

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI**

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ

**FARE, SIÇAN VE KOBAY İLEUMLARININ NON-
ADRENERJİK NON-KOLİNERJİK
YANITLARINDA TAŞİKİNİNLERİN ROLÜ**

(Doktora Tezi)

Melek TAMER

EDİRNE-2007

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ

**FARE, SIÇAN VE KOBAY İLEUMLARININ NON-
ADRENERJİK NON-KOLİNERJİK
YANITLARINDA TAŞİKİNİNLERİN ROLÜ**

(Doktora Tezi)

Melek TAMER

Destekleyen Kurum:TÜBAP

No : 636

EDİRNE-2007

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

ONAY

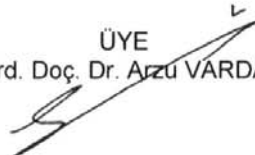
Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı doktora programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ. danışmanlığında doktora öğrencisi Melek TAMER. tarafından tez başlığı "Fare, sıçan ve kobay ileumlarının non-adrenerjik non-kolinerjik yanıtlarında taşikininlerin rolü" olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 17./10/2007 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından "**Doktora Tezi**" olarak kabul edilmiştir.


JÜRİ BAŞKANI
Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL


ÜYE
Prof. Dr. Aydın BARLAS


ÜYE
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ


ÜYE
Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ


ÜYE
Yrd. Doç. Dr. Arzu VARDAR

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.


Prof. Dr. İsmet DÖKMECİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Beni doktora programına kabul ederek bilgi ve becerilerimin artmasına olanak sağlayan Sayın Hocam Prof. Dr. İsmet DÖKMECİ'ye, doktora çalışmalarımın her aşamasında bana yol gösteren, Sayın Hocam Prof. Dr. Hakan KARADAĞ'a, çalışmalarım süresince desteklerini yakından hissettiğim Sayın Hocalarım Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL ve Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ'ye, arkadaşlarım Araş. Gör. Dr. Filiz ÖZYİĞİT, Araş. Gör. Fatma ÖZCAN, Ayfer ARIKAN, Dr. Serpil TÖTÖNCÜ, Araş. Gör. Dr. Ayhan TOSUNOĞLU, Araş. Gör. Dr. Özgür GÖNDÖZ, Araş. Gör. Dr. Sema HALHALLI'ya
Burhan ELMAS ve Gülçin AKIN'a,
Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına,

Her zaman yanımda olan sevgili aileme,

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER	3
NANK SİSTEM.....	3
ENTERİK SİNİR SİSTEMİ.....	6
TAŞİKİNİNLER.....	10
RP 67580.....	15
GR 159897.....	19
SB 222200.....	22
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	26
BULGULAR	28
TARTIŞMA.....	48
SONUÇ.....	56
ÖZET.....	58
İNGİLİZCE ÖZET	60
KAYNAKLAR.....	62
RESİMLEMELER LİSTESİ.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	73
EKLER.....	

SİMGE ve KISALTMALAR

ACh	Asetilkolin
ATP	Adenozin trifosfat
BN	Bombezin
cAMP	Siklik 3',5'-adenozin monofosfat
CCK	Kolesistokinin
CGRP	Kalsitonin geni ile ilişkili peptid
ChAT	Kolin asetiltransferaz
CHO	Çin Hamster Over
cm	Santimetre
CO	Karbon monoksit
EPSP	Eksitator post sinaptik potansiyel
g	Gram
GABA	Gama-aminobütirik asid
GPCRs	G proteini ile kenetli reseptörler
GRP	Gastrin saliverici peptid
hHK-1	İnsan Hemokinin-1
HK-1	Hemokinin-1
Hz	Hertz
i.c.v	İntraserebroventriküler
i.m.	İntramüsküler
i.v.	İntra venöz

kg	Kilogram
L	Litre
M	Molar
MAPK	Mitojenle aktive edilen protein kinaz
mg	Miligram
mHK-1	Fare Hemokinin-1
mL	Mililitre
MMC	Migrating Myoelectric Complex, göç eden miyoelektrik aktivite
mmol	Milimol
mRNA	Haberçi RNA
msn	Milisaniye
NANK	Non-adrenerjik non-kolinerjik sinir sistemi
NE	Norepinefrin
NK1	Nörokinin 1
NK1-R	NK-1 Reseptör
NK2	Nörokinin 2
NK-2A	Nörokinin-2A
NK-2B	Nörokinin-2B
NK3	Nörokinin 3
NKA	Nörokinin A
NKB	Nörokinin B
nM	Nanomolar
NO	Nitrik oksid
NOS	Nitrik oksid sentaz
NP-gamma	Nöropeptid gamma
NP-kappa	Nöropeptid kappa
NPY	Nöropeptid Y
PACAP	Pitüiter adenil siklaz aktive edici peptid
PGE₂	Prostaglandin E ₂
sn	Saniye
SOM	Somatostatin
SP	P maddesi
SSS	Santral sinir sistemi

V	Volt
VIP	Vazoaktif instestinal peptid
°C	Santigrat derece
5-HT	Serotonin
μM	Mikromolar
β-A-NKA	β-A-Nörokinin A

GİRİŞ ve AMAÇ

İzole organ banyosu, in vitro koşullarda izole edilen dokuların canlılığını devam ettirebileceği temel koşulları içine alan bir sistem olarak tanımlanır. İzole organ banyosunda organların fonksiyonel aktiviteleri vücut dışına çıkarılarak incelenebilir. Bu şekilde bir inceleme organın fonksiyonları bakımından, tüm vücutta yapılan incelemelere göre çok daha avantajlı ve ayrıntılı bilgiler verir. Farmakoloji ve fizyolojideki pek çok ileri bilgiler ve yerleşmiş bulgular izole organ banyosu çalışmalarının sonucudur (1).

Bazı organların, sempatik ve/veya parasempatik sinirlerin elektriksel stimölasyonuna verdikleri yanıtın, bu iki sistemin farmakolojik blokajından sonra ortadan kalkmaması ve rezidüel yanıt kalması, söz konusu sinirler içinde adrenerjik ve kolinerjik olmayan sinir liflerinin bulunduğunu göstermiştir. Bu tür sinir lifleri ve onların nöronları otonom sinir sisteminin nörokimyasal sınıflandırmakı üçüncü sistemini oluşturur ve non-adrenerjik non-kolinerjik sinir sistemi (NANK) olarak adlandırılır (2).

İlaçlara farklı şekilde duyarlı olan çok sayıda NANK mekanizması, kobay kolonunda gevşemeyi düzenler (3). Köpek ileokolonik bileşkesinden çok sayıda NANK inhibitör transmitterleri salınır (4). Kolinerjik, adrenerjik ve NANK innervasyonu olan kobay ileumunun kasılmasında NANK-sisteminin rolü hakkında tartışmalı sonuçlar bildirilmiştir (5). Elektriksel uyarı, longitudinal ve sirküler düz kas tabakasında gevşeme ya da kasılmayı indükleyebilir. Bu da ileum NANK transmisyonunun, hem inhibitör hem de eksitatör etki gösterdiğini düşündürmektedir.

NANK yanıtlarının kalıbı, NANK gevşeme ya da kasılmasında farklı transmitterlerin rolü tartışmalıdır (6-11).

Taşikinlerin endojen agonistleri; P maddesi, nörokinin A ve nörokinin B'dir. Bunların etkileri sırasıyla NK1, NK2, ve NK3 olmak üzere 3 farklı reseptörün aktivasyonu ile düzenlenir (12). P maddesinin, NANK sisteminde gastrointestinal motiliteyi kontrol etmede ana kasıcı transmitter olduğu ileri sürülmüştür. Bununla birlikte bazı çalışmalarda P maddesinin salınımını indüklediği NANK inhibitör transmitter olduğu varsayılan transmitterler ya da asetikolin salınımının inhibisyonu sonucu gastrointestinal düz kas gevşemesine neden olduğu rapor edilmiştir (13).

Çalışmamızda elektriksel alan stimülasyonu ile elde ettiğimiz izole sıçan, kobay ve fare ileumu NANK yanıtlarında taşikinlerin rolünü belirlemeyi amaçladık. Ayrıca, yanıtların hayvan türüne göre değişip değişmediği ve ortaya çıkan yanıtlarda hangi taşikinin reseptör tipinin rol oynadığını saptamaya çalıştık.

GENEL BİLGİLER

NANK SİSTEM

Bazı organların, sempatik ve/veya parasempatik sinirlerin elektriksel stimülasyonuna verdikleri yanıtın, bu iki sistemin farmakolojik blokajından sonra ortadan kalkmaması ve rezidüel yanıt kalması, söz konusu sinirler içinde adrenerjik veya kolinerjik olmayan sinir liflerinin bulunduğunu göstermiştir. Bu tür sinir lifleri ve onların nöronları otonom sinir sisteminin nörokimyasal sınıflandırmak için üçüncü sistemini oluşturur ve non-adrenerjik non-kolinerjik sinir sistemi (NANK) olarak adlandırılır (2).

NANK sistemi ile ilgili ilk ipuçları, Langley ve arkadaşlarının çalışmalarından gelmektedir. Pelvik sinir stimülasyonuna yanıt olarak mesanede atropine dirençli eksitasyon olduğu bildirildi (Langley ve Anderson, 1895). Sonraki 60 yıl boyunca; eksitasyonun atropin ile bloğundan sonra gangliyon stimulan nikotinin barsak gevşemesi oluşturduğunu gösteren McSwiney ve Robson (1929), Paton ve Vane (1963) ve Ambache (1951) tarafından dikkate değer ipuçları rapor edilmiştir (14).

1960'ların başlarında barsak ve mesanede NANK sinirlerin varlığına ilişkin kanıtlar bulundu. Atropin ve adrenerjik nöron blokörü bretilyum varlığında barsak düz kas hücrelerinin intrinsek sinirlerinin stimülasyonu ile büyük hiperpolarizasyonlar olduğu bildirildi. Bu hiperpolarizasyonlar, tetrodotoksin tarafından bloke edilmekteydi. Bunların, NANK sinirlerinin stimülasyonuna yanıt olarak ortaya çıkan inhibitör kavşak potansiyelleri olduğu öne sürüldü. Bu arada Goteborg'da bir grup, kedi midesinde vagal sinir uyarımına verilen yanıtları incelemekteydi. Atropin

varlığında, midede vagal sinir uyarımı ile ortaya çıkan gevşeme üzerinde adrenerjik sinir bloke edici ajanlar etkisizdi (14).

1960'ların sonlarında NANK sinirlerin, insan da dahil bütün omurgalıların sadece gastrointestinal sisteminde bulunmayıp, ayrıca ürogenital, solunum ve kardiyovasküler sistemlerinde de bulunduğu gösterilmiş (Burnstock 1969), NANK sistemi bu zaman süresince üçüncü sinir sistemi olarak tanımlanmıştır (14).

Sistematik elektron mikroskopik çalışmalarda enterik pleksuslarda morfolojik yönden dokuz farklı tip nöron tanımlanmıştır. Ayrıca bazı sinir liflerinin birden çok transmitter içeren kompleks veziküllere sahip olduğu öne sürülmüştür (14).

NANK sinirlerin gastrointestinal düz kas hücresine otonomik girdi (input) sağladığı bulunmuştur. ATP, VIP, taşıkininler, GABA ve nitrik oksid NANK sistemi için olası transmitterlerdir (15), (Tablo 1).

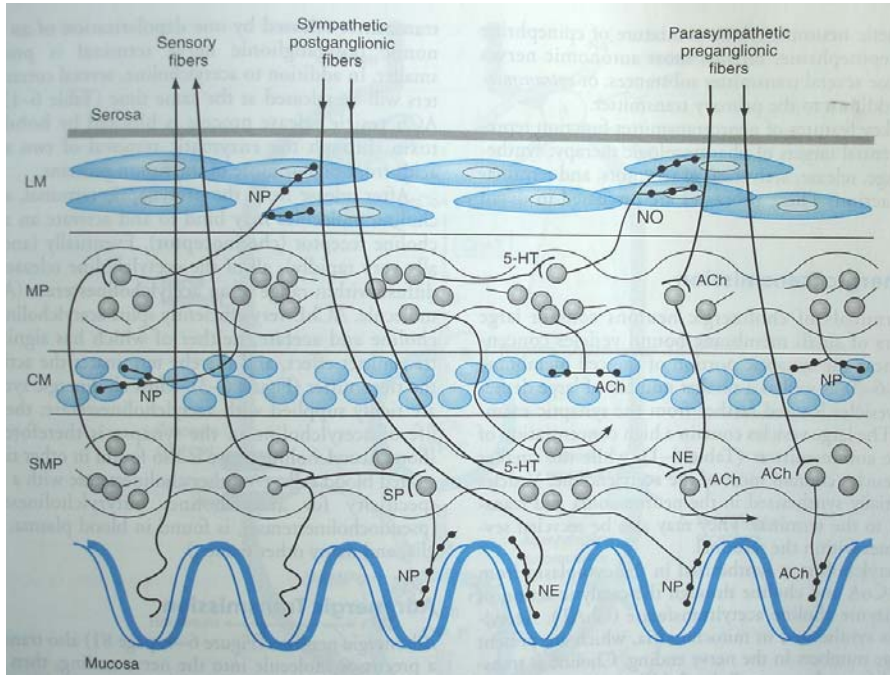
Gevşeme ve kasılma olaylarında NANK transmitterlerin rolü ve farklı NANK mekanizmaları arasındaki etkileşim ile ilgili olarak birtakım çalışmalar yapılmıştır (15). Nitreerjik ve kolinerjik sistem arasında mide düzeyinde etkileşim olabilir. Fonksiyonel deneylerden elde edilen kanıtlara göre NO; sıçan, köpek ve tavşan gastrik fundusunda intrensek kolinerjik sinir sonlanmalarından asetilkolin salınımını inhibe edebilir (16). İlaçlara farklı şekilde duyarlı olan çok sayıda NANK mekanizması, kobay kolonunda gevşemeyi düzenler (3). Köpek ileokolonik bileşkesinden çok sayıda NANK inhibitör transmitterleri salınır (4). Kolinerjik, adrenerjik ve NANK innervasyonu olan kobay ileumunun kasılmasında, NANK-sisteminin rolü hakkında tartışmalı sonuçlar bildirilmiştir. Elektriksel uyarı (stimulus) longitudinal ve sirküler düz kas tabakasında gevşeme ya da kasılmayı indükleyebilir. Bu da ileum NANK transmisyonunun hem inhibitör, hem de eksitatör etki gösterdiğini düşündürmektedir. NANK yanıtlarının kalıbı, NANK gevşeme ya da kasılmasında hangi transmitterlerin rol oynadığı konusu tartışmalıdır (15).

Tablo 1. Otonom sinir sistemi, enterik sinir sistemi ve NANK nöronlarında bulunan bazı transmitterler (17).

Madde	Olası Roller
Asetilkolin (ACh)	Otonom sinir sistemi gangliyonlarında, somatik nöromusküler kavşakta ve parasempatik postgangliyonik sinir sonlanmalarında birincil transmitterdir. Enterik sinir sisteminde düz kas ve sekretuar hücrelerde birincil eksitator transmitterdir. Muhtemelen enterik sinir sisteminde aynı zamanda nörondan nörona (gangliyonik) ana transmitterdir.
Adenozin trifosfat (ATP)	Enterik sinir sistemi nöromusküler kavşaklarında inhibitör bir kotransmitter gibi hareket edebilir. Asetikolin ve norepinefrinin otonom sinir sistemi sinir sonlanmalarından salınımını inhibe eder. Sempatik-düz kas sinapslarında eksitator bir transmitterdir.
Kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP)	Kardiyovasküler duyuşal sinir liflerinde P maddesi ile birlikte bulunur. Bazı enterik sinir sistemi nöronları ve internöronlarda vardır. Kardiyak stimülandır.
Kolesistokinin (CCK)	Bazı eksitator nöromusküler enterik sinir sistemi nöronlarında kotransmitter olarak hareket eder.
Dopamin	Böbrek kan damarlarında olası postgangliyonik sempatik bir transmitterdir. Muhtemelen enterik sinir sistemi ve bazı gangliyonlarda düzenleyici bir transmitterdir.
Enkefalin ve ilgili opioid peptidler	Enterik sinir sisteminde bazı sekretomotor ve internöronlarda vardır. Asetikolin salınımını inhibe ve böylece peristaltizmi de inhibe ediyor gibi görünmektedir. Salgıları stimüle edebilir.
Galanin	Sekretomotor nöronlarda vardır; doyma isteği mekanizmasında rol oynayabilir.
GABA (γ -aminobutirik asid)	Eksitator enterik sinir sistemi sinir sonlanmalarında presinaptik etkileri olabilir. İnce barsak üzerinde bazı gevşetici etkileri vardır. Muhtemelen enterik sinir sisteminde ana transmitter değildir.
Gastrin salıcı peptid (GRP)	Gastrin salgılayan hücrelerde fazlasıyla güçlü eksitator transmitterdir. Aynı zamanda memeli bombesin'i olarak bilinir.
Nöropeptid Y (NPY)	Enterik sinir sisteminde bazı sekretomotor nöronlarda vardır ve ince barsak tarafından su ve elektrolitlerin salgılanması inhibe edilebilir. Uzun süreli vazokonstriksiyona neden olur. Aynı zamanda bir çok parasempatik postgangliyonik nöronlarda ve sempatik postgangliyonik noradrenerjik vasküler nöronlarda kotransmitterdir
Nitrik oksid (NO)	İnhibitör enterik sinir sistemi nöromusküler kavşaklarında bir kotransmitterdir; özellikle sfinkterlerde önemlidir. Parasempatik vazodilatasyon için olası transmitterdir.
Norepinefrin (NE)	Sempatik postgangliyonik sinir sonlanmalarının büyük kısmında birincil transmitterdir.
Serotonin (5-HT)	Enterik sinir sisteminde eksitator nörondan-nörona kavşaklarda ana transmitterdir.
P maddesi (ve ilgili taşıyıcılar)	P maddesi enterik sinir sistemi ve başka yerde önemli bir duyuşal nöron transmitteridir.
Vazoaktif intestinal peptid (VIP)	Enterik sinir sisteminde eksitator sekretomotor transmitterdir; aynı zamanda inhibitör enterik sinir sisteminde nöromusküler kotransmitterdir. Kolinerjik nöronların çoğunda olası kotransmitterdir. Vazodilatör (perivasküler nöronların çoğunda bulunmuştur) ve kardiyak stimülandır.

ENTERİK SINİR SİSTEMİ

Enterik sinir sistemi, gastrointestinal sistem duvarında lokalize olmuş nöron topluluğundan meydana gelmiştir (Şekil 1). Fonksiyonel, farmakolojik, nörokimyasal ve morfolojik metodlarla enterik sinir sistemindeki nöron tipleri sınıflandırılmıştır. İmmunohistokimyasal metodlarla da enterik nöronların farklı populasyonları ve nöropeptidlerin lokalizasyonları saptanmıştır. Kobay ince barsağının bir bölgesindeki nöronlar tanımlanmıştır; buna rağmen nöronların sayısal olarak küçük bir sınıfının tanımlanmamış olması muhtemeldir. İntrinsik nöronların 17 tipi bulunmuştur. Bunların 14 tanesi kobay ince barsağındadır. Diğer 3 tip motor nöron kobay tübüler sindirim sisteminin diğer bölümlerinde bulunmaktadır (18).



Şekil 1. Enterik sinir sistemi (17).

Enterik sinir sisteminin (ENS), ince barsak duvarındaki NANK sistem nöronları, ek olarak kolinerjik ve adrenerjik lifleri de geniş bir şekilde incelenmiştir. İnce barsakta bu nöronlar; nitrik oksid sentaz (NOS), kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP), kolesistokinin, dinorfin, enkefalinler, gastrin saliverici peptid (GRP), serotonin (5-HT), nöropeptid Y (NPY), somatostatin (SOM), P maddesi ve vazoaaktif intestinal peptid'den (VIP) bir ya da daha fazlasını içermektedir. (17). P maddesi

(Substance P=SP) taşıyıcıları ailesinden 11 aminoasitli bir nöropeptid'dir. Santral sinir sisteminde yaygın olarak bulunur. En yoğun bulunduğu bölge lokus niger, hipotalamus ve pineal bezdir. Sindirim kanalında da P maddesi bulunmaktadır. Özofagus ve midenin proksimalinde az bulunmasına karşın pilor kanalında ve tüm barsaklar ve kolon'da yoğun bir şekilde bulunur ve anal kanalda seyrekleşir. P maddesi sindirim kanalının tümünde kasıcı etkiye sahiptir. Taşıyıcıları özofagus, pilor ve ileo-çekal kavşakta sfinkterlerin kasılmasında rol oynarlar (19).

Mide-barsak kanalının tonusu ve motilitesi ile salgılama ve absorpsiyon fonksiyonları; nöronlar, barsak hormonları ya da mide-barsak hormonları adı verilen hormonlar ve barsak mukozası içindeki enterokromafin hücrelerden salıverilen serotonin ve diğer lokal hormonlar (otakoidler) tarafından düzenlenir. Bu yapıyı etkileyen sinirler ekstrinsik ve intrinsek olmak üzere iki gruba ayrılır (2).

Ekstrinsik sinirler; vagus ve pelvik sinirler içinde gelen pregangliyonik parasempatik sinirler, prevertebral gangliyonlardan arterler çevresinde gelen postgangliyonik sempatik sinirler, NANK sinirler ve arterler çevresinde veya vagus ya da pelvik sinirler içinde mide-barsak kanalından otonomik gangliyonlara ve SSS'ne doğru seyreden aferent duyu sinirleridir (2).

Pregangliyonik parasempatik sinirler, Auerbach ve Meissner pleksuslarındaki intrinsek (primer) kolinerjik nöronlarla, yani parasempatik gangliyon hücreleri ile sinaps yaparlar (2).

Postgangliyonik sempatik sinirler, mide-barsak çeperinde kolinerjik intrinsek sinir uçlarındaki α_2 adrenerjik reseptörleri aktive edip, oradan asetilkolin salgılanmasını inhibe ederek düz kasları gevşetirler. Ayrıca düz kas hücrelerinin β_2 -adrenerjik reseptörlerini aktive ederek dolaysız gevşeme de yaparlar (2).

Intrinsek sinirler nöron gövdeleri dahil tümüyle mide-barsak çeperi içinde yerleşmiş bulunan kısa nöronlardan ve ara nöronlardan oluşurlar (2).

Enterik sinir sisteminde miyenterik (Auerbach pleksusu) ve submukozal pleksus (Meissner pleksusu) olmak üzere 2 tane pleksus vardır. Miyenterik pleksus, özofagus'dan rektuma kadar tüm sindirim kanalı boyunca sirküler ve longitudinal kas tabakaları arasında uzanır. Submukozal pleksus ise özellikle kalın ve ince barsakta göze çarpar (18).

Fonksiyonel olarak enterik motor nöronların 5 ana tipi ve birçok alt tipi vardır. Bu 5 nöron:

- sindirim sistemi kasındaki eksitatör nöronlar,

- sindirim sistemi kasındaki inhibitör nöronlar,
- sekretomotor/vazodilatör nöronlar,
- vazodilatör olmayan sekretomotor nöronlar ve
- entero-endokrin hücreleri innerve eden nöronlar (midenin gastrin sekrete eden endokrin hücrelerini innerve edenler gibi) (18)

Ekstrinsik motor nöronların 3 tipi direkt olarak sindirim sisteminde efektörlerin innervasyonunu sağlar. Bunlar: Özofagusun çizgili kasını innerve eden vagal motor nöronlar, özellikle sfinkterlerin kaslarını olmak üzere sindirim sistemi kasını innerve eden noradrenerjik (sempatik) nöronlar ve sindirim sistemi duvarındaki arterlerin innervasyonu sağlayan non-adrenerjik vazokonstriktör nöronlardır. Aynı zamanda mukozada, az sayıda noradrenerjik aksonlar bulunmaktadır (18).

Sindirim sisteminde her bölge ve kas tabakalarının her biri eksitator innervasyon almaktadır. Bir çok araştırmacı, etkili ve spesifik muskarinik reseptör antagonistlerini kullanarak eksitator iletinin belirgin muskarinik komponentinin olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte muskarinik bloğa dirençli rezidüel bir eksitasyon vardır. Bu eksitasyon ağırlıklı olarak taşikininlerin salınımı sebebiyle olmaktadır. Bununla uyumlu olarak motor nöronlar asetilkolin ve taşikininleri sentezleyen enzimler yönünden immunoreaktiftir. Çoğu antisera taşikininleri birbirinden pek ayırt edemese de sorumlu transmitterin genellikle P maddesi olduğu kabul edilir. Asetilkolin ve taşikininlerin rolleri aynı nitelikte değildir; muskarinik antagonistler in vivo olarak gastrointestinal motiliteyi inhibe ettiği halde (20, 21), insanlarda olası antinoseptif ilaçlar olarak test edilen taşikinin reseptör antagonistleri az etkilidir. Buna göre, asetilkolin kasların eksitator motor nöronlarının primer transmitteridir (18).

Enterik inhibitör nöronlarda birincil transmitter NO'dur. Rezidüel iletiden; ATP, VIP, PACAP ve CO değişik biçimlerde sorumludur. İletide rol alan farklı transmitterlerin aynı nöronlardan geldiği bellidir. Çünkü terminaller ve hücre gövdeleri ile yapılan elektron ve ışık mikroskopik çalışmalarda inhibitör nöronların tek bir popülasyonunun NOS, VIP ve PACAP için immunoreaktif olduğu ortaya çıkmıştır. Bu nöronlar kobay ince barsağında kodlanmıştır ve kısa anal projeksiyonları olan nöronlar aynı zamanda GABA ve NPY'yi içeriyorken, uzun nöronlar bombesin (BN) için immunoreaktivite içermektedirler. GABA, NPY ve BN bu nöronlar için post-sinaptik transmitter rolüne sahip değildir (18).

Kobay ileumunun ince bağırsağında 1 tanesi çıkan, 3 tanesi inen olmak üzere internöronlar tanımlanmıştır. Çıkan internöronlar kolinerjiktir ve inen nöronlar gibi barsak boyunca zincir şeklinde uzanır (22). İnen internöronların kimyasal kodları sırasıyla: ChAT/NOS/VIP-±BN±GABA±NPY, ChAT/SOM ve ChAT/5HT'dir. ChAT/NOS/VIP nöronları lokal motilite refleksi, ChAT/SOM nöronları ise ince barsakta göç eden miyoelektrik aktivitenin (MMC) iletilmesinden sorumludur. ChAT/5HT nöronları direkt motilite refleksleri üzerine etkili olmamakla birlikte sekretomotor reflekslerde rol alır (18). Farmakolojik araştırmalarda ince barsakta nöro-nöronal iletide, non-kolinerjik hızlı EPSPs'ye ATP ve 5-HT'nin aracılık ettiği göstermiştir (23, 24).

Barsakta ekstrinsik sinirler kesilip sonlanmalarının dejenarasyona uğraması için zaman tanınıp yapılan bir takım çalışmalarda izole barsakta refleksler tanımlanmıştır. Bu da barsakta, intrensek birincil duyuşal nöronlar olduğunu gösterir. Buna direkt kanıt sadece kobay ince barsağında bulunmuştur; bunlar Dogiel tip II nöronlarıdır (18). Benzer elektrofizyolojik, kimyasal özellikler ve projeksiyonlar gösteren Dogiel tip II nöronları kobay kalın barsağında ve sıçan ince barsağında bulunmuştur. Bu bulgu bu nöronların diğer bölgelerde ve türlerde intrensek duyuşal nöronlar olduğunu destekler. Kobay ileumunda Dogiel tip II nöronları karakteristik elektrofizyolojik özellikleri ile internöronlar ve motornöronlardan ayrılmıştır (25).

İntestinal sekretomotor nöronların kolinerjik ve non-kolinerjik olmak üzere 2 tipi tanımlanmıştır ve ek olarak mukozadaki intrensek birincil duyuşal nöronların sonlanımlarından salınanlar, sekretomotor etkilere sahip olabilirler. Non-kolinerjik nöronlar, VIP ya da ilişkili bir peptidi primer transmitteri olarak kullanırlar ve lokal refleks yanıtların büyük bir kısmına aracılık ediyor gibi görünmektedirler (18). Ancak vazodilatör nöronlardan submukozal arteriyollere olan iletinin farmakolojik olarak in vitro analizinde iletinin kolinerjik olduğu ileri sürülüyorken, histokimyasal olarak innervasyonun non-kolinerjik olduğu tanımlanmıştır. Bu çelişkinin uygun açıklaması ya da in vivo ve in vitro incelemeler arasında farklılık bulunamamıştır (26). Kobay ince barsağında 2 tip kolinerjik sekretomotor nöron (ayrıca NPY veya kalretinin içerenler) ve VIP için immunoreaktif olan non-kolinerjik sekretomotor nöronlar bulunmaktadır. ACh/kalretinin nöronları öncelikle mukozanın tabanındaki bezleri innerve ederler. Submukozal arteriyollere kollateraller içerirler. Ancak ACh/NPY nöronları arteriyolleri innerve ediyor gibi görünmemektedir. 3 sınıf sekretomotor nöron varlığında 2 sınıfı vazodilatör kollateralleri sağlar, sindirim sırasında sekresyonu

dengeler ve uygun vazodilatasyonu sağlar (18). İntrensek duyuşal nöronlar taşıkinler ve ChAT için immunoreaktiftir (27).

TAŞİKİNİNLER

Taşıkininler, farklı hayvan türlerinin solunum, genitoüriner, vasküler sistem ve gastrointestinal kanalında bulunan, etkilerini santral sinir sistemi ve periferik organlarda kendilerine özgü reseptörleri ile birçok biyolojik aktiviteye aracılık ederek gösteren, yapısal olarak peptidlerle ilişkili nörotransmitter/nöromodülatör maddelerdir (12). Taşıkininlerin endojen agonistleri; P maddesi, nörokinin A ve nörokinin B'dir. Bunların etkileri sırasıyla NK1, NK2, ve NK3 olmak üzere 3 farklı reseptörün aktivasyonu ile düzenlenir; ancak bu, hayvan türlerinde farklılık gösterir (12). Tüm memeli taşıkininleri, C-terminal amino asit sırasındadır (Phe-Xaa-Gly-Leu-MetNH₂). (Tablo 2). Bu, taşıkinin reseptörlerinin aktivasyonu için gerekli en küçük yapısal motiftir (28).

Tablo 2. Memeli taşıkininlerinin aminoasit dizilimi (28).

P maddesi	Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-MetNH ₂
Fare Hemokinin-1 (mHK-1)	Arg-Ser-Arg-Thr-Arg-Gln-Phe-Tyr-Gly-Leu-MetNH ₂
İnsan Hemokinin-1 (hHK-1)	Thr-Gly-Lys-Ala-Ser-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-MetNH ₂
Nörokinin A (NKA)	His-Lys-Thr-Asp-Ser-Val-Phe-Gly-Leu-MetNH ₂
Nörokinin B (NKB)	Asp-Met-His-Asp-Phe-Phe-Val-Gly-Leu-MetNH ₂
Nöropeptid gamma (NP-gamma)	Asp-Ala-Gly-His-Gly-Gln-Ile-Ser-His-Lys-Arg-Lys-Asp-Ser-Val-Phe-Gly-Leu-MetNH ₂
Nöropeptid kappa (NP-kappa)	Asp-Ala-Asp-Ser-Ser-Ile-Glu-Lys-Gln-Val-Ala-Leu-Leu-Lys-Ala-Leu-Tyr-Gly-His-Gly-Gln-Ile-Ser-His-Lys-Arg-His-Gly-Gln-Ile-Ser-His-Lys-Arg-Lys-Asp-Ser-Val-Phe-Gly-Leu-MetNH ₂

Tarihçe

Memelilerde P maddesinin varlığı 1930'larda Von Euler ve Gaddum tarafından gösterildi. Taşıkinin peptidleri ve sekansları da Erspamer tarafından vertebrasızlarda (eledoisin) ve daha sonra memeli olmayan türlerde (physalaemin) tanımlandı.

1960'lerde Lembeck, P maddesi ve diğer taşıkininlerin etkilerini memelilerin santral sinir sisteminde ve periferik preparatlarda gösterdi. 1970'lerde Konishi ve Otsuka tarafından, P maddesinin santral sinir sisteminde fizyolojisi açığa çıkarıldı. Hokfelt bu peptidin nöroanatomik lokalizasyonunu tanımlayarak bu konuda büyük bir ilerleme sağladı. Chang ve Leeman P maddesinin aminoasid dizilişini ortaya çıkardı. 1980'lerde Matsuo ve Munekata ve arkadaşları, K maddesi olarak bilinen nörokinin A (NKA) ve nöromedin K olarak bilinen nörokinin B (NKB)'yi buldular. 1980'lerde Regoli tarafından, memeli taşıkininleri, memeli-olmayan taşıkininleri selektif agonistler ve prototip antagonistler kullanılarak, 3 taşıkinin reseptörü NK1, NK2 ve NK3 olarak tanımlandı. Aynı periyotta Nakanishi ve arkadaşları tarafından P maddesi ve NKA'yı kodlayan preprotaşıkinin-A, NKB'yi kodlayan preprotaşıkinin-B genleri tanımlanmıştır. Preprotaşıkinin-A mRNA'nın farklı parçalanma yerlerine göre NKA'nın 2 tane uzamış formu, nöropeptid gamma ve kappa olarak tanımlanmış, daha sonra memelilerde gösterilmiştir. 1980'lerin sonları ve 1990'ların başları arasında Nakanishi ve diğer bağımsız gruplar, çeşitli memeli türlerinde taşıkinin reseptörlerinin G proteini ile kenetli reseptörler familyasına (GPCRs) ait olduğu hipotezini, NK1, NK2 ve NK3 reseptörlerini klonlayarak ispatladılar. 1990'lar süresince, güçlü ve selektif peptid ve non-peptid taşıkinin reseptör antagonistlerinin senteziyle, taşıkinin reseptörlerinin fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolleriyle ilgili önemli gelişmeler sağlandı (Tablo 3). Bu gelişmeler, 1990'ların sonunda preprotaşıkinin-A geni veya taşıkinin NK1 reseptörü içermeyen mutant fare geliştirilmesi ile tamamlandı. Yakın zamanda bu alanda gerçekleştirilmiş 2 önemli gelişme; insanlarda TAC4, ya da farede preprotaşıkinin-C olarak adlandırılan yeni bir taşıkinin geni tarafından kodlanan yeni bir taşıkinin, hemokinin-1 (HK-1)'in, keşfi ve selektif bir NK1 antagonistinin kemoterapiye bağlı bulantı ve kusmaların tedavisinde kullanılmasıdır (28).

Günümüzde ise santral sinir sistemi ve periferde çeşitli fonksiyonları düzenlediği bilinen taşıkininler, en fazla araştırılan peptidler arasındadır (28).

Tablo 3. İnsan taşıkininlerinin NK1, NK2 ve NK3 reseptörlerinde kuvvet sıralaması ve selektif agonist, antagonist ve radyoligandlara örnekler (28).

Reseptör	NK1	NK2	NK3
Doğal agonistler	P maddesi=hHK-1=NKA>NKB	NKA>NKB>P maddesi=hHK-1	NKB>NKA>P maddesi=hHK-1
Selektif agonistler	(Sar ⁹ , Met(O ₂) ¹¹)-P maddesi Septid	(βAla ⁸)NKA(4-10) (Lys ⁵ ,MeLeu ⁹ ,Nle ¹⁰)NKA(4-10)	Senktid (Me-Phe ⁷)NKB
Selektif antagonistler	L-732,138 L-733,060 SR-140333 GR 82334	GR 159897 MDL 29,913 SR-48968 MEN-11420	SB 218795 SB 222200 SR 142801 R-820
Radyoligandlar	[³ H](Sar ⁹ ,Met(O ₂) ¹¹)-P maddesi [¹²⁵ I]L-703606	[¹²⁵ I](Lys ⁵ ,Tyr(I ₂) ⁷ ,MeLeu ⁹ ,Nle ¹⁰)NKA(4-10) [³ H]SR-48968	[¹²⁵ I]MePhe ⁷ -NKB [³ H]SB 222200

Taşıkinin NK1 Reseptör Agonistleri

1990'ların ortasına kadar insan NK1 reseptörlerinin uyarılması yönünden memeli taşıkininlerinin kuvvet sıralamasının, P maddesi>NKA=NKB olduğu kabul edilmekteydi. Bu sıralama klasik in-vitro izole organ deneylerinde köpek karotis arteri, kobay vas deferens, tavşan jugular veni, tavşan vena cava, fare bronşu ve kobay uretra preparatları kullanılarak belirlenmişti. Reseptör farmakolojisinde türe bağlı değişikliklerin değerlendirilmesi ile birlikte, insan NK1 reseptörleri ile transfekte edilmiş Çin Hamster Over (CHO) hücreleri tarama testlerinde altın standart haline geldi. Bu biyoesseylerde taşıkininlerin tümü her ne kadar farklı kuvvetlere sahip olsalar da, tam agonistlermiş gibi hareket ettiler. Ancak selektif ((Pro⁹)-SP sulphone, SP methylester, septid) ve non-selektif (SP) taşıkinin NK1 agonistlerinin affiniteleri karşılaştırıldığında kobay ileumunda yaptıkları kasılma ve aynı organda yaptıkları [³H]-(Pro⁹)-SP ve [³H]-SP bağlanmasını engelleyici etkinlikleri yönünden belirgin bir farklılık dikkati çekmemekteydi. Bu ve benzeri bulgular, klasik NK1 reseptörleri içinde "septid-duyarlı" NK1 reseptör alt tipi olduğuna ilişkin bir varsayıma yol açtı. Bu konuda yapılan ileri çalışmalar bu teorik reseptörlerin gerçekte farklı

konformasyonlara karşılık geldiğini gösterdi. Buna göre NK1 reseptörleri farklı bağlanma ve aktivasyon davranışları göstermektedir. Agonistlerin tümü, kasılmalara neden olma açısından eşitti. Ancak septid, [³H]- (Pro⁹)-SP ve [³H]-SP bağlanmasını engelleyici etki yönünden (Pro⁹)-SP sulphone'dan daha az etkindi (28).

SPOMe selektif NK1 agonistidir ve NK1 reseptörlerinde P maddesi ile birlikte eşit güce sahiptir. Ancak, NK2 ve NK3 reseptörleri üzerine P maddesinden 100-1000 kez daha az güçlüdür. SPOMe, P maddesi ile aynı konsantrasyonlarda kobay ileumunda plato kasılması oluşturur. Bu da atropin tarafından tamamiyle inhibe edilir (29).

NK1-R knockout fare ile yapılan deneylerde, yüksek dozlarda P maddesinin NK2 reseptörleri üzerine etkili olduğu ve NKA'nın etkilerinin NK1 reseptörleri tarafından düzenlenen bir komponenti içerdiği saptanmıştır. Önceki deneylerde, NKA'nın NK1 reseptörlerine bağlandığı görülmüş; fakat bunun reseptör aktivasyonu ile sonuçlanmasının nasıl olduğu anlaşılamamıştır. Saban ve arkadaşlarının çalışmasının sonuçları; NKA'nın NK1 reseptörleri üzerine fonksiyonel bir etkisi olduğunu desteklemektedir. Bunun kanıtı da, vahşi tip farenin sonuçlarının NK1-R knockout fare ile karşılaştırıldığında doz-yanıt eğrisinin sağa kaymasıdır. Bu kayma için bir diğer açıklama; vahşi tip farede NKA'ya olan yanıtın bir bölümü P maddesi salınımına ve bundan dolayı NK1 reseptörleri üzerine olan etkiye bağlanabilir. NK1-R knockout farede, NKA'ya olan yanıt; yalnızca NK2 reseptörleri üzerine olan etkinin bir sonucudur. Vahşi tip ve NK1-R knockout fareden alınan dokulardaki taşıkinin NK2 reseptör antagonisti SR 48968'nin farklı etkisi, bu hipotezi destekler. Deneylerde, guanetidin ve atropin kullanıldığından bu yanıtta asetilkolin ve norepinefrinin rolü yoktur. Ancak bu deneyler, prostaglandinlerin ve diğer transmitterlerin katılımını dışlayamamıştır. (30).

Taşıkinin NK1 Reseptör Antagonistleri

Selektif non-peptid NK1 reseptör antagonistleri geliştirilerek farklı türlerde incelenmiştir. Örneğin CP 96,345; insan, kobay, tavşan ve hamsterden alınan dokularda NK1 reseptörlerine yüksek affinite gösterirken; sıçan, fare ve tavuk dokularında NK1 reseptörlerine düşük aktivite göstermiştir. RP 67580 ise; sıçan NK1 reseptörlerine, kobay NK1 reseptörlerinden fazla affinite göstermektedir. Aynı türler içinde NK1 reseptör antagonistlerinin farklı etkilerine dayanılarak, NK1 reseptör alt

tiplerinin bulunduğu öne sürülmüştür. Örneğin CP 96345, kobay ileumunda NK1 reseptörlerinin aracılık ettiği yanıtlarda, kobay trakeasına göre daha etkili antagonizma göstermektedir. Ayrıca NK1 reseptör agonistleri tarafından oluşturulan yanıtları, değişik peptid antagonistlerin inhibe etme güçleri arasında da farklılıklar vardır (31).

Non-peptid NK1 antagonisti CP 99,994'ün, kobay ileumunda, P maddesinin indüklediği plato kasılmasını güçlü bir şekilde azalttığı, kasılmanın plato fazı esnasında, NK1 reseptörlerinin önemli bir role sahip olduğunun doğrulandığı, bunun da kolinerjik motor nöronların aktivasyonu aracılığı ile gerçekleştiği açıklanmıştır (29).

SPOMe, NK1 reseptörlerini aktive eder. Ancak, NK3 reseptörlerini aktive edemez. SPOMe'nin neden olduğu plato kasılması, NK1 reseptör antagonisti CP-99,994 tarafından tamamıyla inhibe edilmesine rağmen, NK3 reseptör agonisti [Asp^{5,6}, MePhe⁸]-SP (5-11)'nin neden olduğu plato kasılması etkilenmez (29).

P maddesi, kobay ileumu düz kasının kasılmasını 2 yolak üzerinden sağlar. Doğrudan yolak, tonik non-kolinerjik kasılmaya neden olur (atropin etkisizdir). Dolaylı yolak ise fazik kasılma ile sonuçlanır. Bu kasılmalar, selektif NK1 reseptör antagonisti olan SR 140333 tarafından ortadan kaldırılır (32).

İzole düz kas preparatlarının kullanılması, NK1 reseptör alt tiplerine ait birçok çalışmaya yol göstermiştir. Nöronal reseptörlere, NK1 reseptör antagonistlerinin bağlandığını bildiren çalışmalar vardır (31).

Farklı NK1 reseptör agonistleri çeşitli G proteinleri ile farklı bir yoldan etkileşime girerek, farklı reseptör konformerlerini indükleme ya da stabilize etme yeteneklerine bağlı olarak farklı hücrel yanıtı indükleyebilirler. 1. jenerasyon taşıkinin antagonisti (D-Pro², D-Trp^{7,9})-SP⁶⁶, CaCo-2 hücreleri (53)'ndeki MAPK yolunda tam agonist olarak davranır. Oysa tavşan iris sfinkter kasında ve kobay taenia coli'sinde taşıkininin oluşturduğu kasılma ve inositol fosfat birikimini antagonize eder. Non peptid NK1 reseptör antagonisti CP 96345; hem (D-Pro², D-Trp^{7,9})-SP, hem de P maddesinin indüklediği MAPK aktivasyonunu inhibe eder. Antagonistin moleküler yapısı agonistten ne kadar büyük ise, antagonistin "saf antagonist" gibi davranma olasılığı artar. Çeşitli dezavantajları olan taşıkinin sekans-bazlı peptid antagonistlerini (düşük potansiyel, zayıf seçicilik, rezidüel agonist aktivite) izleyen GR 82334 gibi 2. jenerasyon taşıkinin antagonistlerinin, in vitro reseptör karakterizasyonunda daha iyi oldukları kanıtlanmıştır. NK1 reseptör farmakolojisinde gerçek dönüm noktası, CP 96345 ve RP 67580 gibi kuvvetli ve

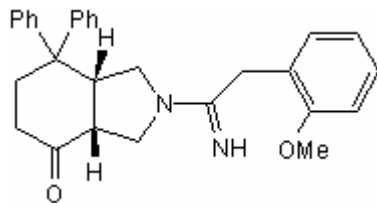
selektif non-peptid antagonistlerin keşfidir. Bu bileşikler bile; spesifik olmayan etkiler, türlere bağlı NK1 reseptör affinitesinde değişkenlikler gibi olumsuz özelliklere sahiptirler. CP 96345'in affinitesi, insan, sığır (bovine), kobay ve tavşanda en yüksektir, ancak fare ve sıçan NK1 reseptörlerinde belirgin derecede düşüktür. RP 67580 için bunun tersi geçerlidir. Daha sonra bir çok non-peptid NK1 reseptör antagonistleri bunları takiben geliştirilmiştir. Birçoğu CP 96345'e benzer tür selektifliği gösteren antagonistlerdir; sırasıyla triptofan ve piperidin türevleri olan L-732,138 ve L-733,060'ı içerirler (28).

İzole fare ileumu sirküler kasında selektif NK1 reseptör agonisti septid'in oluşturduğu kasılmaları, NK1 reseptör antagonisti RP 67580 (1 μ M) ortadan kaldırır. Önceki deneylerde değerlendirilen diğer NK1 antagonistleri MEN 11467 (1 μ M) ve L 733060 (1 μ M), septid ile-uyarılan kasılmaları bloke etmede başarısızlığa uğramıştır. Bundan, bu antagonistler arasındaki NK1 reseptör affinitesindeki tür-bağımlı farklılıklar sorumlu olabilir (33).

NK1 antagonisti FK 888'in, kobay ileumu düz kas miyenterik pleksus preparatlarında elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu seğirme (*twitch*) yanıtlarının amplitüdü üzerine önemli bir inhibitör etkisi yoktur (34).

RP 67580

RP 67580, non-peptid P maddesi antagonistidir (Şekil 2). İn vitro antagonistik aktivitelerini, NK1 reseptörleri üzerine selektif ve yarışmalı olarak etkiyerek gösterir. RP 67580, NK1 reseptörlerinden zengin izole doku preparatlarını tanımlamak, P maddesinin farmakolojik ve fizyolojik özelliklerini ve taşıkinin reseptör agonistlerinin selektifliklerini belirlemek için güçlü bir bileşiktir (35).



Şekil 2. RP 67580'nin kimyasal yapısı (28).

RP 67580, P maddesi ve septid ile uyarılan kasılmaları güçlü bir şekilde antagonize etmektedir. Tavşan pulmoner arteri, sıçan portal veni, kobay trakea ve

kobay mesanesinde, NK2 ve NK3 agonistlerinin uyardığı kasılmalar üzerine bu bileşiğin hiçbir etkisi yoktur (35).

RP 67580, kobay ileumunda NK1 reseptörleri üzerine yarışmalı bir şekilde etkilidir. Değişik NK1 agonistlerinin doz yanıt eğrisini, onların maksimal kasılmalarını değiştirmeksizin paralel olarak sağa doğru kaydırır. Schild eğrisi lineer ve eğri 1'den çok farklı değildir (35).

Kobay ileumunda NK1 agonistleri üzerine RP 67580, CP 96345'e göre daha az etkili bir antagonisttir. Bu, RP 67580'nin türe bağımlı affinitesindeki farklılık nedeniyle olabilir. Bağlamalı deneylerde, kobay ileumu ile sıçan ileumu karşılaştırıldığında CP 96345'in kobay ileumunda daha güçlü olduğu, RP 67580'nin ise sıçan ileumunda daha güçlü olduğu saptanmıştır (35).

RP 67580 ve CP 96345, agonist aktiviteden yoksundurlar. Ek olarak, 1 µM RP 67580, kobay ileumunda asetilkolin, histamin ve bradikinin'in submaksimal kasılma yanıtlarını antagonize etmemiştir (35).

CP 96345'in, inek caudate membranlarına düşük nanomolar düzeyde bağlandığı; RP 67580'nin ise, sıçan beyin membranlarına benzer affinite ile bağlanarak, [³H]-SP'i inhibe ettiği rapor edildi. Her iki non-peptid antagonistlerin affinitesi türlere bağımlıdır. Örneğin CP 96345, bağlayıcı çalışmalarda NK1 reseptörlerine insan ve kobayda yüksek affinite gösteriyorken; aksi, sıçan ve farede RP 67580 için doğrudur. Bu türler arasında bağlayıcı affinitelerdeki farklılık, aynı zamanda fonksiyonel NK1 reseptörleri ile ilgili izole preparatlarda da görülebilir (36).

Seabrook ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada RP 67580 sıçan superior servikal ganglion ve mesanesinde P maddesi O-metil esterinin oluşturduğu yanıtları antagonize etmede etkiliydi. Bununla birlikte CP 96,345 kobay lokus seruleusundaki yanıtları antagonize etmede, ileum longitudinal kası/miyenterik pleksusuna göre 50 kat daha az etkiliydi (31).

Ayrıca, NK1 reseptörlerine yüksek derecede selektif olan RP 67580, nosisepsiyon ve nörojenik inflamasyonu inhibe eder (38).

Taşikinin NK2 Reseptör Agonistleri

Şu ana kadar incelenen tüm türlerde memeli taşikininleri, taşikinin NK2 reseptörleri üzerinde tam agonist olarak etkir. İnsan NK2 reseptörlerinde güç, sırasıyla NKA>NKB>P maddesi=hHK1'dir. Prototipik monoreseptör biyoessey organı,

tavşan pulmoner arteridir; ayrıca sıçan vas deferensi, hamster trakeası, insan mesanesi, bronş ve kolonu NK2 reseptör ligandlarının karakterizasyonunda kullanılmıştır (28). Son kanıtlar, insan bronşundaki kasılma yanıtının küçük bir komponentinin, taşikinin NK1 reseptörleri tarafından düzenlendiğini gösterir (37); ancak, NKA-ile uyarılan kasılmalara katkısı önemsizdir. NK1 reseptörleri için altın standart biyoessey, insan NK2 reseptörleri ile transfekte edilmiş CHO hücreleridir. Karakterize edilen ilk selektif NK2 reseptör agonisti (β Ala⁸)NKA(4-10), fare NK2 reseptöründe neredeyse inaktifti; mürin nöroblastom C1300 hücrelerinde Ca^{+2} mobilizasyon cevabı üzerinde ve izole fare mesanesinde kasılmaları indüklemeye etkisizdi. (β Ala⁸)NKA(4-10), selektifliğini mikromolar konsantrasyonlarda gösterir; daha yüksek konsantrasyonlarda NK1 reseptörleri de uyarılmaya başlar (28)

İnsan NK2 reseptörleri ile transfekte edilmiş HEK 293 hücrelerinde, agonist bağlanması ile ikinci ulak oluşumu arasındaki ilişkileri analiz eden çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda hem reseptör, hem de agonistler floresan bir prob ile işaretlenir; böylece hem bağlanma, hem de Ca^{+2} mobilizasyonu eş zamanlı gözlenir (39, 40); sAMP üretimi de izlenir. Floresan NKA, reseptörlere bifazik bir şekilde bağlanır. Hızlı bileşeni (saniyeler), yavaş olan (dakikalar) takip eder. Hızlı bileşen, Ca^{+2} mobilizasyonu; yavaş bileşen ise, bu yanıtın desensitizasyonu ve sAMP üretimi ile koreledir. Kısa form floresan NKA(4-10), bağlanmanın yalnızca hızlı bileşenine etki eder ve sAMP üretimine etkisi yoktur; Ca^{+2} mobilizasyonu, patlama kalıbı şeklinde bu agonist tarafından indüklenir, oysa NKA tarafından gerçekleştirilen indükleme monofaziktir (40). Daha önce yapılmış bir çalışmada, NK2 reseptörlerinin hücre içi C terminallerinin protein kinaz C tarafından fosforilasyonunun, inozitol trifosfat birikiminin desensitizasyonundan sorumlu olduğu ileri sürülmüştür. Bu da C terminali kısaltılmış NK2 reseptörlerini eksprese eden hücrelerde, alınan intraselüler yanıtın daha kuvvetli ve daha uzun süreli olmasıyla ortaya konmuştur (39). Protein kinaz C aktivasyonu ile indüklenen desensitizasyonun büyüklüğü, NK1 reseptörleri için olandan az olmasına rağmen; bu enzim aynı zamanda NK2 reseptör desensitizasyonunda da rol oynar (39, 40). NK2 reseptörünün C terminal bölgesi, MAPK aktivasyonunun büyüklüğünü düzenler. Mutantlarda sinyal güçlenmiştir; ancak vahşi tip reseptörlerde sinyal geçicidir (41). NK1 reseptörlerine benzer şekilde, CHO hücrelerinde insan NK2 reseptörlerinin aktivasyonu; pertussis toksinine-duyarlı (%35 inhibisyon) araşidonik asit mobilizasyonunu ve sonuçta PGE₂ üretimini indükler. Bu yanıt, Ca^{+2} mobilizasyonuna bağlıdır ve kanal blokörü SKF-96365 ya da EGTA ile

durdurulur, ama fosfolipaz C'den bağımsızdır, çünkü U-73122 tarafından etkilenmez. Diğer taraftan SKF-96365 ya da EGTA'nın, NKA'nın indüklediği inozitol trifosfat üretimine etkisi yoktur (28).

Son zamanlarda insan ve sıçan NK2 reseptörleri için, farklı bir mRNA kesilme varyantı tanımlanmıştır (42). Bunun mRNA'ya karşılık gelen bir reseptör proteini olup olmadığı ve taşıkininlerin bu proteine bağlanıp bağlanmadığı bilinmemektedir (28).

Taşıkinin NK2 Reseptör Antagonistleri

MEN 10376 ve L-659877 peptidleri gibi birinci jenerasyon selektif taşıkinin NK2 reseptör antagonistlerinin incelenmesi antagonistlerin affinitelerindeki türle ilişkili farklılıkları saptamaya yardımcı olmuştur. MEN 10376'nın affinitesi; tavşan, kobay, sığır ve insanlardan hazırlanan preparatlarda, L-659877'ye göre daha fazladır. Bunun tersi hamster ve sıçan preparatlarında görülür (28). Siklik peptid MDL 29,913 (43), sıçan ve hamster preparatlarında yüksek affiniteye; köpek, tavşan, kobay ve insan (2 μ M'da inaktif) preparatlarında düşük affiniteye sahiptir (28, 43, 44). MDL 29,913, periferel düzeyde NK2 reseptör aracılı etkilerin karakterizasyonunda yararlıdır (45). Bu bileşiğin olumsuz özellikleri, non-spesifik etkiler göstermesi ve in vivo kısa etki süresidir (28, 45, 46). Bisiklik peptid MEN 11420 (47), non-peptid NK2 reseptör antagonistleri SR-48968 (48) ve GR 159897 (49)'nin bulunmasıyla bu problemlerin üstesinden gelinmiştir. Çeşitli NK2 reseptör antagonistlerinin affiniteleri, izole preparatların NK2 reseptör aracılı kasılmalarının inhibisyonunun incelenmesiyle değerlendirilmiştir. Kobay trakea ($pA_2 = 8.7$)'sındaki fonksiyonel deneylerde, insan NK2 reseptörleri ile transfekte edilmiş CHO hücreleri ile ($pK_i = 9.5$) yapılan bağlanma çalışmalarında ve sıçan kolonunda ($pK_i = 10$) GR 159897'nin kuvvetli antagonist olduğu gösterilmiştir. Bu antagonistlerin kullanılmasıyla hem periferde, hem de santral sinir sisteminde NK2 reseptörlerinin patofizyolojik rolü araştırılmıştır (28).

NKA'nın, kobay ileumu düz kasının non-kolinerjik fazik kasılmalarını indüklediği taşıkinin NK2 reseptörlerinin neden olduğu bu müsküler aktivitenin, selektif NK2 reseptör antagonisti SR 48968 tarafından inhibe edildiği bildirilmiştir (32).

Taşıkinin NK2 reseptörleri, memelilerin birkaç türünde periferel organlarda geniş bir dağılım göstermektedir. Doğal taşıkininlerin güçlerine göre sıralanmasında

nörokinin A (NKA)'nın, nörokinin B ve P maddesine göre daha güçlü olduğu gösterilmiştir (50).

Selektif reseptör antagonistlerinin gelişimi ile taşıkinin NK2 reseptörlerinin farmakolojisinde dikkate değer bir karışıklık olduğu gösterildi. Değişik memeli dokularında NK2 reseptörlerinin, NK-2A (klasik olmayan) ve NK-2B (klasik) olmak üzere en az 2 tane alt tipi değişik türlerde tanımlanmıştır. MEN 10,207 ve MEN 10,376 gibi kompetitif antagonistler NK-2A (klasik olmayan) üzerinde daha güçlü iken; L 659,877, MDL 29,913 ve R 396 gibi diğer antagonistler, NK-2B (klasik) reseptörleri üzerinde daha güçlüdür. MDL 28,564; NK-2A taşıkinin reseptörlerinde tam ya da kısmi agonist gibi, NK-2B (klasik) NK2 reseptörlerinde ise kompetitif antagonist gibi davranır (51).

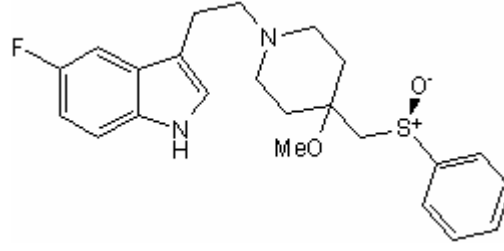
Tavşan, kobay, inek ve insan düz kasında NK-2A formu eksprese ediliyorken; sıçan ve hamster düz kasında NK-2B formu eksprese edilmiştir (51).

NK2 reseptör antagonistleri; GR 94,800, MEN 10,573 ve MEN 10,376 (her bir antagonist için n=4)'nın, kobay ileumu miyenterik pleksus preparatlarında elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu seğirme yanıtları üzerine bir etkisi yoktur (34).

NK2 reseptör antagonisti nepadutant (1 μ M)'ın, fare ileumu sirküler kasında β -A-NKA'nın (1nM-100nM) neden olduğu kasılmaları azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca nepadutant ve SR 142801 birlikte kullanıldığında, P maddesinin oluşturduğu kasılmaları da azalttığı, ancak her bir antagonistin tek başına belirgin etkisi olmadığı gösterilmiştir (33).

GR 159897

GR 159897, NK2 reseptörleri için düşük molekül ağırlıklı, non-peptid antagonisttir (Şekil 3). GR 159897, rasyonel olarak planlamanın ve direkt olarak taramanın bir kombinasyonu ile geliştirildi. Öncelikle NK2 reseptörleri için, yüksek affinite ve selektivite ile birlikte düşük molekül ağırlıklı peptid antagonistleri tanımlanmıştır. Bu gibi bileşiklerin kalıpları kullanılarak NK2 reseptörleri için zayıf non-peptid antagonist ürünlerinin direkt olarak taranması ve sonradan ortaya çıkan iyileştirmelere bunların rehberlik etmesi, GR 159897'nin gelişimiyle sonuçlanmıştır (49).



Şekil 3. GR 159897'nin kimyasal yapısı (28).

GR 159897, iyi bir in vivo aktiviteye de sahiptir ve santral sinir sistemine kolay bir şekilde penetre olur. GR 159897, NK2 reseptör aktivasyonunun solunum sistemi, mesane ve santral sinir sistemindeki fizyolojik ve patolojik rollerini araştırmak için kullanılacak yararlı bir bileşiktir (49).

GR 159897'nin NK2 reseptörlerine affinitesi, insan ileumu ve sıçan kolonunda NK2 reseptör radyoligandı [³H]GR100679 kullanılarak belirlenmiştir. Sıçan kolon membranlarında NK2 reseptörlerine bağlanma gücünün sırasının, NKA>GR64349> NKB>P maddesi=P maddesi metil ester (substance P methyl ester)= senktid şeklinde olduğu varsayıldı (49).

GR 159897, insan ileumu ve sıçan kolonunda NK2 reseptörlerine yüksek affinite göstermektedir. NK2 reseptör agonisti GR 64349'un, kobay izole trakeasında oluşturduğu kasılmaları konsantrasyon bağımlı, kompetitif ve güçlü bir şekilde antagonize eder. Çeşitli taşıkinin antagonistlerinin sıçan kolon membranlarına bağlanma güçleri sırasıyla: GR 159897>GR 100679≥GR 94800>(±)SR 48968>L-659, 877>MEN 10376>CP, 96 345≥GR 82334 olarak bildirilmiştir (49).

GR 159897 ve SR 48968'in her ikisi de NK2 reseptörlerine yüksek derecede selektif antagonist olmalarına rağmen, farklı türlerdeki NK2 reseptörleri ile ilişkili güçlerinde farklılıklar gösterebilirler. GR 159897, insan ve kobay ile karşılaştırıldığında sıçan NK2 reseptörlerine hafifçe daha kuvvetlidir. SR 48968, tam tersi selektifliğe sahiptir (49, 52). Ek olarak GR 159897'nin, kobay korteksinde NK3 reseptörlerine düşük bir affinitesi vardır ya da hiç yoktur ($pK_i < 5$) (53, 54).

Deneysel olarak anksiyete oluşturulan sıçanlar ve marmosetlerde, GR 159897'nin periferik ve santral uygulanmasıyla anksiyolitik benzeri etkiye sahip olduğu saptanmıştır (49).

Kerr ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada kobayın özofagus mukozasında non-selektif agonist NKA'ya ait olan konsantrasyon-yanıt eğrisi, GR

159897 tarafından belirgin olarak sağa kaydırılmıştır. Ancak selektif NK1 antagonisti SR 140333 ve selektif NK3 antagonisti SB 222200'ün buna etkisiz olduğu bulunmuştur. GR 159897, selektif NK2 reseptör agonisti GR 64349 ve non-selektif agonist NKA'ya karşı belirgin şekilde kompetitif antagonizma göstermiştir (55).

Taşikinin NK3 Reseptör Agonistleri

İncelenebilen tüm türlerdeki memeli taşikininleri, taşikinin NK3 reseptörlerinde tam agonist olarak davranırlar (28). İnsan NK3 reseptörlerinde güç sırası, NKB> NKA>P maddesi= hHK-1'dir (28, 56). Prototipik monoreseptör biyoessey, sıçan portal venidir. Ancak bu reseptörlerin karakterizasyonunda, kobay ileumu ve tavşan irisi de kullanılmıştır (28, 57). Senktid, insan NK3 reseptörleri ile transfekte edilmiş CHO hücrelerinde güçlü bir şekilde ($pEC_{50}= 8.7$) ekstrasellüler asidifikasyonu indükler. Bu yanıt, protein kinaz C inhibitörü staurosporine ve intrasellüler kalsiyum deplesyonu yapan thapsiargin tarafından inhibe edilir. NK3 reseptörlerinin $G_{q/11}$ ile eşleşmesi ve fosfalipaz C aktivasyonu yapması olasıdır (58). İnsan barsak düz kas hücre kültüründe de, benzer transdüksiyon mekanizması tanımlanmıştır (28).

Kobay ileumu düz kasında senktid'in indüklediği kasılmalar; dolaylı yolak ile asetilkolin salınımının neden olduğu tonik atropine-duyarlı kasılma ve doğrudan yolak ile fazik atropin-dirençli kasılmalardır. Kasılmalar, spesifik bir NK3 reseptör antagonisti SR 142801 tarafından bloke edilmiştir (32).

De Schepper ve arkadaşlarının çalışmasında yüksek doz senktid ile inkübasyon düşük frekanstaki elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu kasılmaları önemli derecede azaltır (33). Buna rağmen NK3 reseptör agonisti senktid, $1\mu M$ 'a kadar kas şeridinde kasılma oluşturmada başarısız olmuştur (33). Bu ikilem için olası açıklama şu olabilir; NK3 reseptörleri başlıca intrensek reflekslerle ilgilidirler (peristaltizm ile ilgili olanlar gibi) ve izole kas şeritlerinde kasılma oluşturmazlar. Ancak uzun süren maruziyet sonrasında nöronal transmisyonu bozarlar (33).

Taşikinin NK3 Reseptör Antagonistleri

NK3 reseptör antagonisti prototip peptidi [Trp(7), β Ala (8)]NKA (4-10), NK3 reseptörleri için göreceli orta derecede affinite ve zayıf selektiflik gösterir (28). Ancak türevi olan R-820 sıçan portal veninde benzer bir affiniteye sahip olmasına rağmen,

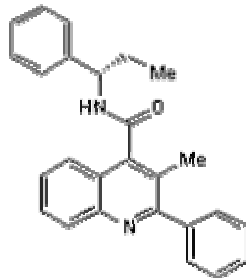
NK1 ve NK2 reseptörleri üzerine artmış selektiflik gösterir (59). NK3 reseptör farmakolojisinde dönüm noktası; insan ve kobay NK3 reseptörlerine yüksek, ancak rodent NK3 reseptörlerine düşük affinite gösteren, farmakolojik konsantrasyonlarda spesifik olmayan etki gösterebilen SR-142801'in keşfedilmesidir (60). Benzer affinite profilleri, kinolin karboksamid türevleri SB 218795 (61) ve SB 222200 (62) için yapılan bağlanma deneylerde tanımlanmıştır.

SR 142801, yüksek konsantrasyonlarda (0.3-3 μ M), kobay ileumu miyenterik pleksus longitudinal kas preparatlarında bazal elektriksel seğirme yanıtları azalttığı ve yine aynı dokuda nikotinin neden olduğu kasılmaları da önlediği için, spesifik olmayan etkilere de sahip olduğu bildirilmiştir. SR 142801 ve SR 142806'nın spesifik olmayan etkileri, bileşiğin verapamile-duyarlı kalsiyum kanalları ya da opioid reseptörleri ile ilişkisine bağlı olabilir (12).

SR 142801'in, fare ileumu sirküler kasında elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu kasılmaları, maksimum frekansta belirgin bir şekilde azalttığı gösterilmiştir (33).

SB 222200

SB 222200, non-peptid taşıkinin reseptör antagonistidir (Şekil 4). Rodent NK3 reseptörleri üzerine düşük affinite göstermesine rağmen, kan-beyin penetrasyonu iyi olduğundan; SB 222200, sıçan ve farelerin santral sinir sisteminde NK3 reseptörleri nin aracılık ettiği etkilerin belirlenmesinde yararlıdır. 5 mg/kg oral dozda SB 222200, farelerde i.c.v. senktid uygulanmasının indüklediği davranışsal etkileri antagonize eder (28).



Şekil 4. SB 222200'ün kimyasal yapısı (28).

Agonist olarak senktid kullanılan fonksiyonel deneylerde tavşan irisinde SB 222200 ve SB 218795 için hesaplanan afiniteler (pA_2 değerleri) sırasıyla 7.9 ve 7.4'tür. Bu tür antagonizma in vivo olarak da gözlenmiştir. Tavşanlarda senktid ile oluşturulan miyozis, SB 222200 (1 ve 2 mg/kg i.v.) ve SB 218795 (0.5 ve 1 mg/kg i.v.) ile güçlü bir şekilde antagonize edilmiştir (57).

Taşikinlerin Gastrointestinal Sisteme Etkileri

Gastrointestinal sistemde taşikinler, efektör hücelere hem doğrudan etkiyerek hem de nöronları ya da sinir liflerini uyararak bir takım fizyolojik fonksiyonları düzenlerler (28). Gastrointestinal sistemde, P maddesi ve nörokinin A (NKA) kotransmitterdir. Depolarizan uyarıya yanıt olarak salınırlar (63).

Fonksiyonel çalışmalar; P maddesinin iyon sekresyonu, mukozal kan akımı, motilite ve lokal immun fonksiyonlardan sorumlu olduğunu göstermiştir. Taşikinlerin neden olduğu bu yanıtlara aracılık eden 3 tane reseptör alt tipi bulunmaktadır. Bunlar: NK1, NK2 ve NK3'tür. Taşikin reseptörlerinin gastrointestinal kanal (23) içindeki dağılımları türlere göre farklılık gösterir. Ancak barsağın submukozasında NK1 reseptörleri, önemli bir role sahip gibi görünmektedir. Kobay ileumunda, NK1 reseptörlerine yüksek affinite gösteren P maddesi, iyon sekresyonu ve submukozal arteriyollerdeki dilatasyona sinirsel olarak aracılık etmektedir (64).

Senktid gibi güçlü ve selektif NK3 reseptör agonistlerinin geliştirilmesiyle, intestinal motilitede endojen taşikinlerin farklı mekanizmalarının profili tanımlandı. Senktid, miyenterik pleksusun nöronal elementleri üzerinde güçlü bir eksitator etki oluşturmuş; kobay ince barsağına uygulanmasıyla da, eksitator (asetilkolin ve taşikinler) ve inhibitör (NO) mediyatörler salınmıştır (63).

Taşikinlerin motor etkileri incelendiğinde; intestinal duvar boyunca su hareketini düzenleyen taşikin reseptörleri arasında, tür bağımlı farklılıklar olduğu görülmüştür. NK1 reseptörlerinin aktivasyonu, bütün türlerde, intestinal lümende su sekresyonunu indükler. NK2 reseptörleri kobaylarda değil; ama sıçan ve insanlarda sekresyonu uyarırken, NK3 reseptörlerinin rolü kobay ile sınırlıdır (28). Sıçanlarda kolonik ileri distansiyonun indüklediği sekretuar etki ya da inflamatuvar uyarı, selektif NK1 ya da NK2 reseptör antagonistleri ile bloke edilir (65, 66).

Taşikinler, intestinal düzeyde inflamatuvar yanıtın önemli mediyatörleridir. Birçok veri NK1 reseptörlerinin bu etkide merkezi bir rol oynadığını göstermektedir;

kolitis ve ileitis modellerinde, bu etkiye NK2 reseptörlerinin de katkıda bulunduğu saptanmıştır (28). Taşikinın NK1 reseptörlerinin rolü, plazma protein ekstravazasyonunun indüksiyonu ile sınırlı değildir; çünkü bu reseptörlerin uyarımı, doku zedelenmesi oluşturur. Bu durum NK1 reseptör geni silinmiş farelerde, deneysel pankreatit ve ona bağlı letalitenin daha az olmasıyla gösterilmiştir. Duyarlı fare karaciğerinde ise; NK1 selektif antagonistler (CP 96345 ya da L-733,060), kombine antijen ve endotoksin kullanımının indüklediği doku zedelenmesinde koruyucu etkiye sahiptirler (67).

NK1 ve/ya da NK2 reseptörlerine etki eden taşikininler; gastrointestinal kanalın çeşitli segmentlerinde, hem sirküler hem de longitudinal düz kas tabakalarında güçlü spazmojen etkilidirler (68). Ayrıca; NK1, NK2 ve NK3 reseptörleri, miyenterik ve submukoz pleksus nöronlarında eksprese edilir. Bu nöronların bazısı, düz kas tabakalarına inhibitör girdiler gönderebilir (28).

Taşikininler (P maddesi, nörokinin A ve nörokinin B) ve onların reseptörleri (NK1, NK2, ve NK3); non-adrenerjik ve non-kolinerjik sinirlerin, gastrointestinal sistemdeki kontrolüne katkıda bulunurlar. NK1, NK2, ve NK3 reseptörleri, kobay ileumunun longitudinal ve sirküler kas tabakalarının her ikisinde de, taşikininlerin izotonik kasılmalarına aracılık ederler. Taşikinın NK1 reseptörlerinin, ileumun longitudinal kasının non-kolinerjik kasılmalarına aracılık ettiği bilinmektedir. Ancak, aynı zamanda kolinerjik müsküler aktiviteye de katıldıkları bildirilmiştir. Taşikinın NK3 reseptörleri, ileumun longitudinal kasının sadece kolinerjik değil; aynı zamanda non-kolinerjik kasılmalarına katkıda bulunurlar. Diğer taraftan, taşikinın NK1 ve NK2 reseptörleri ileumun sirküler kasının non-kolinerjik tonik ve fazik kasılmalarına; taşikinın NK3 reseptörleri ise, kolinerjik müsküler yanıtlara aracılık ederler. Ayrıca izometrik koşullar altında, sıçan ileum longitudinal kasında taşikininlerin fazik ve müsküler aktiviteye aracılık ettiği bildirilmiştir (32).

P maddesinin NANK sisteminde, gastrointestinal motiliteyi kontrol etmede ana kasıcı transmitter olduğu ileri sürülmüştür. İzole ileumdaki farmakolojik çalışmalar, P maddesinin güçlü spazmojenik etkileri olduğunu göstermiştir. P maddesi bu etkilerini düz kas membranında hem NK1 hem de NK2 reseptörleri ile etkileşime girerek doğrudan ya da nörojenik atropin-duyarlı yolaklar aracılığı ile (muhtemelen de NK3 reseptörleri ile etkileşerek) dolaylı olarak gerçekleştirmektedir. Bununla birlikte, bazı çalışmalarda P maddesi tarafından uyarıldığı varsayılan NANK inhibitör transmitter

salınımı ya da asetilkolin salınımı inhibisyonunun gastrointestinal düz kas gevşemesine neden olduğu bildirilmiştir (13).

Taşikinlerin, enterik sinir sistemi ile ilgili en iyi belgelenen davranışları onların nöromüsküler eksitatör transmitter rolleridir. İnce ve kalın barsağın longitudinal ve sirküler kas tabakaları taşikinin içeren sinirler tarafından inerve edilirler. Taşikinler, NK1 ve NK2 reseptörleri aracılığı ile barsak düz kasının eksitasyon ve kasılmasına neden olurlar. NK1 ve NK2 reseptörleri için kullanılan güçlü ve selektif antagonistler, enterik eksitatör nöromüsküler iletimde bu 2 reseptörün göreceli yardımını ortaya koymuştur (63).

Taşikinler aynı zamanda miyenterik pleksustaki nöronal elementler tarafından eksprese edilirler. Doğal taşikinlerin barsakta görülen kesin etkileri nöronal stimülasyon ve asetilkolin gibi mediyatörlerin salınımıdır (63).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deney Hayvanı

Deneylerde Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi'nden temin edilen; 250-300 g ağırlığında kobaylar, 20-30 g ağırlığında BALB/c türü fareler ve 200-300 g ağırlığında Wistar albino türü sıçanlar kullanıldı. Hayvanların tümü erişkin ve erkekti. Hayvanlar; 12 saat gece/12 saat gündüz, %50-60 nem oranı, $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık koşullarında yetiştirildi. Deneylerden en az bir hafta önce laboratuvara getirilen hayvanlar, $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında besin kısıtlaması yapılmaksızın gürültüsüz bir ortamda tutuldular. Deneysel çalışmalara başlamadan önce Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'dan (09.09.2004 tarih, 12. sayılı oturum) etik onay alınmıştır.

Deney Protokolü

Taşikinin antagonistlerinin izole ileum preparatlarında oluşturduğu etkiler incelendi. Bunun için uygulanan deneysel yöntemler şöyleydi: Deneyden bir gün önce hayvanlar aç bırakıldı. Sıçan, kobay ve fare ketamin (60-120mg/kg dozunda i.m.) ile anestezi edildikten sonra karın boşluğu açılarak ileo-çekal sfinkter bulundu, buradan distalde kalan 10 cm'lik kısmı bırakılarak 10 cm'lik ileum parçası alındı ve içinde besleyici solüsyon bulunan bir petri kutusuna aktarıldı. Ötanazi yöntemi olarak dekapitasyon kullanıldı. Barsak çevresindeki dokular temizlendikten sonra, her biri 1-2 cm uzunluğunda dört adet ileal segment parçası kesildi ve longitudinal olarak alt ve üst uçlarından lümeni kapatmayacak şekilde bağlanarak karbojen (%95 O₂ + % 5 CO₂ karışımı) gazı ile havalandırılan, 37°C sıcaklığında besleyici solüsyon (Krebs solüsyonu) içeren 30 ml'lik organ banyolarına asıldı. Besleyici solüsyonun bileşimi şu

şekildeydi: NaCl 118 mmol/L, KCl 4,70 mmol/L, CaCl₂ 2,52 mmol/L, MgSO₄ 1,64 mmol/L, NaHCO₃ 24,88 mmol/L, KH₂PO₄ 1,18 mmol/L, glukoz 5,55 mmol/L.

İleum segmentlerine sıçanlarda 2 g, kobay ve farelerde ise 1 g ön yük uygulandı. Kayıtlar izometrik transdüsör (Grass FT03) aracılığı ile poligrafta (Grass Model 7 Polygraph) kaydedildi. Her 15 dakikada bir yıkanan ileum segmentlerinde yanıtların düzenli hale gelmesi için 1 saat beklendi.

Elektriksel alan stimülasyonu, ileum segmentlerine paralel olarak yerleştirilmiş elektrotlar aracılığı ile bilgisayar kontrollü stimülatör (MAY ST95PT Stimülatör) kullanılarak uygulandı. Çalışmalarda her 10 dakikada bir 20 sn süre ile uygulanan 20 Hz frekans, 0,8 msn pals genişliği, 50 V'luk elektriksel alan stimülasyonu değerleri kullanıldı.

Deneyler sırasında kolinerjik ve adrenerjik yanıtların ortaya çıkmasını önlemek için muskarinik reseptör antagonisti atropin (3 µM), α-adrenerjik reseptör blokörü fentolamin (5 µM), β-adrenerjik reseptör blokörü propranolol (5 µM) ilaçların uygulanmasından 15 dakika önce organ banyosuna uygulandı.

Çalışmamızda GR 159897 (n=8), RP 67580 (n=8), SB 222200 (n=8) olmak üzere 3 farklı ilaç, 3 farklı hayvan türünde kullanıldı. NK₁ reseptör antagonisti RP 67580, NK₂ reseptör antagonisti GR 159897 ve NK₃ reseptör antagonisti SB 222200 ve bir nörotoksin olan tetrodotoksin etanolde çözüldü.

Çalışmanın başlangıcında NANK yanıtlarını elde ettikten sonra taşıkinin antagonistleri 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶M konsantrasyonlarda elektriksel uyarı gelmeden 2.5 dakika önce organ banyolarına otomatik pipet ile pipetlendi. Yanıtlar elde edildikten sonra dokular 2 defa yıkandı ve tekrar yanıt alındı. Yanıtın blokaj yapılmadan önceki haline döndüğü görüldü. Daha sonra yeniden blokaj yapılarak kontrol yanıtı alındı. Elde edilen yanıtlar, kontrol yanıtlarının yüzdesi cinsinden hesaplanarak ölçümlerde standardizasyon sağlandı.

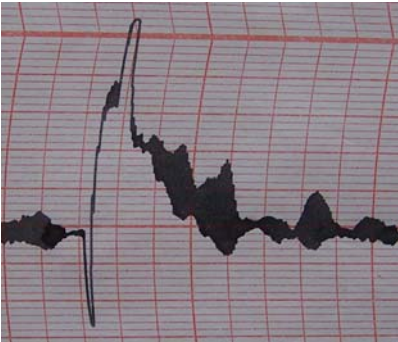
Kullanılan İlaçlar: Atropin (Sigma), fentolamin (Sigma), propranolol (Sigma), RP 67580 (Tocris), GR 159897 (Tocris), SB 222200 (Tocris), Tetrodotoksin (Tocris), Ketalar (Eczacıbaşı).

Tüm deneyler 10:00-18:00 saatleri arasında gerçekleştirildi.

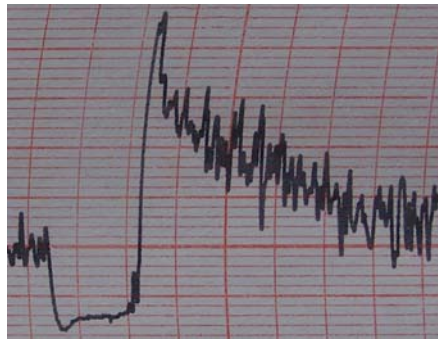
İstatistiksel Analiz: Konsantrasyon yanıt eğrilerinin karşılaştırılması Graphpad Prism 4.0 Demo programında nonlinear regresyon analizi ile gerçekleştirildi.

BULGULAR

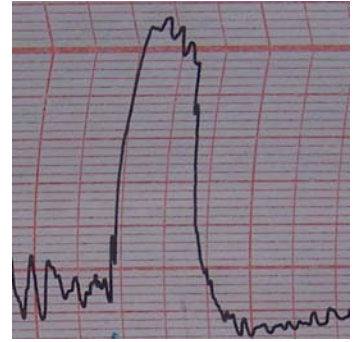
İzole sıçan ve fare ileumunda, kolinerjik ve adrenerjik sistemlerin fentolamin, propranolol ve atropin ile blokajından 15 dakika sonra elektriksel alan stimülasyonu ile elde edilen NANK yanıtı trasesi 3 özelliğe sahipti. Tipik NANK yanıtı trasesi, elektriksel alan stimülasyonun başlaması ile hemen başlayan ve giderek azalan bir gevşeme, elektriksel uyarı kesilince belirgin bir kasılma ve bu kasılma yanıtının normale dönüşü ile başlayan fazik kasılmalardan oluşmaktaydı. İzole kobay ileumunda NANK yanıtı trasesi sıçan ve fare ileumu NANK yanıtı traselerinden farklı olarak gevşeme komponentini içermemekteydi (Resim 1).



Sıçan (A)



Fare (B)

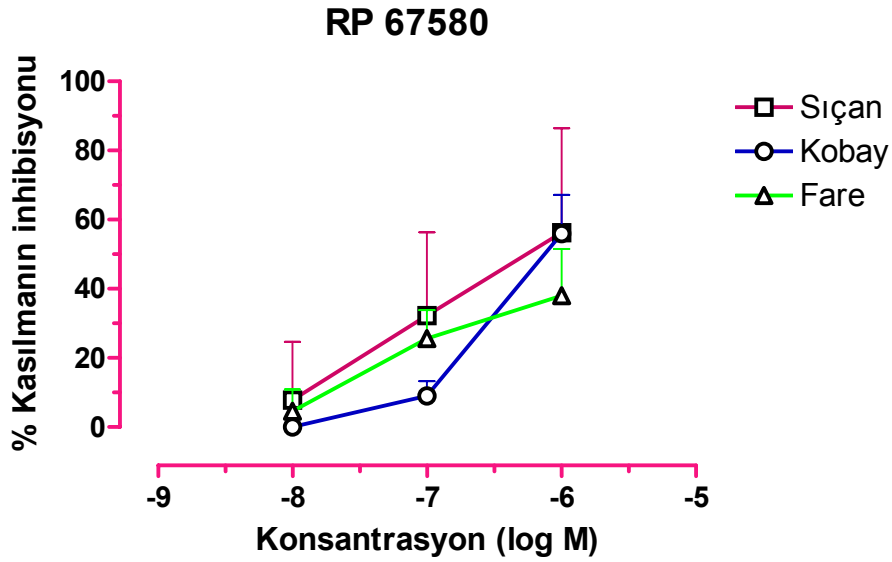


Kobay (C)

Resim 1. İzole sıçan (A), fare (B), kobay (C) ileumlarında elektriksel alan stimülasyonu ile elde edilen NANK yanıtları.

Taşikinin NK1 Reseptör Antagonisti RP 67580'nin İzole Kobay, Fare ve Sıçan İleumlarında NANK Yanıtlarının Kasılma Komponenti Üzerine Etkisi

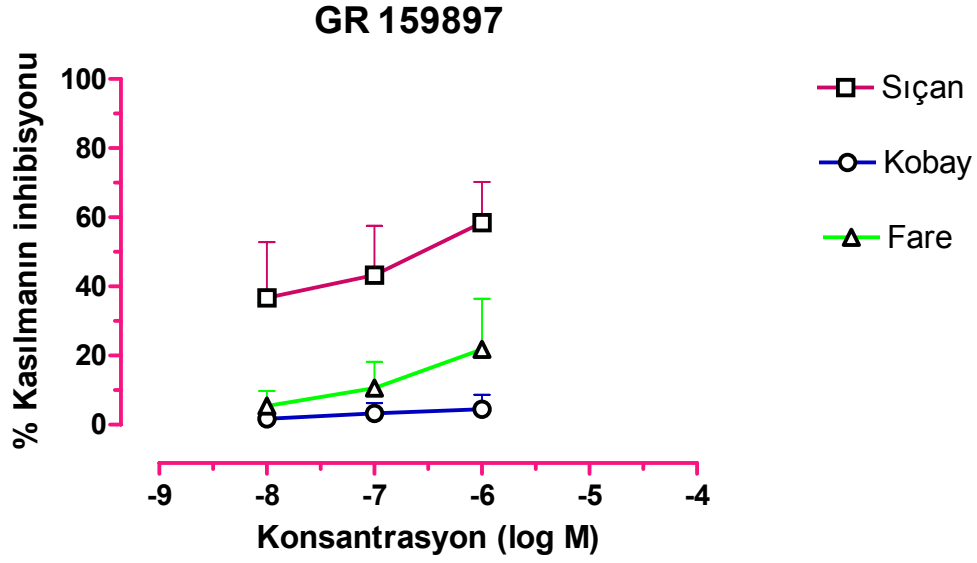
Taşikinin NK1 reseptör antagonisti RP 67580, izole kobay, sıçan ve fare ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı şekilde kısmen azalttı (Resim 2-Resim 4), (Şekil 5); konsantrasyon-yanıt eğrileri birbirinden istatistikel yönden anlamlı farklı değildi ($p>0,05$).



Şekil 5. NK1 reseptör antagonisti RP 67580'nin izole sıçan, kobay ve fare ileumlarında kasılma komponenti üzerine olan etkisi (n=8, dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir).

Taşikinin NK2 Reseptör Antagonisti GR 159897'nin İzole Kobay, Fare ve Sıçan İleumlarında NANK Yanıtları Üzerine Etkisi

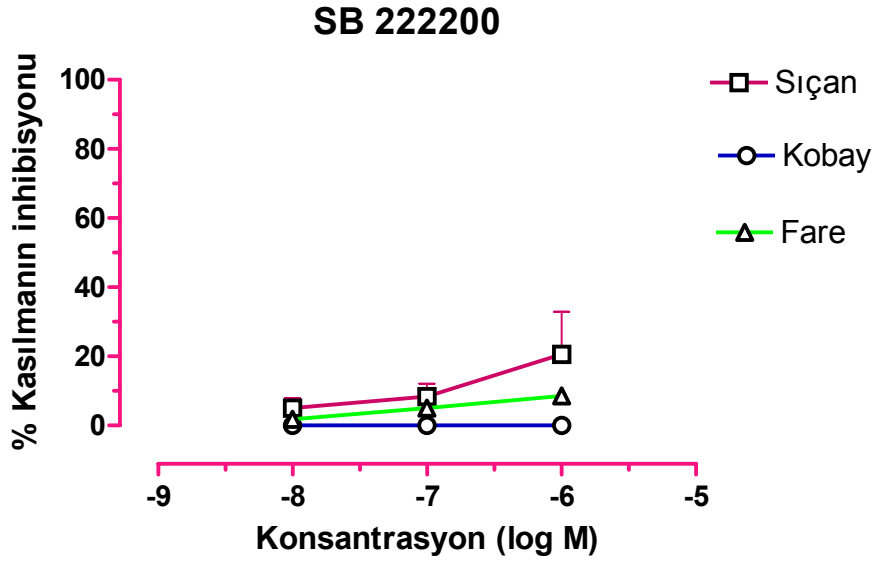
Taşikinin NK2 reseptör antagonisti GR 159897, izole sıçan ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı şekilde kısmen azalttı. İzole fare ileumlarında ise GR 159897'nin NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine doz bağımlı etkisi sıçan ile karşılaştırıldığında daha azdı ($p < 0,05$); ancak kobay ileumunda elde edilenlere oranla, istatistiksel yönden anlamlı olmamakla birlikte ($p > 0,05$), biraz daha fazla idi. İzole kobay ileumlarında ise GR 159897 NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine etkisizdi (Resim 5-Resim 6), (Şekil 6).



Şekil 6. NK2 reseptör antagonisti GR 159897'nin izole kobay, fare ve sıçan ileumlarında kasılma komponenti üzerine olan etkisi (n=8, dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir).

Taşikinin NK3 Reseptör Antagonisti SB 222200'nin İzole Kobay, Fare ve Sıçan İleumlarında NANK Yanıtları Üzerine Etkisi

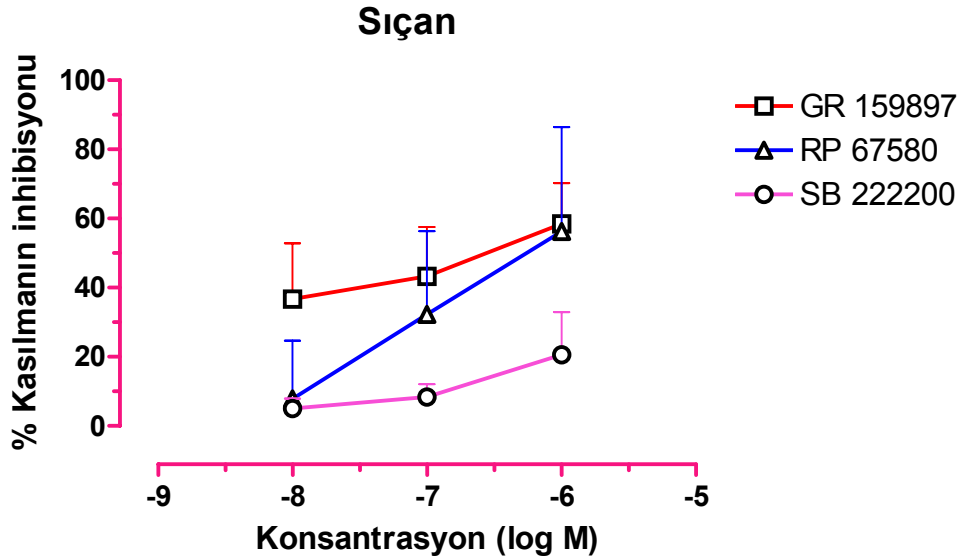
Taşikinin NK3 reseptör antagonisti SB 222200, izole sıçan ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini 10^{-6} M'da minimum derecede azalttı. Ancak 10^{-7} ve 10^{-8} M'da, NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine tamamen etkisizdi. İzole kobay ve fare ileumlarının NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine ise etkisizdi (Resim 7-Resim 8), (Şekil 7). Üç hayvan türünden elde edilen konsantrasyon yanıt eğrileri birbirinden istatistikel yönden anlamlı farklı değildi ($p>0,05$)



Şekil 7. NK3 reseptör antagonisti SB 222200'nin izole kobay, fare ve sıçan ileumlarında kasılma komponenti üzerine olan etkisi (n=8, dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir).

İzole Sıçan İleumlarında NANK Yanıtları Üzerine RP 67580, GR 159897 ve SB 222200'nin Karşılaştırmalı Etkisi

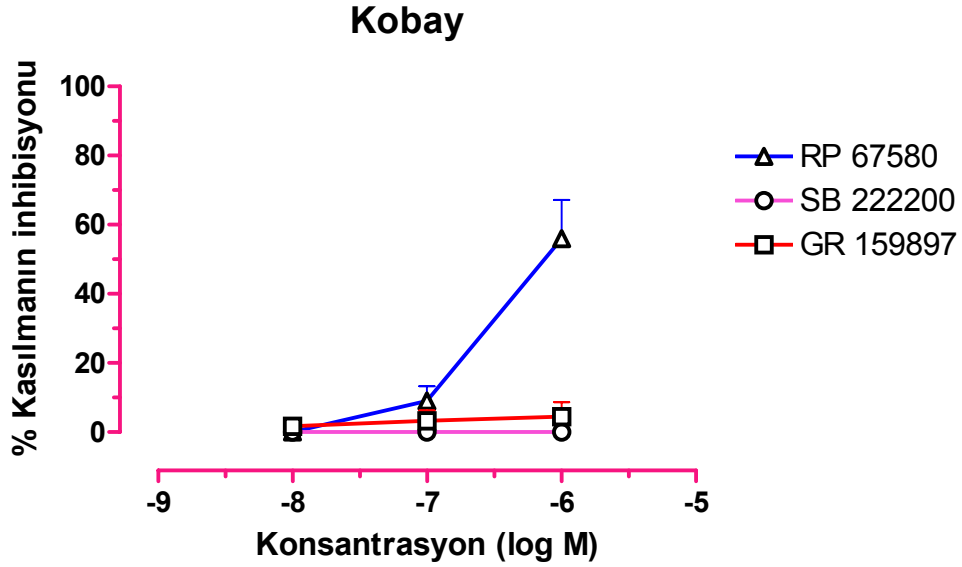
Taşikinin NK1 reseptör antagonisti RP 67580 ve NK2 reseptör antagonisti GR 159897 izole sıçan ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı şekilde kısmen azalttı. Taşikinin NK3 reseptör antagonisti SB 222200, izole sıçan ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini 10^{-6} M'da minimum derecede azalttı. Ancak 10^{-7} ve 10^{-8} M'da, NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine etkisizdi (Şekil 8). GR 159897 ve RP 67580 ile elde edilen konsantrasyon-yanıt grafikleri SB 222200 ile elde edilen grafikten istatistiksel yönden anlamlı derecede farklı idi ($p<0,05$).



Şekil 8. İzole sıçan ileumlarında RP 67580, GR 159897 ve SB 222200'nin kasılma komponentleri üzerine olan etkisi (n=8, dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir).

İzole Kobay İleumlarında NANK Yanıtları Üzerine RP 67580, GR 159897 ve SB 222200'nin Karşılaştırmalı Etkisi

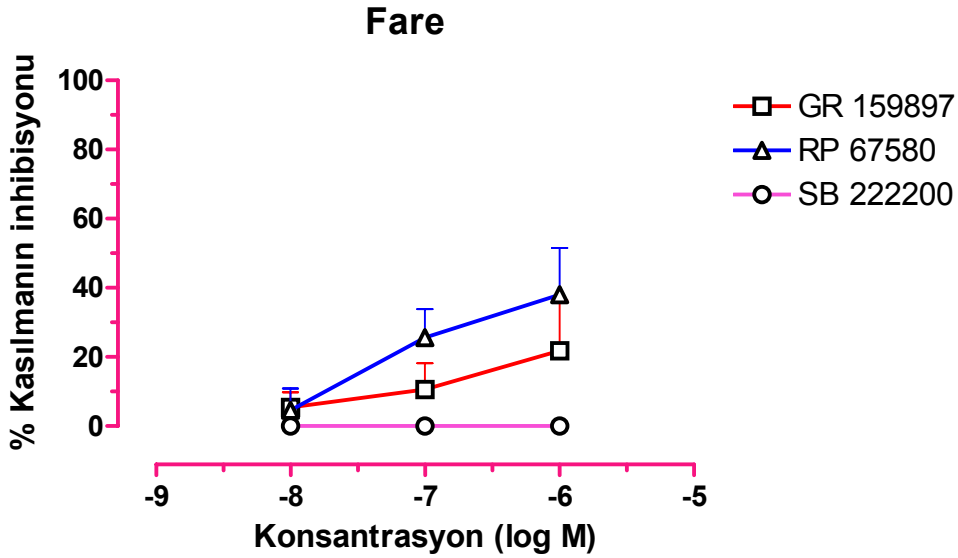
Taşikinin NK1 reseptör antagonisti RP 67580, izole kobay ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı şekilde kısmen azalttı (diğer antagonistlere ait grafiklerden istatistiksel anlamlı farklı, $p < 0,05$). NK2 reseptör antagonisti GR 159897 ve NK3 reseptör antagonisti SB 222200 ise izole kobay ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine etkisizdi (Şekil 9).



Şekil 9. İzole kobay ileumlarında RP 67580, GR 159897 ve SB 222200'nin kasılma komponentleri üzerine olan etkisi (n=8, dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir).

İzole Fare İleumlarında NANK Yanıtları Üzerine RP 67580, GR 159897 ve SB 222200'nin Karşılaştırmalı Etkisi

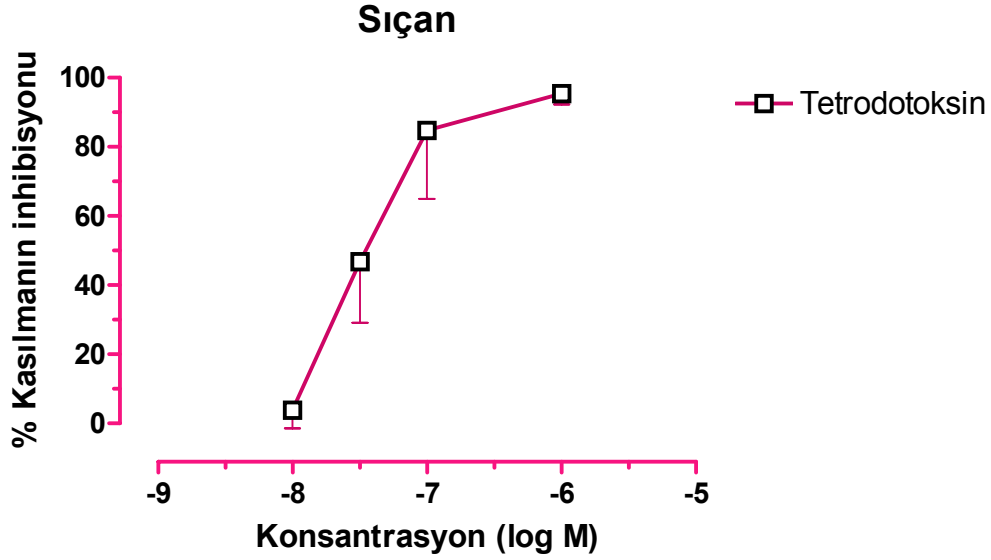
Taşikinin NK1 reseptör antagonisti RP 67580, izole fare ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı şekilde kısmen azalttı. NK2 reseptör antagonisti GR 159897 10^{-6} M'da NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine minimum derecede etkiliydi. NK3 reseptör antagonisti SB 222200 ise izole fare ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine etkisizdi (Şekil 10). GR 159897 ve RP 67580 ile elde edilen konsantrasyon-yanıt grafikleri, SB 222200 ile elde edilenden istatistiksel anlamlı derecede farklı idi ($p<0,05$); ancak birbirlerinden istatistiksel yönden anlamlı farklı değillerdi ($p>0,05$).



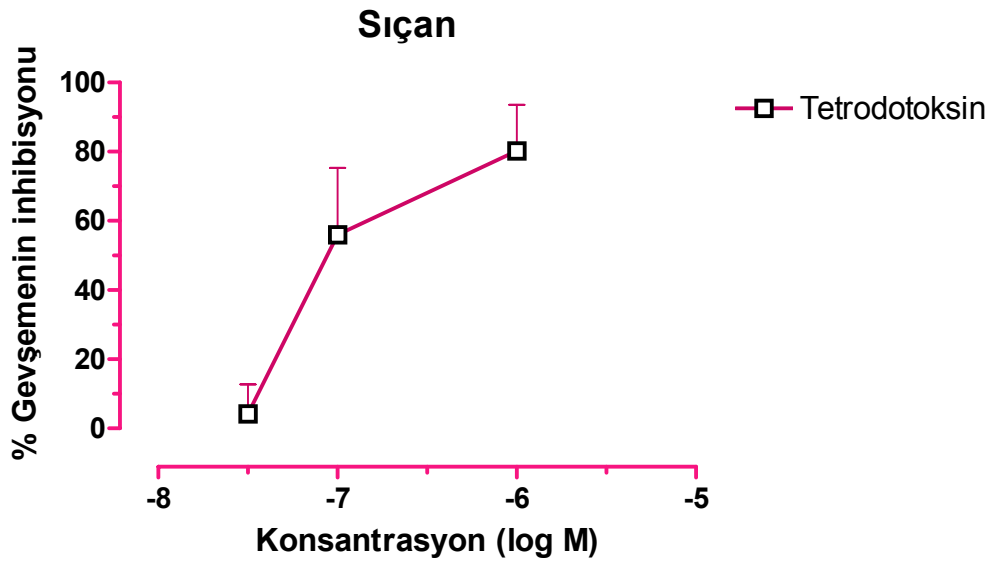
Şekil 10. İzole fare ileumlarında RP 67580, GR 159897 ve SB 222200'nin NANK yanıtları üzerine olan etkisi ($n=8$, dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir).

İzole Sıçan İleumlarında NANK Yanıtları Üzerine Tetrodotoksin'in Etkisi

Nöron blokörü tetrodotoksin izole sıçan ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı şekilde azalttı. 10^{-6} M'da NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini tamamiyle ortadan kaldırdı (Şekil 11). İzole sıçan ileumunda ise 10^{-6} , 10^{-7} ve $3 \cdot 10^{-8}$ M konsantrasyonlarında doz bağımlı bir şekilde NANK yanıtlarının gevşeme komponentlerini azalttı (Şekil 12), (Resim 9).



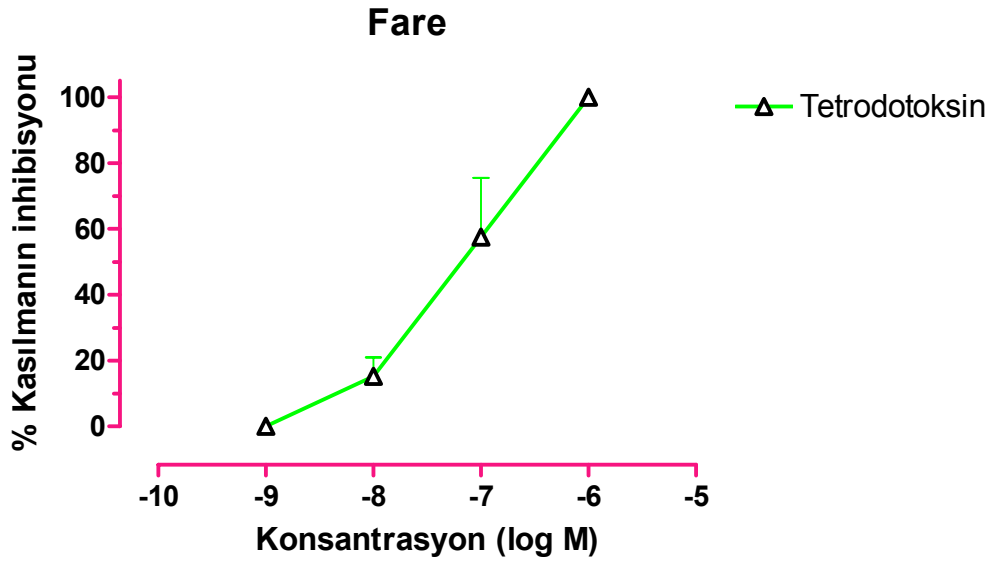
Şekil 11. İzole sıçan ileumlarında tetrodotoksin'in kasılma komponentleri üzerine olan etkisi (n=8, dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir).



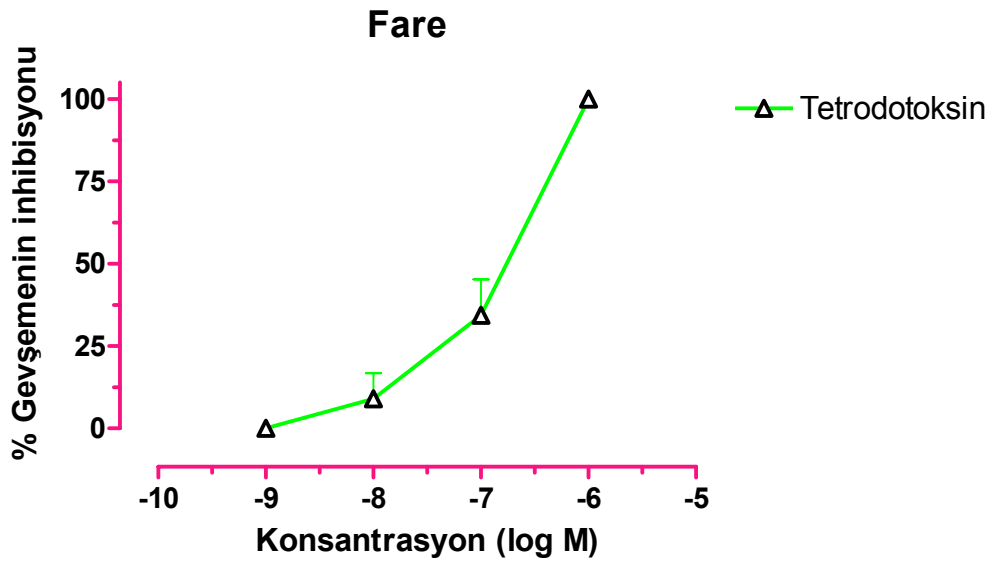
Şekil 12. İzole sıçan ileumlarında tetrodotoksin'in gevşeme komponentleri üzerine olan etkisi (n=8, dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir).

İzole Fare İleumlarında NANK Yanıtları Üzerine Tetrodotoksin'in Etkisi

Nöron blokörü tetrodotoksin izole fare ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı şekilde azalttı 10^{-6} M'da ise NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini tamamıyla ortadan kaldırdı (Şekil 13). İzole fare ileumunda 10^{-6} M konsantrasyonunda NANK yanıtlarının gevşeme komponentlerini ortadan kaldırdı (Şekil 14), (Resim 10).



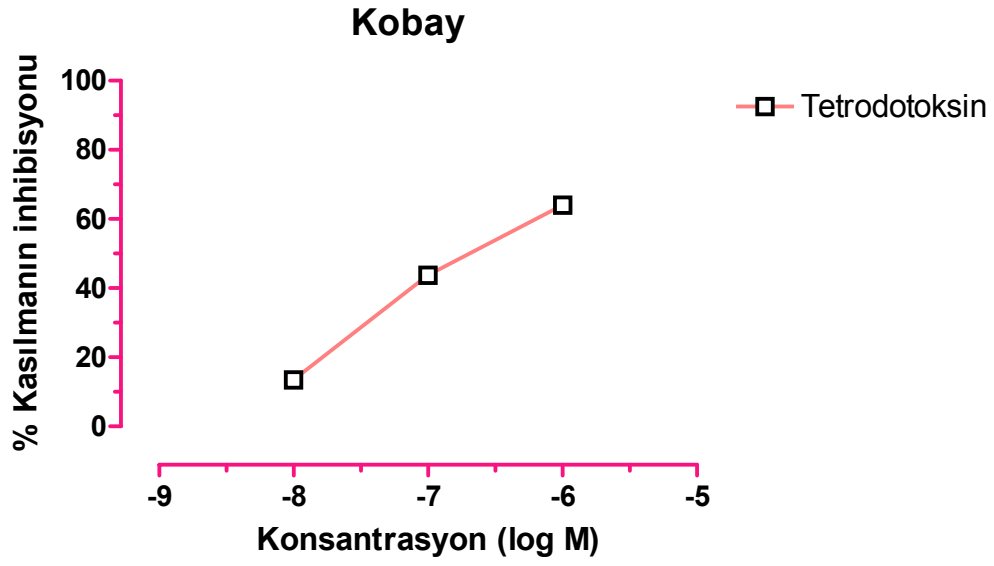
Şekil 13. İzole fare ileumlarında tetrodotoksin'in kasılma komponentleri üzerine olan etkisi (n=8, dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir).



Şekil 14. İzole fare ileumlarında tetrodotoksin'in gevşeme komponentleri üzerine olan etkisi (n=8, dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir).

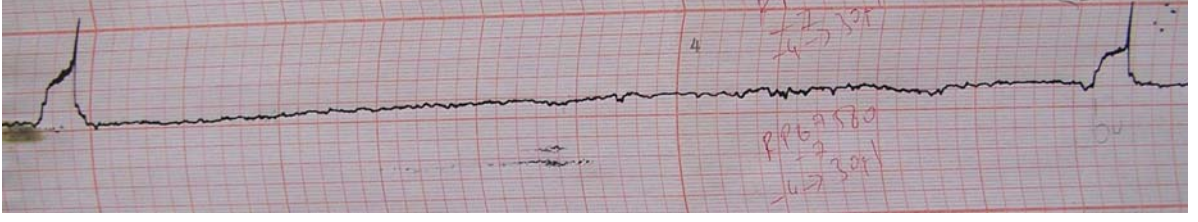
İzole Kobay İleumlarında NANK Yanıtları Üzerine Tetrodotoksin'in Etkisi

Nöron blokörü tetrodotoksin izole kobay ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı şekilde azalttı (Resim 11), (Şekil 13).

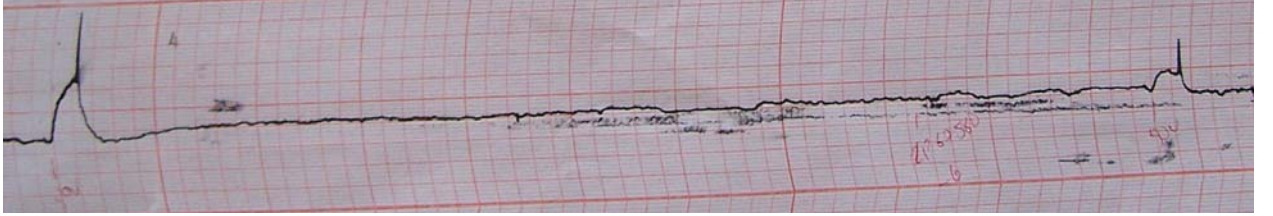


Şekil 15. İzole kobay ileumlarında tetrodotoksin'in kasılma komponentleri üzerine olan etkisi (n=8, dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir).

RP 67580-İzole Kobay İleum



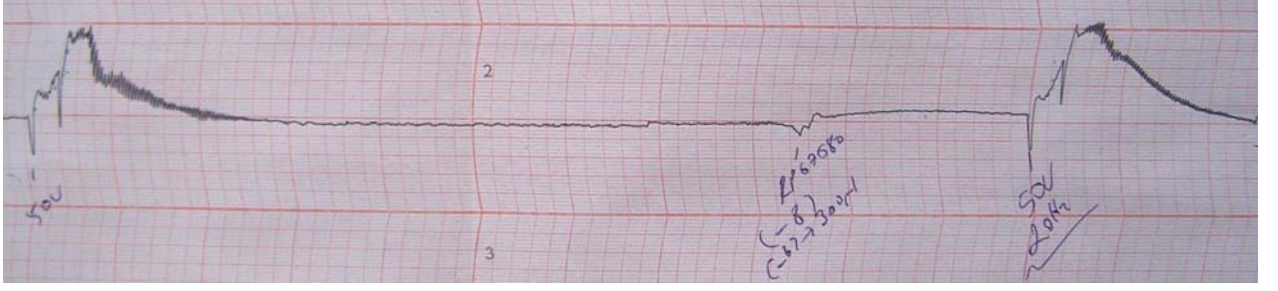
(A)



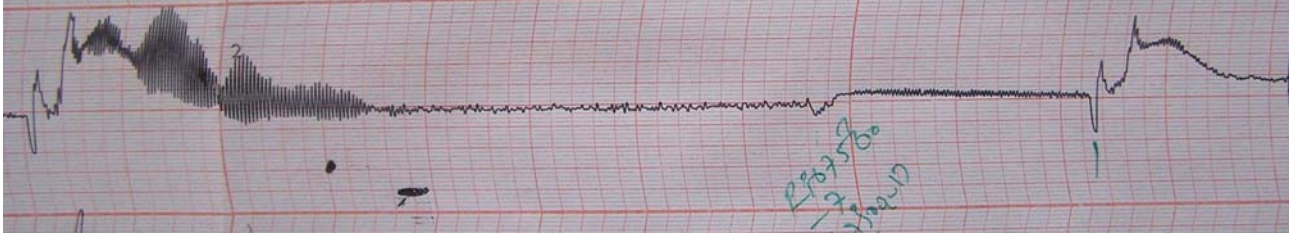
(B)

Resim 2. İzole kobay ileumunda NANK yanıtları ve (A) 10^{-7} M RP 67580, (B) 10^{-6} M RP 67580 uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

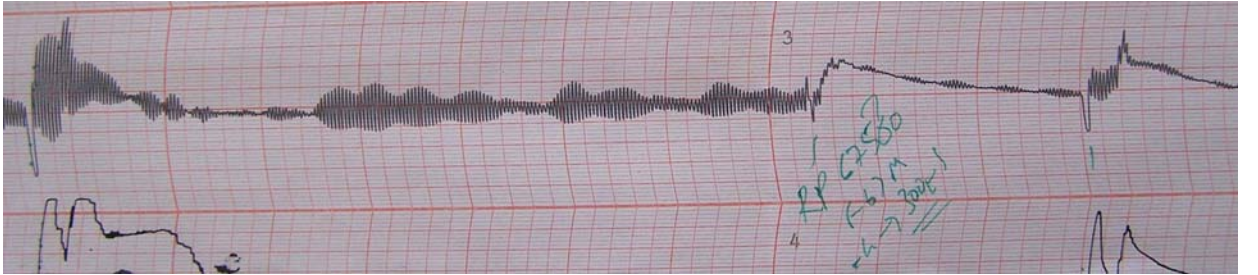
RP 67580-İzole Sıçan İleumu



(A)



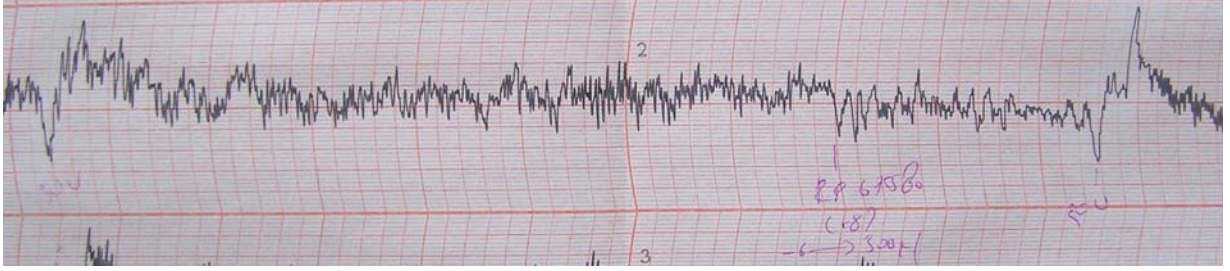
(B)



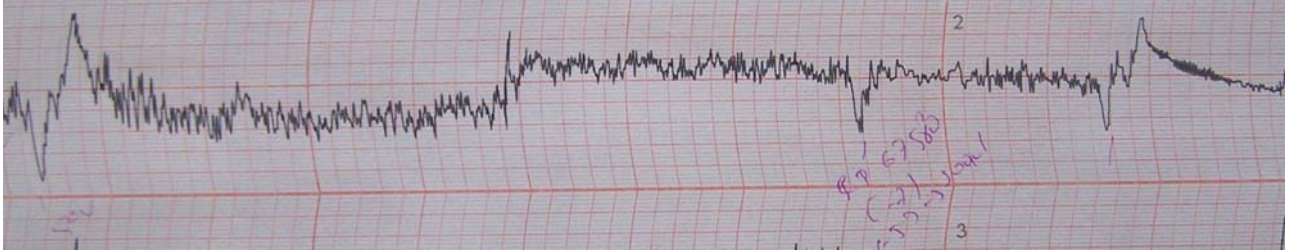
(C)

Resim 3. İzole sıçan ileumunda NANK yanıtları ve (A) 10^{-8} M RP 67580, (B) 10^{-7} M RP 67580, (C) 10^{-6} M RP 67580 uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

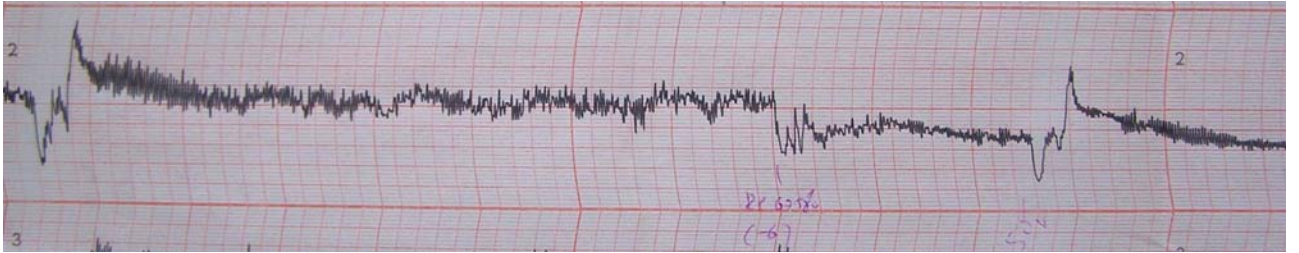
RP 67580-İzole Fare İleum



(A)



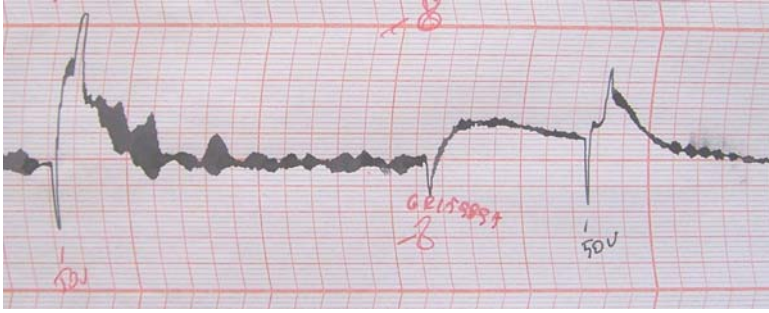
(B)



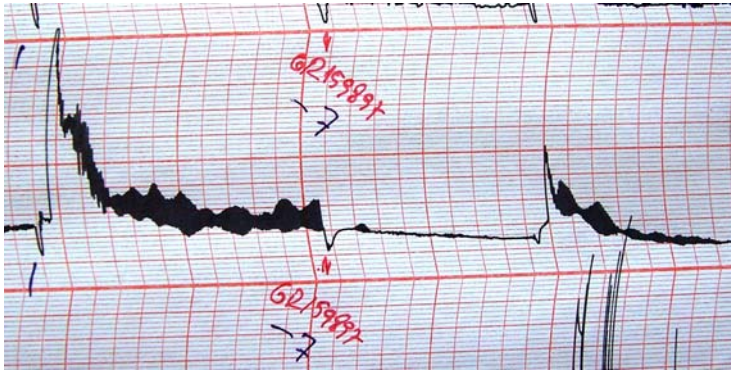
(C)

Resim 4. İzole fare ileumunda NANK yanıtı ve (A) 10^{-8} M RP 67580, (B) 10^{-7} M RP 67580, (C) 10^{-6} M RP 67580 uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

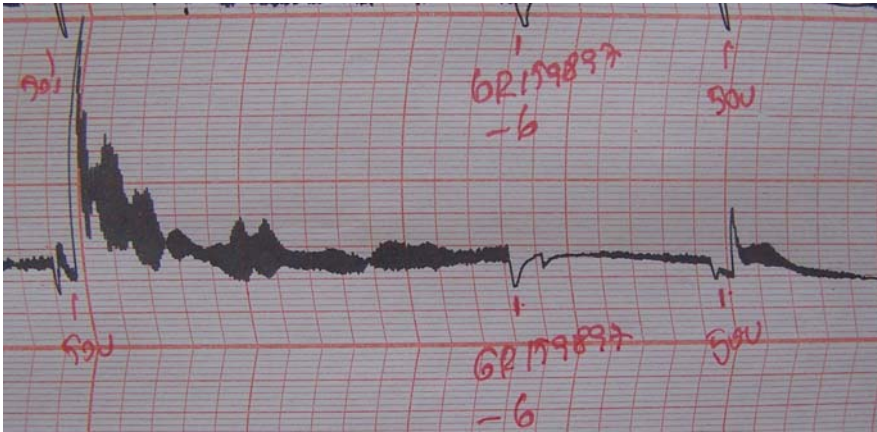
GR 159897-izole Sıçan İleumu



(A)



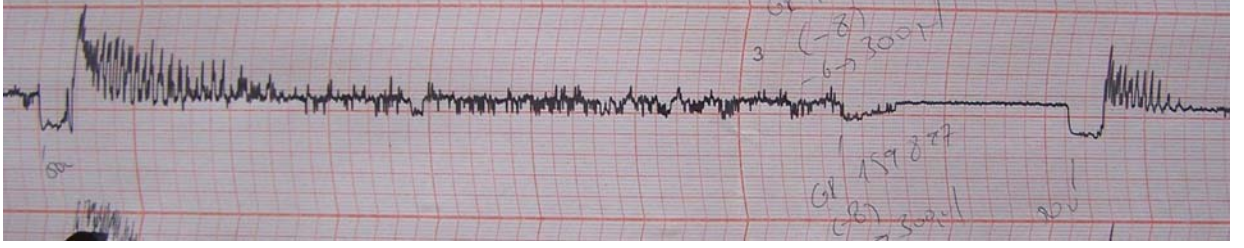
(B)



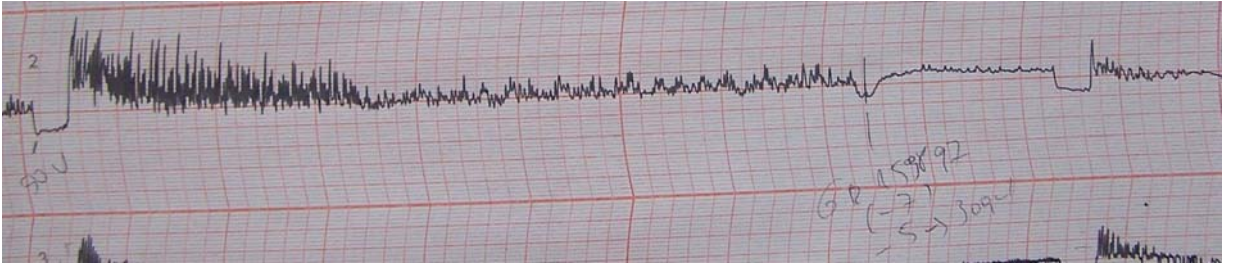
(C)

Resim 5. İzole sıçan ileumunda NANK yanıtı ve (A) 10^{-8} M GR 159897, (B) 10^{-7} M GR 159897, (C) 10^{-6} M GR 159897 uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

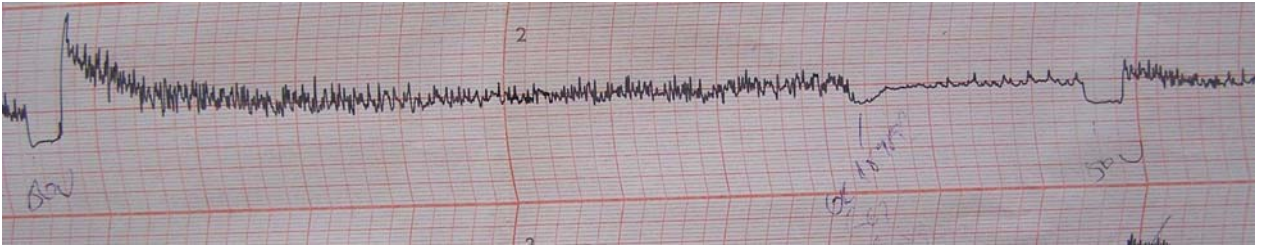
GR 159897-İzole Fare İleum



(A)



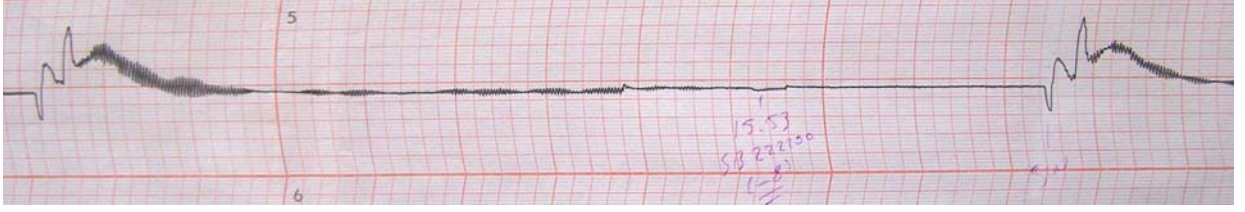
(B)



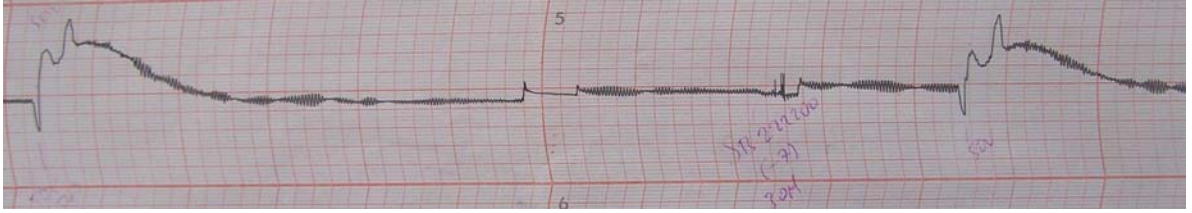
(C)

Resim 6. İzole fare ileumunda NANK yanıtları ve (A) 10^{-8} M GR 159897, (B) 10^{-7} M GR 159897, (C) 10^{-6} M GR 159897 uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

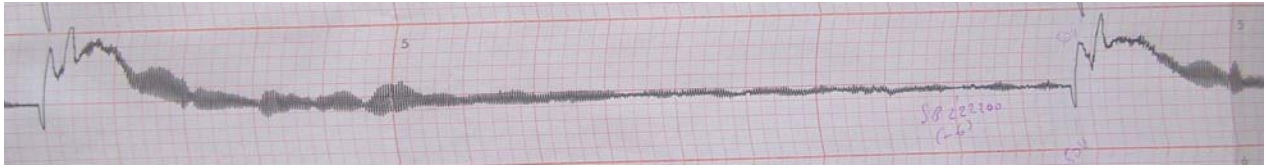
SB 222200-İzole Sıçan İleumu



(A)



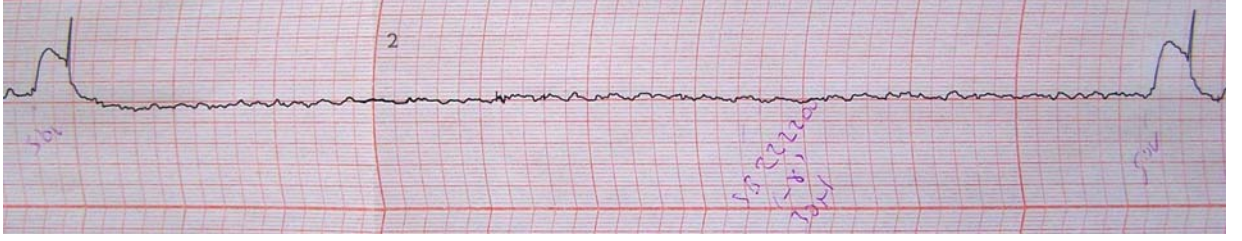
(B)



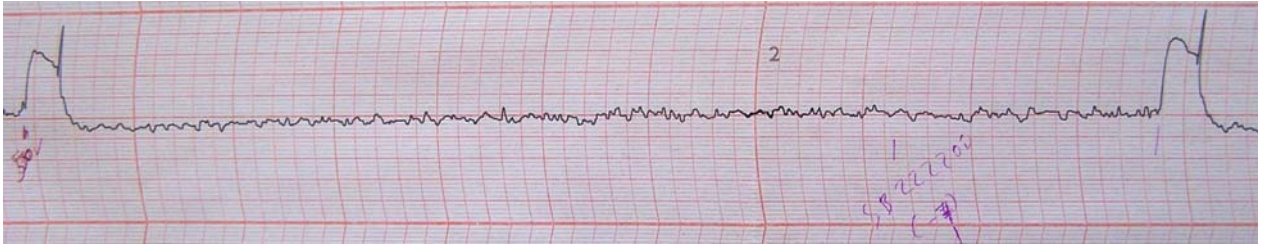
(C)

Resim 7. İzole sıçan ileumunda NANK yanıtları ve (A) 10^{-8} M SB 222200, (B) 10^{-7} M SB 222200, (C) 10^{-6} M SB 222200 uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

SB 222200-İzole Kobay İleumu



(A)



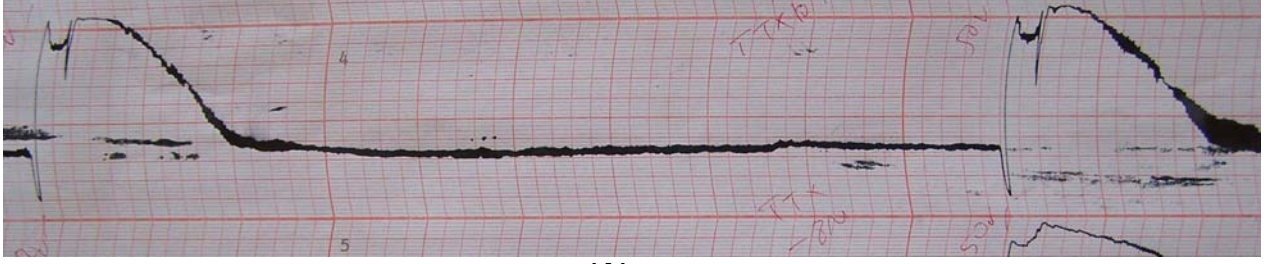
(B)



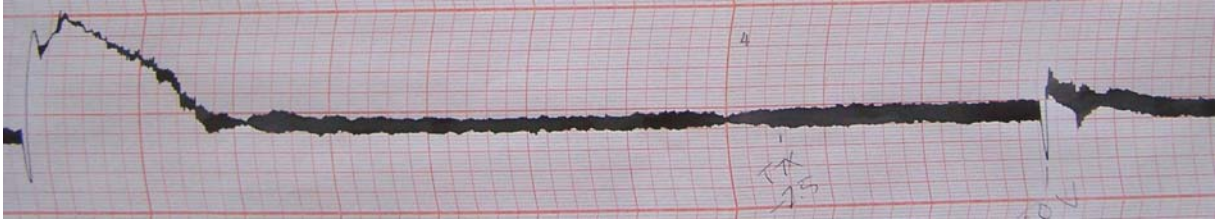
(C)

Resim 8. İzole fare ileumunda NANK yanıtları ve (A) 10^{-8} M SB 222200, (B) 10^{-7} M SB 222200, (C) 10^{-6} M SB 222200 uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

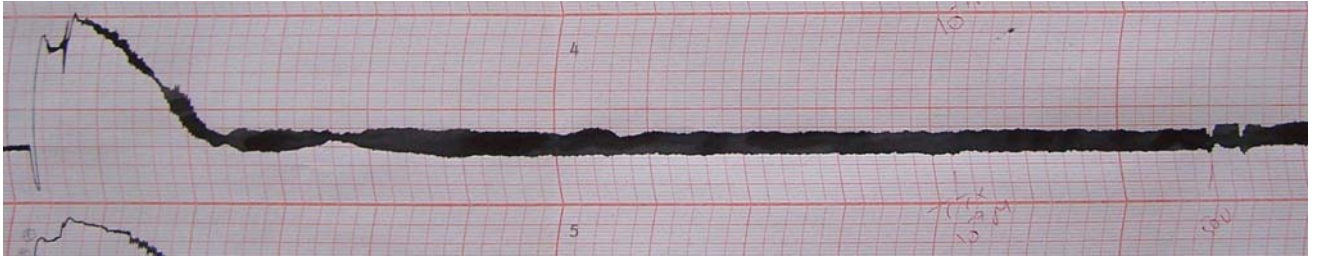
Tetrodotoksin-İzole Sıçan İleumu



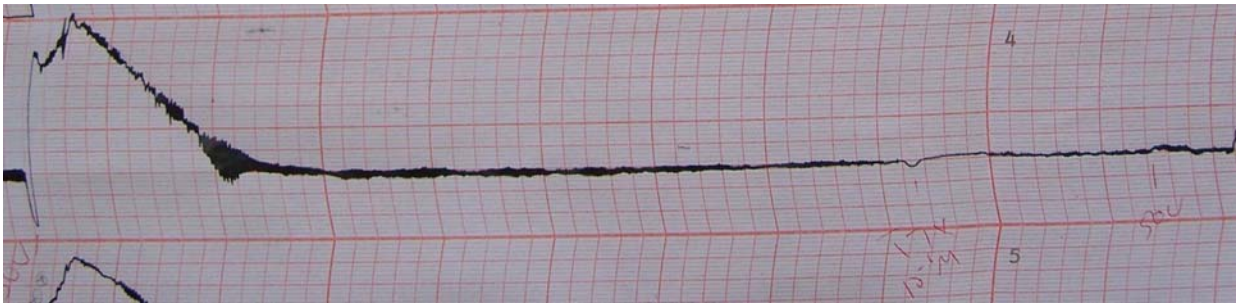
(A)



(B)



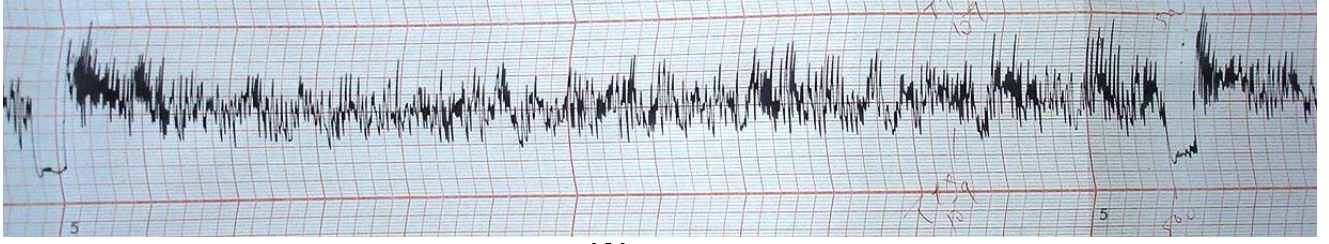
(C)



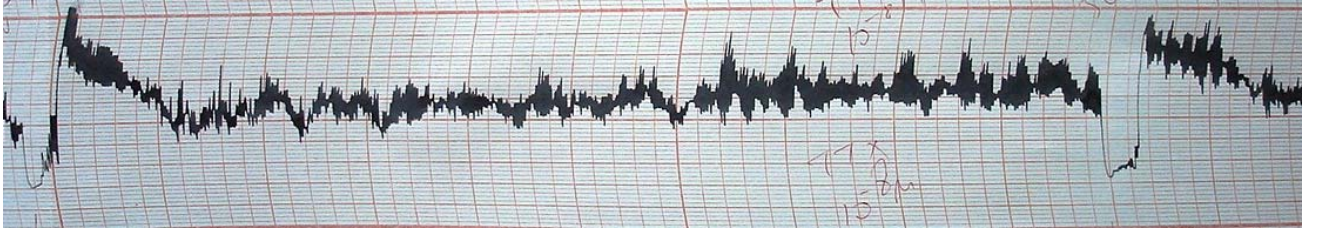
(D)

Resim 9. İzole sıçan ileumunda NANK yanıtları (A) 10^{-8} M tetrodotoksin, (B) $3 \cdot 10^{-8}$ M tetrodotoksin, (C) 10^{-7} M tetrodotoksin, (D) 10^{-6} M tetrodotoksin uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

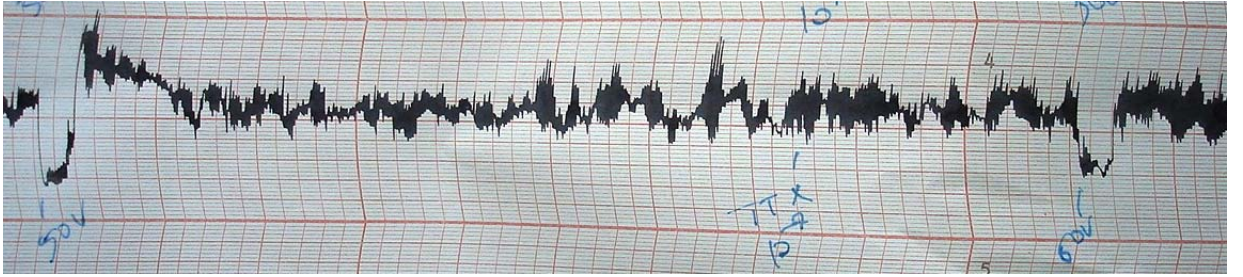
Tetrodotoksin-İzole Fare İleumu



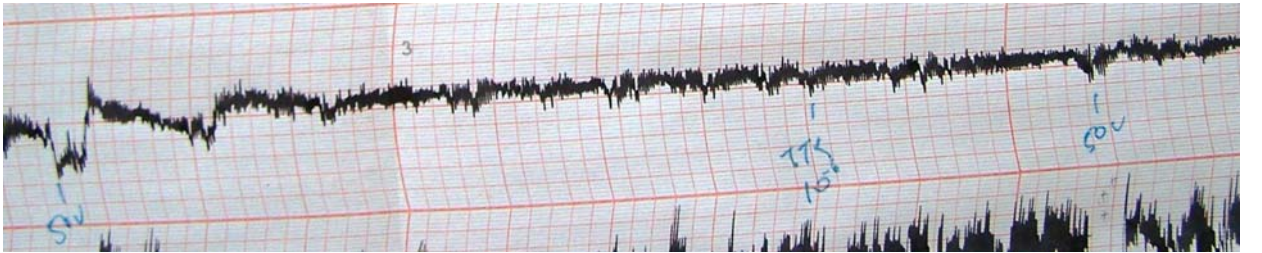
(A)



(B)



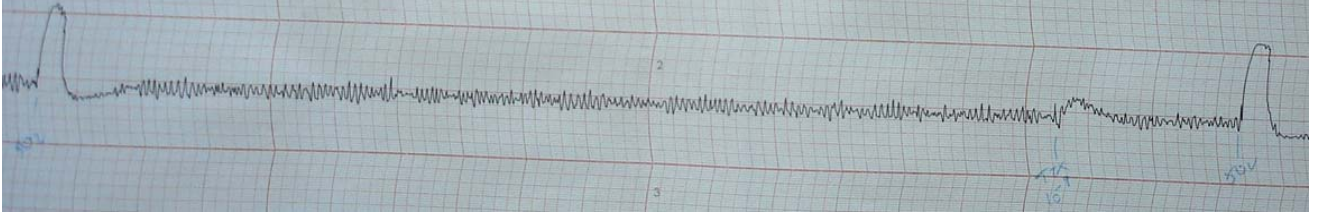
(C)



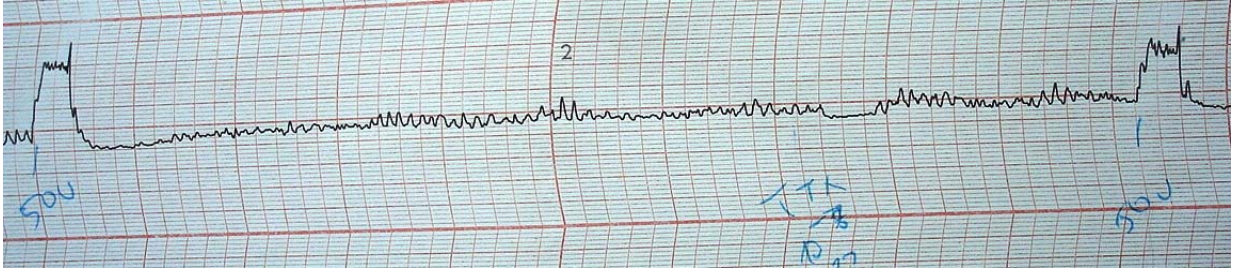
(D)

Resim 10. İzole fare ileumunda NANK yanıtları (A) 10^{-9} M tetrodotoksin, (B) 10^{-8} M tetrodotoksin, (C) 10^{-7} M tetrodotoksin, (D) 10^{-6} M tetrodotoksin uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

Tetrodotoksin-izole Kobay İleumu



(A)



(B)



(C)



(D)

Resim 11. İzole kobay ileumunda NANK yanıtları ve (A) 10^{-9} M tetrodotoksin, (B) 10^{-8} M tetrodotoksin, (C) 10^{-7} M tetrodotoksin, (D) 10^{-6} M tetrodotoksin sonraki NANK yanıtları.

TARTIŞMA

Elektriksel uyarı (stimulus) longitudinal ve sirküler düz kas tabakasında gevşeme ya da kasılmayı indükleyebilir. Bu da ileum NANK transmisyonunun hem inhibitör, hem de eksitatör etki gösterdiğini düşündürmektedir (6-11).

İlaçlara farklı şekilde duyarlı olan çok sayıda NANK mekanizması, kobay kolonunda gevşemeyi düzenler (3). Köpek ileokolonik bileşkesinde çok sayıda NANK inhibitör transmitterleri salınır (4). Kolinerjik, adrenerjik ve NANK innervasyonu olan kobay ileumunun kasılmasında NANK-sisteminin rolü hakkında tartışmalı sonuçlar bildirilmiştir (5). NANK gevşeme ya da kasılmasında farklı transmitterlerin rolü tartışmalıdır (6-11).

Elektriksel alan stimülasyonu ile oluşturulan NANK yanıtlarının tetrodotoksin ile bloke olması bu yanıtların nöronal orijinli olduğunu göstermektedir. NANK komponentlerinin kalıbında, NANK nörotransmitterleri ve NANK nöron mekanizmaları arasında karşılıklı etkileşim olduğundan söz edilebilir (15). Kobay ileumu miyenterik pleksus-düz kas preparatlarında elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu seğirme yanıtları tetrodotoksin ($1\mu\text{M}$) tarafından ortadan kaldırılmıştır (12). Bizim yaptığımız çalışmada, tetrodotoksin 10^{-6}M 'da, izole sıçan ve fare ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma ve gevşeme komponentlerini tamamıyla ortadan kaldırmıştır. İzole kobay ileumlarında ise tetrodotoksin, NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı olarak belirgin bir şekilde azaltmıştır.

Çalışmamızda izole sıçan ve fare ileumunda, kolinerjik ve adrenerjik sistemlerin fentolamin, propranolol ve atropin ile blokajından 15 dakika sonra elektriksel alan stimülasyonu ile elde edilen NANK yanıtı trasesi 3 özelliğe sahipti.

Tipik NANK yanıtı trasesi, elektriksel alan stimülasyonun başlaması ile hemen başlayan ve giderek azalan bir gevşeme, elektriksel uyarı kesilince belirgin bir kasılma ve bu kasılma yanıtının normale dönüşü ile başlayan fazik kasılmalardan oluşmaktaydı. İzole kobay ileumunda NANK yanıtı trasesi sıçan ve fare ileumu NANK yanıtı traselerinden farklı olarak gevşeme komponentini içermemekteydi.

Kolinerjik ve adrenerjik sistemlerin blokajından sonra elektriksel alan stimülasyonun 20 sn uygulanması ile elde edilen NANK yanıtında tonik kasılma komponentinden P maddesi (15, 69) ve ATP (70), gevşeme komponentinden de NO (15, 70) sorumlu tutulmuştur. P maddesinin, NANK sisteminde gastrointestinal motiliteyi kontrol etmede ana kasıcı transmitter olduğu ileri sürülmüş, izole ileumdaki farmakolojik çalışmalar P maddesinin güçlü spazmojenik etkileri olduğunu göstermiştir (13). P maddesi düz kas membranının depolarizasyonuna neden olur. Kobay ileumunda spike frekansını artırır (70).

Maggi ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada izole sıçan ileumu sirküler kas preparatlarında NK1 reseptör selektif antagonisti SR 140333 (0.1 μ M, 60 dakika) elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu kasılma yanıtlarında parsiyel inhibisyon meydana getirmiştir (72). NK1 reseptörü selektif antagonisti SR 140333 ve NK2 reseptörü selektif antagonisti MEN 10,627 birarada ileumda elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu NANK kasılmalarını neredeyse ortadan kaldırmıştır. Maggi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmanın sonuçlarına göre endojen taşıkininlerin majör rolü sıçan ince barsağının sirküler kasında eksitatör NANK transmitteri gibi rol oynamasıdır. Ayrıca güçlü selektif reseptör antagonistler SR 140333 ve MEN 10,627'nin etkileri, elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu NANK kasılmalarında hem NK1 ve hem de NK2 reseptörlerinin endojen taşıkininler tarafından fonksiyonel olarak aktive edildiği sonucunu destekler (72). Çalışmamızda izole sıçan ileumunda NK1 reseptör antagonisti RP 67580, elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini kısmen azaltmıştır (%56,2). Çalışmamız ile Maggi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmanın ortak bulgusu izole sıçan ileumlarında elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini NK1 reseptör antagonistlerinin kısmen azaltmış olmasıdır. Ancak Maggi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma sirküler kas kasılması üzerinedir. Bizim kullandığımız teknik longitudinal kasın kasılmalarını kaydettiğinden, sonuçları yorumlarken bu durum göz önünde tutulmalıdır. Maggi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada izole sıçan

ileumu sirküler kas preparatlarında NK2 reseptör selektif antagonisti MEN 10,627 (0.1 μ M, 60 dakika), elektriksel alan stimülasyonun kasılma yanıtlarında parsiyel inhibisyon meydana getirmiştir. Çalışmamızda da NK2 reseptör antagonisti GR 159897, izole sıçan ileumu longitudinal kas preparatlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini kısmen azaltmıştır (%58,5). Sıçan taşıkinin NK3 reseptörleri spesifik antagonistlere oldukça dirençlidir. NK3 reseptörü spesifik antagonistleri insan doku preparatlarında etkilidir (12). Çalışmamızda NK3 reseptör antagonisti SB 222200'nin izole sıçan ileumu longitudinal kas preparatlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini 10^{-6} M'da minimum decerede azalttığını (%20,6) saptadık.

Ivancheva ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada izole kobay ileumu longitudinal düz kasında P maddesi reseptör blokörü (NK₁ reseptör antagonisti) olan AP 13.2 ACOH, NANK kasılma komponentlerinin hem seğirme hem de tonik kasılmalarını azaltmıştır (70). Kobay ileumunda çoklu inhibitör ve eksitatör mekanizmalar vardır. NO, P maddesi ve ATP gibi transmitterler kasılmanın elektriksel olarak uyarılmış NANK sinir aracılı değişikliklerinde rol alır. Gevşemenin NO aracılığı ile olduğu görülmektedir. Seğirme ve tonik kasılmalar P maddesi ve ATP bağımlıdır. İnhibitör pürinerjik ve nitreerjik mekanizmalar gevşeme ve kasılmayı düzenlerler ve NANK inhibitör ve eksitatör sinir yolları arasında karşılıklı etkileşmeye yol açar (70). Çalışmamızda izole kobay ileumunda NK1 reseptör antagonisti RP 67580, elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini kısmen azaltmıştır (%56). Çalışmamız, Ivancheva ve arkadaşları tarafından bildirilen NK1 reseptör antagonistlerinin NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini azalttığı bulgusunu desteklemektedir. Çalışmamızda kobay izole ileum longitudinal kas preparatlarında NK2 reseptör antagonisti GR 159897'nin elektriksel alan stimülasyonu tarafından oluşturulan NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine etkisiz olduğunu bulduk (kasılma komponentlerinde %4,5 oranında azalma gözlenmiştir). Kobay barsağındaki çalışmalar NK3 reseptör immunoreaktivitesini intrinsek birincil duyusal nöronlara lokalize etmiştir (73-75). Holzer ve arkadaşları izole perfüze kobay ince barsak segmentine senktid eklendiğinde peristaltizm üzerine kolaylaştırıcı bir etki rapor etmişlerdir (76). NK3 reseptör antagonisti SR 142801'in, yüksek konsantrasyonlarda (0.3-3 μ M), kobay ileumu miyenterik pleksus longitudinal kas preparatlarında bazal elektriksel seğirme yanıtları azalttığı ve yine aynı dokuda nikotinin neden olduğu kasılmaları da önlediği için, spesifik olmayan etkilere de sahip olduğu bildirilmiştir (12). NK3 reseptör

antagonistleri SR 142801 ve SR 142806'nin spesifik olmayan etkileri, bileşimin verapamile-duyarlı kalsiyum kanalları ya da opioid reseptörleri ile ilişkisine bağlı olabilir (12). Bizim yaptığımız çalışmada ise NK3 reseptör antagonisti SB 222200, izole kobay ileumu longitudinal kas preparatlarında elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine etkisizdi.

Saban ve arkadaşları izole fare ileumunda P maddesinin düşük dozlarda kasılmaları indüklemeye NKA'dan daha güçlü olduğunu, NK1 reseptör antagonisti CP-99994'ün, P maddesine olan yanıtları belirgin olarak bloke ettiğini saptamışlardır (30). İzole fare ileumundan elde edilen sonuçlar, fare ileumunda eksojen olarak uygulanan taşıkininlere yanıtı hem NK1 hem de NK2 reseptörlerinin düzenlediğini göstermekle birlikte atropin ve guanetidin varlığında sinir stimülasyonu ile uyarılan yanıtların başlıca NK1 reseptörleri ile düzenlediğini ve NK1 reseptörünün farede eksitatör NANK transmisyonunda görev alan primer taşıkinin reseptörü olduğunu göstermektedir (30). Saban ve arkadaşları NK1 reseptörlerinin eksitatör NANK'a etkili primer taşıkinin reseptörü olduğunu ileri sürüyorlar (30), Lecci ve arkadaşları hem NK1 hem de NK2 reseptörlerinin eksitatör NANK'a katıldığını öngörmektedirler (77). Saban ve arkadaşlarının çalışmasında fare ileal segmentleri yatay olarak asıldıklarından elde edilen kasılma ve gevşeme yanıtları sirküler kasa aittir. Çalışmamızda longitudinal kasa ait yanıtların alındığı göz önüne alınarak sonuçlar karşılaştırılırken bu noktaya dikkat edilmelidir. De Schepper ve arkadaşlarının izole fare ileumu sirküler kasında yapmış olduğu bir çalışmada ise NK1 reseptör antagonisti RP 67580 elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu NANK kasılmalarını belirgin olarak inhibe ettiği (ancak tamamen değil), NK1 reseptör antagonisti RP 67580 (1 μ M)'nin selektif NK1 reseptör agonisti septid'in oluşturduğu kasılmaları önlediği saptanmıştır (33). Önceki deneylerde değerlendirilen NK1 antagonistleri MEN 11467 (1 μ M) ve L 733060 (1 μ M) septid ile uyarılan kasılmaları bloke etmede belirgin başarısızlığa uğramıştır. Bu durumdan, bu antagonistler arasındaki NK1 reseptör affinitesindeki tür-bağımlı farklılıklar sorumlu olabilir. Sıçan ve kobay ince barsağından elde edilen bulgulara benzer olarak fare ileumunda taşıkinin NK1 ve NK2 reseptörlerinin NANK eksitatör mediyatörlere yanıt veren başlıca reseptörler olduğu sonucu çıkarılabilir. Aynı zamanda fare barsağının bu bölümünde nitreerjik miyenterik nöronlarda NK1 reseptör varlığı saptanmıştır (33). De Schepper ve arkadaşları elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu kasılmalarda taşıkinin reseptör antagonistlerinin etkilerini incelediklerinde NK1

reseptörlerinin önemli etkisi olduğunu saptamışlardır. De Schepper ve arkadaşlarının bulguları da sirküler kas tabakasının kasılma ve gevşeme yanıtına aittir. Çalışmamızda elde ettiğimiz yanıtlar longitudinal kasa ait yanıtlar olduğundan bulgularımızı söz konusu çalışmaların bulguları ile karşılaştırırken bu durum göz ardı edilmemelidir. Hatta bizim longitudinal kasa ait elde ettiğimiz bulgular, diğer çalışmalarda sirküler kasa ait elde edilmiş bulguların tamamlayıcısı olarak da ele alınabilir. Yani özet olarak fare ileumunda gerek sirküler gerek longitudinal kas kasılma yanıtlarını düzenleyen NANK sisteminde NK1 reseptörlerinin önemli rol oynadığını söyleyebiliriz. Saban ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada izole fare ileum sirküler kas preparatlarında NK2 reseptör antagonisti SR-48968, NKA yanıtlarını belirgin olarak bloke etmiştir. De Schepper ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise izole fare ileumu sirküler kasında NK2 reseptör antagonisti nepadutant ve NK3 reseptör antagonisti SR 142801 NANK kasılmalarını kendiliğinden etkilemez fakat elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu NANK yanıtlarının kasılmalarını azaltan RP 67580 ile birlikte NANK kasılmalarının inhibisyonunu artırır. Nepadutant ve SR 142801'in kombine varlığında çalışılan tüm P maddesi konsantrasyonları kasılmaları azaltmakta yeterliydi. Ancak her bir antagonistin tek başına belirgin etkisi yoktu. Bu demek oluyor ki bir taraftan nöronal ve musküler NK1 reseptörlerinin blokajı veya diğer taraftan musküler NK2 reseptörlerinin blokajı ve beraberinde nöronal NK3 reseptörlerinin inhibisyonu taşıkinerjik kasılmada etkili azalmaya neden olmaktadır. P maddesinin neden olduğu kasılmalar nepadutant tarafından etkilenmezler (33). NK2 reseptör antagonisti nepadutant (1µM) başarılı bir şekilde β-A-NKA'nın (1nM-100nM) oluşturduğu kasılmaları azaltır (33). NOS inhibisyonu tetrodotoksin eklenmesine bağlı olarak azalan kasılmaları artırır. Bu da NK2 reseptörleri ve NANK nitreerjik nöronları arasında etkileşim olduğunu destekler. Çalışmamızda izole fare ileumu longitudinal kas preparatlarında NK2 reseptör antagonisti GR 159897, elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini 10⁻⁶M'da minimum derecede (%21,8) azaltmıştır. De Schepper ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada izole fare ileumu sirküler kasında NK3 reseptör antagonisti SR 142801'in, NANK kasılmalarını kendiliğinden etkilemediği, ancak NANK kasılmalarını azaltan NK1 antagonisti RP 67580'nin etkisine yardımcı olduğu saptanmıştır (33). Çalışmamızda da benzer şekilde NK3 reseptör antagonisti SB 222200 izole fare

ileumu longitudinal kasında elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine etkisiz bulunmuştur.

Taşikinin antagonistlerinin hayvan türlerine bağlı olarak affiniteleri açısından farklılık olabilir. Örneğin, MEN 10376'nın affinitesi, tavşan, kobay, sığır ve insanlardan hazırlanan preparatlarda, L-659877'ye göre daha fazladır. Bunun tersi hamster ve sıçan preparatlarında görülür (28). Siklik peptid MDL 29,913 (43), sıçan ve hamster preparatlarında yüksek affiniteye; köpek, tavşan, kobay ve insan (2 μ M'da inaktif) preparatlarında düşük affiniteye sahiptir (28, 43, 44). Bunun dışında değişik memeli dokularında NK2 reseptörlerinin, NK-2A (klasik olmayan) ve NK-2B (klasik) olmak üzere en az 2 tane alt tipi değişik türlerde tanımlanmıştır (51). Tavşan, kobay, inek ve insan düz kasında NK-2A formu eksprese ediliyorken, sıçan ve hamster düz kasında NK-2B formu eksprese edilmiştir (51). Çalışmamızda kullandığımız NK2 antagonisti GR 159897, NK2 reseptörlerinin NK-2B formu üzerine etkili olabilir. Bu da NK2 reseptör antagonisti GR 159897'nin izole kobay ileumunda NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine etkisiz olmasının olası nedenlerinden birisi olabilir. Ayrıca hayvan türleri arasındaki farklılık, kas tipi (sirküler, longitudinal) ya da organ tipi bu farklılıklar için açıklayıcı olabilir (30).

El-Mahmoudy ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada izole hamster ileumu sirküler kas preparatlarında P maddesi antagonisti L-732,138 (1 μ M) eksitator bileşke potansiyelini (%82,5) ve kasılmayı (%68,9) inhibe etmiş, NKA (NK2) antagonisti SR 48968 (1 μ M) ise depolarizasyonu (%17,2) ve kasılmayı (%31,4) zayıf bir şekilde bloke edebilmiştir (71). El-Mahmoudy ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmanın sonuçları izole hamster ileumu sirküler kasında endojen taşikinlerin ana NANK eksitator nörotransmitter olduğunu ve davranışlarının hem NK1 hem de NK2 reseptörleri tarafından düzenlendiğini destekler. Söz konusu çalışmanın bulguları P maddesinin (başlıca) ve NKA (kısmen)'nin hamster ileumunun eksitator bileşke potansiyeli ve kasılması altında yatan NANK eksitator olduğuna işaret etmektedir (71).

Saban ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma aynı zamanda insan ve diğer türlerde olduğu gibi fare ileumunda elektriksel alan stimülasyonunun neden olduğu NANK gevşeme komponentlerinin nitrejik olarak düzenlendiğine işaret etmektedir (30). Vahşi tip fare ve NK1-R knockout fare arasında tetrodotoksin-duyarlı gevşeme yanıtlarının yoğunluğu arasında fark bulunmamıştır. Vahşi tip farede NK2 reseptör antagonisti SR 48968 ve NK3 reseptör antagonisti SR 142801 etkisizken, NK1

reseptör antagonisti CP-99994 elektriksel alan stimülasyonu tarafından uyarılan gevşemeyi artırmıştır; bunu da büyük olasılıkla elektriksel alan stimülasyonuna olan yanıtın kasılma komponentini azaltarak yapmaktadır. Saban ve arkadaşları izole fare ileumunda elde ettikleri eksitatör NANK yanıtının NK1 reseptörler tarafından oluşturulduğunu, gevşeme yanıtında ise taşıkininlerin rol oynamayıp bu etkinin nitrejik olduğunu saptamışlardır (30). Çalışmamızda NK1 reseptör antagonisti RP 67580, NK2 reseptör antagonisti GR 159897 ve NK3 reseptör antagonisti SB 222200'nin izole sıçan, kobay ve fare ileumlarında NANK yanıtlarının gevşeme komponentleri üzerine belirgin bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Söz konusu çalışmalarda gevşeme yanıtlarının ileum sirküler kasına ait olduğu, bizim yanıtlarımızın ise longitudinal kastan alındığı göz önünde bulundurulmalıdır.

Taşıkinin reseptör antagonistlerinin farklı hayvan türlerinde NANK yanıtlarına olan farklı etkileri, taşıkinin reseptörlerinin hayvan türlerinde ileumun farklı bölgelerinde lokalize olmasından kaynaklanabilir. Kobayda taşıkinin reseptörleri ile ilgili lokalizasyon çalışmaları NK1 reseptörlerinin en çok miyenterik/kolinerjik sinirlerde ve Cajal'ın interstisyel hücrelerinde ve az miktarda da düz kas hücrelerinde yerleştiğini göstermektedir. Buna karşılık NK2 reseptörleri büyük oranda düz kas hücrelerinde sınırlanmıştır. Sıçan ve kobay barsağındaki immunohistokimyasal çalışmalar NK3 reseptörünün taşıkinerjik ve kolinerjik nöronlar başta olmak üzere, düz kas hücreleri ve Cajal'ın interstisyel hücrelerinde yerleştiğini göstermiştir (78-80). De Schepper ve arkadaşlarının fare ileumunun sirküler kasındaki fonksiyonel çalışmaları NK1 reseptörlerinin kolinerjik nöronlara ek olarak nitrejik miyenterik nöronlarda ve düz kas hücrelerinde (33), NK2 reseptörlerinin düz kas hücreleri ve nitrejik nöronlarda, NK3 reseptörlerinin de nöronlarda varlığını saptamışlardır (33). Ancak düz kas yüzeyinde NK3 reseptörlerini lokalize etmede fonksiyonel olarak başarısız olmuşlardır (33). İmmunohistokimyanın kullanılmasıyla saptanan veriler, De Schepper ve arkadaşlarının fonksiyonel gözlemleri ile kısmen aynı iken kısmen de farklıydı (33). Vannucchi ve arkadaşları NK1 ve NK3 reseptörlerinin ileumda dağılımlarının sıçan, kobay ve farede benzer olduğunu saptamıştır (78); NK1 reseptörleri Cajal'ın interstisyel hücrelerinde, submuköz ve miyenterik pleksusun nöronlarında bulunuyorken, düz kas hücrelerinde izlenmemiştir (78). NK3 reseptörleri, hem longitudinal ve sirküler kas tabakasının düz kas hücrelerinde, hem de her iki pleksusun nöronlarında saptanmıştır. NK2 reseptörleri, tüm türlerde düz kas hücrelerinde bulunmuştur. Ancak kobay ve sıçan ile karşılaştırıldığında farede,

sinir sonlanımlarında bulunamamıştır. Farmakolojik ve immunohistokimyasal veriler arasındaki belirgin bir farklılık da, ileal düz kas hücrelerindeki NK1 reseptörlerinin fonksiyonel varlığı olup, bu durum immunohistokimyasal olarak saptanamamıştır. Bu, reseptör azlığına ya da farklı ligand affinitesi gösteren, farklı biçimlerdeki NK1 reseptör varlığına bağlı olabilir (78).

Özetlemek gerekirse çalışmamızda sıçan, fare ve kobay ileumlarında elektriksel alan stimülasyonu ile edilen NANK yanıtlarının kasılma komponentlerine, NK1 reseptörleri 3 hayvan türünde de katkıda bulunuyorken, NK2 reseptörleri sadece sıçanda etkili, NK3 reseptörleri ise 3 hayvan türünde de etkisiz gibi görünmektedir. Taşikinin antagonistlerinin farklı hayvan türlerinde farklı etkiler göstermesinin olası nedenleri, çalışmalarda farklı elektriksel alan stimülasyonu değerleri kullanılması, hayvan türleri arasındaki farklılık, kas tipi (sirküler, longitudinal) ya da organ tipi, taşikinin reseptörlerinin hayvan türlerinde ileumun farklı bölgelerinde lokalize olması, antagonistler arasındaki reseptör affinitesindeki tür-bağımlı farklılıklar ve farklı antagonistlerin NK1 ve NK2 reseptörlerinin farklı alt tipleri üzerine etkili olması olabilir.

SONUÇ

NK₁ reseptör antagonisti RP 67580 10⁻⁸-10⁻⁶M konsantrasyon aralığında sıçan, kobay ve fare izole ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı bir şekilde kısmen azalttı.

Taşikinin NK₂ reseptör antagonisti GR 159897 10⁻⁸-10⁻⁶M konsantrasyon aralığında izole sıçan ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı şekilde kısmen azalttı. İzole fare ileumlarında ise GR 159897'nin NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine doz bağımlı etkisi, sıçan ile karşılaştırıldığında daha azdı. İzole kobay ileumlarında ise GR 159897 NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine etkisizdi.

Taşikinin NK₃ reseptör antagonisti SB 222200 10⁻⁸-10⁻⁶M konsantrasyon aralığında izole sıçan ileumlarında NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini 10⁻⁶M'da minimum derecede azalttı. Ancak 10⁻⁷ ve 10⁻⁸M'da, NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine tamamen etkisizdi. İzole kobay ve fare ileumlarının NANK yanıtlarının kasılma komponentleri üzerine ise etkisizdi.

Nöron blokörü tetrodotoksin, izole sıçan ileumu longitudinal kasında 10⁻⁸-10⁻⁶M konsantrasyonlarında, izole fare ileumu longitudinal kasında 10⁻⁹-10⁻⁶M konsantrasyonlarında doz bağımlı bir şekilde NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini tamamen ortadan kaldırdı; izole kobay ileumu longitudinal kasında ise 10⁻⁸-10⁻⁶M konsantrasyonlarında doz bağımlı bir şekilde NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini azalttı. İzole fare ileumunda ise 10⁻⁶M konsantrasyonunda NANK yanıtlarının gevşeme komponentlerini ortadan kaldırdı; izole sıçan ileumunda

ise 10^{-6} - 3.10^{-8} M konsantrasyonlarında doz bağımlı bir şekilde NANK yanıtlarının gevşeme komponentlerini azalttı.

Bu sonuçlara göre sıçan, fare ve kobay ileumlarında elektriksel alan stimülasyonu ile elde edilen NANK yanıtları kasılma komponentlerine;

- NK1 reseptörleri 3 hayvan türünde de katkıda bulunuyorken
- NK2 reseptörleri sadece sıçanda katkıda bulunuyor gibi görünmektedir.
- NK3 reseptörleri ise 3 hayvan türünde de etkisiz gibi görünmektedir.

Ayrıca, bir nöron blokörü olan tetrodotoksin sıçan ve farede NANK yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı bir şekilde ortadan kaldırdığından, kobayda ise azalttığından bu yanıtların büyük oranda nöronal kökenli olduğu söylenebilir.

Bu sonuçlara bakılarak taşıkininlerin NANK sistemindeki rolleri ile ilgili olarak daha ileri bilgiler edinmek amacıyla farklı taşıkinin reseptör antagonistleri aynı ya da farklı hayvan türlerinde ileumun farklı bölgelerinden alınan dokuların değişik tekniklerle asılması ve farklı elektriksel alan stimülasyonu değerleri kullanılmasıyla denenebilir.

ÖZET

FARE, SIÇAN VE KOBAY İLEUMLARININ NON-ADRENERJİK NON-KOLİNERJİK YANITLARINDA TAŞİKİNİNLERİN ROLÜ

Çalışmamızda elektriksel alan stimülasyonu ile elde ettiğimiz izole sıçan, kobay ve fare ileumu non-adrenerjik non-kolinerjik sinir sistemi yanıtlarında taşıkininlerin rolünü, yanıtların hayvan türüne göre değişip değişmediğini ve ortaya çıkan yanıtlarda hangi taşıkinin reseptör tipinin rol oynadığını saptamaya çalıştık.

NK₁ reseptör antagonisti RP 67580, NK₂ reseptör antagonisti GR 159897 ve NK₃ reseptör antagonisti SB 222200 10⁻⁸-10⁻⁶M konsantrasyon aralığında uygulandılar.

RP 67580 sıçan, kobay ve fare izole ileumlarında non-adrenerjik non-kolinerjik sinir sistemi yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı bir şekilde kısmen azalttı.

GR 159897, izole sıçan ileumlarında non-adrenerjik non-kolinerjik sinir sistemi yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı bir şekilde kısmen azaltıyorken, izole kobay ileumlarında etkisizdi. İzole fare ileumlarında GR 159897'nin doz bağımlı etkisi sıçan ile karşılaştırıldığında daha azdı.

SB 222200, izole sıçan ileumlarında non-adrenerjik non-kolinerjik sinir sistemi yanıtlarının kasılma komponentlerini 10⁻⁶M'da minimum derecede azalttı. İzole kobay ve fare ileumlarında kasılma komponentleri üzerine etkisizdi.

Tetrodotoksin, izole sıçan ileumu longitudinal kasında 10^{-8} - 10^{-6} M konsantrasyonlarında, izole fare ileumu longitudinal kasında 10^{-9} - 10^{-6} M konsantrasyonlarında non-adrenerjik non-kolinerjik sinir sistemi yanıtlarının kasılma komponentlerini doz bağımlı şekilde ortadan kaldırdı. İzole kobay ileumu longitudinal kasında 10^{-8} - 10^{-6} M konsantrasyonlarında doz bağımlı şekilde yanıtların kasılma komponentlerini azalttı. İzole fare ileumunda 10^{-6} M konsantrasyonunda gevşeme komponentlerini ortadan kaldırdı. İzole sıçan ileumunda ise 10^{-6} - 3.10^{-8} M konsantrasyonlarında doz bağımlı şekilde gevşeme komponentlerini azalttı.

Anahtar kelimeler: Non-adrenerjik non-kolinerjik sinir sistemi, izole ileum, longitudinal kas, RP 67580, GR 159897, SB 222200, tetrodotoksin, sıçan, kobay, fare.

SUMMARY

THE ROLE OF TACYKININS IN THE NON-ADRENERGIC NON-CHOLINERGIC RESPONSES OF RAT, MOUSE AND GUINEA-PIG ILEUM

In our study we tried to establish the role of tachykinins in the non-adrenergic non-cholinergic nervous system responses induced by electrical field stimulation in isolated rat, guinea-pig and mouse ileum, whether these responses vary depending on species, and which type of tachykinin receptors play role in these responses.

The NK1 receptor antagonist, RP 67580, the NK2 receptor antagonist, GR 159897, and the NK3 receptor antagonist, SB 222200, were applied in the range of 10^{-8} - 10^{-6} M concentrations.

RP 67580 partially decreased the contraction components of the non-adrenergic non-cholinergic nervous system responses in the isolated rat, guinea-pig and mouse ileums in a dose-dependent manner.

While GR 159897 partially decreased the contraction components of the non-adrenergic non-cholinergic nervous system responses in the isolated rat ileums in a dose-dependent manner, it was ineffective in isolated guinea-pig ileum. The dose-dependent effect of GR 159897 in the isolated mouse ileum was lesser when compared with the rat.

SB 222200 slightly decreased the contraction components of the non-adrenergic non-cholinergic nervous system responses in the isolated rat ileum at 10^{-6} M. It was not effective on the contraction components of the isolated guinea-pig and mouse ileums.

Tetrodotoxin dose-dependently abolished the contraction components of the non-adrenergic non-cholinergic nervous system responses longitudinal muscle of the isolated rat ileum at the concentrations of 10^{-8} - 10^{-6} M, and in the longitudinal muscle of the isolated mouse ileum at the concentrations of 10^{-8} - 10^{-6} M. It decreased the contraction components in the longitudinal muscle of the isolated guinea-pig ileum in a dose-dependent manner at the concentrations of 10^{-8} - 10^{-6} M. It abolished the relaxation components in the isolated mouse ileum at the concentration of $1 \cdot 10^{-6}$ M, and decreased dose dependently the relaxation components in the isolated rat ileum at the concentrations of 10^{-6} - $3 \cdot 10^{-8}$ M.

Key words: Non-adrenergic non-cholinergic nervous system, isolated ileum, longitudinal muscle, RP 67580, GR 159897, SB 222200, tetrodotoxin, rat, guinea-pig, mouse.

KAYNAKLAR

1. Türker RK, Bökesoy TA. Düz Kas Deneyleri, Koşullar ve Teknikler. Bökesoy TA (Editör). İzole Organ Preparatları. Ankara: Türk Farmakoloji Derneği Yayınları; 1993: p.23.
2. Kayaalp OS, Ulus İS. Otonom Sinir Sistemi İle İlişkili İlaçlar. Kayaalp OS (Editör). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Ankara: Hacettepe-Taş; 2005: p.924-939.
3. Maggi CA, Guiliani S. Multiple inhibitory mechanisms mediate non-adrenergic non-cholinergic relaxation in the circular muscle of the guinea-pig colon. Naunyn-Schmiedederg's Arch. Pharmac. 1993; 347: 630-4.
4. De Man JG, Boeckxstaens GE, Herman AG, Pelckmans PA. Effect of potassium channel blockade and α -adrenoceptor activation on the release of nitric oxide from non-adrenergic non-cholinergic nerves. Br. J. Pharmac. 1994; 112: 341-5.
5. Bauer V, Kuriyama H. Evidence for non-cholinergic non-adrenergic transmission in the guinea-pig ileum. J. Physiol. 1982; 330: 375-391.
6. Bauer V, Matusak O. The non-adrenergic non-cholinergic innervation and transmission in the small intestine. Arch. Int. Pharmacodyn. 1986; 280 (Suppl.): 137-163.
7. Gustafson LE, Wiklund CE, Wiklund NP, Persson MG, Moncado S. Modulation of autonomic neuroeffector transmission by nitric oxide in guinea-pig ileum. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1990; 173: 106-110.
8. Knudsen M, Tottrup A. Evidence for two mediators of NANC inhibition in circular muscle of the guinea-pig ileum. Gastroenterology. 1991; 100: A459-A464.

9. Osthaus LE, Galligan JJ. Antagonists of nitric oxide synthesis inhibit nerve-mediated relaxations of longitudinal muscles in guinea-pig ileum. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 1992; 260: 140-5.
10. Radomirov R, Venkova K. Pharmacological characteristics of the postsynaptically mediated contractile responses of guinea-pig ileum to long-lasting electrical field stimulation. *Neuropharmacology.* 1988; 27: 729-735.
11. Williams SJ and Parsons ME. Nitric oxide, an enteric non-adrenergic non-cholinergic relaxant transmitter: evidence using phosphodiesterase V and nitric oxide synthase inhibition. *Br. J. Pharmac.* 1995; 116: 1789-1796.
12. Croci T, Landi M, Emonds-Alt X, Le Fur G, Manara L. Neuronal NK3-receptors in guinea-pig ileum and taenia caeci: in vitro characterization by their first non-peptide antagonist, SR 142801. *Life Sciences.* 1995; 57 (23): PL361-PL366.
13. Garcia-Villar R, Dupuis C, Martinolle JP, Fioramonti J, Bueno L. Functional evidence for NO-synthase activation by substance P through a mechanism not involving classical tachykinin receptors in guinea-pig ileum in vitro. *Br. J. Pharmacol.* 1996; 118(5):1253-61.
14. Burnstock G. The non-adrenergic non-cholinergic nervous system. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 1986; 280 (Suppl.) : 1-15.
15. Ivancheva C, Pencheva N, Radomirov R. Pattern of non-adrenergic, non-cholinergic responses during short- or long-lasting electrical stimulation in guinea-pig ileum. *Gen Pharmacol.* 1997; 29(2):233-7.
16. Leclere PG, Lefebvre RA. Presynaptic modulation of cholinergic neurotransmission in the human proximal stomach. *Br. J. Pharmacol.* 2002; 135: 135-142.
17. Katzung BG. Introduction to Autonomic Pharmacology. In: Katzung BG (Ed.). *Basic&Clinical Pharmacology.* 9th ed. San Francisco: The McGraw-Hill Companies; 2004: p.76-85.
18. Furness JB. Types of neurons in the enteric nervous system. *J Auton Nerv Syst.* 2000; 81(1-3):87-96.
19. Dökmeci İ. Endojen Peptidler, Nükleozidler, İmmun Sistem Modülatörleri ve Serbest Radikaller. Dökmeci İ (Editör). *İlaçlar ve Etkileri.* İstanbul: Alfa Yayınları; 2007: p.519-520.
20. Borody et al. Effects of morphine and atropine on motility and transit in the human ileum. *Gastroenterology.* 1985; 89: 562-570.

21. Galligan JJ, Furness JB, Costa M, Effects of cholinergic blockade, adrenergic blockade and sympathetic denervation on gastrointestinal myoelectric activity guinea-pig. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1986; 238: 1114-1125.
22. Kunze WAA, Furness JB. The enteric nervous system and regulation of intestinal motility. *Annu. Rev. Physiol.* 1999; 61: 117-142.
23. Lepard KJ, Messori E, Galligan JJ. Purinergic fast excitatory postsynaptic potentials in myenteric neurons of guinea-pig: distribution and pharmacology. *Gastroenterology.* 1997; 113: 1522-1534.
24. Zhou X, Galligan JJ. Synaptic activation and properties of 5-hydroxytryptamine receptors in myenteric neurons of guinea-pig intestine. *J. Pharmacol Exp. Ther.* 1999; 290: 803-810.
25. Furness JB, Kunze WAA, Bertrand PP, Clere N, Bornstein JC. Intrinsic primary afferent neurons of the intestine. *Prog. Neurobiol.* 1998; 54: 1-18.
26. Vanner S, Suprenant A. Neural reflexes controlling intestinal microcirculation. *Am. J. Physiol.* 1996; 271: G223-G230.
27. Li ZS, Furness JB. Immunohistochemical localization of cholinergic markers in putative intrinsic primary afferent neurons of the guinea-pig small intestine. *Cell Tissue Res.* 1998; 294: 35-43.
28. Lecci A. Pharmacology and Function of Tachykinin Receptors. *Tocris Reviews* 2003; No. 24: 1-12.
29. Legat FJ, Althuber P, Maier R, Griesbacher T, Lembeck F. Evidence for the presence of NK1 and NK3 receptors on cholinergic neurons in the guinea-pig ileum. *Neuroscience Letters.* 1996; 207: 125-8.
30. Saban R, Nguyen NB, Saban MR, Gerard NP and Pasricha PJ. Nerve-mediated motility of ileal segments isolated from NK1 knockout mice. *Gastrointest. Liver Physiol.* 1999; 40: G1173-G1179.
31. Seabrook GR, Main MJ, Razzaque Z, Longmore J. Differences in the effects of tachykinins NK1 receptor antagonists: neuronal versus smooth muscle tissues. *Eur. J. Pharmacol.* 1993; 250: 125-131.
32. Vilain P, Emonds-Alt X, Le Fur G, Breliere JC. Tachykinin-induced contractions of the guinea pig ileum longitudinal smooth muscle: tonic and phasic muscular activities. *Can J Physiol Pharmacol.* 1997; 75 (6):587-90.

33. De Schepper HU, De Winter BY, Seerden TC, Herman AG, Pelckmans PA, De Man JG. Functional characterisation of tachykinin receptors in the circular muscle layer of the mouse ileum. *Regul Pept.* 2005; 130 (3): 105-15.
34. Maggi CA, Patacchini R, Bartho L, Holzer P, Santicioli P. Tachykinin NK1 and NK2 receptor antagonists and atropine-resistant ascending excitatory reflex to the circular muscle of the guinea-pig ileum. *Br J Pharmacol.* 1994; 112 (1): 161-8.
35. Carruette A, Moussaoui SM, Champion A, Cottez D, Goniot P, Garret C. Comparison in different tissue preparations of the in vitro pharmacological profile of RP 67580, a new non-peptide substance P antagonist. *Neuropeptides.* 1992; 23 (4): 245-250.
36. Barr AJ, Watson SP. Non-peptide antagonists, CP 96345 and RP 67580, distinguish species variants in tachykinin NK1 receptors. *Br J Pharmacol.* 1993; 108 (1):223-7.
37. Amadesi S et al. NK₁ Receptor Stimulation Causes Contraction and Inositol Phosphate Increase in Medium-size Human Isolated Bronchi *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 163: 1206-1211.
38. Garret C et al. Pharmacological properties of a potent and selective nonpeptide substance P antagonist. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991; 88: 10208-10212.
39. Alblas J, Van Etten I, Wouter H. C-terminal Truncation of the Neurokinin-2 Receptor Causes Enhanced and Sustained Agonist-induced Signaling role of receptor phosphorylation in signal attenuation. *J. Biol. Chem.* 1995; 270 (15): 8944-8951.
40. Palanche T et al. The Neurokinin A Receptor Activates Calcium and cAMP through Distinct Conformational States. *J. Biol. Chem.* 2001;276: 34853-34861.
41. Alblas J, Van Etten I, and Moolenaar WH. Truncated, desensitization-defective neurokinin receptors mediate sustained MAP kinase activation, cell growth and transformation by a Ras-independent mechanism. *EMBO J.* 1996; 15: 3351-3360.
42. Candenat ML. Identification of a tachykinin NK₂ receptor splice variant and its expression in human and rat tissues. *Life Sciences.* 2002; 72 (3). 269-277.
43. Burcher E, Alouan LA, Johnson PR, Black JL. Neuropeptide gamma, the most potent contractile tachykinin in human isolated bronchus, acts via a 'non-classical' NK2 receptor. *Neuropeptides.* 1991; 20 (2): 79-82.

44. Mussap CJ, Stamatakos C, Burcher E. Radioligand binding, autoradiographic and functional studies demonstrate tachykinin NK-2 receptors in dog urinary bladder. *J Pharmacol Exp Ther.* 1996; 279 (1): 423-34.
45. Kudlacz EM, Logan DE, Shatzer SA, Farrell AM and Baugh LE. Tachykinin-mediated respiratory effects in conscious guinea pigs: modulation by NK₁ and NK₂ receptor antagonists. *Eur. J. Pharmacol.* 1993; 241 (1): 17-25.
46. Yuan L, Burcher E, Nail B. Tachykinin receptors and non-cholinergic bronchoconstriction in the anaesthetized guinea-pig. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1996; 23 (2):119-24.
47. Catalioto RM et al. MEN 11420 (Nepadutant), a novel glycosylated bicyclic peptide tachykinin NK₂ receptor antagonist. *Br J Pharmacol.* 1998; 123: 81–91.
48. Emonds-Alt, X. A potent and selective non-peptide antagonist of the neurokinin a (NK₂) receptor. *Life Sciences.* 1992; 50 (15): PL101-PL106.
49. Beresford IJM. GR 159897, a potent non-peptide antagonist at tachykinin NK₂ receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 1995; 272: 241-8.
50. Lee CM, Campbell NJ, Williams BJ and Iversen LL. Multiple tachykinin binding sites in peripheral tissues and in brain. *Eur. J. Pharmacol.* 1986; 130: 209-217.
51. Maggi CA et al. Heterogeneity of tachykinin NK-2 receptors in rabbit, guinea-pig and human smooth muscles. *Neuropeptides.* 1992; 23 (3): 181-6.
52. Advenier C et al. Neurokinin A (NK₂) receptor revisited with SR 48968, a potent non-peptide antagonist. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1992; 184 (3): 1418-1424.
53. Petitet F, Beaujouan JC, Saffroy M, Torrens Y and Glowinski J. The Nonpeptide NK-2 Antagonist SR 48968 Is Also a NK-3 Antagonist in the Guinea Pig but Not in the Rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993; 191 (1): 180-7.
54. Chung FZ et al. The Nonpeptide Tachykinin NK₂ Receptor Antagonist SR 48968 Interacts with Human, but Not Rat, Cloned Tachykinin NK₃ Receptors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994. 198 (3): 967-972.
55. Kerr KP, Thai B and Coupar IM. Tachykinin-induced contraction of the guinea-pig isolated oesophageal mucosa is mediated by NK₂ receptors. *Br. J. Pharmacol.* 2000; 131: 1461–1467.
56. Catalioto RM, Cucchi P, Renzetti AR, Criscuoli M, Maggi CA. Independent coupling of the human tachykinin NK₂ receptor to phospholipases C and A₂ in

- transfected Chinese hamster ovary cells. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 1998; 358 (4): 395-403.
- 57.** Medhurst AD, Hay DWP, Parsons AA, Martin LD and Griswold DE. In vitro and in vivo characterization of NK₃ receptors in the rabbit eye by use of selective non-peptide NK₃ receptor antagonists. *Br J Pharmacol.* 1997; 122 (3): 469-476.
- 58.** Jordan RE, Smart D, Grimson P, Suman-Chauhan N and McKnight AT. Activation of the cloned human NK₃ receptor in Chinese Hamster Ovary cells characterized by the cellular acidification response using the Cytosensor microphysiometer. *Br J Pharmacol.* 1998 125 (4) : 761-6.
- 59.** Regoli D, Nguyen QT and Jukic D. Neurokinin receptor subtypes characterized by biological assays. *Life Sciences* 1994; 54 (26): 2035-2047.
- 60.** Emonds-Alt X et al. SR 142801, The first potent non-peptide antagonist of the tachykinin NK₃ receptor. *Life Sciences.* 1995; 56 (1): Pages PL27-PL32.
- 61.** Giardina GA. Discovery of a novel class of selective non-peptide antagonists for the human neurokinin-3 receptor. 1. Identification of the 4-quinolinecarboxamide framework. *J. Med. Chem.* 1997; 40 (12): 1794-1807.
- 62.** Sarau HM et. al. Nonpeptide tachykinin receptor antagonists. II. Pharmacological and pharmacokinetic profile of SB-222200, a central nervous system penetrant, potent and Selective NK-3 Receptor Antagonist. *J. Pharmacol Exp. Ther.* 2000; 295 (1): 373-385.
- 63.** Zagorodnyuk V, Maggi CA. Neuronal tachykinin NK₂ receptors mediate release of non-adrenergic non-cholinergic inhibitory transmitters in the circular muscles of guinea-pig colon. *Neuroscience.* 1995; 69 (2): 643-650.
- 64.** Moore BA, Vanner S, Bunnett NW, Sharkey KA. Characterization of neurokinin-1 receptors in the submucosal plexus of guinea pig ileum. *Am J Physiol.* 1997; 273 (3 Pt 1): G670-8.
- 65.** Eutamene H, Theodorou V, Fioramonti J and Bueno L. Implication of NK₁ and NK₂ receptors in rat colonic hypersecretion induced by interleukin 1 β : Role of nitric oxide. *Gastroenterology.* 1995; 109 (2): 483-9.
- 66.** Eutamene H, Theodorou V, Fioramonti J and Bueno L. Rectal distention-induced colonic net water secretion in rats involves tachykinins, capsaicin sensory, and vagus nerves. *Gastroenterology.* 1997; 112 (5): 1595-1602.

67. Bang R, Sass G, Kiemer AK, Vollmar AM, Neuhuber WL and Tiegs G. Neurokinin-1 Receptor Antagonists CP 96345 and L-733,060 Protect Mice from Cytokine-Mediated Liver Injury. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003; 305 (1): 31-9.
68. Holzer P and Holzer-Petsche U. Tachykinins in the gut. Part I. Expression, release and motor function. *Pharmacol. Ther.* 1997; 73 (3): 173-217.
69. Costa M, Furness JB, Pullin CO, Bornstein J. Substance P enteric neurons mediate non-cholinergic transmission to the circular of the guinea-pig intestine. *Nauyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1985; 328: 446-9.
70. Ivancheva CHR, Rodomirov R, Itzev R. Functional antagonism between nitric oxide and ATP in the motor responses of guinea-pig ileum. *J. Auton. Pharmacol.* 2000; 20: 147-156.
71. El-Mahmoudy A, Matsuyama H, Khalifa M, Shimizu Y, Takewaki T. Tachykinins mediate non-adrenergic, non-cholinergic excitatory neurotransmission to the hamster ileum via NK1 and NK2 receptors. *Life science* 2003; 73: 1939-1951.
72. Maggi, CA, Giuliani S. "Role of tachykinins as excitatory mediators of NANC contraction in the circular muscle of rat small-intestine." *Journal of Autonomic Pharmacology.* 1995; 15: 335-350.
73. Mann PT, Southwell BR, Ding YQ, Shigemoto R, Mizuno N and Furness JB. Localisation of neurokinin 3 (NK₃) receptor immunoreactivity in the rat gastrointestinal tract. *Cell Tissue Res.* 1999; 289 (1): 1-9.
74. Jenkinson KM, Morgan JM, Furness JB and Southwell BR. Neurons bearing NK₃ tachykinin receptors in the guinea-pig ileum revealed by specific binding of fluorescently labelled agonists. *Histochem Cell Biol.* 1999 112 (3); 233-246.
75. Johnson PJ, Bornstein JC and Burcher E. Roles of neuronal NK₁ and NK₃ receptors in synaptic transmission during motility reflexes in the guinea-pig ileum. *Br J Pharmacol.* 1998; 124 (7): 1375-1384.
76. Holzer P, Schluet W and CA Maggi CA. Substance-P stimulates and inhibits intestinal peristalsis via distinct receptors. *J Pharmacol Exp Ther.* 1995; 274 (1): 322-8.
77. Lecci AS, Giuliani M, Tramontana M, Giorgio RD and Maggi CA. The role of tachykinin NK1 and NK2 receptors in atropine-resistant colonic propulsion in anaesthetized guinea-pigs. *Br. J. Pharmacol.* 1998; 4: 27-34.

- 78.** Vannucchi MG and Faussone-Pellegrini MS. NK₁, NK₂ and NK₃ tachykinin receptor localization and tachykinin distribution in the ileum of the mouse. *Anat Embryol.* 2000; 202 (3): 247–255.
- 79.** Portbury AL, Furness JB, Southwell BR, Wong H, Walsh JH and Bunnett NW. Distribution of neurokinin-2 receptors in the guinea-pig gastrointestinal tract. *Cell Tissue Res.* 1996; 286 (3): pp. 281–292.
- 80.** Portbury AL, Furness JB, Young HM, Southwell BR and Vigna SR. Localisation of NK₁ receptor immunoreactivity to neurons and interstitial cells of the guinea-pig gastrointestinal tract. *J Comp Neurol.* 1996; 367 (3): pp. 342–351.

RESİMLEMELER LİSTESİ

TABLULAR

Tablo 1. Otonom sinir sistemi, enterik sinir sistemi ve NANK nöronlarında bulunan bazı transmitterler.

Tablo 2. Memeli taşıkininlerinin aminoasid dizilimi (28).

Tablo 3. İnsan taşıkininlerinin NK1, NK2 ve NK3 reseptörlerinde kuvvet sıralaması ve selektif agonist, antagonist ve radyoligandlara örnekler.

ŞEKİLLER

Şekil 1. Enterik sinir sistemi.

Şekil 2. RP 67580'nin kimyasal yapısı.

Şekil 3. GR 159897'nin kimyasal yapısı.

Şekil 4. SB 222200'ün kimyasal yapısı.

Şekil 5. NK1 reseptör antagonisti RP 67580'nin izole sıçan, kobay ve fare ileumlarında kasılma komponenti üzerine olan etkisi.

Şekil 6. NK2 reseptör antagonisti GR 159897'nin izole kobay, fare ve sıçan ileumlarında kasılma komponenti üzerine olan etkisi.

Şekil 7. NK3 reseptör antagonisti SB 222200'nin izole kobay, fare ve sıçan ileumlarında kasılma komponenti üzerine olan etkisi.

Şekil 8. İzole sıçan ileumlarında RP 67580, GR 159897 ve SB 222200'nin kasılma komponentleri üzerine olan etkisi.

Şekil 9. İzole kobay ileumlarında RP 67580, GR 159897 ve SB 222200'nin kasılma komponentleri üzerine olan etkisi.

Şekil 10. İzole fare ileumlarında RP 67580, GR 159897 ve SB 222200'nin NANK yanıtları üzerine olan etkisi.

Şekil 11. İzole sıçan ileumlarında tetrodotoksin'in kasılma komponentleri üzerine olan etkisi.

Şekil 12. İzole sıçan ileumlarında tetrodotoksin'in gevşeme komponentleri üzerine olan etkisi.

Şekil 13. İzole fare ileumlarında tetrodotoksin'in kasılma komponentleri üzerine olan etkisi.

Şekil 14. İzole fare ileumlarında tetrodotoksin'in gevşeme komponentleri üzerine olan etkisi.

Şekil 15. İzole kobay ileumlarında tetrodotoksin'in kasılma komponentleri üzerine olan etkisi.

RESİMLER

Resim 1. İzole sıçan (A), fare (B), kobay (C) ileumlarında elektriksel alan stimülasyonu ile elde edilen NANK yanıtları.

Resim 2. İzole kobay ileumunda NANK yanıtları ve (A) 10^{-7} M RP 67580, (B) 10^{-6} M RP 67580 uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

Resim 3. İzole sıçan ileumunda NANK yanıtları ve (A) 10^{-8} M RP 67580, (B) 10^{-7} M RP 67580, (C) 10^{-6} M RP 67580 uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

Resim 4. İzole fare ileumunda NANK yanıtı ve (A) 10^{-8} M RP 67580, (B) 10^{-7} M RP 67580, (C) 10^{-6} M RP 67580 uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

Resim 5. İzole sıçan ileumunda NANK yanıtı ve (A) 10^{-8} M GR 159897, (B) 10^{-7} M GR 159897, (C) 10^{-6} M GR 159897 uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

Resim 6. İzole fare ileumunda NANK yanıtları ve (A) 10^{-8} M GR 159897, (B) 10^{-7} M GR 159897, (C) 10^{-6} M GR 159897 uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

Resim 7. İzole sıçan ileumunda NANK yanıtları ve (A) 10^{-8} M SB 222200, (B) 10^{-7} M SB 222200, (C) 10^{-6} M SB 222200 uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

Resim 8. İzole fare ileumunda NANK yanıtları ve (A) 10^{-8} M SB 222200, (B) 10^{-7} M SB 222200, (C) 10^{-6} M SB 222200 uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

Resim 9. İzole sıçan ileumunda NANK yanıtları (A) 10^{-8} M tetrodotoksin, (B) $3 \cdot 10^{-8}$ M tetrodotoksin, (B) 10^{-7} M tetrodotoksin, (C) 10^{-6} M tetrodotoksin uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

Resim 10. İzole fare ileumunda NANK yanıtları (A) 10^{-9} M tetrodotoksin, (B) 10^{-8} M tetrodotoksin, (C) 10^{-7} M tetrodotoksin, (D) 10^{-6} M tetrodotoksin uygulanmasından sonraki NANK yanıtları.

Resim 11. İzole kobay ileumunda NANK yanıtları ve (A) 10^{-9} M tetrodotoksin, (B) 10^{-8} M tetrodotoksin, (C) 10^{-7} M tetrodotoksin, (D) 10^{-6} M tetrodotoksin sonraki NANK yanıtları.

ÖZGEÇMİŞ

28/01/1975 Kırklareli doğumluyum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Edirne'de sırasıyla Kurtuluş İlkokulu, Atatürk Ortaokulu ve Edirne Lisesi'nde tamamladım. 1992 yılında kazandığım İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 1999 yılında mezun oldum. 2001 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı'nda doktora programına başladım. Halen burada araştırma görevlisi olarak görev yapmaktayım.

EKLER



T.C
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı : 42

Karar Tarihi : 09.09.2004

13- Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 09.09.2004 tarihinde "Fare sıçan ve kobay ileumlarının non-adrenerjik non-kolinerjik yanıtlarında taşıkininlerin rolü" adlı TÜTFEK-2004/ 107 protokol no.lu Doktora öğrencisi Melek TAMER'in deneysel tez çalışmasını incelemek üzere toplandı. Toplantıya Yrd.Doç.Dr.Sevgi ESKİOCAK, Yrd.Doç.Dr.Ümit N. BAŞARAN izinli olmaları nedeniyle katılmadı ve diğer üyelerin katılımıyla çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonucunda çalışmanın Farmakoloji Anabilim Dalında yapılacağı sorumlusunun Prof.Dr.Hakan KARADAĞ olduğu; araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi, sonucunda; Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmesi koşuluyla yapılabileceğine mevcudun oybirliği ile karar verildi.

Prof.Dr.Ahmet UĞUL
BAŞKAN
(Farmakolog)

Prof.Dr.Ahmet TEZEL
Klinisyen Üye
İç Hastalıkları Uzmanı

Yrd.Doç.Dr.Ümit N. BAŞARAN
Klinisyen Üye
Çocuk Cerrahisi Uzmanı
katılmadı

Yrd. Doç. Dr. Cengiz TUĞLU
Klinisyen Üye
Psikiyatri Uzmanı

Yrd. Doç. Dr. Şemsi ALTANER
Üye
Patalog

Yrd.Doç.Dr.Sevgi ESKİOCAK
Biyokimya Uzmanı
Katılmadı

Ecz.İmran OĞUZ
Üye
Eczacı

Posta Adresi :
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
Güllapoğlu Yerleşkesi
2030 EDİRNE

Tel (0-284) 235 76 41 (9 Hat) Fax: (0-284)2357652