

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ATP'YE DUYARLI POTASYUM KANAL BLOKÖRÜ
GLİBENKLAMİDİN VASKÜLER REAKTİVİTE ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Farmakoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Eczacı Elif ERTUNA

İZMİR-2001

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ATP'YE DUYARLI POTASYUM KANAL BLOKÖRÜ
GLİBENKLAMİDİN VASKÜLER REAKTİVİTE ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Farmakoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Eczacı Elif ERTUNA

Danışman Öğretim Üyesi
Doç. Dr. Mukadder Yasa

İZMİR-2001

ÖNSÖZ

Araştırmamın gerçekleştirilmesi için gerekli her tür olanağı sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Aslı Özer'e,

Değerli bilgileri ile çalışmama yön veren, çalışmamın her aşamasında bana yardım eden ve aynı zamanda manevi destek veren tez danışmanım değerli hocam Doç. Dr. Mukadder Yasa'ya,

Tez çalışmam süresince her türlü bilimsel ve teknik konuda destek olan tüm değerli hocalarım ve yardımına koşan tüm arkadaşlarıma,

Manevi destekleri ile her zaman yanımda olan aileme teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 DAMAR TONUSUNDA ETKİLİ İYON KANALLARI	3
2.1.1 <i>Damar düz kasında bulunan iyon kanalları</i>	3
2.1.1.1 Klorür kanalları	4
2.1.1.2 Ca ⁺² kanalları.....	4
2.1.1.3 Potasyum kanalları.....	5
2.1.2 <i>Endotelyum</i>	5
2.1.2.1 Endotel hücrelerinde membran potansiyeli	7
2.1.2.2 Endotelyumda bulunan iyon kanalları	8
2.1.2.2.1 Nonselektif Katyon Kanalları	8
2.1.2.2 Voltaja Duyarlı Kanallar	9
2.1.2.3 Ca ⁺² -Geçirgen Kanallar.....	9
2.1.2.4 Klorür Kanalları	9
2.1.2.5 Mekano-Sensitif Kanallar	10
2.1.2.6 Gap Junction Kanalları	11
2.1.2.7 Potasyum kanalları.....	11
2.1.2.7.1 İçe yönelik doğrultucu kanallar	11
2.1.2.7.2 Ca ⁺² ile aktive olan K ⁺ kanalları.....	12
2.1.2.7.3 İntraselüler ATP Tarafından Modüle Edilen Potasyum Kanalları	12
2.2 POTASYUM KANALLARI	13
2.2.1 <i>Potasyum Kanal Tipleri</i>	13
2.2.1.1 Ca ⁺² ile aktive olan K ⁺ kanalları (K _{Ca}).....	13
2.2.1.2 Voltaja duyarlı K ⁺ kanalı	15
2.2.1.3 İçe yönelik doğrultucu K ⁺ kanalı	15
2.3 ATP'YE DUYARLI POTASYUM (K _{ATP}) KANALLARI	16
2.3.1 <i>Damar Düz Kasındaki ATP'ye Duyarlı Potasyum Kanalları</i>	17
2.3.1.1 Özellikleri	17
2.3.1.2 Yapısı	18
2.3.1.3 Fizyolojik Fonksiyonları	19
2.3.1.4 ATP'ye duyarlı K ⁺ kanallarını regüle eden hücrel mekanizmalar....	23
2.3.1.5 Farmakolojisi	24
2.3.1.5.1 Kanal İnhibitörleri.....	25
2.3.1.5.2 Kanal Aktivatörleri	29
2.3.2 <i>Damar Dışı Düz Kaslardaki K_{ATP} Kanalları</i>	31
2.4 PATOLOJİK DURUMLARDA K _{ATP} KANALLARININ ROLÜ	31
2.5. GLİBENKLAMİD	32

3. DENEYSSEL BÖLÜM	33
3.1 MATERYAL VE YÖNTEM	33
3.1.1 Sıçanların hazırlanması ve gruplandırılması	33
3.1.2 İzole organ banyosu deneyleri	33
3.1.3 İzole organ banyosu deney protokolu	34
3.1.4 Deneylerde kullanılan aygıtlar	35
3.1.4.1 Organ banyosu	35
3.1.4.2 Termostatik kontrol.....	35
3.1.4.3 Tuz çözeltisi	36
3.1.4.4 Transmisyon.....	36
3.1.4.5 Transdüsör ve deney kayıtları.....	36
3.1.5 Araştırmada kullanılan ilaçlar	36
3.1.6 İlaç çözeltilerinin hazırlanması	37
3.1.7 Verilerin analizi	38
4. BULGULAR	39
4.1 GLİBENKLAMİD İLE İNKÜBASYON YAPILAN SIÇAN AORTASINDA KASTIRICI AJANLARA VERİLEN YANITLAR.....	39
4.1.1 <i>Kümülatif PGF_{2α} konsantrasyon-yanıt eğrileri üzerinde üç farklı konsantrasyon glibenklamid inkübasyonunun etkisi</i>	39
4.1.1.1 10 ⁻⁵ M glibenklamid inkübasyonunun etkisi.....	39
4.1.1.1.1 10 ⁻⁵ M glibenklamid inkübasyonu ile oluşan etkide endotelyumun rolü	39
4.1.1.2 3x10 ⁻⁶ M glibenklamid inkübasyonunun etkisi.....	42
4.1.1.2.1 3x10 ⁻⁶ M glibenklamid inkübasyonu ile oluşan etkide endotelyumun rolü	43
4.1.1.3 10 ⁻⁶ M glibenklamid inkübasyonunun etkisi.....	44
4.1.1.3.1 10 ⁻⁶ M glibenklamid inkübasyonu ile oluşan etkide endotelyumun rolü	45
4.1.1.4 Kümülatif PGF _{2α} konsantrasyon-yanıt eğrisi üzerinde glibenklamidin konsantrasyona bağımlı inhibitör etkisi	46
4.1.2 <i>Kümülatif serotonin konsantrasyon-yanıt eğrileri üzerinde üç farklı konsantrasyon glibenklamid inkübasyonunun etkisi</i>	47
4.1.2.1 10 ⁻⁵ M glibenklamid inkübasyonunun etkisi.....	47
4.1.2.1.1 10 ⁻⁵ M glibenklamid inkübasyonu ile oluşan etkide endotelyumun rolü	48
4.1.2.2 3x10 ⁻⁶ M glibenklamid inkübasyonunun etkisi.....	49
4.1.2.2.1 3x10 ⁻⁶ M glibenklamid inkübasyonu ile oluşan etkide endotelyumun rolü	50
4.1.2.3 10 ⁻⁶ M glibenklamid inkübasyonunun etkisi.....	51
4.1.2.3.1 10 ⁻⁶ M glibenklamid inkübasyonu ile oluşan etkide endotelyumun rolü	52

4.1.2.4 Kümülatif serotonin (10^{-9} - 3×10^{-5} M) konsantrasyon-yanıt eğrisi üzerinde glibenklamidin konsantrasyona bağımlı inhibitör etkisi	53
4.1.3 Kümülatif fenilefrin konsantrasyon-yanıt eğrileri üzerinde glibenklamid inkübasyonunun etkisi	54
4.1.3.1 10^{-5} M glibenklamid inkübasyonunun etkisi	54
4.1.3.1.1 10^{-5} M glibenklamid inkübasyonu ile oluşan etkide endotelyumun rolü	55
4.2 $PGF_{2\alpha}$ (10^{-5} M) İLE KONTRAKSİYON SONRASI KÜMÜLATİF GLİBENKLAMİD (10^{-7} - 3×10^{-5} M) GEVŞEME YANITLARI	56
4.2.1 Endotelyumun mekanik olarak kazanmasının kümülatif glibenklamid (10^{-7} - 3×10^{-5} M) gevşeme yanıtları üzerine olan etkisi	56
4.2.2 LNNA ve indometazinin kümülatif glibenklamid (10^{-7} - 3×10^{-5} M) gevşeme yanıtları üzerine olan etkisi	57
4.2.3 Metilen mavisinin kümülatif glibenklamid (10^{-7} - 3×10^{-5} M) gevşeme yanıtları üzerine olan etkisi	58
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	60
6. ÖZET	65
7. SUMMARY	66
8. KAYNAKLAR	67

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1:	<i>K_{ATP} kanalında bulunan SUR ve Kir alt üniteleri için önerilen membran topolojisi</i>	19
Şekil 2.2:	<i>Damar düz kasında bulunan K_{ATP} kanal modeli</i>	28
Şekil 2.3:	<i>Glibenklamidin moleküler yapısı</i>	32
Şekil 4.1:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde 10⁻⁵M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası PGF_{2α}'ya verilen kasılma yanıtları</i>	40
Şekil 4.2:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringleri ile endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş sıçan aorta ringlerinde 10⁻⁵M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası PGF_{2α}'ya verilen kasılma yanıtları</i>	41
Şekil 4.3:	<i>Endotelyumu sağlam ve endotelyumu mekanik olarak kazınmış sıçan aorta ringlerinde 10⁻⁵M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası PGF_{2α}'ya verilen kasılma yanıtları</i>	42
Şekil 4.4:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde 3x10⁻⁶M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası PGF_{2α}'ya verilen kasılma yanıtları</i>	43
Şekil 4.5:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringleri ile endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş sıçan aorta ringlerinde 3x10⁻⁶M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası PGF_{2α}'ya verilen kasılma yanıtları</i>	44
Şekil 4.6:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde 10⁻⁶M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrasında PGF_{2α}'ya verilen kasılma yanıtları</i>	45
Şekil 4.7:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ile endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş sıçan aorta ringlerinde 10⁻⁶M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası PGF_{2α}'ya verilen kasılma yanıtları</i>	46
Şekil 4.8:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde glibenklamidin üç farklı konsantrasyonu ile inkübasyon öncesi ve sonrası PGF_{2α}'ya verilen kasılma yanıtları</i>	47
Şekil 4.9:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde 10⁻⁵M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası serotonine verilen kasılma yanıtları</i>	48
Şekil 4.10:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringleri ile endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş sıçan aorta ringlerinde 10⁻⁵M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası serotonine verilen kasılma yanıtları</i>	49

Şekil 4.11:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde $3 \times 10^{-6} M$ glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası serotonine verilen kasılma yanıtları</i>	50
Şekil 4.12:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringleri ile endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş sıçan aorta ringlerinde $3 \times 10^{-6} M$ glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası serotonine verilen kasılma yanıtları</i>	51
Şekil 4.13:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde $10^{-6} M$ glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası serotonine verilen kasılma yanıtları</i>	52
Şekil 4.14:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringleri ile endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş sıçan aorta ringlerinde $10^{-6} M$ glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası serotonine verilen kasılma yanıtları</i>	53
Şekil 4.15:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde glibenklamidin üç farklı konsantrasyonu ile inkübasyon öncesi ve sonrası serotonine verilen kasılma yanıtları</i>	54
Şekil 4.16:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde $10^{-5} M$ glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrine verilen kasılma yanıtları</i>	55
Şekil 4.17:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringleri ile endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş sıçan aorta ringlerinde $10^{-5} M$ glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrine verilen kasılma yanıtları</i>	56
Şekil 4.18:	<i>Endotelyumu sağlam ve endotelyumu mekanik olarak kazınmış sıçan aorta ringlerinde $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5} M$) ile kasılma sonrası kümülatif glibenklamid ($10^{-7} - 3 \times 10^{-5} M$) gevşeme yanıtları</i>	57
Şekil 4.19:	<i>Endotelyumu sağlam ve LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5} M$) ile önkastırma sonrası kümülatif glibenklamid ($10^{-7} - 3 \times 10^{-5} M$) gevşeme yanıtları</i>	58
Şekil 4.20:	<i>Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringleri ile endotelyumu sağlam metilen mavisi inkübasyonu yapılmış sıçan aorta ringlerinde $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5} M$) ile önkastırma sonrası kümülatif glibenklamid ($10^{-7} - 3 \times 10^{-5} M$) gevşeme yanıtları</i>	59
Tablo 2.1:	<i>Çeşitli K_{ATP} kanal aktivatör ve blokörlerinin kullanıldıkları indikasyonlar</i>	26

1. GİRİŞ

ATP'ye duyarlı potasyum (K_{ATP}) kanallarının 1983 yılında ilk kez kalpte bulduklarının belirlenmesinden sonra benzer potasyum (K^+) kanallarının pankreatik β -hücreler, iskelet kası hücreleri, damar ve diğer düz kas hücreleri, nöronal hücreler, endotelial hücreler ve renal epitel hücreler gibi farklı birçok dokuda da buldukları gösterilmiştir. Normal kalpte K_{ATP} kanalları yüksek konsantrasyondaki intraselüler ATP nedeniyle kapalıdır. İskemi sözkonusu olduğunda bu kanallar açılarak iskemik myokard hücrelerini korumak üzere işlev görürler. Diğer taraftan pankreatik β -hücrelerden insülin salgılanmasının kontrolunda, beyin damarlarının iskemiden korunmasında, beyin sinapslarında transmitter salınımının modülasyonunda ve damar düz kas tonusunun regülasyonunda yine bu kanallar önemli rol oynamaktadır.

Sülfonilüre grubu oral hipoglisemik bir ilaç olan glibenklamid K^+ kanal aktivatörlerinin oluşturduğu etkilerin ve K_{ATP} kanallarının güçlü bir inhibitörüdür. Glibenklamidin nanomolar konsantrasyonları pankreatik β -hücrelerdeki K_{ATP} kanallarını bloke ederek depolarizasyona ve insülin sekresyonuna neden olur. Damar düz kasında da glibenklamid düşük konsantrasyonlarda K_{ATP} kanallarını bloke ederek K^+ kanal aktivatörlerinin oluşturduğu gevşemeyi antagonize etmektedir. Son yıllarda birçok araştırmacı tarafından damar düz kasları üzerinde glibenklamidin yüksek konsantrasyonları ile K_{ATP} kanallarından bağımsız olarak gelişen etkilerinin bulunduğu bildirilmiştir (8, 9, 10, 40, 41).

Glibenklamidin özellikle vazokonstriktör prostanoidler ile oluşan kasılmaları azalttığı ve önceden kastırılmış damar düz kaslarında gevşeme yanıtları oluşturduğu bildirildikten sonra çalışmalar bu alanda yoğunlaşmıştır. Yine yüksek ekstraselüler K^+ , endotelin-1, fenilefrin gibi farklı agonistlerin kontraktıl cevabının baskılanması, endoteliumun glibenklamidin bu gevşetici etkisi üzerindeki rolüne yönelik farklı çalışmalar bulunması bizim çalışma alanımızı belirlemiştir.

Bu çalışma glibenklamidin izole sıçan aortası üzerindeki inhibitör etkisini ve bu etkide endotelyum tabakasının rolünü araştırmak üzere düzenlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Damar Tonusunda Etkili İyon Kanalları (16)

Küçük arterler ve arteriollerin duvarlarındaki vasküler düz kas hücrelerinin kontraktil aktivitesinden kaynaklanan vasküler tonus dolaşımdaki kan akımına karşı varolan rezistansın ana belirleyicisidir. Vasküler tonus kan basıncı regülasyonu ve kan akımının dokular ile organlar arasındaki dağılımında önemli rol oynar. Damar düz kas hücrelerinin kontraktil aktivitesinin düzenlenmesinde, kan basıncı, endotel kaynaklı faktörler, nörotransmitterler ve dolaşımdaki hormonlardan gelen vazodilatör ve vazokonstriktör uyarıların kompleks etkileşimi rol oynar. Bütün bu uyarılar damar düz kas hücrelerindeki kontraktil aparatın aktivitesinin belirlenmesi ve kan damarının çap ve hidrolik direncinin değiştirilmesi için damar düz kas hücrelerinde integre edilir. Damar düz kasında ve endotelyumda bulunan iyon kanallarının bu süreçte temel rolleri vardır.

2.1.1 Damar düz kasında bulunan iyon kanalları (16)

Bütün kas hücreleri gibi vasküler düz kas da kalsiyumu kontraksiyon için tetikleyici olarak kullanır. Birçok düz kas hücresinde membran potansiyeli, kalsiyum (Ca^{+2}) girişini, bazen intraselüler depolardan Ca^{+2} salıverilişini ve dolayısıyla hücre içindeki Ca^{+2} konsantrasyonunu kontrol eder. Ca^{+2} hücre içinde kalmodulin ile kalsiyum-kalmodulin kompleksini oluşturur ve myozin hafif zincir kinazını aktive ederek bu enzimin myozini fosforile etmesini sağlar. Myozin aktin aktivasyonu ile kontraksiyona neden olur (37). Plazma membranındaki kanallardan kalsiyumun hücre içine girmesi ve intraselüler depolardan Ca^{+2} salıverilişi aktivatör Ca^{+2} için en büyük kaynaktır. Buna ek olarak, iyonların iyon kanallarındaki hareketi büyük ölçüde membran potansiyelini belirler. Sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonu ile beraber membran potansiyeli, kalsiyumun iyon kanallarından giriş ve salıverilişi ile kontraktil elementlerin kalsiyuma duyarlılığını değiştirir ve düzenler. Vasküler düz kas hücreleri; en az 2 tip klorür (Cl^-) kanalı, 1-2 tip voltaja duyarlı Ca^{+2} kanalı, store-

operated (kapasitatif) Ca^{+2} kanalları, stretch-activated katyon kanalları ve en az 4 değişik tip K^{+} kanalını plazma membranlarında sentezlerler ve bunların hepsi vasküler tonusun düzenlenmesinde rol alabilir.

2.1.1.1. Klorür kanalları

Cl^{-} kanallarının açılması vasküler düz kas hücrelerinden klorür iyonu eflusu ile sonuçlanır. Bunun sonucunda iyonun negatif şarjı nedeniyle depolarizasyon ve vazokonstriksiyon görülür. Cl^{-} kanalının kapanması ise tam ters yönde etkiye sahiptir. Vasküler düz kas hücreleri, intraselüler Ca^{+2} iyonu artışına duyarlı ve volum ile düzenlenen klorür kanalı olmak üzere en az iki tip klorür kanalı sentezlerler. Klorür kanallarının vasküler tonus üzerine olan etkisi halen araştırılmakta olan konular arasındadır.

2.1.1.2 Ca^{+2} kanalları

Voltaja duyarlı Ca^{+2} , kanalları membran potansiyeli aracılığıyla vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. Hiperpolarizasyon sonucunda bu kanalların kapanması vazodilatasyon ile sonuçlanırken depolarizasyon kanalların açılmasına ve vazokonstriksiyona yol açar. T-tipi Ca^{+2} kanallarının varlığından da bahsedilmesine rağmen L-tipi voltaja duyarlı Ca^{+2} kanalları vasküler düz kastaki baskın Ca^{+2} kanalı tipi olarak kabul edilmektedir. Bahsedilen iyon kanallarının vasküler tonusun nöral, hümmoral ve lokal düzenlenmesinde rollerinin olduğu düşünülmektedir. Membran potansiyeli sadece voltaja duyarlı Ca^{+2} kanallarını regüle etmez ayrıca inozitol 1,4,5-trifosfat ile indüklenen intraselüler depolardan Ca^{+2} salıverilişi ile kontraktıl aparatın Ca^{+2} duyarlılığını da etkiler. Böylece membran potansiyelinin oluşumundaki baskın rolleri ile, K^{+} kanalları vasküler tonusun belirlenmesi ve düzenlenmesinde önemli rol oynarlar.

Ca^{+2} sadece voltaja duyarlı kanallardan değil kapasitatif Ca^{+2} kanallarından ve gerilim ile aktive olan Ca^{+2} kanallarından da vasküler düz kas hücrelerine girer. Bu iki yolağın da vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli olabileceği düşünülmektedir.

2.1.1.3 Potasyum kanalları

Diğer vasküler kaslarda olduğu gibi mikrosirkülasyonda da 4 değişik tip K^+ kanalı tanımlanmıştır: Yüksek-kondüktanslı kalsiyuma duyarlı K^+ kanalı, voltaja duyarlı (K_v) K^+ kanalı, içe yönelik doğrultucu K^+ (K_{IR}) kanalı ve ATP'ye duyarlı K^+ kanalı. Bu kanallar Bölüm 2.2.1'de ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

2.1.2 Endotelyum

Endotelyum, çok uzun yıllardan beri dolaşım sistemini saran, inert, selefon-benzeri bir membran olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme kapsamında da en belirgin görevinin damar duvarı permeabilitesinin devamını sağlamak olduğu düşünülmüştür. William Harvey'in 1628'de kan dolaşımını ilk kez tanımlamasının hemen arkasından, bir damar ağının varlığı Malpighi tarafından gösterilmiş ve bu araştırmacı kan ve doku arasında bir fiziksel ayırmadan söz etmiştir. 1900'lerde von Reckingausen, damarların, yalnızca dokular tarafından taşınan tüneller olmadığını, bazı hücrelerin bu damarları astar gibi sardığını öne sürmüştür. Çok sonraları, 1953 yılında Palade tarafından damar duvarı üzerindeki elektron mikroskobu çalışmaları ile, 1959 yılında Gowan tarafından yapılan fizyolojik çalışmalar ile postkapiler venlerin endotel tabakaları ile lenfositler arasında bir etkileşim olduğu gösterilmiştir. Bunu izleyen çok sayıdaki araştırma ile endotelyumun, dinamik, heterojen ve yaşamsal, sekretuar ve sentez ile ilgili, metabolik ve immunolojik fonksiyonları olan ayrı bir organ olduğu şeklindeki çağdaş tanımı gerçekleşmiştir. Daha sonraki yıllarda EDRF, nitrik oksid (NO) olarak tanımlanmıştır (13, 23, 28).

Endotel hücreleri multifonksiyonel hücre tipinin ilginç bir örneğidirler. Kan akımı için ideal bir yüzey sağlarlar; kanın pıhtılaşmasını engellerler fakat bazı sinyallere yanıt olarak pıhtılaşmayı tetikleyebilirler ayrıca immun cevaplarda da rol oynayabilirler. Kontraktıl durumlarındaki değişmeler ve hücreler arası bağlantıları kontrol edebilme yetenekleri de doku geçirgenliğini kontrol eder. Ek olarak endotel hücrelerinin angiogenesis ve damar onarımını başlatıcı ve hemodinamik gereksinimler doğrultusunda damar çapının ayarlanmasına katkıda bulunma özellikleri de vardır. Endotel hücrelerinin bu muhtelif fonksiyonlarına damar duvarını ya da endotel hücrelerinin kendilerini de kapsayan ve yakın bölgeleri etkileyen vazoaktif ajanların

üretim ve salıverilişi aracılık eder. Endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF)/ nitrik oksit (NO), endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör (EDHF), çeşitli prostaglandinler, endotelinler, natriüretik peptid, P maddesi gibi küçük sinyal molekülleri, ATP, büyüme faktörleri, steroidler ve reseptörler ile pıhtılaşma yolağında rol alan proteinler gibi büyük proteinler bu vazoaaktif maddelerdendir (25).

Nitrik oksit yarı-ömrü yaklaşık 6-30 saniye olan, kalsiyum-kalmoduline bağlı yapısal bir enzim olan nitrik oksit sentaz tarafından endotel hücrelerinde, bir aminoasit olan L-argininden sentezlenir. Furchgott ve Zawadski 1980 yılında yaptıkları bir çalışmada endoteliumu sağlam tavşan aortasının asetilkoline karşı gevşeme cevabı verdiğini, fakat endotel mekanik olarak kazındığında aynı agoniste karşı kasılma cevaplarının gözlemlendiğini bulmuşlardır(13). Asetilkolin tarafından stimüle edilen ve gevşemeye neden olan madde ilk önce EDRF olarak adlandırılmış, sonraları ise bu maddenin NO olduğu gösterilmiştir. Günümüzde asetilkolin, histamin, trombin, serotonin, ADP, bradikinin, P maddesi ve izoproterenol gibi bazı agonistlerin endoteliumdan NO sentez ve salıverilmesini arttırdığı bilinmektedir (7). NO, L-argininden terminal guanidin azotunun oksidasyonu ile oluşur. Bu reaksiyonu kataliz eden enzim olan NO sentaz yapısal olarak eksprese edilir ve endotel hücreleri, trombositler, makrofajlar, damar düz kas hücreleri ve beyinde bulunur. Endotel hücrelerde NO sentaz gen ekspresyonu, yapısal olarak aktive edilmekle birlikte, shear stres ve estrogenler tarafından da upregüle edilir. Enzimin aktivitesi, dolaşımdaki bir amino asit olan asimetrik dimetil-arginin ile inhibe edilir. Bazal NO oluşumu venöz dolaşımdan çok arteriyel dolaşımda özellikle önemlidir. İzole arterlerde, N^G-monometil-L-arginin (L-NMMA) veya diğer NO inhibitörlerinin endotele-bağımlı kontraksiyonlar oluşturdukları gösterilmiştir. Sürekli bir NO yapımı sayesinde, dolaşımın sabit bir vazodilatasyon durumunda bulunduğu kabul edilmektedir. Damar düz kas hücrelerinde, NO'in meydana getirdiği gevşemenin intraselüler mekanizması solubl guanilat siklaz enzimi aracılığı ile 3',5'- guanozin monofosfat (GMP) yolağını içerir (25).

NO'e ek olarak, endotel hücreler shear stres, hipoksi ve çeşitli maddelere yanıt olarak prostasiklin (PGI₂) de salıverir. PGI₂, araşidonik asidin damar endotelinde oluşan en önemli metabolitidir. Damar endotel hücre membranı siklooksijenaz içerir. Endotel hücresinin mikrozomal fraksiyonunda PGI₂-sentetaz enzimi bulunur. Böylece

endotelde araşidonik asitten PGI₂ sentezlenir (36). Prostaglandin damar düz kas hücreleri ve trombositlerde siklik 3',5'-adenozin monofosfat (sAMP) düzeyini artırır. Prostaglandinin trombosit inhibe edici etkisi, olasılıkla, endotele-bağımlı gevşemelere olan katkısından daha önemlidir. Trombositlerde, NO ve prostaglandin trombosit agregasyonunu inhibe etmede sinerjistik olarak etkileşirler. Bu durum da tam bir antitrombosit aktivite için her iki mediyatörün de aktivitesinin gerekli olduğunu düşündürmektedir (25).

Endotel hücreleri sadece reseptörlere bağlanan humoral maddelere cevap vermezler, akış hızı ya da kan basıncı (biaksiyal tensil stres) gibi mekanik güçlere de cevap verirler. Endotel hücrelerinde üretilen maddelerin üretim ve salıveriliş mekanizmaları hakkındaki bilgiler şu an için sınırlıdır. Bu ajanların çoğunun üretim ve salıverilişinin kalsiyuma bağlı mekanizmalar ile olduğu bulunmuştur. Agonistler ya da mekanik güçler tarafından aktive edilen iyon kanalları Ca⁺² için içe yönelik akım yolları sağlar. Başlıca K⁺, klorür ve muhtemelen non-selektif katyon kanalları tarafından kontrol edilen membran potansiyeli, çeşitli damar fonksiyonlarında intra ve interselüler sinyal iletiminin önemli bir düzenleyicisidir (25).

2.1.2.1 Endotel hücrelerinde membran potansiyeli(25)

Endotel hücreleri genel olarak non-eksitabl hücreler olarak kabul edilirler. Makrovasküler endotel hücrelerinde dinlenme membran potansiyeli -10 ile -70mV arasında değişir. Membran potansiyeli hücre tipine göre değişir ve makrovasküler hücrelerde mikrovasküler hücrelere göre daha negatiftir. Potasyum kanallarının sentezi farklı endotel hücreleri tipleri arasında bile çok farklılık gösterir. Örneğin, birçok hücrede dinlenme membran potansiyelini belirleyen K_{IR} kanalları başlıca makrovasküler endotel hücrelerinde sentezlenir. Sentezin çeşitliliği aynı hücre tipi içerisindeki farklı dinlenme potansiyelinin oluşumunu etkiler. Endotel hücreleri dinlenme membran potansiyeli açısından ikiye ayrılabilirler: dinlenme potansiyeli K⁺ kondüktansı ile kontrol edilenler ve klorür kondüktansı ile kontrol edilenler. K⁺ tipi hücrelerde dinlenme potansiyeli -70 ile -60mV arasında değişir ve K_{IR} kanalı tarafından belirlenmektedir. Cl⁻ tipi hücreler -40 ile -10mV arasında değişen dinlenme potansiyeline sahiptirler. Ek olarak, ekstraselüler Na⁺ düşüşü ile oluşan

hiperpolarizasyon sodyuma selektif veya nonselektif-katyon kondüktansının dinlenim geçirgenliği ile ilgili olduğunu gösterir.

Reseptör aracılı ya da mekanik bir uyarı endotel hücrelerinin membran potansiyelini etkiler. Asetilkolin, bradikinin ve histamin tarafından oluşturulan vazoaaktif uyarı dinlenim potansiyeli K_{IR} kanalları tarafından düzenlenmeyen hücreleri hiperpolarize eder. Kalsiyuma bağlı K^+ akımlarının aktivasyonunun aracılık ettiği bu hiperpolarizasyonu genellikle nonselektif iyon kanallarının aktivasyonu sonucu membranın uzun süreli depolarizasyonu takip eder.

2.1.2.2 Endotelyumda bulunan iyon kanalları (25)

2.1.2.2.1 Nonselektif Katyon Kanalları

Nonselektif katyon kanalları Ca^{+2} giriş yollarını açıklayabileceğinden özellikle ilgi çekmektedir. Histamin, bradikinin, ATP, serotonin, trombin, P maddesi ve endotelin-1 gibi agonistler mikrovasküler ve makrovasküler endotel hücrelerinde nonselektif katyon akımlarını aktive ederler. Nonselektif katyon kanallarının endotel hücrelerindeki aktivasyon mekanizması belli değildir. İntraselüler Ca^{+2} tarafından aktive edilen ve siklooksijenaz yolağı inhibitörleri tarafından baskılanan agoniste bağlı nonselektif bir akım aort endotel hücrelerinde tanımlanmıştır. İntraselüler kalsiyuma bağlı bu kapı mekanizması uzun süreli Ca^{+2} influksu için ilginç bir pozitif feedback mekanizması gösterir. Agonistler tarafından aktivasyon G proteinleri aracılığıyla olabilir; fakat bu aktivasyonun direkt mi olduğu intraselüler Ca^{+2} artışı ile mi olduğu açık değildir. Sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} ATPaz Ca^{+2} pompası inhibitörlerinin uygulanması ve intraselüler depolardan Ca^{+2} salıveren inozitol trifosfatın intraselüler uygulanması nonselektif katyon kanallarını aktive eder. Bu kanalların aktivasyonu depoların boşalması ile ilişkilendirilmiştir. Oksidan stres sodyum, K^+ ve kalsiyuma eşit derecede geçirgen olan bir nonselektif katyon kanalını aktive eder. Bu kanal intraselüler Ca^{+2} depolarından ve intraselüler kalsiyumdan bağımsız olarak açılır. Bu kanallarının aktivasyonu ve takip eden membran depolarizasyonu Ca^{+2} influksunu sınırlandırabilir. Dar bir konsantrasyon aralığında Ca^{+2} giriş blokörü SK&F 96365 endotel hücrelerindeki nonselektif katyon kanallarını

inhibe eder. Ni^{+2} , Gd^{+3} , La^{+3} , niflumic asit, flufemik asit ve karboksilat deriveleri de bu kanalı inhibe eder.

2.1.2.2 Voltaja Duyarlı Kanallar

Endotel hücrelerinde voltaja duyarlı iyon kanallarının varlığına ait bulgulardan bazı kaynaklarda bahsedilse bile genel olarak bu hücrelerin nonekzitabl olduğu kabul edilir. Bu nedenden dolayı voltaja duyarlı kanallar fonksiyonel öneme sahip değildir.

2.1.2.3 Ca^{+2} -Geçirgen Kanallar

Asetilkolin, ATP, bradikinin, P maddesi, histamin, hipotansif peptid adrenomedullin ve endotelin-1 gibi agonistler tarafından indüklenen intraselüler Ca^{+2} değişiklikleri kalsiyumun inozitoltrifosfata duyarlı intraselüler depolardan salıverilişine bağlı hızlı bir başlangıç piki ve Ca^{+2} girişine bağlı uzun süren bir yükselmeden meydana gelen iki fazdan oluşur. İntraselüler Ca^{+2} artışı Ca^{+2} influsu için itici gücü modüle eden yüksek kondüktanslı Ca^{+2} ile aktive olan K^{+} kanalı akımını aktive eder. NO, PGI_2 gibi vazoaaktif maddelerin sentez ve salıverilişi, çeşitli proteinlerin sentezi ve gen ekspresyonu gibi çeşitli endotel hücresi fonksiyonları açısından Ca^{+2} influks yolları çok önemlidir. Ca^{+2} influks yollarının biyofiziksel karakterizasyonu ve moleküler karakteri şu anki bilgiler gözönüne alındığında halen karışıktır. Aynı zamanda depo boşalması ve bu yolların aktivasyonu da açıklık kazanmamıştır.

2.1.2.4 Klorür Kanalları

Endotel hücrelerinde üç sınıf klorür kanalı tanımlanmıştır: Ca^{+2} ile aktive olan klorür kanalları, volüm ile aktive olan klorür kanalları ve Ca^{+2} ya da hücre volümü tarafından düzenlenmeyen yüksek kondüktanslı klorür kanalları.

Histamin, ATP ve trombin gibi agonistler potansiyel pozitifken kalsiyuma bağlı klorür akımlarını yavaş bir şekilde aktive eder. Bu kanallar dışa yönelik düzenleme gösterirler. Bu akımların aktivasyonu için ATP gereklidir. Protein kinaz C (PKC) aktivasyonu ile inhibe olurlar; ki bu durum agonist stimülasyonu esnasında

diaçilgliserol üretiminin klorür akımı üzerinde negatif feedback etki gösterdiğini düşündürür.

Volüm ile aktive olan klorür akımı muhtemelen düşük kondüktanslı kanallarda görülmektedir, dışa yönelik doğrultucudur ve kanal iyodüre klorürden daha geçirgendir. Aktivasyonları için gerekli fizyolojik uyarı hücre volümündeki artış, başka bir mekanik uyarı ve hücre şeklinin değişmesidir. Hücre volümündeki değişiklikler yaygın tüm hücre akımlarını aktive eder. Bu akım kalsiyumdan bağımsızdır ve düşük intraselüler Ca^{+2} ve ATP düzeylerine ihtiyaç duyar. Bu akımlar voltajdan bağımsızdır ve çok yüksek pozitif potansiyellerde yavaşça inaktive olur.

İzoproterenol ve siklik adenozin monofosfat (sAMP) yüksek kondüktanslı klorür kanallarının voltaja duyarlılıklarını daha negatif potansiyellere doğru kaydırır. Çinko membranın her iki tarafından da kanalı bloke eder.

2.1.2.5 Mekano-Sensitif Kanallar

Endotel hücreleri kan akımından kaynaklanan gerilim ve transmural basınç değişikliklerine bağlı biaksiyal tensile stress gibi mekanik güçlere sürekli maruz kalırlar. Bu güçler arasında mekano-sensitif iyon kanallarının aktivasyonunun da bulunduğu çeşitli biyolojik yanıt başlatırlar.

Tensil stres ile aktive olan kanallar: Bu kanallar monovalan katyonlara, Ca^{+2} ve baryuma karşı geçirgendir. Gerilime duyarlı kanallardan kalsiyumun hücre içine girişi ve intraselüler Ca^{+2} artışı, yüksek kondüktanslı Ca^{+2} ile aktive olan K^{+} kanallarını aktive edip membranı hiperpolarize etmek için yeterlidir. Bu K^{+} kanallarının açılması itici gücü arttırarak Ca^{+2} girişi üzerinde pozitif feedback etki oluşturur. Gerilim ile aktive olan kalsiyuma karşı geçirgen katyon kanalları amilorid ve Gd^{+3} ile bloke olurlar. Volüme duyarlı klorür kanalları da mekanik güçlerle aktive olurlar ve bu kanallar K^{+} kanalları ile birlikte aktive olurlarsa volüm düzenlenmesine katkıda bulunabilirler.

Shear Stress ile Aktive Olan Kanallar: Endotel hücrelerinde shear stres daha önemli bir mekanik uyarı olarak kabul edilir. Farmakolojik çalışmalar mekanik uyarılmaya duyarlı K^{+} kanallarının çeşitlilik gösterdiğini öne sürmektedir. Pulsatil akış

frekansındaki değişikliklerden kaynaklanan shear stresin düşük kondüktanslı ve yüksek kondüktanslı kalsiyuma duyarlı K^+ kanallarını aktive ederken ATP'ye duyarlı K^+ kanallarını aktive etmediği öne sürülmüştür. Viskozite değişikliklerinden kaynaklanan akış hızı değişiklikleri düşük kondüktanslı kalsiyuma duyarlı K^+ kanallarını aktive etmezken ATP'ye duyarlı K^+ kanalları ile yüksek kondüktanslı kalsiyuma duyarlı K^+ kanallarını aktive eder. Bu K^+ kanallarının açılması hiperpolarizasyon oluşturur. İçe yönelik doğrultucu bir K^+ kanalı da shear stres için muhtemel bir mekano-sensör olarak tanımlanmıştır.

2.1.2.6 Gap Junction Kanalları

Komşu endotel hücreleri, endotel hücreleri ile lenfositler ve düz kas hücreleri arasındaki gap junction bağlantıları dikkatlice incelenmiştir. Endotel hücreleri ile düz kas hücreleri arasında yüksek kondüktanslı gap junction kanalları aracılığıyla oluşan elektriksel kenetlenme küçük terminal arteriollerinde fonksiyonel olarak önemlidir. Bu damarlarda toplam endotel hücreyi yüzeyi çok daha küçük düz kas hücre yüzeyi ile temas halindedir. Bu da endotel hücreleri aracılığıyla düz kas hücreyi membran potansiyelinin etkili değişikliğine olanak verir.

2.1.2.7 Potasyum kanalları

2.1.2.7.1 İçe yönelik doğrultucu kanallar

İçe yönelik doğrultucu kanallar endotel hücrelerindeki baskın K^+ kanal tipidir. Ekstraselüler Ba^{+2} , tetraetil amonyum (TEA), tetrabütülamonyum ve Cs^+ bu kanalı bloke eder. Ekstraselüler Na^+ ve Mg^{+2} 'a ve zamana bağlı inaktivasyon gösterirler. Anjiyotensin-II, arjinin-vazopresin, vazoaktif intestinal peptid, endotelin-1 ve histamin kapiler ve makrovasküler endotel hücrelerindeki K_{IR} kanalını inhibe eder. Bu inhibitör etkiye G proteinlerinin aracılık ettiği düşünölmektedir. Aorta endotel hücrelerinde izoprenalin, adenozin ve forskolin tarafından aktive edilen ve protein kinaz A (PKA) inhibitörleri tarafından inhibe edilen bir K_{IR} kanalı tanımlanmıştır.

2.1.2.7.2 Ca^{+2} ile aktive olan K^{+} kanalları

Endotel hücrelerinde tek kanal geçirgenliğine göre üç sınıf kalsiyuma bağlı K^{+} kanalı tanımlanmıştır.

Yüksek kondüktanslı Ca^{+2} ile aktive olan K^{+} kanalları kalsiyuma ve voltaja bağlı aktivasyon gösterirler ve tetraetilamonyum, karibdotoksin, d-tüboküarin ve ekstraselüler alkalinizasyon ile bloke olurlar. İnozoltrifosfat ya da kafeine duyarlı havuzlardan Ca^{+2} salıverilişi bu kanalları aktive eder ve spontan geçici dışa yönelik akımları başlatır.

Orta kondüktanslı Ca^{+2} ile aktive olan K^{+} kanalları G proteinine bağlı bir mekanizma ile, muhtemelen Ca^{+2} duyarlılıklarının artışı ile modüle edilir. Bradikinin, asetilkolin ve ATP gibi agonistler ile indüklenen inozitoltrifosfata duyarlı Ca^{+2} salıverilişi ile aktive olurlar.

Düşük kondüktanslı Ca^{+2} ile aktive olan K^{+} kanalları voltaja duyarlı değildir ve ekstraselüler tetrabutilamonyum ve apamin tarafından bloke olurlar. Son zamanlarda sıçan aorta endotelinde iki tip düşük kondüktanslı kalsiyuma duyarlı K^{+} kanalı tanımlanmıştır. Daha düşük kondüktanslı olanı apamin ve d-tüboküarin tarafından tamamen bloke olur, daha yüksek kondüktanslı olanı apamine duyarlı değildir fakat karibdotoksin tarafından inhibe edilir. Ca^{+2} duyarlılığı ve voltaja bağımlılıkları gibi Ca^{+2} ile aktive olan K^{+} kanallarının çokluğu çeşitli endotel hücresi sınıfları arasında çok fazla değişiklik gösterir.

2.1.2.7.3 İntraselüler ATP Tarafından Modüle Edilen Potasyum Kanalları

K^{+} kanal açıcı levkromakalimin mikromolar düzeydeki konsantrasyonlarında, K^{+} kanalı metabolik inhibitörü varlığında ve shear stres ile aktive olurlar. İntraselüler ATP artışı, glibenklamid ve tolbutamid gibi sülfonilüreler, ekstraselüler kalsiyum, tetraetilamonyum ve intraselüler pH yükselmesi ile bloke olurlar.

2.2 Potasyum Kanalları

2.2.1 Potasyum Kanal Tipleri (30)

Potasyum kanalları damar düz kasında membran potansiyeli ve vasküler tonusun sürdürülmesi ve düzenlenmesinde, düz kas hücrelerindeki baskın iyon geçiş yolağı olmaları nedeniyle önemli rol oynarlar. K^+ kanalının açılması bu katyonun hücre dışına çıkması ve membran hiperpolarizasyonu ile sonuçlanır. K^+ kanalının kapanması ise ters etkiye sahiptir. Bu nedenle K^+ kanal aktivitesi düz kas kasılmasıyla bağlantılıdır. Birçok tonik düz kaslarda, örneğin arterlerde, dinlenme membran potansiyelini etkileyen K^+ kanalları kontraktıl tonusun düzenleyicisi olarak işlev görür.

İyon kanalları ilk başta geçirgen oldukları iyon ve elektrofizyolojik özellik ve fonksiyonlarına göre sınıflandırılmıştır. Birçok kanalın protein dizileri hakkındaki bilginin artması ile kanalların bir seri moleküler ailelerden meydana geldiği açıklık kazanmıştır. Kanalları sınıflandırmanın yeni bir yolu ortaya çıkmış ve kanallar moleküler yapılarına göre sınıflandırılmıştır. Potasyum kanalları içe yönelik doğrultucu kanal gen ailesi ve bu ailenin alt türleri sınıfının bir üyesidir (30).

Vasküler düz kasta başlıca dört tip K^+ kanalı bulunur: (12)

1. İntraselüler Ca^{+2} seviyelerindeki değişikliklerle uyarılan Ca^{+2} ile aktive olan K^+ kanalı.
2. Voltaja duyarlı K^+ kanalı
3. Küçük arterlerde intraselüler K^+ değişikliklerine aracılık eden içe yönelik doğrultucu K^+ kanalları
4. Hücre metabolik değişimlere karşı yanıt veren ATP'ye duyarlı K^+ kanalları.

2.2.1.1 Ca^{+2} ile aktive olan K^+ kanalları (K_{Ca}) (16,18)

K_{Ca} kanallarının ortak özellikleri, kanalın açılmasının başlaması için intraselüler kalsiyuma olan bağımlılığıdır. Bu kanallar tek kanal kondüktanslarına göre üç sınıfa ayrılırlar; düşük, orta ve yüksek kondüktanslı K_{Ca} kanalları. Düşük kondüktanslı K_{Ca} kanalları Ca^{+2} ile aktive olurlar ve voltaja duyarlı değildirler. Apamin ve d-tübokürarine duyarlıdırlar. Merkezi nöronların hiperpolarizasyon sonrası yanıtlarına

katılırlar. Orta kondüktanslı K_{Ca} kanalları karibdotoksin ve klotrimazol ile bloke olurlar. İberotoksin, apamin ve ketokonazole karşı duyarsızdırlar. Kalmodulin bu kanalın karboksi terminaline bağlanarak kalsiyuma bağımlı aktivasyona neden olur. Yüksek kondüktanslı kalsiyuma duyarlı K^+ kanalları intraselüler Ca^{+2} artışı ve membran depolarizasyonu ile aktive olurlar. Myojenik tonusa sahip küçük arterlerde bu kanalların aktivitesinin membran potansiyeli ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. İberotoksin veya TEA iyonları ile bu kanalların blokajı membran depolarizasyonu ve vazokonstriksiyon ile sonuçlanmaktadır (5). Mikrosirkülasyonda, mevcut dinlenim myojenik tonusu dışında yüksek kondüktanslı kalsiyuma duyarlı K^+ kanalları aktif değildir. İberotoksin veya TEA uygulanması in vivo olarak, dinlenim durumundaki arteriol çapında değişikliğe yol açmaz. Yüksek kondüktanslı K_{Ca} kanalları intraselüler Ca^{+2} değişikliklerine cevap verebildikleri için hücre uyarılabilirliğinin kontrolünde önemli rol oynarlar. Bu kanal α ve β alt ünitelerinden oluşur. α alt ünitesi yedi transmembran segmentinden oluşur. Bu segmentlerin altı tanesi voltaja duyarlı K^+ kanalları ile ortaktır ve bu nedenle kalsiyumun ortamda bulunmadığı durumlarda bu kanal voltaj tarafından da aktive edilir. α alt ünitesinde kalsiyumun bağlandığı bölge karboksil terminusudur. β alt ünitesi, birbirine glukozlanmış ekstraselüler bir bölge ile bağlı, intraselüler amino ve karboksi terminaline sahip iki α helikal transmembran domaininden meydana gelmiştir. β alt ünitesi toksinlerin kanala bağlandığı bölgedir ve bu alt ünitenin ekstraselüler kısmındaki aminoasitlerin toksin bağlanmasında rollerinin olduğu düşünülmektedir. Bu kanalların aktif vazokonstriksiyonu sınırlamada ve vazospazmı önlemede negatif feedback rol oynadığı düşünülmektedir. Ek olarak, bu kanallar araşidonik asit epoksitleri, karbonmonoksit gibi ajanlar ve siklik-guanozin monofosfat (sGMP), sAMP yolları ile aktivite gösteren vazodilatör ajanlar ile de aktive olabilirler. Yüksek kondüktanslı kalsiyuma duyarlı K^+ kanallarının vasküler düz kastaki sentezleri hipertansiyonda arttığı ve bu durumun hipertansiyondaki artmış damar reaktivitesine karşı bir negatif feedback mekanizma olarak ortaya çıktığı önesürülmüştür. Bu nedenle, yüksek kondüktanslı kalsiyuma duyarlı K^+ kanalları vasküler tonusun düzenlenmesinde hem sağlık hem de hastalık durumlarında önemli rol oynar. TEA, karibdotoksin, iberiotoksin ve limbatotoksin bu kanalı inhibe eder.

2.2.1.2 Voltaja duyarlı K^+ kanalı (16, 17, 18)

Farklı hücrelerde bulunan voltaja duyarlı K^+ (K_V) kanalları, geniş bir aralıkta değişen voltaj duyarlılığına ve kinetik özelliklere sahip heterojen yapı gösterirler. K_V kanallarının alttiplerinden birinin dört α ve dört β alt ünitesinden oluşan tetramerik yapıya sahip olduğu gözlenmiştir. Değişik alt ünite stokiometrisine sahip heteromerik K^+ kanalları, kanal özellikleri buldukları bölgenin fizyolojik ihtiyaçlarına daha uygun olmasına göre değişik subselüler kompartmanlarda lokalize olabilirler. Değişik subselüler lokalizasyon, aksiyon potansiyelinin ortaya çıkması ve akson boyunca iletimi, sinir uçlarında aksiyon potansiyeli yayılması ve transmitter salıverilişinin düzenlenmesi, aksiyon potansiyelinin geri dönüşünün ve dendritlerdeki uyarılmanın sınırlandırılması gibi değişik fizyolojik fonksiyonları beraberinde getirir. Kanalın K^+ geçirgenliğinden α alt ünitesi sorumludur. K_V kanalı intrinsik voltaj sensörlerine sahiptir ve membran depolarizasyonu bu intrinsik voltaj sensörleri tarafından algılanır. Bu kanalların dinlenim membran potansiyeli ve vasküler tonusun düzenlenmesine katkıda buldukları düşünülmektedir. Voltaja duyarlı K^+ kanalları hem vazodilatörlerin hem de vazokonstriktörlerin etki mekanizmasına katılır. Vasküler kasta sentezlenen voltaja duyarlı K^+ kanallarının selektif inhibitörlerinin olmaması nedeniyle bu kanalların in vivo rolleri fazla araştırılmamıştır. Elektrofizyolojik çalışmalar hipertansif hayvanlarda vasküler kas hücrelerinde voltaja duyarlı K^+ kanalı sentezinin azaldığını göstermiştir. Bu durum depolarizasyona ve hipertansiyondaki vasküler tonus artışına katkıda bulunabilir. K_V kanalı, karibdotoksin, noksiustoksin, margatoksin, kaliotoksin, hongotoksin, agitoksin ve 4-aminopiridin tarafından inhibe edilir.

2.2.1.3 İçe yönelik doğrultucu K^+ kanalı (16, 17, 30)

K_{IR} kanalları ilk olarak iskelet kasında bulunmuştur ve daha sonra hem eksitabl hem de non-eksitabl hücrelerde varlıkları gösterilmiştir. Bu iyon kanalları fizyolojik iyon gradiyentinde içe yönelik akımı dışa yönelik akımdan daha fazla (daha kolay) geçirirler. Ekstraselüler K^+ konsantrasyonundaki artışlarda ise yönlendirmenin gözlemlendiği potansiyelde sağa doğru paralel kayma ve kondüktansta büyük bir artış gösterirler. Bu kanallar dinlenim potansiyelini ve dinlenim durumu K^+ kondüktansını

kontrol ederler, aksiyon potansiyeli oluşumuna ve kalp hücrelerinde membran bir kez yeterince depolarize olduktan sonra uzamış depolarizasyonun oluşumuna olanak sağlarlar. Kanalin K^+ geçirgenliğinden α alt ünitesi sorumludur. K_V kanalları ile K_{IR} kanalları arasında por oluşumu ve yapı bakımından benzerlikler olmasına rağmen bu kanalların açılma mekanizmaları farklıdır. Bu kanalların içe yönelik doğrultucu özellikleri poliaminlerin oluşturduğu intraselüler blokaja bağlıdır. Eksternal baryum K_{IR} akımlarının etkili bir blokörüdür. Ca^{+2} ve magnezyum da K_{IR} akımlarını kısmen bloke eder. Potasyum kanallarını bloke eden diğer bileşiklerin bu kanal üzerinde etkileri yok denecek kadar azdır. Nonselektif bir blokör olan penisilidin kanalın yarı-blokajına neden olurken K_{ATP} kanallarını bloke eden dozlarda uygulanan glibenklamidin bu kanal üzerine etkisi yok denecek kadar azdır.

ATP'ye duyarlı K^+ kanalları daha ayrıntılı bir biçimde verilmiştir.

2.3 ATP'ye Duyarlı Potasyum (K_{ATP}) Kanalları (39)

K_{ATP} kanalları ilk olarak Noma tarafından 1983'te kalpte, kardiyak miyositlerde bulunmuştur (26). Bunu izleyen çalışmalar vasküler düz kas hücrelerinin de dahil olduğu birçok hücre tipinde bu kanalların varlığını göstermiştir. Noma'nın yaptığı deneylerde, siyanür tarafından oluşturulan metabolik inhibisyon, membranın iç yüzündeki normalde ATP tarafından inhibe edilen K^+ kanallarını açmıştır (26). Bu nedenle bu kanallara K_{ATP} kanalı ismi verilmiştir. K_{ATP} kanalları anjina, hipertansiyon ve diabetin de içinde bulunduğu birçok hastalık için terapötik hedeflerdir. Bunun nedeni kanalların uyarılmasının vazodilatasyona ve iskemiye karşı myokardı koruyucu etki sağlaması ve inhibisyonlarının insülin sekresyonunu kolaylaştırmasıdır. Normal kalpte K_{ATP} kanalları yüksek hücre içi ATP konsantrasyonu nedeni ile kapalıdır, iskemi gibi hücre içi ATP'nin daha düşük olduğu durumlarda açılırlar. Dışa yönelik K^+ akımlarının artması aksiyon potansiyeli süresini kısaltır, hücre içine Ca^{+2} girişini ve kasılmayı azaltır ve böylece ATP tasarrufu sağlar. İskemik hasara karşı koruyucu etkilerini bu yolla gösterirler (39).

K_{ATP} kanalları ATP ve sülfonilüreler tarafından inhibe edilirler. Nükleotid difosfat ve K^+ kanal açıcı ilaçlar ile stimüle edilirler. Pankreas, kalp ve vasküler düz kas gibi

farklı dokularda bulunan K_{ATP} kanallarının bu karakterleri aynı olsa da bahsedilen ajanlara karşı farklı dokularda oluşan cevapların özellikleri değişiktir. Önceki çalışmalar bir selektif K_{ATP} kanal blokörü olan glibenklamidin, insanları da içeren çeşitli türlerin mikrosirkülasyon yataklarında arterioller konstriksiyona yolaçtığını göstermiştir. Bu veriler ATP'ye duyarlı K^+ kanallarının dinlenme durumunda mikrosirkülasyonda aktif olabileceği hipotezini desteklemektedir. Çeşitli damar yataklarında glibenklamidin dinlenme vasküler rezistansı üzerine etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Farklılıklar tür ya da bölgesel farklılıklardan ortaya çıkabileceği gibi çalışmalar arasındaki metodolojik farklardan da kaynaklanıyor olabilir. Çeşitli çalışmalar K_{ATP} kanal agonisti kromakalim ve pinasidilin arteriollerini dilate ettiğini göstermiştir. Bu bulgu K_{ATP} kanalının arteriol kas hücresinde de bulunduğunun bir kanıtıdır (39).

2.3.1 Damar Düz Kasındaki ATP'ye Duyarlı Potasyum Kanalları

2.3.1.1 Özellikleri (30)

Çeşitli damarlardaki K_{ATP} kanallarının kondüktansları çok fazla değişkenlik gösterir, yine de kanallar kondüktanslarına göre iki gruba ayrılabilirler: düşük/orta kondüktanslı kanallar ve yüksek kondüktanslı kanallar. Diğer dokulardaki K_{ATP} kanallarının kondüktansları genellikle bu iki grubun ortasına denk düşmektedir. Sıçan aortasında da yüksek kondüktanslı K_{ATP} kanalları bulunmaktadır.

Şu an için vasküler düz kasta K_{ATP} kanallarının hücre kinetiklerine ait detaylı bilgi olmamasına rağmen iskelet kası ve kalpte yapılan çalışmalarda bu kanalların kinetik davranışlarının kompleks olduğu gözlemlenmiştir. K_{ATP} kanallarının iki açık ve birkaç kapalı durumda bulunabileceği, açık durumların daha uzun süren kapalı periyodlarla ayrıldığı düşünülmektedir.

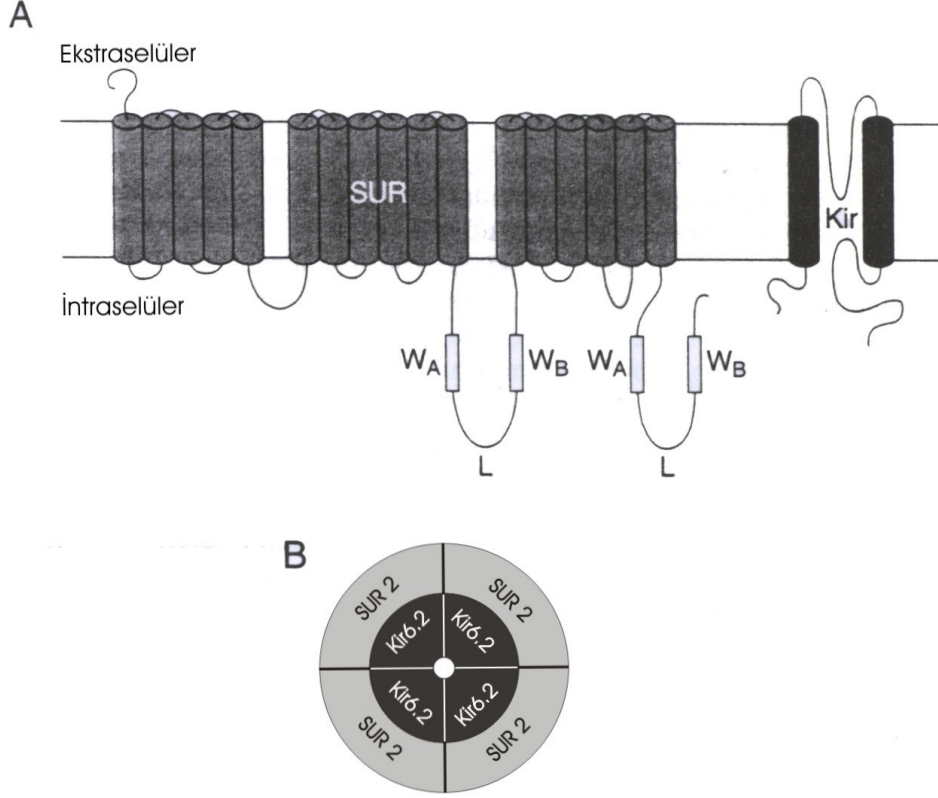
K_{ATP} kanalları intraselüler ATP tarafından inhibe edilmelerine bağlı olarak ATP'ye duyarlı K^+ kanalı olarak adlandırılırsalar da sitoplazmadaki ATP düzeyleri genellikle çok iyi ayarlanmakta ve milimolar düzeylerde sabit tutulmakta, ancak şiddetli metabolik tehlike durumlarında azalmaktadır. Bu bilgiler K_{ATP} kanallarının ATP'ye ek olarak başka faktörler tarafından ko-regülasyonu fikrini gündeme getirmiştir. K_{ATP}

kanal aktivitesini değiştiren intraselüler metabolitler arasında adenozin difosfat (ADP), diğer nükleotid difosfatlar bulunmaktadır. ADP ve guanin nükleotidleri K_{ATP} kanalı üzerinde yüksek konsantrasyonlarda bloke edici, düşük konsantrasyonlarda ise aktive edici etkiye sahiptirler. Guanin nükleotidlerinin kanal üzerindeki aktivatör etkisinin SUR alt ünitesi üzerinden, blokör etkisinin ise Kir alt ünitesi üzerinden geliştiği düşünölmektedir (35). Ayrıca intraselüler pH ve kanalların çalışabilir halde tutulabilmesi açısından fosforilasyon da kanal aktivitesini etkilemektedir. Kalp kasında nükleotid difosfatların iki ayrı etkisinden bahsedilmektedir; 1) ATP inhibisyon eğrisinin sağa kayması şeklinde görölen ATP'nin inhibitör etkisinin antagonizması ve 2) ATP yokluğunda gözlenebilen kanal aktive edici veya yenileyici etki.

2.3.1.2 Yapısı

K_{ATP} kanalı iki tip alt üniteden oluşmaktadır; Kir6.2 olarak adlandırılan K_{IR} kanal alt ünitesi ve SUR olarak adlandırılan, ATP bağlanma kaseti taşıyıcı protein ailesinden olan sülfonilüre reseptör alt ünitesi (Şekil 2.1). Fonksiyonel bir K_{ATP} kanalı oluşumu için her iki alt ünitenin varlığına da ihtiyaç duyulmaktadır. Bu iki alt ünite 4:4 stokiometrisine uygun oktamerik bir kanal meydana getirirler. Diğer içe yönelik doğrultucu kanalların aksine Kir6.2 tek başına kanal oluşturmaz. Bunun nedeni tam olarak bilinmese de SUR ünitesinin Kir6.2'nin hücreiçi transport ve dağılımı için gerekli olduğu düşünölmektedir. Kir6.1 ve Kir6.2 olmak üzere iki farklı Kir6 alt ünitesi tanımlanmıştır. SUR1 ve SUR2 ise iki farklı sülfonilüre reseptör alt ünitesidir. SUR2 de A, B, C alttiplerine ayrılmıştır. Değişik Kir ve SUR alt ünitelerinin birleşmesiyle değişik farmakolojik ve nükleotid duyarlılığına sahip olan K_{ATP} kanalları oluşur. Dokulara göre K_{ATP} kanallarını oluşturan alt üniteler farklılık göstermektedir. Düz kasta K_{ATP} kanallarını oluşturan alt üniteler muhtemelen Kir6.2 ve SUR2B'dir. Düz kasta ATP'ye duyarlı olmayan, nükleotid ile aktive olduğu saptanan, glibenklamid gibi sülfonilürelere duyarlı bir K_{ATP} kanalının Kir6.1 ve SUR2B ünitelerinden oluştuğu düşünölmektedir (22). Çalışmalar K_{ATP} kanalındaki por oluşturuvcu ünitenin Kir6.2 olduğunu göstermektedir. Sülfonilüre reseptörü farmakolojik ajanlar için hedeftir (1,3). SUR1 ve SUR2 reseptörleri sülfonilürelere değişik affinite gösterirler. Ayrıca SUR ve Kir ünitelerinin birbirlerinden bağımsız olarak, tek başlarına tetramerik yapı oluşturabilecekleri ihtimali üzerinde de durulmaktadır. Bu tetramerik yapı teorisi karışık tipteki kanalların varolabileceği

olasılığını gündeme getirmektedir ki, bu durumda aynı hücre türünde farklı reseptör türlerinin ekspresyonu sözkonusudur. Bahsedilen olasılık farklı farmakolojik özellik gösteren K_{ATP} kanallarının varlığı ile sonuçlanabilir (1).



Şekil 2.1: K_{ATP} kanalında bulunan SUR ve Kir alt üniteleri için önerilen membran topolojisi. (A) Gri (SUR) ve siyah (Kir) silindirler transmembran domainleri, beyaz silindirler Walker A ve Walker B (W_A ve W_B) motiflerini simgelemektedir (L: Link(bağlanma) bölgesi). (B) SUR ve Kir alt ünitelerinin 4:4 stokiometrisi (3).

2.3.1.3 Fizyolojik Fonksiyonları (30)

K_{ATP} kanalları birçok vazodilatörün hedefidir ve son aktivasyon dereceleri bu aktivatör ve inhibitörlerin net etkileri ile düzenlenir. K_{ATP} kanalları kan akımının metabolik regülasyonunda rol oynayabilirler. Hipoksi gibi kan ihtiyacının arttığı durumlarda komşu dokulardan vazodilatörlerin salınması ya da hipoksinin direkt etkisi sonucunda bu kanallar aktive olurlar. Bazı durumlarda, koroner arterlerde olduğu gibi, vazodilatörler ortamda bulunmasa ve oksijen seviyesi normal olsa bile bu kanal arter düz kasının membran potansiyelinin düzenlenmesine katkıda bulunur.

K_{ATP} kanalları depolarizasyon ve kasılmaya yol açan vazokonstriktörler tarafından inhibe edilebilirler.

Membran potansiyeli ve bazal tonus üzerine olan etkileri (30)

İzole damar düz kas hücrelerinde “perforated patch” tekniği ile yapılan çalışmalar dinlenme durumundaki hücrelerde açık durumda K_{ATP} kanalları bulunduğunun ilk direkt kanıtı olmuştur. Bu nedenle K_{ATP} kanalları dinlenme membran potansiyelinin ve dolayısıyla arterioler kas hücrelerinin tonusunun düzenlenmesinde önemli rol oynar.

K_{ATP} kanalları, dinlenme durumu sistemik kan basıncında pek etkili olmamalarına rağmen bazı damar yataklarında endojen aktivatörlerin yokluğunda bile bazal kan akımının düzenlenmesinde rol oynarlar. Koroner sirkülasyonda K_{ATP} kanallarının bazal vasküler tonusun düzenlenmesine katıldığı görüşü desteklenmektedir. Glibenklamide duyarlı dinlenme durumundaki bir vazodilatör tonus K_{ATP} kanallarının damar düz kasında dinlenme membran kondüktansına etki etmesinin bir sonucu olabilir. Glibenklamidin küçük arterleri büyüklerden daha fazla depolarize etmesi bu kanalın dinlenme membran kondüktansına daha fazla etki etmesinden kaynaklanabilir. Glibenklamid bazı damar yataklarında kan akımına direnci artırır. Bazı damar yatakları perfüzyon basıncındaki değişikliklere karşı sabit bir kan akımı sağlarlar, bu olguya otoregülasyon denir. Glibenklamid bazı damar yataklarındaki otoregülasyonu azaltır.

Vazodilatör transmitterlere karşı yanıtlar (30)

Peptidler, özellikle kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP) K_{ATP} kanallarını aktive eder ve CGRP'nin neden olduğu hiperpolarizasyon glibenklamide duyarlıdır. Vazoaktif intestinal peptid glibenklamide duyarlı membran hiperpolarizasyonuna neden olur. Opioidlerin neden olduğu vazodilatasyonlar da glibenklamide duyarlıdır. Endotelinin neden olduğu pulmoner vazodilatasyon glibenklamid ve glipizide duyarlıyken endotelinin sistemik vazodilatör cevapları glibenklamidden etkilenmez.

β_1 ve β_2 adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu düz kas gevşemesine neden olur ve bu reseptörlerin agonistleri glibenklamide duyarlı vazodilatasyona neden olurlar. Artan intraselüler sAMP konsantrasyonu ve bunu takipeden PKA aktivasyonu düz kas β -

adrenerjik dilatasyon mekanizmasıdır ve bu yolak vasküler K_{ATP} kanallarını aktive eder.

Adenozin metabolik ihtiyaca göre kan akımının ayarlanmasında önemli rol oynayan bir vazodilatördür. Adenozinin bu etkisine K_{ATP} kanalları da katılmaktadır. Adenozinin neden olduğu hiperpolarizasyon ve gevşeme cevapları glibenklamide duyarlıdır.

Endotelyum tabakası, NO, PGI_2 ve EDHF gibi vazodilatör faktörler salıverir. Bütün bu faktörlerin K_{ATP} kanallarını aktive ettiğini destekleyen bulgular mevcuttur. PGI_2 ve bazı diğer prostanoidler (PGD_2 ve PGE_2) düz kası gevşetirler. Stabil bir PGI_2 analogu olan iloprostun endojen K^+ kanallarını açtığı ve etkisinin bir kısmının K_{ATP} kanal aktivasyonu yoluyla olduğu bilinmektedir. Glibenklamid iloprostun etkisini bazı dokularda kısmen tersine çevirmektedir. NO ve diğer nitro vazodilatörler bazı düz kas tiplerinde glibenklamide duyarlı membran hiperpolarizasyonuna neden olurlar. NO ve nitro vazodilatörlerin K_{ATP} kanallarını sGMP'nin PKA'yı aktive etmesi sonucunda aktive ettiği düşünülmektedir. EDHF bilinmeyen bir endotel kaynaklı faktördür ve neden olduğu hiperpolarizasyon bazı dokularda glibenklamid tarafından antagonize olurken diğerlerinde olmaz.

pH'in neden olduğu vazodilatasyon (30)

Arteriyal karbondioksit seviyelerindeki artış nedeniyle oluşan ekstraselüler asidifikasyon (hiperkapni), çeşitli damar yataklarında gevşemeye neden olur. Ekstraselüler pH değişimleri kan akımının düzenlenmesinde önemli rol oynayabilir. Ekstraselüler asidifikasyon, K^+ geçirgenliğini arttırarak hiperpolarizasyona neden olur, ki bu hiperpolarizasyon glibenklamide duyarlıdır. Glibenklamidin in vivo etkileri, pH'ın düz kas üzerine olan direkt etkisinden kaynaklanabileceği gibi K_{ATP} kanallarını aktive eden bazı vazodilatörlerin salıverilmesinin sonucu da olabilir. Hiperkapniye karşı oluşan yanıt, NO sentezinin arjinin analogu olan N^G -nitro-L-arjinin (L-NNA) ve N^G -monometil-L-arjinin (L-NMMA) tarafından inhibe edilmesi sonucu azalır. Bu nedenle K_{ATP} kanallarının endotel ya da nöral NO salıverilmesi sonucu aktive olması muhtemeldir.

Hipoksinin neden olduğu gevşeme yanıtı (30)

Çeşitli vasküler yataklarda metabolik ihtiyaç ile oksijen ve metabolik substratların sağlanması arasındaki sıkı ilişki karakteristiktir. Metabolik ihtiyaca göre oksijen ve metabolik substratların sağlanması, kan damarının çapının ihtiyaca göre ayarlanması ve bunun sonucunda oksijen gerilimindeki lokal düşme ile sağlanabilmektedir. Kan akımı ve metabolik ihtiyaç arasındaki bu ilişkide birkaç farklı mekanizma rol oynar: 1) oksijen gerilimi düz kas hücreleri üzerinde direkt etkili olabilir; 2) hipoksi endotel hücrelerinden çeşitli vazodilatörlerin (örneğin: prostaglandinler) salınmasına neden olabilir; 3) düz kas üzerinde vazodilatör etkileri bulunan metabolitler (örneğin: adenzin) komşu dokulardan salınabilirler. Kalpteki hipoksik vazodilatasyonun glibenklamid tarafından önlenemediği bilinmektedir, ki bu durum K_{ATP} kanallarının bu olayda rollerinin olduğunu gösterir, fakat Hüsken ve arkadaşlarının (15)yaptığı çalışmada K_{ATP} kanallarının aktivitesinin hipoksik koşullar altında değiştiği gözlemlenmiştir. Kalpteki hipoksik vazodilatasyona salıverilen adenzinin neden olduğu ve glibenklamidin adenzin üzerinden bu gevşemeyi önlediği düşünülebilir. Ayrıca adenzinden bağımsız vazodilatasyondan da söz edilmektedir, bu vazodilatasyonun nedeni hipoksi esnasındaki ekstraselüler asidifikasyon, prostanooidler gibi endotel kaynaklı faktörlerin salıverilmesi olabilir. Adenzin antagonistlerine karşı duyarsız glibenklamide duyarlı bu hiperpolarizasyonun nedeni K_{ATP} kanallarını aktive eden başka vazodilatörlerin salıverilmesi olabilir. Hipoksi koroner arterleri, vazodilatörlerden bağımsız olarak düz kas hücresi üzerine direkt etki ile de gevşetir. Bunda hipoksinin K_{ATP} akımlarını aktive etmesinin rolü vardır. Hipoksinin damar düz kasındaki K_{ATP} kanallarını aktive etmesinin en olası mekanizması, selüler metabolizma ile etkileşerek intraselüler nükleotid seviyelerini değiştirmesidir. Aortada hipoksinin total hücrese ATP konsantrasyonunu değiştirmeden gevşemeye yolaçtığı düşünüldüğünde vazodilatasyon için alternatif bir mekanizma gündeme gelmektedir. Karotidler için önerildiği gibi iyon kanallarının hipoksi esnasındaki regülasyonlarında kanal ile ilişkili bir oksijen sensörünün varlığından da bahsedilebilir. Özet olarak, K_{ATP} kanal aktivitesi hipoksik cevap esnasında çeşitli farklı vazodilatör uyarıların ortak integrasyon noktasıdır.

Vazokonstriktörler

Anjiyotensin II, vazopressin ve endotelin damar düz kasındaki K_{ATP} kanallarını inhibe eder. Muskarinik reseptör uyarılması, serotonin, fenilefrin, nöropeptid Y ve histamin K_{ATP} akımlarını PKC'nin uyarılması yoluyla inhibe eder.

2.3.1.4 ATP'ye duyarlı K^+ kanallarını regüle eden hücresel mekanizmalar(30)

Hücrenin metabolik faaliyetleri sonucunda, ATP'nin azalması, ADP ve diğer nükleotid difosfatların konsantrasyonunun artması gibi intraselüler metabolit miktarında meydana gelen değişikliklerin K_{ATP} kanal aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir. Hücre metabolizmasının metabolik zehirlerle inhibisyonu, substrat azalması veya hipoksi K_{ATP} akımlarını artırır.

Vazoaktif maddeler genellikle düz kas hücreesindeki iyon kanallarını module ederek vasküler tonusu değiştirirler. Birçok vazokonstriktör PKC'yi aktive ederek K_{ATP} kanallarını kapatır. Birçok vazodilatör de ya sAMP'ye bağımlı protein kinazı (PKA), ya da sGMP'ye bağımlı protein kinazı (PKG) aktive ederek K_{ATP} kanallarını açar. K_{ATP} kanal aktivitesinin son durumunu da bu kinazların aktiviteleri arasındaki denge belirler. Ayrıca bu ikinci mesajcı sistemlerinin aktivasyonu diğer düz kas iyon kanallarının aktivitesinin koordine regülasyonu ile de sonuçlanır.

PKA'yı aktive eden vazodilatörler genellikle "seven-transmembrane domain" olarak adlandırılan bir reseptörle etkileşerek G_s 'yi yani adenilat siklazı aktive eden bir G proteinini aktive eder. Adenilat siklaz sAMP oluşumunu katalize eder. sAMP, PKA'nın regülatör alt ünitesine bağlanarak katalitik alt ünitelerin disosiasyonuna ve kinaz aktivasyonuna neden olur. Aktive olan PKA, hedef proteinlerdeki serin ve treoninleri fosforile ederek hücresel cevabı oluşturur. PKA'yı aktive eden CGRP, prostasiklinler, β -adrenerjik agonistler, vazoaktif intestinal peptid ve adenosin gibi vazodilatörlerin glibenklamid ile inhibe olması bunların K_{ATP} kanallarını aktive ettiğini gösterir.

PKG, guanilat siklazın GTP'yi sGMP'ye enzimatik olarak dönüştürmesi sonucu artan hücresel sGMP düzeyi tarafından aktive olur. Guanilat siklazın soluble ve particulate

olmak üzere iki formu vardır ve bunların her ikisi de, aktive oldukları zaman sGMP oluşumunu katalize ederler. PKG'nin takibeden aktivasyonu hedef proteinlerin fosforilasyonuna olanak verir. PKA ile sGMP ve PKG ile sAMP arasında nükleotid bağlanma bölgelerinin kendi nükleotidlerine karşı yüksek selektiviteye sahip olmaması nedeniyle çapraz-aktivasyon görülebilir. Sonuç olarak hem PKA hem de PKG damar düz kasını K_{ATP} kanallarını aktive ederek hiperpolarize edebilir.

Birçok vazokonstriktör reseptör GTP-bağlayıcı protein, G_q ile eşleşmiştir (yakın ilişki içindedir). G_q , fosfolipazları aktive ederek membran fosfolipidlerini hidrolize eder ve bu da ikinci haberciler olan inozitol trifosfat ve diaçilgliserol'ün oluşumu ile sonuçlanır. İnozitoltrifosfat hücre içi depolardan Ca^{+2} salıverilmesine neden olurken diaçilgliserol PKC'yi aktive ederek hedef proteinlerin fosforilasyonuna neden olur. Norepinefrin, histamin, serotonin, nöropeptid Y, endotelin, vazopresin ve anjiotensin gibi PKC'yi aktive eden vazokonstriktörler K_{ATP} akımlarını inhibe ederler.

Elektrofizyolojik çalışmalarda karşılaşılan bir başka durum da K_{ATP} kanal aktivitesinin zamanla azalma eğilimidir ve bu durum desensitizasyon olarak adlandırılır. Defosforilasyon ya da MgNDP'lerin bağlanma bölgesinden ayrılması desensitizasyon mekanizması olabileceği düşünülmektedir. K_{ATP} kanallarının protein kinazlarla regüle edildiği bilindiğine göre bu kanalların çalışabilir durumda kalmalarını sağlamak için fosforilasyonun gerekli olduğu da düşünülebilir. Nükleotid difosfatların magnezyum tuzları K_{ATP} kanallarının tekrar aktive olmasında çok etkilidirler. MgNDP bağlanma bölgesinin dolu olmasının damarda bulunan K_{ATP} kanallarının aktivitesinin düzenlenmesi için esas olduğu öne sürülmüştür.

K_{ATP} kanalları için çok farklı kompleks modeller çeşitli gruplar tarafından önerilmiş olsa da K_{ATP} kanallarının aktivitesini etkileyen hücrel mekanizmalar incelendiğinde bu kanalların bir ATP inhibisyon bölgesi, bir MgNDP uyarılma bölgesi ve bir fosforilasyon bölgesi içerdiğini öngören minimum model çizilebilir.

2.3.1.5 Farmakolojisi (30)

K_{ATP} kanalları terapötik bir hedeftirler ve hem aktivatör hem de inhibitörleri klinikte kullanılmaktadır. Pankreas β -hücrelerindeki K_{ATP} kanallarının sülfonilüreler

tarafından inhibisyonu insülin salgısının artışı ile sonuçlanır. Bu etkileri sülfonilürelerin insüline bağlı olmayan diabetteki kullanımlarının altında yatan mekanizmadır. Sentetik K_{ATP} kanal açıcıları membran hiperpolarizasyonu oluşturarak düz kası gevşetirler. Son yıllarda dokuya selektif açıcıların geliştirilmesi için çalışılmaktadır. Bu ilaçların astım, hipertansiyon, angina ve mesanenin motilite bozukluklarında önemli değere sahip olabilecekleri düşünülmektedir. Kalpteki K_{ATP} kanallarının aktivasyonu iskemik önkoşullamada rol oynar. Kardiyak doku kısa iskemik periyodlara maruz kaldığında oluşacak iskemik hasara karşı daha dirençli olmaktadır. Bu etkiyi taklit eden kalp K_{ATP} kanal aktivatörlerinin geliştirilmesi terapötik kullanıma olanak sağlayabilecektir (19). Çeşitli K_{ATP} kanal aktivatör ve blokörlerinin terapötik indikasyonları Tablo 2.1’de verilmektedir (32).

2.3.1.5.1 Kanal İnhibitörleri (30)

Kanal inhibitörleri farklı kanal tiplerinin tanımlanmasını, ayrılmasını ve bu kanalların fonksiyonel rollerinin araştırılmasını sağlamışlardır. Kanal yapısı ile fonksiyonları arasındaki ilişki de kanal inhibitörleri kullanılarak araştırılmıştır. İnhibitörler aynı zamanda iyon kanallarının biyokimyasal özelliklerinin araştırılması ve bazen kanal komponentlerinin saflaştırılıp klonlanmasında da kullanılmıştır. K_{ATP} kanalları için sülfonilüre sınıfı bileşikler en çok bilinen ve en etkili inhibitörler olarak kullanılmış ve bu kanalın anlaşılmasında büyük rolleri olmuştur. Yapılan çalışmalar glibenklamidin K_{ATP} kanalı için selektif bir inhibitör olduğu varsayımına dayanılarak yapılmıştır ve bu varsayım nispeten düşük konsantrasyonlar için doğru sayılır.

Sülfonilüreler (30)

Sülfonilüreler klinikte insüline bağımlı olmayan diabetin tedavisinde kullanılırlar. Bu bileşikler artmış ekstraselüler glukozun pankreas β -hücresindeki etkisini taklit ederler. Membran depolarizasyonuna neden olup aksiyon potansiyelini tetiklerler ve hücreye Ca^{+2} girişi sonucunda insülin sekresyonuna neden olurlar. β -hücrelerindeki K_{ATP} kanalları ile SUR arasında bir bağlantı olduğu bilinmektedir ve sülfonilürelerin hipoglisemik etkilerinin altında yatan neden bu kanalın inhibisyonudur.

	Terapötik indikasyon(lar)	Bileşikler
K _{ATP} kanal aktivatörleri	Hipertansiyon, iskemik kalp hastalığı, kalp hastalığı	Pinasidil, Diazoksit, Nikorandil
	Astım	Aprikalim, Bimakalim, Kromakalim, Celikalim, Emakalim, NIP 121, RO 316930, RWJ 29009, SDZ PCO 400, Rimakalim, Simakalim, YM-099, YM-934
	Myokard iskemisi	BMS 180448, U 89232
	Alopesi	P1075, minoksidil
	Üriner inkontinens	ZM244085, ZD6169, WAY151616, ZD0947
	Eretil disfonksiyon	PNU83757
K _{ATP} kanal blokörleri	Ventriküler aritmi, kalp hastalığı, kardiyak arrest	HMR1098, HMR1883
	Tip II diabet	Tolbutamid, Klorpropamid, Glibenklamid, Glipizid, Nategliniid, Repagliniid

Tablo 2.1: Çeşitli K_{ATP} kanal aktivatör ve blokörlerinin kullanıldıkları indikasyonlar.

SUR ile K_{ATP} kanalları arasındaki ilişki

Sülfonilüre grubu ilaçlar ile K_{ATP} kanalları arasındaki ilişkiyi gösteren ilk gözlem tolbutamidin pankreas β -hücrelerindeki K_{ATP} kanallarını inhibe etmesidir (34). Tolbutamid üretilen birinci jenerasyon sülfonilüre bileşikler arasındadır ve glibenklamid gibi ikinci jenerasyon sülfonilüreler ile karşılaştırıldığında daha az etkili bir hipoglisemik ajandır. K_{ATP} kanallarının SUR ile eşleşmiş olduğu hakkındaki sonraki bulgular β -hücrelerine radyoaktif işaretli sülfonilürelerin bağlanması ile ilgili çalışmalardan elde edilmiştir. Farklı ve spesifik bir SUR varlığını kanıtlamak için kullanılan kriterler: yüksek afiniteli bağlanma bölgesi, bağlanmanın tersinirliği, bağlanmanın doyurulabilirliği, bağlanmanın diğer sülfonilüreler tarafından yerine

geçilebilmesi ve ilacın in vivo potensliği ile in vitro bağlanma afinitesi arasındaki bir bağıntıdır. Sülfonilürelerle yapılan çalışmalarda bileşiklerin reseptöre bağlanmasının fonksiyonel olarak uygun konsantrasyonda olduğu ve pankreas β -hücrelerindeki K_{ATP} kanalları ile ilintili olduğu görülmüştür.

Kas hücrelerindeki sülfonilüre reseptörleri ve K_{ATP} kanalları

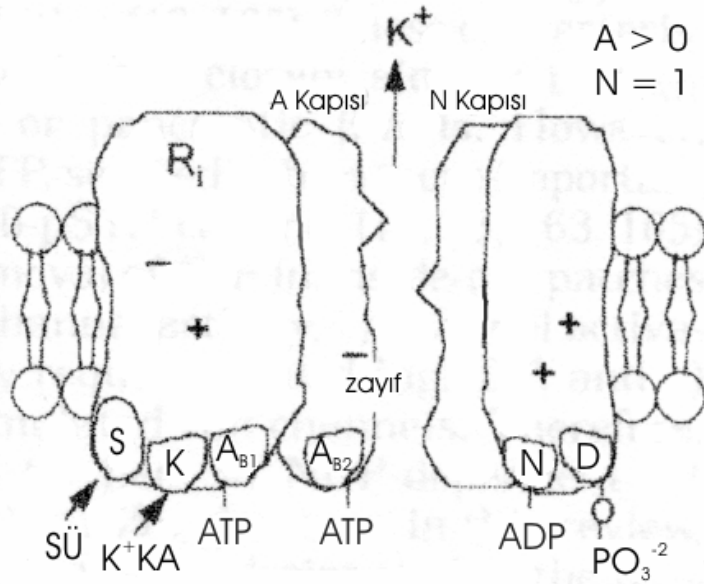
Sülfonilüreler β -hücrelerindekiinden daha yüksek konsantrasyonlarda kalp, iskelet ve düz kastaki K_{ATP} kanallarını da inhibe ederler. Sülfonilürelerin kalp ve damardaki K_{ATP} kanallarını inhibe etmesi klinik açıdan önemlidir, çünkü bazı çalışmalarda diyabetik hastaların sülfonilürelerle tedavileri artmış kardiyovasküler mortalite ile ilişkilendirilmiştir. Glibenklamid düz kasta, K^+ kanal açıcıları, vazodilatörler, hipoksi, nükleotid difosfatlar ve ATP azalmasına bağlı K_{ATP} akımlarını inhibe eder. Çalışmaların çoğunda tek bir maksimal doz glibenklamid, genellikle $10\mu M$, kullanılmıştır. Vasküler düz kas hücrelerinde K_{ATP} akımlarının yarısını inhibe eden konsantrasyon glibenklamid için $20nM$ ile $3\mu M$ arasındadır. Konsantrasyon-yant eğrileri reseptör başına bir ilaç molekülü stokiometrisine uygundur. Kanalın sülfonilürelere karşı duyarlılığını nükleotid difosfatların arttırdığı, kromakalimense azalttığı düşünülmektedir. Glibenklamide farklı duyarlılıklarına göre iki tip K_{ATP} kanalı tanımlanmıştır. Kanal tiplerinden biri $MgNDP$ 'ler ve K^+ kanal açıcıları tarafından aktive edilirken diğeri açıcılar tarafından aktive olmaz ve glibenklamide karşı daha az duyarlıdır. Glibenklamid kalp kasındaki K_{ATP} akımlarını düz kastakinden daha fazla inhibe eder. Tolbutamidin oluşturduğu inhibisyon ise bu iki doku için benzerdir. β -hücrelerinde bağlanma ve sülfonilürelerin elektrofizyolojik etkileri arasında iyi bir korelasyon olmasına rağmen kalp ve düz kas hücrelerinde K_{ATP} akımlarının inhibisyonu için reseptöre bağlanmadan daha yüksek konsantrasyon gerekmektedir. Yüksek ve düşük afinite bölgeleri değişik SUR izoformlarına bağlı olabilir. Bu görüşe alternatif olarak glibenklamide başka proteinlerin bağlanması sonucunda K_{ATP} kanalları ile eşleşmenin gerçekleştiği söylenmektedir, ki bu görüşü destekleyecek şekilde β -hücresi membranında yüksek afiniteli SUR dışında üç farklı protein glibenklamide bağlanmaktadır.

SUR üniteleri ve K_{ATP} kanalları arasındaki eşleşme

Fonksiyonel bir K_{ATP} kanalının oluşumu için sülfonilüre reseptörüne ve Kir6.2 ünitesinin birlikte ekspresyonuna ihtiyaç vardır. Bu komponentlerden herhangi biri tek başına kanalı oluşturmaya yetmez. Yine de SUR bütün K_{ATP} kanalları için gerekli değildir, örneğin Kir6.1 ünitesine sahip, SUR'ü olmayan sülfonilüreler tarafından inhibe edilmeyen kanallar vardır.

Sülfonilürelerin etki mekanizması

Sülfonilüre reseptör bölgesi membran lipid fazındadır. Bu nedenle bileşiklerin potentliği ilacın lipofilliği ile ilişkilidir. Sülfonilüreler zayıf asitler ve solusyonlarının alkalizasyonu halinde molekül iyonize hale dönüşür. Kalp kasında ve β -hücrelerinde ekstraselüler solüsyonun alkali olması sülfonilürelerin inhibisyon etkisini azaltmıştır. İntraselüler pH değişimi ise ekstraselüler uygulanan glibenklamidin etkisini değiştirmemiştir. noniyonize ilaç formunun kanal inhibisyonu oluşturduğunu gösteren bu bulgular ilacın membranın lipid fazında etkili olduğunu gösterir (Şekil 2.2) (39).



A_{S1}: ATP bağlanma bölgesi
A_{S2}: ATP bağlanma bölgesi
K: K⁺KA bağlanma bölgesi
N: NDP bağlanma bölgesi
D: Desensitizasyon bölgesi
S: SÜ bağlanma bölgesi
K⁺KA: K⁺ kanal açıcı bileşik
R₁: İnhibitör regülatör protein
SÜ: sülfonilüre

K dolu : A Kapısı açık
N dolu : N Kapısı açık
R fosforile: N Kapısı açık
S dolu : Kapı kapalı

Şekil 2.2: Damar düz kasında bulunan K_{ATP} kanal modeli .

Nükleotid difosfatlar gibi çeşitli hücrel kofaktörler sülfonilürelerin bağlanma ve elektrofizyolojik etkilerini modifiye edebilir. ADP'nin tolbutamidin inhibisyon etkisini potansiyalize edici yöndeki etkisi magnezyuma bağlıdır. Magnezyuma ilaç

ile reseptör arasındaki ilişkiden çok, SUR ile K_{ATP} kanalı arasındaki ilişki için ihtiyaç duyulmakta olduğu söylenilebilir. Kalp hücrelerindeki metabolik inhibisyon süresince K_{ATP} kanalları, sülfonilürelere karşı duyarlılıklarını yitirirler. Bu nedenle, hipoksi ve kardiyak iskemi gibi K_{ATP} kanallarının aktivasyonu sonucu ortaya çıkan durumlarda sülfonilürelere hücrel K^+ efluksunu parsiyel olarak inhibe ederler. Glibenklamidin metabolik inhibisyon esnasında kalpteki K_{ATP} kanallarını inhibe edememesinin nedeni intraselüler ADP miktarındaki artıştır.

Sülfonilürelere K_{ATP} kanallarına karşı selektivitesi

K_{ATP} kanalları dışındaki bazı K^+ kanalları da sülfonilürelere tarafından inhibe edilebilir. Sıçan ortabeyin dopamin nöronlarındaki sodyum ile aktive olan K^+ kanalı glipizid ve tolbutamid tarafından inhibe edilir. Ayrıca yüksek konsantrasyonlarda sülfonilürelere voltaja duyarlı K^+ kanallarını da inhibe edebilirler.

Diğer İnhibitörler (30)

Ekstraselüler baryum damar dışı düz kaslardaki K_{ATP} kanallarını bloke eder. TEA iyonları düz kas ve iskelet kasında K_{ATP} kanallarının zayıf bir inhibitörüdür. 5-Hidroksidekanoat düz kasta denenmemiş olmasına rağmen K_{ATP} kanallarının selektif bir inhibitörü olabilir. Fentolamin gibi imidazolaminler β -hücreleri ve düz kasta K_{ATP} akımlarını inhibe ederler. Rubidiyum, 4-aminopiridin, penisiklidin ve kinin de inhibitörler arasındadır.

2.3.1.5.2 Kanal Aktivatörleri (29, 30)

Sentetik K^+ kanal açıcıları vasküler K^+ kanallarını aktive ederek membran hiperpolarizasyonuna neden olurlar. Meydana gelen membran hiperpolarizasyonu voltaja duyarlı Ca^{+2} kanallarının kapanmasına yol açar. Vasküler tonusun sürdürülmesi voltaja duyarlı Ca^{+2} kanallarından sabit bir Ca^{+2} girişine bağlı olduğundan membran hiperpolarizasyonu sonucu bu kanalların kapanması damarların dilatasyonuna neden olur. Ayrıca membran hiperpolarizasyonu Na^+/Ca^{+2} değiş tokuş mekanizması aracılığıyla intraselüler Ca^{+2} miktarının düşmesine ve agonistle indüklenen inozitol trifosfat oluşumunda azalmaya, böylece düz kastan intraselüler Ca^{+2} salıverilişinde azalmaya neden olur. Çeşitli değişik yapısal sınıfa dahil bir dizi

sentetik K^+ kanal açıcısı geliştirilmiştir. Kromakalim, kromakalimin aktif enantiyomeri levkromakalim, nikorandil, pinasidil, minoksidil ve diazoksit bu kanal açıcılarına dahil ajanlardır. Kanal açıcıları oldukça farklı yapıya sahip olmalarına rağmen, ortak bir etki bölgesine sahip olduklarını düşündüren benzer farmakolojiye sahiptirler ve K_{ATP} kanalını aktive ederek etkilerini gösterirler.

Bileşiklerin K_{ATP} kanal açıcısı olarak sınıflandırılmaları için farklı kriterler kullanılır. Bir K_{ATP} kanal açıcısı düşük dozda K^+ ile kastırılmış arterleri yüksek doz K^+ ile kastırılmış olanlardan daha fazla gevşetmelidir, membran hiperpolarizasyonuna yol açarak K^+ ve rubidyumun dokudan dışarı doğru akımına neden olmalıdır, oluşturduğu gevşeme, membran hiperpolarizasyonu artmış K^+ ve rubidyum eflusu K_{ATP} kanal inhibitörleri tarafından bloke edilebilmelidir ve son olarak K_{ATP} kanal açıcıları tek düz kas hücresinde K_{ATP} akımlarını aktive etmelidir.

Moleküler çalışmalar K_{ATP} kanalının K^+ kanal açıcılarına karşı duyarlılığını belirleyen yapının sülfonilüre reseptörü olduğunu göstermiştir. Düz kasta bulunan farklı sülfonilüre reseptör alttipleri değişik K^+ kanal açıcılar için hedef oluştururlar.

Potasyum kanal açıcılarının farklı mekanizmalar ile K_{ATP} kanallarını aktive ettikleri önesürülmüştür. K_{ATP} kanalının ATP'ye olan duyarlılığını azaltırlar ve kanalın MgNDP'ye karşı duyarlılığını değiştirirler. Fosforilasyon ve protein sülfasyonunun da kanal açıcılarının etkilerine katıldığı düşünülmektedir.

K_{ATP} kanalları endotel hücrelerinde de bulunmaktadır. Endotel kaynaklı K_{ATP} akımlarının aktive olması endotel kaynaklı gevşetici faktörlerin salıverilmesinin uyarılması yoluyla ve endotel hücreleri ile düz kas hücreleri arasındaki direkt elektriksel bağlantı ile düz kasın gevşemesine neden olur. K_{ATP} kanalları endotelde varolmasına rağmen, endotelin mekanik olarak tahrip edilmesi kanal açıcılarının oluşturduğu vazodilatasyon cevabında bir değişiklik oluşturmaz. Endotel kaynaklı gevşetici faktörlerin sentezlerinin inhibe edilmesi, kanal açıcılarına karşı oluşan cevapların az da olsa değişmesiyle sonuçlanır. Bir sGMP inhibitörü olan metilen mavisi, kromakalimin meydana getirdiği gevşeme cevabını kısmen inhibe etmiştir. Bu bulgu kromakalimin neden olduğu gevşeme cevabının sGMP tarafından modüle edildiğini gösterir (38).

2.3.2 Damar Dışı Düz Kaslardaki K_{ATP} Kanalları (30)

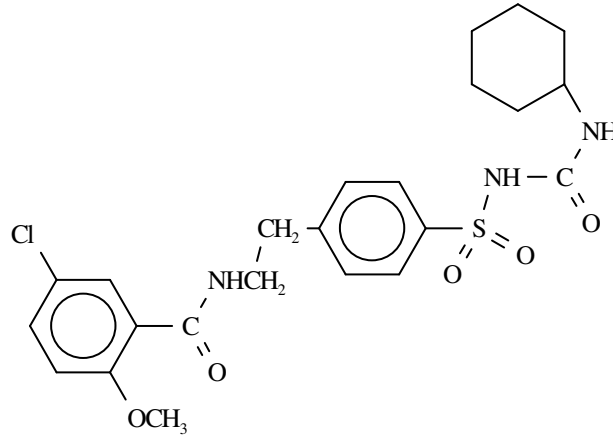
K_{ATP} kanalları solunum yolu, mide, özefagus, barsak, mesane, safra kesesi, üreter ve uterusu da içeren birçok damar dışı düz kasta bulunur. K_{ATP} kanalları damar dışı düz kasta da kasılmaya yolaçan transmitterler tarafından inhibe edilip gevşemeye yolaçan transmitterler ile aktive olur. Kanal açıcıları damar dışı düz kasta da gevşemeye, membran hiperpolarizasyonuna ve K^+ ve rubidyum efluksuna neden olur. Buna ek olarak, dokular K^+ un yüksek konsantrasyonlarına maruz kaldıklarında membran hiperpolarizasyonu kaybolur ve gevşeme yanıtında azalma gözlenir.

2.4 Patolojik Durumlarda K_{ATP} Kanallarının Rolü (30, 32)

Potasyum kanalları çeşitli patofizyolojik durumlar için moleküler hedeftirler. Sinirsel ileti, damar ve damar dışı kasların kasılması, hormon sekresyonu, immun fonksiyonlar ve hücre çoğalmasını da içeren çeşitli fizyolojik süreçlerde K^+ kanallarının önemli rolleri bulunmaktadır. Bu süreçlerin patolojik bozuklukları ile K^+ kanallarının yapısal ve kalıtsal bozuklukları arasında ilişki bulunmaktadır. Potasyum kanalları kalpte, aksiyon potansiyelinin repolarizasyon fazında ve dolayısıyla kalbin uyarılmasında kritik rol oynadıklarından çeşitli EKG bozuklukları ile karakterize kalp hastalıklarına neden olur. Potasyum kanalları nörotransmisyonunda rol aldıklarından bu kanalların fonksiyonlarındaki değişiklikler membran uyarılabilirliği ve sinirsel işlevlerin yerine getirilmesinde büyük değişikliklere yolaçar. Farklı K^+ kanal alt tiplerinin bozuklukları, episodik ataksi, benign familiyal neonatal konvülsiyonlar, nörodejenerasyon ve şizofreni gibi sinirsel bozukluklarla sonuçlanır. Alzheimer hastalığında kalsiyuma duyarlı K^+ kanallarının bozuk olduğu gözlenmiştir (2). İşitme ve vestibüler hastalıklar, Bartter sendromu gibi renal ve ailesel hiperinsülinemik hipoglisemi gibi metabolik bozukluklar bu kanalların fonksiyon bozukluğunun neden olduğu diğer hastalıklar arasında yer alır. Damar düz kas hücresindeki artmış K^+ akımının hipertansiyon ile bağlantısı vardır. Hem intraselüler sinyallerle hem de mekanik uyarılarla açılabilen K_{Ca} kanallarının hipertansiyonda rollerinin olduğu düşünülmektedir. Kasılma esnasında bu kanalların açılması negatif feedback kontrol mekanizması sağlar. (31)

2.5. Glibenklamid

Glibenklamid 1-{4-[2-(5-Kloro-2-metoksibenzamido)etil]benzensülfonil}-3-sikloheksilüre ya da kapalı formül ile ifade ediliş tarzı ile $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ yapısında (Şekil 2.3) molekül ağırlığı 494.0 olan bir bileşiktir. Glibenklamid için glibürid, glibenzsiklamid, HB-419, U-26452 isimleri de kullanılmaktadır.



Şekil 2.3: Glibenklamidin moleküler yapısı

Beyaz yakın renkte, kokusuz kristal bir tozdur. Glibenklamid insüline bağımlı olmayan diabetes mellitusun tedavisinde oral yoldan kullanılan sülfonilüre grubu hipoglisemik bir ilaçtır. İnsüline bağımlı olmayan diabetes mellitusun diyetle tedavisinin tek başına yeterli olmadığı durumlarda diyet tedavisine yardımcı olarak kullanılır. Glibenklamidin diabetes tedavisindeki kullanımını ile ilgili etki mekanizması bölüm 2.3.1.5.1’de anlatılmıştır. Glibenklamid gastrointestinal yoldan hızla emilir ve geniş çapta plazma proteinlerine bağlanır. Yarılanma ömrü 10 saattir. Neredeyse tamamen karaciğerde metabolize olur. Ana metabolitinin aktivitesi çok azdır. Yaklaşık %50’si idrarla, diğer %50’si ise safra yoluyla feçese atılır (20).

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1 Materyal ve yöntem

3.1.1 Sıçanların hazırlanması ve gruplandırılması

Bu çalışmada, sıçan torasik aortası ring preparatları üzerinde iki ayrı deney protokolu uygulanmıştır. Birinci deney protokolu glibenklamidin farklı konsantrasyonları ile inkübasyonun çeşitli agonistlerin oluşturduğu kontraktıl yanıtlar üzerindeki etkileri ve bu etkiler üzerinde endotelyumun rolünü araştırmak üzere düzenlenmiştir. İkinci deney protokolünde ise $10^{-5}M$ $PGF_{2\alpha}$ ile kastırılmış damarlarda kümülatif glibenklamid uygulanması sonucu meydana gelen gevşeme yanıtları ve bu yanıtlar üzerinde endotelyumun rolünün araştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla çalışmada 250-350g ağırlığındaki erkek sıçanlar (n=43) kullanılmıştır.

A. İnkübasyon çalışmalarında

1. Endotelyumu sağlam kontrol grubunda
2. Endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş grupta
3. Endotelyumu mekanik olarak kazınmış grupta

B. Glibenklamid kümülatif konsantrasyon-yanıt çalışmalarında ise,

1. Endotelyumu sağlam kontrol grubunda
2. Endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş grupta
3. Endotelyumu sağlam metilen mavisi ile önışlem görmüş grupta
4. Endotelyumu mekanik olarak kazınmış gruptan alınmış damarlar kullanılmıştır.

3.1.2 İzole organ banyosu deneyleri

Sıçanlar, eter anestezisi altında, karotid arter kesisi ile kanatılarak öldürülmüştür. Sıçanların torasik aortaları izole edilmiş, fizyolojik tuz çözeltisi (Krebs) içerisine alınmış ve izole torasik aorta kendisini çevreleyen bağ dokusu ve yağdan

temizlenmiştir. Temizlenen damarlar yaklaşık 2,5-3 mm uzunluğunda halka şeklinde kesilerek dört tane torasik aorta segmenti elde edilmiştir. Bütün torasik aorta ringleri %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılan, 25 ml hacminde, sıcaklığı 37°C'de sabit tutulan ve fizyolojik tuz çözeltisi (Krebs) içeren organ banyosuna alınmışlardır. İnce paslanmaz çelikten uygun biçimde hazırlanmış üçgen şeklindeki klipsler halka şeklindeki preparatların lümenleri içinden geçirilmiştir. Her bir halkanın lümeni içinden geçirilen iki klipsten biri damarı sabitlemek için organ banyosunun askısına, diğeri ise uygun uzunluktaki ip kullanılarak izometrik transdusıra bağlanmıştır. 15 dakikalık dengeleme döneminden sonra torasik aortalar daha önceki denemelerle belirlenmiş olan 2,5 g'lık öngerilim düzeyine kademeli olarak gerilmişlerdir. Öngerilim uygulanan damarlar 1 saatlik stabilizasyon süresince 15 dakikalık aralıklarla organ banyolarının fizyolojik tuz çözeltileri (Krebs) değiştirilerek yıkanmışlardır. Endoteli sağlam veya endotel tabakası mekanik olarak tahrip edilmiş damarlar organ banyolarına asılmış ve deney protokolüne (bakınız bölüm 3.1.3) uygun biçimde çeşitli kastırıcı ajanlar ve glibenklamide maruz bırakılmıştır.

3.1.3 İzole organ banyosu deney protokolu

Stabilizasyon sonrası ring preparatlarda bir kastırıcı ajana karşı, kümülatif asetilkolin (10^{-9} - 10^{-4} M) gevşeme yanıtları alınmış ve preparatların endotelli olup olmadıkları tespit edilmiştir. Birinci deney protokolü uygulanacak olan endotelyumu sağlam ve kontrol olarak işlev görecektir olan gruptaki damarlarda prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}), (10^{-10} - 3×10^{-5} M), serotonin (5-hidroksitriptamin,5-HT), (10^{-9} - 3×10^{-5} M) veya fenilefrin (10^{-9} - 3×10^{-5} M) konsantrasyon-yanıt eğrilerinden biri alındıktan sonra glibenklamidin farklı konsantrasyonları (10^{-5} , 3×10^{-6} , 10^{-6} M) veya çözücü ile 15 dakika inkübe edilen damarlarda aynı kastırıcı ajanın konsantrasyon-yanıt eğrisi tekrar alınmıştır. Birinci deney protokolü uygulanacak olan endotelyumu sağlam, LNNA ve indometazinli krebs kullanılan damarlar ise asetilkolin cevabından sonra, LNNA banyo final konsantrasyonu 10^{-4} M, indometazin banyo final konsantrasyonu 10^{-5} M olacak şekilde hazırlanmış LNNA'lı ve indometazinli fizyolojik tuz çözeltisi (LNNA'lı ve indometazinli Krebs) ile 15 dakikalık aralıklarla 30 dakika süresince yıkandıktan sonra nitrik oksit sentez inhibisyonunun gözlenmesi için tekrar asetilkolin gevşeme yanıtlarına bakılmıştır. İzleyen tüm yıkamalar LNNA'lı ve indometazinli Krebs ile

yapılmıştır. Daha sonra bu damarlarda $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10^{-10} - 3×10^{-5} M), serotonin (10^{-9} - 3×10^{-5} M) veya fenilefrin (10^{-9} - 3×10^{-5} M) konsantrasyon-yanıt eğrilerinden biri alınmış sonra glibenklamidin farklı konsantrasyonları (10^{-5} , 3×10^{-6} , 10^{-6} M) veya çözücü ile 15 dakika inkübe edilen damarlarda aynı kastırıcı ajanın konsantrasyon-yanıt eğrisi tekrarlanmıştır. Birinci deney protokolü uygulanacak olan, endotelyumu mekanik olarak kazınmış damarların fonksiyonel endotel tahribi asetilkoline karşı gevşeme yanıtlarının olmaması ile gözlendikten sonra damarlarda $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10^{-10} - 3×10^{-5} M) konsantrasyon-yanıt eğrisi alınmış sonra 10^{-5} M glibenklamid ile 15 dakika inkübe edilen damarlarda aynı kastırıcı ajanın konsantrasyon-yanıt eğrisi tekrarlanmıştır. İkinci deney protokolü uygulanacak olan endotelyumu sağlam (normal krebs kullanılan), LNNA ve indometazin içeren krebs kullanılan, 30 dakika metilen mavisi inkübasyonuna tabi tutulan ve endotelyumu mekanik olarak kazınan damarlardan 10^{-5} M $\text{PGF}_{2\alpha}$ kasılma cevabı sonrası glibenklamid (10^{-7} - 3×10^{-5} M) konsantrasyon-yanıt eğrisi alınmıştır. Her konsantrasyon-yanıt eğrisi sonunda dokular 30 dakika dinlenmeye bırakılmış ve bu sırada her 15 dakikada bir banyo çözeltisi değiştirilmiştir.

3.1.4 Deneylerde kullanılan aygıtlar

3.1.4.1 Organ banyosu

Deneyler 25 ml'lik deney hacmine sahip Schuler tipi izole organ banyolarında gerçekleştirilmiştir. Banyolar alttan doldurma ve üstten boşaltma yöntemiyle yıkanmıştır.

3.1.4.2 Termostatik kontrol

Deneyler boyunca Krebs çözeltisinin temperaturü Nüve BM 402 (Ankara, Türkiye) marka termostatlı sirkulatörler ile 37°C ' de sabit tutulmuştur.

3.1.4.3 Tuz çözeltisi

Deneyley boyunca fizyolojik tuz çözeltisi olarak aşağıda bileşimi verilen Krebs çözeltisi kullanılmıştır.

	g/l	mM
NaCl	138.00	118.00
KCl	7.00	4.70
CaCl ₂ .2H ₂ O	7.40	2.50
KH ₂ PO ₄	3.20	1.20
MgSO ₄ .7H ₂ O	5.95	1.17
Glukoz.H ₂ O	2.00	11.10
NaHCO ₃	2.10	25.00

3.1.4.4 Transmisyon

Organ banyosu içindeki preparatın transdusır ile bağlantısı uygun uzunluktaki pamuk iplik ile sağlanmıştır.

3.1.4.5 Transdusır ve deney kayıtları

Agonist uygulanmasına bağlı olarak torasik aorta ringlerinin gerilimlerindeki değişimler Grass FT03 izometrik transdusır ile ölçülmüş ve Polywin 95 (Comat Ltd. Ankara, Türkiye) farmakolojik deney yazılımı kullanılarak bilgisayarla izlenmiş ve kaydedilmiştir.

3.1.5 Araştırmada kullanılan ilaçlar

Aşağıda araştırmada kullanılan ilaçların listesi verilmiştir.

Farmakolojik ajan	Üretici firma/Kaynak
Asetilkolin HCl	Merck
Fenilefrin HCl	Sigma
Glibenklamid	Nobel ilaç sanayi
İndometazin	Sigma
Metilen mavisi	Merck
Potasyum Klorür	Merck
Prostaglandin F _{2α}	(Dynolytic sol) Upjohn, Eczacıbaşı
Serotonin	Sigma
N ⁰ -nitro-L-arginin	Acros Organics

3.1.6 İlaç çözeltilerinin hazırlanması

Asetilkolin: 10⁻¹M'lık stok çözelti distile su ile taze hazırlanmış, daha sonraki dilüsyonlar %0,9'luk NaCl ile yapılmıştır.

Fenilefrin: 10⁻¹M'lık stok çözelti distile su ile taze hazırlanmış, daha sonraki dilüsyonlar %0,9'luk NaCl ile yapılmıştır.

Glibenklamid: İnkübasyon protokolunda 10⁻³M, 3x10⁻³M, 10⁻²M'lık stok çözeltiler DMSO ile taze olarak hazırlanmış ve banyo final konsantrasyonu 10⁻⁶M, 3x10⁻⁶M, 10⁻⁵M olacak şekilde banyolara 25µl enjekte edilmiştir. Glibenklamidin kümülatif verildiği protokolda ise 10⁻¹ M'lık stok çözelti DMSO ile taze hazırlanmış, daha sonraki seyreltmeler %50 metanol ile yapılmıştır.

İndometazin: Metanolde çözülüp banyo final konsantrasyonu 10⁻⁵M olacak şekilde Krebs çözeltisi içerisine katılmıştır.

Metilen mavisi: 10⁻²M'lık stok çözeltisi distile suda taze olarak hazırlanmış, %0,9'luk tuzlu su çözeltisi ile 10⁻⁵M'a seyreltilmiştir.

Potasyum Klorür: 2M'lık stok çözeltisi distile suda taze olarak hazırlanmıştır. Banyo final konsantrasyonu 60mM olacak şekilde banyolara 750µl enjekte edilmiştir.

Prostaglandin $F_{2\alpha}$: 1,05M'lık stok çözülden %0,9'luk tuzlu su çözeltisi ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

Serotonin: 10^{-2} M'lık stok çözelti distile su ile taze olarak hazırlanmış, daha sonraki dilüsyonlar %0,9'luk tuzlu su ile hazırlanmıştır.

N^0 -nitro-L-arginin: Distile suda çözülüp banyo final konsantrasyonu 10^{-4} M olacak şekilde Krebs çözeltisi içerisine katılmıştır.

3.1.7 Verilerin analizi

Tüm veriler ortalama ve ortalamanın \pm standart hatası (Ort. \pm O.S.H.) olarak verilmiştir ve "n" damarların alındığı sıçan sayısını göstermektedir. Gevşemeler önkastırıcıya verilen yanıtın yüzdesi olarak ifade edilmiştir. Bütün gruplarda endoteli korunmuş torasik aorta ringlerinde asetilkoline %40'dan daha fazla maksimum gevşeme yanıtı veren damar halkaları endotelli kabul edilmiştir. Mekanik olarak endotelsizleştirme uygulanan ringlerde asetilkolin gevşeme yanıtı gözlenmediği durumlarda damarlar endotelsiz kabul edilmiştir.

Verilerin analizi SPSS programında aynı hayvandan elde edilen veriler için "Wilcoxon matched-pairs signed rank test"; farklı hayvandan elde edilen veriler için eşleştirilmemiş, Mann-Whitney U-test kullanılarak yapılmıştır. p değerleri 0.05'den küçük bulunduğu fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Glibenklamid ile inkübasyon yapılan sıçan aortasında kastırıcı ajanlara verilen yanıtlar

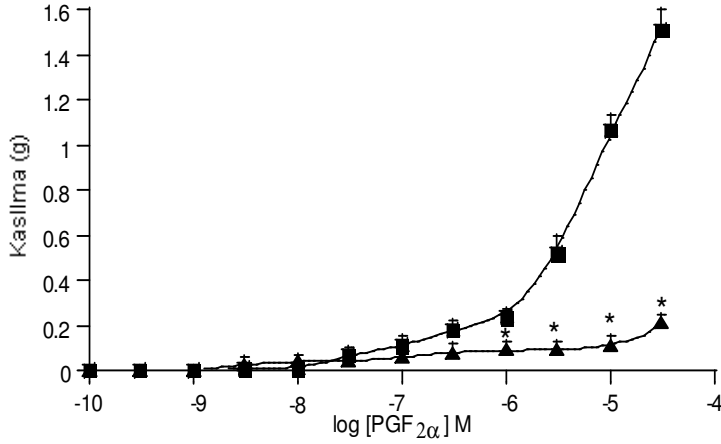
4.1.1 Kümülatif $PGF_{2\alpha}$ konsantrasyon-yanıt eğrileri üzerinde üç farklı konsantrasyon glibenklamid inkübasyonunun etkisi

4.1.1.1 $10^{-5}M$ glibenklamid inkübasyonunun etkisi

Endotelyumu sağlam izole sıçan torasik aortasına kümülatif olarak uygulanan $PGF_{2\alpha}$ (10^{-10} – $3 \times 10^{-5}M$) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.1). Daha sonra $10^{-5}M$ glibenklamid ile 15 dakika inkübe edilen sıçan torasik aorta ringlerinde $PGF_{2\alpha}$ kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisi tekrarlanmış ve glibenklamid varlığının $PGF_{2\alpha}$ 'ya ait maksimum kasılma (E_{maks}) yanıtını istatistiksel olarak anlamlı ve güçlü bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir ($p < 0.05$) (Şekil 4.1). $PGF_{2\alpha}$ 'ya ait maksimum kasılma yanıtı üzerinde $10^{-5}M$ glibenklamidin oluşturduğu inhibisyon %86 olarak hesaplanmıştır.

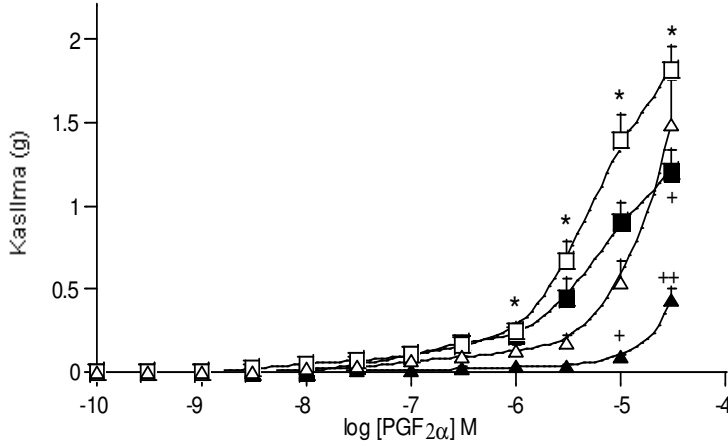
4.1.1.1.1 $10^{-5}M$ glibenklamid inkübasyonu ile oluşan etkide endotelyumun rolü

Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde $PGF_{2\alpha}$ 'ya ait kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri üzerinde glibenklamid inkübasyonu sonucunda elde edilen inhibitör etki üzerinde endotelyumdan salıverilen nitrik oksit (NO) ve prostasiklinin (PGI_2) rolünün incelenmesi amacıyla çalışma, bir diğer deney grubunda NO sentaz inhibitörü LNNA ($10^{-4}M$) ile siklooksijenaz inhibitörü indometazin ($10^{-5}M$) varlığında tekrarlanmıştır.



Şekil 4.1: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde 10^{-5} M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası $PGF_{2\alpha}$ 'ya verilen kasılma yanıtları. 10^{-5} M glibenklamid öncesi (■) ve sonrası $PGF_{2\alpha}$ yanıtları (▲), (n=6) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmiştir. (*p<0.05, Wilcoxon matched-pairs signed rank test)

LNNA ve indometazin varlığında da $PGF_{2\alpha}$ (10^{-10} - 3×10^{-5} M) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.2). Aynı damarlarda 10^{-5} M glibenklamid ile 15 dakika inkübasyon sonrasında $PGF_{2\alpha}$ konsantrasyon-yanıt eğrileri tekrarlanmış ve $PGF_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtının glibenklamid inkübasyonu öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe olduğu gösterilmiş (p<0.05), (Şekil 4.2) LNNA ve indometazin varlığında $PGF_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtı üzerinde 10^{-5} M glibenklamidin oluşturduğu inhibisyon %46 olarak hesaplanmıştır. $PGF_{2\alpha}$ yanıtları üzerine LNNA ve indometazin etkisinin incelenmesine yönelik olarak yapılan istatistiklerde LNNA ve indometazin varlığında $PGF_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtlarının endotelyumu sağlam damarlardan alınmış olan $PGF_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtlarına göre anlamlı bir şekilde daha fazla olduğu gözlenmiştir (p<0.05), (Şekil 4.2). Aynı şekilde 10^{-5} M glibenklamid inkübasyonu sonrasında alınan $PGF_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtlarının LNNA ve indometazin varlığında, anlamlı bir şekilde daha fazla olduğu gözlenmiştir (p<0.01), (Şekil 4.2).

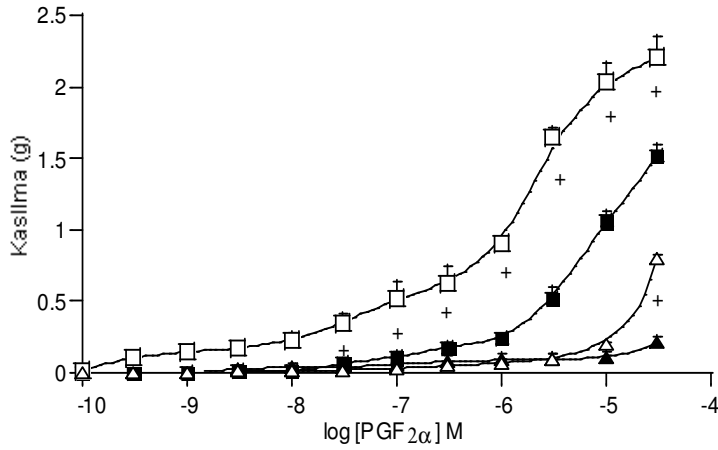


Şekil 4.2: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringleri ile endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş sıçan aorta ringlerinde 10^{-5} M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası $PGF_{2\alpha}$ 'ya verilen kasılma yanıtları. 10^{-5} M glibenklamid öncesi (■) ve sonrası $PGF_{2\alpha}$ yanıtları (▲), (n=6); LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş grupta 10^{-5} M glibenklamid öncesi (□) ve sonrası $PGF_{2\alpha}$ yanıtları (Δ), (n=5) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir. (*p<0.05, Wilcoxon matched-pairs signed rank test, LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş grupta glibenklamid öncesi ve sonrası; +p<0.05, ++p<0.01, Mann-Whitney U-test, LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş ve görmemiş gruplarda)

Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde $PGF_{2\alpha}$ 'ya ait kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri üzerinde glibenklamidin inkübasyonu sonucunda elde edilen inhibitör etki üzerinde endotelyumun rolünün incelenmesi amacıyla çalışma, bir başka deney grubunda endotelyumun mekanik olarak kazınmasıyla tekrarlanmıştır.

Endotelyumun mekanik olarak kazındığı grupta da $PGF_{2\alpha}$ (10^{-10} - 3×10^{-5} M) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.3). Aynı damarlardan 10^{-5} M glibenklamid ile 15 dakika inkübasyon sonrasında $PGF_{2\alpha}$ ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrilerinin glibenklamid inkübasyonu öncesine göre istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamış olmakla birlikte azaldığı, glibenklamidin $PGF_{2\alpha}$ yanıtları üzerindeki inhibitör etkisinin endotelyumun mekanik olarak kazındığı deneylerde de devam ettiği gözlenmiş ve $PGF_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtı üzerinde 10^{-5} M glibenklamidin oluşturduğu inhibisyon %64 olarak hesaplanmıştır. Glibenklamid inkübasyonu öncesi $PGF_{2\alpha}$ yanıtları üzerine mekanik endotelsizleştirmenin etkisinin

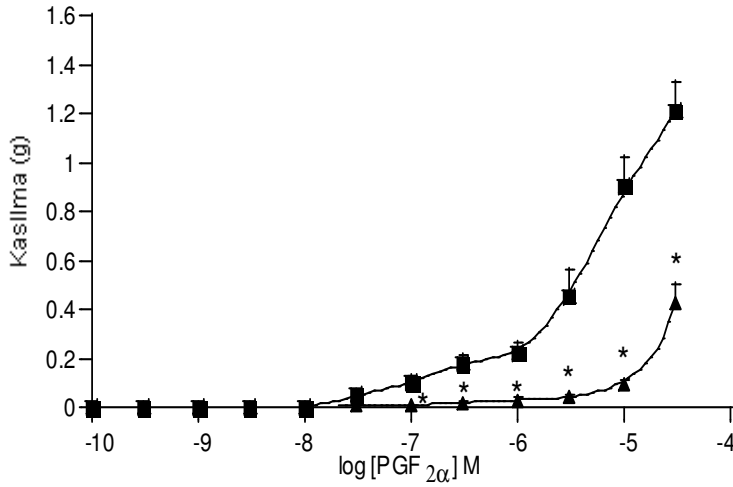
incelenmesine yönelik olarak yapılan istatistiklerde, endotelyumu mekanik olarak kazınan damarlarda $\text{PGF}_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtlarının endotelyumu sağlam damarlara göre anlamlı bir şekilde daha fazla olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$), (Şekil 4.3). 10^{-5}M glibenklamid inkübasyonu sonrasında da $\text{PGF}_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtlarının, endotelyumu mekanik olarak kazınmış damarlarda endotelyumu sağlam damarlara göre anlamlı bir şekilde daha fazla olduğu belirtilmiştir ($p<0.05$), (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: Endotelyumu sağlam ve endotelyumu mekanik olarak kazınmış sıçan aorta ringlerinde 10^{-5}M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası $\text{PGF}_{2\alpha}$ 'ya verilen kasılma yanıtları. 10^{-5}M glibenklamid öncesi (■) ve sonrası $\text{PGF}_{2\alpha}$ yanıtları (▲), (n=6); endotelyumu mekanik olarak kazınmış damarlarda 10^{-5}M glibenklamid öncesi (□) ve sonrası $\text{PGF}_{2\alpha}$ yanıtları (Δ), (n=3) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir. (+ $p<0.05$, Mann-Whitney U-test, Endotelli ve endotelsiz grupta)

4.1.1.2 $3 \times 10^{-6}\text{M}$ glibenklamid inkübasyonunun etkisi

Endotelyumu sağlam izole sıçan torasik aortasına kümülatif olarak uygulanan $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10^{-10} - $3 \times 10^{-5}\text{M}$) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.4). Aynı damarlarda $3 \times 10^{-6}\text{M}$ glibenklamid ile 15 dakika inkübasyon sonrasında $\text{PGF}_{2\alpha}$ kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri alınmış ve glibenklamid varlığının $\text{PGF}_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtını istatistiksel olarak anlamlı ve güçlü bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir ($p<0.05$), (Şekil 4.4). $\text{PGF}_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtı üzerinde $3 \times 10^{-6}\text{M}$ glibenklamidin oluşturduğu inhibisyon %64 olarak hesaplanmıştır.



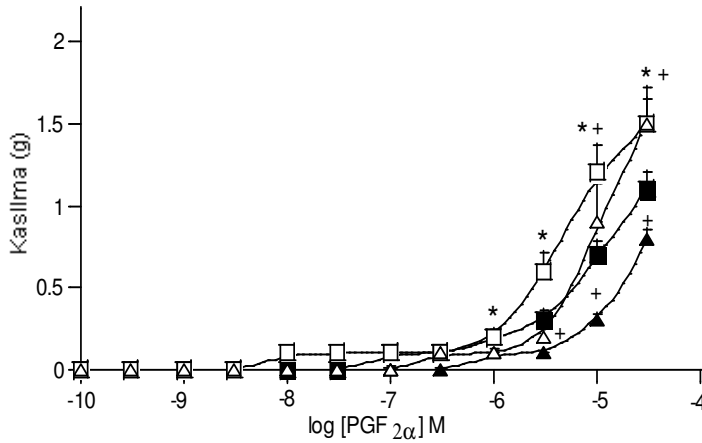
Şekil 4.4: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde 3×10^{-6} M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası $PGF_{2\alpha}$ 'ya verilen kasılma yanıtları. 3×10^{-6} M glibenklamid öncesi (■) ve sonrası $PGF_{2\alpha}$ yanıtları (▲), (n=6) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir. (*p<0.05, Wilcoxon matched-pairs signed rank test)

4.1.1.2.1 3×10^{-6} M glibenklamid inkübasyonu ile oluşan etkide endotelyumun rolü

Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde $PGF_{2\alpha}$ 'ya ait kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri üzerinde glibenklamidin inkübasyonu sonucunda elde edilen inhibitör etki üzerinde endotelyumdan salıverilen NO ve PGI_2 'nin rolünün incelenmesi amacıyla çalışma, bir diğer deney grubunda NO sentaz inhibitörü LNNA (10^{-4} M) ile siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5} M) varlığında tekrarlanmıştır.

LNNA ve indometazin varlığında da $PGF_{2\alpha}$ (10^{-10} - 3×10^{-5} M) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.5). Aynı damarlarda 3×10^{-6} M glibenklamid ile 15 dakika inkübasyon sonrasında $PGF_{2\alpha}$ konsantrasyon-yanıt eğrileri tekrarlanmış, LNNA ve indometazin varlığında $PGF_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtlarının glibenklamid inkübasyonu öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe olduğu gösterilmiştir (p<0.05), (Şekil 4.5). LNNA ve indometazin varlığında $PGF_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtı üzerinde 3×10^{-6} M glibenklamidin oluşturduğu inhibisyon %18 olarak hesaplanmıştır. $PGF_{2\alpha}$ yanıtları üzerine LNNA ve indometazinin etkisinin incelenmesine yönelik olarak yapılan istatistiklerde $PGF_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtlarının endotelyumu sağlam damarlardan alınan

PGF_{2α} E_{maks} yanıtlarına göre anlamlı bir şekilde daha fazla olduğu gözlenmiştir (p<0.05), (Şekil 4.5). 3x10⁻⁶M glibenklamid inkübasyonu sonrasında alınan PGF_{2α} yanıtları üzerine LNNA ve indometazinin etkisinin incelendiği istatistiklerde de endotelyumu sağlam damarlardan alınan yanıtların LNNA ve indometazin varlığında alınan yanıtlara göre anlamlı bir şekilde daha az olduğu gözlenmiştir (p<0.05), (Şekil 4.5).

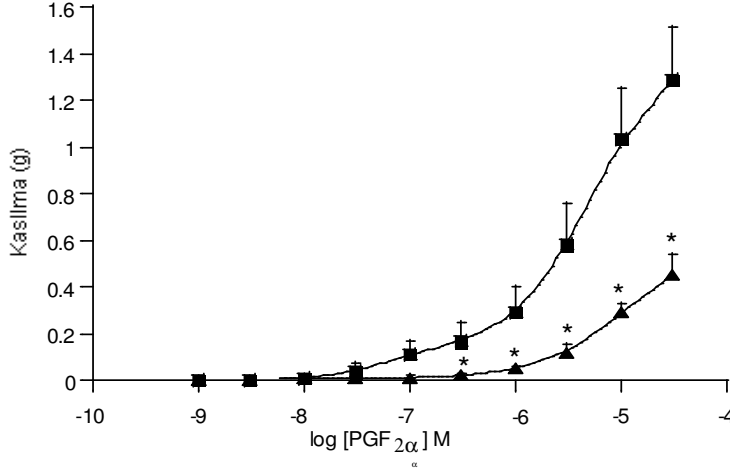


Şekil 4.5: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringleri ile endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş sıçan aorta ringlerinde 3x10⁻⁶M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası PGF_{2α}'ya verilen kasılma yanıtları. 3x10⁻⁶M glibenklamid öncesi (■)ve sonrası PGF_{2α} yanıtları (▲), (n=6); LNNA ile indometazin varlığında 3x10⁻⁶M glibenklamid öncesi (□) ve sonrası PGF_{2α} yanıtları (Δ) (n=5) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir. (*p<0.05, Wilcoxon matched-pairs signed rank test, LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş grupta glibenklamid öncesi ve sonrası; +p<0.05, Mann-Whitney U-test, LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş ve görmemiş gruplarda)

4.1.1.3 10⁻⁶M glibenklamid inkübasyonunun etkisi

Endotelyumu sağlam izole sıçan torasik aortasına kümülatif olarak uygulanan PGF_{2α} (10⁻¹⁰-3x10⁻⁵M) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.6). Aynı damarlarda 10⁻⁶M glibenklamid ile 15 dakika inkübasyon sonrasında PGF_{2α} kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri alınmış ve glibenklamid varlığının PGF_{2α} E_{maks} yanıtını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (Şekil 4.6)

($p < 0.05$). $\text{PGF}_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtı üzerinde 10^{-6}M glibenklamidin oluşturduğu inhibisyon %30 olarak hesaplanmıştır.



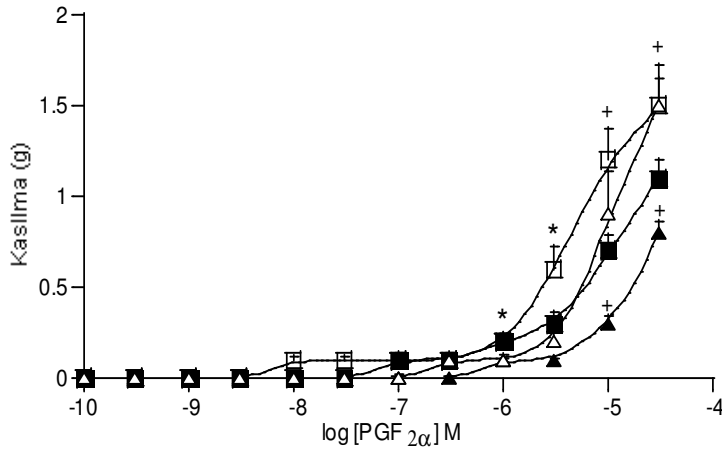
Şekil 4.6: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde 10^{-6}M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrasında $\text{PGF}_{2\alpha}$ 'ya verilen kasılma yanıtları. 10^{-6}M glibenklamid öncesi (■) ve sonrası $\text{PGF}_{2\alpha}$ yanıtları (▲), ($n=6$) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası ($\text{Ort} \pm \text{Ort.S.H.}$) olarak verilmektedir. (* $p < 0.05$, Wilcoxon matched-pairs signed rank test)

4.1.1.3.1 10^{-6}M glibenklamid inkübasyonu ile oluşan etkide endotelyumun rolü

Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde $\text{PGF}_{2\alpha}$ 'ya ait kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri üzerinde glibenklamid inkübasyonu sonucunda elde edilen inhibitör etki üzerinde endotelyumdan salıverilen NO ve PGI_2 'in rolünün incelenmesi amacıyla çalışma, bir diğer deney grubunda NO sentaz inhibitörü LNNA (10^{-4}M) ile siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5}M) varlığında tekrarlanmıştır.

LNNA ve indometazin varlığında da $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10^{-10} - $3 \times 10^{-5}\text{M}$) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.7). Aynı damarlarda 10^{-6}M glibenklamid ile 15 dakika inkübasyon sonrasında $\text{PGF}_{2\alpha}$ konsantrasyon-yanıt eğrileri tekrarlanmış LNNA ve indometazin varlığında $\text{PGF}_{2\alpha}$ kasılma yanıtlarının glibenklamid inkübasyonu öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe olmadığı gösterilmiştir (Şekil 4.7). $\text{PGF}_{2\alpha}$ yanıtları üzerine LNNA ve indometazinin etkisinin incelenmesine yönelik olarak yapılan istatistiklerde $\text{PGF}_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtlarının endotelyumu sağlam

damarlardan alınan $\text{PGF}_{2\alpha}$ E_{maks} yanıtlarına göre anlamlı bir şekilde daha fazla olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.7). 10^{-6}M glibenklamid inkübasyonu sonrasında alınan $\text{PGF}_{2\alpha}$ yanıtları üzerine LNNA ve indometazinin etkisinin incelendiği istatistiklerde de endoteliumu sağlam damarlardan alınan yanıtların LNNA ve indometazin varlığında alınan yanıtlara göre anlamlı bir şekilde daha az olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$), (Şekil 4.7).

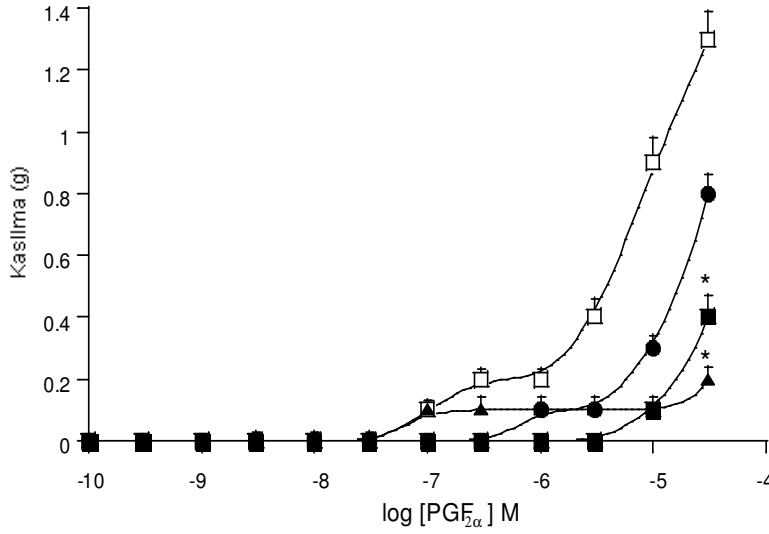


Şekil 4.7: Endoteliumu sağlam sıçan aortası ile endoteliumu sağlam LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş sıçan aorta ringlerinde 10^{-6}M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası $\text{PGF}_{2\alpha}$ 'ya verilen kasılma yanıtları. 10^{-6}M glibenklamid öncesi (■) ve sonrası $\text{PGF}_{2\alpha}$ yanıtları (▲), (n=6); LNNA ile indometazin varlığında 10^{-6}M glibenklamid öncesi (□) ve sonrası $\text{PGF}_{2\alpha}$ yanıtları (Δ), (n=5) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası ($\text{Ort}\pm\text{Ort.S.H.}$) olarak verilmektedir. (* $p<0.05$, Wilcoxon matched-pairs signed rank test, LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş grupta glibenklamid öncesi ve sonrası; + $p<0.05$, Mann-Whitney U-test, LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş ve görmemiş gruplarda)

4.1.1.4 Kümülatif $\text{PGF}_{2\alpha}$ konsantrasyon-yanıt eğrisi üzerinde glibenklamidin konsantrasyona bağımlı inhibitör etkisi

Üç farklı konsantrasyonda glibenklamid ile inkübasyon öncesinde alınan kümülatif $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10^{-10} - $3\times 10^{-5}\text{M}$) kasılma yanıtlarının ortalaması alınarak glibenklamidin $\text{PGF}_{2\alpha}$ kasılma yanıtları üzerindeki doza bağımlı inhibitör etkisi incelenmiş ve 10^{-5}M , $3\times 10^{-6}\text{M}$, 10^{-6}M glibenklamid inkübasyonu sonrası alınmış olan $\text{PGF}_{2\alpha}$ kasılma yanıtları glibenklamid ile inkübasyon öncesi alınan yanıtların ortalamaları ile karşılaştırılmıştır.

Yapılan değerlendirmeler glibenklamidin oluşturduğu inhibitör etkinin konsantrasyona bağımlı olduğunu göstermektedir (Şekil 4.8).

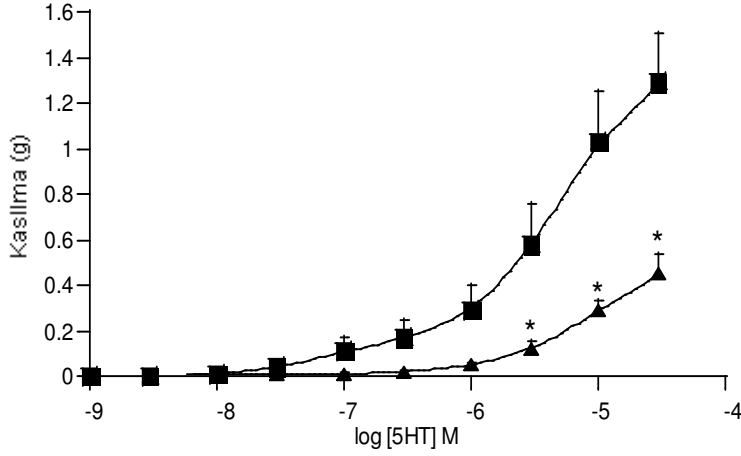


Şekil 4.8: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde glibenklamidin üç farklı konsantrasyonu ile inkübasyon öncesi ve sonrası PGF_{2α}'ya verilen kasılma yanıtları. Glibenklamid ile inkübasyon öncesi bütün endotelyumu sağlam damarlardan alınan PGF_{2α} yanıt ortalamaları (□) (n=6), 10⁻⁵M glibenklamid sonrası PGF_{2α} yanıtları (▲) (n=5), 3x10⁻⁶M glibenklamid sonrası PGF_{2α} yanıtları (■) (n=5), 10⁻⁶M glibenklamid sonrası PGF_{2α} yanıtları (●) (n=5) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir. (*p<0.05, Wilcoxon matched-pairs signed rank test)

4.1.2 Kümülatif serotonin konsantrasyon-yanıt eğrileri üzerinde üç farklı konsantrasyon glibenklamid inkübasyonunun etkisi

4.1.2.1 10⁻⁵M glibenklamid inkübasyonunun etkisi

Endotelyumu sağlam izole sıçan torasik aortasına kümülatif olarak uygulanan serotonin (10⁻⁹-3x10⁻⁵M) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.9). Aynı damarlarda 10⁻⁵M glibenklamid ile 15 dakika inkübasyon sonrasında serotonin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri alınmış ve glibenklamid varlığının serotonin E_{maks} yanıtını istatistiksel olarak anlamlı ve güçlü bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (p<0.05), (Şekil 4.9). Serotonin E_{maks} yanıtı üzerinde 10⁻⁵M glibenklamidin oluşturduğu inhibisyon %65 olarak hesaplanmıştır.



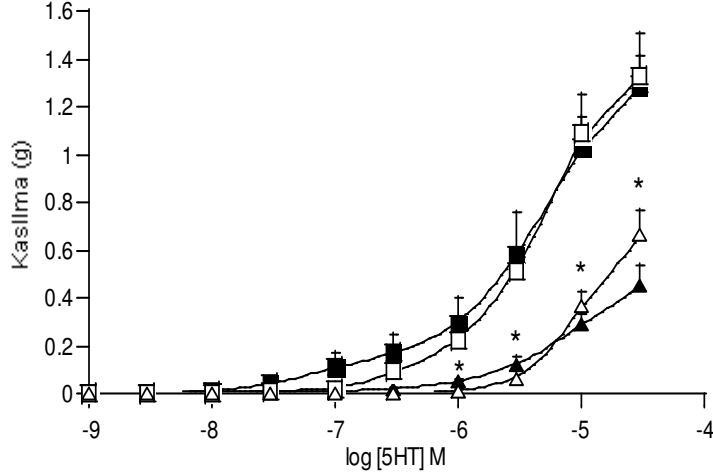
Şekil 4.9: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde 10^{-5} M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası serotonine verilen kasılma yanıtları. 10^{-5} M glibenklamid öncesi (■) ve sonrası serotonin yanıtları (▲), (n=5) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir. (*p<0.05, Wilcoxon matched-pairs signed rank test)

4.1.2.1.1 10^{-5} M glibenklamid inkübasyonu ile oluşan etkide endotelyumun rolü

Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde serotonine ait kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri üzerinde glibenklamid inkübasyonu sonucunda elde edilen inhibitör etki üzerinde endotelyumdan salıverilen NO ve PGI₂'in rolünün incelenmesi amacıyla çalışma, bir diğer deney grubunda NO sentaz inhibitörü LNNA (10^{-4} M) ile siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5} M) varlığında tekrarlanmıştır.

LNNA ve indometazin varlığında da serotonin (10^{-9} - 3×10^{-5} M) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.10). Aynı damarlarda 10^{-5} M glibenklamid ile 15 dakika inkübasyon sonrasında serotonin konsantrasyon-yanıt eğrileri alınmış ve kasılma yanıtlarının glibenklamid inkübasyonu öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe olduğu gösterilmiştir (p<0.05), (Şekil 4.10). LNNA ve indometazin varlığında serotonin E_{maks} yanıtı üzerinde 10^{-5} M glibenklamidin oluşturduğu inhibisyon %50 olarak hesaplanmıştır. Serotonin yanıtları üzerine LNNA ve indometazin etkisinin incelenmesine yönelik olarak yapılan istatistiklerde LNNA ve indometazin varlığında serotonin E_{maks} yanıtının anlamlı bir şekilde daha fazla olmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.10). 10^{-5} M glibenklamid inkübasyonu sonrasında alınan

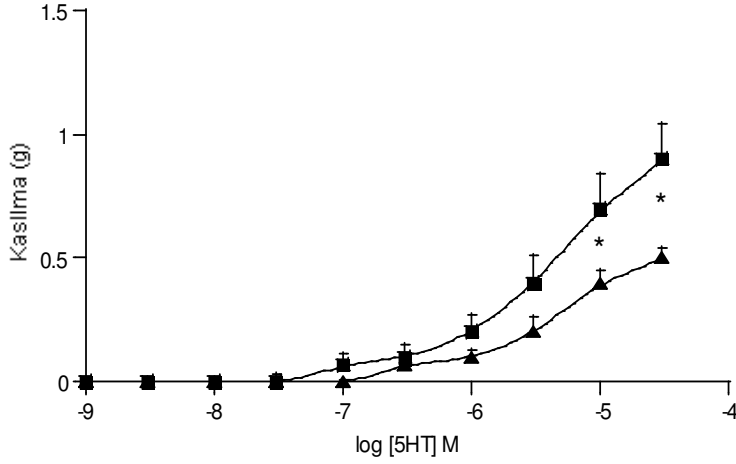
serotonin yanıtları üzerinde de LNNA ve indometazinin herhangi bir etkisi olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringleri ile endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş sıçan aorta ringlerinde $10^{-5}M$ glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası serotonine verilen kasılma yanıtları. $10^{-5}M$ glibenklamid öncesi (■) ve sonrası serotonin yanıtları (▲), (n=5); LNNA ile indometazin varlığında $10^{-5}M$ glibenklamid öncesi (□) ve sonrası serotonin yanıtları (Δ), (n=5) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamının standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir. (*p<0.05, Wilcoxon matched-pairs signed rank test, LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş grupta glibenklamid öncesi ve sonrası, +p<0.05, Mann-Whitney U-test, LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş ve görmemiş gruplarda)

4.1.2.2 $3 \times 10^{-6}M$ glibenklamid inkübasyonunun etkisi

Endotelyumu sağlam izole sıçan torasik aortasına kümülatif olarak uygulanan serotonin (10^{-9} - $3 \times 10^{-5}M$) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.11). Aynı damarlarda $3 \times 10^{-6}M$ glibenklamid ile 15 dakika inkübasyon sonrasında serotonin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri alınmış ve glibenklamid varlığının bu kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı ve güçlü bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (p<0.05), (Şekil 4.11). Serotonin E_{maks} yanıtı üzerinde $3 \times 10^{-6}M$ glibenklamidin oluşturduğu inhibisyon %50 olarak hesaplanmıştır.



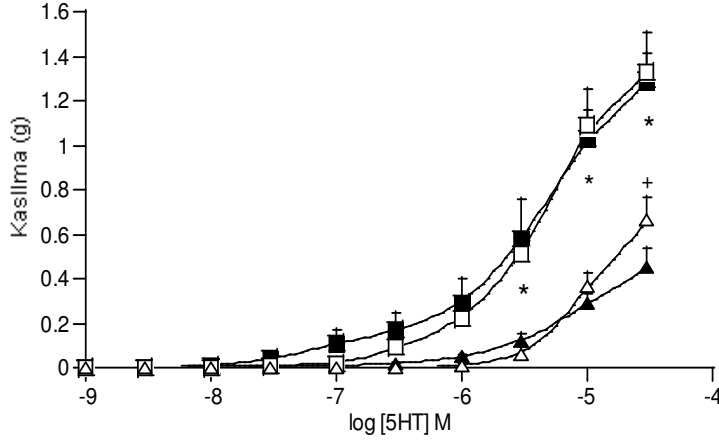
Şekil 4.11: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde $3 \times 10^{-6} M$ glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası serotonine verilen kasılma yanıtları. $3 \times 10^{-6} M$ glibenklamid öncesi (■), ve sonrası serotonin yanıtları (▲), (n=5) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir. (*p<0.05, Wilcoxon matched-pairs signed rank test)

4.1.2.2.1 $3 \times 10^{-6} M$ glibenklamid inkübasyonu ile oluşan etkide endotelyumun rolü

Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde serotonine ait kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri üzerinde glibenklamid inkübasyonu sonucunda elde edilen inhibitör etki üzerinde endotelyumdan salıverilen NO ve PGI₂'in rolünün incelenmesi amacıyla çalışma, bir diğer deney grubunda NO sentaz inhibitörü LNNA ($10^{-4} M$) ile siklooksijenaz inhibitörü indometazin ($10^{-5} M$) varlığında tekrarlanmıştır.

LNNA ve indometazin varlığında da serotonin (10^{-9} - $3 \times 10^{-5} M$) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.12). Aynı damarlardan $3 \times 10^{-6} M$ glibenklamid ile 15 dakika inkübasyon sonrasında serotonin konsantrasyon-yanıt eğrileri alınmış ve serotonin E_{maks} yanıtının glibenklamid inkübasyonu öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe olduğu gösterilmiştir (p<0.05), (Şekil 4.12). LNNA ve indometazin varlığında serotonin E_{maks} yanıtı üzerinde $3 \times 10^{-6} M$ glibenklamidin oluşturduğu inhibisyon %29 olarak hesaplanmıştır. Serotonin yanıtları üzerine LNNA ve indometazin etkisinin incelenmesine yönelik olarak yapılan istatistiklerde LNNA ve indometazin varlığında serotonin E_{maks} yanıtının LNNA ve indometazin ile önışlem görmemiş damarlara göre anlamlı bir şekilde daha fazla olmadığı gözlenmiştir (Şekil

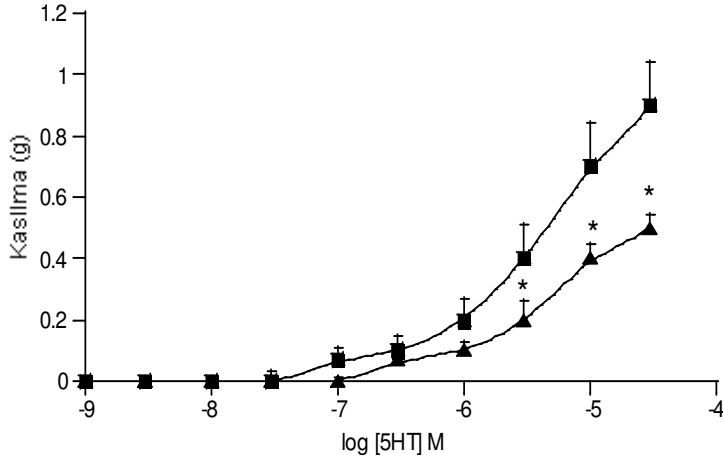
4.12). $3 \times 10^{-6} \text{M}$ glibenklamid inkübasyonu sonrasında alınan serotonin yanıtları üzerine LNNA ve indometazinin herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringleri ile endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş sıçan aorta ringlerinde $3 \times 10^{-6} \text{M}$ glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası serotonine verilen kasılma yanıtları. $3 \times 10^{-6} \text{M}$ glibenklamid öncesi (■) ve sonrası serotonin yanıtları (▲), (n=5); LNNA ile indometazin varlığında $3 \times 10^{-6} \text{M}$ glibenklamid öncesi (□) ve sonrası serotonin yanıtları (Δ), (n=5) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir. (*p<0.05, Wilcoxon matched-pairs signed rank test, LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş grupta glibenklamid öncesi ve sonrası; +p<0.05, Mann-Whitney U-test, LNNA ve indometazin ile önişlem görmüş ve görmemiş gruplarda)

4.1.2.3 10^{-6}M glibenklamid inkübasyonunun etkisi

Endotelyumu sağlam izole sıçan torasik aortasına kümülatif olarak uygulanan serotonin (10^{-9} - $3 \times 10^{-5} \text{M}$) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.13). Aynı damarlarda 10^{-6}M glibenklamid ile 15 dakika inkübasyon sonrasında serotonin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri alınmış ve glibenklamid varlığının bu kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (p<0.05), (Şekil 4.13). Serotonin E_{maks} yanıtı üzerinde 10^{-6}M glibenklamidin oluşturduğu inhibisyon %41 olarak hesaplanmıştır.



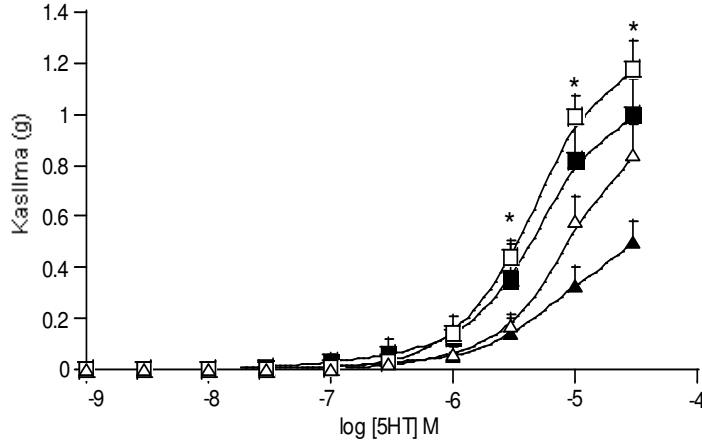
Şekil 4.13: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde 10^{-6} M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası serotonine verilen kasılma yanıtları. 10^{-6} M glibenklamid öncesi (■) ve sonrası serotonin yanıtları (▲), (n=5) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir. (*p<0.05, Wilcoxon matched-pairs signed rank test)

4.1.2.3.1 10^{-6} M glibenklamid inkübasyonu ile oluşan etkide endotelyumun rolü

Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde serotonine ait kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri üzerinde glibenklamidin inkübasyonu sonucunda elde edilen inhibitör etki üzerinde endotelyumdan salıverilen NO ve PGI₂'in rolünün incelenmesi amacıyla çalışma, bir diğer deney grubunda NO sentaz inhibitörü LNNA (10^{-4} M) ile siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5} M) varlığında tekrarlanmıştır.

LNNA ve indometazin varlığında da serotonin (10^{-9} - 3×10^{-5} M) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.14). Aynı damarlarda 10^{-6} M glibenklamid ile 15 dakika inkübasyon sonrasında serotonin konsantrasyon-yanıt eğrileri alınmış ve serotonin E_{maks} yanıtının glibenklamid inkübasyonu öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe olduğu gösterilmiştir (p<0.05), (Şekil 4.14). LNNA ve indometazin varlığında serotonin E_{maks} yanıtı üzerinde 10^{-6} M glibenklamidin oluşturduğu inhibisyon %25 olarak hesaplanmıştır. Serotonin yanıtları üzerine LNNA ve indometazin etkisinin incelenmesine yönelik olarak yapılan istatistiklerde LNNA ve indometazin varlığında serotonin E_{maks} yanıtının LNNA ve indometazin ile önışlem görmemiş gruptan anlamlı bir şekilde daha fazla olmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.14). 10^{-6}

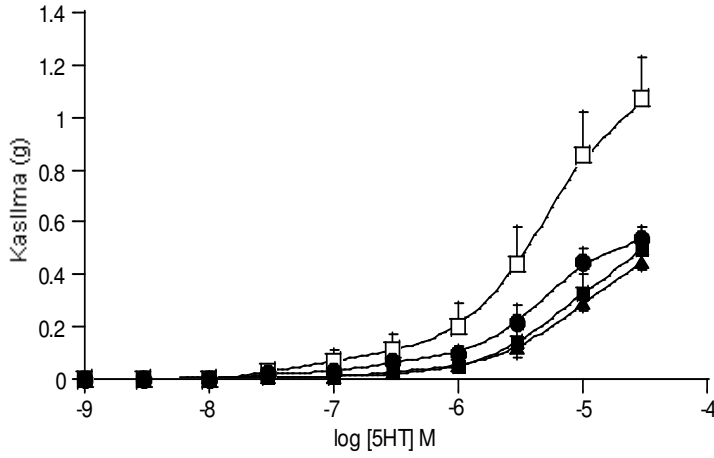
10^{-6} M glibenklamid inkübasyonu sonrasında alınan serotonin yanıtları üzerine LNNA ve indometazin etkisinin incelendiği istatistiklerde de LNNA ve indometazin varlığında herhangi bir etki saptanmamıştır (Şekil 4.14).



Şekil 4.14: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringleri ile endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş sıçan aorta ringlerinde 10^{-6} M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası serotonine verilen kasılma yanıtları. 10^{-6} M glibenklamid öncesi (■) ve sonrası serotonin yanıtları (▲), (n=5); LNNA ile indometazin varlığında 10^{-6} M glibenklamid öncesi (□) ve sonrası serotonin yanıtları (Δ), (n=5) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir. (*p<0.05, Wilcoxon matched-pairs signed rank test, LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş grupta glibenklamid öncesi ve sonrası)

4.1.2.4 Kümülatif serotonin (10^{-9} - 3×10^{-5} M) konsantrasyon-yanıt eğrisi üzerinde glibenklamidin konsantrasyona bağımlı inhibitör etkisi

Üç farklı konsantrasyonda glibenklamid ile inkübasyon öncesinde alınan tüm kümülatif serotonin (10^{-9} - 3×10^{-5} M) kasılma yanıtlarının ortalaması alınarak glibenklamidin serotonin kasılma yanıtları üzerindeki doza bağımlı inhibitör etkisi incelenmiştir. 10^{-5} M, 3×10^{-6} M, 10^{-6} M glibenklamid inkübasyonu sonrası alınmış olan serotonin kasılma yanıtları glibenklamid ile inkübasyon öncesi alınan yanıtların ortalamaları ile karşılaştırılmış (Şekil 4.15), yapılan değerlendirmeler glibenklamidin oluşturduğu inhibitör etkinin konsantrasyona bağımlı olmadığını göstermiştir (Şekil 4.15).

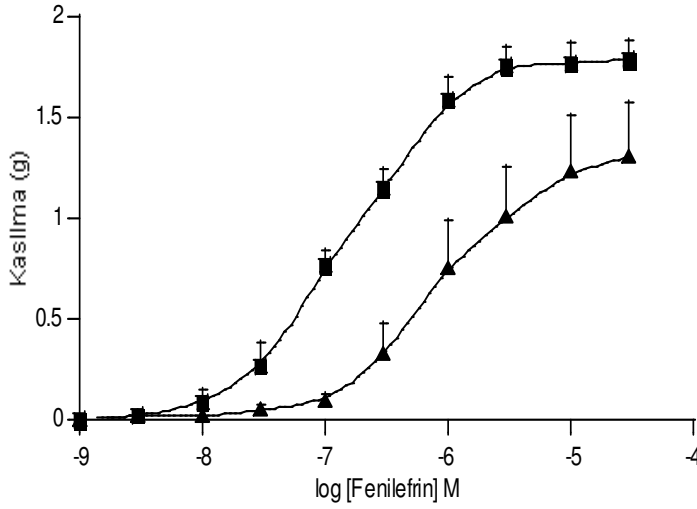


Şekil 4.15: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde glibenklamidin üç farklı konsantrasyonu ile inkübasyon öncesi ve sonrası serotonine verilen kasılma yanıtları. Glibenklamid öncesi bütün endotelyumu sağlam damarlardan alınan serotonin yanıt ortalamaları (□), (n=5); 10^{-5} M glibenklamid sonrası (▲), (n=5); 3×10^{-6} M glibenklamid sonrası (■), (n=5); 10^{-6} M glibenklamid sonrası serotonin yanıtları (●), (n=5) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir.

4.1.3 Kümülatif fenilefrin konsantrasyon-yanıt eğrileri üzerinde glibenklamid inkübasyonunun etkisi

4.1.3.1 10^{-5} M glibenklamid inkübasyonunun etkisi

Endotelyumu sağlam izole sıçan torasik aortasına kümülatif olarak uygulanan fenilefrin (10^{-9} - 3×10^{-5} M) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.16). Aynı damarlarda 10^{-5} M glibenklamid ile 15 dakika inkübasyon sonrasında fenilefrin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri alınmış ve glibenklamid varlığının bu kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı şekilde inhibe etmediği gösterilmiştir (Şekil 4.16). Fenilefrin E_{maks} yanıtı üzerinde 10^{-5} M glibenklamidin oluşturduğu inhibisyon %27 olarak hesaplanmıştır.



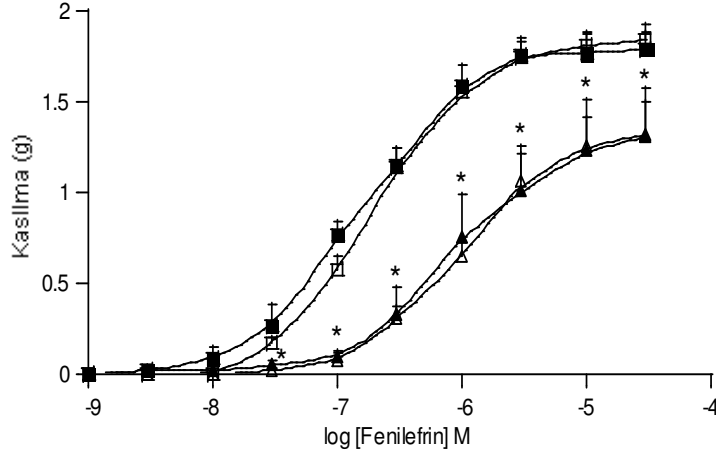
Şekil 4.16: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde 10^{-5} M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrine verilen kasılma yanıtları. 10^{-5} M glibenklamid öncesi (■) ve sonrası fenilefrin yanıtları (▲), (n=3) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir.

4.1.3.1.1 10^{-5} M glibenklamid inkübasyonu ile oluşan etkide endotelyumun rolü

Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde fenilefrine ait kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri üzerinde glibenklamid inkübasyonu sonucunda elde edilen inhibitör etki üzerinde endotelyumdan salıverilen NO ve PGI₂'in rolünün incelenmesi amacıyla çalışma, bir diğer deney grubunda NO sentaz inhibitörü LNNA (10^{-4} M) ile siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5} M) varlığında tekrarlanmıştır.

LNNA ve indometazin varlığında da fenilefrin (10^{-9} - 3×10^{-5} M) konsantrasyona bağımlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.17). Aynı damarlarda 10^{-5} M glibenklamid ile 15 dakika inkübasyon sonrasında fenilefrin konsantrasyon-yanıt eğrileri alınmış ve fenilefrin E_{maks} yanıtının glibenklamid inkübasyonu öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe olduğu gösterilmiştir ($p < 0.05$), (Şekil 4.17). LNNA ve indometazin varlığında fenilefrin E_{maks} yanıtı üzerinde 10^{-5} M glibenklamidin oluşturduğu inhibisyon %28 olarak hesaplanmıştır. Fenilefrin yanıtları üzerine LNNA ve indometazin etkisinin incelenmesine yönelik olarak yapılan istatistiklerde LNNA ve indometazin varlığında fenilefrin E_{maks} yanıtının LNNA ve indometazin ile önileşim görmüş damarlara göre anlamlı bir şekilde daha fazla olmadığı gözlenmiştir (Şekil

4.17). 10^{-5} M glibenklamid inkübasyonu sonrasında alınan fenilefrin yanıtları üzerinde LNNA ve indometazinin herhangi bir etkisi olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17: Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringleri ile endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş sıçan aorta ringlerinde 10^{-5} M glibenklamid inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrine verilen kasılma yanıtları. 10^{-5} M glibenklamid öncesi (■) ve sonrası fenilefrin yanıtları (▲), (n=3); LNNA ile indometazin varlığında 10^{-5} M glibenklamid öncesi (□) ve sonrası fenilefrin yanıtları (Δ), (n=5) gösterilmektedir. Değerler ortalama ve ortalamannın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir. (*p<0.05, Wilcoxon matched-pairs signed rank test, LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş ve görmemiş gruplarda)

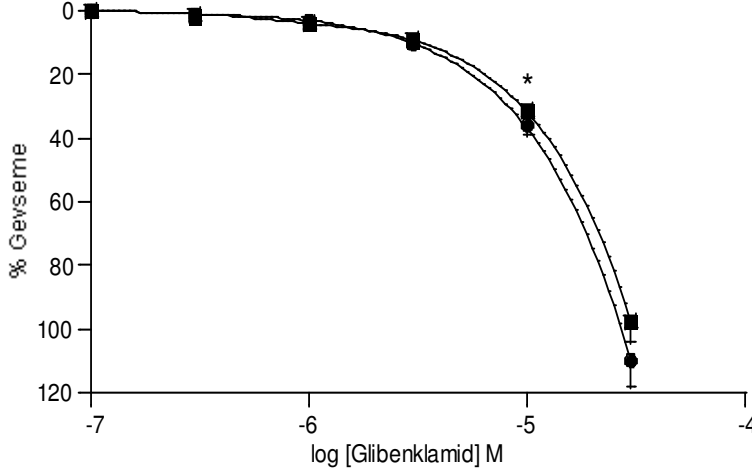
4.2 $PGF_{2\alpha}$ (10^{-5} M) ile kontraksiyon sonrası kümülatif glibenklamid (10^{-7} - 3×10^{-5} M) gevşeme yanıtları

4.2.1 Endotelyumun mekanik olarak kazınmasının kümülatif glibenklamid (10^{-7} - 3×10^{-5} M) gevşeme yanıtları üzerine olan etkisi

Önkastırıcı olarak 10^{-5} M $PGF_{2\alpha}$ kullanılan endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde kümülatif glibenklamid (10^{-7} - 3×10^{-5} M) uygulanması konsantrasyona bağımlı gevşeme yanıtları oluşturmuştur.

Önkastırıcı olarak 10^{-5} M $PGF_{2\alpha}$ kullanılan endotelyumu mekanik olarak kazınmış sıçan aorta ringlerinde de kümülatif glibenklamid (10^{-7} - 3×10^{-5} M) uygulanması konsantrasyona bağımlı gevşeme yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.18). Endotelyumun mekanik olarak uzaklaştırılması glibenklamid gevşemelerini sadece 10^{-5} M

konsantrasyon düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılık düzeyinde etkilemiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.18).

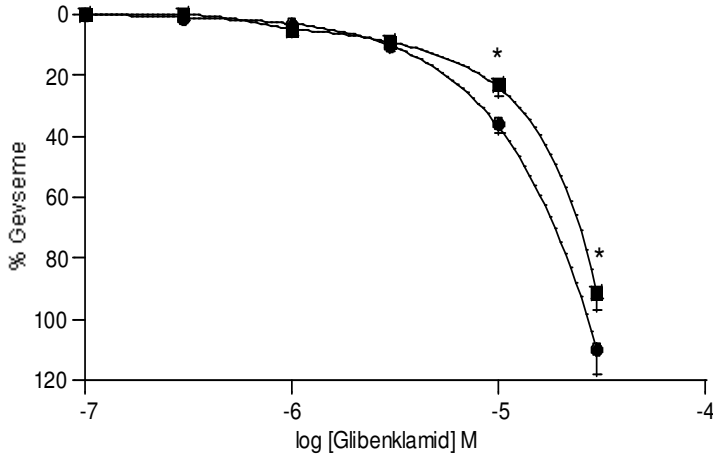


Şekil 4.18: Endotelyumu sağlam ve endotelyumu mekanik olarak kazanmış sıçan aorta riglerinde $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$) ile önkastırma sonrası kümülatif glibenklamid (10^{-7} - $3 \times 10^{-5}M$) gevşeme yanıtları. Endotelyumu sağlam (●) ve mekanik olarak endotelyumu kazanmış sıçan aortasında kümülatif glibenklamid yanıtları (■), ($n=7$). Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası ($Ort \pm Ort.S.H.$) olarak verilmektedir. Gevşeme değerleri $10^{-5}M$ $PGF_{2\alpha}$ ile oluşan önkastırmanın yüzdesi olarak verilmiştir. (* $p<0.05$, Wilcoxon matched-pairs signed rank test)

4.2.2 LNNA ve indometazinin kümülatif glibenklamid (10^{-7} - $3 \times 10^{-5}M$) gevşeme yanıtları üzerine olan etkisi

Önkastırıcı olarak $10^{-5}M$ $PGF_{2\alpha}$ kullanılan endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde NO sentaz inhibitörü LNNA ($10^{-4}M$) ve siklooksijenaz inhibitörü indometazin ($10^{-5}M$) varlığında da glibenklamid (10^{-7} - $3 \times 10^{-5}M$) konsantrasyona bağımlı gevşeme yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.19).

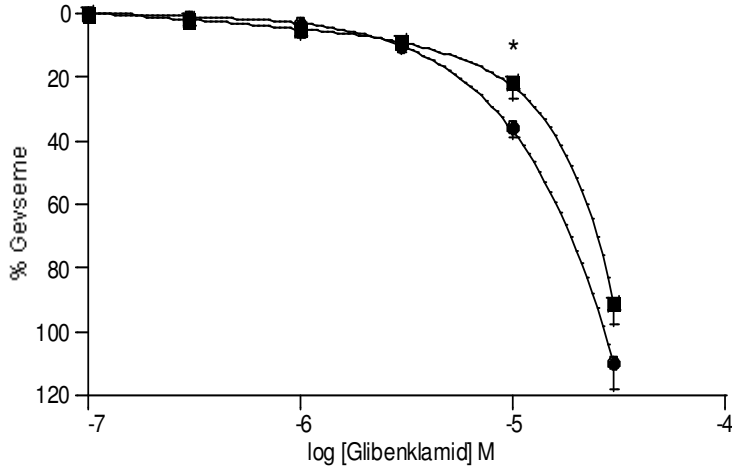
LNNA ve indometazinin glibenklamid gevşeme yanıtları üzerine olan etkisinin araştırılması için yapılan istatistiklerde glibenklamide ait gevşeme yanıtlarının LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş ve görmemiş damarlarda elde edilen yanıtlar arasında $10^{-5}M$ ve $3 \times 10^{-5}M$ konsantrasyonlar düzeyinde istatistiksel anlamlılık gösterdiği saptanmıştır ($p<0.05$) (Şekil 4.19).



Şekil 4.19: Endotelyumu sağlam ve LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş endotelyumu sağlam sıçan aorta riglerinde $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$) ile önkastırma sonrası kümülatif glibenklamid (10^{-7} - $3 \times 10^{-5}M$) gevşeme yanıtları. Endotelyumu sağlam (●) ve endotelyumu sağlam LNNA ve indometazin uygulanmış sıçan aortasında kümülatif glibenklamid yanıtları (■), (n=7). Değerler ortalama ve ortalamasının standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir. Gevşeme değerleri $10^{-5}M$ $PGF_{2\alpha}$ ile oluşan önkastırmanın yüzdesi olarak verilmiştir. (*p<0.05, Wilcoxon matched-pairs signed rank test)

4.2.3 Metilen mavisinin kümülatif glibenklamid (10^{-7} - $3 \times 10^{-5}M$) gevşeme yanıtları üzerine olan etkisi

Önkastırıcı olarak $10^{-5}M$ $PGF_{2\alpha}$ kullanılan endotelyumu sağlam guanilat siklaz yolağı metilen mavisi ile inhibe edilmiş sıçan aorta ringlerinde de glibenklamid (10^{-7} - $3 \times 10^{-5}M$) konsantrasyona bağımlı gevşeme yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4.20). Metilen mavisinin glibenklamid gevşeme yanıtları üzerine olan etkisinin incelendiği istatistiklerde glibenklamid maksimum gevşeme yanıtları endotelyumu sağlam damarlar ve endotelyumu sağlam metilen mavisi uygulanmış damarlar için anlamlı bir fark göstermemesine rağmen $10^{-5}M$ konsantrasyon düzeyinde metilen mavisi ile guanilat siklaz inhibisyonu yapılan damarlarda gevşemenin daha az olduğu saptanmıştır (p<0.05) (Şekil 4.20).



Şekil 4.20: Endotelyumu sağlam sıçan aorta rigleri ile endotelyumu sağlam metilen mavisi inkübasyonu yapılmış sıçan aorta riglerinde $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$) ile önkastırma sonrası kümülatif glibenklamid (10^{-7} - $3 \times 10^{-5}M$) gevşeme yanıtları. Endotelyumu sağlam (●) ve endotelyumu sağlam metilen mavisi inkübasyonu yapılmış sıçan aortasında kümülatif glibenklamid yanıtları (■), (n=4). Değerler ortalama ve ortalamanın standart hatası (Ort±Ort.S.H.) olarak verilmektedir. Gevşeme değerleri $10^{-5}M$ $PGF_{2\alpha}$ ile oluşan önkastırmanın yüzdesi olarak verilmiştir. (+p<0.05, Mann-Whitney U-test, Endotelli ve endotelsiz grupta)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sülfonilüre grubu birçok hipoglisemik ilacın, pankreas, kalp ve damar düz kası gibi farklı hücre tiplerinde bulunan K_{ATP} kanalları üzerinde bloke edici etkileri uzun yıllardan beri bilinmektedir (4). Ancak 1990 yılında Cocks ve arkadaşları (9) tarafından köpek koroner arterinde yapılan in vitro bir çalışma ile glibenklamidin tromboksan A_2 (TXA_2) reseptörünün kompetitif bir antagonisti olduğunun gösterilmesi, çalışmaların glibenklamidin bu farklı etkisi üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuş ve benzer etkiler sülfonilüre grubu ilaçların, özellikle glibenklamidin, yüksek konsantrasyonları ile birçok memeli türünün damarlarında da gösterilmiştir (21, 24, 33, 41). Vazokonstriktör prostanooidlerin etkilerinin glibenklamid ile antagonize edilmesinin yanısıra, bazı damar dokularında fenilefrin, endotelin-1 ve yüksek K^+ gibi kastırıcı ajanlara karşı alınan kontraktıl cevabın da inhibe edilmesi glibenklamidin birçok etki yeri olabileceğini düşündürmüştür (14, 33, 40). Glibenklamidin gözlenen kas gevşetici etkisinin ATP ile regüle edilen K^+ kanalları ile etkileşmesi sonucu oluşmadığı açıktır, çünkü potasyumun hücre dışına çıkışının bloke edilmesi sonucu inhibitör bir etkiden daha çok eksitatör bir etki oluşturması beklenir.

Sülfonilürelerin damar düz kas gevşetici etkisi K^+ kanal açıcı kromakalim ile oluşan damar gevşetici yanıtlara karşı antagonistik etkileri ile ilişkili değildir. Araştırmacılar sülfonilürelerin oluşturduğu vazorölaksan etkinin K_{ATP} kanalları ile etkileşim dışında bir başka mekanizma ile olabileceğini bildirmişlerdir (8, 9, 24, 40, 41). Glibenklamidin damar düz kas gevşetici etkisinde K_{ATP} kanalları dışındaki diğer K^+ kanal tiplerinin aktivasyonunun katkısı incelendiğinde inhibitör etkinin karibdotoksin, tetraetil amonyum iyonları, apamin ve 4-aminopiridin gibi sırasıyla yüksek kondüktanslı Ca^{+2} ile inhibe olan K^+ kanallarını, düşük kondüktanslı Ca^{+2} ile inhibe olan K^+ kanallarını ve voltaja duyarlı K^+ kanallarını bloke eden maddeler ile de değişmediği ve kas gevşetici etkide diğer K^+ kanallarının da rolünün olmadığı gösterilmiştir (14).

Bizim çalışmamızda da glibenklamid, $PGF_{2\alpha}$ ile oluşturulan kontraktıl yanıtı inhibe etmiştir ve bu bulgu diğer araştırmacıların bulguları ile uyumludur (11, 41).

Çalışmamızda glibenklamidin bu etkisinin sadece $PGF_{2\alpha}$ ile oluşturulan kasılmaya spesifik olup olmadığının anlaşılabilmesi için serotonin ve fenilefrin ile oluşturulan kasılma yanıtları üzerindeki etkisi de incelenmiş ve serotonin ile oluşan kontraktıl etki üzerinde glibenklamidin inhibitör etkisi saptanırken fenilefrin kasılmalarında anlamlı bir etki saptanmamıştır. Delaey ve arkadaşları (11) sıçan aortasında $PGF_{2\alpha}$ kasılmalarını tamamen bloke eden konsantrasyondaki glibenklamidin serotonin, fenilefrin, endotelin-1 veya yüksek K^+ ile oluşan kasılmaları ya etkilemediğini ya da daha az etkilediğini bildirmişlerdir. Bizim sonuçlarımız da glibenklamidin inhibitör etkisinin $PGF_{2\alpha}$ kasılmaları üzerinde çok güçlü olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde Zhang ve arkadaşları (41) da etkinin prostanoit kasılmaları üzerinde olduğunu bildirmişlerdir. Buckingham ve arkadaşları (6) ise sıçan aortasında yaptıkları çalışmada noradrenalin ile oluşan kasılmaların glibenklamid ile inhibe olmadığını göstermişlerdir, oysa bir diğer araştırmacı grubu sıçan mezenterik arterinde glibenklamidin, fenilefrin ve yüksek K^+ ile oluşan kasılmaların her ikisini de inhibe ettiğini bildirmişlerdir (14).

Glibenklamidin etkisi sıçan aortası ile sınırlı değildir. Benzer etki köpek femoral, mezenterik, renal, koroner, baziler ve serebral arterinde (41), sıçan karotid arteri, kuyruk arteri ve femoral arterde de (10) gösterilmiştir. Bu inhibitör etki damar dokusu ile de sınırlı değildir. Çeşitli sülfonilüre grubu ilaçlar ile sıçan bronşiyollerinde yapılan bir başka çalışmada TXA_2 -mimetik bir madde olan U-46619'un oluşturduğu kontraksiyonların denenilen sülfonilüreler ile reversibl olarak ve güçlü bir şekilde inhibe olduğu gösterilmiştir (10). Prostanoidlerin bronş hiperreaktivitesinin önemli mediyatörleri olduğu düşünülürse bu ilaçların inhalasyon yolu ile selektif olarak bronşları etkilemesi sağlanarak tedavide farklı bir alanda kullanımları sözkonusu olabilir.

Sülfonilürelerin prostanoit kasılmalarını bloke edici etkilerini genellemek de olası değildir. Çünkü kobay torasik aortası ve karotid arteri (10) ile insan subkutan arterlerinde (33) glibenklamidin prostanoit kasılmaları üzerinde herhangi bir inhibitör etkisi saptanmamıştır. Prostanoidlerin oluşturduğu kasılmalar üzerinde sülfonilürelerin etkilerindeki bu değişkenlik, türler arasındaki farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir. Gerçekten de Ogletree ve arkadaşları (27) sıçan ve kobay damar düz kası ile havayolu segmentlerinde yaptıkları çalışmada kobayın düz

kasındaki prostanoid reseptörleri ile sıçan düz kasındaki reseptörlerin farklı olduğunu ancak aynı tür içinde benzer olduğunu göstermişlerdir.

Çalışmamızda $PGF_{2\alpha}$ ve serotonin ile oluşturulan kasılmalar üzerinde üç farklı konsantrasyondaki glibenklamidin inhibitör etkileri olduğu belirlenmiş ve oluşan inhibisyonun sadece $PGF_{2\alpha}$ kontraksiyonları üzerinde konsantrasyona-bağımlı olarak geliştiği gösterilmiştir. $PGF_{2\alpha}$ kasılmaları $10^{-5}M$ glibenklamid inkübasyonu sonrasında %86 oranında inhibe olurken bu oran $3 \times 10^{-6}M$ glibenklamid için %64, $10^{-6}M$ glibenklamid için de %30 olarak hesaplanmıştır. Serotonin kasılmaları üzerinde glibenklamidin inhibitör etkisi ise $10^{-5}M$, $3 \times 10^{-6}M$ ve $10^{-6}M$ konsantrasyonlar için sırasıyla %65, %50 ve %41 olarak hesaplanmıştır. Fenilefrin kasılmaları üzerinde glibenklamid anlamlı bir inhibitör etki oluşturmamıştır.

Glibenklamidin inhibitör etkisinde endotelyum tabakasının rolünün incelenmesi için çalışmalarımız mekanik olarak endotelsizleştirilmiş sıçan aortası ile NO ve PGI_2 sentezleri bloke edilmiş sıçan aortasında tekrarlanmıştır. $PGF_{2\alpha}$ 'ya ait maksimum kasılma yanıtı üzerinde mekanik endotelsizleştirmenin etkisi gerek glibenklamid inkübasyonu öncesinde gerekse $10^{-5}M$ glibenklamid inkübasyonundan sonra istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Fonksiyonel endotelyumun yokluğunda da glibenklamidin kontraktıl yanıtı baskılaması ancak endotelli dokularda gözlenen inhibisyondan daha az inhibisyon oluşturması etkinin tamamen endotele bağımlı olmadığını göstermektedir. Endotelyumu sağlam sıçan aorta ringlerinde LNNA ve indometazin ile NO ve PGI_2 sentezini bloke ederek gerçekleştirdiğimiz diğer bir çalışmamızda da glibenklamidin $PGF_{2\alpha}$ yanıtları üzerindeki inhibitör etkisinin devam ettiği ancak inhibitör etkinin önemli oranda azaldığı saptanmıştır. Endotelyumu kazınan sıçan aortasında glibenklamid ile oluşan inhibisyonun LNNA ve indometazin ile önışlem görmüş endotelli dokularda elde edilen inhibisyondan daha güçlü olmasında endotelyumdan salıverilen tanımlanamayan diğer faktörlerin katkısı olabileceği düşünülebilir. 1998 yılında Huang ve arkadaşlarının sıçan mezenterik arterlerinde (14) ve Chan ve arkadaşlarının 2000 yılında sıçan aortasında (8) yaptıkları çalışmalarda benzer sonuçları göstermişlerdir. Bu araştırmacılar LNAME ve metilen mavisi ile önışlemin endotelli ringlerde glibenklamidin gevşetici etkisini azalttığını, endotelyal PGI_2 oluşumunun indometazin ile inhibe edilmesi sonucunda ise etkide herhangi bir değişikliğin olmadığını göstermişler ve glibenklamid ile oluşan gevşetici

etkide nitrik oksidin anlamlı rolü olduğunu bildirmişlerdir. Ancak köpek serebral arterlerinde yapılan benzer bir çalışmada endotelyumun mekanik olarak uzaklaştırılmasının veya metilen mavisi ile guanilat siklaz inhibisyonunun glibenklamid yanıtını değiştirmediği gösterilmiştir (41). Sonuçlar arasındaki değişkenliklerin nedeni çalışmalarda farklı türlerden alınan farklı damarların kullanılması olabilir.

Çalışmamızın ikinci bölümünü PGF_{2} ile kastırılan endotelli sıçan aortasında kümülatif uygulanan glibenklamid yanıtlarının ve bu yanıtlarda endotelyumun rolünün incelenmesi oluşturmuştur. Önceden kastırılmış aortada glibenklamidin kümülatif verililişi ile oluşan gevşemeler literatür ile uyumludur (8, 41). Endotelyumun mekanik olarak kazınması glibenklamidin maksimum gevşeme yanıtlarında anlamlı bir fark oluşurmamakla birlikte 10⁻⁵M konsantrasyon düzeyinde endotelsiz damarlarda gevşemelerin daha az olduğu saptanmıştır. Endotelli ringlerde gerek LNNA ve indometazin ile NO ve PGI₂ sentezleri bloke edilerek gerekse metilen mavisi inkübasyonu ile guanilat siklaz bloke edilerek yapılan çalışmalarda glibenklamid gevşemelerinde azalma olduğunun saptanması birinci bölümdeki glibenklamid inkübasyon deneyleri ile paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda, sıçan torasik aortası üzerinde yüksek konsantrasyonlardaki glibenklamidin PGF_{2} ve serotonin gibi kontraktil agonistlerin oluşturduğu kasılma yanıtları üzerinde inhibitör etkisi olduğu gösterilmiştir. PGF_{2} ile oluşan kontraktil yanıt üzerinde glibenklamidin güçlü ve konsantrasyona bağımlı bir inhibitör etkisi olmuştur ve bu etkide endotelyum rol oynamaktadır. Glibenklamidin oluşturduğu gevşeme, endotelyumu kazınmış damarlarda maksimum etkili konsantrasyonlardaki LNNA ve indometazin ile işlem görmüş endotelyumu sağlam ringlerde saptanandan daha fazladır. Bu nedenle endotelyumdan NO ve PGI₂ dışında salıverilen tanımlanmamış faktörlerin bu olayda katkısı olduğu düşünülebilir. Glibenklamid ile oluşan gevşemenin mekanizması henüz bilinmemektedir. Ancak endotelyum veya damar düz kasları üzerinde birçok etki yerinin olduğu ve böylece yüksek konsantrasyonlarda non-selektif kas gevşetici olarak davrandığı söylenebilir.

K_{ATP} kanallarının selektif ve güçlü blokörü olan glibenklamidin, K⁺ kanal aktivatörlerinin etkisini antagonize edici farmakolojik etkilerine ilave edilecek bir

diğer özelliği vazorölaksan etkisidir. Bu etkinin, bu ilacı kronik olarak kullanan tip II diabetik hastaların damar sistemleri üzerinde olumlu katkısının da olabileceği düşünülerek değerlendirilmesi gerekmektedir.

6. ÖZET

Oral olarak kullanılan hipoglisemik bir ilaç olan glibenklamid K_{ATP} kanalları ve bu kanalların aktivatörleri tarafından oluşturulan etkilerin güçlü bir inhibitörüdür. Glibenklamidin pankreas β -hücrelerindeki K_{ATP} kanallarını bloke ettiği, böylece depolarizasyon ve insulin sekresyonuna neden olduğu bilinmektedir. Glibenklamid ve tolbutamid gibi sülfonilüre grubu ilaçlar kardiyak miyositler, vasküler düz kas, iskelet kası ve santral nöronlardaki K_{ATP} kanallarını selektif olarak inhibe ederler.

Glibenklamidin düz kas üzerindeki K_{ATP} kanallarından bağımsız gelişen inhibitor etkilerinin de olduğu çeşitli araştırma grupları tarafından bildirilmiştir.

Çalışmamızda, sıçan torasik aortasında, glibenklamidin $PGF_{2\alpha}$, serotonin ve fenilefrin ile oluşan kasılma yanıtları üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

Bu çalışmanın sonuçları glibenklamidin $PGF_{2\alpha}$ ve serotonin tarafından oluşturulan kasılma yanıtlarını inhibe ettiğini, fakat fenilefrin tarafından oluşturulan kasılmaların üzerinde etkisinin olmadığını göstermiştir. Glibenklamid ile oluşan gevşeme cevapları LNNA'nın maksimum etkili konsantrasyonları ile önışlem görmüş endoteli sağlam damarlarda büyük ölçüde azalmıştır. Bu nedenle endotel kaynaklı diğer tanımlanamayan faktörlerin bu gevşeme yanıtına katılması olasıdır.

Sonuç olarak, K_{ATP} kanallarının selektif ve güçlü bir blokörü olan glibenklamidin birden çok farmakolojik etki yerine sahip olduğu ve K_{ATP} kanal aktivatörlerinin etkilerini antagonizeetmesinin yanısıra yüksek konsantrasyonlarda non-selektif düz kas gevşetici olarak davrandığı söylenebilir.

7. SUMMARY

Glibenclamide, an oral hypoglycemic drug, is a potent inhibitor of ATP sensitive K^+ channels and of the effects of K_{ATP} channel activators. It is well documented that glibenclamide blocks K_{ATP} channels in pancreatic β -cells at nanomolar concentrations, thus leading to membrane depolarization and insuline secretion. Sulfonylurea drugs such as glibenclamide and tolbutamide, selectively inhibited K_{ATP} channels in cardiac myocytes, vascular smooth muscle, skeletal muscle and central neurons.

K_{ATP} channel-independent inhibitory effects of glibenclamide on smooth muscle were reported by several research groups. The mechanism by which glibenclamide causes vasorelaxation is still unknown.

In this study we aimed to investigate the effects of glibenclamide on the prostaglandin $F_{2\alpha^-}$, serotonin- and phenylephrine-induced contractions in isolated rat thoracic aorta.

The results of the present investigation showed that glibenclamide inhibits the contraction induced by $PGF_{2\alpha}$ and serotonin and did not effect the contractions induced by phenylephrine. The relaxant responses induced by glibenclamide were attenuated to a greater degree in endothelium intact arteries pretreated with maximally effective concentrations of LNNA. It is therefore possible that other undefined factors from endothelium may also be involved.

In conclusion, glibenclamide, a selective and potent blocker of K_{ATP} channels, may have more than one site of pharmacological action, and in addition to its antagonistic effect on K_{ATP} channel activators glibenclamide serves as a non-selective smooth muscle relaxant at high concentrations.

8. Kaynaklar

1. Aguilar-Bryan, L., Clement IV, J.P., Gonzalez, G., et al, "Toward understanding the assembly and structure of K_{ATP} channels", *Physiological Reviews*, 78, 1, (1998), 227-245.
2. Aronson, J., "Abnormal potassium channels in Alzheimer's disease", *Biomed & Pharmacother.*, 53, (1999), 335-337.
3. Ashcroft, F.M., Gribble, F.M., "Correlating structure and function in ATP-sensitive K^+ channels", *Trends Neurosci.*, 21, 7, (1998), 288-294.
4. Ashcroft, S.J.H., Ashcroft, F.M., "Properties and functions of ATP-sensitive K^+ channels", *Cell Signal*, 2, (1990), 197-214.
5. Brayden, J.E., Nelson, M.T., "Regulation of arterial tone by activation of calcium-dependent potassium channels", *Science*, 156, (1992), 532,535.
6. Buckingham, R.E., Hamilton, T.C., Howlet, D.R., Mootoo, S., Wilson, C., "Inhibition by glibenclamide of the vasorelaxant action of cromakalim in the rat", *Br. J. Pharmacol.*, 97, (1989), 57-64.
7. Cannon III, R.O., "Role of nitric oxide in cardiovascular disease: focus on the endothelium", *Clinical Chemistry*, 44:8(B), (1998), 1809-1819.
8. Chan, W., Yao, X., Ko, W., Huang, Y., "Nitric oxide mediated endothelium-dependent relaxation induced by glibenclamide in rat isolated aorta", *Cardiovasc. Res.*, 46, (2000), 180-187.
9. Cocks, T.M., King, S.J., Angus, J.A., "Glibenclamide is a competitive antagonist of the thromboxane A_2 receptor in dog coronary artery in vitro", *Br. J. Pharmacol.*, 100, (1990), 375-378.
10. Delaey, C., Van de Voorde, J., "Heterogeneity of the inhibitor influence of sulfonylureas on prostanoid-induced smooth muscle contraction", *Eur. J. Pharmacol.*, 325, (1997), 41-46.
11. Delaey, C., Van de Voorde, J., "Prostanoid-induced contractions are blocked by sulfonylureas", *Eur. J. Pharmacol.*, 280, (1995), 179-184.
12. Ferrer, M., Marin, J., Encabo, A., Alonso, M.J., Balfagon, G., "Role of K^+ channels and sodium pump in the vasodilation induced by acetylcholine, nitric oxide, and cyclic GMP in the rabbit aorta", *Gen. Pharm.*, 33, (1999), 35-41.

13. Furchgott, R.F., Zawadzki, J.V., "The obligatory role of the endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine", *Nature*, 288, (1980), 373-376.
14. Huang, Y., Chan, N. W. K., "Involvement of endothelium in relaxant action of glibenclamide on the rat mesenteric artery", *C*, 343, (1998), 27-33
15. Hüsken, B. C. P., Pfaffendorf, M., Zweiten, P. A., "ATP-Sensitive Potassium channels in isolated rat aorta during physiologic, hypoxic, and low-glucose conditions", *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 29, (1997), 130-135.
16. Jackson, W.F., "Ion channels and vascular tone", *Hypertension*, 35[part 2], (2000), 173-178.
17. Jan, L.Y., Jan, Y.N., "Voltage-gated and inwardly rectifying potassium channels", *Journal of Physiology*, 505, 2, (1997), 267-282.
18. Kaczorowski, G.J., Garcia, M.L., "Pharmacology of voltage-gated and calcium-activated potassium channels", *Current Opinion in Chemical Biology*, 3, (1999), 448-458.
19. Lowenstein, C.J., "NO news is good news", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 96, (1999), 10953-10954.
20. Martindale the Extra Pharmacopoeia, 29th Edition, The Pharmaceutical Press-London, 1989, s.387-389.
21. McPherson, G.A., Choi, R.T., Kong, D.C.M., Iskander, M.N., "The thromboxane A₂ and K_{ATP} channel antagonist actions of a series of sulphonylurea derivatives in the pig coronary artery", *Eur. J. Pharmacol.*, 324, (1997), 193-200.
22. Mishra, S.K., Aaronson, P.I., "A role for glibenclamide-sensitive, relatively ATP-insensitive K⁺ current in regulating membrane potential and current in rat aorta", *Cardiovasc. Res.*, 44, (1999), 429-435.
23. Moncada, S., Palmer, R.J.M., Higgs, E.A., "Nitric oxide: Physiology, and pathophysiology and pharmacology", *Pharm. Rev.*, 43, (1991), 109-142.
24. Nielsen-Kudsk, J.E., Thirstrup, S., "Antidiabetic sulphonylureas relax isolated rabbit coronary arteries", *Eur. J. Pharmacol.*, 195, (1991), 27-35.
25. Nilius, B., Viana, F, Droogmans, G., "Ion channels in vascular endothelium", *Annu. Rev. Physiol.*, 59, (1997), 145-170.
26. Noma, A., "ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle", *Nature*, 305, (1983), 147-148.

27. Ogletree, M.L., Allen, G.T., "Interspecies differences in thromboxane receptors: studies with thromboxane receptor antagonists in rat and guinea-pig smooth muscle", *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 260, (1992), 789-794.
28. Palmer, R.M., Ferrige, A.G., Moncada, S., "Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor", *Nature*, 327, (1987), 524-526.
29. Quast, U., "Do the K⁺ channel openers relax smooth muscle by opening K⁺ channels?", *TIPS*, 14, (1993), 332-337.
30. Quayle, M.J., Nelson, M.T., Standen, N.B., "ATP-Sensitive and inwardly Rectifying potassium channels in smooth muscle", *Physiological Reviews*, 77, 4, (1997), 1165-1232.
31. Rusch, N.J., Liu, Y., "Potassium channels in hypertension: Homeostatic pathways to buffer arterial contraction", *J. Lab.Clin. Med.*, 130, (1997), 245-251.
32. Shieh,C.C., Coghlan, M., Sullivan, J.P., Gopalakrishnan, M., "Potassium channels: Molecular defects, diseases, and therapeutic opportunities", *Pharmacological Reviews*, 52, 4, (2000), 557-593.
33. Stanke, F., Cracowski, J., Chavanon, O., et al., "Glibenclamide inhibits tromboxane A₂-induced contraction in human internal mammary artery and saphenous vein", *European Journal of Pharmacology*, 341, (1998), 65-71.
34. Sturgess, N.C., Ashford, M.L.J., Cook, D.L., Hales, C.N., "The sulphonylurea receptor may be an ATP-sensitive potassium channel", *Lancet*, 8453, (1985), 474-475.
35. Trapp, S., Tucker, S.J., Ashcroft, F.M., "Activation and inhibition of K-ATP currents by guanine nucleotides is mediated by different channel subunits", *Proc. Natl. Acad. Sci. (Physiology)*, 94, (1997), 8872-8877.
36. Türker, R.K., "Endotel kaynaklı kasıcı ve gevşetici biyoaktif maddeler", *Endotel*, İzmir, İzmir Tabip Odası, 1994, s.15.
37. Walsh, M.P., "Regulation of vascular smooth muscle tone", *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 72, (1994), 919-936.
38. Wu,C.C., Chen, S.J., Yen, M.H., "Cyclic GMP regulates cromakalim-induced relaxation in the rat aortic smooth muscle: role of cyclic GMP in K_{ATP} channels", *Life Sciences*, 64, 26, (1999), 2471-2478.

39. Yokoshiki, H., Sunagawa, M., Seki, T., Sperelakis, N., "ATP-sensitive K⁺ channels in pancreatic, cardiac, and vascular smooth muscle cells", *Am. J. Physiol. (Cell Physiol)*, 274, 43, (1998), C25-C37.
40. Yoshitake, K., Hirano, K., Kanaide, H., "Effects of glibenclamide on cytosolic calcium concentrations and on contraction of the rabbit aorta", *Br. J. Pharmacol.*, 102, (1991), 113-118.
41. Zhang, H., Stockbridge, N., Weir, B., Krueger, C., Cook, D., "Glibenclamide relaxes smooth muscle constriction produced by prostaglandin F_{2α}" *Eur. J. Pharmacol.*, 195, (1991), 27-35.

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Erzincan'da doğdum. İlköğrenimimi Ankara Hamdullah Suphi İlkokulunda tamamladım. Ortaokul ve lise öğrenimimi Ankara Atatürk Anadolu Lisesinde tamamladım. 1994 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde lisans eğitimime başladım ve 1998 yılında mezun oldum. 1999 yılında Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Yüksek Lisans Programına kabul edildim. Aynı yıl, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Halen aynı görevi sürdürmekteyim.