

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**FENİLEFRİN İLE KASILAN İZOLE TAVŞAN AORTASI
ÜZERİNE LEVODROPROPİZİN'İN ETKİSİ VE BUNUN
KALSIYUM İLE İLİŞKİSİ**

Arş. Gör. Fatma Nihan CANKARA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Ekrem ÇİÇEK

2011-İSPARTA

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FENİLEFRİN İLE KASILAN İZOLE TAVŞAN AORTASI
ÜZERİNE LEVODROPROPİZİN'İN ETKİSİ VE BUNUN
KALSIYUM İLE İLİŞKİSİ**

Arş. Gör. Fatma Nihan CANKARA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Ekrem ÇİÇEK**

Tez No: 70

2011-İSPARTA

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

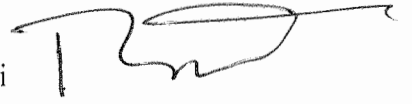
Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı** çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi :29/07/2014

Tez Danışmanı: Yrd.Doç.Dr. Ekrem ÇİÇEK
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı



Üye: Doç.Dr. Mehmet Kaya ÖZER
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı



Üye: Prof. Dr. Meral ÖNCÜ
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı



ONAY: Bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. M. Fehmi ÖZGÜNER
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada levodropropizin adlı antitüsif ilacın in vitro koşullarda izole tavşan aortası üzerinde kalsiyum kanalları ile olan ilişkisi incelenmiş ve başka bir kalsiyum kanal blokörü ile potens kıyaslaması yapılmıştır. Elde edilen bulguların, ilacın farmakokinetiği hakkında daha ayrıntılı bilgi vererek asıl kullanım amacı dışındaki sekonder etkilerin ortaya çıkarılmasına katkıda bulunabileceğini ümit etmekteyiz.

Tezimin hem laboratuvar bölümü hem de yazımı sırasında değerli yardımları ve eleştirileri ile büyük katkıda bulunan tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Ekrem ÇİÇEK'e, çalışmamın her aşamasında yardım ve katkılarını esirgemeyen Doç. Dr. Mehmet Kaya ÖZER'e,

Çalışmam esnasında manevi desteklerini hep hissettiğim asistan arkadaşlarım Uzm. Dr. Halil AŞCI, Arş. Gör. Dr. Mehtap SAVRAN, Arş. Gör. Şükriye YEŞİLOT'a,

Ve çalışmam süresince yanımda olan aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İç Kapak	i
Kabul ve Onay	ii
Önsöz	iii
İçindekiler	iv
Şekiller Dizini	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Öksürük refleksinin oluşmasında nöronal ileti.....	3
2.2. Kalsiyum Kanalları.....	5
2.2.1. Voltaja bağımlı kalsiyum kanalları.....	5
2.2.1.1. L-tipi kanallar.....	6
2.2.1.2. T-tipi kanallar.....	7
2.2.1.3. N-tipi kanallar.....	7
2.2.1.4. P-tipi kanallar.....	7
2.2.2. Reseptöre-bağımlı kalsiyum kanalları.....	8
2.3. Öksürük Refleksinin İyonlarla Ve İyon Kanalları İle Olan İlişkisi.....	9
2.4. Kalsiyum kanal blokörleri.....	11
2.5. Düz kas kasılmaları ve bunun kalsiyumla olan ilişkisi.....	12
2.6. Fenilefrinin etki mekanizması.....	13
2.7. Levodropropizin.....	14
2.7.1. Farmakodinamik Özellikleri.....	15
2.7.2. Farmakokinetik Özellikleri.....	15
2.7.3. Endikasyonları.....	15
2.7.4. Kontrendikasyonları.....	16
2.7.5. Yan Etkiler / Advers Etkiler.....	16
2.7.6. İlaç Etkileşmeleri.....	16

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
4. BULGULAR.....	20
5. TARTIŞMA.....	26
ÖZET.....	29
ABSTRACT.....	30
KAYNAKLAR.....	31
ÖZGEÇMİŞ.....	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Öksürük refleksi oluşum yolağı.....	4
Şekil 2: Vasküler düz kas kasılmasında kalsiyum iyonunun rolü.....	14
Şekil 3: Kalsiyumsuz ortamda fenilefrine bağlı kasılma yanıtları sırasıyla; antagonist bulunmayan (kontrol) ve antagonist (levodropropizin) varlığında.....	21
Şekil 4: Kalsiyumsuz ortamda fenilefrin ile kasılan dokuda, ortama ilave edilen kalsiyuma bağlı maksimum cevaplara levodropropizinin etkisi.....	22
Şekil 5: Normal solusyonda fenilefrine bağlı kasılma cevapları üzerine levodropropizinin inhibisyonu.....	23
Şekil 6: Normal solusyonda fenilefrine bağlı kasılma cevapları üzerine diltiazemin inhibisyonu.....	24
Şekil 7: Normal solüsyonda fenilefrine bağlı kasılma üzerine, levodropropizinin ve diltiazemin oluşturduğu gevşeme cevapları.....	25

1. GİRİŞ

Farmakoloji ve tedavide kullanılan ilaçların primer etkilerinin yanında, çoğu kez yan etkiler olarak bilinen ve o ilacın etki profili içerisinde değerlendirilen sekonder etkileri mevcuttur. Örneğin pinaveriumun spazmolitik etkisi yanında kalsiyum antagonisti gibi davrandığı ve bu nedenle de antihipertansif etki gösterebileceği araştırmalar sonucu ortaya konmuştur (Çiçek 1995). Kalsiyum kanal blokörü ilaçlar, tıpta antihipertansif ilaçların önemli bir bölümünü oluştururlar. Temel etkileri, hücre içerisine kalsiyum girişini engelleyerek düz kas yapılarında gevşemeye neden olmalarıdır.

Levodropropizin isimli etken madde, antitusif amaçla kullanılan bir ilaçtır. Antitusif ilaçların öksürük refleksini inhibe etmedeki mekanizması içerisinde, kalsiyumun önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir (Kamei and Kasuya 1992). Yapılan bazı çalışmalarda dokuda kalsiyum azalmasının öksürük refleksini engellediğine dair bulgular bulunmaktadır. Bu anlamda kalsiyum kanal blokörü olan diltiazemin etkisi incelenmiş ve öksürük refleksini inhibe ettiği gösterilmiştir (Franova and Nosalova 2004).

Bu çalışmada kullanılacak ilaç ile ilgili literatürler incelendiğinde; yapılan çalışmaların, çoğunlukla ilacın primer endikasyonu olan antitusif etkisi ile ilgili olduğu görülmektedir. İlacın, kalsiyum kanalları üzerine olan etkisini araştıran çok az sayıda çalışma mevcuttur ayrıca bu çalışmaların ilacın kalsiyum iyonu ile olan ilişkisini tam olarak aydınlatmadığı da gözlenmiştir. (Kamei and Kasuya 1992, Franova and Nosalova 2004).

Çalışmamızda levodropropizin isimli ilacın kalsiyum iyonu ile olan ilişkisi yanında kardiyovasküler sistem üzerindeki olası hipotansif etkisi de araştırılmıştır. Elimizdeki bilgiler değerlendirildiğinde, diltiazem ile levodropropizinin kalsiyum kanalları üzerine paralel bir etki göstermesi beklenmiştir. Yapılan literatür taramasında bu konu ile ilgili daha önce yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, levodropropizinin etki mekanizmasını ve kalsiyum kanalları ile olan ilişkisini daha ayrıntılı olarak ortaya koymak ve antitusif

etkinin meydana gelişindeki temel mekanizmalar yanında bu etkiye kalsiyum iyonunun katkısını ortaya koymaktır.

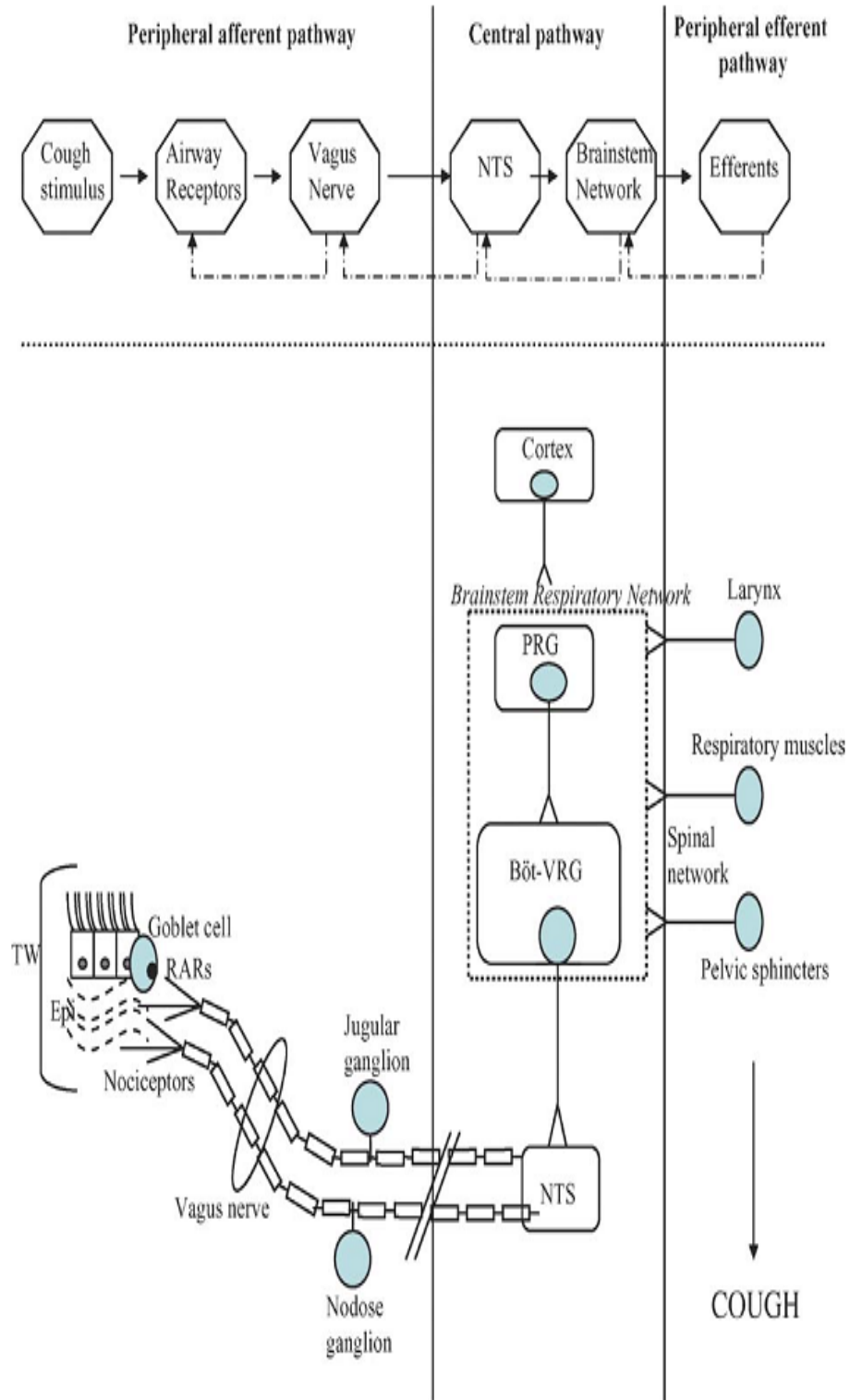
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Öksürük refleksinin oluşmasında nöronal ileti

Öksürük normal bireyde de var olan koruyucu ve fizyolojik bir refleks olup, istek ile veya istek dışı olarak gerektiği zaman aktive edilen, trakea, gırtlak ve büyük bronşların temizlenmesini sağlayan ana mekanizmadır. İstemli olarak başlatılıp baskılanabildiği gibi aynı zamanda öksürüğün refleks komponenti (Şekil 1) de vardır (Chang 2006). Beyin sapında 4. Ventrikülün tabanında medulla oblongata ve pons içinde öksürük ile ilgili uyarıları taşıyan sinir liflerinin sonlandığı nöron topluluklarından oluşan bir öksürük merkezi'nin varlığı genellikle kabul edilir (Kayaalp 2009).

Öksürük çoğu zaman solunum yollarının veya onun dışında kalan belirli bazı yerlerin irritasyonu sonucu oluşur. İnsan ve bazı deney hayvanlarında uyarılmaları sonucu kolayca öksürüğe neden olan solunum yolu bölgeleri gırtlak, trakea, karina ve büyük bronşların mukozasıdır. Plevra, periton, diyafragma, dış kulak yolu ve orta kulak epiteli ve mediastinumun uyarılması da öksürüğe neden olur. Bütün bu sayılan yerlerde bulunan ve uyarılması sonucu afferent sinirlerde, öksürüğe neden olan uyarıyı başlatan reseptörler kemoreseptörler ve mekanoreseptörlerdir; başka bir deyişle sırasıyla kimyasal veya mekanik etkenlerle uyarılırlar (Kayaalp 2009).

Kimyasal iletide rol oynayan sinaptik reseptörlerin görevleri, spesifik nörotransmitterleri tanımak ve hücre membran potansiyelini ya da biyokimyasal durumunu değiştirmek için gerekli olan efektör mekanizmaları aktif hale getirmektir. Bu reseptörler iyonotropik ve metabotropik olarak başlıca iki grupta incelenirler. Nörotransmitterler postsinaptik hücredeki iyon kanallarının açılmasını direkt veya indirekt etkilerler. İyon kanallarının direkt olarak açılmasını kontrol edenler iyonotropik reseptörler olarak adlandırılırlar ve yapıları içinde ligand kapılı iyon kanalları içerirler (hızlı nörotransmitter sistemi saliseler içinde etkiler). Nörotransmitteri tanıma ve efektör mekanizmanın aktivasyonu aynı molekül tarafından gerçekleştirilir. İyon kanallarının açılmasını indirekt olarak kontrol eden metabotropik reseptörler ikincil mesajcı yola birleşmişlerdir ve iyonotropik



Şekil 1: Öksürük refleksi oluşum yolağı

reseptörlere göre daha yavaş (saniye veya dakikalar içinde) etki ederler. Merkezi sinir sistemindeki bilinen tüm metabotropik reseptörler G-proteinlerine birleşmişlerdir ve 7 alt birimden oluşan transmembran bölgeleri vardır. G-proteinleri efektör enzim veya iyon kanallarının stimülasyonu ya da inhibisyonuna yol açan α , β ya da γ alt birimleri içerirler. Tipik olarak siklik adenosin monofosfat, inositol trifosfat, diaçil gliserol ya da arasıdonik asit gibi ikinci mesajcı yolla birleşirler. (<http://www.gata.edu.tr/cerrahibilimler/anestezi/Metin/MSS'deNoronalileti.doc>, Erişim: Mart 2010)

2.2. Kalsiyum Kanalları

Diğer kas tiplerinde olduğu gibi düz kaslarda da sitoplazmik serbest kalsiyum iyonu konsantrasyon artışı, kontraksiyonun başlaması için anahtar basamaktır. Düz kas hücrelerinde nörotransmitter veya hormonlar tarafından indüklenen kalsiyum iyonu konsantrasyonundaki artış, özellikle sarkoplazmik retikulum'da depolanan kalsiyum iyonunun salınımı ve ekstraselüler kalsiyum iyonunun hücre içine alınımıyla gerçekleşir. Kalsiyum iyonu giriş mekanizması birçok tipteki plazmalemmal kalsiyum kanalını içerir (Guibert et al., 2008). Bunlar şu şekilde sınıflandırılabilir:

A. Voltaja bağlı olan kalsiyum kanalları.

B. Reseptöre bağımlı kalsiyum kanalları

2.2.1. Voltaja bağımlı kalsiyum kanalları

Elektrofizyolojik ve farmakolojik açıdan farklı olan voltaja bağlı kalsiyum kanalları tespit edilmiştir. Bunlar: L-tip (uzun süreli), T-tip (kısa süreli) ve N-tip olarak adlandırılmıştır. Kanallar aktivasyon ve inaktivasyon kinetiklerine, iletimlerine, iyon özelliklerine, ilaçlara ve toksinlere duyarlılığına göre sınıflandırılmaktadır. Llinas et al. (1989) bazı nöronlarda yüksek eşikli voltaja bağlı

kalsiyum kanalları bulmuş ve bunları P-tip (purkinje hücreleri için) kanallar olarak adlandırmıştır. Kanallar değişik dokularda farklı özellikler gösterebilir (Genç 1997).

2.2.1.1. L-tipi kanallar

L-tipi kanallar özellikle kalp ve düz kaslı yapılarda olmak üzere dokularda genişçe yayılırlar. Bu kanalların dihidropiridinlere, fenilalkilaminlere ve benzotiazepinlere duyarlılığı yüksektir. İskelet kaslarında L-tipi kanalların yoğunluğu fazladır. L-tipi kanallar alfa-1, alfa-2, gama, delta gibi çeşitli alt birimlerden meydana gelir (Genç 1997).

Alfa-1 alt biriminin iskelet kası, kalp, akciğer, rat aorta, beyin ve insan kalbinde bulunduğu tespit edilmiştir. Bunlar L-tipi kanalların farklı izoformlarının olabileceğini göstermiştir. Bu alt birim nifedipin gibi dihidropiridinler, verapamil gibi fenilalkilaminler ve diltiazem gibi benzotiazepinler için bağlanma ve fosforilasyon bölgelerini taşır. Bu alt birimin özellikle membran geçiş bölgeleri olmak üzere yaklaşık olarak %55'i sodyum kanallarına benzemektedir. Bu yüzden bazı ilaçlar sodyum kanalları ve L-tipi kanalların her ikisine birlikte afinite gösterirler (Genç 1997).

Alfa-2 alt birimi ise, kalsiyum antagonisti ilaçlar için bağlanma yerleri olmayan ve bir kanal gibi rol oynamayan yapıdadırlar (Genç 1997).

Beta alt biriminin kanal aktivasyon ve inaktivasyon oranını artırdığı ve alfa-1 alt biriminde de dihidropiridin bağlanmasını değiştirdiği gösterilmiştir. Beta alt birimi alfa-1 alt birim ile birlikte akımı önemli derecede artırabilir (Genç 1997). Varadi et al. beta alt biriminin varlığında dihidropiridin bağlanma yerinin sayısının arttığını göstermişlerdir.

Gama alt birimi ilk defa iskelet kasında gösterilmiştir. Bu alt birimin fonksiyonu henüz tam olarak bilinmemektedir (Genç 1997).

L-tipi kalsiyum kanalları moleküler genetik araştırmalarında yüksek afiniteli ilaçların varlığından dolayı rölatif olarak çok iyi tanımlanmışlardır ve basitçe dihidropiridinlere duyarlı kanallar olarak adlandırılabilir (Genç 1997).

2.2.1.2. T-tipi kanallar

T-tipi kanallar (geçici hızlı), L-tipi kanallardan farklı elektrofizyolojik özelliklere sahiptir. T-tipi kanalların aktivasyonu ve inaktivasyonu için dűřük uyarılar yetmektedir ve çeřitli dokularda pacemaker aktivite için önemlidir. T-tipi kanalların sinoatrial dűđüm, dűz kas hűcreleri ve nűronlarda yođunlařtıđı gűsterilmiřtir. Bu yerler aktivitenin bařlamasından sorumludur. T-tipi kanalların spesifik blokerleri çok azdır (Genç 1997).

2.2.1.3. N-tipi kanallar

N-tipi kanallar ("Nűral"/"Non-L") yűksek voltajla aktive edilir ve sinir terminallerinin depolarizasyonunu takiben nűrotransmitter salınımına neden olurlar. N-tipi kanalların fonksiyonları G-proteinler gibi reseptűre bađlı ikincil haberci sistemler tarafından deđiřtirilebilirler. N-tipi kalsiyum kanalları N-metil-D-aspartik asid (NMDA) reseptűr agonistleri ile selektif olarak inhibe edilirler. N-tipi kanallar hipokampal piramidal nűronların soma, dendrit ve dendritik uçlarında da lokalize olduđu bildirilmiřtir. Farklı dokularda N-tipi kanalların elektrofizyolojik özellikleri deđiřkenlik gűstermektedir (Genç 1997).

2.2.1.4. P-tipi kanallar

P-tipi kanallar serebellar purkinje liflerinde tanımlanmıştir. Serebellar purkinje ve granűl hűcreleri, dihidropiridin ve konotoksinlere dirençlidirler. Bu kanallar beyinde diđer kalsiyum kanal tiplerinden daha fazla olup beyinde birçok

alandaki hücre tipinde nörotransmitter salınımından sorumlu olabilirler. Bu kanallar düşük düzeyde inaktive edilirler (Genç 1997).

2.2.2. Reseptöre-bağımlı kalsiyum kanalları

Hücre membranında özel bir G proteini aracılığı ile bir reseptöre kenetlenmiş olarak bulunan ve reseptörü aktive eden agonist madde tarafından aktivasyonu ile açılan kanallardır (Kayaalp 92). Birçok kaynakta, viseral ve vasküler düz kaslarda bulunan reseptöre bağlı kalsiyum kanallarının muskarinik ve adrenerjik reseptörler ile aktive edildiği bilinmektedir (Thorneloe and Nelson 2005). Bunların dışında histamin, endotelin-1, nörokinin A, substans P, urasiltrifosfat ve vazopressin gibi agonistler de bu kanalları aktive etme yeteneğine sahiptir (McFadzean and Gibson 2002).

Muskarinik reseptörler tarafından aktive edilen reseptöre bağlı kalsiyum kanalları birçok düz kaslı yapıda tanımlanmıştır. Bunlar; gastrik, trakeal, jejunum, ileum ve pilorik sirküler düz kas hücreleridir (Lee et al. 2003, Wang et al. 1997, Pacaud and Bolton 1991, Komori et al. 1992, Vogalis and Sanders 1990).

Reseptöre bağlı kalsiyum kanallarının düz kas hücre membranını depolarize ederek voltaja bağlı kanallardan kalsiyum geçişi için gerekli olan stimülasyonu sağlayabileceği iyi bilinmektedir (Thorneloe and Nelson 2005). Hücrenin istirahat membran potansiyelinde, reseptöre bağlı kalsiyum kanallarının aktivasyonu ile büyük oranda sodyum iyonları tarafından taşınan içeriye doğru bir akım oluşur. Bu akım sonucu oluşan membran depolarizasyonu sayesinde voltaja bağlı kalsiyum kanallarının açılır ve içeri giren kalsiyum iyonları kontraksiyona neden olur. Bu mekanizma voltaja bağlı kalsiyum kanallarından bağımsız olarak gerçekleşen yalnızca reseptör stimülasyonu sonucu kalsiyum alımının aracılık ettiği bir düz kas kontraksiyon mekanizmasıdır (Large 2002).

Bu kanallar, voltaja bağımlı kanalların aksine in vitro ortamda yüksek potasyum ile oluşturulan depolarizasyonda kalsiyum girişine neden olmazlar. Kalsiyum antagonistleri bu tip kanalları voltaja bağımlı kanallarda olduğu kadar

güçlü bir şekilde bloke etmezler. İn vitro koşullarda kalsiyumsuz ortamda agoniste bağlı kasılmalar görülmez ancak bazı agonistler reseptör aktivasyonu üzerinden kalsiyum kanallarına dokunmaksızın hücre içindeki depolardan intraselüler kalsiyum salıvermek suretiyle kasılma meydana getirirler (α_1 adrenoseptör agonisti fenilefrin'in yaptığı gibi). Bu şekilde meydana gelen kasılmalar genelde kalsiyum antagonistleri ile veya ortamdaki kalsiyumu uzaklaştırmakla ortadan kalkmazlar.

Kaynaklara göre bazı agonistler tarafından intraselüler depolardan kalsiyum salıverilmesinde hücre içinde oluşan inozitol trifosfatın rol oynadığı belirtilmiştir ancak son yapılan çalışmalar reseptöre bağlı kalsiyum kanallarının da içinde bulunduğu non-selektif katyon kanallarının yalnızca intraselüler inozitol trifosfat tarafından değil diaçilgliserol ve analogları tarafından da aktive edildiğini ortaya koymuştur (Kayaalp 1992, Large 2002).

Reseptöre bağlı kalsiyum kanallarının damarlarda bulunan bir alt tipi de α_2 -adrenerjik reseptörlere bağımlı olan kanallardır. Bunlar, kural-dışı olarak kalsiyum antagonistleri ile güçlü bir şekilde bloke edilirler (Kayaalp 1992).

2.3. Öksürük Refleksinin İyonlarla Ve İyon Kanalları İle Olan İlişkisi

Solunum yolları mukoza ve submukozasındaki öksürük ile ilişkili reseptörler vagal afferent sinirlerinde bulunmaktadır. Bu afferent nöronlarda bulunan reseptörler farklı uyarılara farklı hassasiyet gösterir (Chang 2006).

Afferent solunum yolları reseptörleri 4 büyük sınıfa ayrılır (Chang 2006).

1. Hızlı adapte olan reseptörler
2. Yavaş adapte olan reseptörler
3. C lifleri
4. Diğerleri (nosiseptörler, farklı öksürük reseptörleri)

Öksürük, sadece nervus vagusun innerve ettiği bölgelerin stimülasyonu ile ortaya çıkarılabilir (Widdicombe 1995). İnsanlarda ve deney hayvanlarında bilateral

vagotomi öksürük refleksini büyük ölçüde veya tümüyle ortadan kaldırmaktadır (Kayaalp 2009). Öksürüğe neden olan uyarılar nervus vagus aracılığıyla farklı embriyolojik yapıya sahip olan jugular ve nodoz ganglionlara ulaşır (Chang 2006). Hızlı adapte olan reseptörlerin büyük bir kısmı (epitelyuma ulaşmayan) nodoz ganglion ile ilişkiliyken, nosiseptör lifler (epitelyuma ulaşan) jugular ganglionla ilişkilidir (Undem et al. 2002).

Solunum yolları afferent sinirlerindeki sinaptik nörotransmisyon, postsinaptik dendritler üzerindeki reseptörleri aktive eden nörotransmitterlerin salınması ile gerçekleşir. Bunlar reseptöre bağımlı iyon kanallarıdır. Bu kanalların açılmasıyla içeriye doğru katyonik akımlar artar ve membran depolarizasyonu gerçekleşir (Undem and Carr 2001).

Jeneratör potansiyel olarak bilinen terminal membran depolarizasyonu aksiyon potansiyel deşarjını başlatır ve eğer bu jeneratör potansiyel yeterli amplitudde ise rejeneratif aksiyon potansiyel deşarjı meydana gelir. Öksürük refleksi ile ilişkili duyu nöronları jeneratör potansiyeli uyarma yeteneğine sahiptir. Öksürük jeneratör potansiyeli ile ilişkili başlıca 2 reseptör grubu vardır: (Page et al. 2004)

1. Ligand-kapılı iyon kanalları (iyonotropik)
2. G-protein kenetli reseptörler (metabotropik)

Örneğin, bir öksürük stimulanı olan kapsaisin, vanniloid reseptörleri gibi iyonotropik reseptörler üzerinden etki gösterir (Materazzi et al. 2009).

Afferent nöronlarda aksiyon potansiyel oluşumu farklı tipteki voltaja bağımlı iyon kanalları tarafından da belirlenir. Özellikle sodyum ve potasyum kanallarının aksiyon potansiyelinin oluşmasında önemi büyüktür (Waxman et al. 1999, Christian and Togo 1995, Carr 2007). Öksürük ile ilişkili afferent nöronlardaki aksiyon potansiyel oluşumu hem öksürüğü hem de öksürük isteğini etkiler (Carr 2007).

İyon kanallarını modifiye eden bileşikler solunum yolu afferent sinirlerindeki iyon akımını azaltıp artırabilir ve bu yolla respiratuar refleks aktivitesini değiştirmektedir (Franova and Nosalova 2004). İyon kanalları aracılığıyla öksürük refleksinin modulasyonu hakkında sınırlı bilgi bulunmasına rağmen lokal

anestezikler ve voltaj bağımlı sodyum kanal inhibitörlerinin öksürük refleksi inhibe ettiği bilinmektedir (Carr and Undem 2001).

2.4. Kalsiyum kanal blokörleri

Gerek koroner damar düz kas hücrelerinin ve gerekse myokard hücre membranındaki voltaja bağlı kalsiyum kanallarından ekstraselüler kalsiyumun depolarizasyon sırasında hücre içine girişini bloke eden ilaçlardır. Bunlara kalsiyum antagonisti adı da verilir. Tedavide antianjinal, antihipertansif, antiaritmik olarak kullanılırlar. Sözkonusu ilaçların hücre membranı içinden geçen kalsiyum kanallarını inhibe etme etkileri dışında kalsiyumla ilişkili başka direkt etkileri yoktur. Damarların özellikle arteriollerin düz kaslarını gevşeterek güçlü vazodilatör etki yaparlar.

Kalsiyum iyonları gerek myokard gerekse damar düz kas hücrelerinde eksitasyon-kontraksiyon kenetini oluştururlar. Çizgili kaslarda eksitasyona bağlı intraselüler kalsiyum düzeyi artışı kas hücresi membranındaki kanallardan giren kalsiyuma değil, sarkoplazmik retikulumdan salıverilene bağlı olduğu için kalsiyum kanal blokörü ilaçların çizgili kas kasılması ve tonusu üzerinde bir etkisi yoktur.

Kalsiyum kanal blokörlerinin halen kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılanları yapıca farklı üç alt-gruba ayrılırlar:

1. Dihidropiridin türevleri: Nifedipin, amlodipin gibi
2. Fenilalkilamin türevleri: Verapamil, gallopamil gibi
3. Benzotiazepin türevleri: Diltiazem gibi

Sayılan bu ilaçlar kalsiyum kanallarının L tipine yüksek afinite gösterirler ve L tipi kanalın, kanalı içeren ana alt biriminde (alfa-1) yapıca farklı üç grup ilaç için ayrı bağlanma yerleri bulunur. Bu ilaçların damar dışı düz kas hücrelerinin kalsiyum kanallarına afiniteleri ve bunlar üzerindeki etkinliği düşüktür.

Dihidropiridin türevi blokörlerle yukarıda belirtilen diğer iki grup ilaç arasında farmakolojik etki profili bakımından fark vardır. Bu farklılık damar düz kaslarındaki ve kalp kasındaki etki güçleri arasındaki farka dayanır. Şöyle ki dihidropiridin türevleri vazoselektif olup vazodilatasyon yapan konsantrasyonlarda kalp kası ve diğer kalp hücreleri üzerinde genellikle belirgin bir inhibitör etki yapmazlar ancak fenilalkilamin türevleri ve benzotiazepin türevleri vazodilatör etki yapan konsantrasyon düzeylerinde kalpte myokard hücreleri ve özellikle nodal hücreler üzerinde belirgin depresif etkileri vardır. Fenilalkilamin türevlerinin kardiyak depresan etkileri, benzotiazepin türevlerine göre daha belirgindir.

Kalsiyum kanal blokörlerinin damar genişletici etkisi arteriollerde belirgindir; venüller üzerindeki gevşetici etkileri ise önemsiz derecededir. Hipertansiyon ne kadar ağırsa bu ilaçların vazodilatör etkileri o kadar fazla belirgin olur. Vazodilatör etkilerinin meydana gelmesinde kısmen damar endotelinden nitrik oksit salıverilmesinin rolü vardır ayrıca kalpte de nitrik oksit salıverilmesini arttırdıkları gösterilmiştir.

Kalsiyum kanallarının ilaçlara olan duyarlılığı da farklıdır. Buna örnek olarak dihidropiridin türevi ilaçların (nifedipin v.b) sadece L tipi kanallar üzerinde duyarlılığa sahip olması verilebilir.

2.5. Düz kas kasılmaları ve bunun kalsiyumla olan ilişkisi

Düz kas kasılması intraselüler kalsiyum düzeyinin artışıyla meydana gelir (Levy and Koeppen 2008). Kasılmaya neden olan kalsiyum iyonlarının hemen hepsi aksiyon potansiyeli veya diğer uyarılar sırasında ekstraselüler sıvıdan kas hücresi içine girer (Guyton and Hall, 2007). Hücre içi kalsiyum konsantrasyonundaki bu artış, düz kasta miyozini etkiler ve kontraksiyona neden olur (Levy and Koeppen 2008).

Düz kasın uyarılması ile meydana gelen kasılma arasındaki bağlantıyı sağlayan mekanizmalardan biri sarkolemma diğeri sarkoplazmik retikulumda olmak üzere iki kalsiyum havuzunu içerir. Sarkolemma, ekstraselüler kalsiyumun giriş-

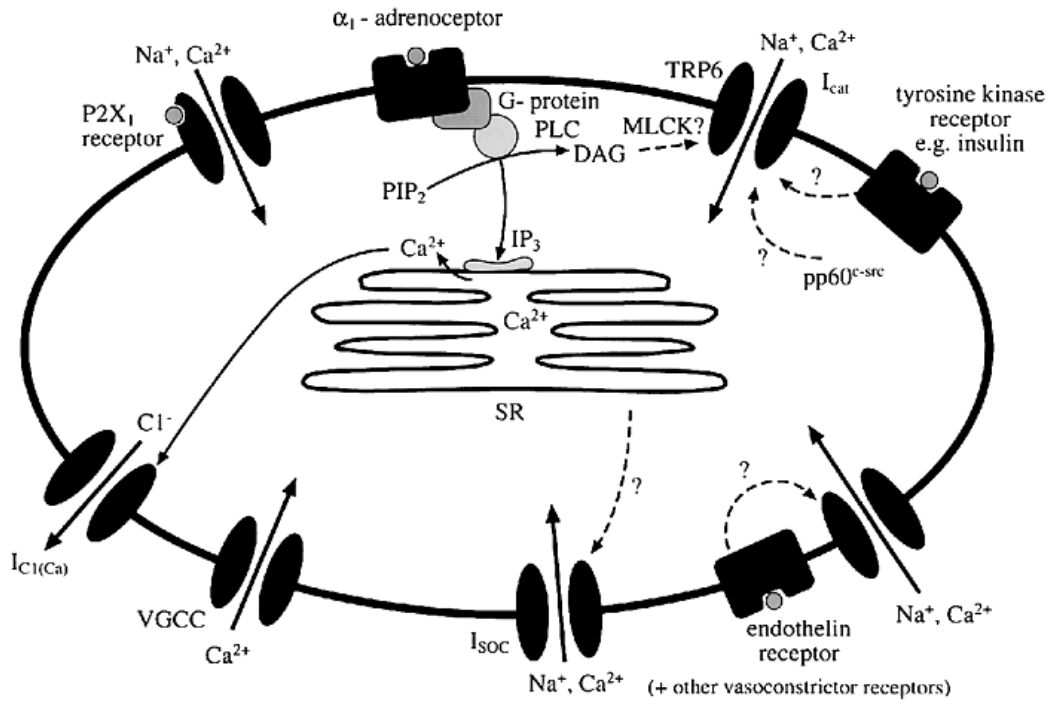
çıkışını düzenler. Sarkoplazmik retikulum ise miyoplazmayla hücre içi havuz arasındaki kalsiyum hareketlerini belirler (Şekil 2). İskelet kasında meydana gelen kasılmalar ekstraselüler kalsiyuma ihtiyaç duymaz. Oysa düz kasın kasılmasında ekstraselüler kalsiyum önemlidir. Bu yüzden, miyoplazmik kalsiyum konsantrasyonunun düzenlenmesi yalnızca sarkoplazmik retikulum ile değil, sarkolemmayla da ilişkilidir (Levy and Koeppen 2008).

Kontraksiyona yol açan miyoplazmik kalsiyum konsantrasyonundaki artış, sarkoplazmik retikulumdan salınan kalsiyum ile olduğu gibi, voltaja bağlı kalsiyum kanalları (elektromekanik çiftlenim) ve sarkoplazmadaki reseptöre bağlı kalsiyum kanalları (farmakomekanik çiftlenim) ile olmaktadır (Kayaalp 2009).

Çeşitli etkenlerin sarkolemma kalsiyum kanalları üzerine uyarıcı etkilerine ek olarak, miyoplazmik kalsiyum konsantrasyonunu azaltan ve böylece düz kası gevşeten çeşitli baskılayıcı faktörler bulunmaktadır. Örneğin dihidropridin sınıfı kalsiyum kanal blokörleri, sarkolemmal L tipi voltaj kapılı kalsiyum kanalları aracılığıyla kalsiyum girişini azaltır ve vazomotor tonusu düşürürler (Levy and Koeppen 2008).

2.6. Fenilefrinin etki mekanizması

Adrenalin, noradrenalin ve fenilefrin gibi ilaçların etkilediği reseptörler, adrenerjik reseptörlerdir ve bunları etkileyen ilaçlara da semptomimetik ilaçlar adı verilir. Fenilefrin, bir alfa adrenerjik reseptör agonistidir ve etkisini efektör organlardaki postsinaptik α_1 reseptörleri etkileyerek gösterir. Düz kaslı yapılarda bu agoniste bağlı meydana gelen kasılmalar doğrudan α_1 reseptörlerin uyarılmasıyla meydana gelir. Fenilefrin-reseptör kompleksi bir G protein aracılığıyla fosfatidilinozitol den inozitol trifosfat sentezlenmesini sağlayarak fosfolipaz-C enzimini aktif hale getirir. Bu olaylar sonucunda sarkoplazmik retikulumdan sitozole kalsiyum salıverilir. Bu olaylar reseptör-agonist etkileşimi sonrası meydana gelen ve reseptör sonrası olaylar olarak bilinen transdükleme mekanizması içerisinde geçen olaylardır (Kayaalp 1992).



Şekil 2: Vasküler düz kas kasılmasında kalsiyum iyonunun rolü

Adrenerjik sistemin bir agonist tarafından uyarılması ile meydana gelen farmakolojik etkileri tiplerine göre ayırmak gereklidir çünkü pek çok ilaç özellikle bir tek tip reseptörü uyarır veya bloke eder. Fenilefrin bu anlamda sadece α_1 reseptörleri uyararak başta damarlarda vazokonstriksiyon olmak üzere diğer efektör yapıların normal fizyolojik fonksiyonlarına uygun sempatik cevapları meydana getirirler (Mycek et al. 1997).

2.7. Levodropizin

Levodropizin'in öksürük merkezi üzerine olan etkisi söz konusu değildir. Hava yolu mukozasında afferent C sinir lifi ucundan nöromodülatörlerin salınımını inhibe ederek ve afferent liflerde sinaptik aşırımı engelleyerek etkisini gösterir

(<http://www.gata.edu.tr/cerrahibilimler/anestezi/Metin/MSS'deNoralileti.doc>.
Erişim: Mart 2010).

2.7.1. Farmakodinamik Özellikleri

Levodropropizinin antitusif etkisi periferik ve trakeobronşiyal seviyededir (http://www.abdiibrahim.com.tr/pdf/levopront_surup.pdf Erişim: Ocak 2010).

2.7.2. Farmakokinetik Özellikleri

Oral yolla alındığında biyoyararlanımı % 75' den yüksek olarak bulunmuştur. Plazma proteinlerine bağlanma oranı düşüktür (% 11 – 14). Levodropropizin insanlarda oral yolla alınmasıyla hızla emilmekte ve dağılımı hızlı olmaktadır. Yarılanma ömrü 1-2 saat civarındadır. Atılımı, temel olarak idrar yoluyla olmaktadır. Etken madde vücuttan hem değişmemiş hem de konjuge veya serbest levodropropizin ve konjuge p-hidroksilevodropropizin metabolitleri şeklinde olmaktadır. 48 saat içinde bu madde ve metabolitlerinin idrar yolu ile atılımı verilen dozun yaklaşık % 35' i kadardır. Tekrarlanan dozlarda örneğin 8 günlük bir tedavi sürecinde ilacın absorpsiyonunda ve atılımında bir değişme, vücutta birikme ya da metabolik otoindüksiyon söz konusu olmamaktadır. Çocuklarda, yaşlılarda ve orta veya ileri derecede böbrek yetmezliği olan vakalarda da farmakokinetik profilinde anlamlı bir fark yoktur. (http://www.abdiibrahim.com.tr/pdf/levopront_surup.pdf. Erişim: Ocak 2010).

2.7.3. Endikasyonları

Kuru öksürüğün semptomatik tedavisinde endikedir. (http://www.abdiibrahim.com.tr/pdf/levopront_surup.pdf. Erişim: Ocak 2010).

2.7.4. Kontrendikasyonları

İlaca karşı bilinen veya şüphelenilen aşırı duyarlılık vakalarında, gebelik ve emzirme dönemlerinde, ağır karaciğer yetmezliği olan kişilerde, Kartagener sendromu, siliyer diskinezi gibi mukosilyer temizlik mekanizmasında azalma olan vakalarda kontrendikedir (http://www.abdiibrahim.com.tr/pdf/levopront_surup.pdf. Erişim: Ocak 2010).

2.7.5. Yan Etkiler / Advers Etkiler

Görülen yan etkiler genellikle hafif ya da orta şiddette olup geçicidir. Bu yan etkiler; bulantı, yanma, dispepsi, diyare ve kusma gibi gastrointestinal şikayetlerdir ayrıca santral sinir sisteminde yorgunluk ve/veya asteni, halsizlik, uyuşukluk, baş ağrısı ve vertigo gibi ve kardiyovasküler sistemde taşikardi olarak sayılabilir. Nadiren deride allerjik reaksiyonlar gösterdiği saptanmıştır (http://www.abdiibrahim.com.tr/pdf/levopront_surup.pdf. Erişim: Ocak 2010).

2.7.6. İlaç Etkileşmeleri

Her ne kadar klinik çalışmalar süresince benzodiazepinler ile bir etkileşim gözlenmemişse de, özellikle sedatif ilaç alanlarda dikkatli olunması gerekebilir. Buna rağmen daha sık kullanılan bezodiazepinlerle bir etkileşmesinin olmadığı da gözlenmiştir (http://www.abdiibrahim.com.tr/pdf/levopront_surup.pdf. Erişim: Ocak 2010).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Yapılan bu in vitro çalışmada, her iki seksten albino tavşanlar (2-2,5 kg) kullanıldı. Hayvanlar, karotis arterleri kesilerek öldürüldü. Göğüs açılarak torasik aorta süratli bir şekilde çıkarılıp, içinde Krebs-Henseleit solüsyonu bulunan besleyici solüsyona alındı. Çevre dokulardan temizlenen torasik aortadan 2-3 mm genişliğinde halkalar hazırlandı. Yukarıda belirtilen şekilde hazırlanan dokular, 37°C'de ısıtılan ve içerisinde 25 ml Krebs-Henseleit solüsyonu bulunan izole organ banyosuna alındı. Preparatlar, %95 O₂+%5 CO₂ (karbojen gazı) ile sürekli olarak gazlandırıldı. Dokulara 1g'lık istirahat gerilimi uygulandı. Agonist ve antagonistlere verilen cevaplar bir transduser aracılığıyla (Panlab LE 01.046) izometrik olarak kaydedildi. Dokular 15 dk. ara ile yıkanarak 90 dk. dinlenmeye bırakıldı. Dinlenme periyodunun bitiminde çalışmanın birinci bölümü olan, levodropropizin kalsiyum iyonu ile ilişkisini belirlemek amacıyla dokular, içerisinde 0,77 mM Na₂EDTA bulunan kalsiyumsuz ortama alınarak 60 dk.'lık inkübasyona bırakıldı. Süre bitiminde banyo ortamına 10⁶M fenilefrin ilave edilerek dokular kasıldı. Maksimum kasılma elde edildikten sonra ortama kümülatif konsantrasyonda (10⁴-10²M) kalsiyum ilave edilerek meydana gelen kasılmalar gözlemlendi. Kontrol amacıyla yapılan bu uygulamadan sonra dokular, normal Krebs solüsyonu ile yıkanıp tekrar kalsiyumsuz ortama alınarak 60 dk.'lık dinlenme periyoduna alındı. Preparatlar aynı agonistle kasıldıktan sonra ortama 10⁵M levodropropizin ilave edilerek 15 dk. süreyle inkübasyon yapıldı. Bu sürenin sonunda kümülatif konsantrasyonda kalsiyum uygulanarak levodropropizin bu kasılmaları inhibe etme gücü araştırıldı.

Çalışmanın ikinci bölümünde ise, levodropropizin ile bir kalsiyum kanal blokörü olan diltiazemin arasında güç kıyaslaması yapılması amaçlandı. Bunun için preparat normal solüsyonla yıkandı. Dinlenme periyodunun bitiminde 10⁶M fenilefrin ile kasıldı. Plato fazı oluştuğundan sonra, antagonistlerden biri kümülatif konsantrasyonda (10⁹-10⁴M) uygulandı. Maksimum gevşeme cevapları elde edildi. Her dokuda sadece bir antagonist denendi.

3.1. Besleyici solusyon ve ilaçlar

3.1.1. Deneylerde kullanılan Krebs-Henseleit solusyonunun içeriği mM olarak şöyledir:

NaCl.....	119 mM
KCl.....	4,7 mM
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	1,5 mM
KH ₂ PO ₄	1,2 mM
CaCl ₂ .6H ₂ O.....	2,5 mM
NaHCO ₃	25 mM
Glukoz.....	11 mM

3.1.2. Na₂EDTA içeren kalsiyumsuz solusyonun içeriği mM olarak şöyledir:

NaCl.....	119 mM
KCl.....	4,7 mM
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	1,5 mM
KH ₂ PO ₄	1,2 mM
NaHCO ₃	25 mM
Glukoz.....	11 mM
Na ₂ EDTA.....	0,77 mM

3.2. Deneylerde aşağıda kullanılan agonist ve antagonist ilaçlar

Fenilefrin hidroklorür (P6126 Sigma),

Levodropropizin liyofilize form (Abdi İbrahim İlaç Sanayi ve Tic A.Ő.)

Diltiazem hidroklorür liyofilize ampul (Mustafa Nevzat İlaç Sanayii A.Ő)

3.3. İstatistiksel analiz

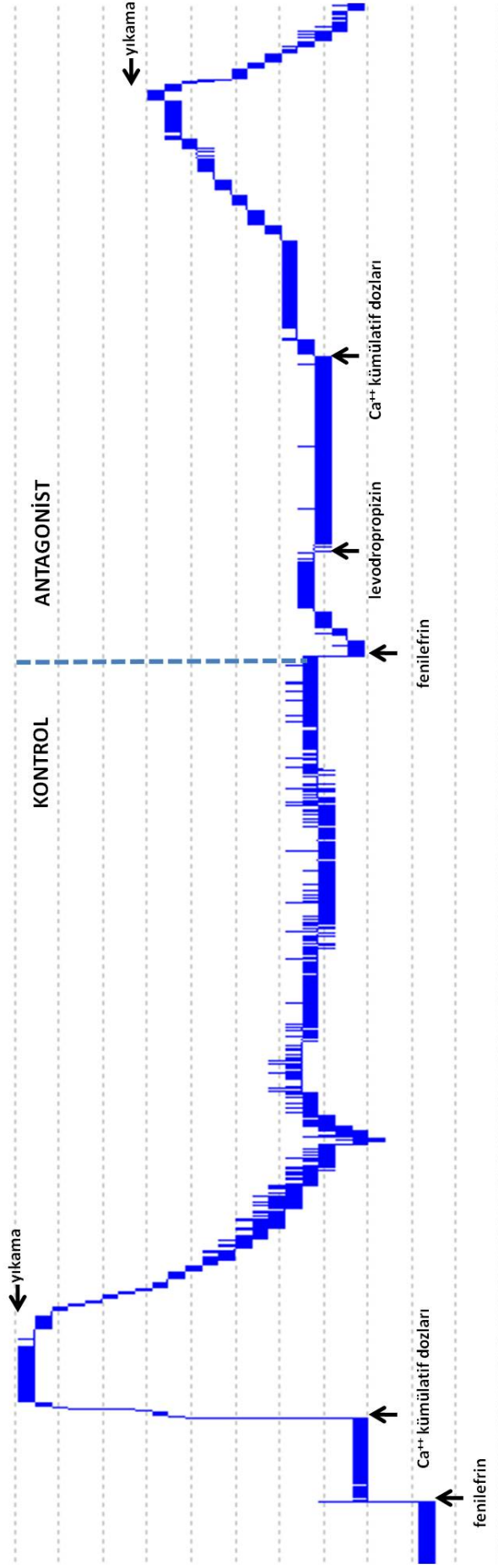
Kalsiyumsuz ortamda fenilefrin ile kasılan dokular üzerine kümülatif konsantrasyonda uygulanan kalsiyum ile elde edilen cevaplar, maksimum cevap (%100) olarak kabul edildi. Levodropropizin varlığında kümülatif konsantrasyonda uygulanan kalsiyuma verilen cevapların yüzde değerleri, maksimum cevap esas alınarak hesaplandı. İkinci aşamada yapılan normal Krebs-Henseleit solusyonunda antagonistlerin oluşturduğu gevşeme cevapları, agonistle elde edilen maksimum kasılma cevabının %'si olarak belirlenip, her iki antagoniste ait IC₅₀ değerleri hesaplandı.

İstatistiksel analiz ve hesaplamalar SPSS 15.0 for Windows yazılımı kullanılarak yapıldı. Çalışmalarda elde edilen değerler, ortalama \pm standart hata şeklinde belirtilip, ortalamalar arasındaki farkın anlamlılık derecesi "student's t test" ile hesaplandı. p değerinin 0,05'den küçük olması halinde ortalamalar arasındaki fark anlamlı olarak kabul edildi. Grup içi analizlerde eőleřtirilmiő, gruplar arası analizlerde ise eőleřtirilmemiő test uygulandı.

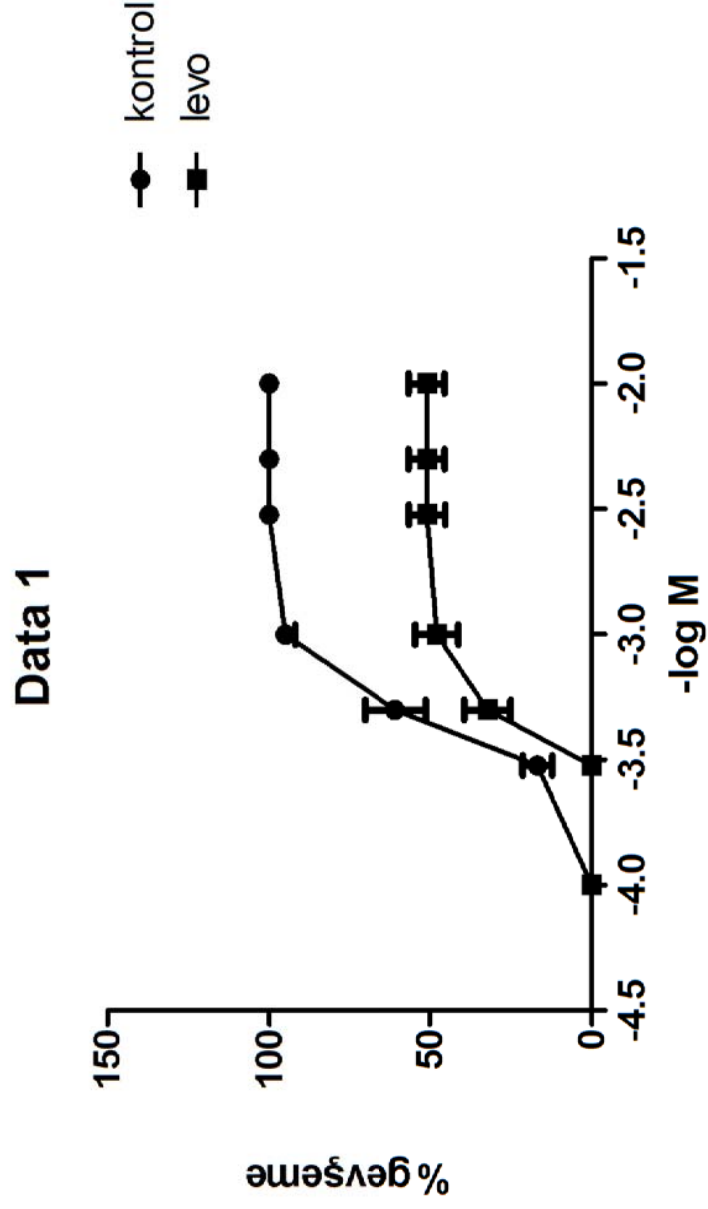
4. BULGULAR

Tavşan torasik aortunda, kalsiyumsuz ortamda uygulanan fenilefrin, tekrar edilebilir nitelikte kasılmalara neden oldu. Bu agonistin varlığında kümülatif konsantrasyonda uygulanan kalsiyum, konsantrasyona bağımlı bir şekilde kasılmalar meydana getirdi (Şekil 3). Kalsiyum kanalları üzerine etkisi araştırılan levodropropizin, kalsiyum ile elde edilen maksimum cevabı $51,1 \pm 5,56$ oranında inhibe etti (Şekil 4). Bu değerler istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

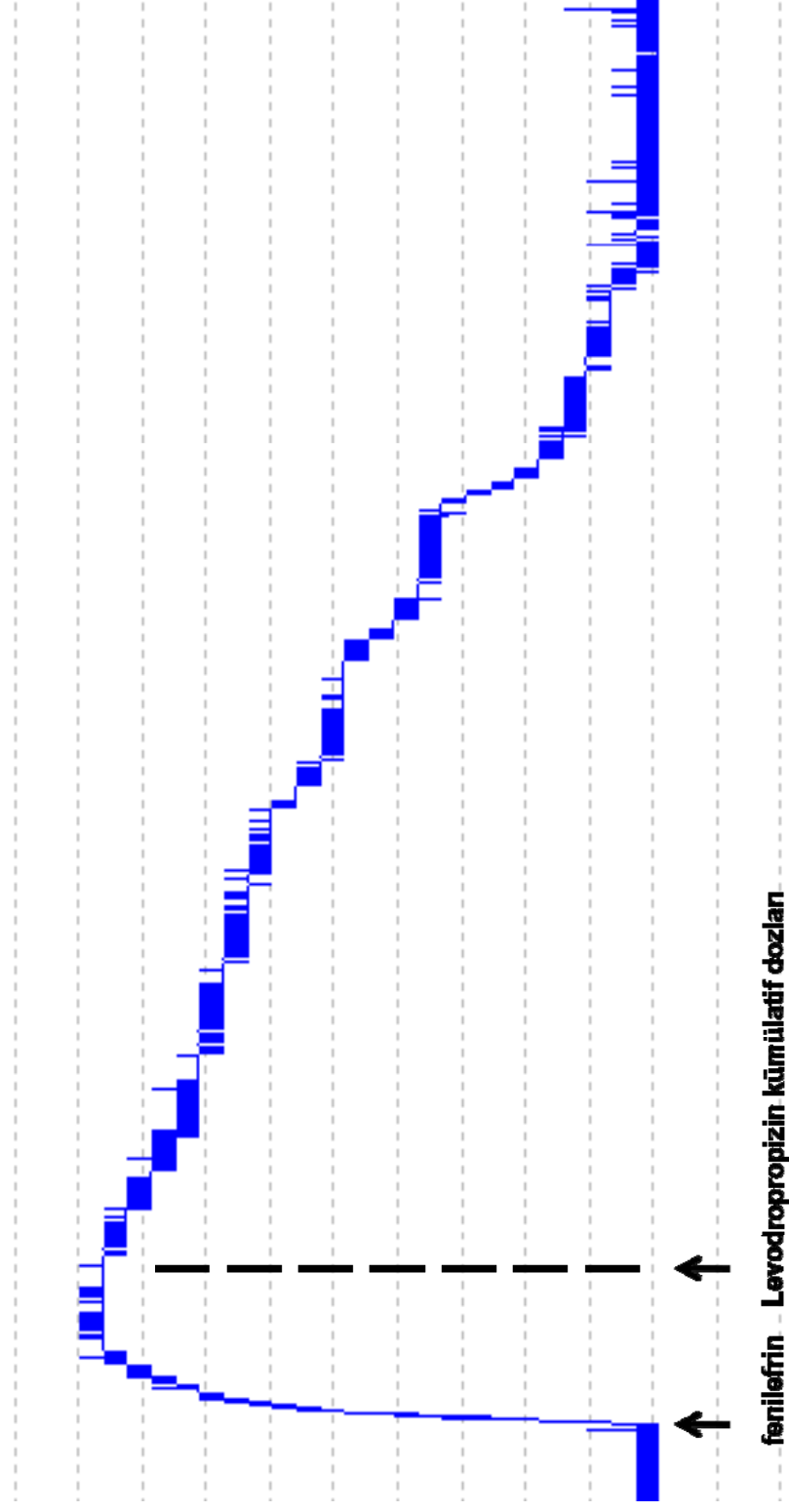
Çalışmanın diğer bölümünde ise normal Krebs solusyonlu ortamda fenilefrinle meydana gelen kasılmaları, doku üzerine kümülatif konsantrasyonda uygulanan levodropropizin ve diltiazem inhibe etti (Şekil 5-6). Söz konusu kasılmaları levodropropizin $95,96 \pm 3,12$ oranında, diltiazem ise $78,28 \pm 6,78$ oranında inhibe etti ($p < 0,05$, Şekil 7). Söz konusu antagonistlere ait IC_{50} değerleri sırasıyla $8,03 \times 10^{-6} \pm 0,04$ M ve $3,2 \times 10^{-5} \pm 0,04$ M olarak bulundu. Kullanılan bu antagonistlerin inhibitör güçleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak aralarında fark olmadığı görüldü ($p > 0,05$).



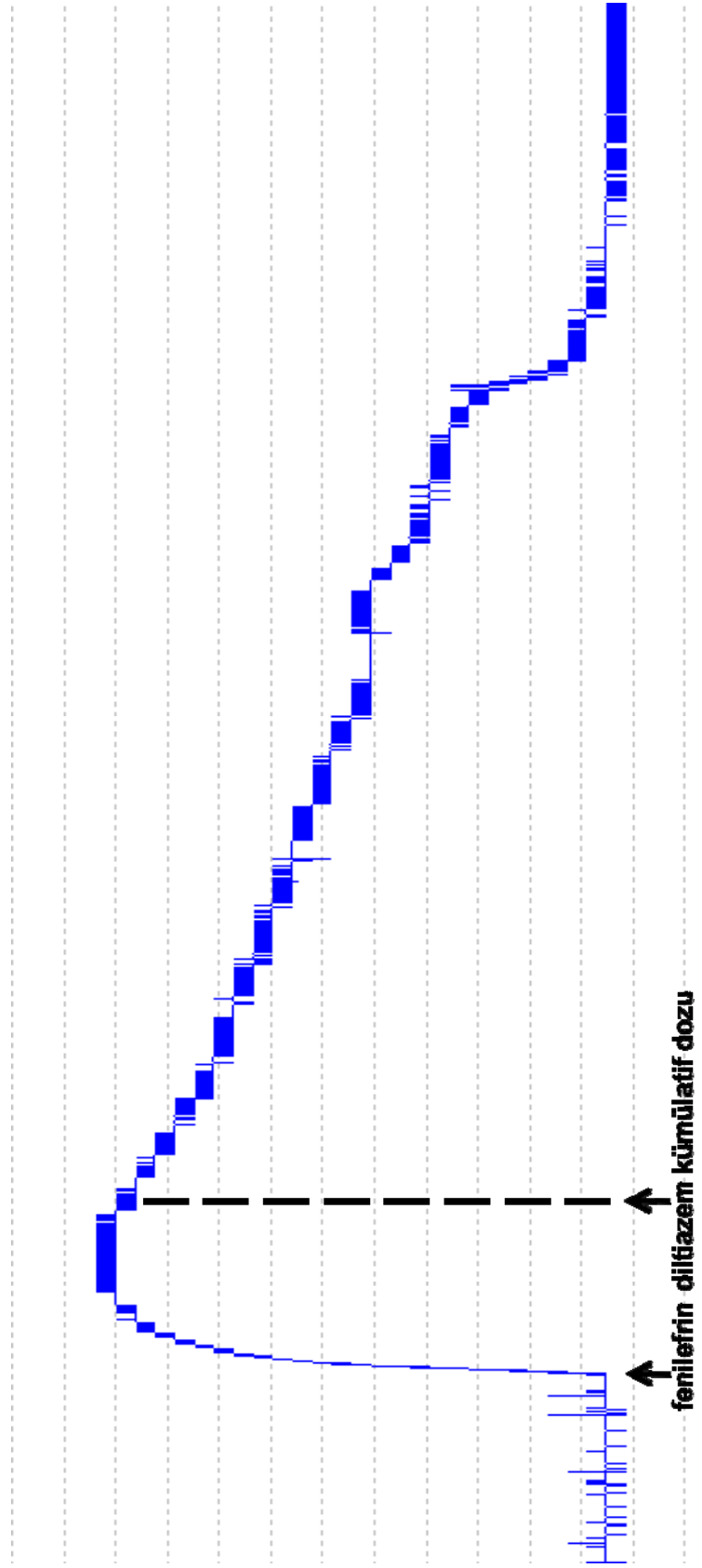
Şekil 3: Kalsiyumsuz ortamda fenilefrine bağlı kasılma yanıtı sırasıyla; antagonist bulunmayan (kontrol) ve antagonist (levodropropizin) varlığında.



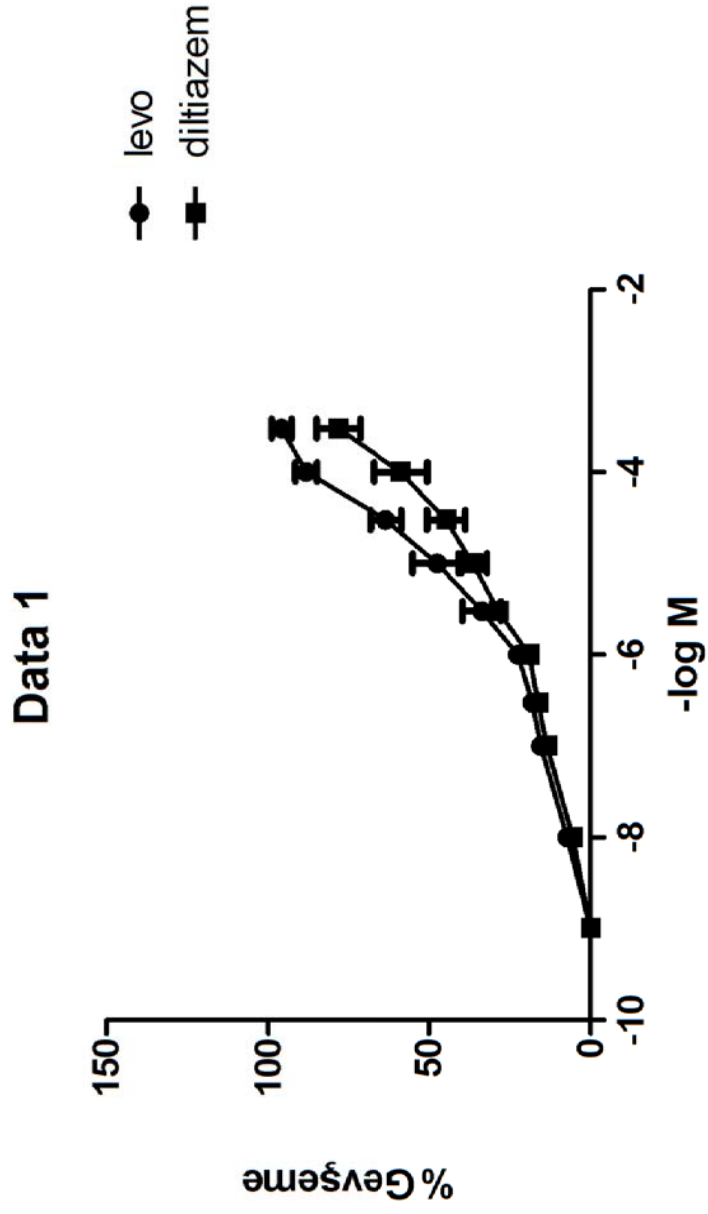
Şekil 4: Kalsiyumsuz ortamda fenilefrin ile kasılan dokuda, ortama ilave edilen kalsiyuma bağlı maksimum cevaplara levodropropizinin etkisi.



Şekil 5: Normal solusyonda fenilefrine bağı kasılma cevapları üzerine levodropropizinin inhibisyonu.



Şekil 6: Normal solusyonda fenilefrine bağı kasılma cevapları üzerine diltiazemin inhibisyonu.



Şekil 7: Normal solüsyonda fenilefrine bağlı kasılma üzerine, levodropropizinin ve diltiazemin oluşturduğu gevşeme cevapları.

5. TARTIŞMA

Düz kaslı yapılarda intraselüler kalsiyum iyonu düzeyinin artışı, kontraksiyonların oluşmasına neden olmaktadır. Bu kontraksiyonlar, düz kas hücrelerinin nörotransmitter maddeler ya da hormonlar tarafından uyarılması sonucu endoplazmik retikulumda depolanan kalsiyumun salıverilmesiyle gerçekleşir. Kalsiyum iyonunun hücre içine girişinde birçok plazmalemmal kalsiyum kanalı rol oynamaktadır. Bunlar voltaja ve reseptöre bağımlı kanallar olarak sınıflandırılırlar (Guibert 2008).

Kalsiyum kanal blokörleri; hem damar düz kas hücrelerinin hem de miyokard hücrelerinin membranındaki voltaja bağımlı kalsiyum kanallarından ekstraselüler kalsiyumun depolarizasyon esnasında, hücre içine girişini bloke eden ilaçlardır. Bunlar; nifedipin, amlodipin gibi dihidropiridin türevleri ile verapamil, gallopamil gibi fenilalkilamin türevleri ve diltiazem gibi benzotiazepin türevlerinden oluşmaktadır (Kayaalp 2009).

Bu çalışmada kullandığımız levodropropizin, klinik açıdan güçlü ve iyi tolere edilebilen non-opioid antitusif bir ilaçtır (Guffanti 1989). Tavşan ve kobay üzerinde yapılan in vivo çalışmalarda, bu ilacın mekanik ve elektriksel olarak aktive edilen öksürük refleksini azalttığı gösterilmiştir (Malandrino et al. 1988). Lavezzo et al. (1992) yaptıkları bir çalışmada levodropropizinin, kapsaisin gibi güçlü irrtian maddelerle indüklenen öksürük refleksini inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Yine birçok araştırmacı yapmış oldukları benzer çalışmalarda levodropropizine bağlı antitusif etkinin periferel mekanizmalar aracılığı ile meydana geldiğini öne sürmüşlerdir (Malandrino et al. 1988, Meillo et al. 1988).

Undem and Carr (2001) solunum yolları afferent nöronlarında, postsinaptik reseptörlerin aktivasyonu sonucu açılan ligand kapılı iyon kanallarından içeriye doğru katyonik akımların, membranda depolarizasyona neden olduğu ve sonuçta nöronal iletinin oluştuğunu belirtmektedir. Lalloo (1955), Lowry (1988) ise sitrik asit ve sülfür dioksit gibi bileşiklerle meydana gelen öksürük refklesinin oluşmasındaki mekanizmada esas unsurun, katyonik akımlardaki artış olduğunu öne sürmüşlerdir.

Carpenter et al. (1988), NMDA reseptör antagonisti olan dekstrometorfanın antitusif etkisini bu reseptörlerin aktivasyonu ile oluşan intraselüler kalsiyum artışını engelleyerek ortaya çıkardığını, sonuç olarak; bu meydana gelen etkinin kalsiyum kanallarıyla ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada eksitatör aminoasitler ile oluşan nöronal iletinin dekstrometorfan tarafından inhibisyonu, bu ilacın antitusif etkiyi meydana getirmedeki mekanizması ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir. Bu inhibisyonda dekstrometorfanın, kalsiyum kanallarını bloke ederek bu etkiyi meydana getirdiği gösterilmiştir (Carpenter et al., 1988). Esasen opioidler ile nöronal kalsiyum kanalları arasında sıkı bir ilişkinin olduğu da bilinmektedir (Hoffmeister and Tetenborn 1986, Gandi and Ross 1987, Kavaliers and Ossenkop 1987, Contreras et al. 1988, Martin et al. 1990, Kamei et al. 1990). Hamra et al. (1999), morfin ve metadon gibi opioidlerin, vagal afferent nöronlardaki voltaja bağımlı kalsiyum kanallarını bloke ederek etkisini meydana getirdiğini ortaya koymuşlardır.

Antitusif ilaçların kalsiyum kanalları ile olan ilişkisi, bu anlamda bilinen kalsiyum kanal blokörlerine benzediği söylenebilir. Nitekim diltiazemin birçok çalışmada öksürük refleksini inhibe ettiği ve bu etkiyi L-tipi voltaja bağımlı kalsiyum kanalları aracılığıyla yaptığı, dolayısıyla bu kanalların öksürük refleksinin modülasyonunda önemli bir role sahip olduğu belirtilmektedir (Franova and Nosalova 2004). Kediler üzerinde yapılan araştırmalarda, solunum yolu trakeobronşiyal ve laringofaringeal mukozalarında mekanik yolla oluşturulan öksürük refleksinde, oral yol ile uygulanan diltiazemin öksürük reflekslerinde bir düşüşe neden olduğu gösterilmiştir (Franova and Nosalova 2004). Benzer çalışmalar başka araştırmacılar tarafından flunarizin, verapamil ve nifedipin gibi diğer kalsiyum antagonistleri ile de yapılarak benzer sonuçlar alınmıştır. Tüm bu bilinenlere rağmen, öksürük refleksinin regülasyonunda ilaç etkisinin, kalsiyum kanalları ile olan ilişkisini tam olarak ortaya koyabilecek yeterli sayıda araştırmanın olmadığı da Kamei and Kasuya (1992) tarafından belirtilmektedir.

İzole tavşan aortasında yaptığımız bu çalışmada, antitusif bir ilaç olan levodropropizinin söz konusu dokuda kalsiyum iyonu girişini azalttığından dolayı bu ilacın bir kalsiyum antagonisti gibi davrandığı gösterildi. Bu nedenle çalışmamızda

amacımız levodropropizinin antitusif etki mekanizmasını ortaya koymak değil öne sürülen kalsiyum kanalları ile olan ilişkisini araştırmak olmuştur. Diğer araştırmacıların da gösterdiği gibi kalsiyum girişinin engellenmesiyle öksürük refleksinin azaltılması arasında pozitif korelasyon vardır. Sunulan bu in vitro çalışmada, fenilefrin ile kasılan tavşan torasik aortasında ortama kümülatif konsantrasyonda uygulanan kalsiyum iyonu ile elde edilen cevaplar antitusif bir ilaç olan levodropropizin tarafından anlamlı olarak inhibe edilmiştir.

Sonuç olarak; kullanılan dokuda levodropropizinin kalsiyum girişini anlamlı bir şekilde inhibe ettiği, bu inhibitör etkinin diltiazem ile arasında anlamlı bir farkın olmadığı görülmüştür. Bu konuda yapılan diğer çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda; antitusif bir ilaç olan levodropropizinin düz kas hücrelerindeki kalsiyum kanalları üzerine olan etkisi in vitro olarak gösterilmiştir.

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, tedavide antitusif olarak kullanılan levodropropizinin kalsiyum kanalları ile olan ilişkisini ve antitusif etkinin oluşumundaki temel mekanizmaların yanında bu etkiye kalsiyum iyonunun katkısını göstermektir.

İzole tavşan torasik aortasında yapılan bu in vitro çalışmada, levodropropizinin kalsiyum iyonu ile olan ilişkisini belirlemek amacıyla, kalsiyumsuz ortamda fenilefrine bağlı kasılma, kümülatif konsantrasyonda ilave edilen kalsiyum ile (doza bağımlı bir şekilde arttı ($p<0,05$). Kalsiyum ilavesiyle meydana gelen bu maksimum cevap, levodropropizin varlığında % $51\pm 5,56$ oranında inhibe edildi.

Çalışmanın diğer bölümünde ise normal Krebs solüsyonlu ortamda dokuda fenilefrine bağlı oluşan kasılmaları, kümülatif konsantrasyonda uygulanan levodropropizin ve diltiazem sırasıyla % $95,96\pm 3,12$ ve % $78,28\pm 6,78$ oranında inhibe etti ($p<0,05$). Kullanılan antagonistlere bağlı meydana gelen gevşemelerin IC_{50} değerleri sırasıyla $8,03\times 10^{-6}\pm 0,04$ M ve $3,2\times 10^{-5}\pm 0,04$ M olup inhibitör güçleri karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Tedavide antitusif amaçla kullanılan levodropropizin adlı etken maddenin, bu dokudaki kalsiyum kanallarını bloke ederek ekstraselüler Ca^{2+} girişini inhibe ettiği gösterilmiştir. Yaptığımız bu çalışmanın, bu ilacın antitusif etki mekanizmasının aydınlatılmasına katkı sağlayarak daha ileriki çalışmalara öncülük edebileceği kanısındayız.

Anahtar kelimeler: diltiazem, izole organ banyosu, kalsiyum, levodropropizin

ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the relationship between calcium channels and levodropropizine which is used as antitussive agent and in addition, the basic mechanisms of formation of antitussive effect and contribution of calcium ions to this effect.

In this in vitro study performed on isolated rabbit thoracic aorta, calcium ion-free environment due to contraction of phenylephrine, cumulative addition of calcium ion concentration increased with the dose-dependent manner in order to determine the relationship between levodropropizine and calcium ion. The maximum response occurred with the addition of calcium, was inhibited $51\% \pm 5.56$ in the presence of levodropropizin.

The other part of the study, in medium containing normal Krebs solution, phenylephrine-induced contractions of the tissue inhibited by applying of the cumulative concentration of levodropropizine and diltiazem, respectively the rate of $95.96\% \pm 3.12$ and $78.28\% \pm 6.78$. IC_{50} values of relaxations occurred by using of antagonists were respectively $8.03 \times 10^{-6} \pm 0.04$ M and $3.2 \times 10^{-5} \pm 0.04$ M, the difference was not statistically significant by comparing the inhibitory forces ($p > 0.05$).

It is shown that Levodropropizin which is an active ingredient used for antitussive affect in treatment inhibits extracellular calcium entry by blocking the calcium channels. We think this study would lead further studies which clarify the mechanism of antitussive effect of this drug.

Key words: calcium, diltiazem, isolated organ bath, levodropropizin

KAYNAKLAR

1. Carpenter CL, Marks SS, Watson DL, Greenberg DA. Dextromethorphan and dextropropoxyphene as calcium channel antagonists. *Brain Res.* 1988; 439(1-2): 372-375.
2. Carr MJ, Udem BJ. Ion channels in airway afferent neurons. *Resp Physiol.* 2001; 125: 83-97.
3. Carr MJ. Plasticity of the afferent innervation of the airways: The role of ion channels. *Pulmon Pharmacol Ther.* 2007; 20: 412–415.
4. Chang AB. The physiology of cough. *Paediatric respiratory reviews.* 2006; 7: 2–8.
5. Christian EP, Togo JA. Excitability properties and underlying Na⁺ and K⁺ currents in neurons from the guinea-pig jugular ganglion. *J Auton Nerv Syst.* 1995; 56: 75–86.
6. Contreras E, Tamayo L, Amigo M. Calcium channel antagonists increase morphine-induced analgesia and antagonize morphine tolerance. *Eur J Pharmacol.* 1988; 148(3): 463-466.
7. Çiçek E, Karabacak Hİ, Atalık E. Asetilkolin ile kasılan izole kobay ve tavşan mide fundusunda pinaveriumun etkisi ve bunun kalsiyum ile ilişkisi. *S.Ü Tıp Fakültesi Dergisi.* 1995; 11(1): 65-68.
8. Franova S, Nosalova G. Antitussive effect of diltiazem in experimental conditions. *Bratisl Lek Listy.* 2004; 105(5-6): 203-206.
9. Gandhi VC, Ross DH. A novel kappa agonist inhibits [3H]nimodipine binding to a Ca⁺⁺ channel receptor protein in rat brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 1987; 149(3): 1042-1048.
10. Genç O. Voltaj bağımlı kalsiyum kanalları. *Pamukkale Üniversitesi genel tıp dergisi.* 1997; 7(1): 43-46.
11. Guffanti EE. Drugs with direct peripheral action. In *Cough*, Braga PC, Allegra L. Eds. New York: Raven Press, 1989: p. 197-225.
12. Guibert C, Ducret T, Savineau JP. Voltage-independent calcium influx in smooth muscle. *Prog Biophys Mol Biol.* 2008; 98(1): 10-23.

13. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*. 11th Ed., 2006. Çavuşoğlu H, Yeğen Çağlayan B (çev. ed.). *Tıbbi Fizyoloji* (Onbirinci baskıdan çeviri). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2007.
14. Hamra M, McNeil RS, Runciman M, Kunze DL. Opioid modulation of calcium current in cultured sensory neurons: mu-modulation of baroreceptor input. *Am J Physiol*. 1999; 277: 705-713.
15. Hoffmeister F, Tettenborn D. Calcium agonists and antagonists of the dihydropyridine type: antinociceptive effects, interference with opiate-mu-receptor agonists and neuropharmacological actions in rodents. *Psychopharmacology (Berl)*. 1986; 90(3): 299-307.
16. http://www.ctf.edu.tr/anabilimdallari/pdf/258/TR/Solunum_Sistemi/Antitusif_Ilaclar.pdf. Erişim: Eylül 2008.
17. <http://www.gata.edu.tr/cerrahibilimler/anestezi/Metin/MSS'deNoronalileti.doc>. Erişim: Mart 2010.
18. Kamei J, Tanihara H, Kasuya Y. Antitussive effects of two specific kappa-opioid agonists, U-50,488H and U-62,066E, in rats. *Eur J Pharmacol*. 1990; 187(2): 281-286.
19. Kamei J, Kasuya Y. Antitussive effect of Ca²⁺ channel antagonists. *Eur J Pharmacol*. 1992; 212: 61-66.
20. Kavaliers M, Ossenkopp KP. Calcium channel involvement in magnetic field inhibition of morphine-induced analgesia. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1987; 336(3): 308-315.
21. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 2. Cilt. Altıncı Baskı. Ankara, 1992.
22. Kayaalp SO. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Ankara: Pelikan Yayıncılık, 2009.
23. Komori S, Kawai M, Takewaki T, Ohashi H. GTP binding protein involvement in membrane currents evoked by carbachol and histamine in guinea-pig ileal muscle. *J Physiol*. 1992; 450: 105–126.
24. Lalloo UG, Fox AJ, Belvisi MG, Chung KF, Barnes PJ. Capsazepine inhibits cough induced by capsaicin and citric acid but not by hypertonic saline in guinea pigs. *J Appl Physiol*. 1995; 79: 1082-1087.

25. Large WA. Receptor-operated Ca^{2+} -permeable nonselective cation channels in vascular smooth muscle: a physiologic perspective. *Journal of cardiovascular electrophysiology*. 2002; 13(5): 493-501.
26. Lavezzo A, Melillo G, Clavenna G, Ominı C. Peripheral site of action of levodropropizine in experimentally induced cough: role of sensory neuropeptides. *Pulm Pharmacol*. 1992; 5: 143-147.
27. Lee YM, Kim BJ, Kim HJ, Yang DK, Zhu MH, Lee KP et al. TRPC5 as a candidate for the nonselective cation channel activated by muscarinic stimulation in murine stomach. *Am J Physiol*. 2003; 284: 604-616.
28. Levy B, Koeppen S. *Physiology*. 5th Ed. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği (çev.) *Fizyoloji* (Beşinci baskıdan çeviri). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2008.
29. Llinás RR, Sugimori M, Cherksey B. Voltage-dependent calcium conductances in mammalian neurons. The P channel. *Ann N Y Acad Sci*. 1989; 560:103-111.
30. Lowry RH, Wood AM, Higenbottam TW. Effects of pH and osmolarity on aerosol-induced cough in normal volunteers. *Clin Sci (Colch)* 1988; 74: 373–376.
31. Malandrino S, Melillo G, Bestetti A, Borsa M, Giuliani P, Tonon GC. Antitussive properties of levodropropizine. *Drug Res*. 1988; 38: 1141-1143.
32. Martin MI, Lizasoain I, Leza JC. Calcium channel blockers: effect on morphine-induced hypermotility. *Psychopharmacology (Berl)*. 1990; 101(2): 267-270.
33. Materazzi S, Nassini R, Gatti R, Trevisani M, Geppetti P. Cough sensors. II. Transient receptor potential membrane receptors on cough sensors. *Handb Exp Pharmacol*. 2009; 187: 49-61.
34. McFadzean I, Gibson A. The developing relationship between receptor-operated and store-operated calcium channels in smooth muscle. *Br J Pharmacol*. 2002; 135: 1-13
35. Melillo G, Malandrino S, Rossonı G, Caselli G, Bestetti A, Borsa M et al. General pharmacology of the new antitussive levodropropizine. *Drug Res*. 1988; 38: 1144- 1150.

36. Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. “*Pharmacology 2nd Ed.*”. Oktay Ş (çev. ed.) *Farmakoloji*. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1998.
37. Pacaud P, Bolton TB. Relation between muscarinic receptor cationic current and internal calcium in guinea-pig jejunal smooth muscle cells. *J Physiol*. 1991; 441: 477–499.
38. Page C, Reynolds SM, Mackenzie AJ, Geppetti P. Mechanisms of acute cough. *Pulmon Pharmacol Ther*. 2004; 17: 389–391.
39. Thorneloe KS, Nelson MT. Ion channels in smooth muscle: regulators of intracellular calcium and contractility. *Can J Physiol Pharmacol*. 2005; 83: 215-242.
40. Udem BJ, Carr MJ. Pharmacology of airway afferent nerve activity. *Respiratory Research*. 2001; 2(4): 234–244.
41. Udem BJ, Carr MJ, Kollarik M. Physiology and plasticity of putative cough fibres in the Guinea pig. *Pulmon Pharmacol Ther*. 2002; 15: 193–198.
42. Vogalis F, Sanders KM. Cholinergic stimulation activates a non-selective cation current in canine pyloric circular muscle cells. *J Physiol*. 1990; 429: 223–236.
43. Wang YX, Fleischmann BK, Kotlikoff MI. M2 receptor activation of nonselective cation channels in smooth muscle cells: calcium and Gi/G(o) requirements. *Am J Physiol*. 1997; 273: 500–508.
44. Waxman SG, Cummins TR, Dib-Hajj S, Fjell J, Black JA. Sodium channels excitability of primary sensory neurons and the molecular basis of pain. *Muscle Nerve*. 1999; 22: 1177–1187.
45. Widdicombe JG. Neurophysiology of the cough reflex. *Eur Respir J*. 1995; 8: 1193-1202.
46. http://www.abdiibrahim.com.tr/pdf/levopront_surup.pdf. Erişim: Ocak 2010.

ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

Genel Bilgiler:

Adı Soyadı : Fatma Nihan CANKARA
Doğum Yeri ve Yılı : Isparta, 25.08.1984
Medeni Durumu : Bekar
Daimi Adresi : Kepeci Mah. Aksu Cad. Cankara Apt. 37/3 32300-Isparta
Telefon : 0 246 2186015 — 0 532 5994279
E-mail : nihancankara@yahoo.com

Eğitim Durumu:

Lise : 1995-2002 Isparta Milli Piyango Anadolu Lisesi
Üniversite : 2004-2008 Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Bölümü
Yüksek Lisans : 2008-Halen Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji A.D

Yabancı Dil:

ÜDS (İngilizce) : 70.000 Mart 2010

ALES : 80.022 Kasım 2009

Eserler ve Faaliyetler Listesi

Ulusal toplantıda sunulacak özet metin olarak yayımlanan bildiri

1. Cankara FN. Farmakovijilansın İşleyişi ve Pratik Uygulama. Farmakovijilans, Isparta, Ocak 2009
2. Cankara FN, Dönmez S, Doğan E, Peker RO, Gökalp O. İloprost-Nitrogliserin ve İloprost-Diltiazem Kombinasyonlarının Vazospazm Üzerine İnvitro Etkileri. Türk Farmakoloji Derneği 20. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Antalya, Kasım 2009, p:104.

Uluslararası toplantıda sunulacak özet metin olarak yayımlanan bildiri

1. Peker RO, Doğan E, Cankara FN, Dönmez S, Gökalp O. Comparison of the vasorelaxant effects of nitroglycerine, diltiazem, papaverin and iloprost in the rat thoracic aorta in vitro. 5th Congress of update in cardiology and cardiovascular surgery, Sep 2009, Antalya, OP-101

Uluslararası sempozyum, kongre, kurs (workshop) düzenlenmesi gibi etkinliklerde görev almak

1. Cankara FN. Farmakovijilans Eğitim Konferansı, Program Sekreteri, Ocak 2009, Isparta.

Alanında uluslararası bilimsel nitelikli ödül

1. Peker RO, Doğan E, Cankara FN, Dönmez S, Gökalp O. Comparison of the vasorelaxant effects of nitroglycerine, diltiazem, papaverin and iloprost in the rat thoracic aorta in vitro. 5th Congress of update in cardiology and cardiovascular surgery, Sep 2009, Antalya, OP-101.

BİRİNCİLİK ÖDÜLÜ

Katıldığı Seminer, Kurslar, Aldığı Sertifikalar:

1. Aralık 2004: Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Öğrenci Topluluğu (EBİLTET) Gıda Kimya Mühendisliği Araştırma Grubu Tarafından Düzenlenen “ Süper Kritik Akışkanlarla Ekstraksiyon Teknolojisi ve Gıda Sanayiindeki Uygulamaları ” katılım sertifikası
2. Ocak 2005: Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Öğrenci Topluluğu (EBİLTET) Kimya-Biyokimya Bölümü Araştırma Grubu tarafından düzenlenen “ Madde-Antimadde” katılım sertifikası
3. Mart 2005: Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Öğrenci Topluluğu (EBİLTET) ve Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Merkezi (EBİLTEM) tarafından düzenlenen “ Adli Bilimlerde Güncel Gelişmeler” katılım sertifikası
4. Nisan 2005: Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Öğrenci Topluluğu (EBİLTET) tarafından düzenlenen “ Etkili İletişim” katılım sertifikası
5. Mayıs 2005: Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Merkezi (EBİLTEM) tarafından düzenlenen “ TS-EN ISO 9001:2000 Kalite Yönetim Sistemi Temel Eğitimi” katılım sertifikası
6. Şubat 2006: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Bölümü tarafından düzenlenen “Biyosensörler Semineri”
7. Mart 2007: Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Öğrenci Topluluğu (EBİLTET) ve Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Merkezi (EBİLTEM) tarafından düzenlenen “ Kanser Biyokimyası” katılım sertifikası
8. Mart 2008: Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Öğrenci Topluluğu (EBİLTET) ve Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Merkezi (EBİLTEM) tarafından düzenlenen “ Nanobiyoteknolojik Yaklaşımlar Sempozyumu” katılım sertifikası
9. Mayıs 2008: Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi tarafından düzenlenen “Maya Hibrid Teknolojisi Semineri”
10. Ocak 2009: SDÜ “Araştırma Teknikleri ve Biyoistatistik” kursu
11. Nisan 2009: SDÜ-HADYEK tarafından düzenlenen; Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası

Katıldığı Kongreler

1. Türk Farmakoloji Derneği 20. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Antalya, Kasım 2009

Yaptığı Stajlar:

1. Temmuz 2007: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda 1 ay süre ile zorunlu yaz stajı
2. Temmuz 2008: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı AR-LAB 1 ay süre ile