deneylerde ise 15 şerit kullanıldı.

II- Spazmolitik cisimler tarafından hasıl edilen cevapların değerlendirilmesi:

Mukozalı mide dairevi kas şeritleri ve verapamil. Mukozalı dairevi mide düz kas şeritlerinde 0.05 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda karbakol ile elde edilen kontraktürün tonik fazı üzerinde verapamilin etkisi incelendi. Bu amaçla 0.05 $\mu\text{g/ml}$ karbakol ile kastırılan şeritler 20. dakikadan itibaren 10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M konsantrasyonlarda verapamil kümülatif olarak ortama ilave edildi. Her dozla 10'ar dakika muamele edilen şeritlerde doza bağımlı olarak gittikçe artış gösteren gevşetici etkiler oluştu (Grafik 4A₁). 0.05 $\mu\text{g/ml}$ karbakollu ortamda mukozalı şeritler ile oluşan verapamil ile ilgili IC₅₀ değeri 5.77 ± 0.86 idi. Deneylerde 10 şerit kullanıldı. Aynı düz kas preparatında karbakolün 0.1 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonu ile elde edilen kontraktürün tonik fazı üzerinde verapamilin spazmolitik etkilerine bakıldı. 10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M konsantrasyonlarda verapamilin sırası ile ortama ilaveleri şeritleri doza bağımlı bir şekilde gevşetti (Grafik 4A₂, Trase 2A₁). 0.1 $\mu\text{g/ml}$ karbakollu ortamda bulunan mukozalı düz kas şeritlerinde verapamil ile elde IC₅₀ değerleri 5.51 ± 0.82 idi. Deneylerde 12 şerit kullanıldı.

Mukozasız mide dairevi kas şeritleri ve verapamil. Bu grupta kurbağa midesi dairevi düz kas şeritlerinden mukozası ayrılarak hazırlanan mukozasız preparatlar kullanıldı. Mukozasız şeritlerde 0.05 $\mu\text{g/ml}$ karbakol ile elde edilen kontraktür şeklinde cevaplar

üzerinde verapamilin etkilerine bakıldı. 10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M kümülatif dozlarda kullanılan verapamil tonik kontraktürler üzerinde doza bağımlı olarak sürekli bir artış gösteren gevşeme hasıl etti (Grafik 5A₁). Mukozasız şeritlerde verapamilli ortamda IC₅₀ değeri 5.52 ± 0.52 idi. Deneylerde 13 şerit kullanıldı. Mukozasız şeritler üzerinde 0.1 µg/ml karbakol kullanılarak elde edilen kontraktürün tonik fazı üzerinde verapamilin spazmolitik etkisi değerlendirildi. Verapamil 10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M dozlarda uygulandı ve doza bağımlı olarak artan gevşetici etki hasıl etti (Grafik 5A₂, Trase 2A₂). IC₅₀ değeri 5.78 ± 0.68 bulundu. Deneylerde 11 şerit kullanıldı.

Mukozalı mide dairevi kas şeritleri ve nifedipin. Mukozalı mide kas preparatında karbakol kontraktürü üzerinde nifedipinin spazmolitik etkisi incelendi. Bu amaçla 0.05 µg/ml karbakol ile kasılan şeritler 10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M konsantrasyonda nifedipin içeren Ringer solusyonu ile kümülatif tarzda muamale edildi. Doza bağımlı bir gevşeme elde edildi (Grafik 6A₁). Saptanan IC₅₀ değeri 5.91 ± 0.33 idi. Deneylerde 12 şerit kullanıldı. 0.1 µg/ml karbakol konsantrasyonunun kullanıldığı mukozalı mide kas şeritlerinde 10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M konsantrasyonda nifedipin aynı şekilde spazmolitik etkiler hasıl etti (Grafik 6A₂, Trase 3A₁). Bulunan IC₅₀ değeri 5.76 ± 0.52 idi. Deneylerde 12 şerit kullanıldı.

Mukozasız mide dairevi kas şeritleri ve nifedipin. 0.05 µg/ml karbakol ile mukozasız kas şeritlerinde hasıl edilen kontraktür üzerinde nifedipinin etkilerine bakıldı. 10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M konsantrasyonlar doza bağımlı gevşemeler hasıl etti (Grafik 7A₁). 0.05 µg/ml karbakol kullanılarak oluşturulan tonik kasılmalarda nifedipinin IC₅₀ 6.20 ± 0.29 olarak kaydedildi. Deneylerde 10 şerit kullanıldı. 0.1 µg/ml karbakol konsantrasyonları kullanılan mukozasız düz kas şeritlerinde 10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M dozlarda nifedipin ilavesi doza bağımlı artış gösteren gevşemeler oluşturdu (Grafik 7A₂, Trase 3A₂). Bulunan

IC₅₀ değeri 6.10 ± 0.23 idi. Deneyleerde 10 şerit kullanıldı.

Mukozalı mide dairevi kas şeritleri ve izoprenalin. Mukozalı kas şeritlerinde 0.05 µg/ml karbakol ile oluşturulan karbakol kontraktürünün tonik fazı üzerinde izoprenalini spazmolitik etkileri incelendi. 10⁻⁹, 10⁻⁸, 10⁻⁷ ve 10⁻⁶ M konsantrasyonda kümülatif olarak uygulanan izoprenalin doza bağımlı gevşemeler hasıl etti (Grafik 8A₁). izoprenalinin IC₅₀ değeri 7.95 ± 0.21 olarak bulundu. Kullanılan şerit sayısı 10 idi. Mukozalı mide kas preparatında 0.1 µg/ml karbakolun kullanıldığı şeritlerde 10⁻⁹, 10⁻⁸, 10⁻⁷ ve 10⁻⁶ M dozlarda kümülatif olarak uygulanan izoprenalin aynı şekilde tonik faz üzerinde gevşetici cevaplar oluşturdu (Grafik 8A₂, Trase 4A₁). izoprenalinin IC₅₀ değeri 6.82 ± 0.51 olarak bulundu. Kullanıl şerit sayısı 11 idi.

Mukozasız mide dairevi kas şeritleri ve izoprenalin. 0.05 µg/ml karbakol ile mukozasız mide kas şeritlerinde oluşan kontraktürün tonik fazı üzerinde izoprenalinin 10⁻⁹, 10⁻⁸, 10⁻⁷ ve 10⁻⁶ M konsantrasyonlarda etkileri incelendi. izoprenalin doza bağımlı gevşetici etkiler hasıl etti (Grafik 9A₁). Mukozasız kas şeritlerinde izoprenalinin IC₅₀ değeri 7.11 ± 0.30 olarak bulundu. Kullanılan şerit sayısı 11 idi. 0.1 µg/ml karbakol ile oluşturulan kontraktürün tonik fazı üzerinde izoprenalinin etkileri aynı dozlarda (10⁻⁹, 10⁻⁸, 10⁻⁷ ve 10⁻⁶ M) kümülatif ilaveler yapılmak suretiyle incelendi. Doza bağımlı olarak gelişen gevşetici etkiler müşahede edildi (Grafik 9A₂, Trase 4A₂). Bulunan IC₅₀ değeri 7.85 ± 0.35 idi. Deneyleerde 12 şerit kullanıldı.

Mukozalı mide dairevi kas şeritleri ve kinakrin. Mukozalı kas şeritlerinin 0.05 µg/ml konsantrasyonda karbakol muamelesi sonucu oluşan kontraktür üzerinde kinakrinin etkileri araştırıldı. Bu amaçla 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁵ ve 10⁻⁴ M konsantrasyonlarda kümülatif olarak uygulanan kinakrin kontraktür üzerinde doza bağımlı olarak gelişen gevşemeler oluşturdu (Grafik

10A₁). IC₅₀ değeri 5.24 ± 0.31 idi. Deneylerde 10 şerit kullanıldı. 0.1 µg/ml karbakol konsantrasyonu ile oluşturulan kontraktür üzerinde kinakrinin etkileri araştırıldı. Bu amaçla 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁵ ve 10⁻⁴ M konsantrasyonlarda kinakrin uygulandı. Doza bağımlı gevşeme şeklinde cevaplar hasıl oldu (Grafik 10A₂, Trase 5A₁). Saptanan IC₅₀ değeri 4.59 ± 1.05 idi. Deneylerde 10 şerit kullanıldı.

Mukozasız mide dairevi kas şeritleri ve kinakrin. Bu grupta mukozasız mide kas şeritleri kullanılarak 0.05 µg/ml karbakol ile elde edilen kontraktür üzerinde kinakrinin etkileri incelendi. 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁵ ve 10⁻⁴ M konsantrasyonlarda uygulanan kinakrin doza bağımlı olarak gelişen gevşemeler hasıl etti (Grafik 11A₁). Kinakrinin saptanan IC₅₀ değeri 5.34 ± 0.31 idi. Deneylerde 10 şerit kullanıldı. 0.1 µg/ml karbakol kullanılarak hasıl edilen kontraktür üzerinde aynı cismin etkisi değerlendirildi. 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁵ ve 10⁻⁴ M konsantrasyonlarda kullanılan kinakrin doza bağımlı olarak gelişen gevşemeler hasıl etti (Grafik 11A₂, Trase 5A₂). Mukozasız kaslarda 0.1 µg/ml karbakollu ortamda kinakrin için saptanan IC₅₀ değeri 4.88 ± 0.24 idi. Deneylerde 12 şerit kullanıldı.

Mukozalı mide dairevi kas şeritleri ve trifluoperazin. Mukozalı şeritler üzerinde 0.05 µg/ml karbakollu ortamda oluşturulan kontraktür üzerinde trifluoperazinin etkileri incelendi. 10⁻⁷, 10⁻⁸, 5x10⁻⁸ ve 10⁻⁵ M konsantrasyonlarda uygulanan trifluoperazin doza bağımlı olarak gelişen gevşemeler hasıl etti (Grafik 12A₁). Saptanan IC₅₀ değeri 5.80 ± 0.79 idi. Deneylerde 11 şerit kullanıldı. 0.1 µg/ml karbakol kullanılarak hasıl edilen kontraktür üzerinde trifluoperazinin gevşetici etkisi araştırıldı. 10⁻⁷, 10⁻⁸, 5x10⁻⁸ ve 10⁻⁵ M konsantrasyonlarda tatbik edilen trifluoperazin doza bağımlı olarak gelişen gevşemeler oluşturdu (Grafik 12A₂, Trase 6A₁). Mukozalı kas preparatlarında 0.1 µg/ml karbakollu ortamda trifluoperazin için tespit edilen IC₅₀ değeri 5.88 ± 0.37 idi.

Deneylerde 12 şerit kullanıldı.

Mukozasız mide dairevi kas şeritleri ve trifluoperazin. Mukozasız düz kas şeritlerinde 0.05 µg/ml konsantrasyonlarda karbakol ile elde edilen kontraktür üzerinde trifluoperazinin etkisi araştırıldı. 10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M konsantrasyonlarda tatbik edilen trifluoperazin doza bağımlı bir gevşeme hasıl etti (Grafik 13A₁). Trifluoperazinin 0.05 µ/ml karbakollu ortamda saptanan IC₅₀ değeri 5.87 ± 0.37 idi. Deneylerde 11 şerit kullanıldı. Karbakolun 0.1 µg/ml konsantrasyonu kullanılarak oluşturulan kontraktür üzerinde trifluoperazinin etkisi incelendi. 10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M konsantrasyonlarda uygulanan trifluoperazin doza bağımlı olarak gelişen gevşetici etkiler oluşturdu (Grafik 13A₂, Trase 6A₂). Trifluoperazinin IC₅₀ değeri 5.41 ± 0.92 olarak saptandı. Deneylerde 11 şerit kullanıldı.

Mukozalı mide dairevi kas şeritleri ve papaverin. Mukozalı mide kas şeritlerinde 0.05 µg/ml karbakol kullanılarak kontraktür oluşturuldu ve papaverinin etkileri araştırıldı. 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-5} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarda uygulanan papaverin doza bağımlı olarak gelişen gevşemeler hasıl etti (Grafik 14A₁). Mukozalı kas şeritleri kullanılarak 0.05 µg/ml karbakollu ortamda papaverin için saptanan IC₅₀ değeri 5.53 ± 1.14 idi. Deneylerde 12 şerit kullanıldı. Mukozalı kas şeritlerinde karbakolun 0.1 µg/ml konsantrasyonu kullanılarak elde edilen kontraktür üzerinde papaverinin etkisi araştırıldı. Aynı konsantrasyonlarda (10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-5} ve 10^{-4} M) uygulanan papaverin gevşeme şeklinde cevaplar hasıl etti ve gevşemeler doza bağımlı gelişme gösterdi (Grafik 14A₂, Trase 7A₁). Papaverinin IC₅₀ değeri 5.97 ± 0.3 olarak bulundu. Deneylerde 11 şerit kullanıldı.

Mukozasız mide dairevi kas şeritleri ve papaverin. Mukozasız kas şeritleri 0.05 µg/ml konsantrasyonda karbakol ile muameleden sonra papaverinin etkileri incelendi. Ortama 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-5} ve

10⁻⁴ M konsantrasyonlarda papaverin ilaveleri yapıldı ve doza bağımlı olarak gelişen gevşetici etkiler oluştu (Grafik 15A₁). Papaverin için saptanan IC₅₀ değeri 5.72 ± 0.47 idi. Deneylerde 10 şerit kullanıldı. Mukozasız düz kas şeritlerinde karbakolun 0.1 µg/ml konsantrasyonu kullanılarak oluşturulan kontraktür üzerinde 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁵ ve 10⁻⁴ M konsantrasyonlarda papaverin doza bağımlı gevşemeler hasıl etti (Grafik 15A₂, Trase 7A₂). Mukozasız preparatlarda 0.1 µg/ml karbakollu ortamda papaverinin IC₅₀ değeri 5.61 ± 0.56 olarak bulundu. Deneylerde 12 şerit kullanıldı.

Mukozalı mide dairevi kas şeritleri ve metilen mavisi. Mukozalı şeritler 0.05 µg/ml karbakolun hasıl ettiği kontraktür üzerinde metilen mavisinin spazmolitik etkileri incelendi. 10⁻⁷, 10⁻⁸, 5x10⁻⁸ ve 10⁻⁵ M konsantrasyonlarda kümülatif olarak uygulanan metilen mavisi doza bağımlı bir şekilde gevşetici etki hasıl etti (Grafik 16A₁). IC₅₀ değeri 5.31 ± 1.1 olarak bulundu. Kullanılan şerit sayısı 11 idi. Karbakolun 0.1 µg/ml konsantrasyonu kullanılarak elde edilen kontraktür üzerinde metilen mavisinin etkilerini araştırmak için yine aynı dozlar (10⁻⁷, 10⁻⁸, 5x10⁻⁸ ve 10⁻⁵ M) uygulandı. Gevşeme şeklinde cevaplar hasıl oldu ve etkileri doza bağımlı gelişme gösterdi (Grafik 16A₂, Trase 8A₁). Metilen mavisi için 0.1 µg/ml karbakollu ortamda saptanan IC₅₀ değeri 5.35 ± 0.85 idi. Deneylerde 10 şerit kullanıldı.

Mukozasız mide dairevi kas şeritleri ve metilen mavisi. 0.05 µg/ml karbakol ile mukozasız şeritlerde oluşturulan kontraktür üzerinde metilen mavisinin 10⁻⁷, 10⁻⁸, 5x10⁻⁸ ve 10⁻⁵ M konsantrasyonlarının etkileri incelendi. Doza bağımlı gevşemeler hasıl oldu (Grafik 17A₁). IC₅₀ değeri 5.49 ± 1.05 olarak saptandı. Deneylerde 10 şerit kullanıldı. 0.1 µg/ml karbakol ile oluşturulan kontraktür üzerinde metilen mavisinin etkileri araştırıldı. 10⁻⁷, 10⁻⁸, 5x10⁻⁸ ve 10⁻⁵ M konsantrasyonlarda uygulanan metilen mavisi doza bağımlı gevşemeler husule getirdi

(Grafik 17Az, Trase 8Az). Bulunan IC₅₀ değeri 5.30 ± 1.18 idi. Deneyleerde 10 şerit kullanıldı.

Mukozalı ve mukozasız kas şeritlerinde 0.05 µg/ml ve 0.1 µg/ml konsantrasyonlarda karbakol ile oluşturulan kontraktür üzerinde yıkamanın muhtemel mekanik etkileri araştırıldı. Kontraktür oluşturan şeritin bulunduğu ortam aynı konsantrasyonda karbakol içeren Ringer solüsyonuyla 20. dakikadan itibaren 10 dakikada bir 4 kez yıkama işleme yapıldı. Yıkamanın anlamlı bir etkisinin olmadığı saptandı. İzoprenalin maddesinin stok solüsyonu hazırlanırken ilaç solüsyonuna antioksidan olarak ilave edilen C vitamininin karbakol kontraktürleri üzerindeki etkileri de araştırıldı. Mukozalı ve mukozasız kas şeritleri üzerinde 0.05 µg/ml ve 0.1 µg/ml konsantrasyonlarda karbakol ile kontraktür oluşturduktan sonra 20 µg/ml C vitamini içeren solüsyonla 20. dakikadan itibaren 10'ar dakika ara ile 4 kez muamele edilerek bu cismin karbakol kontraktürleri üzerinde bir etkisinin olup olmadığı araştırıldı. C vitaminin ortamda bulunmasının anlamlı bir etkiye neden olmadığı saptandı.

TARTIŞMA

Kurbağa mide duvarı dairevi kas şeriti karbakol ile fazik ve tonik fazların belirgin bir şekilde oluştuğu ve sonuncu fazın sabit düzeyde devam ettiği kontraktür hasıl etmektedir.

Benzer tarzda karbakol kontraktürleri diğer deney hayvanların gastrointestinal sisteminin düz kaslarından hazırlanan şerit veya kas dokularında müşahede edilmiştir (15,63).

Kurbağa midesinde mukozanın kas tabakasından kolayca sıyrılabilmesi mukozasız kas şeritlerinin elde edilmesini de mümkün kılmıştır. Böylece mukozalı ve mukozasız şeritler hazırlanabilmiş ve bunların farmakolojik özellikleri mukayese edilebilmiştir. Mukozasız şeritlerde mukozalı şeritlere göre karbakol kontraktürünün fazik fazının çıkış açısı daha dik bir şekilde gelişmiş, diğer bir deyişle fazik faz daha hızlı oluşmuştur. Bu durum, mukoza bariyerinin kalkmış olması nedeniyle karbakolun biyofaza daha hızlı ve daha etkili bir şekilde ulaşmış olmasına bağlı olabilir.

Preparatın spazmolitik cisimleri inceleme açısından uygun bir model olup olmadığını değerlendirmek de ilginç olabilirdi; bu nedenle karbakol ile düzenli olarak hasıl edilen kontraktür üzerinde muhtelif spazm çözücü bileşiklerin etkisi araştırıldı. incelenen bütün spazmolitik bileşikler karbakol ile ön muameleye maruz bırakılan kurbağa midesi dairevi kas şeritlerinde belirgin gevşemeler hasıl ettiler.

Etkisi araştırılan spazm çözücü bileşikler arasında kalsiyum kanal blokörü olan verapamil ile mukozalı ve mukozasız şeritlerde doza bağımlı bir şekilde gevşetici bir etki oluştu. Verapamilin düz kaslarda voltaja bağımlı kalsiyum kanallarını inhibe ettiği bilinen bir husustur (7,27,76,82,105,111); diğer yandan bu maddenin antimuskarinik etkisi ve kalsiyum kanalları ile ilgili olmayan nonspesifik diğer etkileri de olabilir (47). Kurbağa midesi dairevi düz kas şeritlerinde hasıl olan spazmolitik etkinin bu komponentlerin hangisine bağlı olduğu veya bu

komponentlerinin katkı paylarının ne olduğu ayrıca araştırılması gereken bir husustur. Mukozalı ve mukozasız şeritlerde IC₅₀ değerleri birbirine yakın bulunmuştur; ancak doz-cevap ilişkisi belirli bir verapamil konsantrasyonunun üzerinde mukozasız şeritlerde daha dik seyir göstermiş ve kullanılan verapamil konsantrasyonları % 100 e yakın nihai gevşeme hasıl etmiştir. Bu durum verapamil konsantrasyonunun artırılmasının mukoza bariyeri olmayan prepapatta bir eşik değerden sonra biyofaza daha fazla geçişe ve dolayısıyla daha belirgin spazm çözücü etkisinin gelişmesine neden olabileceğini akla getirebilir.

Eğer mide epiteli tabakasında trakea epitelinde olduğu gibi bir gevşetici faktör yapımı sözkonusu olsa ve böyle bir cisim verapamil dahil çeşitli spazmolitik maddeler tarafından ortama salıverilse idi mukozalı şeritlerde spazmolitik etkinliğin daha belirgin olması beklenebilirdi; ancak beklenenin tersine mukozasız striplerde gevşetici etki belirli bir verapamil konsantrasyonundan sonra daha belirgin gelişmiştir. Ancak elde ettiğimiz bulgu mide epitelinde böyle bir faktörün yapılmadığının direkt kanıtı olamaz; trakea epitelinde yapılan bir araştırmada (34,45) olduğu gibi dolaysız bir biçimde mevcudiyetini gösteren veya olmadığını ortaya koyacak benzer deneysel yöntemlerinin uygulanmasına ihtiyaç vardır.

Diğer bir kalsiyum kanal blokörü olan nifedipin de mukozalı ve mukozasız şeritlerde doza bağımlı gevşemeler hasıl etmiştir. Mukozalı şeritlerde IC₅₀ değerleri mukozasız şeritlerin aynı değerlerine göre anlamlı bir farklılık göstermemiş, ancak doz-cevap ilişkisi belirli bir nifedipin konsantrasyonundan sonra daha dik seyretmiştir. Bu durum mukozasız şeritlerin nifedipine daha duyarlı olduğunu telkin edebilir. Nifedipinin kobay tenya kolisinde (73) ve kertenkele rektumunda (98) kasıcı cevapları anlamlı bir şekilde inhibe etmiştir. Bulgularımız literatür bulguları ile uyumlu bir görünüm içerisindedir.

Bir katekolamin cismi olan izoprenalin de verapamil gibi dairevi düz kas şeritlerinde doza bağımlı gevşemeler hasıl etmiştir. Mukozalı ve mukozasız şeritlerde bu etkilerin olduğu

müşahede edilmiştir. IC₅₀ değerleri, 0.1 µg/ml karbakol konsantrasyonun kullanıldığı mukozasız ve mukozalı şeritlerde elde edilen rakamlar mukayese edildiğinde istatistiksel bakımdan anlamlı olmamakla beraber mukozasız şeritte bulunan rakam daha büyüktür. izoprenalinin etkin bir biçimde düz kası gevşetmesi kurbağa midesinin düz kas yapısında beta reseptörlerin varlığını gösteren indirekt bir bulgudur. incelenen diğer düz kaslı gastrointestinal yapılarda (9,17,20,32,39,50,81) da söz konusu reseptörlerin mevcudiyetini telkin eden deliller elde edilmiştir. Preparatımızda civciv rektumunda olduğu gibi (61) alfa adrenerjik reseptörlerinde mevcut olması mümkündür.

Bir fosfolipaz A₂ inhibitörü olan kinakrin (12,53,87,99) kurbağa mide düz kas şeritinde mukozalı veya mukozasız osun belirgin gevşeme hasıl etmiştir. Bulunan IC₅₀ değerleri anlamlı olarak farklı değildir; ancak burada da doz-cevap ilişkisi belli bir kinakrin dozunun üstünde mukozasız şeritlerde daha dik seyir göstermiştir. Fosfolipaz C ve A₂, membran fosfoinozitin hidrolizini stimule etmek suretiyle sitoplazmada inozitol trifosfat düzeyini artırır; sonuncu bileşik endoplazmik retikulumdan sitoplazma içerisine kalsiyum salıverilmesini artırır ve netice olarak kontraksiyon mekanizması aktive edilir; eğer fosfolipaz enzimleri bloke edilirse fosfoinozitin hidroliz hızı azalacağı için kasılma mekanizması inhibe edilir. Fosfolipaz C yi inhibe eden bir madde olan NCDC tavşan aortasında serotoninle oluşturulan kontraktürün tonik komponentini inhibe etmiştir (79). Kinakrin kobay özofagus muskularis mukozasında doza bağımlı bir spazmolitik etki oluşturmuştur (50).

Kalmodulin antagonisti olarak bilinen trifluoperazin (42,67,88,90,111) de şeritlerde belirgin bir gevşetici etki hasıl etmiştir. Burada da birbirine yakın IC₅₀ değerleri saptanmıştır; ancak doz-cevap ilişkisi belirgin bir trifluoperazin konsantrasyonundan sonra mukozasız şeritlerde daha dik seyir göstermiştir. Kalmodulin kalsiyum muvacehesinde myozin hafif zincir kinazı aktive etmek suretiyle düz kas kasılmasını düzenlediği bilinen bir husustur (51). Kalmodulin antagonisti

olan trifluoperazin kalmödulinin kalsiyum bağlanması inhiye etmek suretiyle gevşeme oluşturabilir (50,111).

Papaverin, henüz mekanizması iyice anlaşılmayan bir mekanizma ile düz kasları gevşeten en eski spazmolitik cisimdir (22,54,55,74). Bu cismin hücre içi siklik AMP düzeyini yükseltmek suretiyle kalsiyum efluksunu artırarak düz kas gevşemesine neden olabileceği ileri sürülmüştür (19,36,43,55,68,103,104); ayrıca gevşetici etkisinin in vitro şartlarda dış ortam sodyum iyon konsantrasyonu da bağımlı olduğu saptanmıştır (103). Papaverinin potasyum depolarizasyonu ile uyarılmış kalsiyum apteyki ve efluksunu inhiye ettiği de kaydedilmiştir (43). Deneylerimizde papaverin, şeritleri doza bağımlı bir biçimde belirgin şekilde gevşetmiştir. Saptanan IC₅₀ değerleri mukozalı ve mukozasız şeritlerde birbirine yakın bulunmuştur; ayrıca doz-cevap ilişkisi de her iki tür şeritlerde birbirine benzer biçimde seyretmiştir. Sonuncu durum mukoza tabakasının papaverin tesirinin gelişmesini etkilemede önemli bir unsur olmadığını düşündürebilir.

Tavşan aortası gibi vasküler yapılarda gevşetici etkileri bloke eden metilen mavisini (69) ilginç olarak mukozalı ve mukozasız kurbağa dairevi kas şeritlerinde gevşetici etki hasıl etmiştir. IC₅₀ değerleri mukozalı ve mukozasız şeritlerde anlamlı fark göstermemiştir; ancak mukozasız şeritlerde doz-cevap ilişkisi belli bir konsantrasyondan sonra daha dik bir seyir göstermiştir. Metilen mavisinin gevşetici etkisi kobay özofagus muskuler mukozasından hazırlanan tüp şeklinde preparatlarda da saptanmıştır (50). Bu maddenin guanilat siklaz inhibitörü olduğu bilinen bir husustur (3,31,44,69,93,101). Bahis konusu enzim hücre içi siklik GMP düzeyini yükseltir; ancak metilen mavisinin hasıl ettiği gevşemenin bu nukleotidin hücre içi düzey değişikliğini yoksa membranda oluşan hiperpolarizasyonu bağılı olduğu ayrıca incelenmesi gereken bir konudur.

Sonuç olarak, bu çalışmada geliştirmiş olduğumuz farmakolojik model çeşitli etki mekanizmaları ile spazmolitik etkinlik hasıl ettiği bilinen muhtelif spazm çözücü bileşiklerin incelenmesine elverişli olduğu izlenimini vermektedir.

ÖZET

Çalışmamızda kurbağa mide kasından hazırlanan sirküler mukozalı ve mukozasız kas şeritlerinde 0.05 µg/ml ve 0.1 µg/ml karbakol ile oluşturulan kontraktür üzerinde çeşitli spazmolitik maddelerin etkileri incelendi. Bu amaçla spazmolitik madde olarak, verapamil (10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M), nifedipin (10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M), izoprenalin (10^{-8} , 10^{-8} , 10^{-7} ve 10^{-6} M), kinakrin (10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-5} ve 10^{-4} M), trifluoperazin (10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M), papaverin (10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-5} ve 10^{-4} M) ve metilen mavisi (10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} ve 10^{-5} M) kullanıldı. Kümülatif tarzda ortama uygulanan bütün bu spazmolitik maddeler karbakol kontraktürleri üzerinde doza bağımlı gevşeme hasıl ettiler.

Çalışmamızda gevşetici etkilerle ilgili IC_{50} değerleri tayin edildi ve diğer bazı veriler değerlendirildi.

SUMMARY

In this study, the effects of various spasmolytic drugs on the contractions induced by 0.05 $\mu\text{g/ml}$ and 0.1 $\mu\text{g/ml}$ carbachol in the circular strips of the isolated frog stomach were investigated.

For this purpose, verapamil (10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} and 10^{-5} M), nifedipine (10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} and 10^{-5} M), isoprenaline (10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-7} and 10^{-6} M), quinacrine (10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-5} and 10^{-4} M), trifluoperazine (10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} and 10^{-5} M), papaverine (10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-5} and 10^{-4} M) and methylene blue (10^{-7} , 10^{-8} , 5×10^{-8} and 10^{-5} M) were studied as spasmolytic drugs. These spasmolytic drugs produced the dose-dependent relaxations.

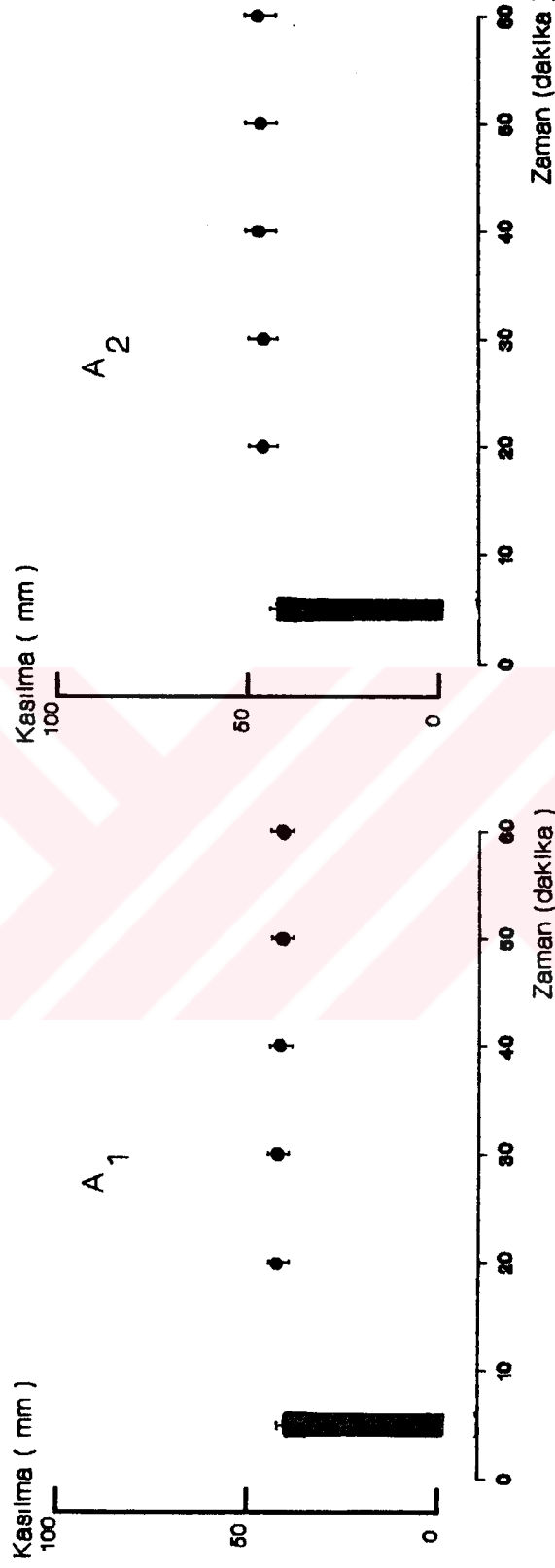
For the reevaluation of spasmolytic effects, the concentrations of drugs causing % 50 relaxation of the carbachol-induced tone (IC_{50}) and the % of the maximum relaxations were determined.

Kasılma (mm)

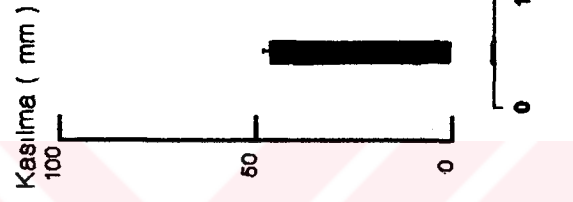
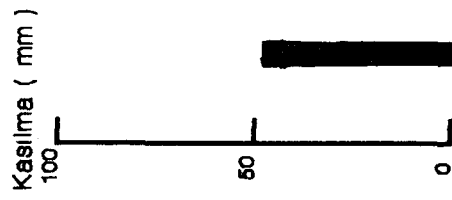
A₁

A₂

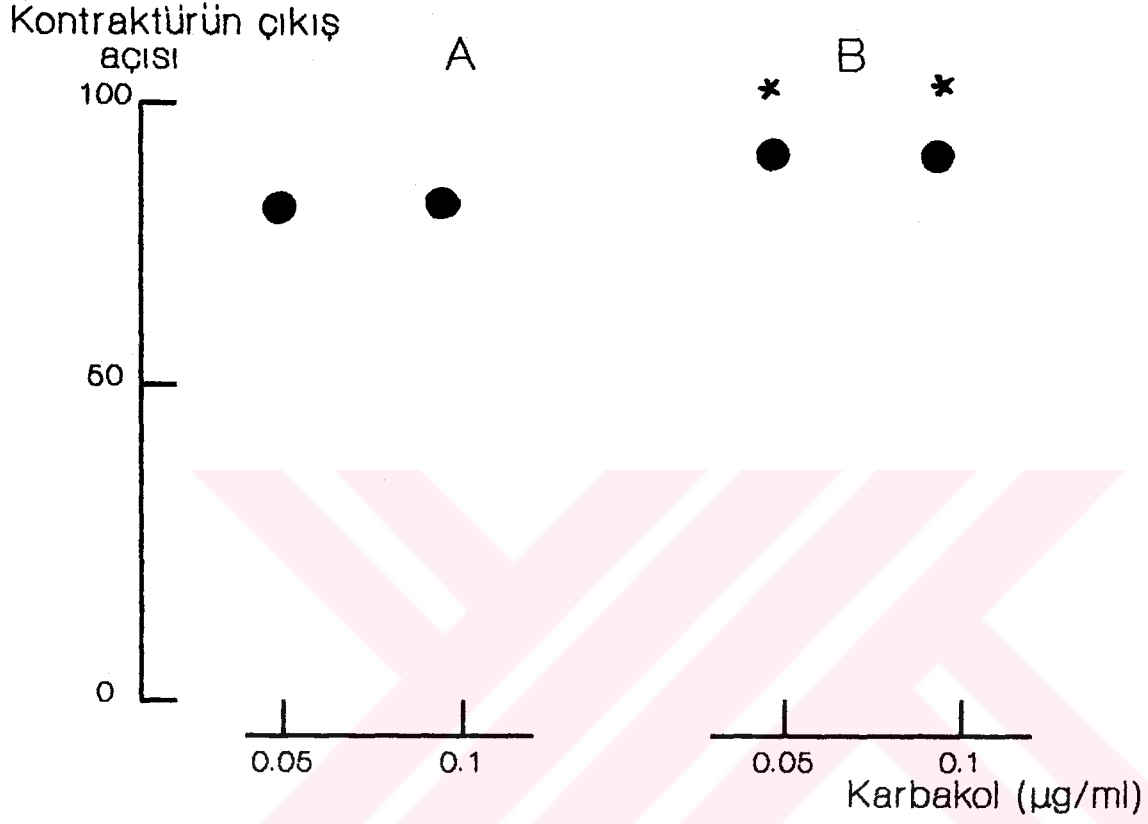
Kasılma (mm)



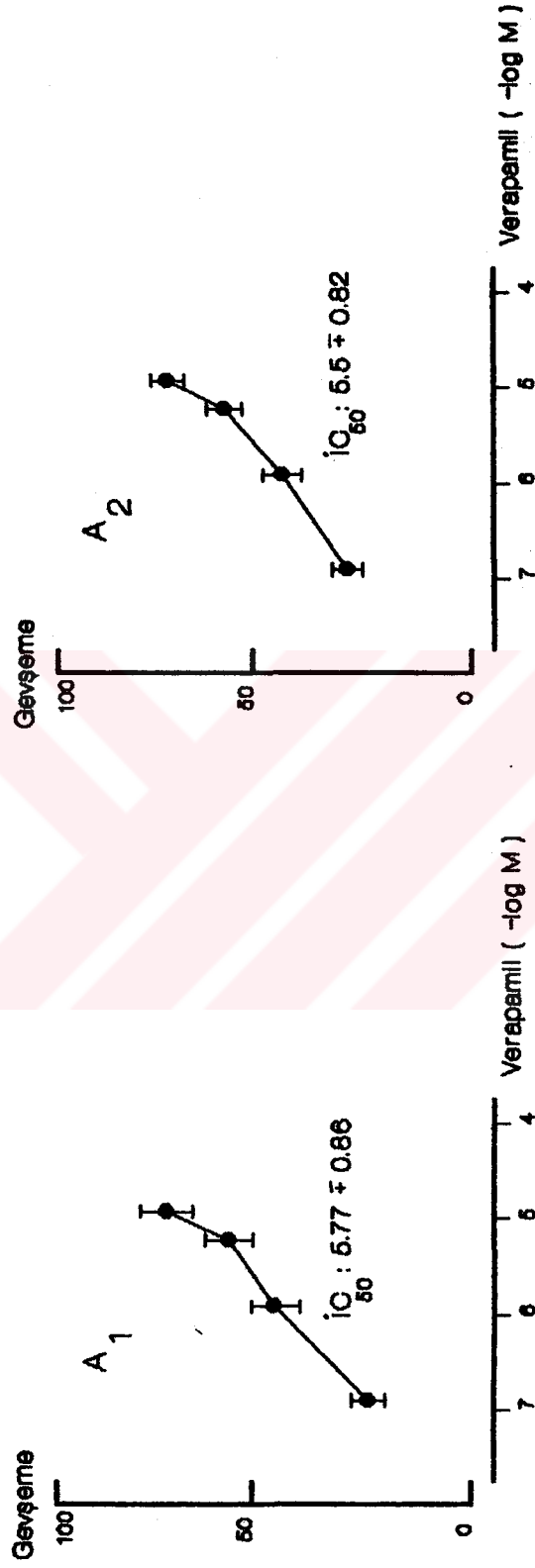
Grafik 1. KARBAKOL uygulanan izole kurbaga midesi dairevi mukozalı kas seritleri. A₁-0.05 µg/ml konsantrasyonda KARBAKOL ile oluşturulan kasılmalar. A₂-0.1 µg/ml konsantrasyonda KARBAKOL ile oluşturulan kasılmalar. İÇİ DOLU SÜTÜN İNİSİYAL FAZIK KASILMAYI, İÇİ DOLU NOKTALAR İSE BUNU İZLEYEN TONÜS GELİŞMESİNİ GÖSTERMEKTEDİR. Ortalama ± standart hata değerleri grafiklerde işaret edilmiştir.



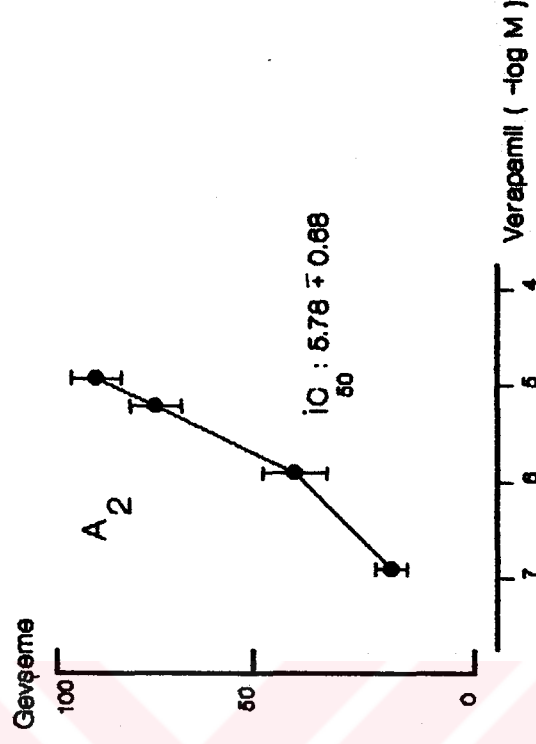
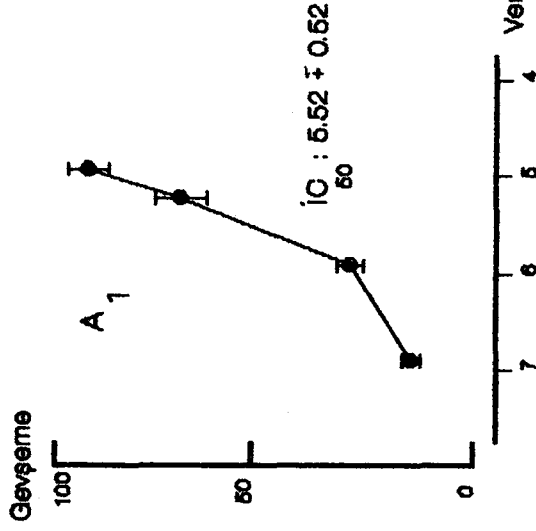
Grafik 2. Karbakol uygulanan izole kurbaga midesi dairevi mukozasız kas seritleri. A₁-0.05 µg/ml konsantrasyonda karbakol ile oluşturulan kasılmalar. A₂-0.1 µg/ml konsantrasyonda karbakol ile oluşturulan kasılmalar. İçi dolu sütun inisiyal fazik kasılmayı, içi dolu noktalar ise bunu izleyen tonüs gelişmesini göstermektedir. Ortalama + standart hata değerleri grafiklerde işaret edilmiştir.



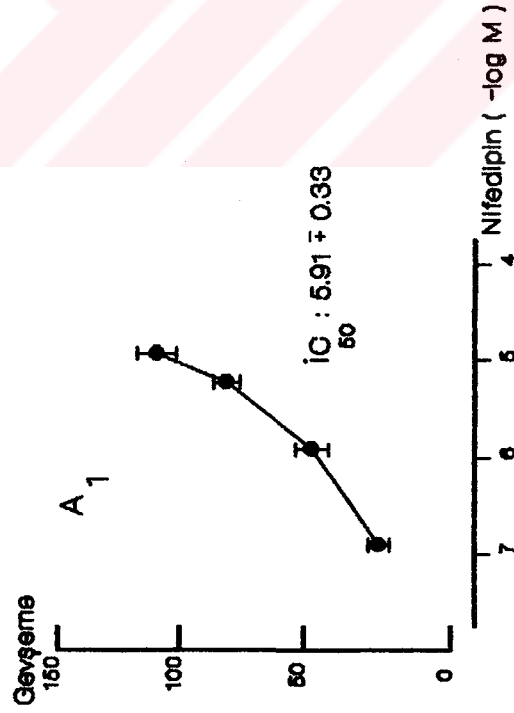
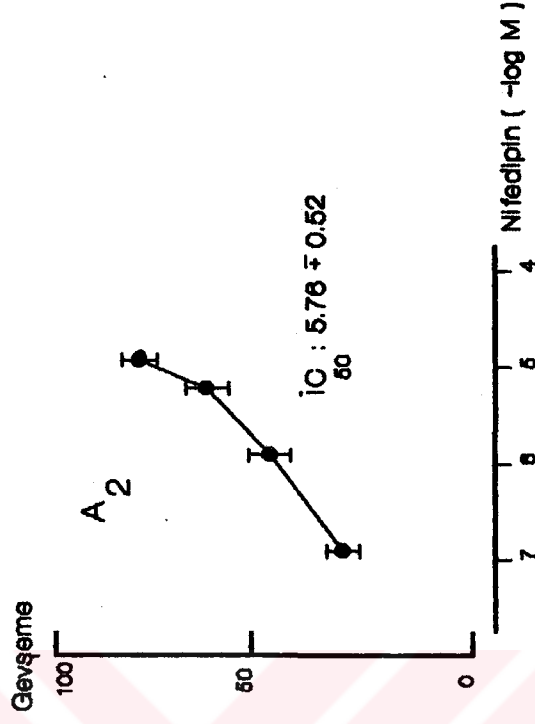
Grafik 3. A. izole kurbağa midesi dairevi mukozalı kas şeritlerinin 0.05 µg/ml ve 0.1 µg/ml karbakollu ortamda hasil ettikleri kontraktürün fazik fazının çıkış açısı. B. izole kurbağa midesi sirküler mukozasız kas şeritlerinin 0.05 µg/ml ve 0.1 µg/ml karbakollu ortamda hasil ettikleri kontraktürün fazik fazının çıkış açısı. Mukozasız şeritlerde çıkış açısı mukozalı şeritlerinkine göre istatistiksel açıdan anlamlı farklılık göstermiştir ($P^* < 0.001$).



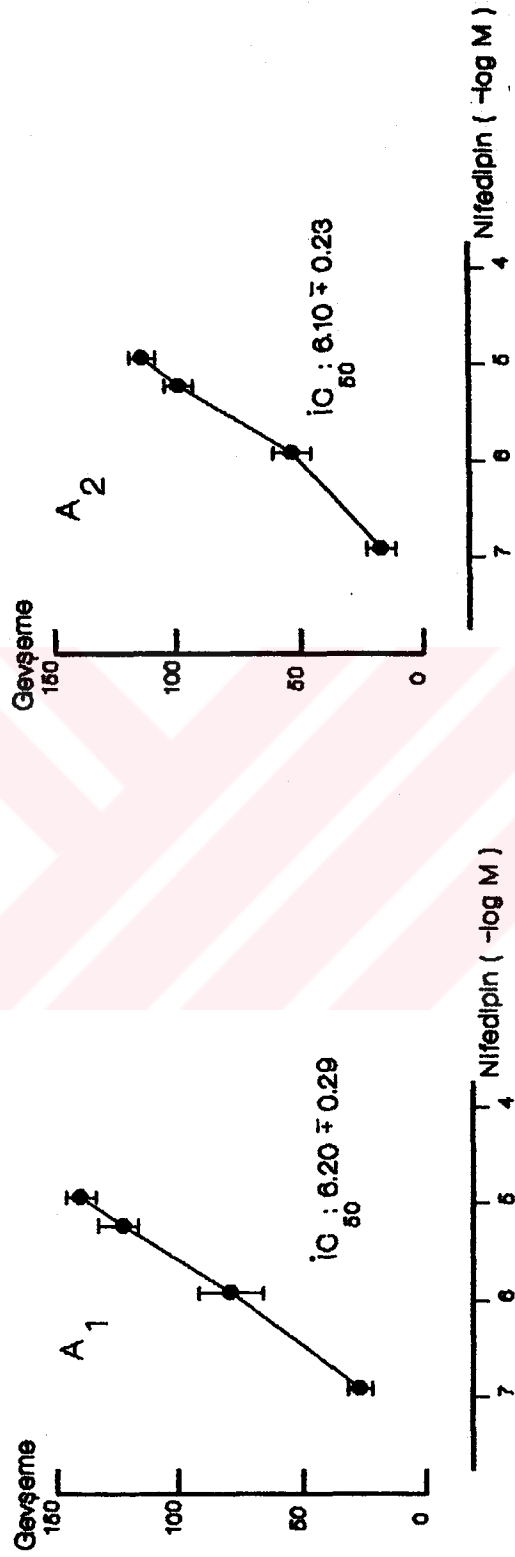
Grafik 4. 0.05 µg/ml (A_1) ve 0.1 µg/ml (A_2) karbakol ile kasılma oluşturan kurbağa midesi dairesi mukozalı kas seritlerinde verapamilin gevşetici etkileri ile ilgili doz-cevap eğrisi. Ordinata yüzde gevşeme işaret edilmiştir. İçi dolu her nokta ise ortalama \pm standart hata değerlerini göstermektedir.



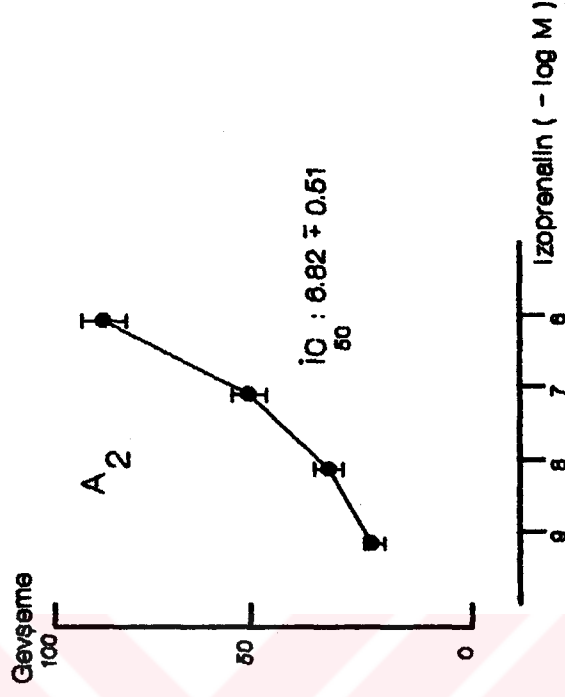
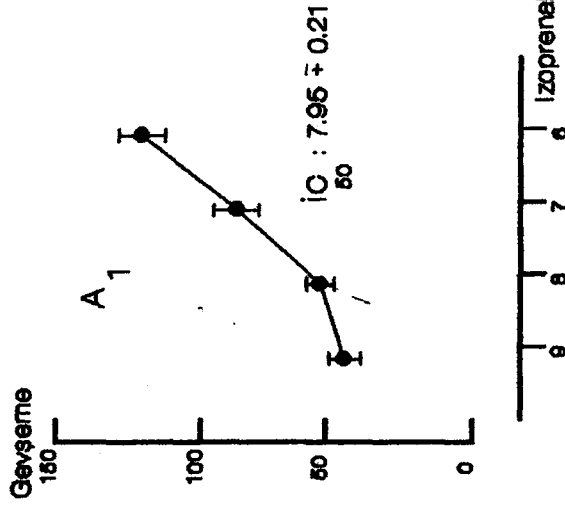
Grafik 5. 0.05 µg/ml (A₁) ve 0.1 µg/ml (A₂) karbakol ile kasılma oluşturulan kurbağa midesi dairesi dairesi mukozasız kas şeritlerinde verapamilin gevşetici etkileri ile ilgili doz-cevap eğrisi. Ordinatatta yüzde gevşeme işaret edilmiştir. İçi dolu her nokta ise ortalama ± standart hata değerlerini göstermektedir.



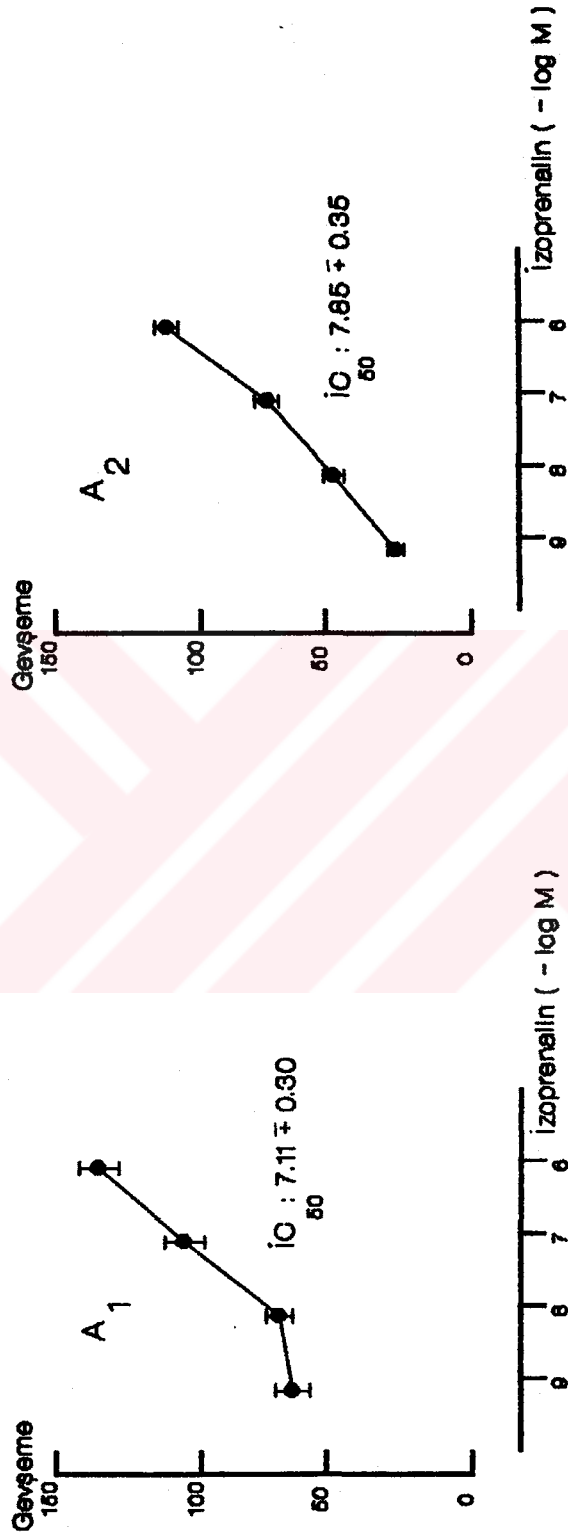
Grafik 6. 0.05 µg/ml (A_1) ve 0.1 µg/ml (A_2) karbakol ile kasılma oluşturulan kurbağa midesi dairesi dairevi mukozalı kas seritlerinde nifedipinin gevşetici etkileri ile ilgili doz-cevap eğrisi. Ordinata yüzde gevşeme işaret edilmiştir. İçi dolu her nokta ise ortalama \pm standart hata değerlerini göstermektedir.



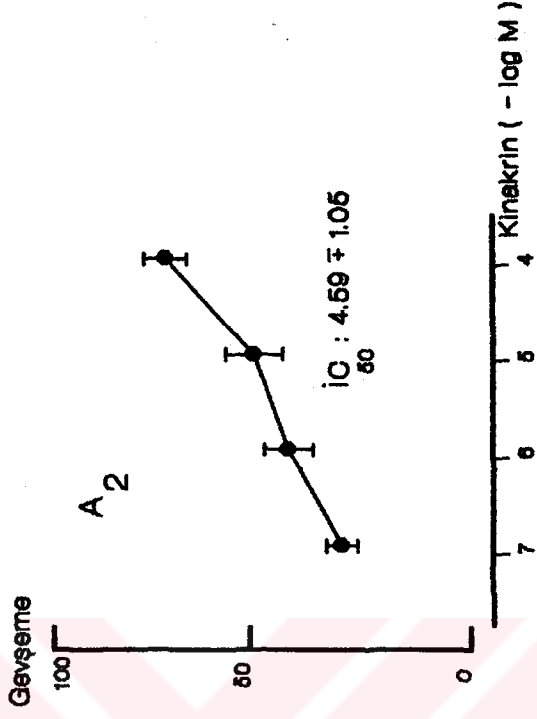
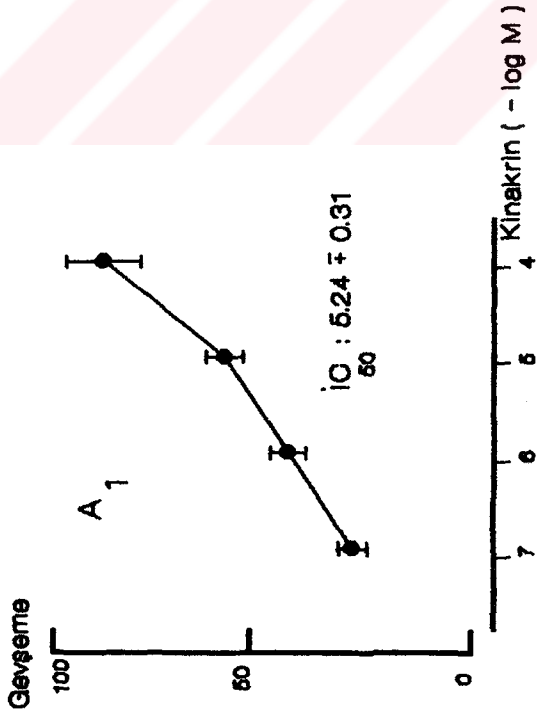
Brafik 7. 0.05 µg/ml (A₁) ve 0.1 µg/ml (A₂) karbakol ile kasılma oluşturulan kurbağa midesi dairesi mukozasız kas şeritlerinde nifedipinin gevşetici etkileri ile ilgili doz-cevap eğrisi. Ordinata yüzde gevşeme işaret edilmiştir. İçi dolu her nokta ise ortalama ± standart hata değerlerini göstermektedir.



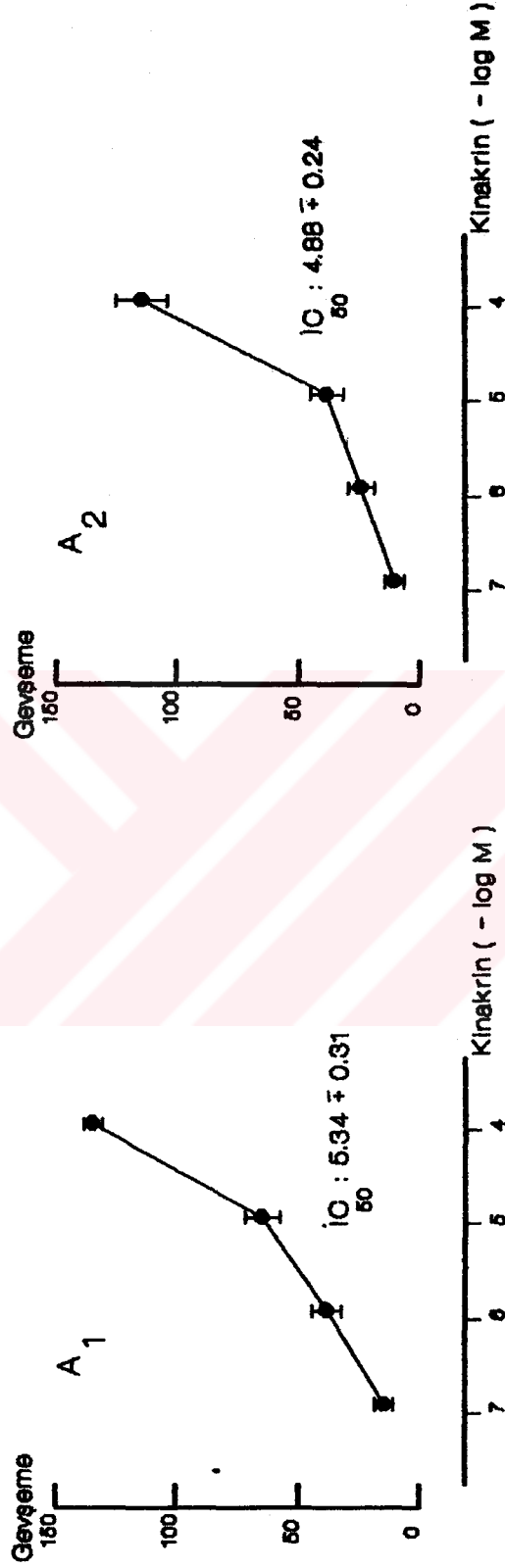
Grafik 8. 0.05 µg/ml (A₁) ve 0.1 µg/ml (A₂) karbakol ile kasılma oluşturulan kurbağa midesi dairesi dairesi mukozalı kas şeritlerinde izoprenalinin gevşetici etkileri ile ilgili doz-cevap eğrisi. Ordinata yüzde gevşeme işaret edilmiştir. İçi dolu her nokta ise ortalama ± standart hata değerlerini göstermektedir.



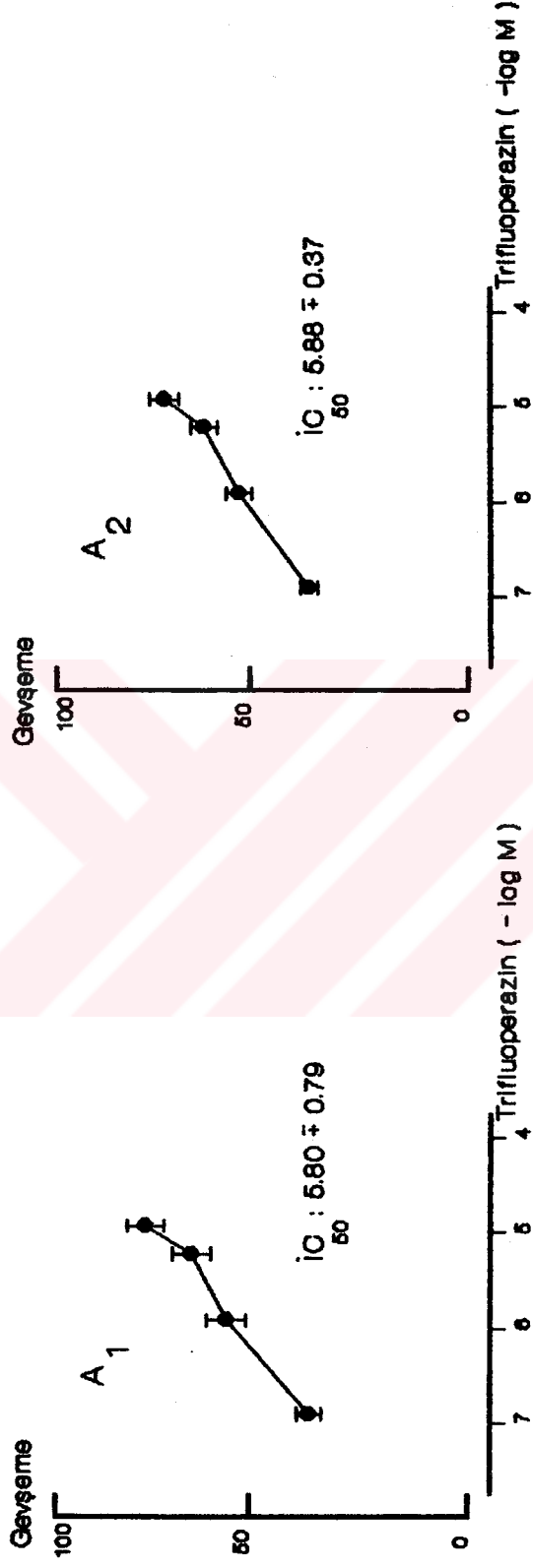
Grafik 9. 0.05 µg/ml (A₁) ve 0.1 µg/ml (A₂) karbakol ile kasılma oluşturulan kurbağa midesi dairesi mukozasız kas seritlerinde izoprenalinin gevşetici etkileri ile ilgili doz-cevap eğrisi. Ordinata yüzde gevşeme işaret edilmiştir. İçi dolu her nokta ise ortalama ± standart hata değerlerini göstermektedir.



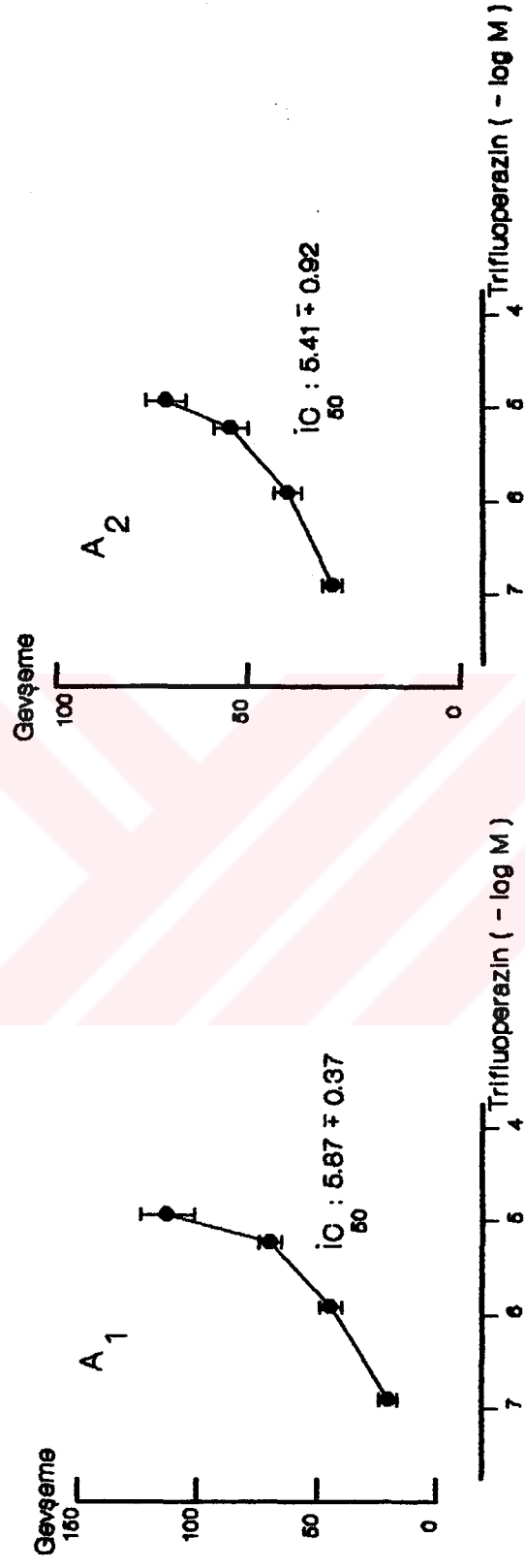
Brafik 10. 0.05 µg/ml (A₁) ve 0.1 µg/ml (A₂) karbakol ile kasılma oluşturulan kurbağa midesi dairesi mukozalı kas şeritlerinde kinakrinin gevşetici etkileri ile ilgili doz-cevap eğrisi. Ordinatatta yüzde gevşeme işaret edilmiştir. içi dolu her nokta ise ortalama ± standart hata değerlerini göstermektedir.



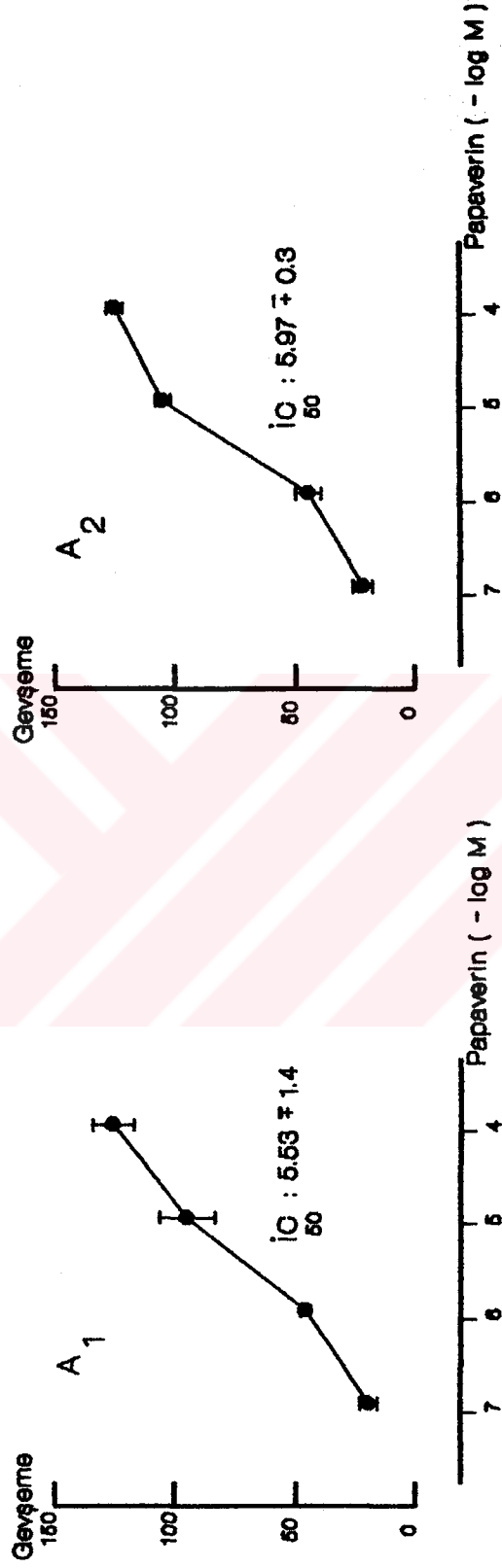
Grafik 11. 0.05 µg/ml (A₁) ve 0.1 µg/ml (A₂) karbakol ile kasılma oluşturulan kurbağa midesi dairesi mukozasız kas seritlerinde kinakrinin gevşetici etkileri ile ilgili doz-cevap eğrisi. Ordinata yüzde gevşeme işaret edilmiştir. İçi dolu her nokta ise ortalama ± standart hata değerlerini göstermektedir.



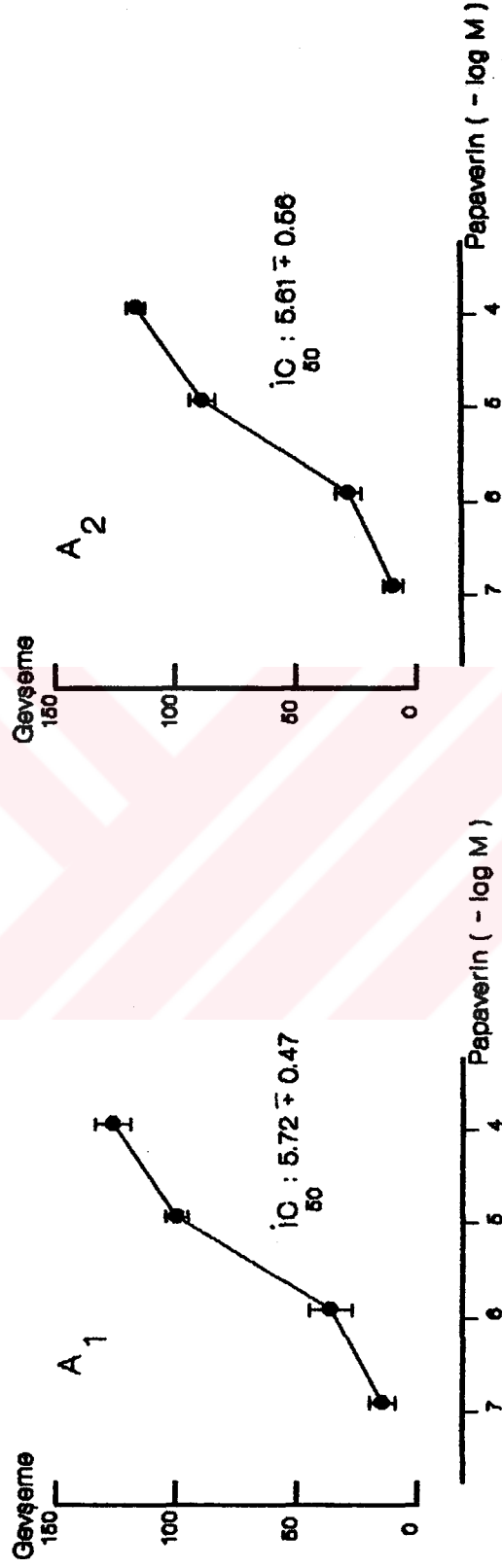
Grafik 12. 0.05 µg/ml (A₁) ve 0.1 µg/ml (A₂) karbakol ile kasılma oluşturulan kurbağa midesi dairesi mukozalı kas şeritlerinde trifluoperazinin gevşetici etkileri ile ilgili doz-cevap eğrisi. Ordinata yüzde gevşeme işaret edilmiştir. İci dolu her nokta ise ortalama ± standart hata değerlerini göstermektedir.



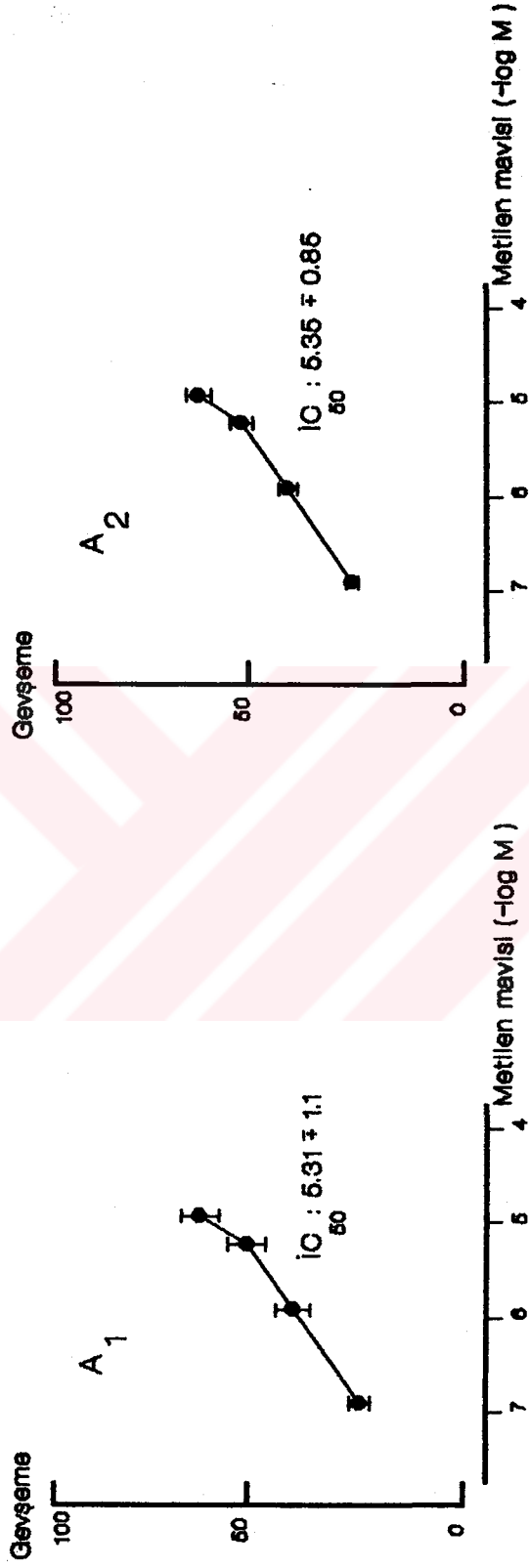
Grafik 13. 0.05 µg/ml (A₁) ve 0.1 µg/ml (A₂) karbakol ile kasılma oluşturulan kurbağa midesi dairevi mukozasız kas şeritlerinde trifluoperazinin gevşetici etkileri ile ilgili doz-cevap eğrisi. Ordinata yüzde gevşeme işaret edilmiştir. İci dolu her nokta ise ortalama ± standart hata değerlerini göstermektedir.



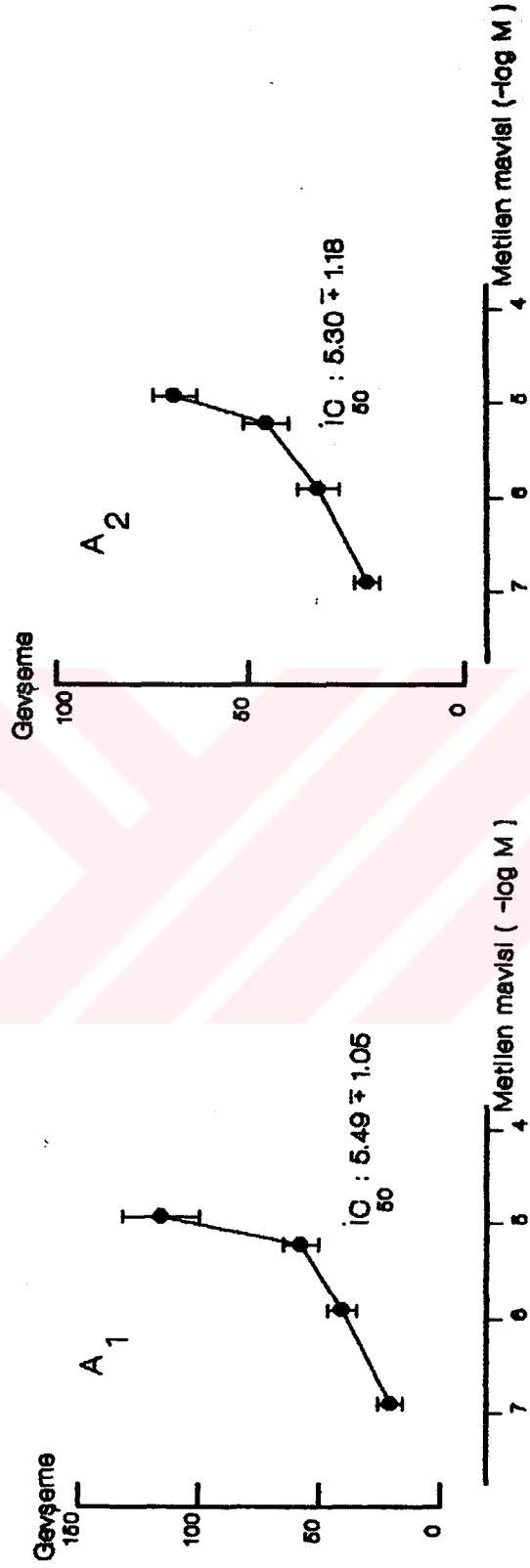
Grafik 14. 0.05 µg/ml (A₁) ve 0.1 µg/ml (A₂) karkakol ile kasılma oluşturulan kurbağa midesi dairesi mukozalı kas şeritlerinde papaverinin gevşetici etkileri ile ilgili doz-cevap eğrisi. Ordinatatta yüzde gevşeme işaret edilmiştir. İçi dolu her nokta ise ortalama ± standart hata değerlerini göstermektedir.



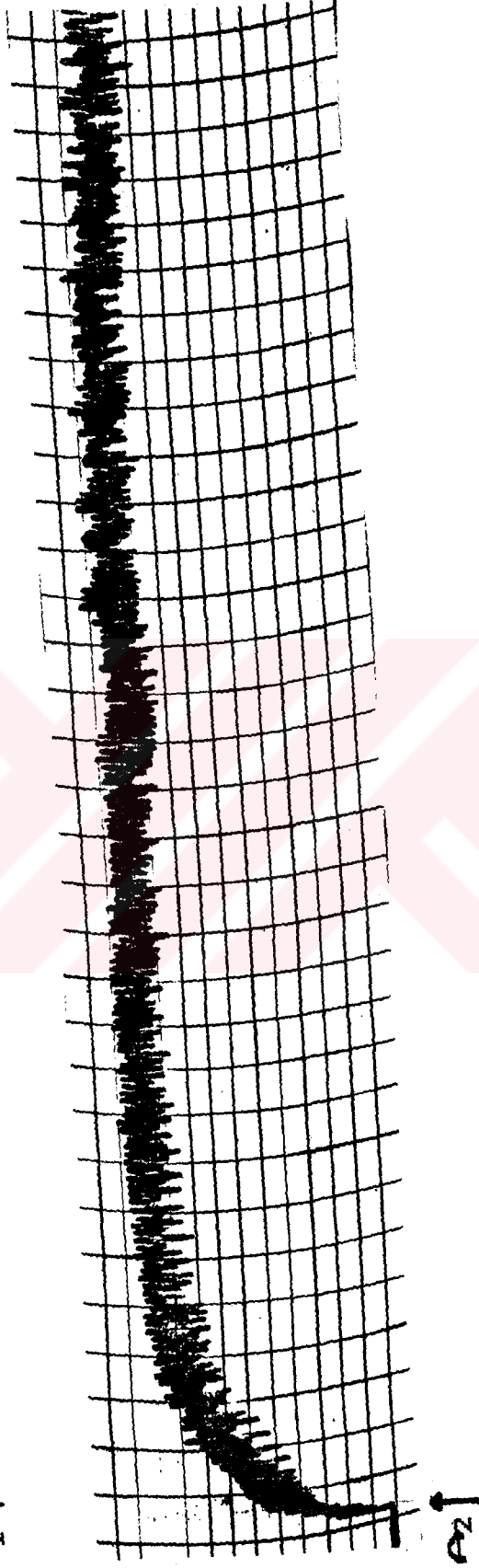
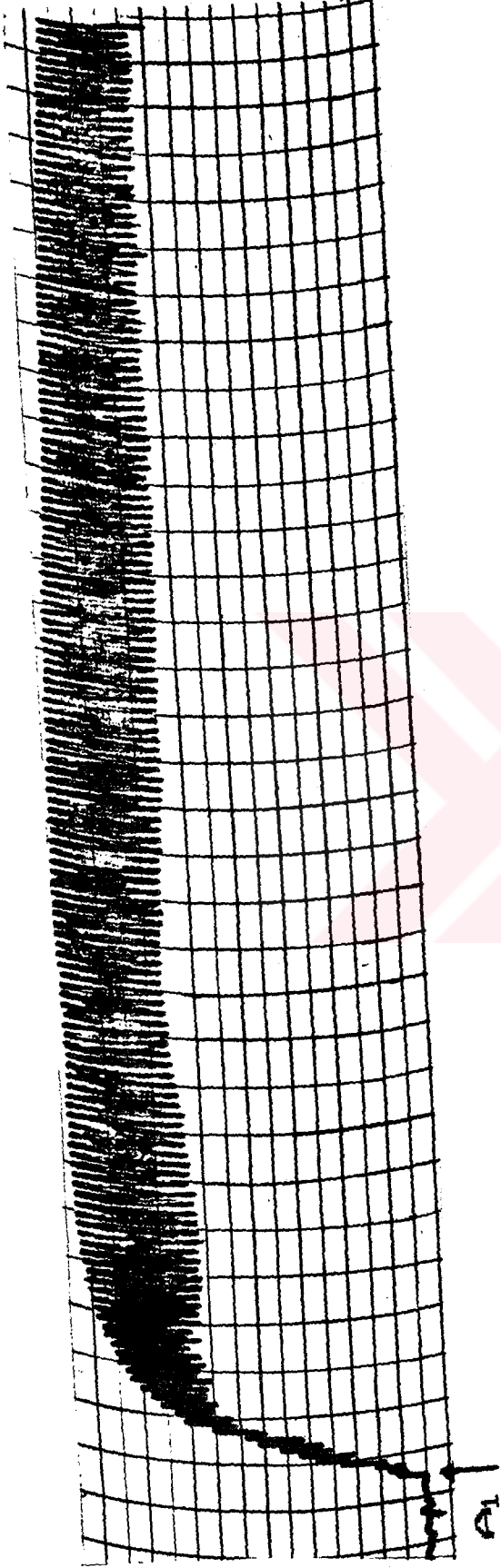
Grafik 15. 0.05 µg/ml (A₁) ve 0.1 µg/ml (A₂) karbakol ile kasılma oluşturulan kurbağa midesi dairesi mukozasız kas şeritlerinde papaverinin gevşetici etkileri ile ilgili doz-cevap eğrisi. Ordinata yüzde gevşeme işaret edilmiştir. İçi dolu her nokta ise ortalama ± standart hata değerlerini göstermektedir.



Grafik 16. 0.05 µg/ml (A₁) ve 0.1 µg/ml (A₂) karbakol ile kasılma oluşturulan kurbağa midesi dairesi mukozalı kas seritlerinde metilen mavisinin gevşetici etkileri ile ilgili doz-cevap eğrisi. Ordinata yüzde gevşeme işaret edilmiştir. İçi dolu her nokta ise ortalama ± standart hata değerlerini göstermektedir.



Grafik 17. 0.05 µg/ml (A₁) ve 0.1 µg/ml (A₂) karbakol ile kasılma oluşturan kurbağa midesi dairesi mukozasız kas şeritlerinde metilen mavisinin gevşetici etkileri ile ilgili doz-cevap eğrisi. Ordinatta yüzde gevşeme işaret edilmiştir. İci dolu her nokta ise ortalama ± standart hata değerlerini göstermektedir.



Trase 1. izole kurbağa midesi dairesi mukozalı (A₁) ve mukozasız (A₂) kas seritleri üzerinde 0.1 µg/ml karkakolun oluşturduğu kontraktürleri göstermektedir. Yukarı yönelik oklar preparata karkakol uygulamasını işaret etmektedir.

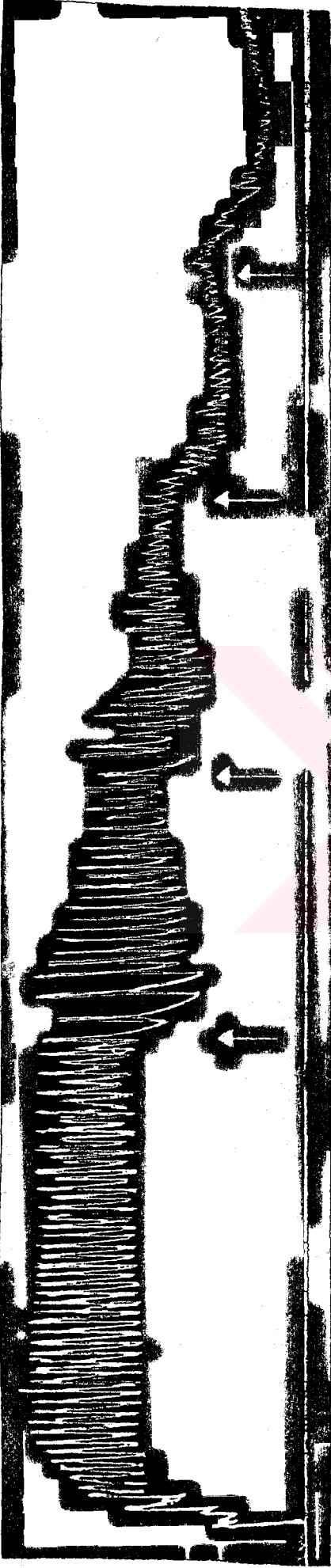


A1



A2

İrrese 2. izole kurbağa midesi dairevi mukozalı (A_1) ve mukozasız (A_2) kas seritlerinde $0.1 \mu\text{g/ml}$ karbakol ile oluşan kontraktürler üzerinde kümülatif konsantrasyonlarda verapamilin etkilerini göstermektedir. Yukarı yönelik oklar sırasıyla 10^{-7} 10^{-6} 5×10^{-6} ve 10^{-5} M verapamil uygulanmasını işaret etmektedir.

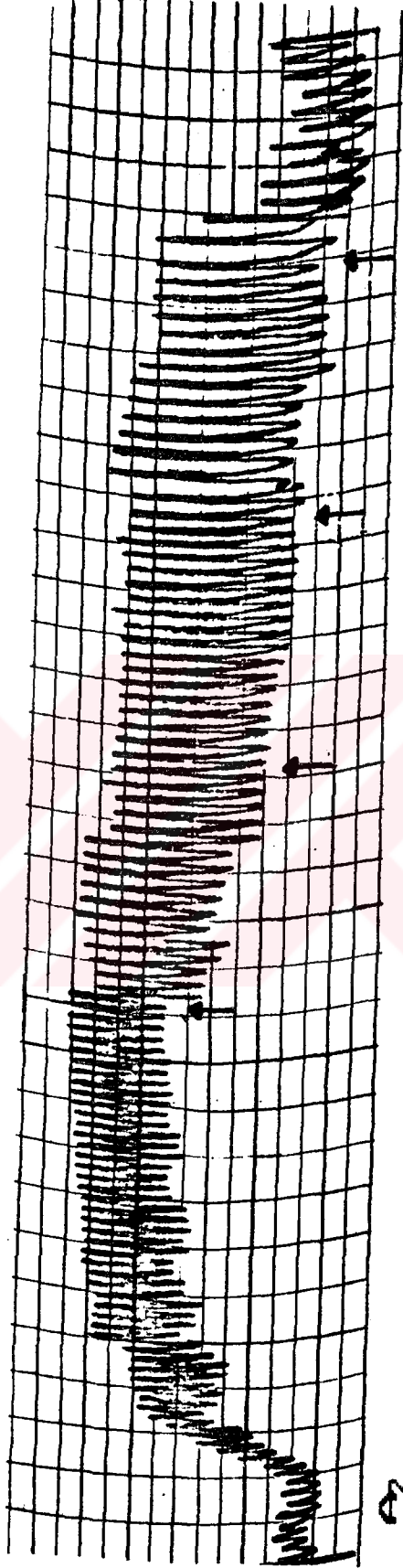
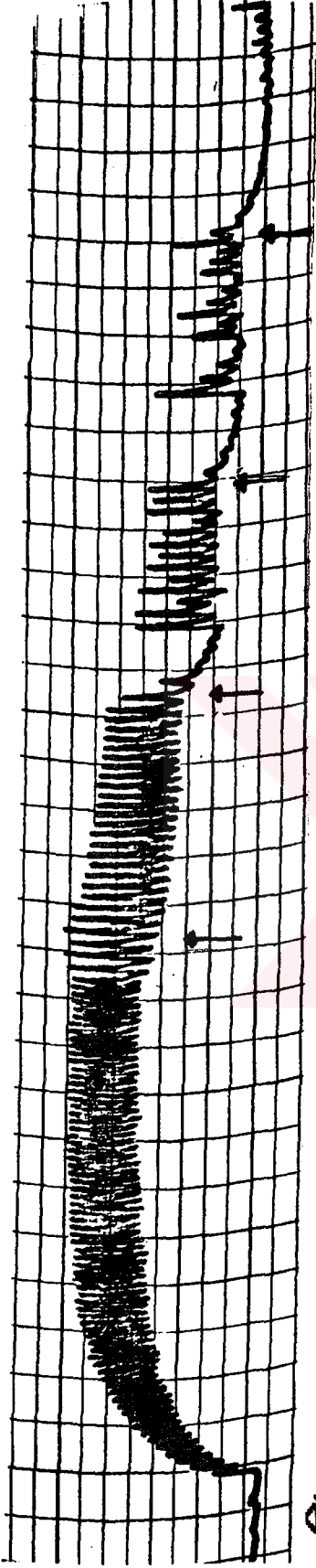


A1



A2

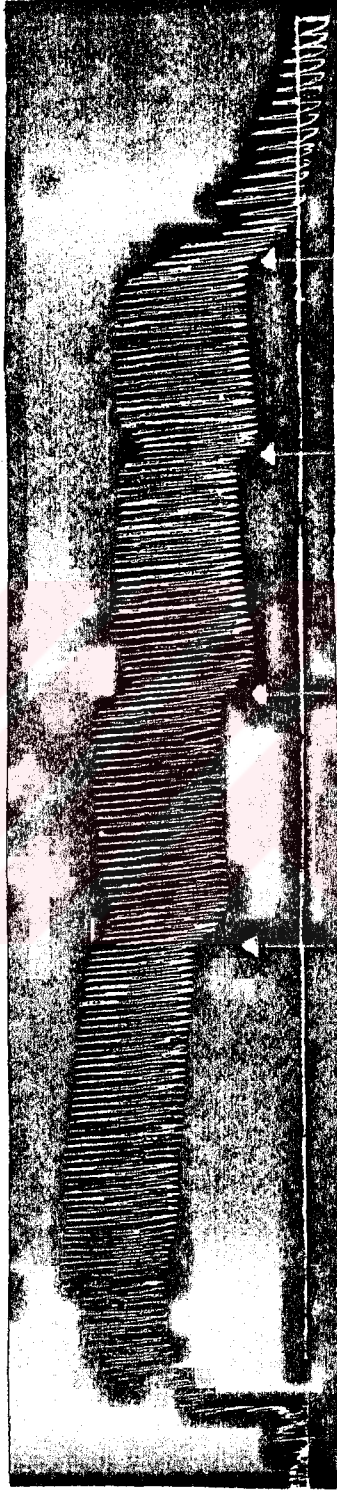
Trase 3. izole kurbağa midesi dairevi mukozalı (A₁) ve mukozasız (A₂) kas şeritlerinde 0.1 µg/ml karkol ile oluşan kontraktürler üzerinde kümülatif konsantrasyonlarda nifedipinin etkilerini göstermektedir. Yukarı yönelik oklar sırasıyla 10⁻⁷, 10⁻⁶, 5x10⁻⁶ ve 10⁻⁵ M nifedipin uygulanmasını işaret etmektedir.



Trase 4. izole kurbağa midesi dairevi mukozalı (A_1) ve mukozasız (A_2) kas seritlerinde $0.1 \mu\text{g/ml}$ karbakol ile oluşan kontraktürler üzerinde kümülatif konsantrasyonlarda izoprenalinin etkilerini göstermektedir. Yukarı yönelik oklar sırasıyla 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} ve 10^{-6} M izoprenalın uygulanmasını işaret etmektedir.

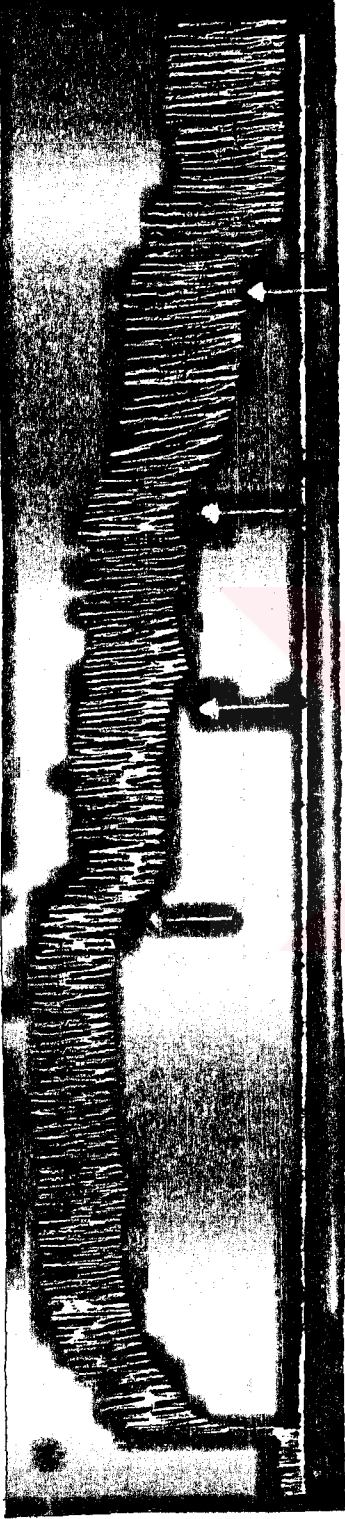


A1



A2

İrrese 5. izole kurbağa midesi mukozalı (A_1) ve mukozasız (A_2) kas seritlerinde $0.1 \mu\text{g/ml}$ karbakol ile oluşan kontraktürler üzerinde kümülatif konsantrasyonlarda kinakrinin etkilerini göstermektedir. Yukarı yönelik oklar sırasıyla 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M kinakrin uygulanmasını işaret etmektedir.

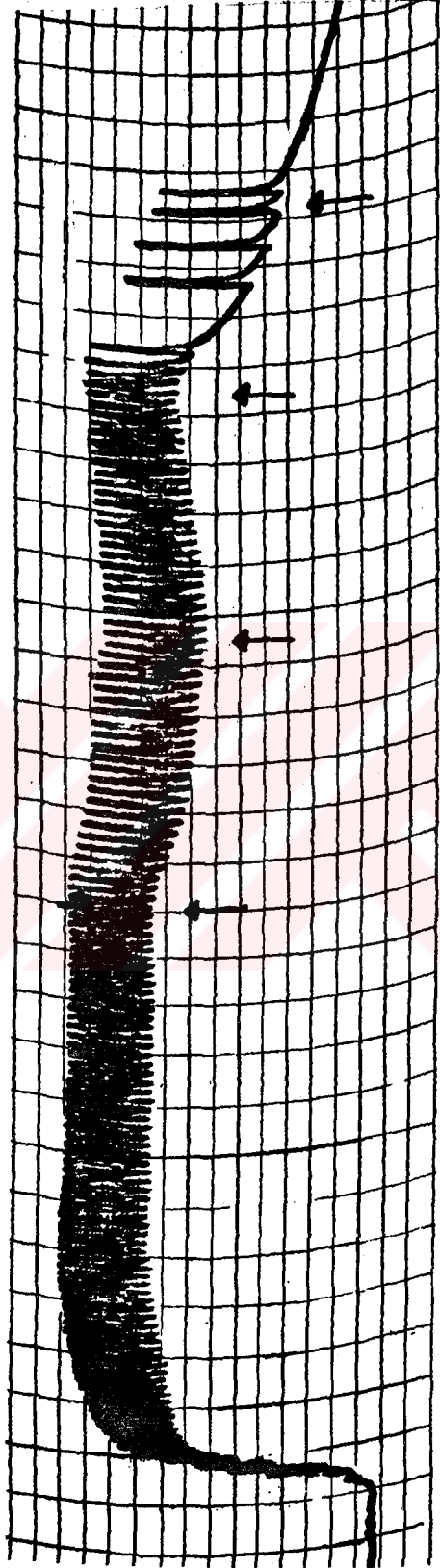
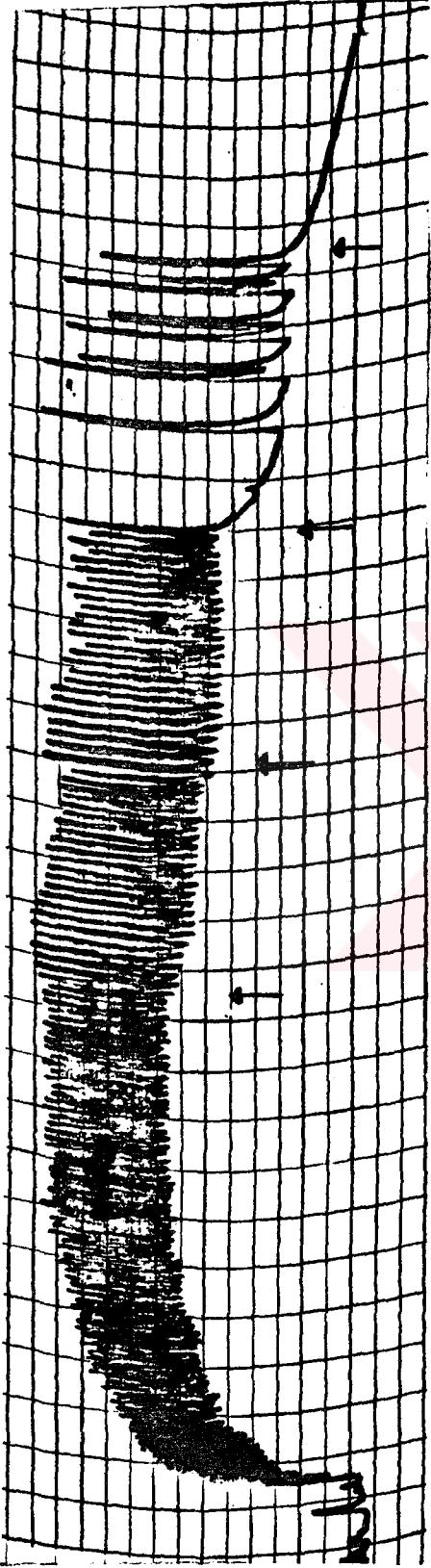


A1

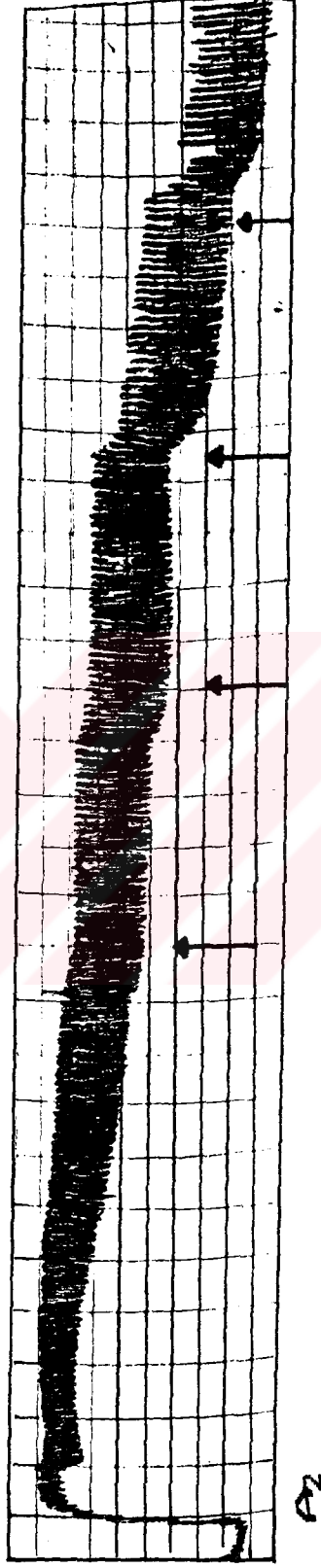
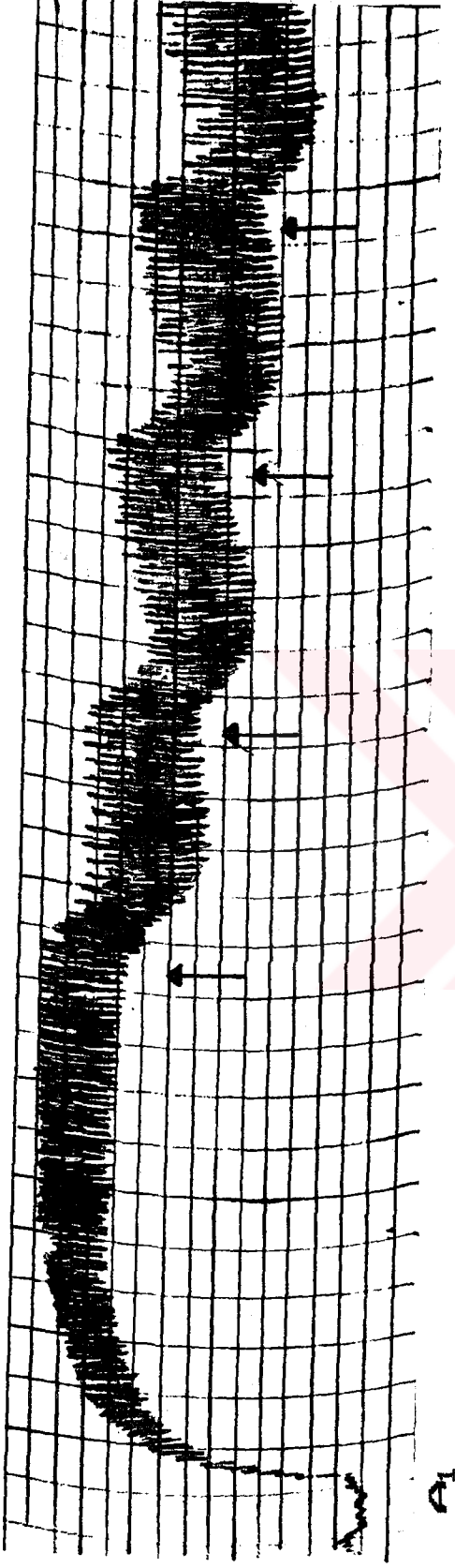


A2

Irise 6. izole kurbağa midesi dairesi mukozalı (A₁) ve mukozasız (A₂) kas şeritlerinde 0.1 µg/ml karbakol ile oluşan kontraktürler üzerinde kümülatif konsantrasyonlarda trifluoperazinin etkilerini göstermektedir. Yukarı yönelik oklar sırasıyla 10⁻⁷, 10⁻⁶ 5x10⁻⁶ ve 10⁻⁵ M trifluoperazinin uygulanmasını işaret etmektedir.



İrrese 7. izole kurbaga midesi dairesi mukozalı (A_1) ve mukozasız (A_2) kas şeritlerinde 0.1 $\mu\text{g/ml}$ karkakol ile oluşan kontraktürler üzerinde kümülatif konsantrasyonlarda papaverinin etkilerini göstermektedir. Yukarı yönelik oklar sırasıyla 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M papaverin uygulanmasını işaret etmektedir.



Trase 8. izole kurbağa midesi dairesi mukozalı (A₁) ve mukozasız (A₂) kas seritlerinde 0.1 µg/ml karbakol ile oluşan kontraktürler üzerinde kümülatif konsantrasyonlarda metilen mavisinin etkilerini göstermektedir. Yukarı yönelik oklar sırasıyla 10⁻⁷ 10⁻⁶ 5x10⁻⁶ ve 10⁻⁵ M metilen mavisi uygulanmasını işaret etmektedir.

LITERATÜRLER

1. Advenier, C., Cerrina, J., Duroux, P., Flach, A., Renier, A.: Effects of five different organic calcium antagonists on guinea-pig isolated trachea. Br.J.Pharmacol., 82: 727-733, 1984.
2. Aida, Y., Kaneko, Y., Kasama, Y.: Effect of oxybutynin hydrochloride on isolated smooth muscles (ileum, urinary bladder and urethra). Nippon. Yakurigaku. Zasshi., 87(6): 629-39, 1986.
3. Allen, S.L., Foster, R.W., Morgan, G.P., Small, R.C.: The relaxant action of nicorandil in guinea-pig isolated trachealis. Br.J.Pharmacol., 87: 117-127, 1986.
4. Andersson, R., Mohme-Lundholm, E.: Studies on relaxing actions mediated by stimulation of adrenergic α -and- β -receptors in taenia coli of the rabbit and guinea-pig. Acta.Physiol. Scand., 77:372-384, 1969.
5. Andersson, R., Mohme-Lundholm, E.: Metabolic actions in intestinal smooth muscle associated with relaxation mediated by adrenergic α -and- β -receptors. Acta. Physiol. Scand., 79: 244-261, 1970.
6. Ashoori, F., Hidaka, H., Tomita, T.: Carbachol-induced contraction in the circular muscle of guinea-pig stomach in calcium-free solution. Br.J.Pharmacol., 87:15-22, 1986.
7. Baba, K., Satake, T., Takagi, K., Tomita, T.: Effects of verapamil on the response of the guinea-pig tracheal muscle to carbachol. Br.J.Pharmacol., 88:441-449, 1986.
8. Babu, A., Gulati, J.: Trifluoperazine inhibition of contraction in permeabilized skeletal, cardiac and smooth muscles. Biochem. Biophys. Res. Commun., 166 (3): 1421-8, 1990.

9. Bailey, D.M.: inhibitory and excitatory effects of sympathomimetic amines on muscle strips from the stomach of the guinea-pig. Br. J. Pharmacol., 41:227-233, 1971.
10. Ballejo, G., Calixto, J.B., Medeiros, Y.S.: in vitro effects of calcium entry blockers, chlorpomazine and fenoterol upon human pregnant myometrium contractility. Br. J. Pharmacol., 89:515-523, 1986.
11. Belda, F.F., Soler, F., Fernandez, J.C.G.: Quinacrine inhibits the calcium-induced calcium release in heavy sarcoplasmic reticulum vesicles. Biochemica, et. Biophysica. Acta., 985 (3): 279-285, 1989.
12. Blackwell, G.J., Flower, R.J., Nijkamp, F.P., Vane J.R.: Phospholipase A₂ activity of guinea-pig isolated perfused Lungs: Stimulation and inhibition by anti-inflammatory steroids. Br. J. Pharmacol., 62: 79-89, 1978.
13. Bolger, G.T., Gengo, P., Klockowski, R., Luchowski, E., Siegel, H., Janis, R.A., Triggle, A.M., Triggle, D.J.: Characterization of binding of the Ca⁺² channel antagonist, [³H] Nitrendipine, to guinea-pig ileal smooth muscle. J. Pharmacol. Exp. Therp., 225(2): 291-309, 1983.
14. Bolton, T.B., Kitamura, K.: Evidence that ionic channels associated with the muscarinic receptor of smooth muscle may admit calcium. Br. J. Pharmacol., 78: 405-416, 1983.
15. Branding, A.F., Sneddon, P.: Evidence for multiple sources of calcium for activation of the contractile mechanism of guinea-pig taenia coli on stimulation with carbachol. Br. J. Pharmacol., 70: 229-240, 1980.

16. Brocckaert, A., Godfraind, T.: A comparison of the inhibitory effect of cinnarizine and papaverine on the noradrenaline-and-calcium-evoked contraction of isolated rabbit aorta and mesenteric arteries. Eur.J.Pharmacol., 53: 281-288, 1979.

17. Bülbring, E., Tomita, T.: Suppression of spontaneous spike generation by catecholamines in the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli. Proc. R. Soc. Lond.Biol. Sci., 172: 103-119, 1969.

18. Bülbring, E., Den Hertog, A.: The action of isoprenaline on the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli. J. Physiol. (Lond), 304: 277-296, 1980.

19. Bülbring, E., Ohashi, H., Tomita, T.: Adrenergic mechanisms. Smooth muscle: an assessment of current knowledge, Ed. by. Bülbring, E., Brading, A.F., Jones, A.W., Tomita, T., pp. 219-448, Butler and Tanner Ltd., Frome and London, 1981.

20. Bülbring, E., Tomita, T.: Catecholamine action on smooth muscle. Pharmacol. Rev., 39(1): 50-86, 1987.

21. Clauge, R.J., Eglen, R.M., Strachan, A.C., Whiting, R.L.: Action of agonists and antagonists at muscarinic receptors present on ileum and atria in vitro. Br.J., Pharmacol. 86: 163-170, 1985.

22. Cumuskey, W.R., Feigenson, M.E.: Spasmolytic activity of cinnamedrine and papaverine in isolated rat uterine muscle. Arch Int. Pharmacodyn., 263: 113-119, 1983.

23. Dehpour, A.R., Khoyi, M.A., Koutcheki, H., Zarrindast, M.R.: Pharmacological study of the anococcygeus muscle of the dog. Br.J. Pharmacol., 71: 35-40, 1980.

24. Den Hertog, A: Calcium and the action of adrenaline, adenosine triphosphate, and carbachol on guinea-pig taenia caeci. J. Pysiol. (Lond.), 325: 423-439, 1982.
25. Farmer, S.G., Fedan, J.S., Hay, D.W.P., Raeburn, D.: The effects of epithelium removal on the sensitivity of guinea-pig isolated trachealis to bronchodilator drugs. Br. J. Pharmacol., 89: 407-414, 1986.
26. Flavahan, N.A., Vanhoutte, P.M.: The respiratory epithelium releases a smooth muscle relaxing factor. Chest, 87 (Suppl.), 1985.
27. Foster, R.W., Okpalugo, B.I., Small, R.C.: Antagonism of Ca⁺² and other actions of verapamil in guinea-pig isolated trachealis. Br. J. Pharmacol., 81: 499-507, 1984.
28. Fukushi, Y., Wakui, M.: Pharmacological studies on the role of cholinergic nerves in the neuromuscular transmission in the circular smooth muscle of guine-pig vas deferens. J. Auton. Pharmacol., 5: 299-304, 1986.
29. Gillespie, J.S., Sheng, H.: Influence of hoemoglobin and erythrocytes on the effects of EDRF, a smooth muscle inhibitory factor, and nitric oxide on vascular and non-vascular smooth muscle. Br. J. Pharmacol., 95 (4): 1151-6, 1988.
30. Godfraind, T., Miller, R., Nibo, M.: Calcium antagonism and calcium entry blockade. Pharmacol. Rev., 38 (4). 321-416, 1986.

31. Gruetter, C.A., Gruetter, D.Y., Lyon, I.E., Kadowitz, P.J., Ignarro, L.J.: Relationship between cyclic guanosine 3':5'-monophosphate formation and relaxation of coronary arterial smooth muscle by glyceryl trinitrate, nitroprusside, nitrite and nitric oxide: Effects of methylene blue and methemoglobin. J. Pharmacol. Exp. Ther., 219: 181-186, 1981.

32. Guimaraes, S.: Alpha excitatory, alpha inhibitory, and beta inhibitory adrenergic receptors in the guinea-pig stomach. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 179: 188-201, 1969.

33. Guyton, C.A.: Neuromuscular transmission: Function of smooth muscle in textbook of medical physiology. Physiology, pp.199-214, N.B. Saunders Comp., Philadelphia, 1986.

34. Güç, M.O., İlhan, M., Kayaalp, O.S.: The rat anacoccygeus muscle is a convenient bioassay organ for the airway epithelium-derived relaxant factor. Eur. J. Pharmacol. 99: 369-373, 1990.

35. Hara, Y., Szurszewski, J.H.: Effect of potassium and acetylcholine on canine intestinal smooth muscle. J. Physiol. 372: 521-537, 1986.

36. Hardman, J.G.: Cyclic nucleotides and smooth muscle contraction: Some conceptual and experimental considerations: Smooth muscle: an assessment of current knowledge, Ed. by. Bülbbring, E., Brading, A.F., Jones, A.W., Tomita, T., pp. 249-262, Butler and Tanner Ltd., Frome and London, 1981.

37. Hay, D.W.P., Muccitelli, R. M., Horstemeyer, D.L., Wilson, K.A., Raeburn, D.: Demonstration of the release of an epithelium-derived inhibitory factor from a novel preparation of guinea-pig trachea. Eur. J. Pharmacol. 136: 247-250, 1987.

38. Himori, N., Taira, N.: Differential effects of the calcium,-antagonistic vasodilators, nifedipine and verapamil, on the tracheal musculature and vasculature of the dog. Br. J. Pharmacol., 68: 595-597, 1980.
39. Honda, F., Katsuki, S., Miyahara, J. T., Shibata, S.: Effect of isoprenaline and phenylephrine on the adenosine 3',5'-monophosphate content and mechanical activity of cold-stored and fresh taenia caecum from the guinea-pig. Br. J. Pharmacol., 60: 529-536, 1977.
40. Honda, K., Satake, T., Takagi, K., Tomita, T.: Effects of relaxants on electrical and mechanical activities in the guinea-pig tracheal muscle. Br. J. Pharmacol., 87: 665-671, 1986.
41. Holroyde, M.C.: The influence of epithelium on the responsiveness of guinea-pig isolated trachea. Br. J. Pharmacol., 87: 501-507, 1986.
42. Hori, M., Shimizu, K., Nakajyo, S., Urakawa, N.: The effect of trifluoperazine on muscle tension and cytoplasmic Ca⁺² level in guinea-pig ileum. Japan. J. Pharmacol., 49: 540-543, 1989.
43. Huddart, H., Langton, P.D., Saad, K.H.M.: Inhibition by papaverine of calcium movements and tension in the smooth muscles of rat vas deferens and urinary bladder. J. Physiol., 349: 183-194, 1984.
44. Ignarro, L.J., Kadowitz, P.J.: The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 25: 271-91, 1985.
45. İlhan, M., Sahin, İ.: Tracheal epithelium releases a vascular smooth muscle relaxant factor: demonstration by bioassay. Eur. J. Pharmacol., 131: 293-296, 1986.

46. Ito, Y., Itoh, T.: Effects of isoprenaline on the contraction-relaxation cycle in the cat trachea. Br. J. Pharmacol., 83: 677-686, 1984.
47. Janis, R.A., Diamond, J.: Relationship between cyclic nucleotide levels and drug-induced relaxation of smooth muscle. J. Pharm. Exp. Ther., 211(3): 480-484, 1979.
48. Jetley, M., Weston, A.H.: Some effects of sodium nitroprusside, methoxy-verapamil (D600) and nifedipine on rat portal vein. Br. J. Pharmacol., 68: 311-319, 1980.
49. Johnson, J.D., Fugman, D.A.: Calcium and calmodulin antagonists binding to calmodulin and relaxation of coronary segments. Exp. Ther., 226: 330, 1983.
50. Kamikawa, Y., Shimo, Y.: Different spasmolytic effects of smooth muscle relaxants on the guinea-pig esophageal muscularis mucosae contacted by carbachol or high potassium in vitro. Eur. J. Pharmacol. 136: 39-48, 1987.
51. Karaki, H., Murakami, K., Nakagawa, H., Ozaki, H., Urakawa, N.: Effects of calmodulin antagonists on tension and cellular calcium content in depolarized vascular and intestinal smooth muscles. Br. J. Pharmacol., 77: 661-666, 1982.
52. Karaki, H., Murakami, K., Urakawa, N.: Mechanism of inhibitory action of sodium nitroprusside in vascular smooth muscle of rabbit aorta. Arch. Int. Pharmacodyn., 280: 230-240, 1986.
53. Karaki, H., Mitsui, M.: Verapamil-sensitive and less sensitive contractions in the intestinal smooth muscle of the guinea-pig taenia caeci. Japan. J. Pharmacol., 46: 325-330, 1988.

54. Kawagoe, J., Sunagane, N., Uruno, T., Kubata, K.: Effects of sucrose-or tris-substitution for Na^+ on responses to D600, papaverine and KCN in the K^+ -depolarized taenia coli of guinea pigs. Jpn. J. Pharmacol., 47: 341-347, 1988.
55. Kayaalp, S.O.: Tıbbi farmakoloji, Cilt2, 5. Baskı, Feryal Matb., Ankara, 1990.
56. Kayaalp, S.O.: Tıbbi farmakoloji, Cilt3, 5. Baskı, Feryal Matb., Ankara, 1990.
57. Kim, H.C., Raess, B.U.: Verapamil, diltiazem and nifedipine interactions with calmodulin stimulated $(\text{Ca}^{+2}/\text{Mg}^{+2})$ -ATPase,. Biochem. Pharmacol., 37(5): 917-920, 1988.
58. Kimura, I., Katoh, H., Kimura, M.: Difference between adrenergic β_1 -and β_2 -blocking effects on isoproterenol-induced Ca spike suppression in guinea-pig taenia coli. Jpn. J. Pharmacol., 33: 1271-1278, 1983.
59. Kishen, R., Pleuvry, B.J.: Some actions of sodium nitroprusside and glyceryl trinitrate on guinea-pig isolated trachealis muscle. J. Pharm. Pharmacol., 37: 502-504, 1985.
60. Koga, T., Takata, Y., Kobayashi, K., Takishita, S., Yamashita, Y., Fujishima, M.: Ageing suppresses endothelium-dependent relaxation and generates contraction mediated by the muscarinic receptors in vascular smooth muscle of normotensive Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. J. Hypertens. Suppl., 6(4): 5243-5, 1988.
61. Komori, S., Ohashi, H., Takewaki, T.: The effects of α -and β -adrenoceptor activation on tension and membran properties of the longitudinal smooth muscle of the chicken rectum. Br. J. Pharmacol. 71: 479-488, 1980.

62. Komori, K., Suzuki, H.: Modulation of smooth muscle activity by excitatory and inhibitory nerves in the guinea-pig stomach. Comp. Biochem. Physiol., 91C(2): 311-319, 1988.

63. Kuriyama, H.: Excitation-contraction coupling in various visceral smooth muscles. Smooth muscle: an assessment of current knowledge, Ed. By. Bülbring, E., Brading, A.F., Jones, A.W., Tomita, T., pp. 171-179, Butler and Tanner Ltd., Frome and London, 1981.

64. Lalanne, C., Mironneau, C., Mironneau, J., Savineau, J.P.: Contractions of rat uterine smooth muscle induced by acetylcholine and angiotensin II in Ca²⁺-free medium. Br. J. Pharmacol., 81: 317-326, 1984.

65. Lambort, S.J., Fedan, J.S.: Modulation of the reactivity of the guinea-pig isolated trachealis by respiratory epithelium: Effects of cooling. Br. J. Pharmacol., 99: 369-373, 1990.

66. Lefebvre, R.A., Verplanken, P.A., Bogaert, M.G.: Pharmacological characterization of the postjunctional beta-adrenoceptors in the rat gastric fundus. Eur. J. Pharmacol., 106: 1-9, 1985.

67. Lucchesi, P.A., Scheid, C.R.: Effects of the anti-calmodulin drugs calmidazolium and trifluoperazine on ⁴⁵Ca transport in plasmalemmal vesicles from gastric smooth muscle. Cell Calcium, 9: 87-94, 1988.

68. Manzini, S., Maggi, C.A., Meli, A.: System and organ-selectivity of smooth muscle relaxants on vitro spontaneously contracting preparations. Arch. int. Pharmacodyn., 270: 50-60, 1984.

69. Martin, W., Villani, G.M., Jothianandan, D., Furchgott, R.F.: Selective blockade of endothelium-dependent and glyceryl trinitrate-induced relaxation by hemoglobin and by methylene blue in the rabbit aorta. J. Pharmacol. Exp. Ther., 232(3): 708-716, 1985.
70. Martin, J.S., Tansy, M.F.: Comparison of the inhibitory effects of spermine, papaverine and adrenaline upon isolated segments of the rat small intestine. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 13: 87-90, 1986.
71. Matsuki, N., Nakazawa, K., Higo, K., Abe, K.T., Saito, H.: Block of dihydropyridine-sensitive Ca-channels by calmodulin antagonists. Jpn. J. Pharmacol., 46: 195, 1988.
72. Missiaen, L., Kanmura, Y., Wuytack, F., Casteels, R.: Carbachol partially inhibits the plasma-membrane Ca²⁺-pump in microsomes from pig stomach smooth muscle. Biochem Biophys. Res. Commun., 150(2): 681-686, 1988.
73. Mitchelson, F., Ziegler, A.: The effect of gallamine, gallopamil and nifedipine on responses to acetylcholine and carbachol in the taenia of the guinea-pig caecum. Br. J. Pharmacol., 83: 145-155, 1984.
74. Miyores, K., Delfin, M., Nikolov, R., Nikolova, M.: Antagonistic activity of aligeron and papaverine against different smooth muscle stimuli. Meth and Find. Exptl. Clin. Pharmacol., 7(9): 473-476, 1985.
75. Molina, R.V., Uc, M., Hong, E., Sainz, J.A.G.: Correlation between phosphatidylinositol labelling and contraction in rabbit aorta: effect of alpha-1 adrenergic activation. J. Pharm. Exp. Ther., 22(1): 258-61, 1982.

76. Moritoki, H., Iwamoto, T., Kanaya, J., Maeshiba, Y., Ishida, Y., Fukuda, H.: Verapamil enhances the non-adrenergic twitch response of rat vas deferens. Eur. J. Pharmacol., 140: 75-83, 1987.

77. Murakami, H., Ishikawa, T., Watanabe, H.: Effects of Ca-antagonists and antispasmodic drugs on contraction by Ach in molluscan smooth muscle. Comp. Biochem. Physiol., 80C(1): 167-173, 1985.

78. Nakagawa, H., Oka, M., Kimura, A., Ohuchi, T.: Effect of age on the formation of cyclic nucleotides in guinea-pig tracheal smooth muscle in response to pharmacological agents. Eur. J. Pharmacol., 125(2): 211-6, 1986.

79. Nakaki, T., Roth, B.L., Chuang, D., Costa, E.: Phasic and tonic components in 5-HT₂ receptor-mediated rat aorta contraction: participation of Ca⁺⁺ channels and phospholipase C. J. Pharm. Exp. Ther., 234(1): 442-446, 1985.

80. Neilsen-Kudsk, I.E., Karlsson, J.A., Persson, C.G.A.: Relaxant effects of xanthines, a β_2 -receptor agonist and Ca⁺⁺ antagonists in guinea-pig tracheal preparations contracted by potassium or carbachol. Eur. J. Pharmacol., 128: 33-40, 1986.

81. O'Donnell, S., Wanstall, J.C.: Relaxation of cat trachea by β -adrenoreceptor agonists can be mediated by inhibitors of extraneuronal uptake. Br. J. Pharmacol., 78: 417-424, 1983.

82. Ohya, Y., Terada, K., Kitamura, K., Kuriyama, H.: D600 blocks the Ca⁺² channel from the outer surface of smooth muscle cell membrane of the rabbit intestine and portal vein. Pflügers Arch., 408: 80-82, 1987.

83. Ozaki, H., Kojima, T., Moriyama, T., Karaki, H., Urakawa, N., Kohama, K.: inhibition by amiloride of contractile elements in smooth muscle of guinea-pig taenia cecum and chicken gizzard. J. Pharmacol. Exp. Ther., 243(1): 370-7, 1987.

84. Önder, S., Şingirik, E., Demircioğlu, Z., Baysal, F.: Kurbağa mide kasından hazırlanan dairevi kas şeritlerinin elektriksel uyarıya cevapları ve kalsiyumsuz ortam. C.Ü.Tıp Fak. Dergisi, 10: 113-119, 1985.

85. Önder, S., Öğülener, N., Demircioğlu, Z., Baysal, F.: izole kurbağa dairevi mide kas şeritlerinde karbakol ile hasıl edilen aktive üzerine çeşitli tedavi sıvılarının etkileri. C.Ü. Tıp Fak. Dergisi, 11: 266-271, 1986.

86. Önder, S., Demircioğlu, Z., Öğülener, N., Şingirik, E., Baysal, F.: Kurbağa mide duvarından hazırlanan ve elektriksel olarak uyarılan dairevi kas şeritleri ve tedavide kullanılan muhtelif sıvılar. C.Ü. Tıp Fak. Dergisi, 11: 85-91, 1986.

87. Pena, P.D.L., Reeves, J.P.: inhibition and activation of $\text{Na}^{+2}\text{-Ca}^{+2}$ exchange activity by quinacrine. Am. J. Physiol. 252 (Cell Physiol. 21): C24-C29, 1987.

88. Prozialeck, W.C., Weiss, B.: inhibition of calmodulin by phenothiazines and related drugs: structure-activity relationships. J. Pharmacol. Exp. Ther., 222(3): 509-516, 1982.

89. Raess, B.U., Gersten, M.H.: Calmodulin-stimulated plasma membrane ($\text{Ca}^{+2}\text{+Mg}^{+2}$)-ATPase: inhibition by calcium channel entry blockers. Biochemical Pharmacology, 36(15): 2455-2459, 1987.

90. Rang, H.P., Dale, M.M.: Mechanisms of drug action. Pharmacology, pp.1-34, Longman Singapore Publishers Pte Ltd., Singapore, 1988.

91. Rang, H.P., Dale, M.M.: Adrenergic transmission. Pharmacology, pp. 146-175, Longman Singapore Publishers Pte Ltd., Singapore, 1988.
92. Rang, H.P. Dale, M.M.: The heart. Pharmacology, pp.227-225, Longman Singapore Publishers Pte Ltd., Singapore, 1988.
93. Rapoport, R.M., Woldman, S.A., Schuartz, K., Winquist, R.J., Murad, F.: Effects of atrial natriuretic factor, sodium nitroprusside, and acetylcholine on cyclic GMP levels and relaxation in rat aorta. Eur. J. Pharmacol., 115: 219-229, 1985.
94. Rhalep, N.E., Dion, S., Barobe, J., Rouissi, N., Jukic, D., Drapeau, G., Regoli, D.: Receptors for kinins in isolated arterial vessels of dogs. Eur. J. Pharmacol., 162(3): 419-27, 1989.
95. Ronca-Testoni, S., Hrelia, S., Hakim, G., Rossi, C.A.: interaction of smooth muscle relaxant drugs with calmodulin and cyclic nucleotide phosphodiesterase. Experientia, 41: 75-76, 1985.
96. Sakata, K., Ozaki, H., Kwon, S.C., Karaki, H.: Effects of endothelin on the mechanical activity and cytosolic calcium level of various types of smooth muscle. Br. J. Pharmacol., 98(2): 483-92, 1989.
97. Satoh, S., Fujiwara, T., Nishiye, E., Sumimoto, K., Itoh, T., Suzuki, H., Kuriyama, H.: Actions of a newly synthesized nitro-compound, E-4701 on rabbit vascular smooth muscles. Jpn. J. Pharmacol., 51(3): 357-68, 1989.

98. Sawage, A.O., Lawal, O.B.: Influence of calcium lack and nifedipine on carbachol-, potassium and quinine - induced contractions of the lizard isolated rectum. Comp. Biochem. Physiol., 85(C)2: 341-343, 1986.
99. Seguin, J., Berta, P., Mende, R., Saussine, M., Chaptal, P.A.: Mepacrine, a phospholipase inhibitor. J. Thorac. Cardiovas. Surg. 94: 312-313, 1987.
100. Setnikar, I., Cereda, R., Pacini, M.A., Revel, L., Makavec, F.: Pharmacological characterisation of the smooth muscle antispasmodic agent triopramide. Arzneimittelforschung. 39(9): 1114-9, 1989.
101. Shibata, T., Ogawa, K., Ito, Y., Hashimoto, H., Nakagawa, H., Satake, T.: Role of cyclic GMP of canine vascular smooth muscle in relaxation by organic nitrates. Jpn. Circ. J., 50(11): 1091-9, 1986.
102. Shikano, K., Berkowitz, B.A.: Endothelium-derived relaxing factor is a selective relaxant of vascular smooth muscle. J. Pharmacol. Exp. Ther., 243(1): 55-60, 1987.
103. Sunagane, N., Fujihara, R., Uruno, T., Kubota, K.: Mechanism of relaxant action of papaverine IV. Roles of sodium ion and cyclic AMP. Jpn. J. Pharmacol., 35: 461, 1984.
104. Sunagane, N., Ogawa, T., Uruno, T., Kubota, K.: Mechanism of relaxant action of papaverine IV. Roles of sodium ion dependence of its effect on ⁴⁵Ca-efflux in guinea-pig taenia coli. Jpn. J. Pharmacol., 38: 133-139, 1985.

105. Terada, K., Kitamura, K., Kuriyama, H.: Blocking actions of Ca^{+2} antagonists on the Ca^{+2} channels in the smooth muscle cell membrane of rabbit small intestine. Pflügers Arch., 409: 552-557, 1987.
106. Thayer, S.A., Fairhurst, A.S.: The interaction of dihydropyridine calcium channel blockers with calmodulin and calmodulin inhibitors. Mol. Pharmacol., 24: 6-9, 1983.
107. Tschirhart, E., Landry, Y.: Airway epithelium releases a relaxant Factor: demenstration with substance P., Eur. J. Pharmacol., 132: 103-104, 1986.
108. Van Rossum, J.M. and Van den Brink, F.G.: Cumulative dose-response curves. I. Indroduction to the technique. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 143: 240, 1963.
109. Weir, S.W., Weston, A.H.: Effect of apamin on responses to BRL 34915, nicorandil and other relaxants in the guinea-pig taenia caeci. Br. J. Pharmacol., 88,: 113-120, 1986.
110. Zakhari, S.: Mechanism of action of calcium antagonists on myocardial and smooth muscle membranes. Drugs Exptl. Clin. Res., 12(9/10): 817-829, 1986.
111. Zimmer, M., Hofmann, F.: Calmodulin antagonists inhibit activity of myosin Light-chain kinase independent of calmodulin. Eur. J. Biochem., 142: 393-397, 1984.