

SIÇAN TRAKEA'SI DÜZ KASI KASILMA-GEVŞEME YANITLARI ÜZERİNE
AMMONİUM PYRROLİDİNE DİTHİOCARBAMATE, SG-BENZ, CAFFEİC ACİD PHENİL
ESTER, ATORVASTATİN KALSİYUM'UN ETKİLERİ

Volkan MERCAN

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Ocak– 2015

SIÇAN TRAKEA'SI DÜZ KASI KASILMA-GEVŞEME YANITLARI ÜZERİNE
AMMONİUM PYRROLİDİNE DİTHİOCARBAMATE, SG-BENZ, CAFFEİC ACİD PHENİL
ESTER, ATORVASTATİN KALSİYUM'UN ETKİLERİ

Volkan MERCAN

Dumlupınar Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği Uyarınca
Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman; Doç. Dr. M. Kasım ÇAYCI

Ocak– 2015

KABUL VE ONAY SAYFASI

Volkan MERCAN'nın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı Sıçan Trakea'sı Düz Kası Kasılma-Gevşeme Yanıtları Üzerine Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate, SG-BENZ, Caffeic Acid Phenil Ester, Atorvastatin Kalsiyum'un Etkileri başlıklı bu çalışma, jürimizce Dumlupınar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınavı Yönetmeliğinin İlgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

16/01/2015

Üye: Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU

Üye: Doç. Dr. Kasım ÇAYCI

Üye: Yrd. Doç. Dr. Halil KUNT

Fen Bilimleri Enstitüsün Yönetim Kurulu'nun/...../2015 gün vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan GÖÇMEZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**SIÇAN TRAKEA'SI DÜZ KASILMA-GEVŞEME YANITLARI ÜZERİNE
AMMONİUM PYRROLİDİNE DİTHİOCARBAMATE, SG-BENZ, CAFFEİC ACİD
PHENİL ESTER, ATORVASTATİN KALSİYUM'UN ETKİLERİ**

Volkan MERCAN

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2015

Tez Danışmanı: Doç. Dr. M. Kasım ÇAYCI

ÖZET

Trakea'daki direnç artışları hafif ronkustan, akciğerlerin ventile edilemeyeceği dereceye kadar değişik şiddette olabilir. Ventilasyon için daha yüksek derecede havayolu basıncı uygulamak gerekir. Oluşan tabloya bağlı olarak oksijenizasyon bozularak kalıcı hasarlar oluşabileceğinden dolayı bu durumda ortaya çıkan bronkospazmın hızla düzeltilmesi gerekir. Bronkodilatör ilaçların kullanılmasıyla kontrakte olmuş trakea gevşetilmesi sağlanır. Bu nedenle çalışmamızda kullandığımız kimyasal maddelerin bronkodilatör etkileri araştırılmıştır.

Bu çalışma CAPE, Atorvastatin Kalsiyum, Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate ve SG-Benz olmak üzere 4 grupta gerçekleştirilmiştir. Her grupta yaklaşık 10 hayvan olmak üzere toplam 40 hayvan ile çalışılmıştır. Denede kullanılacak olan sıçanlar tartıldıktan sonra servikal dislokasyonla öldürülüp boyun bölgesi açılarak larinksten bifurkasyoya kadar trakea izole edilmiştir. İzole trakealar Krebs-Henseleit solüsyonunun içerisinde izole organ banyosuna yerleştirilmiştir. KCl ile organların canlılığı test edilmiş ve prekontraksiyon için trakeaya Ach verilmiştir. CAPE, Atorvastatin Kalsiyum, Pyrrolidine veya SG-BENZ 10^{-9} - 3×10^{-4} M dozlarında kümülatif olarak verilerek kasılma veya gevşeme cevapları izometrik transduser aracılığıyla data acquisition analiz sistemi'nde kaydedilmiştir.

Pyrrolidine grubu hariç diğer gruplarda belirgin gevşeme yanıtları gözlenirken bu maddelerin gevşeme cevabı verdikleri ortak dozun 10^{-6} M olduğu saptanmıştır. Bu dozajda SG-BENZ'in diğer maddelerden daha fazla gevşeme cevabı oluşturduğu görülmüştür. Sonuç olarak Pyrrolidine haricinde bütün maddeler Ach ile prekontrakte trakea düz kası preparatlarında doza bağlı artan gevşeme cevapları oluşmuştur.

Anahtar kelimeler: Acridine, Atorvastatin, Cape, Pyrrolidine, Trakea, Sıçan, Sülfonamide.

**THE EFFECTS OF AMMONIUM PYRROLIDINE DITHIOCARBAMATE, SG-BENZ,
CAFFEIC ACID PHENIL ESTER AND ATORVASTATIN CALSIYUM ON THE
CONTRACTION AND RELAXATION RESPONSES ON TRACHEAL SMOOTH
MUSCLE OF RAT**

Volkan MERCAN

Department of Biology, M. S. Thesis, 2015

Thesis Supervisor: Assoc. Prof. M. Kasım ÇAYCI

SUMMARY

The increased resistance in trachea may have an intensity spectrum degree from light rhonchus to unventilated lungs. A more high degree airway pressure must be applied for ventilation. The bronchospasm observed as permanent damage after the destruction of oxygenation related to medical condition must be fixed immediately. The contracted trachea must be relaxed by using bronchodilator drugs. Therefore, the bronchodilator effects of the chemicals used in our study were investigated.

This study is performed in four groups as CAPE, Atorvastatin calcium, Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate and SG-Benz. The study was made with 40 animals totally being 10 animals per group. The rats used in experiments are weighted first and then killed by cervical dislocation and tracheas are isolated by opening of neck region with laryngeal bifurcation. The isolated tracheas are placed into the computerized organ bath systems filled with Krebs-Henseleit solution. The organ vitality is tested with KCl and ACh is supplied to trachea for precontraction. CAPE, Atorvastatin calcium, pyrrolidine or SG-Benz were given as 10^{-9} - 3×10^{-4} M doses cumulatively to obtain contraction and relaxation responses and these responses were recorded in data acquisition analyzing system by isometric transducer.

All group drug relaxation responses were observed excluding Pyrrolidine and relaxation response shared dose was 10^{-6} M. SG-Benz created more relaxation response than other drugs at this dose. As a result, excluding Pyrrolidine, all drugs created increasing relaxation responses tied to dosages in trachea smooth muscles precontracted with ACh.

Keywords: Acridine, Atorvastatine, Cape, Pyrrolidine, Rat, Sülfonamide, Trachea.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında benimle bilgi ve tecrübesini paylaşan, gelişmem için bana fırsat veren en önemlisi yüksek lisans yapmama vesile olan değerli hocam Doç. Dr. M. Kasım ÇAYCI hocama teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Biyoloji bölümünü bana sevdiren, bize öncülük eden saygı değer Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU hocama içtenlikle teşekkür ederim.

Laboratuvar uygulamaları sırasında bana yardımcı olan Öğr. Gör. Sinan DARCAN, Yüksek Lisans öğrencisi Sinem Deniz AKCA, Okan Ali İNAN ve Hülya KÖKDAŞGİL arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Kimyasal maddelerin temini hususunda bize yardımcı olan Doç. Dr. Muharrem KAYA ve Ramazan ULUS' a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana psikolojik desteklerini esirgemeyen ev arkadaşlarım Maden Mühendisi Gökhan KORKMAZ ve Çağdaş AYDIN' a teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemde maddi ve manevi olarak desteklerini esirgemeyen ve hayatım boyunca verdiğim bütün kararlarımda yanımda olan sevgili aileme, nişanlım Betül GÜRBÜZ ve ailesine içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Giriş Ve Amaç	1
1.2. Daha Önceki Çalışmalar	2
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Düz Kas.....	4
2.1.1. Trakea.....	9
2.2. Astım	11
2.3. Asetilkolin (ACh) Ve Reseptörleri	13
2.4. Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)	14
2.5. Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate	17
2.6. Atorvastatin Kalsiyum.....	17
2.7. Sg-Benz.....	18
2.8. Dmsö	19
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	21
3.1. Deney Hayvanları	21
3.2. Kullanılan Madde Ve Aletler.....	21
3.2.1. Kullanılan kimyasal maddeler	21
3.2.2. Kullanılan araç ve gereçler	22
3.3. Hayvanı Deneye Hazırlama	22
3.4. Cerrahi İşlem Ve Deney Protokolü.....	22
3.5. İstatistiksel Analiz	24

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4. BULGULAR.....	25
4.1. AsetilKolin İle Kastırılmış Trakea Düz Kası Üzerine CAPE'nin Etkisi	26
4.2. AsetilKolin İle Uyarılmış Trakea Düz Kası Üzerine Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate'nin Etkisi	26
4.3. AsetilKolin İle Kastırılmış Trakea Düz Kası Üzerine Atorvastatin Kalsiyum'un Etkisi .	27
4.4. AsetilKolin İle kastırılmış Trakea Düz Kası Üzerine SG-Benz'in Etkisi	28
5. TARTIŞMA.....	29
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	32
EKLER	
EK 1. Etik Kurul Başvurusu	

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Düz kas hücresinin mikroskopik anatomisi.	4
2.3. Kafeik asit ve kafeik asit fenetil esterin molekül yapısı.....	15
2.4. Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate'nin yapısı.	17
3.1. Erkek wistar albino sıçandan trakea'nın izole edilmesi.	24
4.1. 10-3 M Ach ile kastırılmış trakea düz kaslarının CAPE, Atorvastatin Kalsiyum, Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate ve SG-Benz'e vermiş oldukları kasılma ve gevşeme cevapları.	25

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. 10-3 M Ach ile kastırılmış sıçan trakea düz kasında CAPE'nin farklı dozlarına ait kasılma ve gevşeme yanıtları (mg).....	26
4.2. 10-3 M Ach ile kastırılmış sıçan trakea düz kasında Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate'nin farklı dozlarına ait kasılma ve gevşeme yanıtları (mg).	27
4.3. 10-3 M Ach ile kastırılmış sıçan Trakea düz kasında Atorvastatin Kalsiyum'un farklı dozlarına ait kasılma ve gevşeme yanıtları (mg).....	27
4.4. 10-3 M Ach ile kastırılmış sıçan Trakea düz kasında SG-Benz'in farklı dozlarına ait kasılma ve gevşeme yanıtları (mg).....	28

SİMGELER VE KISALTMALAR

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
CAPE	Caffeic Acid Phenhyl Ester
SG-Benz	N-(diaminomethylene)-4-(1,8-dioxo-9-phenyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroacridin-10(9H)-yl)benzenesulfonamide
KOAH	Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı
IL	İnterlökin
TNF	Tümör nekrozis faktör
IP3	İnozitol tri fosfat
MHZK	Miyozin hafif zincir kinazı
cAMP	Siklik adenozin mono fosfat
MDHZ	Miyozin hafif zincir fosfataz
MHZF	Miyozin hafif zincir fosfataz
SR	Sarkoplazmik retikulum
PIP ₂	fosfatidilinozitol 2,4-bifosfat
DAG	Diaçilgliserol
NF-Kb	Nükleer faktör kappa B
iNOS	İnducible Nitrik Oksit Sentetaz
L-NAME	L-NG-Nitroarginine Methyl Ester
NO	Nitrik oksit
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid

1. GİRİŞ

1.1. Giriş Ve Amaç

Ülkemizdeki Toraks Derneği Astım Çalışma Grubu tarafından 1996 ve 2000 yıllarında hazırlanan "Ulusal Astım Tanı ve Tedavi Rehberi"ne göre; kronik hava yolu inflamasyonu ile oluşan bronş hiperreaktivitesi ve nöbetler şeklinde öksürük, dispne, hışıltılı/hırıltılı solunum, göğüste sıkışma yakınmalarının bir veya birkaçı ile seyreden, yaygın, değişken, genellikle geri dönüşlü havayolu obstrüksiyonu olarak ifade edilen astım (Türk Toraks Dergisi, 2010) dünyada her yaşta bireyi etkileyebilen ciddi bir halk sağlığı sorunudur (Global Strategy for Asthma Management ve Prevention, 2006). Ayrıca kontrol altına alınmadığında günlük yaşamı ciddi şekilde sınırlandırabilen ve bazen ölümcül olabilen bir hastalıktır. Erken tanı konulması ve uygun tedavinin başlatılması durumunda, hastalığın getireceği sosyoekonomik yükte anlamlı bir azalma sağlanabileceği, hastaların yaşam kalitesinin artırılacağı düşünülmektedir (Global Strategy for Asthma Management ve Prevention, 2006).

Bronkospazm akut olarak oluşan orta ve büyük havayollarındaki direnç artışıdır. Hafif ronkustan, akciğerlerin ventile edilemeyeceği dereceye kadar değişik şiddette olabilir. Ventilasyon için gittikçe daha yüksek havayolu basıncı uygulamak gerekir. Oluşan tabloya bağlı oksijenizasyon bozularak kalıcı hasarlar oluşturabileceğinden, bronkospazmın hızla düzeltilmesi gerekmektedir (Altınışık, 2008).

Bronkospazmın tedavisinde sıklıkla β -agonistler, metilksantin ve kortikosteroid grubu ilaçlar kullanılmaktadır. Ancak bu tedavi her hastada yeterli olmadığından alternatif tedavi arayışları devam etmektedir. Özellikle altta yatan ciddi kardiyak hastalık hikayesi olanlarda β_2 agonist kullanımı sınırlı olmaktadır (Altınışık, 2008).

Bronşiyal astım, kronik havayolu inflamasyonu ve geri dönen hava akımının sınırlaması olarak tanımlanır (Karasu, Minareci, 2012).

Astım uygun bir genetik zeminde belirli çevre koşullarının etkisiyle ortaya çıkan kronik bir havayolu hastalığıdır. Hastalığın ortaya çıkışı ve klinik etkilenmesi birçok faktörle ilgilidir. Bazı kişisel ve genetik faktörler hastalığın ortaya çıkışında daha önemliken, çevresel faktörlerin bazıları da alevlenmelerde rol oynamaktadır (Özlü vd., 2010).

Bronkodilatör ilaçlar; kontrakte olmuş havayolları düz kaslarının tonusunu gevşeterek "anti-bronkokonstriktör" etki gösterir. Astım ve Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığının (KOA) semptomatik tedavisinde inhalasyon yolu ile uygulanan formları çok yaygın kullanılmaktadır.

Üç grup bronkodilatör ilaç vardır. Bunlar; antikolinerjikler, beta-adrenerjik agonistler ve teofilindir. İçlerinde bronkodilatör etkisi en zayıf ve aynı zamanda yan etkileri en çok olan teofilindir (Özlü vd., 2010).

Bu çalışmada Ach ile prekontrakte trakea düz kasının CAPE, Atorvastatin Kalsiyum, Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate ve SG-Benz'in değişik kümülatif dozlarını vermiş olduğu gevşeme cevaplarını saptamayı amaçladık.

1.2. Daha Önceki Çalışmalar

Eksert B, Levosimendanın klinikte kullanılan bir ilaç olduğu için kalp ve damar dışı dokulardaki etkilerinin de bilinmesi amacıyla kobay trakea halkalarında levosimendan'ın gevşetici etkisinde hangi tip potasyum kanallarının rol oynadığını araştırmıştır. Bu nedenle yapılan çalışmada bu dokudaki gevşetici etkiden K_{CA} ve K_{ATP} kanallarının sorumlu olduğu gösterilmiştir (Eksert, 2008).

Lin Y. T. ve arkadaşları, kobaydan izole edilen trakeal strip hazırlayarak düz kasta isoeugenololün karbakol ile oluşturulan kasılmaya karşı gevşetici etkisini araştırmışlardır. Isoeugenololün sadece yüksek konsantrasyonda gevşemeyi ürettiğini gözlemlemişlerdir. Ön kasılma tarafından oluşan bu etki aşırı seçici β_2 -adrenerjik antagonisti etkilememiştir. Yani bu çalışma isoeugenololün trakeal gevşeme etkilerinin doğrudan β_2 -reseptörlerin uyarılmasıyla ilişkili olmadığı dolayısıyla da β_2 -adrenoseptörler üzerinde doğrudan intrinsik sempatomimetik aktivitesinin eksik olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak trakeal düz kas gevşemesi ile isoeugenololün bronkospastik hastalığı olan hastalardaki istenmeyen astmatik ataklar ve pulmoner olumsuz etkilerin azaltılmasından dolayı klinik olarak değerli olabileceğini düşünmüşlerdir (Lin vd., 1999).

Altınışık B. tarafından magnezyum sülfat direkt olarak kalsiyum antagonisti olarak görev yapması, sinir kas kavşağında Ach salınımı ve depolarizasyonunu azaltması, prostoglandin bağımlı düz kas gevşemesini etkilemesi ve β -agonist reseptör kompleksinin etkileşimi için gerekli olması nedeniyle dişi ratlardan elde edilen trakeal halkalar üzerindeki gevşeme etkisi araştırılmıştır. Ach ve KCl ile oluşan güçlü bronkokonstriksiyonun $MgSO_4$ uygulaması ile doza bağımlı olarak ortadan kaldırıldığı görülmüştür. Sadece yüksek doz Ach uygulamalarında $MgSO_4$ 'ın yüksek dozlarına rağmen tam gevşeme elde edilememiştir (Altınışık, 2008).

Pype J. L. ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada astmatik solunum yolunun enflamasyonun sürdürülmesi ve düzenlemesinde rol oynayan IL-1B ve TNF-a 'nın histamin

indüklemesiyle oluşan inozitol fosfat birikimine etkisi araştırılmıştır. Bu durum insan hava yolu düz kas hücreleri ve insan bronşiyal halkalarındaki histaminle oluşan kasılma yanıtlarında IP3 oluşumunun seviyelerini yansıttığı belirlenmiştir (Pype vd., 2001).

Ammar ve arkadaşları tarafından propolisin, astımda olası immun modülatör/antiinflamatuvar etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Propolis etanol ekstraktının Ovalbumin ile uyarılmış pasif bir şekilde hassaslaştırılan guinea pig'den izole edilen trakeal zigzag üzerinde faredeki astım modelinin hava yolu enflamasyonuna etkileri araştırılmıştır. Propolis etanol ekstraktı ile inkübe edilen pasif bir şekilde hazırlanmış trakeal zigzagda, ovalbuminle indüklenmiş kasılmalar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli bir azalma olduğu gözlemlenmiştir. Bu etki kalsiyum mobilizasyonunun yanı sıra ATP'ye duyarlı Ca^{+2} 'un, K^+ kanallarının ve çözünebilir guanilat siklazın aktivasyonunda nitrik oksit salınmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Ammar vd., 2013).

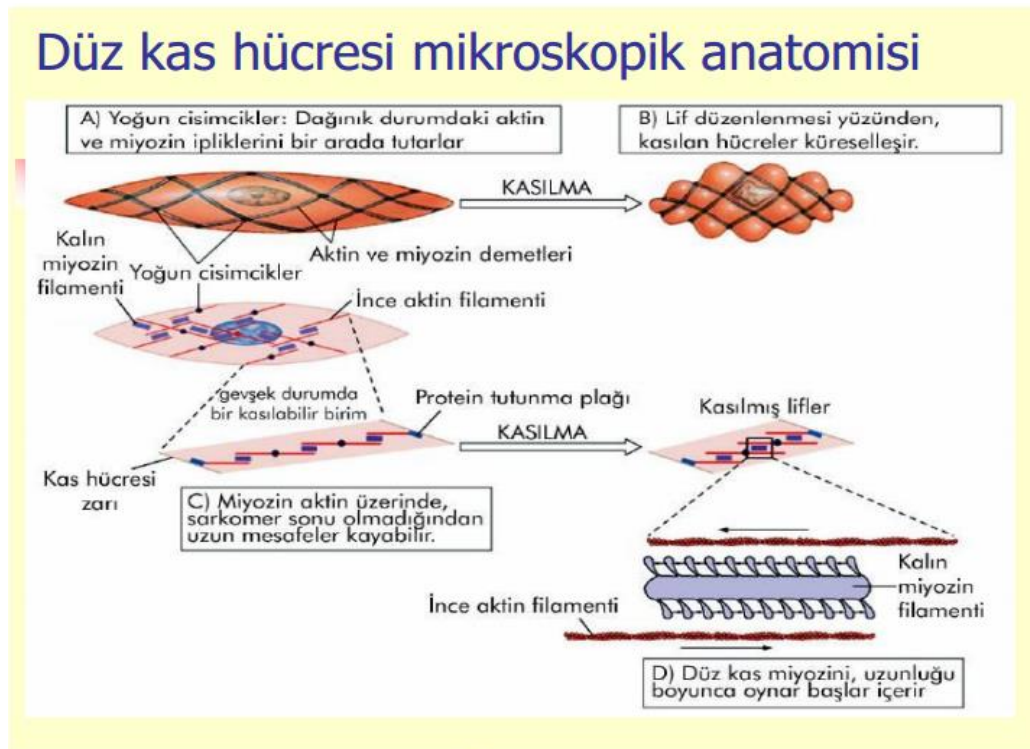
Şahin A.S. ve arkadaşları tavşan trakea düz kasında yapılan in vitro çalışmada, β -adrenerjik reseptör agonistleri izoprenalin ve salbutamolun bronkodilatör etkilerinin önemli ölçüde K^+ kanallarının aktivasyonu ile meydana geldiği, fosfodiesteraz inhibitörü olan teofilin ve aminofilin bronkodilatör etkilerinde ise K^+ kanallarının daha az rol oynadığı saptamışlardır (Şahin vd., 1999).

Çaycı K. ve arkadaşları sıçan trakea düz kasında estrus siklusuna bağlı olarak hormonal değişikliklerin, bronkokonstriktör ve bronkodilatör ajanlara karşı, solunum yolu hassasiyeti üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlamışlardır. Bu çalışmada estrus fazında trakea düz kasındaki asetilkolinle oluşturulan kasılmanın artması ve isoproterenol ile oluşturulan gevşemenin nedenlerinin; bronkokonstriktörler ve bronkodilatörlere bağlı olarak progesteron ve östrojenin artmasından ya da adrenerjik ve kolinerjik reseptörlerin duyarlılığı ve yoğunluğundaki değişikliklerden yada intraselüler Ca^{+2} hareketinin östrojeni indüklemesinden kaynaklanıyor olabileceğini düşünmüşlerdir (Çaycı, 2010).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Düz Kas

Mikroskopta incelendiği zaman çizgili görünmedikleri için bu adı alırlar. Çalışmaları otonomik sinir sistemi tarafından kontrol edildiği için istemsiz kaslar da denir (Mycek vd., 2001). Vücutta otonomik çalışan yapılardaki motorik veya mekanik fonksiyonlar düz kaslar tarafından yerine getirilir. Düz kas hücresi genelde, çizgili kas hücresine veya lifine göre daha incedir. Düz kas hücresinin çapı genellikle 2-5 μm aralığındadır. Düz kas hücresinin boyu 20-500 μm aralığında bulunur (Şahin vd., 1999; Ganong, 2011). Vücutta en çok sindirim, dolaşım, solunum ve ürogenital sistemler gibi içi boşluklu sistemlerde bulunur. İskelete bağlı değildir. Onun yerine mide, barsak, safra kesesi vb. organ ve yapıların duvarını döşer. Düz kas telleri genellikle paralel dizilmiş olmasına rağmen bulunduğu yere bağlı olarak değişik diziliş de gösterebilir (Mycek vd., 2001).



Şekil 2.1. Düz kas hücresinin mikroskopik anatomisi (<http://tip.uludag.edu.tr/temel-tip-bilimleri/fizyoloji/ders-notlari/duz-kas-fizyolojisi.pdf>).

Düz kaslar tek birimli düz kaslar (visseral düz kaslar) ve çok birimli düz kaslar olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Tek birimli düz kaslarda düz kas hücreleri birbirlerine birçok noktada

değerek yarık bağlantılar (gap junction) oluştururlar. Bu bağlantılardan iyonlar bir hücreden diğerine kolayca geçebilir. Böylece fonksiyonel bir sinsisyum oluşur ve düz kaslar geniş alanlarda birlikte kasılırlar. Tek birimli düz kaslı yapılara örnek olarak, iç organların çeperinde tabaka halinde bulunan düz kaslar, gastrointestinal, ureter, uterus ve safra yollarının düz kasları verilebilir. Çok birimli düz kaslar birbirinden ayrı düz kas liflerinden oluşur. Her bir lif diğerlerinden tamamen bağımsız olarak çalışır. Her lif bir sinir sonlanması ile innerve edilir. Çok birimli düz kaslara örnek olarak büyük damarların düz kasları, bronş çeperindeki düz kaslar, trakeada kıkırdak uçları arasında yer alan trachealis kası, gözde iristeki konstriktör ve dilatör düz kaslar ve ciltteki pilomotor düz kaslar verilebilir (Kayaalp, 1993; Guyton, 1999).

Düz kasın kasılabilir mekanizmaları çizgili kası andırmakla birlikte daha farklı bir şekilde organize olmuştur. İskelet ve kalp kasında olduğu gibi aktin ve miyozin filamentleri bulunur. Aktinden oluşan ince filamentler zardaki bağlanma yamalarına veya yoğun cisimlere bağlanırlar. Miyozin filamentleri ile yoğun cisimler ve bağlanma yamaları arasında kasılabilir bir ağ oluşturacak şekilde organize olmuşlardır (Ackerman, 2006).

Aktin ve miyozin filamentlerinin fiziksel örgütlenmesi bakımından düz kas hücreleri ile iskelet kası hücreleri arasında büyük farklar vardır. İskelet kasındaki aktin filamentini saran ve onun miyozinle etkileşmesini baskılayan tropomiyozin molekülleri ile onların bir ucuna bağlı olan, Ca^{+2} ile bağlandığı zaman kontraksiyon mekanizmasını tetikleyen troponin kompleksi (troponin I, T ve C'ler), düz kasta bulunmaz. Buna karşılık düz kasta bulunan ve kontraksiyon mekanizmasının Ca^{+2} /kalmodulin kompleksi ile tetiklenmesine aracılık eden miyozin hafif zincir kinazı (myosin light chain kinase), iskelet kasında bulunur; fakat tetiklemede rol oynamaz (Kayaalp, 1993).

Aktin filamentleri ile miyozin filamentleri arasındaki etkileşme ve kontraksiyon oluşması: düz kastaki miyozin çapraz köprü siklusu çizgili kastakine benzerdir; aktin filamanına tutunmayı takiben çapraz köprü ince filamanı kalın filamanın merkezine doğru iterek dişli çark etkisi oluşturur ve kuvvet meydana gelir. Bu anda miyozin başından adenosin difosfat (ADP) ve Pi serbestleşerek ATP'nin bağlanmasına izin verir. ATP, miyozinin aktine afinitesini azaltarak miyozinin aktinden ayrılmasını sağlar. Yeni bağlanan ATP'nin enerjisi daha sonra miyozin başında şekil değişikliği meydana getirmede (yani başı yeniden siklusa hazır hale getirmede) kullanılır. Böylece çapraz köprü bir diğer kasılma siklusu için hazırdır. Miyozin çapraz köprüsü fosforile kaldığı sürece çapraz köprü siklusu devam eder. Çapraz köprü siklusunun temel basamakları çizgili kas ve düz kas için benzer gözükmesine rağmen, çapraz köprü siklusu kinetiklerinin düz kas için daha yavaş olduğuna dikkat edilir (Berne vd., 2008).

Miyozin kalın filamanları iki yoğun cisim arasında kalır ve çizgili kasın sarkomerindeki kalın ve ince filamanların üst üste binmesine çok benzer şekilde, ince filamanların bir kısmının üstünü kaplar, kalın filaman içerisinde miyozin moleküllerinin iki kutuplu yerleşiminin, miyozin çapraz köprülerinin aktin filamanlarını kalın filamanın merkezine doğru çekmesine ve böylece düz kasın kasılmasına ve kuvvet gelişimine izin verdiği düşünülmektedir (Berne vd., 2008).

Kontraksiyonun durması ve gevşeme: Kalsiyum iyonunun sarkoplazmada kritik bir düzeyin altına düşmesi miyozin fosfatazın aktivasyonuna veya egemen duruma geçmesine neden olur. Bu enzim, fosforile edilmiş regülatör miyozin hafif zinciri molekülünden fosfat gruplarının koparılmasına neden olur (defosforilasyon). Söz konusu defosforilasyon çapraz köprülerin kafası ile aktinin aktif noktaları arasındaki etkileşmeyi inhibe eder. Bunun sonucu gevşeme olur (Kayaalp, 1993).

Fosforilasyon ve defosforilasyon ile düzenleme: Miyozin hafif zincir kinazının (MHZK) fosforilasyonu: Altı kısmından fosforile olur. Bunlar arasında cAMP bağımlı protein kinaz ile serin-815 bölgesindeki fosforilasyon önemlidir. Bu tür fosforilasyon MHZK'nın Ca^{+2} /kalmodulin bağlanma duyarlılığında belirgin azalmaya yol açar ve kasın kalmodulin bağımlılığında daha üst düzey $[Ca^{+2}]_i$ ihtiyaç duymasına neden olur. Bu olay Ca^{+2} duyarlılığında azalma olarak adlandırılır (Ackerman, 2006).

Miyozin düzenleyici hafif zincirin (MDHZ) fosforilasyonu: Kasın boyunun kısalma hızı ve oluşturduğu güç miyozin düzenleyici hafif zincirindeki (MDHZ) serin-19 kısmının fosforilasyonuna bağımlıdır. Bu reaksiyon Ca^{+2} /kalmodulin bağımlı MHZK tarafından katalizlenir ve miyozin hafif zincir fosfatazı (MHZF) ile geri döner. Buna göre, aktive MHZK'nın aktive MHZF'ye oranı düz kas aktivitesinin belirlenmesinde önemli rol oynar. Bu oran yüksek ise, daha fazla sayıda aktomiyozin çapraz köprüsü oluşur ve bağlanan ile bağlanmayan bölümler arasında hızlı bir şekilde geçiş gösterir. Bu oran düşük olduğunda fazla sayıda çapraz köprü kilitlemiş bir durum oluşturacak şekilde yavaş bir döngü gösterir. Düz kasın bir özelliği de $[Ca^{+2}]_i$, MHZK aktivitesi, MDHZ fosforilasyonu ve ilgili güç oluşumunda meydana gelen artışları, $[Ca^{+2}]_i$ ve MDHZ fosforilasyonunda azalmanın takip etmesidir. Ancak buna rağmen güç devam ettirilemez. Kilitli durum aktomiyozin çapraz köprülerinin yavaş bir döngü oluşturması ile ilişkilidir ve gücün az enerji harcanarak devam ettirilmesini sağlar. Kilitli durumu meydana getiren köprü sadece MDHZ defosforile olduğu ve ilgili miyozin başı aktine bağlı durumda kaldığı zaman ortaya çıkar. Hem MDHZ fosforilasyonunun ve hem de $[Ca^{+2}]_i$ 'nin istirahat-istihale düzeylerinin üstünde olmasını gerektirir (Ackerman, 2006).

MDHZ defosforilasyonu: Fosfataz aktivitesinin düzenlenmesi MDHZ fosforilasyonunun Ca^{+2} duyarlılığını değiştiren potansiyel bir mekanizmadır. Bu alanda olaya katılan fosfatazlar ve bunların düz kas tarafından düzenlenmeleri ile ilgili olarak yoğun araştırmalar yapılmaktadır (Ackerman, 2006).

Mandal mekanizması: Düz kas bir kez tam kasıldığında, kasın aktivasyonunu sürdürme derecesi genellikle başlangıç seviyesinin çok altına düşebilir, ancak kas yine de tam kasılma gücünü sürdürebilir. Ayrıca, kasılmayı sürdürmek için tüketilen enerji genellikle çok azdır, bazen eşdeğer iskelet kas kasılmasının sürdürülmesi için gerekli olan enerjinin 1/300'ü kadardır. Buna “mandal” mekanizması denir (Guyton, 2006).

Mandal mekanizmasının önemi, düz kasta az miktarda enerji kullanarak saatlerce tonik kasılmanın sürdürülebilmesini sağlamaktır. Az miktarda sinirsel ya da hormona uyarıya gereksinim vardır (Guyton, 2006).

Fazik kasılma sırasında miyoplazmik Ca^{+2} konsantrasyonu, çapraz köprü fosforilasyonu ve kuvvet en yüksek değerlerine ulaşır ve daha sonra taban değerlerine geri dönerler. Tersine, tonik kasılma sırasında miyoplazmik Ca^{+2} konsantrasyonu ve çapraz köprü fosforilasyonu başlangıçtaki zirveden sonra azalır, fakat taban değerlerine dönemezler. Bu sonraki dönemde kuvvet hafifçe artar yüksek bir düzeyde kalır. Çapraz köprülerin sadece %20-30'unun fosforile edilmesiyle kuvvet sürdürülür, böylece ATP kullanımı azalır. “mandal mekanizması” terimi kuvvetin düşük enerji tüketimiyle sürdürüldüğü bu tonik kasılma halini ifade eder.

Mandal mekanizmasının miyozin hafif zincirinin defosforilasyonunu yansıttığı düşünölmektedir. Miyozin hafif zinciri fosforile edildiğinde miyoplazmik Ca^{+2} konsantrasyonu yüksek kaldığı sürece çapraz köprü tekrar tekrar siklus yapmaya devam eder. Bununla birlikte, bağlı çapraz köprü miyozin fosfatazla defosforile edilirse çapraz köprünün yeniden siklus yapma hızı azalır. Çapraz köprünün ardı ardına yeni siklus yapma hızının azalması, çapraz köprülerin daha yavaş ayrılmasından kaynaklanır ve yeni bir siklusun başlayabilmesi için miyozin hafif zinciri yeniden fosforile edilmelidir. Miyoplazmik Ca^{+2} konsantrasyonu yüksek olduğunda çapraz köprülerin çoğu fosforile edilir (MHZK/miyozin fosfataz aktivite oranı yüksektir.) ve kasılma hızları veya kuvvet gelişme hızı nispeten yüksektir. Tonik kasılmalar sırasında miyoplazmik Ca^{+2} konsantrasyonu azaldığında çapraz köprünün defosforile edilme ve bitişik, kuvvet oluşturan yapıda daha fazla zaman harcama olasılığı artar. Bununla birlikte, miyozin hafif zincirlerinin düşük hızda Ca^{+2} bağımlı fosforilasyonu, kasılma için gereklidir. Ca^{+2} konsantrasyonu kalmoduline bağlanmak için ve MHZK'nın aktivasyonu için gerekli olanın altına düşerse kas gevşer (Berne vd., 2008).

Eksitasyon ve kontraksiyonun Ca^{+2} ile elektromekanik ve farmakomekanik kenetlenmesi: Düz kaslarda, kasılma olabilmesi için yani sarkoplazmik Ca^{+2} düzeyinin belirli bir eşik değeri üzerine yükselebilmesi için, mutlaka depolarizasyon olması gerekmez; bu kaslar hiç depolarizasyon olmaksızın da fizyolojik etkenler tarafından kasılabilirler (nöromedyatörler, hormonlar ve otakoidler gibi). Fizyolojik etkenler ve onların etkisini taklit eden ilaçlar tarafından depolarizasyon meydana gelmeksizin düz kas hücresinin kasılmasına farmakomekanik kenetlenme denilir. Düz kas kasılmasında elektromekanik kenetlenme olabilmesi için çizgili kasta farklı olarak mutlaka aksiyon potansiyeli şeklinde şiddetli ve hızlı bir potansiyel değişimi gerekmez, aksiyon potansiyeli yapmayacak kadar zayıf depolarizasyon dalgalanmaları da yavaş bir şekilde kasılmayı sağlayabilirler. Düz kaslarda, gene çizgili kaslardan farklı olarak, depolarizasyon esas olarak, Na^{+} akımına değil Ca^{+2} akımına bağlıdır. Bu bakımdan düz kaslar depolarizasyonda Ca^{+2} 'un katkısının bulunması nedeniyle kalp kasına benzerler (Kayaalp, 1993).

Düz kas membranında, yoğun biçimde voltaja bağımlı Ca^{+2} kanalları bulunur. Bunlar genellikle yavaş açılıp kapanan L tipi kanallardır. Düz kas hücrelerinde bunlar yanında, reseptörle çalıştırılan kalsiyum kanalları da vardır. Ayrıca bazı düz kaslarda voltaja bağımlı çabuk açılıp kapanan T (transient) tipi Ca^{+2} kanalları bulunur (Kayaalp, 1993).

Farmakomekanik kenetlenme sonucu meydana gelen kasılmanın düz kaslarda en yaygın görülen mekanizması, fosfoinozid hidrolizine bağlı transdükleme olayıdır. Belirli bazı agonistlerin reseptörleri, membranda fosfolipaz C ile bir G proteini aracılığıyla kenetlenmişlerdir. Enzimin aktivasyonu membran fosfolipidlerinden fosfatidilinozitol 2,4-bifosfat (PIP_2)'nin hidrolizine neden olur. Sonuçta meydana gelen inozitol 1,4,5-trifosfat (IP_3) ve diaçilgliserol (DAG) sitoplazmaya salıverilir. IP_3 ile birlikte çeşitli inozitol tetrafosfat izomerleri oluşur. IP_3 ve diğer inozitol fosfatlar, sarkoplazmik retikulum (SR)'dan ve diğer yerlerden sarkoplazmaya Ca^{+2} akışını artırır. IP_3 'ün etki yeri SR'dir ve SR membranı üzerinde IP_3 reseptörleri bulunur; bunların aktivasyonu bu membran üzerindeki özel kalsiyum kanallarını açarak Ca^{+2} 'un SR'den sitoplazmaya akmasına neden olur (Kayaalp, 1993).

IP_3 , fosfoinozid hidrolizi esasına dayanan farmakomekanik kenetlenme sonucu meydana gelen düz kas kasılmasında, kasılmanın başlangıçtaki kısmından sorumludur. Bunu SR'den salıverdiği Ca^{+2} aracılığı ile yapar, ikinci "ikinci ulak" olan DAG'nin, kasılmanın geç ortaya çıkan tonik fazına kalkışı, membrandaki protein kinaz C'yi aktive etmesi ile ilişkilidir. Protein kinaz C'nin aktivasyonu ile düz kasta Ca^{+2} 'dan bağımsız bir şekilde kontraksiyon meydana getirilebileceğini gösteren gözlemler vardır ve bu yanıtlar DAG benzeri etki yapan

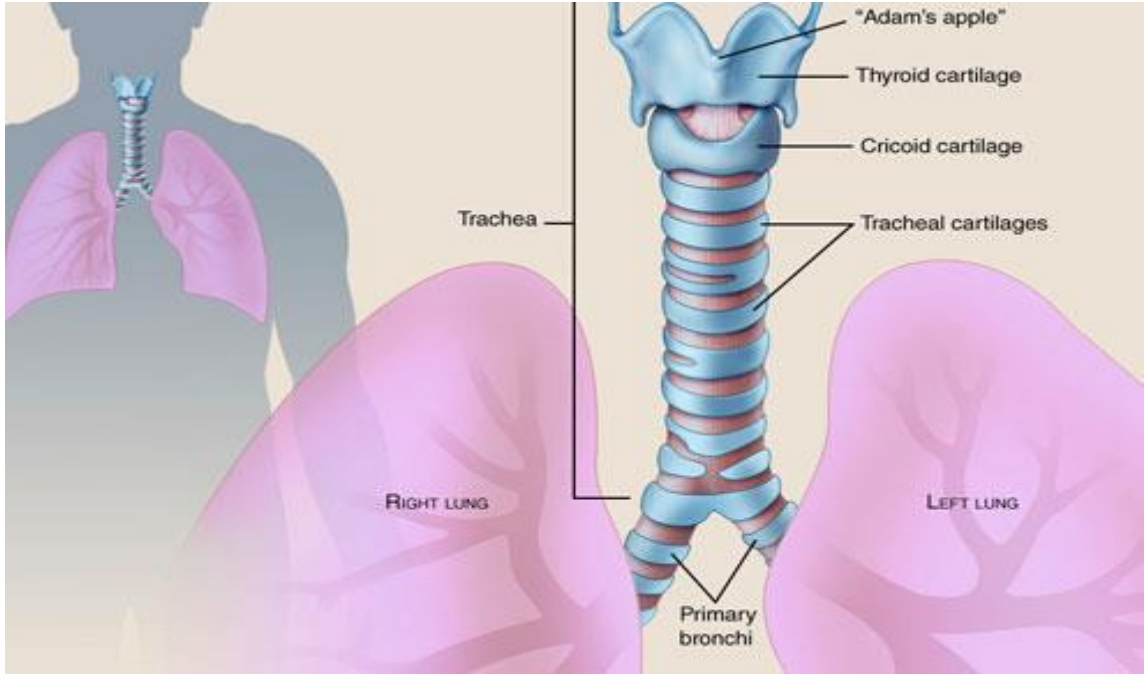
forbol esterleri ile de meydana getirilebilirler. Bu tür yanıtların; aktive edilen protein kinaz C tarafından, geç faz proteinleri denilen proteinlerin fosforile edilmesine bağlı olduğu bir varsayım olarak ileri sürülmüştür. Bu proteinlerin de protein kinaz niteliğinde olması mümkün görüldüğünden, protein kinaz C'nin bir kinaz kaskadını tetiklemesi söz konusu olabilir (Kayaalp, 1993).

2.1.1. Trakea

Trakea, mukoza ile kaplı, kıkırdak ve fibromuskuler membrandan yapılmış tüp şeklinde bir yapıdır. Anterolateral bölümü, "C" harfi şeklinde tam olmayan kıkırdak halkalar tarafından, posterior bölümü de düz kaslardan oluşur. 10-11 cm uzunluğunda olan trakea, larinksin devamında 6. servikal vertebra seviyesinden 5. torakal vertebranın üst sınırına kadar uzanır ve buradan itibaren sağ ve sol olmak üzere iki ana bronşa uzanır. Hemen hemen sagittal planda bulunan trakea, bifurcatio tracheae seviyesinde bir miktar sağa meyleder. Trakea mobildir ve derin inspirasyonda boyu hızlıca değişebilir, bifurcatio tracheae 6. torakal vertebra seviyesine kadar uzanır. Dış transvers çapı genellikle erişkin erkekte 2 cm, erişkin kadında 1,5 cm'dir. Canlıda lümenin transvers çapı ortalama 12 mm iken ölüm sonrası arka duvardaki düz kaslar gevşediği için bu çap artar (Özlü vd., 2010).

Trakea ve ekstrapulmoner bronkuslarda, fibröz doku ve düz kas liflerinin yanı sıra tam olmayan halkalar şeklinde hyalin kıkırdak bulunur. Trakeal kıkırdakların sayısı 16 ile 20 arasında değişir. Önde kıkırdaklar, trakea çevresinin yaklaşık olarak 2/3'ünü saran yarım halka şeklindedir. Kıkırdağın bulunmadığı, paries membranaceus adı verilen arka yüzde ise fibroelastik doku ve düz kas lifleri bulunur ve bu bölüm sayesinde yutkunma esnasında arka komşuluğunda bulunan yemek borusu daha fazla genişleyebilir. Bu kıkırdaklar horizontal olarak ve aralarında ince bir aralık kalacak şekilde dizilmişlerdir. 4 mm yüksekliğinde ve 1 mm kalınlığında olan bu kıkırdakların dış yüzleri vertikal yönde düz, iç yüzleri ise konvektir. Kıkırdakların iki veya daha fazlası birleşebilir ve uçlarında çatalı olabilir. İleri yaşlarda kalsifiye olabilirler (Özlü vd., 2010).

Birinci ve sonuncu kıkırdaklar diğerlerinden farklıdır. Birinci kıkırdak en büyük olanıdır ve sıklıkla bir ucu çatalıdır. Cartilago cricoidea'nın alt ucuna bir bağla tutunur. Ayrıca ikinci kıkırdakla da bazen kaynaşabilir. Sonuncu kıkırdağın orta bölümü kalın ve geniştir. Bu kıkırdağın alt kenarı aşağı ve arkaya doğru üçgen şeklinde çengellidir. Bronşiyal seviyesinde kıkırdaklar artık görülmez ve bu durum klinik olarak astım patofizyolojisinde önemlidir (Özlü vd., 2010).



Şekil 2.2. Trakea anatomisi (<http://www.webmd.com/lung/picture-of-the-trachea>).

Tunica mucosa: Trakeanın iç yüzü, bütün solunum yollarında olduğu gibi çok katlı tüylü epitel ile örtülüdür. Tüylerin hareketleri ile meydana gelen akıntı larinkse doğru yönelmiştir. Mukozayı örten epitel hücreleri arasında çok miktarda müköz salgı yapan çanak hücreleri bulunur. Bundan başka tunica submucosada serömüköz bezler bulunur (Gray, 1974; Odar, 1984).

Trakea sinirlerini (parasempatik lifler) nervus recurrens ve nervus vagustan alır. Sempatik lifler de truncus sympathicustan gelirler (Gray, 1974; Odar, 1984).

Memeli solunum yolları zengin kolinerjik innervasyon alır. Kolinerjik efferent sinirler beyin sapının vagal nukleusundan çıkar ve solunum yolu duvarında yerleşmiş olan ganglia ile sinaps yapmak için nervus vagusa geçer. Bu gangliadan, oldukça kısa postganglionik lifler düz kas hücrelerine geçerler (Barnes, 1987).

Birçok türün solunum yolları hem parasempatik hem de sempatik nöral yollarla innerve olur. Parasempatik innervasyon üstün nöral yoldur ve kolinerjik sinir terminallerinden serbestleşen Ach hakim kasılma mekanizmasını oluşturur. Diğer tarafta nörotransmitter olarak noradrenalini kullanan sempatik innervasyon solunum yolu gevşemesine neden olan inhibisyonu yapar (Barnes, 1987; Zaagnasma vd., 1987).

İnsanda noradrenerjik innervasyonun olmasına uygun olarak, merkezi (trakea ve bronşlar) ve periferik (bronşiyoller) solunum yolu düz kasının gevşemesi noradrenalinini de içeren katekolaminler tarafından sadece β_2 -adrenoseptörler aracılığıyla düzenlenir (Zaagnasma vd., 1987).

Solunum yolu otonomik innervasyonu karmaşıktır. Bronkokonstrüksiyona yol açan klasik kolinerjik yolağı ve bronkodilasyona yol açan adrenerjik mekanizmaya ek olarak bir otonomik kontrol komponenti daha tanımlanmıştır. Kısaca NANC olarak ifade edilen kolinerjik veya adrenerjik etki altında olmayan bir mekanizmadır. Otonomik sinirler solunum yolu tonusunu solunum yolu düz kaslarındaki spesifik reseptörlerini aktive ederek etkilerler. NANC sisteminin nörotransmitterleri belirli değildir. NANC sinirlerinin hem bronkodilasyon hemde bronkokonstrüksiyon yaptığı bildirilmiştir (Ammar vd., 2013).

2.2. Astım

Astım bronkokonstrüksiyonun bir sonucu olarak zaman zaman veya kronik olarak ortaya çıkan hırıltı, öksürük ve göğüste bir daralma hissi ile karakterizedir. Morbitide ve mortalitesi artmaktadır ve yoğun araştırmalara karşılık esas nedeni hala bilinmemektedir. Ancak 3 anomali gözlenmektedir. Kısmen geri dönebilen hava yolu tıkanması, hava yollarında iltihap ve çeşitli uyaranlara karşı aşırı duyarlık. Alerji ile bağlantı uzun süre önce tanımlanmıştır ve plazma Ig E düzeyleri genellikle yükselmiştir. İltihabi reaksiyonda eozinofillerden protein serbestlenmesi hava yolu epiteline zarar verebilir ve aşırı duyarlık oluşumuna katılabilir. Lökotrienler; eozinofiller ve mast hücrelerinden serbestlenirler ve bronkokonstrüksiyona neden olurlar. Hava yollarındaki duyu sinirlerinden serbestlenen taşıkininler de olaya katılabilirler ve bronkodilatör vazoaaktif intestinal peptit eksikliği için de bazı deliller vardır. Astım nöbetleri gecenin geç saatleri ile sabahın erken saatlerinde daha şiddetli olup bunun nedeni, yukarıda belirtildiği gibi bu saatlerin bronş tonusunun sirkadiyen döngüsünde maksimum bronş büzülmesinin görüldüğü devreler olmasıdır. Normal olarak bronkokonstrüksiyona neden olan hem soğuk hava hem de egzersiz astım nöbetlerini tetikler ve her ikisinin de etkisi lökotrien sentezi veya etkisini inhibe eden maddeler tarafından önlenir. β -adrenerjik reseptörler bronkodilasyona aracılık eder ve astım için β -adrenerjik agonistlerinin solunması standart tedavidir. Muskarinik reseptörler bronkokonstrüksiyona aracılık eder ve tedavide muskarinik kolinerjik blok yapan ilaçlar da kullanılır. Genellikle buna ek olarak kullanılan ilaçlardan kromolin mast hücre ürünlerinin serbestlenmesini, glukokortikoidler ise iltihap cevabını (yangı yanıtını) inhibe eder (Ganong., 2011).

Beta-adrenerjik agonistlerin nonselektif olmaları kullanımlarını kısıtlamaktadır. Bronkodilatör amaçlı olarak sadece selektif Beta2-agonistler; havayolları düz kas hücreleri yüzeyindeki beta2-reseptörleri direk olarak stimüle ederler. Reseptörün aktive olması ile hücre içi kalsiyum düzeyini düşürme yönünde intersellüler mekanizmalar işler. Beta2-agonistler, kalsiyum seviyesini azaltarak düz kas relaksasyonu sağlamaları yanı sıra diğer bazı mekanizmalarla da bronkodilatasyona katkı oluştururlar (Özlü vd., 2010).

Antikolinerjikler; muskarinik reseptörlerin spesifik antagonistleridir ve bu reseptörlerin blokajı ile uyarı geçişini engelleyerek bronkodilatör etki gösterirler. Solunum sisteminde baskın otonom sinir sistemi parasempatik sistemdir. Normal havayollarında hafif düzeyde kolinerjik vagal tonus bulunur. Nervus vagus'un lifleri havayolları ile birlikte ilerleyerek peribronşiyal ganglionlarda sinaps yapar. Ganglionlardan çıkan vagus sinirleri havayolları düz kaslarını, submukozal mukus bezlerini ve damarları innerve eder (Özlü vd., 2010).

Yılmaz İ. Tarafından kobay trakea düz kas preparatlarında muskarinik sistemin işleyişinin değerlendirilmesi amacıyla hem muskarinik hem de nikotinik özellik gösteren karbakol ile oluşturulan kasılmalar oluşturulmuş ve buna karşı papaverinin gevşeme etkisine bakılmıştır. Karbakol trakea düz kasında bulunan muskarinik reseptörleri uyararak inozitol trifosfat ve diaçilgliserol üzerinden hücre içi kalsiyum düzeyini artırmak suretiyle düz kasta kasılma oluşturmuştur. Papaverin, selektif olmayan bir şekilde siklik nükleotid fosfodiesteraz enzimini inhibe etmek suretiyle hücre içi cAMP düzeyini artırarak ve hücre içine kalsiyum girişini azaltarak düz kaslarda gevşemeye neden olmuştur. Papaverinin oluşturduğu bu gevşemenin reseptörlerden bağımsız gevşeme olduğu bilinmektedir (Yılmaz, 2011).

Teofilin (1,3-dimethylxanthine) bir metilksantindir ve yapısal olarak bir ksantin türevidir olan kafeine benzemektedir. Teofilin astım ve KOAH' da bronkodilatör olarak kullanılması yanı sıra düşük dozlarda kullanıldığında hafif bir antiinflamatuvar etki de gösterir. (Özlü vd., 2010). Astım' da kontrol edici ilaç olarak yer almasına rağmen eldeki bulgular bu etkisinin kuvvetli olmadığını göstermektedir. Ayrıca yan etkilerinin de sık görülmesi nedeniyle kullanımı gittikçe azalmaktadır (Özlü vd., 2010).

Patolojik durumlarda mast hücrelerinden ve iltihap dokusu hücrelerinden lokal olarak salıverilen endojen etkin maddeler (otokoidler) de direkt ve refleks etkileriyle bronş ve bronşiyollerde genellikle büzülme yaparlar. Bunlardan histamin, bazı lökotrienler (özellikle LTC₄, LTD₄ ve LTE₄), hidroksieikozatetraenoik asitler, prostaglandin F_{2α}, çeşitli kemotaktik faktörler, tromboksan A₂, bradikinin ve oksijen radikalleri güçlü bronkokonstriktör etkinlik gösterirler; buna karşılık prostaglandin E'ler ve prostasiklin bronkodilatör etkinlik gösterirler.

Prostaglandinler, prostasiklin ve tromboksan A₂, araşidonik asidin siklooksijenaz enzimi tarafından etkilenmesi sonucu oluşan ürünlerdir; hidroksieikozatetraenoik asitler ve lökotrienler ise lipoksijenaz ürünleridir. Bir zamanlar akciğerlerde oluştuğu gösterilen “slow reacting substance of anaphylaxis” (SRS-A) maddesinin esas olarak LTC₄, LTD₄ ve LTE₄ karışımından ibaret olduğu son zamanlarda gösterilmiştir. Adı geçen lökotrienlerin bronşiyal astmalıda bronkospazm oluşmasında başrolü oynadıkları sanılmaktadır. Yukarıda sayılan otokoidler mukozadan mukus salgılanmasını artırır ve mukoza ödemeine de neden olurlar. Bronşiyal astmalı hastalarda aspirin ve benzeri siklooksijenaz inhibitörü antienflamatuar analjezik ilaçların krize neden olmaları, PGE oluşumunun azalması sonucu bronkokonstriktör prostaglandinlerle bronkodilatör prostaglandinler arasındaki dengenin bronkokonstriktör olan lipoksijenaz ürünleri lehine bozulmasına bağlanmaktadır (Kayaalp, 1988).

2.3. Asetilkolin (ACh) Ve Reseptörleri

Otonomik sinir lifleri salıverdıkları nörotransmitterlerin kimyasal yapısına göre iki gruba ayrılabilirler. İletişimi asetilkolin sağlıyorsa, nöron kolinerjik olarak adlandırılır. Asetilkolin hem sempatik hem de parasempatik sinirlerin gangliyonlarında iletişimi sağlar. Aynı zamanda adrenal medullada da nörotransmitterdir. Parasempatik sistemin postgangliyonik sinirleri ile efektör hücre arasındaki iletişim asetil kolin ile sağlanır. Somatik sinir sisteminin nöromüsküler kavşağında (sinir sistemi ve istemli kaslar arasında) da iletişim kolinerjiktir (Mycek vd., 2001).

Asetilkolin reseptörleri, tarihsel olarak farmakolojik özellikleri esas alınarak 2 ana tipe ayrılırlar. Toksik bir mantar alkaloidi olan muskarin, otonom gangliyonlardaki reseptörler üzerinde az bir etkiye sahip olmasına rağmen düz kaslar ve salgı bezlerinde asetilkolinin uyarıcı etkisini taklit eder. Bu nedenle, asetilkolinin bu etkilerine müskarinik etkiler ve bu olayda rol alan reseptörlere müskarinik reseptörler adı verilir. Atropin asetilkolinin bu etkilerini bloke eder. Sempatik gangliyonlarda az miktarda asetilkolin postgangliyonik nöronları uyarırken fazla miktarda asetilkolin pregangliyonik nöronlarda postgangliyonik nöronlara implus iletimini bloke eder. Atropinden etkilenmeyen bu etkiler nikotin tarafından taklit edilir (Ganong., 2011).

Sonuç olarak asetilkolinin bu etkilerine nikotinik etkiler ve bu reseptörlere de nikotinik reseptörler denir. Nikotinik reseptörler, nöromüsküler kavşaklarda ve nöronlar arası kavşaklarda bulunanlar diye iki alt gruba ayrılırlar. Beyinde hem müskarinik hemde nikotinik asetilkolin reseptörleri çok sayıda bulunur (Ganong, 2011).

Solunum yolu düz kasındaki muskarinik reseptörlerin aktivasyonu kasılmaya neden olur. Bu, hücre içi depolardan kalsiyum iyonlarının serbestleşmesiyle sonuçlanan zar fosfoinositidlerinin yıkılmasıyla oluşur. Muskarinik reseptör aktivasyonu ve fosfoinositid turn over'ı arasında yakın bir ilişki vardır. Muskarinik reseptörlerin aktivasyonu aynı zamanda adenilat siklazı inhibe eder, en önemlisi cAMP konsantrasyonunu azaltır (Barnes, 1987; Zhong, 1996).

Hücre içi serbest Ca^{+2} konsantrasyonundaki ($[Ca^{+2}]_i$) artmanın, düz kas kasılmasının bir uyararı olduğu uzun zamandan beri biliniyor. $[Ca^{+2}]_i$ 'yi artırmak ve kasılmayı başlatmak için, Ca^{+2} 'nin tesirini arttıran çok sayıda kontraktıl agonist bulundu. Ca^{+2} duyarlılığı düzenlenmesinde sinyal iletim yolları kompleks ve düz kas tipine spesifiktir. Birçok düz kas preparatlarında, agonist teşvikli Ca^{+2} duyarlılığı artmasında veya Ca^{+2} teşvikli kasılmaların etkisinin artmasında G-proteininin aracılık ettiği miyozin hafif zincir fosfatazının inhibisyonuyla sonuçlanan şelale (kaskat) reaksiyonları etkilidir. Bu miyozin hafif zincir fosforilasyonunun oranındaki artışla birlikte birleşmiş çapraz köprülerin sayısının artmasına ve bu da kuvvetin artmasına öncülük eder. Bu olayda tirozin kinazlar, protein kinaz C ve kalpenin gibi ince filamentler de görev alır (Hirshman vd., 1999).

M3 muskarinik reseptör solunum yolu düz kasının kasılmasına aracılık eden ana muskarinik reseptör olarak görev yapar. Ach, solunum yollarının kasılmasını indükler ve parasempatik sinirleri uyarır M3 muskarinik reseptörlerden salınır. Parasempatik sinirlerden salınan Ach'in miktarı, nöronal M2 muskarinik reseptörleri tarafından yerlerine göre sınırlandırılır. Astımdaki M2 muskarinik reseptörlerin fonksiyon bozukluğu Ach'in salınımını artırır ve solunum yolu hiperaktivitesini başlatır (Long, 2009).

Samseny ve arkadaşları tarafından Ach ile pre-kontrakte edilmiş guinea-pig trakea düz kasında *D. cinerea* bitkisinin matanolik ekstraktı ve atropinin (1×10^{-5} mg/ml) kümülatif dozları uygulanmış. trakea gevşemesinde kolinerjik reseptörlerin etkisine bakmak için kolinerjik reseptör agonisti olan Ach'nin bronkospazmı uyardığı ve kolinerjik muskarinik reseptörlerin antagonisti olan atropinin bu durumu tamamen ortadan kaldırdığı görülmüştür (Samseny vd., 2011).

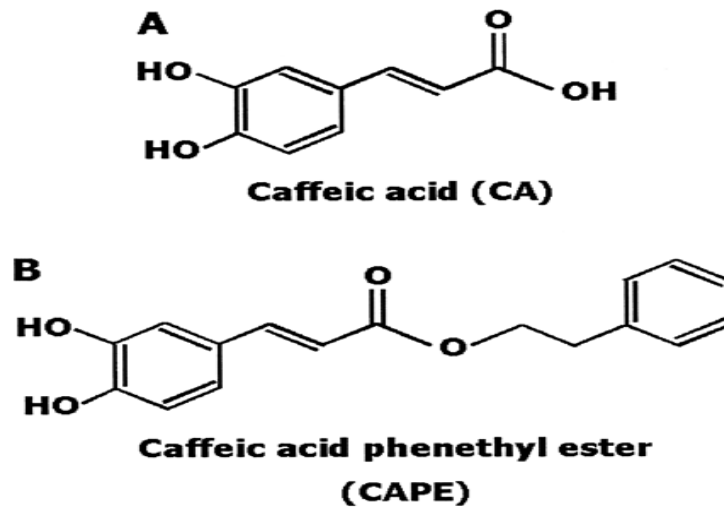
2.4. Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)

CAPE, bal arısı tarafından yapılan balda bulunan ve daha önceden antiinflamatuvar, antioksidan, antiviral, antikanserojen, antiapoptotik, immünmodülatör özellikleri daha önceki çalışmalarda ispatlanmış, flavonoid benzeri yapıda bir bileşiktir. İnsan vücudundaki normal

hücrelere karşı bilinen hiçbir zararlı etkisi bulunmamaktadır. Arı kovanlarının çatlak ve hasarlanmış yerlerinin tamirinde, dış ortamdan izole edilmesinde, giriş deliklerinin daraltılmasında, kovanın içine giren zararlı maddeler, mikroorganizmalar ve böceklerin mumlanarak etkisiz hale getirilmesinde propolis kullanılmaktadır. Propoliste yaklaşık 100 çeşitten fazla bileşen bulunmuştur. Propolis arıların bitkilerden topladığı maddelere göre değişmektedir. Flavanoidler, caffeic acid ve esterleri propoliste en fazla bulunan ve propolisin biyolojik olarak aktif bileşenidir (Kumpul, 2007).

CAPE'nin yapısı ve kimyasal özellikleri:

CAPE'nin iki halkasal yapısı vardır. Halkalardan bir tanesinde molekülün hemen hemen bütün kimyasal özelliklerini gösteren ve fonksiyonel olan iki '-OH' grubu vardır. Hidroksil grupları, aktif bir şekilde elektron alıp vererek oksitleyici ve redükleyici özellik gösterirler. Çok uzun aromatik ve alifatik yapıda karbon grupları taşıdığı için aynı zamanda lipofilik özelliktedir (Kumpul, 2007). Böylece molekülün hücre membran yapılarından geçmesi ve etki edeceği bölgeye ulaşması kolaylaşır.



Şekil 2.3. Kafeik asit ve kafeik asit fenetil esterin molekül yapısı (Akyol vd., 2011).

CAPE'nin fonksiyonel özellikleri:

Canlılar üzerindeki bu olumlu etkileri çeşitli faktörlere dayandırılabilir. CAPE; 10 µmol/kg konsantrasyonda ksantin-ksantin oksidaz sistemini ve reaktif serbest oksijen radikali oluşumunu bloke etmektedir. Bu durum, yapılan birçok çalışmada poliansature yağ asitlerinin oksidasyonuna sekonder olarak oluşan malondialdehid düzeyini anlamlı ölçüde düşürmesi ile doğrulanmaktadır. CAPE'nin protein tirozin kinaz, siklooksigenaz (non-spesifik olarak) ve

lipooksijenaz aktivitesini baskıladığı ve böylece lipid peroksidasyonunu engellediği gösterilmiştir (Kumpul, 2007).

CAPE'nin antiinflamatuvar etkinliği yapılan çalışmalarda Diklofenak ve Hidrokortizon ile eşdeğer bulunmuştur (Kumpul, 2007).

Nükleer faktör kappa B (NF-κB), rel mutagen ailesine bağlı bir transkripsiyon faktörüdür ve immünite ve inflamasyon döngüsünde rol oynayan pek çok geni aktive etmektedir. NF-κB'nin regülasyonunda bozulma graft versus host hastalığı, toksik çok, kanser ve akut inflamatuvar hastalıklar gibi birçok patolojide rol oynar. Ayrıca apoptozisde önemli bir ajandır. NF-κB proteinleri stoplazmada inaktif olarak bulunmaktadır. Aktivasyon bakteriyel yapı taşları, oksidatif stres ve protein sentez inhibitörleri ile olmaktadır. Reaktif oksijen radikalleri, NF-κB için ikincil haberci rolü oynamaktadır. CAPE, zgl olarak NF-κB'yi bloke ederek ve oksijen radikallerini bloke ederek başta TNF-α olmak üzere birçok inflamatuvar ajanları bloke etmektedir. CAPE'nin glukokortikoid reseptörlerinden bağımsız olarak inflamatuvar hücrelerde apoptozisi önlediği de gösterilmiştir (Kumpul, 2007).

NF-κB 'nin inflamatuvar olayda ve oksidan streste önemli yeri olduğu gösterilmiştir. CAPE, zgl olarak NF-κB'yi bloke ederek ve oksijen radikallerini bloke ederek başta TNF-α olmak üzere birçok inflamatuvar sitokinleri bloke etmektedir. Nitrik Oksit ile süperoksit radikalinin ilk biyokimyasal ürünü, özellikle DNA'yı okside eden kısa ömürlü bir serbest radikal olan peroksinitrittir. CAPE, nitrik oksit sentetaz enzim aktivitesini bloke ederek ve süperoksit dismutaz enziminin kullanımını engelleyerek etkin olmaktadır. CAPE'nin inducible Nitrik Oksit Sentetaz (iNOS) aktivitesini, iNOS zerindeki NF-κB bağlantı noktalarını bloke ederek inhibe ettiği gösterilmiştir (Kumpul, 2007).

CAPE nin antioksidan etkisi:

CAPE, linoleik asit ve araşidonik asitin 5-lipooksijenaz tarafından oluşturulan oksijenasyonunu inhibe eder. Yaklaşık olarak 10 μmol/L konsantrasyonunda in vitro koşullarda nötrofiller veya ksantin/ ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan reaktif oksijen türlerini tamamen bloke eder. CAPE, antioksidan özelliğini zincirinde bulunan iki hidroksil grubu ile sağlamaktadır (Kumpul, 2007).

Ammar ve arkadaşları tarafından propolisin, astımda olası immun modülatör/ antiinflamatuvar etkilerinin olup olmadığı araştırmıştır. Propolis etanol ekstraktı ile inkübe edilen pasif bir şekilde hazırlanmış trakeal zigzagda, ovalbuminle indüklenmiş kasılmalar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli bir azalma olduğu gözlenmiştir. Bu etki kalsiyum

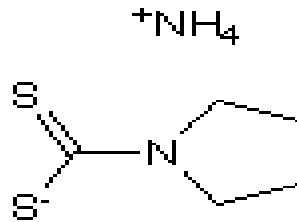
mobilizasyonunun yanı sıra ATP'ye duyarlı Ca^{+2} 'un, K^+ kanallarının ve çözünebilir guanilat siklazın aktivasyonunda nitrik oksitin salınmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Ammar vd., 2013).

Cicala ve arkadaşları CAPE'nin PE ile pre-kontraksiyonunun konsantrasyona bağlı gevşeme etkisi olduğu saptanmıştır. Endotel kaldırılması ve L-NAME uygulamaları sayesinde pre-kontraksiyonun azaldığını görmüşlerdir. Bu çalışma CAPE için bir vasküler aktivitenin, kısmen nitrik oksite bağlı olduğunu göstermiştir. Muhtemelen hücre zarlarında hareket eden kalsiyum üzerindeki inhibitör etkisinden dolayı vazorelaksan etki endotel yokluğunda da ortaya çıkmıştır (Cicala vd., 2003).

2.5. Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate

Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate cAMP tarafından üretilen mRNA NO-sentazın oluşumunu etkilemeden interlökin-1 sayesinde mRNA NO-sentazının artmasını önleyen nükleer faktör κB 'nin (NF- κB) inhibitörüdür (http://www.tocris.com/dispprod.php?ItemId=1161#.U4za-Pl_sXF).

Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate tavşanların duodenumunda yapılan bir çalışmada ACh tarafından oluşturulan kasılmada lipopolisakkaritlerin etkisini engellemiş ve $I\kappa B\alpha$ inhibitörünün ($I\kappa B\alpha$ inhibitörü bozularak Hodgkin lenfomasını meydana getirebilir) bozulmasını önlemiştir (Hernandez vd., 2011).



Şekil 2.4. Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate'nin yapısı (http://www.tocris.com/dispprod.php?ItemId=1161#.U4za-Pl_sXF).

2.6. Atorvastatin Kalsiyum

Lipit düşürücü ilaçlar grubu olan statinler (veya HMGKoA redüktaz inhibitörleri) yüksek kan kolesterol düzeylerinden dolayı kardiyovasküler hastalık riski taşıyan kişilerde kolesterolü düşürmek için kullanılırlar. Atorvastatin, statin grubu bir antihiperlipidemik ilaç olup, 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim a (HMG-KoA) redüktaz enziminin selektif kompetitif

inhibitörüdür. Bu gruptaki ilaçlardan farklı olarak hiperkolesterolemisi olan hastalarda yükselmiş LDL kolesterolü ve trigliserit düzeylerinin her ikisini birden düşürme endikasyonuna sahip tek ilaçtır (Temir vd., 2013). Statinlerle yapılan anjiyografik kontrollü çalışmalarda statin verilen grupta lezyon çapında ve miktarında minimal gerileme olmakla birlikte belirgin klinik düzelme ya da klinik olay görülme sıklığında belirgin azalma görülmüş; bu durum araştırmacıları statinlerin tek etkisinin kolesterol düzeyi üzerinde olmadığını, başka mekanizmaların da bu olumlu sonuçlardan sorumlu olabileceğini düşündürmüştür. Bu parametreler arasında aterom plağının stabilizasyonu, endotel disfonksiyonunun iyileştirilmesi, trombojenitenin azalması, platelet agregasyonunun azalması, ventriküler aritmilerin azalması, monosit aktivasyonu ve adhezyon molekülü ekspresyonunun azaltılması, antioksidan etkiler, akut koroner sendromlarda inflamasyonu azaltıcı etkiler (CRP ve diğer inflamatuvar belirleyiciler), anjiotensin II reseptörlerinin down regülasyonu ve immün yanıtın düzenlenmesi gibi mekanizmalar sayılabilir. Statinlerin günümüzde üzerinde en çok durulan etkileri aterom plağını stabilize edici etkileridir. Bu etkiyi hücre dışı ve makrofajlardaki lipid içeriğinin azaltılması, proinflamatuvar sitokinlerin (IL-6, TNF-a gibi) oluşumunun azaltılması, neointimada inflamasyonun azalması, makrofajlardan MMP-9 salımını azaltarak fibröz kılıfın bütünlüğünün korunması, kalsifikasyonun azalması ve kollagen içeriğinin artması yoluyla göstermektedirler. Statinler LDL-kolesterolü düşürücü etkilerinin yanı sıra şilomikron ve VLDL kalıntılarını azaltarak, endotel fonksiyonlarını düzelterek, antiinflamatuvar etkileri ile ayrıca trombozu azaltıp düz kas hücre fonksiyonları üzerine olumlu etkileri yoluyla akut koroner sendromlarda da kullanıma girmiştir (Müderrişoğlu, 2002).

Atorvastatinin izole sıçan aorta halkalarında spazmojen ajanlara karşı reaktivitesi üzerindeki inhibitör etkisinin olup olmadığını araştıran (Alp., 2002), konsantrasyona bağımlı olarak Nöradrenalin (NA), Endotelin-1 (ET-1) ve KCl gibi spazmojen ajanların kastırıcı etkilerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde inhibe ettiğini gözlemlemiştir. Bu inhibitör etkininde NA ve ET-1 kasılmaları için mevalonat yolağı inhibisyonu üzerinden olduğu; K⁺ kasılması için ise voltaj bağımlı kanallardan hücre içine kalsiyum girişinin engellenmesi ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Bu sayede atorvastatinin kolesterol düşürücü etkiden bağımsız bir mekanizma ile, vasküler reaktivite üzerinde akut bir etkisi olduğu gözlenmiştir (Alp, 2002).

2.7. Sg-Benz

SG-Benz(N-(diaminomethylene)-4-(1,8-dioxo-9-phenyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroacridin-10(9H)-yl)benzenesulfonamide) bir acridine sulfonamide türevidir. Sulfonamidler gram pozitif ve negatif bakterileri, streptokok piyojen ve pnömania' yı, Basillus

antrasisin bazı türlerini, Korinobacter, Nokardia, Klamidia trokomatis ve difteriaların bazılarını, Hemofilus influenza, Ducrei, Brucella, Vibrio kolera, Aktinomices ve protozoonları in vitro inhibe ederler (Sağduyu, 1992).

2002 yılında Berkan ve arkadaşları tarafından akrindion türevleri sentezlenmiş ve bunların tavşandan izole edilen torasik aort düz kasında fenilefrin ile oluşturulmuş kasılma yanıtları üzerindeki gevşemelerin kaynağının mekanizması ve vasküler potasyum kanallar üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada akridin türevlerinin konsantrasyona bağlı olarak tavşan aortik halkalarında gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir. ATP'ye duyarlı potasyum kanallarının açılmasından dolayı gevşemeler gözlenmiştir (Berkan vd., 2002).

Imenshahidi M. ve arkadaşları tarafından acridine türevleri olan 3,3,6,6-tetramethly 1-9aryl-octahydro- 1,8- acridindionların sentezlenmesi ve incelenmesi amaçlanmıştır. Onların sıçandan izole edilen aortik düz kas halkalarındaki fenilefrin ile uyarılmış kasılma yanıtları üzerine oluşan gevşemenin mekanizması ve vasküler potasyum kanalları üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Standart potasyum kanal açıcısı olan minoxidil gibi acridine'de potasyum kanal açıcısı olarak kullanılmıştır. Fenilefrin ile pre-kontrakte edilmiş sıçan aortik düz kasının izole halkaları üzerinde minoxidil ve acridine türevlerinin bileşenleri gevşetici etki yapmıştır. Ancak acridine etkisinin minoxidile göre daha az olduğu saptanmıştır (Imenshahidi vd., 2010).

Thiocarbamide ve sulfonamide'lerin anti-thyroid tesir gösterdiklerini ilk defa MacKenzie ve arkadaşları bildirmiştir. Bu müellifler pürifiye edilmiş diyetlerine sulfoguanidine ilâve edilmiş sıçanların thyoid'lerinin büyüdüğünü ve bazal metabolizmalarının azaldığını görmüşlerdir. Klinikde de ehemmiyetli derecede sulfonamide verilmesi ile thyoid fonksiyonunda bir azalma görülmektedir (Atasağungil, 1963).

2.8. Dmsö

Suda çözünemeyen birçok ilaç için başka çözücülere gereksinim vardır. Yapısal özelliklerinden dolayı dimetilsülfoksit (DMSO) birçok kimyasal maddenin çözücüsü olarak kullanılan bir ajandır. Farmakolojik çalışmalarda DMSO ile ilgili olarak, membran transportu ve bağ dokusu üzerine etkileri, inflamasyon, diğer ilaçların etkisini artırma veya azaltma yönündeki etkileri, kolinesteraz enzim inhibisyonu ve düz kas gevşetici etkileri bildirilmiştir (Murat vd., 2005).

Serbest oksijen radikal üretimi düz kas kasılmasının önemli mekanizmalarından biridir. DMSO ağırlıklı olarak hidroksil radikallerine spesifik bir serbest oksijen radikal toplayıcısıdır.

Bu özelliğinden dolayı ince bağırsak, böbrek gibi farklı dokuların kaslarında reperfüzyona bağlı zedelenmeyi de önlemektedir (Murat vd., 2005).

Suda çözünmeyen terapötik ve toksik ajanların çoğu DMSO'da çözünebilmektedir. DMSO'nun etkileri konsantrasyona bağımlı olarak değişmekte ve başka bir madde ile birleştiğinde oluşan yeni madde dokular üzerinde beklenenden daha fazla veya daha az etki oluşturabilmektedir. Bu da in vitro ve/veya in vivo çalışma sonuçlarını önemli ölçüde değiştirebilecek bir etkidir. İn vitro olarak yapılan düz kas çalışmalarında DMSO'nun çözücü olarak farklı konsantrasyonları kullanılmaktadır (Murat vd., 2005).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları

Deneylede Saki Yenilli deney hayvanları üretim merkezinden temin edilen 40 adet *Wistar albino* (6-7 aylık 200-250 gr) cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar standart koşullarda (İyi havalandırılmış odalarda, normal gece ve gündüz siklusunda), standart sanayi yemleri ve çeşme suyu ile beslendi. Çalışmalar Hayvan Etik Kurulu'nun izni (DPÜ HADYEK 14.05.2014 tarih ve 2014.05.02 karar no) alındıktan sonra gerçekleştirildi.

3.2. Kullanılan Madde Ve Aletler

3.2.1. Kullanılan kimyasal maddeler

- a) NaCl (Merck)
- b) KCl (Merck)
- c) MgSO₄.7H₂O (Merck)
- d) KH₂PO₄ (Merck)
- e) NaHCO₃ (Merck)
- f) Glukoz (Merck)
- g) CaCl₂.2H₂O (Merck)
- h) AcH (A-6625,Sigma)
- i) Atorvastatin Ca
- j) SG-Benz
(N-(diaminomethylene)-4-(1,8-dioxo-9-phenyl-1,2,3,4,5,6,7,8 octahydroacridin-10(9H)-yl) benzenesulfonamide)
- k) Caffeic asid phenil ester
- l) Ammonium Pyrolidine Dithiocarbamate
- m) DMSO (Merck)

3.2.2. Kullanılan araç ve gereçler

A. Cerrahi Malzeme

- a) Genel amaçlı cerrahi makas
- b) Bisturi
- c) Eğri uçlu doku makası
- d) Hemostatik pensler
- e) Pensler

B. Diğer Gereçler

- a) Data Acquisition analiz sistemi (MP36 Biopac, USA)
- b) İzometrik transduserleri (Biopac, USA)
- c) Vorteks (Velp Scientifica, Türkiye)
- d) İzole organ banyosu (Commat, Türkiye)
- e) Su banyosu (WBC3044V3, May, Türkiye)
- f) Manyetik karıştırıcı (MK-318, Nuve, Türkiye)
- g) Cam tüpler (10ml)
- h) Enjektörler (1; 2,5ml)
- i) Polietilen ip (5/0)
- j) Otomatik pipet (Medispec-plus)

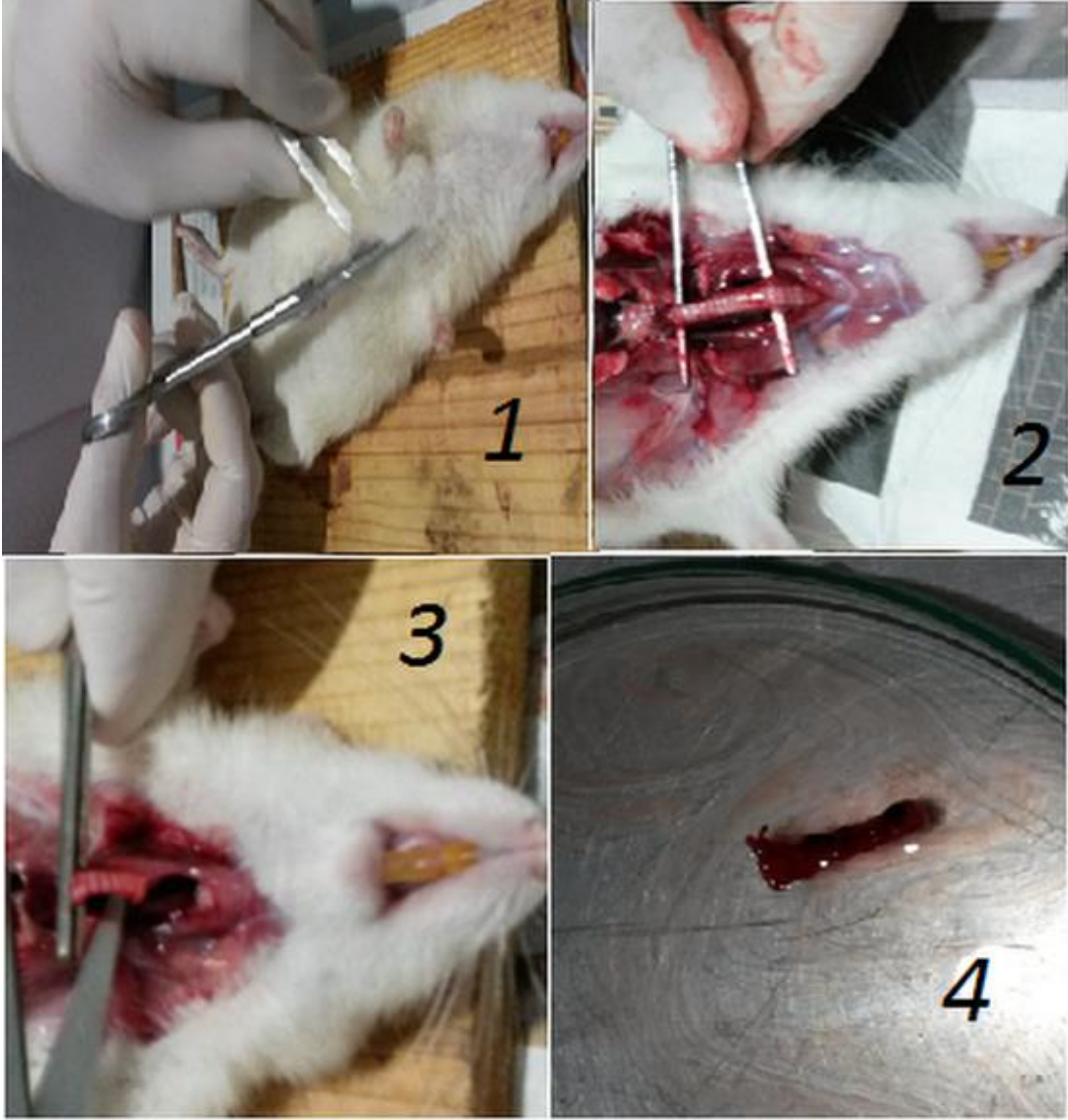
3.3. Hayvanı Deneye Hazırlama

Saki Yenilli Deney Hayvanı Üretim Tesisinden tahsis edilen 6-7 aylık 200-250 gr ağırlığındaki *Wistar albino* erkek sıçanlar kullanılan maddelere göre gruplara ayrılarak kafeslere yerleştirildi.

3.4. Cerrahi İşlem Ve Deney Protokolü

Deneyde kullanılacak olan sıçan, tartıldıktan sonra servikal dislokasyonla öldürülüp boyun bölgesi açılarak trakeası (larinksten bifurkasyona kadar) izole edildi. Hemen Krebs-Henseleit solüsyonunun içerisine konuldu (NaCl 118 mM/L, KCl 5.4 mM/L, MgSO₄.7H₂O 1.2

mM/L, KH_2PO_4 1.2mM/L, NaHCO_3 25 mM/L, Glikoz 11.7 mM/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2.5 mM/L). Çevre dokulardan temizlendikten sonra halka şeklinde disseksiyonu yapıldı (Şekil 3.1). Organın ağırlığı hassas terazi ile saptandı. Organ izole organ banyosuna yerleştirilir. İzole organ banyosunun ısısı 37°C ' de sabitlendi ve izole organ banyosuna %95 O_2 - %5 CO_2 gaz karışımı verilerek dokuların oksijenlenmesi sağlandı. Her çalışmada aynı boyutlarda organların alınmasına özen gösterildi. 3mm'lik kesitler kullanılmaya dikkat edildi. İzole organ banyosunda trachea 1gr gerim altında doku örnekleri 1 saat boyunca 15 dk'da bir Krebs-Henseleit solüsyonu ile yıkamak suretiyle dengeye getirildi. KCl ile organların canlılığı test edildi. Trachea Ach ile prekontrakte edildi. CAPE, Atorvastatin Kalsiyum, Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate veya SG-Benz kümülatif olarak verilerek kasılma gevşeme yanıtları izometrik transduser (Biopac, USA) aracılığıyla data acquisition analiz sistemi (MP36 Biopac, USA)' nde kaydedildi. Her doz arasında 5 dakika beklenildi. Maddeler organ organ banyosunda; 10^{-9} , 3×10^{-9} , 10^{-8} , 3×10^{-8} , 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 10^{-5} , 3×10^{-5} , 10^{-4} , 3×10^{-4} Molacak şekilde kullanıldı.



Şekil 3.1. Erkek wistar albino sıçandan trakea'nın izole edilmesi.

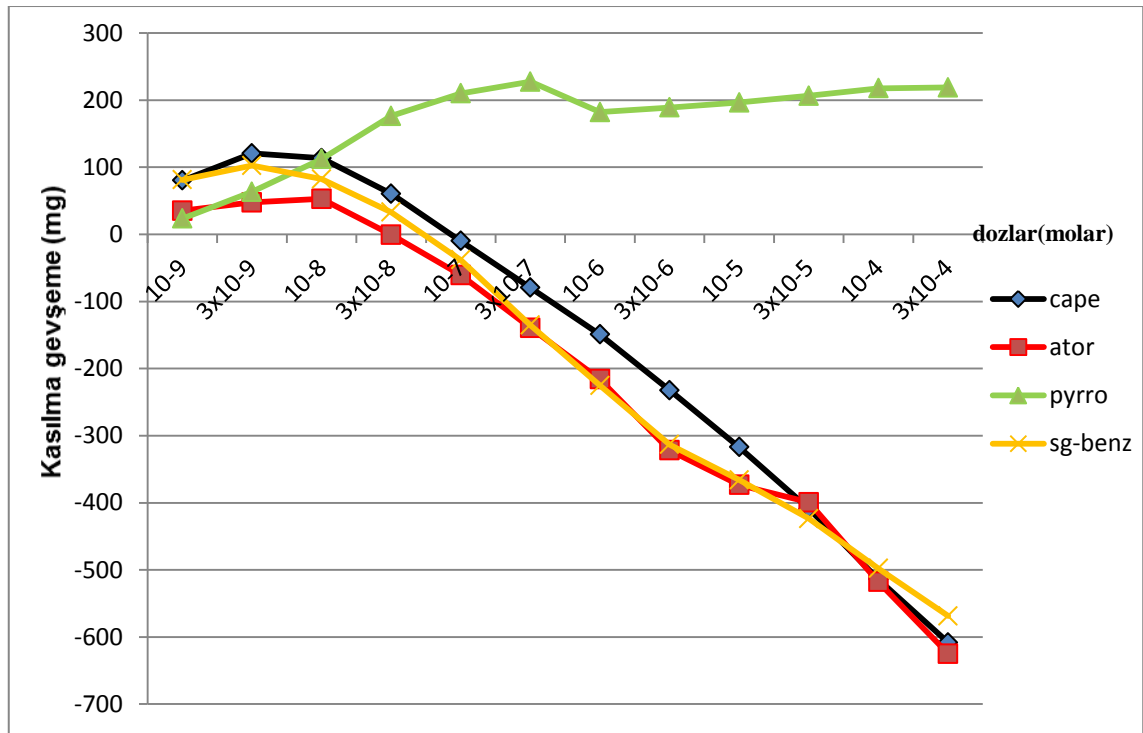
3.5. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar Kruskal Wallis ve Mann-Whitney U testleri uygulanarak değerlendirildi. Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate için $p > 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Deneylerimiz CAPE, Atorvastatin Kalsiyum, Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate ve SG-Benz uygulanan olmak üzere 4 farklı grupta gerçekleştirilmiştir.

10^{-3} M Ach ile kastırılmış trakea düz kaslarının CAPE, Atorvastatin Kalsiyum, Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate ve SG-Benz'e vermiş oldukları kasılma veya gevşeme cevapları şekil 4.1. de gösterilmiştir. Ach ile prekontrakte trakea düz kası preparatları Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate haricinde önce kasılma sonrasında doza bağlı artan bir gevşeme cevapları oluşturmuştur. En yüksek gevşeme cevapları Atorvastatin Kalsiyum uygulanan preparatlarda görülmüştür. CAPE, Atorvastatin Kalsiyumve SG-Benz arasında anlamlı fark yoktur ($p>0,05$). Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate trakeayı kastırmıştır.



Şekil 4.1. 10^{-3} M Ach ile kastırılmış trakea düz kaslarının CAPE, Atorvastatin Kalsiyum, Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate ve SG-Benz'e vermiş oldukları kasılma ve gevşeme cevapları.

4.1. AsetilKolin İle Kastırılmış Trakea Düz Kası Üzerine CAPE'nin Etkisi

CAPE 10^{-9} , 3×10^{-9} ve 10^{-8} M dozlarında Ach prekontraksiyonunun üzerine kasılma cevabı oluştururken geri kalan dozlarda doza bağlı artan bir gevşeme cevabı oluşturmuştur.

Çizelge 4.1. 10^{-3} M Ach ile kastırılmış sıçan trakea düz kasında CAPE'nin farklı dozlarına ait kasılma ve gevşeme yanıtları (mg).

NO	10^{-9} molar	3×10^{-9} molar	10^{-8} molar	3×10^{-8} molar	10^{-7} molar	3×10^{-7} molar	10^{-6} molar	3×10^{-6} molar	10^{-5} molar	3×10^{-5} molar	10^{-4} molar	3×10^{-4} molar
1	131,45	203,44	162,75	87,63	21,9	-68,86	-156,49	-272,29	-419,39	-610,31	-763,67	-1308,26
2	55,85	133,42	89,98	37,24	-12,4	-83,76	-158,22	-238,89	-338,175	-449,875	-533,645	-573,975
3	-27,92	-62,05	-111,69	-183,05	-164,43	-201,66	-223,38	-285,43	-260,61	-235,79	-251,3	-273,02
4	32,36	3,23	-25,9	3,23	-45,31	-77,67	-103,56	-129,45	-110,03	-80,9	-126,21	-158,57
5	153,94	206,35	150,67	62,23	3,27	-88,44	-271,86	-357,02	-507,69	-687,84	-995,73	-1149,67
6	128,79	205,45	331,18	272,92	177,86	70,53	-70,53	-217,72	-361,85	-521,31	-668,5	-809,56
7	75,95	218,35	265,82	199,37	66,46	-75,94	31,65	-28,48	-161,39	-265,82	-354,43	-132,91
8	130,27	186,1	136,47	83,74	-62,04	-170,6	-279,16	-384,62	-462,16	-530,4	-592,43	-648,26
9	43	-9,21	21,5	-18,43	-73,71	-18,43	-110,57	-178,14	-233,42	-297,92	-340,92	-420,77
Ort	80,41	120,564	113,42	60,5422	-9,8222	-79,426	-149,12	-232,45	-317,19	-408,91	-514,09	-608,33

4.2. AsetilKolin İle Uyarılmış Trakea Düz Kası Üzerine Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate'nin Etkisi

Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate 10^{-9} M dan 3×10^{-7} M dozuna kadar trakea düz kaslarında doza bağlı artan bir kasılma cevabı oluşturmuştur. 10^{-6} M dozunda bir önceki dozaja göre gevşeme gözlenmiştir ve geri kalan dozlarda yine doza bağlı artan bir kasılma cevabı oluşmuştur.

Çizelge 4.2. 10⁻³ M Ach ile kastırılmış sıçan trakea düz kasında Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate'nin farklı dozlarına ait kasılma ve gevşeme yanıtları (mg).

NO	10 ⁻⁹ molar	3x10 ⁻⁹ molar	10 ⁻⁸ molar	3x10 ⁻⁸ molar	10 ⁻⁷ molar	3x10 ⁻⁷ molar	10 ⁻⁶ molar	3x10 ⁻⁶ molar	10 ⁻⁵ molar	3x10 ⁻⁵ molar	10 ⁻⁴ molar	3x10 ⁻⁴ molar
1	-137,34	-70,13	-23,37	40,92	2,93	35,07	-67,21	-32,14	-69,53	-136,74	-95,83	-46,15
2	-72,73	-96,97	-63,64	-21,22	18,17	-21,22	-51,52	-72,73	-42,43	69,69	36,36	66,66
3	46,05	95,17	156,58	208,77	405,27	478,96	402,2	451,32	500,44	555,7	586,4	626,31
4	21,02	87,09	129,13	165,17	189,19	234,23	-105,1	-63,06	-102,1	-141,14	-96,1	-129,13
5	-48,59	25,92	55,07	22,68	-129,57	-165,2	-217,03	-187,88	-142,53	-165,21	-191,12	-158,73
6	61,41	132,51	177,76	232,7	310,27	371,68	416,93	464,02	361,99	336,13	303,81	332,9
7	90,45	152,83	218,33	283,83	343,09	374,28	430,42	461,81	496,12	611,53	733,82	683,91
8	177,93	262,04	304,1	339,69	394,69	462,63	494,98	391,45	417,33	443,21	401,15	375,27
9	63,25	31,62	75,9	374,18	424,78	386,83	418,46	396,32	481,71	443,76	481,71	443,76
10	34,53	63,78	92,03	117,14	142,25	117,14	98,31	82,62	63,79	48,1	16,71	-5,26
Ort	23,598	68,386	112,189	176,386	210,107	227,44	182,044	189,173	196,479	206,503	217,691	218,954

4.3. AsetilKolin İle Kastırılmış Trakea Düz Kası Üzerine Atorvastatin Kalsiyum'un Etkisi

Atorvastatin Kalsiyum 10⁻⁹, 3x10⁻⁹ ve 10⁻⁸ M dozlarında Ach prekontraksiyonunun üzerine kasılma cevabı oluştururken geri kalan dozlarda doza bağlı artan bir gevşeme cevabı oluşturmuştur.

Çizelge 4.3. 10⁻³ M Ach ile kastırılmış sıçan Trakea düz kasında Atorvastatin Kalsiyum'un farklı dozlarına ait kasılma ve gevşeme yanıtları (mg).

NO	10 ⁻⁹ molar	3x10 ⁻⁹ molar	10 ⁻⁸ molar	3x10 ⁻⁸ molar	10 ⁻⁷ molar	3x10 ⁻⁷ molar	10 ⁻⁶ molar	3x10 ⁻⁶ molar	10 ⁻⁵ molar	3x10 ⁻⁵ molar	10 ⁻⁴ molar	3x10 ⁻⁴ molar
1	-137,34	-70,13	-23,37	40,92	2,93	35,07	-67,21	-32,14	-69,53	-136,74	-95,83	-46,15
2	-72,73	-96,97	-63,64	-21,22	18,17	-21,22	-51,52	-72,73	-42,43	69,69	36,36	66,66
3	46,05	95,17	156,58	208,77	405,27	478,96	402,2	451,32	500,44	555,7	586,4	626,31
4	21,02	87,09	129,13	165,17	189,19	234,23	-105,1	-63,06	-102,1	-141,14	-96,1	-129,13
5	-48,59	25,92	55,07	22,68	-129,57	-165,2	-217,03	-187,88	-142,53	-165,21	-191,12	-158,73
6	61,41	132,51	177,76	232,7	310,27	371,68	416,93	464,02	361,99	336,13	303,81	332,9
7	90,45	152,83	218,33	283,83	343,09	374,28	430,42	461,81	496,12	611,53	733,82	683,91
8	177,93	262,04	304,1	339,69	394,69	462,63	494,98	391,45	417,33	443,21	401,15	375,27
9	63,25	31,62	75,9	374,18	424,78	386,83	418,46	396,32	481,71	443,76	481,71	443,76
10	34,53	63,78	92,03	117,14	142,25	117,14	98,31	82,62	63,79	48,1	16,71	-5,26
Ort	23,598	68,386	112,189	176,386	210,107	227,44	182,044	189,173	196,479	206,503	217,691	218,954

4.4. AsetilKolin İle kastırılmış Trakea Düz Kası Üzerine SG-Benz'in Etkisi

SG-Benz 10^{-9} , 3×10^{-9} ve 10^{-8} M dozlarında Ach prekontraksiyonunun üzerine kasılma cevabı oluştururken geri kalan dozlarda doza bağlı artan bir gevşeme cevabı oluşturmuştur.

Çizelge 4.4. 10^{-3} M Ach ile kastırılmış sıçan Trakea düz kasında SG-Benz'in farklı dozlarına ait kasılma ve gevşeme yanıtları (mg).

NO	10^{-9} molar	3×10^{-9} molar	10^{-8} molar	3×10^{-8} molar	10^{-7} molar	3×10^{-7} molar	10^{-6} molar	3×10^{-6} molar	10^{-5} molar	3×10^{-5} molar	10^{-4} molar	3×10^{-4} molar
1	78,52	125,63	172,74	144,47	103,64	18,84	-40,83	-91,08	-157,03	28,27	-65,95	-153,89
2	128,24	235,11	210,68	125,18	-39,7	-161,84	-256,5	-430,54	-537,41	-711,45	-812,21	-1010,68
3	-74,6	-126,5	-227,05	-272,46	-324,36	-366,53	-447,62	-502,76	-460,59	-512,49	-541,68	-577,36
4	149,06	222,01	168,09	95,14	15,85	-339,36	-463,05	-570,88	-675,54	-792,89	-884,86	-811,91
5	50,18	8,86	-32,46	-82,64	-153,48	-239,08	-368,95	-448,64	-531,28	-605,07	-675,81	-702,37
6	159,97	270,98	349,33	290,57	231,81	150,19	35,92	-75,08	-218,73	-319,94	-437,47	-548,47
7	197,74	295,04	225,99	141,25	65,92	-31,38	-141,23	-238,53	-313,86	-404,88	-489,62	-650,33
8	93,33	3,11	-71,47	-136,73	-192,66	-229,95	-270,35	-301,42	-267,24	-326,28	-357,35	-400,85
9	-50,25	-111,27	-53,84	-7,08	-50,15	-17,85	-75,28	-161,42	-132,71	-168,6	-215,26	-261,92
Ort	81,3544	102,552	82,4456	33,0778	-38,126	-135,22	-225,32	-313,37	-366,04	-423,7	-497,8	-568,64

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda sıçanlar servikal dislokasyonla öldürülüp boyun bölgesi açılarak larinksten bifurkasyoya kadar alınan trakea çevre dokulardan temizlenerek hazırlanan halka şeklindeki preparatlar Ach ile prekontrakte edilerek CAPE, Atorvastatin Kalsiyum, Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate ve SG-Benz'e vedigidoz cevapları incelenmiştir.

Pyrrolidine grubu hariç CAPE, Atorvastatin Kalsiyum ve SG-Benz gruplarında belirgin gevşeme yanıtları gözlenirken bu maddelerin gevşeme cevabı verdikleri ortak dozun 10^{-6} M olduğu saptanmıştır. Bu dozajda SG-Benz'in diğer maddelerden daha fazla gevşeme cevabı oluşturduğu görülmüştür. Sonra sırasıyla Atorvastatin Kalsiyum ve CAPE gelmektedir.

Siklooksijenaz ve lipooksijenaz aktivitesi ürünleri solunum yolu düz kası üzerinde önemli etkide bulunurlar. Siklooksijenaz ürünü olan prostoglandinler, prostosiklin bronkodilatör etkinlik gösterirken yine siklooksijenaz aktivite ürünü olan tromboksan A2 ve lipooksijenaz aktivitesi ürünü olan hidroksieikozatetraenoik asitler ve lökotrienler güçlü bronkokonstriktör etkinlik gösterir. Bu ürünlerin arasındaki denge hangi tarafa kayarsa sonuç fazla olanın aktivitesine göre açığa çıkar (Kayaalp., 1988). CAPE'nin siklooksijenaz ve lipooksijenaz aktivitesini etkilediği gösterilmiştir (Kumpul., 2007). Bu çalışmanın sonuçlarına göre gözlemlenen CAPE'nin bronkodilatör etkisinin güçlü bronkokonstriktör etki gösteren lipooksijenaz ürünlerini engellemesi ve dengenin bronkodilatör etki gösteren ürünler lehine değiştiğini düşünmekteyiz.

Düz kasların kasılabilmesi için hücre içi kalsiyum iyonunun konsantrasyonunun artması önemlidir. Düz kas membranında yoğun miktarda voltaj bağımlı kalsiyum kanalları bulunur. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu kalmoduline bağlanmak için ve miyozin hafif zincir kinazının aktivasyonu için gerekli olan miktarın altına düşerse kas gevşer (Kayaalp, 1993; Butcher, 1974).

Cicala ve arkadaşları izole edilmiş sıçan torasik aortunda CAPE'in vasküler etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada, CAPE'in hem konsantrasyona hem de endotele bağımlı olarak voltaj bağımlı kalsiyum kanallarından kalsiyum girişini inhibe etmek yoluyla gevşeme etkisi yaptığını göstermişlerdir. CAPE'nin hücre zarlarında hareket eden kalsiyum üzerindeki inhibitör etkisinin olmasından dolayı vazorelaksan etkinin endotel yokluğunda da ortaya çıktığını göstermişlerdir (Cicala vd., 2003). Yapmış olduğumuz çalışmada benzer bir şekilde sıçan trakea düz kasında CAPE'nin voltaj bağımlı kalsiyum kanalları üzerinde inhibitör etkisinin olmasından dolayı gevşemeye neden olduğunu düşünmekteyiz.

Atorvastatin'in voltaj kapılı kalsiyum kanallarından hücre içine kalsiyum girişini inhibe ederek ve sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salıverilmesini engelleyerek hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu düşürdüğü gösterilmiştir (Alp, 2002). Çalışmamızın sonuçlarına göre gözlemlenen Atorvastatin Kalsiyum'untrakea düz kasının asetilkolin ile prekontraksiyonuna gevşeme cevabının bu mekanizmadan dolayı olduğunu düşünmekteyiz.

Eksojen olarak verilen NO nun hem bronkodilatör hem de bronkoprotektif etkileri olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte NO'nun astım patofizyolojisi ile bağlantısının şüpheli olduğu ve yarar/ zarar dengesinin kesinlik kazanmadığı ifade edilmiştir. (Mulrennan ve Redington, 2004) eNOS'tan fizyolojik koşullarda üretilen NO'nun fizyolojik konsantrasyonlarının varlığında bronş ve damar düz kas gevşetici etki gösterdiği belirtilmektedir (Alp, 2007). Nitrovazodilatörlerin guanilat siklazı aktive ederek cGMP düzeyini artırdıkları ve gevşeme oluşturdıkları gözlenmiştir (Yılmaz, 2011).

Serarslan ve arkadaşlarına göre CAPE NO seviyesini arttırmaktadır, yapmış olduğumuz çalışmada uygulamış olduğumuz CAPE'nin epitel kaynaklı NO miktarını artırarak trakeayı gevşettiğini düşünmekteyiz. (Serarslan vd, 2007).

Atorvastatin Kalsiyum bir statin türevidir. Statinlerin hiperlipidemik hastalarda plazma LDL aferezi ile endotel bağımlı vazodilatasyonu arttırdığı gösterilmiştir. Statinlerin endotel fonksiyonları üzerine olumlu etkileri sadece LDL düşüşü ile sınırlı değildir. Tedavi başladıktan kısa bir süre sonra henüz belirgin lipid düşürücü etkiler ortaya çıkmadan endotel fonksiyonlarında düzelme olabileceği gösterilmiştir (<http://circ.ahajournals.org/content/95/5/1126.long>). Bugün statin tedavisi ile kardiyovasküler hastalıkların prognozunda sağlanan olumlu sonuçların kolesterol düşüşünün yanı sıra endotel fonksiyonundaki iyileşme ile de ilişkili olduğu düşünülmektedir. Endotel kökenli nitrik oksit, vasküler relaksasyon sağlayan önemli bir moleküldür. Disfonksiyone endotelde nitrik oksit salınımı bozulmuştur. Statinler, endotel kökenli nitrik oksit sentaz (eNOS) ekspresyonunu ve aktivitesini artırır, böylece nitrik oksit düzeyi artar (Pepedil ve Güven, 2009; Bahadır, 2007). Yapmış olduğumuz çalışmada uygulamış olduğumuz Atorvastatinin epitel kaynaklı NO miktarını artırarak trakeayı gevşettiğini düşünmekteyiz.

β -adrenerjik reseptörler bronkodilatasyona aracılık eder ve astım için β -adrenerjik agonistlerinin solunması standart tedavidir.

SG-Benz bir akridin sülfonamid türevidir. Akridinler (1,4-dihidro piridin türevleri) hücrelerde bulunan ve önemli bir koenzim olan Nikotinamid Adenin Dinükleotid (NADH)

yapısına benzeyen ve ilginç biyolojik özellikleresahip olan bileşiklerdir. Akridin bileşikleri; kalp rahatsızlıklarında β -kanal açıcılar olarak, hipertansiyon rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılan çok önemli biyolojik özelliklere sahip bileşiklerdir (Ulus, 2012). Bizde uyguladığımız Sg-benzin β kanal açıcı olarak etkileyip β adreno reseptör üzerinden trakeayı gevşettiğini düşünmekteyiz.

Acridine türevlerinin tavşan ve sıçan aort düz kaslarında ATP ye duyarlı potasyum kanallarını açarak gevşetici etkisi olduğu saptanmıştır (Imenshadidi vd., 2010; Berkan vd., 2002). Eksert yaptığı çalışmada trakea düz kasında ATP duyarlı K^+ kanallarının gevşeme üzerinde etkili olduğunu göstermiştir (Eksert, 2008). SG-Benz bir acridine sülfonamide türevi olduğundan çalışmamızın sonuçlarında gözlenen gevşemenin bu etkiden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu maddeyle gözlenen gevşemenin diğer maddelerden daha yüksek olmasından dolayı bu madde üzerine daha ileri araştırmalar yapılması kanaatindeyiz.

Sonuç olarak sıçan trakea düz kası üzerinde uyguladığımız CAPE, Atorvastatin Kalsiyum ve SG-Benz Ach ile prekontraksiyona karşı gevşeme cevabı oluşturmaktadır. Maddelerin reseptör yoğunluğunu ve ikincil haberci sistemlerini etkilemesi, iyon geçirgenliğini değiştirmesi, metabolizmayı etkileyerek çeşitli gevşetici etki gösteren metabolitleri ortaya çıkarması gibi etkileri göz önüne alınarak çeşitli klinik uygulamaların yapılması büyük önem taşımaktadır. Bu maddelerin fizyolojik mekanizmaların modülasyonu üzerindeki etkileri moleküler düzeyde birçok araştırmayı gerektirmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Ackerman, U.,(2006), PDQ Fizyoloji, (Çev. Alican, İ.), Medikal Yayıncılık, İstanbul, s.62,68,69.

Akyol, S., Armutçu, F., Yiğitoğlu, M.R., (2011), Propolisin aktif bileşenlerinden kafeik asit fenetil ester'in (Cape) bazı nörolojik hastalık ve acillerde kullanılması, Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.

Alp, F.İ., (2007), Endotelial nitrik oksit sentaz açılasyonunun nitrik oksit sentezi ve vasküler reaktivite üzerine etkisi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul, 2007.

Alp, İ., (2002), 3-Hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG KoA) redüktaz inhibitörü atorvastatinin varlığında çeşitli spazmojen ajanlara karşı damar düz kas reaktivitesinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Altınışık, H. B.,(2008), Çeşitli dozlardaki magnezyum sülfatın asetil kolin, histamin ve potasyum klorür ile oluşturulan bronkospazm üzerin in vitro etkileri, Tıpta Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Isparta.

Ammar, E. M.,Gameil, N. M., Nader, M. A., Shawky, N. M., (2013), Chinese Propolis AttenuatesIn-VivoandIn-Vitro Asthmatic Reactions, J Aller Ther S11: 006.

Atasağungıl, M., (1963), Proteohormonlar , Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Bölümü , Güzel İstanbul Matbaası, Ankara.

AworetSamseny, R. R. R.,Souzo, A., Kpahe, F., Konate, K., Datte, J. Y., (2011), Dichrostachyscinerea (L.) Wight et Arn (Mimosaceae) Hydro-Alcoholic Extract Action on the Contractility of Tracheal Smooth Muscle Isolated From Guinea-Pig, BMC Complementary and Alternative Medicine , s. 3-6.

Barnes, P. J., (1987), Cholinergic Control of Airway Smooth Muscle, Am. Rev. Respir. Dis., 136: S42-S45.

Berne, R. M., Levy, M. N., Koeppen, B. M., Stanton, B. A., (2008), Fizyoloji, Günes Tıp Kitabevi, s.443-535.

Berkan, Ö., Saraç, B., Şimşek, R., Yıldırım, Ş., Sarıoğlu, Y., Şafak, C., (2002), Vasorelaxing Properties of Some Phenylacridine Type Potassium Channel Openers in Isolated Rabbit Thoracic Arteries, Eur. J. Med. Chem. 37: 519–523.

Bravo, L., Herrera, M.D.,Marcuenda, E., Perez-Guerrero, C., (1998), Cardiovascular Effects of Lovastatin in Normotensive and Spontaneously Hypertensive Rats, Gen Pharmacol; 30:331-336.

Cicala, C., Morello, S., Iorio, C., Capasso, R., Borrelli, F., Mascolo, N., (2003), Vascular Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on Isolated Rat Thoracic Aorta, Life Sciences 73–80.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Çaycı, M. K., Aydın, Y., Uzuner, K., (2010), Adrenergic and Cholinergic Responses of the Tracheal Smooth Muscle is Enhanced During Estrus Phase in Rat, Turk J MedSci; 40 (5): 729-734.

Eksert, B., (2008), Kobay izole trakea preparatlarında levosimendan'ın gevşetici etkisinde potasyum kanallarının rolü, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Antalya.

Ganong, W. F., Tıbbi Fizyoloji, (Çev. Türk Fizyolojik Bilimleri Derneği), Barış Kitabevi, İstanbul, s.120,846.

Gray, H., (1974), Gray's Anatomy, Running Press, Philadelphia.

Guyton, A.C., Hall, J.E., (1996), Textbook of Medical Physiology, 9. Ed., W. B. Saunders Company.

Guyton, A. C., Hall, J. E., (2006), Tıbbi Fizyoloji, (Çev. Çavuşoğlu, H., Çağlayan Yeğen, B.), Nobel Yayıncılık, Ankara, s.94.

Hernandez, L. V., Gonzalo, S., Castro, M., Arruebo, M. P., Plaza, M. A., Murillo, M. D., Grasa, L., (2013), Nuclear Factor κ B is a Key Transcription Factor in the Duodenal Contractility Alterations Induced by Lipopolysaccharide, ExpPhysiol 96-11, S 1151-1162.

Hirshman, C. A., Lande, B. ve Croxton, T. L., (1999), Role of M₂ Muscarinic Receptors in Airway Smooth Muscle Contraction, Life Sci., 64(6/7): 443-448.

<http://circ.ahajournals.org/content/95/5/1126.long>.

<http://tip.uludag.edu.tr/temel-tip-bilimleri/fizyoloji/ders-notlari/duz-kas-fizyolojisi.pdf>.

<http://www.webmd.com/lung/picture-of-the-trachea>.

http://www.tocris.com/dispprod.php?ItemId=1161#.U4za-Pl_sXF.

Imenshahidi, M., Hadizadeh, F., Firoozeh-Moghadam, A., Seifi, M., Shirinbak, A., Gharedaghi, M.G., (2012), Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 11 (1): 229-233.

Kayaalp, S. O., (1988), Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 4. Baskı, Cilt 2, Feryal Matbaacılık, Ankara.

Kayaalp, S. O., (1993), Düz kas fizyolojisi ve farmakolojide kullanılan ölçüm yöntemleri, Türk Farmakoloji Eğitim Sempozyumları Dizisi II, Türk Farmakoloji Derneği Yayınları, Ankara.

Karasu Minareci, E., Kaya, Y., Yıldırım, F. B., (2012), The Achillesheel in Melatonin: Asthma, Akdeniz Üniversitesi, School of Medicine, Anatomy Department, Antalya.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Kumbul, K., (2007), Deneysel intestinal iskemi ve reperfüzyon modelinde caffeic acid phenethyl ester in akciğer hasarını önlemedeki etkinliği, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Isparta.

Lin, Y. T., Wu, B. N., Horng, C. F., Huang, Y. C., Hong, S. J., Lo, Y. C., Cheng, C. J., Chen, I. J., (1999), Isoeugenolol: A Selektive β 1- Adrenergic Antagonist With Trachealand Vascular Smooth Muscle Relaxant Properties, Jpn. J. Pharmacol. 80, 127-136.

Long, J., Yang, X., Cao, L., Lu, S., Cao, Y., (2009), Alteration of Airway Responsiveness Mediated by Receptors in Ovalbumin-İnduced Asthmatic E3 Rats, Acta Pharmacologica Sinica 30: 965–972.

Mulrennan, S. A., Redington, A.E., (2004), Nitric Oxide Synthase İnhibition: Therapeutic potential in asthma, Treat Respir Med. 2004;3(2):79-88.

Murat, N., Demir, Ö., Can, E., Gidener, S., Esen, A., (2005), insan korpus kavernozum çalışmalarında dimetil sülfoksitin (Dmsö) optimum konsantrasyonu, Türk Üroloji Dergisi: 31 (1): 17-20.

Müderrişoğlu, H., (2002), Antihiperlipidemik tedavi, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

Mycek, M.J.,Harvey, R.A., Champe, P.C., (2001), Lippincott's İllustrated Reviews, (Çev. Zergeroğlu, S., Zergeroğlu, M. A.), Güneş Yayın Evi, Ankara, s.3.

O. Byrne, P., Bateman, E. D., Bousquet, J., Clark, T., Ohta, K., Pagglaro, P., Pedersen, S. E., Soto-Quiroz, M., Singh, R. B., Tan, W.C., (2006), Global Strategy For Asthma Management And Prevention.

Odar, İ. V., (1984), Anatomi ders kitabı, 2.Cilt, Hacettepe Taş Yayıncılık, Ankara.

Özlü, I., Metintaş, M., Karadağ, M., Kaya, A., (2010), Solunum sistemi ve hastalıkları kitabı, s.24, 93, 96, 98, 100, 614.

Pepedil, F., Güven, S. G., (2009), "Statinler her derde deva mı?", Hacettepe Tıp Dergisi, 40, s.169-175.

Pype, J. L.,Xu, H., Schuermans, M., Dupont, L. J., Wuyts, W., Mak, J. C. W., Barnes, P. J., Demedts, M. G., Verleden, G. M., (2001), Mechanisms of Interleukin 1 β -Induced Human Airway Smooth Muscle Hyporesponsiveness to Histamin eInvolvement Of P38 MAPK and Nf-kb, Am J Respir Crit Care Med 163. s. 1010–1017.

Sağduyu H., (1992), Antibiyotikler, İstanbul Üniversitesi, Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Serarslan, G., Altuğ, E. M., Kontaş, T., (2007), Kafeik asid fenetil ester'in insizyonel yara modelinde plazma lipid peroksidasyonu antioksidan durum ve nitrik oksit seviyesi üzerine etkisi, *Türkderm*, 41, s.11-14.

Sotomayer, M. A., Herrera, M. D., Marcuenda, E., Andriansitohaina, R., (2000), Characterization of Endothelial factors Involved in the Vasodilatory Effect of Simvastatin in Aorta and Small Mesenteric Artery of the Rat, *Br J Pharmacol*;131:1179-1187.

Şahin, A. S., Atalık, K. E., Kılıç, M., Doğan, N., (1999), Tavşan trachea düz kasında B-adrenerjik reseptör agonistleri ve fosfodiesteraz inhibitörlerinin gevşetici etkilerinde K⁺ - kanallarının rolü, *Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Dergisi*; 15:173-177.

Temir Ş. H., Koçyiğit Kaymakcioğlu B., (2013), Atorvastatin kalsiyumun valide edilmiş HPLC metodu ile tablet formundan analizi, *Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul*.

Topal, G., Uydeş-Doğan B. S., Takır, S., Özdemir, O., (2000), Relaxing effect of HMG-CoA Reductase inhibitör Atorvastatin on Isolated Rat Aorta, *NATO-ASI Conferance on Vascular Endothelium: Source and Target of İnflammatory Meditors*, 24 June-3 July Crete, Greece.

Topal, G., Uydeş-Doğan B. S., Özdemir, O., (2001), Relaxing effect of Cerivastatin on Isolated Aorta, *Fund/Clin Pharmacol*; 15(1):95.6-9, Lyon, France.

Ulus, R., (2012), Karbonik anhidraz inhibitörü olarak yeni akridin sülfanamid türevlerinin sentezi ve karakterizasyonları, *Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya*.

Umut, S., Bartu-Saryal, S., (2010), *Türk Toraks Derneği Astım Tanı ve Tedavi Rehberi*, Aves Yayıncılık, İstanbul.

Yılmaz, İ., (2011), Ovalbümin ile duyarlandırılmış kobay astım modelinde nitrik oksit donörleri Noc-18 ve Sın-1'in trakea düz kası üzerindeki gevşetici etkilerinin in-vitro olarak incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Sivas*.

EKLER

EK 1. Etik Kurul Başvurusu

T.C. DUMLUPINAR ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI				
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	Siçan Trakea'sı Düz Kası Kasılma-Gevşeme Yanıtları Üzerine Ammonium Pyrrolidone Dithiocarbamate, SG-Benz, Caffeic Acid Phenil Ester, Atorvastatin Kalsiyum'un etkileri		
	ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Yrd.Doç.Dr.M.Kasım ÇAYCI DPU Fen-Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji Anabilim Dalı		
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Yrd.Doç.Dr.M.Kasım ÇAYCI DPU Fen-Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji Anabilim Dalı		
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Yrd.Doç.Dr.M.Kasım ÇAYCI Sinem Deniz AKÇA Prof.Dr.Hayri DAYIOĞLU Okan Ali İNAN Volkan MERCAN Hülya KOKDAŞGİL		
	ARAŞTIRMANIN TAHMİNİ SÜRESİ	1 Ay		
	KULLANILACAK HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI	Wistar Albino (E) – 40 adet		
	DESTEKLEYİCİ KURULUŞ	--		
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi		
	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	07.05.2014		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2014.05.02	Tarih : 14.05.2014		
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak görüşüldü ve ilgili belgeler incelendi. Projenin etik açıdan uygun olduğuna, çalışmanın aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve sorumlu araştırmacıya iletilmesine ÖY BİRLİĞİ ile karar verildi: 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kuralımızdan onay alınması, 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar değişikliği olduğunda kuralımızdan onay alınması, 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihinin bildirilmesi, 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması, 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.			
ETİK KURUL BİLGİLERİ				
ÜYELER				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)	İmza
Doç.Dr. Aynur GÜLCAN Başkan	Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ahmet KOÇAK Üye	Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Sezer AKÇER Üye	Anatomi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ceylan AYADA Üye	Fizyoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç. Dr. Hasan METİNEREN Üye	Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç. Dr. M.Kasım ÇAYCI Üye	Biyoloji Anabilim Dalı	Fen-Edebiyat Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç.Dr. Muhammed OYLUMLU Üye	Kardiyoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Zülfü BAYHAN Üye	Genel Cerrahi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Vet. HEKİM Aydın AKCILAR Üye	Veteriner HEKİM	Tıp Fakültesi DEHYUAM	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	

* Araştırma ile İlişkisi

T.C. DUMLUPINAR ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI				
Erkan ERKOL Üye			<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	