

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**İZOLE TAVŞAN ALT ÖZEFAGUS SFİNKTERİNDE
ELEKTRİKSEL ALAN UYARISI ARACILI NÖROJENİK KASILMA
YANITLARI ÜZERİNE HİDROJEN SÜLFÜR'ÜN ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Dr. HALİL KARA

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. YUSUF SARIOĞLU

ANKARA
HAZİRAN 2011

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**İZOLE TAVŞAN ALT ÖZEFAGUS SFİNKTERİNDE
ELEKTRİKSEL ALAN UYARISI ARACILI NÖROJENİK KASILMA
YANITLARI ÜZERİNE HİDROJEN SÜLFÜR'ÜN ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Dr. HALİL KARA

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. YUSUF SARIOĞLU

ANKARA
HAZİRAN 2011

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

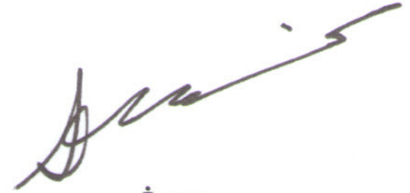
Tez Savunma Tarihi 22/07/2011



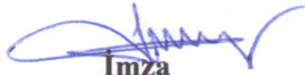
İmza
Prof.Dr. Yusuf SARIOĞLU
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı



İmza
Prof.Dr.Sevim ERCAN
Gazi Üniversitesi



İmza
Prof.Dr.Aydan BABÜL
Gazi Üniversitesi



İmza
Prof.Dr.Şahin YILDIRIM
Cumhuriyet Üniversitesi



İmza
Yrd.Doç.Dr.Ergin DİLEKÖZ
Gazi Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Şekiller, Grafikler	iv
Semboller, Kısaltmalar	vi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Alt Özefagfagus Sfinkter Hemodinamiği	4
2.2. AÖS'un Motor Nöronal Anatomisi	4
2.3. AÖS Anatomisi	6
2.4. AÖS Bazal Tonusu	6
2.5. AÖS Fizyolojisi	8
2.5.1. AÖS Gevşemesi	8
2.5.1.1.Gevşemeye Aracılık Eden Nörotransmitterler / Modulatörler	9
2.5.1.1.1. Nitrik Oksit	9
2.5.1.1.2. Pürinler	10
2.5.1.1.3. Vazoaktif İntestinal Peptit	11
2.5.1.1.4. Kalsitonin Gen İle İlişkili Peptit	11
2.5.1.1.5. Karbon Monoksit	11
2.5.2. AÖS Kasılması	12
2.5.2.1. Kasılmaya Aracılık Eden Nörotransmitterler/Modulatörler	12
2.5.2.1.1. Asetilkolin	13
2.5.2.1.2. Taşikininler	13
2.5.2.1.3. Nitrik Oksit	14
2.6. Yeni Gazotransmitter Hidrojen Sülfür	15
2.6.1. Hidrojen Sülfür'ün Kimyasal Özellikleri	16
2.6.2. Hidrojen Sülfür'ün Sentezi ve Katabolizması	16
2.6.3. Hidrojen Sülfür'ün Santral Sinir Sistemindeki Rolü	18
2.6.4. Hidrojen Sülfür'ün Kardiyovasküler Sistemdeki Rolü	19
2.6.5. Hidrojen Sülfür'ün Gastrointestinal Sistemdeki Rolü	21

3.GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. İzole Tavşan Alt Özefagus Sfinkter Preparatının Hazırlanması	24
3.2. Elektriksel Alan Uyarısı Deney Protokolü	25
3.2.1. EAU Aracılı Nörojenik Kasılma Yanıtların Tanımlaması	25
3.2.2. EAU Aracılı Nörojenik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi	26
3.2.3. EAU Aracılı NO Bağımsız Nörojenik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi	26
3.2.4. EAU Aracılı NANK Nörojenik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi	26
3.2.5. Ekzojen Potasyum Klorür ile Oluşan Kasılma Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi	27
3.3. Deneylerde Kullanılan Solüsyon ve Maddeler	28
3.4. Bulguların Sunuluşu ve İstatistiksel Analiz	28
4.BULGULAR	29
4.1. EAU Aracılı Nörojenik Yanıtların Tanımlaması	29
4.2.EAU Aracılı Nörojenik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi	32
4.3. EAU Aracılı NO Bağımsız Nörojenik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi	36
4.4. EAU Aracılı NANK Nörojenik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi	39
4.5. Ekzojen Potasyum Klorür ile Oluşan Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi	42
5.TARTIŞMA	43
6.SONUÇ	50
7.ÖZET	52
8.SUMMARY	54
9.KAYNAKLAR	56
10.EKLER	76
11.ÖZGEÇMİŞ	78

ŞEKİL VE GRAFİK DİZİNİ

Şekil 1 : Alt özefagus sfinkterinde EAU aracılı bifazik yanıtlar	29
Şekil 2 : EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine atropin (10^{-6} M)'in etkisi	30
Şekil 3 : EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine neostigmin (10^{-6} M)'in etkisi	30
Şekil 4 : EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine L-NAME (10^{-4} M)'in etkisi	31
Grafik 1: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine atropin(10^{-6} M), neostigmin (10^{-6} M) ve L-NAME (10^{-4} M)'in etkisi	31
Şekil 5 : EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine NaHS'in etkisi	32
Grafik 2: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine NaHS'in etkisi	33
Grafik 3: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine L-sistein'in etkisi	34
Grafik 4: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine PAG'ın etkisi	35
Grafik 5: EAU aracılı No bağımsız nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine NaHS'in etkisi	36
Grafik 6: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine L-sistein'in etkisi	37
Grafik 7: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine PAG'ın etkisi	38
Grafik 8: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine NaHS'in etkisi	39
Grafik 9: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine L-sistein'in etkisi	40

Grafik 10: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine PAG’ın etkisi	41
Grafik 11: 80mM KCL ile kastırılmış dokularda NaHS’in gevşetici etkisi	42

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

ACh	Asetilkolin
AÖS	Alt özefagus sfinkteri
ASA	Asetil salisilik asid
ATP	Adenozin-3-fosfat
Ca ⁺²	Kalsiyum
CBS	Sistatyonin beta sentaz
CGRP	Kalsitonin gen ilişkili peptit
CO	Karbon monoksit
CSE	Sistatyonin gama liyaz
dk	Dakika
EAU	Elektriksel alan uyarısı
eNOS	Endotelyal NOS
g	Gram
H ⁺	Hidrojen iyonu
5-HT	Serotonin
HS ⁻	Hidrojen sülfid iyonu
H ₂ S	Hidrojen sülfür
Hz	Hertz
ICAM-1	Hücre içi adezyon molekülü-1
i.v.	İntravenöz
K ⁺	Potasyum iyonu
K _{ATP}	ATP bağımlı potasyum kanalı
K _{Ca}	Kalsiyum ile aktive olan potasyum kanalı
KCl	Potasyum klorür
K _v	Voltaj bağımlı potasyum kanalı
L-NAME	N-nitro-L-arjinin metil ester
M	Molar
mmHg	Milimetre civa

ms	Milisaniye
mV	Milivolt
μ M	Mikromolar
Na ⁺	Sodyum iyonu
NaHS	Sodyum hidrojen sülfid
NANK	Non-adrenerjik non-kolinerjik
NKA	Nörokinin A
NKB	Nörokinin B
NMDA	N-metil-D-aspartat
nNOS	Nöronal NOS
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
NSAİİ	Steroid yapısında olmayan anti-inflamatuar ilaçlar
ODQ	1H-(1,2,4)-oksadiazol-(4,3-a) kuinoksalin-1
PACAP	Pitüiter adenilat siklaz aktivatör peptit
PAG	D,L- propranjilglisin
s	Saniye
S ⁻²	Sülfid iyonu
sAMP	Siklik Adenozin Mono Fosfat
sGMP	Siklik Guanozin Mono Fosfat
SP	Substans P
TEA	Tetraetilamonyum
TNF- α	Tümör nekrozis faktör-alfa
TRPV-1	Transient receptor potential vanilloid receptor
TTX	Tetrodotoksin
V	Volt
ViP	Vazoaktif intestinal polipeptit

1.GİRİŞ

Fizyolojik ve gastroözefageal hastalıklardaki patofizyolojik etkilerinin bilinmesine rağmen, alt özefagus sfinkter (AÖS) aktivitesinin kontrolündeki ana mekanizmalar henüz tam olarak tanımlanamamıştır. Son dönemde AÖS'deki inhibitör ve eksitatör nörotransmisyonun yapısının anlaşılabilmesini sağlayacak bazı çalışmalar ortaya konulmuştur. Nitrik oksit (NO) inhibitör nörotransmitter olarak en büyük rolü oynarken adenosin-3-fosfat (ATP), vazodilat intestinal polipeptit (VIP), pitüiter adenilat siklaz aktivatör peptit (PACAP), kalsitonin gen ilişkili peptit (CGRP) ve karbon monoksit (CO) ilişkili diğer inhibitör mediyatörlerdir. Asetilkolin (ACh) ve taşıyıcılar ise ana eksitatör nörotransmitterlerdir ^(1,2,3,4). AÖS afferent (duysal yol) ve efferent lifler (motor yol) yoluyla parasempatik ve sempatik sistem tarafından innerve edilmektedir. Duyusal bilgi AÖS'den beyine spinal ve vagal duysal liflerle iletilmektedir ^(5,6,7). Vagus, inhibitör ve eksitatör myenterik motor nöronları innerve etmesine rağmen hayvan çalışmalarında vagal stimulasyon ile daima ilk olarak AÖS gevşemesi ve onu takip eden bir kasılma gerçekleşir ^(8,9,10).

Hidrojen sülfür (H_2S), yıllardır renksiz ve kuvvetli çürük yumurta kokusuna sahip çevresel toksik gaz olarak biliniyordu. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, H_2S 'in memeli dokusunda önemli miktarda sentezlendiği ve düzenleyici mediyatör olarak birçok fizyolojik etkisinin olduğu gösterilmiştir. Toksisitesinin esas mekanizması, mitokondriyal sitokrom c oksidaz enzimini güçlü bir şekilde inhibe etmesidir ⁽¹¹⁾. Abe ve Kimura H_2S 'in beyinde endojen bir nöromodülatör olarak işlevi olabileceğini ilk kez tanımlamışlardır ⁽¹²⁾.

Beyin, kardiyovasküler sistem, karaciğer ve böbrekte yüksek oranda H_2S sentezi saptanmıştır ⁽¹³⁾. Endojen H_2S yapımı için tek substrat L-sistein olup, sülfür içerikli bir aminoasittir. H_2S ana olarak sistatyonin beta sentaz (CBS), sistatyonin gama liyaz (CSE) ve 3-merkaptosülfür transferaz enzimleri ile sentez edilmektedir. ⁽¹⁴⁾. CBS ve CSE enzimleri dokularda yaygın olarak dağılmıştır. Her iki enzim de piridoksal 5'-fosfat (vitamin B₆) bağımlıdır. CBS santral sinir sisteminde, CSE ise kardiyovasküler sistemde H_2S 'in sentezinde önceliklidir ^(15,16).

H_2S 'in santral sinir sisteminde hipokampal uzun dönem potansiyalizasyonu arttırdığını ve bu etkisinde N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin glutamata olan duyarlılığını arttırmasının rol oynadığı saptanmıştır ^(17,18). H_2S 'in periferik sinir sisteminde de bazı etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. H_2S , kapsaisin duyarlı duysal sinirleri stimüle ederek substans P ve nörokinin-A gibi taşıkininlerin salıverilmesine neden olduğu bulunmuştur ^(19,20).

H_2S 'in, NO ve CO gibi mediyatörlere benzer olarak damar düz kasında güçlü gevşetici etki gösteren bir gazotransmitter olabileceği ileri sürülmektedir. İn vitro yapılan bir çalışmada norepinefrinle kasılmış sıçan torasik aortasının ve portal veninin H_2S ve NaHS ile gevşediği tespit edilmiştir. H_2S 'in torasik aortada ATP bağımlı potasyum kanalını (K_{ATP}) açarak damarları gevşettiği ve in vivo hipotansiyon oluşturduğu bildirilmiştir. Mezenterik arterde endotelin uzaklaştırılmasıyla veya potasyum kanallarını bloke eden ayrıca endotel bağımlı vazodilatasyonu kısmen inhibe etmekte yaygın olarak kullanılan apamin ve karibdotoksinin uygulanmasıyla H_2S 'in yüksek gaz konsantrasyonunda indüklediği gevşeme yanıtının azaldığı saptanmıştır ^(21,22,23).

Gastrik mukozada CSE ve CBS enzimlerinin her ikisinin de eksprese edildiği gösterilmiştir ⁽²⁴⁾. Endojen H₂S'in mukozal yaralanmaya karşı koruyucu faktör olduğu ileri sürülmüştür. CBS ve CSE kobay ve insan kolonunda submukozal ve myenterik sinir pleksusunda immünohistokimyasal olarak saptanmıştır ⁽²⁵⁾. Kobaylarda yapılan bir çalışmada gastrik antrum düz kasında ekzojen H₂S kaynağı olarak kullanılan NaHS'in çift yönlü etkisi görülmüştür. Düşük konsantrasyonlarda NaHS'in, K_{ATP} kanallarını direkt aktive ettiği, potasyum iyonu (K⁺)'nun dışarı atılmasına ve membranın hiperpolarizasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Buna bağlı kalsiyumun hücre içine girişini azalttığı ve spontan kontraksiyonun amplitüdünü düşürdüğü gözlemlenmiştir. Aynı zamanda voltaj bağımlı potasyum kanalının (K_v) açılmasını kısmen inhibe ettiği, böylece membran depolarizasyonuna neden olup hücre içi kalsiyum seviyesinin artmasına sebep olduğu ve gastrik düz kasın istirahat gerimini arttırdığı saptanmıştır. Memelilerdeki H₂S'in fizyolojik konsantrasyonlarından çok daha yüksek NaHS konsantrasyonlarında yapılan bir çalışmada ise K_{ATP} kanalının açılmasını indüklediği gözlemlenmiştir ⁽²⁶⁾. Farklı hayvan türlerinde yapılan çalışmalarda ileumun spontan kasılmalarını veya ACh ile oluşturulmuş kasılma yanıtını H₂S'in azalttığı tespit edilmiştir ^(14,27). Kolon mukozasında sülfat indirgeyici bakterilerce sülfat içerikli besinlerden yüksek miktarda H₂S ortaya çıkmaktadır ve bu bakteriyel kökenli oluşan H₂S'in ülseratif kolit, kolorektal kanserler gibi çeşitli barsak hastalıklarına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir ⁽²⁸⁾.

Bu çalışmada izole tavşan alt özefagus sfinkterinde elektriksel alan uyarısına bağlı nörojenik kasılma cevaplarının tanımlanması ve bu yanıtlar üzerine hidrojen sülfürün etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Alt Özefagus Sfinkter Hemodinamiği

Özefagus ve mide birleşim yerinde alt özefagus sfinkteri ve krural diyafragma gibi yüksek basınçlı özelleşmiş alanlar bulunur. Bu yapıların asıl fonksiyonu bir taraftan yemek pasajını yutma sırasında mideye göndermek diğer taraftan ise mide içeriğinin özefagusa geri dönüşünü engellemektir. Gevşeme ve kasılma fonksiyonlarıyla, AÖS'in bazal tonus regülasyonu sağlanmaktadır. Fizyolojik ve gastroözefageal hastalıklardaki patofizyolojik etkilerinin bilinmesine rağmen, AÖS aktivitesinin kontrolündeki ana mekanizmalar henüz tam olarak tanımlanamamıştır. Son dönemde AÖS'deki inhibitör ve eksitatör nörotransmisyonun yapısının anlaşılabilmesini sağlayacak bazı çalışmalar ortaya konulmuştur. NO inhibitör nörotransmitter olarak en büyük rolü oynarken ATP, VIP, PACAP, CGRP ve CO ilişkili diğer inhibitör mediyatörlerdir. ACh ve taşıkininler ise ana eksitatör nörotransmitterlerdir ^(1,2,3,4).

2.2. AÖS'un Motor Nöronal Anatomisi

AÖS afferent (duysal yol) ve efferent lifler (motor yol) yoluyla parasempatik ve sempatik sistem tarafından innerve edilmektedir. Duyusal bilgi AÖS'den beyine spinal ve vagal duysal liflerle iletilmektedir ^(5,6,7). Nosiseptif stimulusları almakla görevli olan spinal afferentlerin hücre gövdeleri T1-L3 seviyesinde dorsal kök ganglionunda bulunmaktadır ⁽²⁹⁾. Hücre gövdeleriyle birlikte vagal afferentler gangliyon nodosumda bulunurlar ve nosiseptif olmayan duyuları beyine taşıyarak daha çok

nükleus traktus solitaride sinaps yaparlar. Bu nükleusun nöronları, AÖS'in ve özefagusun düz kas kısmını innerve eden ve vagal motor nöron orijin yeri olan vagusun dorsal motor nükleusuna uzanır. Özefagusun çizgili kas kısmını innerve eden motor nöronlar, nükleus ambiguusun rostral kısmında lokalize olmuşlardır ⁽³⁰⁾. Çizgili kaslardan farklı olarak vagal efferent lifler düz kası direkt olarak innerve etmez, myenterik pleksusun inhibitör ve eksitatör motor nöronlarında sinaps yaparlar. Dorsal motor nükleusun nöronal gövdelerinin dağılımı, onların inhibitör veya eksitatör motor nöronlarla sinaps yapıp yapmamlarına bağlıdır. Eksitatör yolağın nöron gövdeleri dorsal motor nükleusun rostral kısmında bulunurken, inhibitör yolağın nöron gövdeleri ise kaudal kısımda bulunur ⁽³¹⁾. Vagus, inhibitör ve eksitatör myenterik motor nöronları innerve etmesine rağmen hayvan çalışmalarında vagal stimülasyon ile daima ilk olarak AÖS gevşemesi ve onu takip eden bir kasılma gerçekleşir ^(8,9,10). Efferent nöronlarla inhibitör enterik nöronlar arasındaki sinaptik iletim, nikotinik ve muskarinik M1 reseptörler aracılığıyla olurken serotonin (5-HT) de bu seviyedeki sinaptik iletimde rol oynayabilmektedir ^(5,32,33,34).

Efferent sempatik yolun nöron gövdeleri T6-T10 spinal segmentte bulunurken major splanknik sinir yoluyla çölyak gangliyonuna aksonlarını yollamaktadır. Kolinerjik pregangliyonik nöronlar noradrenerjik postgangliyonik nöronlarda bulunan ACh nikotinik reseptörleri aktive ederler. Bu adrenerjik lifler direkt olarak ya da enterik motor nöronlar yoluyla AÖS düz kasını innerve edebilirler ⁽¹⁾. AÖS'nin sempatik yanıtları türlere göre değişmektedir. Dağ gelinciğinde splanknik sinir stimülasyonu adrenerjik nöronları aktive ederek ve beta adrenoseptörler aracılığıyla AÖS'de gevşeme yaparken, kedilerde splanknik sinirin periferik sonlanmalarının stimülasyonu düz kasta ve kolinerjik myenterik nöronlarda bulunan adrenoseptörlerin stimülasyonu ile sonuçlanarak AÖS basıncında artış meydana getirir ^(9,35,36).

2.3. AÖS Anatomisi

İnsan AÖS'si distal özefagus sonlanma bölgesinde 4 cm uzunluğunda kalınlaşmış sirküler kas tabakasının özelleşmesiyle oluşmaktadır. İnsanlarda AÖS tamamen halka formunda değildir. Midenin küçük kurvaturundan gelen clasp lifler (U şeklinde tamamlanmayan halkasal yapı) ve büyük kurvaturundan gelen sling liflerden (oblik kas lifleri) oluşur ⁽³⁷⁾. Diğer türlerde örneğin köpekte, keseli sıçanda ve kedide sirküler kas tamamlanmış halka şeklindedir ^(38,39,40). Sadece domuzlarda clasp ve sling liflerin dağılımı insandakine benzer niteliktedir ⁽⁴¹⁾. İnsanın da içinde bulunduğu farklı türlerde muskarinik reseptör agonisti ACh clasp liflerle karşılaştırıldığında sling liflerde daha yüksek oranda konsantrasyon bağımlı kasılma oluşturduğu gözlemlenmiştir ^(40,42,43). Sling kas liflerinin yüksek duyarlılığının M3 muskarinik reseptörlerinin farklı ekspresyonuna bağlı olarak gerçekleştiği düşünülmektedir. L-tipi kalsiyum kanal ekspresyonunun ve bu kanalın akım yoğunluğunun bölgesel farklılığı, AÖS kasılabilirliğinde farklı lif tiplerinin oluşturduğu katkıdaki farklılığı açıklayabilmektedir ^(44,45). Clasp ve sling lifler dopamin, fenilefrin ve izoprenaline farklı duyarlılık göstermektedirler ⁽⁴⁶⁾.

2.4. AÖS Bazal Tonusu

AÖS ve özefagus düz kası arasındaki fark, in vivo mide ve özefagus arasında yüksek lümen içi basınç zonu olarak tanımlanabilen AÖS'de artmış bazal tonusun gelişmesidir. Sağlıklı gönüllülerde yapılan bir çalışmada AÖS, mide içi basıncın 15-30 mmHg üzerinde tonik lümen içi basınç oluşturur ⁽⁴⁷⁾. AÖS bazal tonusu özefagogastrik bileşke basıncının artışına anlamlı derecede katkı sağlar. Bununla birlikte AÖS çevresindeki

krural diyafragmanın inspirasyon sırasında ve karın içi basıncının arttığı durumlarda kasılması da bu basıncı artırmaktadır ⁽⁴⁸⁾.

AÖS bazal tonusu, bu seviyedeki düz kas hücrelerinin özelleşmesi ile oluştuğundan başlıca myojenik kaynaklıdır. AÖS düz kas hücresi özefagus gövde hücrelerine kıyasla membran dinlenim potansiyeli daha az negatif olduğu için daha depolarize (-50 mV yerine -41 mV) olduğu söylenebilmektedir. Bu farkın ekstraselüler kalsiyumu içeri alan voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının aktivasyonu ile spontan aksiyon potansiyeli oluşumuna neden olarak bazal tonusun oluşumunu sağlayabildiği ileri sürülmektedir ⁽⁴⁹⁾. İnsanda olduğu gibi farklı türlerde de L-tipi kalsiyum kanalları aracılığıyla kalsiyumun içeri girişi AÖS tonusunun sürdürülmesini sağladığı kanıtlanmıştır ^(50,51,52,53).

AÖS tonusu eksitatör ve inhibitör vagal yollar ile düzenlenmektedir. İn vivo olarak AÖS basıncının tetradotoksin (Na⁺ kanal blokörü) veya bilateral vagatomi ile aynı anda tüm yollar etkilendiğinde bile değişmediği görülmüştür ^(54,55). Bununla beraber tek bir yolak bloke edildiğinde bu, diğer yolağın karşılanmamasına neden olmaktadır. Örneğin NOS inhibitörleri ile nitreerjik inhibitör yolun baskılanması, eksitatör sinirlerin karşılanmamış etkilerinden dolayı AÖS basıncında artışa yol açmaktadır ^(56,57,58). Benzer şekilde kolinerjik eksitatör yolun antikolinerjik bir ajan tarafından baskılanması, inhibitör sinirlerin karşılanmamış etkileri nedeniyle AÖS basıncında azalmaya neden olmaktadır. Bu etki türe özel gibi görünmektedir. İnsan ve köpeklerin dışında keseli sıçanlarda ve maymunlarda atropin AÖS basıncını düşürmede başarısız olmaktadır ⁽⁵⁹⁾. Benzer bir sonuç in vitro AÖS kas şeritlerinde de gözlemlenmiştir. İnsanın da içinde bulunduğu bazı türlerde NOS inhibitörleri AÖS kas şeritlerinin tonusunu artırmakta ve domuz AÖS kas şeritlerinin tonusu ise atropin ile

düşmektedir ^(60,61). Nitroerjik myenterik nöronun AÖS bazal tonusu üzerine katkısı yüksek bazal AÖS basıncına sahip nöronal NOS hasarlı farelerde yapılan manometrik çalışmalarda da gösterilmiştir ⁽⁶²⁾.

Sempatik sinir sisteminin bazal AÖS basıncı üzerine etkisi net olmayıp bilateral servikal sempatetektomi veya splanknik sinir kesisinin bazal AÖS basıncı üzerine etkisi görülmemiştir ⁽³⁵⁾. Buna karşılık alfa ve beta adrenoseptör antagonistleri kullanılarak yapılan deneylerde bazal AÖS basıncı üzerinde % 30 kadar bir payın beta adrenoseptörler değilse de alfa adrenoseptörler üzerinden olduğu gösterilmiştir ⁽⁶³⁾.

2.5. AÖS Fizyolojisi

2.5.1. AÖS Gevşemesi

AÖS gevşemesi özefagusta yutmanın indüklediği primer peristaltizmin tamamlayıcı bir parçasıdır. Bununla birlikte AÖS relaksasyonu faringeal ve özefageal peristaltizm olmadan da meydana gelebilmektedir. Özefagus düz kas gerimi sekonder peristaltizmle ilişkili veya ilişkili olmadan AÖS gevşemesine neden olur. Bu tür bir gevşeme, vagal uyarının aracılık etmediği lokal refleks neticesinde oluşur. Geçici AÖS gevşemesi gastrik distansiyonun indüklediği ancak yutma ile ilişkili olmayan 10-30 saniye kadar süren bir gevşemedir ^(64,65,66,67). Geçici AÖS gevşemesi yemek sonrası gastro-özefageal reflüden ve gastro-özefageal reflü hastalığından sorumludur ⁽⁶⁸⁾.

2.5.1.1. Gevşemeye Aracılık Eden Nörotransmitterler / Modulatörler

NO ana inhibitör nörotransmitter olmakla birlikte diğer nörotransmitterlerin etkisi hala tartışmalıdır. VIP ve ATP özefagusta non-adrenerjik non-kolinerjik (NANK) gevşemeye aracılık ettiği düşünülen ilk nörotransmitterlerdir ^(69,70). Daha sonra yapılan çalışmalarda ise ATP ve adenozinin AÖS gevşemesinde etkili olmadığı VIP'in ana özefageal NANK nörotransmitter olduğu öne sürülmüştür ^(8,71,72). Ayrıca VIP'in AÖS düz kas şeritlerinin elektriksel alan uyarısı (EAU) sonucu oluşan gevşemeye aracılık eden bir nörotransmitter olduğu bulunmuştur ⁽⁷³⁾. Tüm bu görüşler 1980'lerin sonlarında NO'nun endotel hücrelerinden salıverildiğinin bulunması, selektif nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörlerinin keşfedilmesi ve NO'nun gastrointestinal kanalda NANK nörotransmisyonunda inhibitör mediyatör olduğunun bulunmasıyla değişmiştir ^(74,75,76).

2.5.1.1.1. Nitrik Oksit

AÖS gevşemesinde NO'nun rolü ilk kez 1991'de keseli sıçan AÖS düz kasında NOS inhibitörlerinin etkisinin araştırıldığı çalışmalarda saptanmış ve insan dokusunda da benzer sonuçlar elde edilmiştir ^(77,78,79,80). Köpek, kobay, sıçan, kedi ve domuz gibi farklı türlerde yapılan pek çok çalışmada NO'nun AÖS gevşemesine aracılık eden ana nörotransmitter olduğu saptanmıştır ^(4,61,77,81,82). İn vivo çalışmalarda NOS inhibitörlerinin yutma ile oluşan AÖS gevşemesini ortadan kaldırması veya azaltması, myenterik nitreerjik nöronlarda azalmanın bulunduğu akalazyaya sahip hastalarda durumu kötüleştirmedi, NO'nun fizyolojik önemini ortaya koymaktadır ^(56,57,58,62).

Akalazya hastalarının AÖS şeritlerinde intrinsik sinirlerin EAU ile stimülasyonu sonucu 'on' gevşemesi yerine 'on' kasılmasını oluşturması nitrejik nörotransmisyonun daha fazla hasarlandığını göstermektedir (78,80). Genetik olarak endotelial NOS (eNOS) ve nöronal NOS (nNOS)'ları hasarlanan farelerde yapılan çalışmalarda, NANK gevşemeye aracılık eden NO'nun enzimatik kaynağının eNOS'dan ziyade nNOS'un olduğu gösterilmiştir (62).

Farklı türlerde yapılan çalışmalarda NO, NO donörü ve EAU'nun AÖS düz kas şeritlerinde siklik guanozin mono fosfat (sGMP) yoluyla hiperpolarizasyon ve gevşeme yaptığı saptanmıştır. Guanilat siklaz inhibitörleriyle yapılan deneylerde ve direkt olarak sGMP ölçümüyle nitrejik myenterik nöron aktivasyonunun guanilat siklaz - sGMP yoluyla AÖS düz kasında gevşeme yaptığı tesbit edilmiştir (61,83,84).

2.5.1.1.2. Pürinler

ATP, ADP ve adenosin keseli sıçanlarda hiperpolarizasyon yaparak ve AÖS düz kas şeritlerinde gevşeme oluşturarak AÖS basıncını düşürürler (61,85). ATP'nin oluşturduğu gevşeme yanıtında hızlı komponenti takip eden yavaş gevşeme yanıtı karakteristiktir (61). Yapılan çalışmalarda P2 reseptörünün nonspesifik blokörü suramin ve düşük kondüktanslı kalsiyumla aktive potasyum kanal blokörü apaminin, ATP'nin AÖS düz kasında oluşturduğu gevşemeyi azalttığı saptanmıştır (61,86). Apamin ve P2Y1 reseptör antagonisti MRS2179'un ATP'nin indüklediği gevşemenin hızlı komponentini bloke ettiği gösterilmiştir (61).

2.5.1.1.3. Vazoaktif İntestinal Peptit

VİP'in AÖS gevşemesindeki rolü tartışmalıdır. VİP in vivo olarak AÖS basıncını azaltır ve farklı türlerde düz kas gevşemesi oluşturur (2,61,81,87,88). Bazı çalışmalarda düz kas hücresinde veya presinaptik olarak NO oluşumunda anlamlı bir payın VİP tarafından gerçekleştirildiği bulunmuştur (89). VİP'in oluşturduğu gevşemenin zayıf oluşu ve NOS inhibitörleri tarafından düzenlenmemesinden yola çıkarak, VİP'in NO oluşum yoluyla AÖS gevşemesi yapmadığı ortaya konulmuştur (61,84,88).

2.5.1.1.4. Kalsitonin Gen İle İlişkili Peptit

CGRP'nin in vivo olarak yapılan bir çalışmada AÖS basıncını düşürdüğü saptanmıştır (90). CGRP'nin in vitro etkileri türler arasında değişiklik göstermektedir. CGRP tavşan ve domuz düz kasında gevşeme yapmazken, keseli sıçanlarda CGRP 8–37 ile antagonize edilen doz bağımlı gevşeme yanıtı oluşturur (61,91).

2.5.1.1.5. Karbon Monoksit

CO gastrointestinal sistem düz kasında gevşetici rol oynamaktadır (92). CO sentezindeki temel enzim olan hem oksijenaz tip 2'nin AÖS enterik sinir sisteminde bulunduğu tesbit edilmiştir (93). Karbon monoksit salıveren molekül ve CO'nun keseli sıçan, kedi ve domuzda AÖS'yi gevşettiği ancak selektif hem oksijenaz inhibitörü protoporfirin IX'un EAU'nun indüklediği gevşeme üzerine bir etkide bulunmadığı görülmüştür (61,93). CO da NO gibi

guanilat siklaz ve sGMP oluşumunu aktive ederek gevşetici etkide bulunur (93).

2.5.2. AÖS Kasılması

AÖS gevşemesini bazal tonusa geri döndüren kasılma izler. Yutmanın indüklediği veya geçici gevşeme sonrası özefagusun peristaltizmi ile sfinkterin oral parçası ritmik olarak kasılır. AÖS'nin alt kısmı kasılma sonrası aynı karakteri göstermez ve sfinkter basıncı dinlenme seviyesini alır. EAU ile farklı türlerin AÖS düz kas şeritlerinde de benzer durum elde edilir. Şeritler eğer AÖS'nin proksimal kısmından çıkarılmışsa EAU stimulusu boyunca 'on' gevşeme yanıtını 'off' kasılma yanıtı takip ederken distal kısımdan çıkarılan şeritlerde ise 'on' gevşeme yanıtı görülür (94,95).

2.5.2.1. Kasılmaya Aracılık Eden Nörotransmitterler / Modulatörler

Tüm gastrointestinal sistem motor nöronlarında asetilkolin transferaz ve substans P (SP), nörokinin A (NKA) ve nörokinin B (NKB) gibi taşıkininler bulunur. ACh gastrointestinal sistemde ana eksitatör nörotransmitter iken bazı bölgelerde ise taşıkininler önemli rol üstlenebilmektedirler (96,97,98,99).

2.5.2.1.1. Asetilkolin

Asetilkolin transferaz'ın, AÖS myenterik pleksusunda bulunduğu gösterilmiştir ⁽¹⁰⁰⁾. Karbokol ve betanekol'ün AÖS düz kasında doz bağımlı kasılma oluşturduğu yapılan çalışmalarda saptanmıştır ⁽¹⁰¹⁾. Atropin'in EAU ile oluşan 'off' kasılma yanıtını inhibe ettiği tespit edilmiştir ^(61,95). Yapılan bir çalışmada M2 muskarinik reseptörlerin keseli sıçan AÖS düz kasında var oldukları bulunmuştur ⁽¹⁰²⁾. Kedi AÖS'unda kasılma yanıtının oluşumunda M3 muskarinik reseptörlerin aracılık ettiği ve M3 muskarinik reseptör antagonisti p-fluorohexa- hydro-sila-difenidol ile kasılmanın inhibe olduğu gösterilmiştir ⁽⁶⁾. M3 muskarinik reseptörlerin aktivasyonu ile fosfolipaz C aracılı inositol 3-fosfat ve diaçilgliserol oluşmaktadır. İnositol 3-fosfat endoplazmik retikulumdan kalsiyum salıverilmesine ve kalmodulin aktivasyonuna neden olur. Kalsiyum-kalmodulin myozin hafif zincir kinazı aktive ederek kasılma cevabı oluşumuna neden olmaktadır ⁽¹⁰³⁾.

2.5.2.1.2. Taşikininler

SP ve NKA'nın insan, domuz ve köpeklerin AÖS'lerinde varlıkları tesbit edilmiştir. İntravenöz SP uygulamasının kısmen ACh muskarinik reseptörleri kullanarak doz bağımlı olarak AÖS kasılması yaptığı, NKA'nın ise nöral kolinerjik mekanizmadan bağımsız bir şekilde AÖS tonusunu arttırdığı saptanmıştır ⁽¹⁰⁴⁾.

SP, NKA ve NKB'nin insan AÖS düz kasında konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtlarını farklı güçlerde oluşturduğu tesbit edilmiştir (NKA>NKB>SP). Selektif NK2 reseptör antagonisti SR 48968'nin NKA

yanıtını inhibe ettiği, selektif NK1 reseptor antagonisti CP-96345'nin ise NKA yanıtını inhibe etmediği saptanmıştır. Bu sonuçlar taşıkininlerin indüklediği kasılmanın taşıkinin NK2 reseptör stimölasyonu ile gerçekleştiğini ortaya koymaktadır ⁽¹⁰⁵⁾.

2.5.2.1.3. Nitrik Oksit

NO ana inhibitör mediyatör olarak bilinmesine rağmen AÖS kasılmasında da rol oynayabileceği düşünölmektedir. AÖS kasında EAU 'off' kasılmasının takip ettiği bir gevşeme yanıtı oluşturur. Keseli sıçanda domuzda ve farede NOS inhibitorü N-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) ve guanilat siklaz inhibitorü 1H-(1,2,4)-oksadiazol-(4,3-a) kuinoksalin-1 (ODQ) ile tüm yanıtların azalması NO'nun sadece gevşeme yanıtından değil aynı zamanda kasılma yanıtından da sorumlu olabileceğini ortaya çıkarmıştır ^(61,94). Nöronal NOS'u genetik olarak olmayan farelerde de benzer sonuçlar bulunmuştur ⁽¹⁰⁶⁾.

Tüm bu etkilerin türe özđü olduğu düşünölmektedir. Kedi, sıçan ve insanlarda NOS inhibitörleri 'off' kasılmasını etkilemediği bulunmuştur ⁽⁹⁵⁾. Keseli sıçanlarda ve kedilerde yapılan in vivo deneylerde NG-nitro-L-arginine intravenöz uygulanmasıyla AÖS gevşemesinde ve kasılma sonrası AÖS amplitüdünde inhibisyon oluştuğu saptanmıştır ^(34,56,57). İzole düz kas etkileri ile in vivo etkiler benzer olduğu için NOS inhibitörlerinin, AÖS gevşemesi üzerine periferal etkili olduğu ancak kasılma sonrası AÖS üzerindeki etkisinin ise santral olduğu düşünölmektedir. Kedilerde kasılma sonrası AÖS'de NO'nun santral saliverilmesi, vagusun dorsal motor nükleusunda nöral eksitasyonu ve AÖS'nin kolinerjik eksitatör innervasyonun aktivasyonu ile meydana gelmektedir ⁽¹⁰⁷⁾.

2.6. Yeni Gazotransmitter Hidrojen Sülfür

NO ilk tanımlandığında bilimsel topluluklar tarafından şaşırtıcı olarak karşılanmıştır. Çünkü bilinen tüm hormonlar, mediyatörler, nörotransmitterler organik bileşikler olup, NO kısa yarı ömrüne sahip serbest radikal niteliği taşıyan, birçok fonksiyonu düzenleyen efektör bir moleküldür ⁽¹⁰⁸⁾. Çok geçmeden ikinci olarak inorganik gaz özelliğinde bir bileşik olan CO'nun mediyatör ve nörotransmitter olarak endojen üretildiği fark edilmiştir. CO, hem'in biliverdine katabolizması sırasında hem oksijenaz enzimi tarafından sentezlenmektedir ^(109,110).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, bir başka toksik gaz olan H₂S'in memeli dokusunda önemli miktarda sentezlendiği ve düzenleyici mediyatör olarak birçok fizyolojik etkisinin olduğu gösterilmiştir. H₂S, yıllardır renksiz ve kuvvetli çürük yumurta kokusuna sahip çevresel toksik gaz olarak biliniyordu. Toksisitesinin esas mekanizması, mitokondriyal sitokrom c oksidaz enzimini güçlü bir şekilde inhibe etmesidir. Esasen H₂S, siyanid'den daha güçlü mitokondriyal solunumun inhibitörüdür ⁽¹¹⁾. 1980'lerin sonunda beyinde endojen H₂S bulunmuştur ve ilk başlarda postmortem memeli dokusunda hızlıca yükselen sülfür konsantrasyonlarından dolayı meydana gelen bir yapı olarak tanımlanmıştır ^(111,112). Abe ve Kimura H₂S'in yapımının beyindeki enzimatik mekanizmasını, fizyolojik konsantrasyonlardaki biyolojik etkilerini ve spesifik hücresel hedeflerini açıklayarak, H₂S'in beyinde endojen bir nöromodülatör olarak işlevi olabileceğini ilk kez tanımlamışlardır ⁽¹²⁾.

2.6.1. Hidrojen Sülfür'ün Kimyasal Özellikleri

H₂S fizyolojik ortamlarda; H₂S'in üçte biri pH 7,4 ve aköz solüsyonlarda olarak ayrışmamış halde, üçte ikisi hidrojen iyonu (H⁺) ile daha sonra H⁺ ve sülfid iyonuna (S⁻²) bozunabilen hidrojen sülfid iyonu (HS⁻) olarak ayrışmış halde bulunmaktadır. Ancak son reaksiyon yüksek pH'lı ortamda gerçekleşmekte olup S⁻² in vivo ortamlarda ortaya çıkmamaktadır. Sodyum hidrojen sülfid (NaHS) yaygın olarak kullanılan H₂S donörüdür. Çünkü NaHS, sodyum iyonu (Na⁺) ve HS⁻ olarak ayrışır. Sonrasında HS⁻ de kısmen H⁺ bağlayarak ayrışmamış H₂S'e dönüşür. H₂S, NO ve CO'ya benzer şekilde lipofiliktir ve plazma membranlarından kolaylıkla geçebilmektedir. Ancak kısmen ayrışması sebebiyle, diğer gazlara kıyasla membranların H₂S'e geçirgenliği daha azdır. H₂S serumda ve birçok dokuda yaklaşık 50 µM konsantrasyonda saptanabilmektedir. Beyinde saptanan fizyolojik konsantrasyonları serumdakinden fazla olup üç katı kadardır ve bu gerçekte toksik konsantrasyona yakın bir değerdir (21).

2.6.2. Hidrojen Sülfür'ün Sentezi ve Katabolizması

Beyin, kardiyovasküler sistem, karaciğer ve böbrekte yüksek oranda H₂S sentezi saptanmıştır (13). Endojen H₂S yapımı için tek substrat L-sistein olup, sülfür içerikli bir aminoasittir. L-sistein ise besin kaynaklarından, L-metiyoninin transsülfürasyon yolağında ara ürün olarak meydana gelen homosistein aminoasitinden veya endojen proteinlerden serbestleşerek oluşmaktadır. H₂S ana olarak sistatyonin beta sentaz (CBS), sistatyonin gama liyaz (CSE) ve 3-merkaptosülfür transferaz enzimleri ile sentez edilmektedir. (14). CBS ve CSE enzimleri dokularda

yaygın olarak dağılmıştır. Her iki enzim de piridoksal 5'-fosfat (vitamin B₆) bağımlıdır. CBS santral sinir sisteminde, CSE ise kardiyovasküler sistemde H₂S'in sentezinde önceliklidir. Karaciğer, böbrek gibi bazı dokularda H₂S'in üretiminden her iki enzimde eşit oranda sorumludur ^(15,16). Memeli kolonunda yer alan sülfür indirgeyici bakteriler tarafından da H₂S üretilmektedir ⁽¹¹³⁾. H₂S, insanlarda ve diğer omurgalılarda olduğu gibi bakterilerde de CBS, CSE enzimleri ve 2-piridoksal-5'-fosfat bağımlı olmayan enzim olan 3-merkaptopirüvat sülfürtransferaz enzimi tarafından sentezlenmektedir ^(114, 115, 116,117).

H₂S başlıca mitokondride hızlıca okside olup ilk olarak sülfid ve sülfata dönüşecek olan tiyosülfat oluşur. H₂S'nin tiyosülfata oksidasyonu mitokondriyal solunumun elektron transportuyla ilişkili enzimatik olmayan mekanizma ile gerçekleşmektedir. Ayrıca bu reaksiyon süperoksit dismutaz enzimi ile de katalize olabilmektedir. Sülfid de sülfid oksidaz enzimiyle hızlı bir şekilde sülfata okside olmaktadır. Böylece üriner sülfatın çoğu H₂S'den oluşan tiyosülfattan ziyade sistein dioksijenaz enzimi ile sistein oksidasyonundan kaynaklanan sülfat olmasına karşın fizyolojik durumlarda H₂S'in metabolizmasının esas son ürünü sülfattır. Ayrıca idrarda sülfatın %1'inden daha az konsantrasyonda tiyosülfat ekskresyona uğramaktadır. Bununla birlikte üriner tiyosülfat H₂S'in tüm vücuttaki yapımının spesifik belirteci olarak düşünülmektedir. H₂S'in metabolizmasından sorumlu ikincil yolak esas olarak sitozolde gerçekleşmektedir ve tiyol S-metil transferaz enzimiyle metilasyona uğrayarak metanetiyol ve dimetilsülfid'e dönüşmektedir ^(118,119,120,121,122).

2.6.3. Hidrojen Sülfür'ün Santral Sinir Sistemindeki Rolü

Abe ve Kimura tarafından yapılan bir çalışmada sıçan hipokampusunda, serebellumunda ve H₂S yapımının olduğu beyin homojenatlarında, CBS'nin yüksek düzeyde eksprese edildiği gösterilmiştir ⁽¹²⁾. Yapılan çalışmalarda H₂S'in santral sinir sisteminde hipokampal uzun dönem potansiyalizasyonu arttırdığını ve bu etkisinde NMDA reseptörlerinin glutamata olan duyarlılığını arttırmasının rol oynadığı saptanmıştır. H₂S'in NMDA reseptörüyle etkileşiminde siklik adenosin mono fosfat (sAMP) bağımlı protein kinaz yolağının aktivasyonunun gerçekleştiği gösterilmiştir. NaHS (1-100 µM)'in, sıçan serebral, serebellar nöronlarında ve beyin glial hücrelerinde sAMP oluşumunu arttırdığı tespit edilmiştir ^(17,18).

H₂S astrositlerin fonksiyonlarını da düzenlemektedir. H₂S, sıçan beyin astrositlerinde yapılan primer hücre kültüründe hücre içi kalsiyumu arttırmaktadır. Astrositlerde nöronlardan farklı olarak H₂S oluşumu CSE enzimi tarafından gerçekleşmekte ve hücre içi kalsiyum üzerindeki etkisi sAMP ve protein kinaz A aracılığıyla olmaktadır ^(123,124).

H₂S'in periferik sinir sisteminde de bazı etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. H₂S, kapsaisin duyarlı duysal sinirleri stimüle ederek substans P ve nörokinin-A gibi taşıkininlerin salıverilmesine neden olduğu bulunmuştur. Sıçan mesane detrüsör kasında yapılan bir çalışmada H₂S'in konsantrasyon bağımlı kasılmaya neden olduğu gösterilmiştir. Ancak NK1 ve NK2 antagonistlerinin uygulanmasıyla hem de yüksek doz kapsaisin ile afferent duysal sinir desensitizasyonu yapılmasıyla H₂S'in bu etkisinin tamamen ortadan kalkmasından dolayı direkt bir etki olmadığı ileri

sürülmüştür. H₂S ile ilgili bu cevabın spesifik mekanizması tam olarak netleştirilememiş ancak TRPV-1 (Transient receptor potential vanilloid receptor) kalsiyum kanalının spesifik olmayan blokörü olan rutenyum kırmızısı ile bu cevabın ortadan kalktığı gösterilmiştir. Bu veriler duyuşal sinir sonlanmalarındaki TRPV-1 veya ilişkili iyon kanallarını H₂S'in aktive edebileceğini göstermektedir ^(19,20).

2.6.4. Hidrojen Sülfür'ün Kardiyovasküler Sistemdeki Rolü

H₂S'in yapımından beyinde esas sorumlu olan enzim CBS iken kardiyovasküler sistemde ana enzimin CSE olduğu bulunmuştur. İmmünhistokimyasal ve ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu ile yapılan çalışmalarda CSE'nin endotelial hücrelerde değil vasküler düz kas hücrelerinde eksprese edildiğı gösterilmiştir ⁽²²⁾.

H₂S, NO ve CO gibi mediyatörlere benzer olarak gevşemeye neden olmaktadır ve damar düz kasında güçlü gevşetici etki gösteren bir gazotransmitter olabileceğı ileri sürülmektedir ^(21,22,23). İn vitro yapılan bir çalışmada norepinefrinle kasılmış sıçan torasik aortasının ve portal veninin H₂S ve NaHS ile gevşediğı tespit edilmiştir. Özellikle periferel dayanıklılığı olan sıçan mezenterik arterinde H₂S'in vasküler direncin ve kan basıncının düzenlenmesinde yüksek debili damarlara göre daha belirgin gevşetici etkiye sahip olduğı bulunmuştur ⁽²³⁾. Vasküler dokularda rolü iyi bilinen NO tarafından indüklenen gevşeme yanıtı NO'ya duyarlı guanilat siklaz inhibitörü ODQ tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Fakat H₂S tarafından indüklenen gevşeme yanıtının üzerinde bir etkisi yoktur ^(21,22). Sonuç olarak H₂S, NO ve CO'dan farklı olarak vasküler dokularda sGMP yolağının aktivasyonundan bağımsız gevşetici etki göstermektedir ⁽¹⁷⁾.

H₂S'in torasik aortada K_{ATP} kanallarını açarak damarları gevşettiği ve in vivo hipotansiyon oluşturduğu bildirilmiştir ⁽²²⁾. Ayrıca bu dokuda çok düşük konsantrasyonda H₂S'in, NO ile indüklenmiş düz kas gevşemesini arttırdığı da ileri sürülmektedir ⁽¹⁴⁾. H₂S'in düz kas gevşetici etkisi sıçan mezenter arterinde K_{ATP} kanalları aracılığıyla meydana geldiği ileri sürülmektedir. Mezenterik arterde endotelin uzaklaştırılmasıyla veya potasyum kanallarını bloke eden ayrıca endotel bağımlı vazodilatasyonu kısmen inhibe etmekte yaygın olarak kullanılan apamin ve karibdotoksinin uygulanmasıyla H₂S'in yüksek gaz konsantrasyonunda indüklediği gevşeme yanıtının azaldığı saptanmıştır ⁽²³⁾.

Öte yandan bir başka çalışmada intravenöz uygulanan H₂S'in yaptığı kan basıncındaki 12-30mmHg'lik azalma üzerine kalsiyum ile aktive olan potasyum (K_{Ca}) kanal blokörleri karibdotoksin ve iberiotoksinin etkisi görülmemiştir. Yapılan bu çalışmada oluşan etkinin benzeri pinasidil (K_{ATP} kanal aktivatörü) tarafından da oluşmakta, glibenklamid (K_{ATP} kanal inhibitörü)'in de bu etkiyi engellediği gösterilmiştir. Aynı zamanda yüksek potasyumlu ortamda damar inkübe edildiğinde H₂S'in vazodilatör etkisinin zayıfladığı gösterilmiştir ^(14,17,22). Spesifik olmayan potasyum kanal blokörü tetraetilamonyum (TEA) varlığında H₂S ile indüklenen gevşeme yanıtının inhibe olduğu tespit edilmiştir. H₂S ile oluşan gevşeme yanıtları ODQ tarafından potansiyelize olmaktadır. H₂S ve ODQ'nun sinerjistik etkileşiminin vazodilatör serbest radikaller oluşturmalarına bağlı olabileceği ileri sürülmüştür ^(17,22). NaHS hem in vitro hem de in vivo olarak myokardiyal kontraktiliteyi azaltmaktadır. Bu etkinin glibenklamid uygulanmasıyla tamamen yok olmadığı fakat zayıfladığı gösterilmiştir ⁽¹²⁵⁾.

2.6.5. Hidrojen Sülfür'ün Gastrointestinal Sistemdeki rolü

Gastrik mukozada CSE ve CBS enzimlerinin her ikisinin de eksprese edildiği gösterilmiştir ⁽²⁴⁾. Endojen H₂S'in mukozal yaralanmaya karşı koruyucu faktör olduğu ileri sürülmüştür. CBS ve CSE kobay ve insan kolonunda submukozal ve myenterik sinir pleksusunda immünohistokimyasal olarak saptanmıştır ⁽²⁵⁾. Asetil salisilik asid (ASA) ve steroid yapısında olmayan anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ) CSE gen ekspresyonunu ve H₂S yapımını azalttığı saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda ASA ve NSAİİ'lerle sıçanlarda azalan mukozal kan akımını NaHS'in önlediği gösterilmiştir. Ayrıca NaHS'in, NSAİİ'lerle indüklenen vasküler endotelyuma lökosit yapışmasını ve mukozaya lökosit infiltrasyonunu azalttığı, tümör nekrosis faktör-alfa (TNF- α)'nın ekspresyonunu ve hücre içi adezyon molekülü-1 (ICAM-1)'i arttırdığı, bozulan prostaglandin E₂ (PGE₂) sentezini dengeleyip normalize ettiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda NaHS gastrik mukozadaki histolojik lezyonları azalttığı saptanmıştır ^(21, 126).

Kobaylarda yapılan bir çalışmada gastrik antrum düz kasında ekzojen H₂S kaynağı olarak kullanılan NaHS'in çift yönlü etkisi görülmüştür. Düşük konsantrasyonlarda NaHS, K_{ATP} kanallarını direkt aktive ettiği, K⁺'un dışarı atılmasına ve membranın hiperpolarizasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Buna bağlı kalsiyumun hücre içine girişini azalttığı ve spontan kontraksiyonun amplitüdünü düşürdüğü gözlemlenmiştir Aynı zamanda K_V kanallarının açılmasını kısmen inhibe ettiği, böylece membran depolarizasyonuna neden olup hücre içi kalsiyum seviyesinin artmasına sebep olduğu ve gastrik düz kasın istirahat gerimini arttırdığı saptanmıştır. Memelilerdeki H₂S'in fizyolojik

konsantrasyonlarından çok daha yüksek NaHS konsantrasyonlarında yapılan bir çalışmada ise K_{ATP} kanalının açılmasını indüklediği gözlemlenmiştir ⁽²⁶⁾.

Farklı hayvan türlerinde yapılan çalışmalarda ileumun spontan kasılmalarını veya ACh ile oluşturulmuş kasılma yanıtını H_2S 'in azalttığı tespit edilmiştir ^(14,27). İn vivo yapılan bir çalışmada NaHS'in periton içine uygulanması sonucu sıçan kolonunda gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir ⁽¹²⁷⁾. Kobay ve insan kolonunda NaHS veya L-sistein seroz alana uygulandığında lümen içine klor sekresyonu artmaktadır. Bu etki tetradotoksinle, afferent sinirlerin kapsaisinle desensitize edilmesiyle veya TRPV-1 antagonisti olan kapsazepinle bloke edilmektedir. Buna ek olarak NaHS'in sekretuar etkisi insan kolon epitelyal hücrelerinde gözlenmemektedir. Bu veriler doğrultusunda H_2S 'in enterik sinir sisteminden kaynaklandığı ve mukoza veya submukozal sekretomotor sinirlere kollateraller veren TRPV-1 reseptörleri içeren duysal sinir sonlanmalarının indirekt olarak mukozal sekresyonda rol oynadığı gösterilmiştir. Böylelikle H_2S 'in mide motilitesindeki ve sekretuar fonksiyonundaki rolü belirlenmiştir ⁽²⁵⁾.

Disrutti ve arkadaşları sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada kolorektal distansiyonla oluşturulan viseral ağrı duyusunu NaHS'in doz bağımlı olarak iyileştirdiğini göstermişlerdir. Antinosiseptif etkisi, yüksek NaHS ile oluşan kolonik gevşemeye atfedilmeyip kolorektal distansiyonun NaHS ile iyileştirilmesi spinal kordda c-FOS gen ekspresyonunu artırarak direkt nörotransmisyonu etkilemesiyle ilişkilendirilmiştir. NaHS hayvanlarda oluşan kolitin allodini cevaplarını yok ettiği ve hiperaljeziyi belirgin azalttığı gösterilmiştir ⁽¹²⁷⁾.

Fiorucci ve arkadaşları safra kanalı ligasyonu ile yaptıkları deneysel sirozda H_2S 'in norepinefrinle oluşturulan vazokonstriksiyonu iyileştirici etkisinin, sağlıklı karaciğerde oluşturulan vazokonstriksiyonu iyileştirici etkisi ile aynı düzeyde olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada CSE'nin hepatik endotel hücrelerince değil hepatositler ve hepatik yıldız hücrelerce eksprese edildiği saptanmıştır. Bununla birlikte safra kanalı ligasyonu ile veya karbontetraklorid ile oluşturulan deneysel sirozda elde edilen karaciğer homojenatlarında H_2S üretiminin düşmesi CSE ekspresyonunun azalmasıyla ilişkilendirilmiştir ⁽¹²⁸⁾.

Kolon mukozasında sülfat indirgeyici bakterilerce sülfat içeren besinlerden yüksek miktarda H_2S ortaya çıkmaktadır ve bu bakteriyel kökenli oluşan H_2S 'in ülseratif kolit, kolorektal kanserler gibi çeşitli barsak hastalıklarına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir ⁽²⁸⁾. Luminal alanda bulunan enterositlerin yüksek düzeyde rodanaz enzimini eksprese etmeleri sebebiyle kolonik mukozadaki H_2S etkili bir şekilde metabolize edilmektedir. Bu sebeple H_2S 'in genotoksik etkisine kolondaki hücrelerin duyarlılığı diğer hücrelere oranla çok daha az olmaktadır ⁽¹²⁹⁾. Rodanaz enziminin barsaklarda ekspresyonu H_2S ile stimüle edilmektedir ve epitelial hücre farklılaşması süresince ekspresyonu artmaktadır. Bununla ilişkili olarak ülseratif kolitli veya kolorektal kanser hastalarında intestinal rodanaz enzim ekspresyonunun, sağlıklı kontrollere göre daha düşük bulunması dikkati çekmiştir ⁽¹³⁰⁾.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. İzole Tavşan Alt Özefagus Sfinkter Preparatının Hazırlanması

Deneylerde 4-6 aylık 3-3,5 kg. ağırlığında 18 adet albino tavşan kullanılmıştır. Çalışma Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (G.Ü.E.T.-11.004). Tavşanlar normal laboratuvar koşullarında standart laboratuvar hayvan yemi ile beslenmiş, tavşanlar kulak veninden tiyopental (30 mg/kg, i.v.) ile anesteziye edildikten sonra özefagus ve mide birlikte çıkarılarak özefagogastrik bileşke izole edilmiştir. Doku, önceden 37° C'ye ısıtılmış ve %5 CO₂, %95 O₂ karışımı ile havalandırılan Krebs solüsyonu bulunan petrilere konulmuş, petrilere epidermal doku, bağ dokusu dokudan uzaklaştırılmıştır. Daha sonra alt özefagus sfinkteri sirküler olarak eşit boyuttaki (3x3x20 mm) iki şeride kesilmiş ve her bir şeritte ayrı olarak çalışılmıştır. Dokular organ askısı yardımıyla Krebs solüsyonu içeren 15 ml'lik organ banyosuna bir ucu organ askısına, bir ucu izometrik kasılmaları kayıt etmek için Grass izometrik kuvvet transdüserine (FT 03, Grass Instruments, Quincy, MA, ABD) bağlı olacak şekilde yerleştirilmiştir. İzometrik düz kas kasılmaları ve gevşemeleri transdüserler aracılığı ile Grass marka kayıt sisteminde (79 E, Grass Instruments, Quincy, MA, ABD) kayıt edilmiştir.

3.2. Deney Protokolu

Dokulara deneylerin başlangıcında 1 g ön gerilim uygulanmış ve 15 dk da bir yıkanarak bir saat süre ile dengelenmeye bırakılmıştır. Spontan tonusun oluşması nedeniyle bozulan gerim dinlenme süreci boyunca tekrar 1 g'a ayarlanmıştır. Dinlenme periyodunun ardından yapılan ön deneylerde Elektriksel Alan Uyarısı (EAU) için uygun parametreler belirlenmiş, EAU için dokular iki platin elektrod arasına vertikal olarak ve elektrodla değmeyecek şekilde asılmıştır. Elektriksel stimülasyon için Grass S48 Stimülatör (Grass Instruments, Quincy, MA, ABD) kullanılmıştır. EAU aracılı kasılma yanıtları 120 s. aralıkla 10 s. süre ile 60 V, 1 ms. parametrelerinde ve 8 Hz de kasılma yanıtları alınmıştır.

EAU aracılı kasılma yanıtları, sempatik sinir sisteminin ve prostoglandinlerin etkisini ortadan kaldırmak için, sempatik sinir sonlanmalarından noradrenalin salıverilmesini inhibe eden guanetidin (10^{-6} M) ve siklooksijenaz inhibitörü indometasin (10^{-5} M) varlığında alınmıştır. Guanetidin ve indometasin organ banyosuna EAU aracılı kasılma yanıtları elde edilmeden 20 dk. önce eklenmiştir.

3.2.1. EAU Aracılı Nörojenik Kasılma Yanıtların Tanımlaması:

EAU aracılı kasılma yanıtları alındıktan sonra ortama farklı dokularda farklı agonist ve antagonistler (guanetidin 10^{-6} M; indometasin 10^{-5} M; atropin, muskarinik reseptör antagonisti, 10^{-6} M; neostigmin, antikolinesteraz, 10^{-6} M; L-NAME, nitrik oksit sentaz inhibitörü, 10^{-4} M) uygulanarak EAU ile oluşan yanıtlar tanımlandı.

3.2.2. EAU Aracılı Nörojenik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi:

Alt özefagus sfinkter şeritlerinde guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M) varlığında kontrol kasılma yanıtları elde edildi. Kasılma yanıtları stabilize olduktan sonra ortama artan dozlarda NaHS (H_2S donörü) (10^{-6} – 3×10^{-3} M), L-sistein (endojen H_2S prekürsörü) (10^{-5} – 3×10^{-3} M) ve D,L-propargilglisin (PAG-CSE enzim inhibitörü) (10^{-5} – 3×10^{-3} M) eklendi ve EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine etkilerine bakıldı.

3.2.3. EAU Aracılı NO Bağımsız Nörojenik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi:

Alt özefagus sfinkter şeritlerinde guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve L-NAME (10^{-4} M) varlığında kontrol kasılma yanıtları elde edildi. Kasılma yanıtları stabilize olduktan sonra ortama artan dozlarda NaHS (10^{-6} – 3×10^{-3} M), L-sistein (10^{-5} – 3×10^{-3} M) ve PAG (10^{-5} – 3×10^{-3} M) eklendi ve EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine etkilerine bakıldı.

3.2.4. EAU Aracılı NANK Nörojenik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi:

Alt özefagus sfinkter şeritlerinde guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve atropin (10^{-6} M) varlığında kontrol kasılma yanıtları elde edildi. Kasılma yanıtları stabilize olduktan sonra ortama artan dozlarda NaHS (10^{-6} –

3×10^{-3} M), L-sistein ($10^{-5} - 3 \times 10^{-3}$ M) ve PAG ($10^{-5} - 3 \times 10^{-3}$ M) eklendi ve EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine etkilerine bakıldı.

3.2.5. Ekzojen Potasyum Klorür ile Oluşan Kasılma Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi:

Alt özefagus sfinkter şeritleri 80 mM potasyum klorür (KCl) ve 2,5 mM kalsiyum (Ca^{+2}) ile kasıldı ve ortama guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M) eklendi. 20 dakika sonra NaHS ($10^{-6} - 3 \times 10^{-3}$ M), L-sistein ($10^{-5} - 3 \times 10^{-3}$ M) ve PAG ($10^{-5} - 3 \times 10^{-3}$ M) eklenerek kasılma üzerine etkilerine bakıldı.

3.3. Deneylerde Kullanılan Solüsyon ve Maddeler

Banyo solüsyonu olarak kullanılan Krebs-Henseleit çözeltisinin bileşimi (mM), NaCl 118; KCl 4.7; NaHCO₃ 25; NaH₂PO₄-2H₂O 0.9; CaCl₂-2H₂O 1.26; MgCl-6H₂O 0.5; Glukoz monohidrat 11. 80 mM KCl 'lik Krebs-Henseleit çözeltisinin bileşimi (mM), NaCl 42.7; KCl 80.0 mM; NaHCO₃ 25; NaH₂PO₄-2H₂O 0.9; CaCl₂-2H₂O 1.26; MgCl-6H₂O 0.5; Glukoz monohidrat 11.

Atropin sülfat, neostigmin, guanetidin monosülfat, L-NAME hidroklorid, indometasin, NaHS, L-sistein, PAG Sigma Chemical Co. (St. Louis MO, ABD)'den temin edilmiştir. Atropin sülfat, neostigmin, guanetidin monosülfat, L-NAME hidroklorid, NaHS, L-sistein, PAG distile suda, İndometasin dimetil sülfoksit (DMSO)'te çözünmüştür.

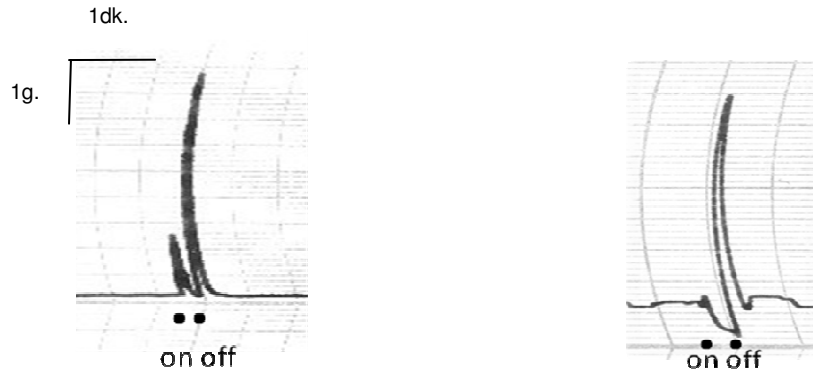
3.4. Bulguların Sunuluşu ve İstatistiksel Analiz

NaHS, L-sistein ve PAG'ın kontrol yanıtlarına olan etkisi ifade edilirken, EAU aracılı gevşeme yanıtları kontrol yanıtlarının yüzdesi olarak hesaplandı. Verilerin istatistiksel analizi "SPSS for Windows 10.0" programı ile bilgisayar ortamında yapılmıştır. Deneysel sonuçlar, ortalama değer $\pm$ standart hata ile ifade edilmiştir. Deney gruplarından elde edilen yanıtların istatistiksel olarak anlamlılığını değerlendirmek için Mann Whitney U testi kullanılmış, $p < 0.05$ ise ortalamalar arası fark anlamlı kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

4.1. EAU Aracılı Nörojenik Yanıtların Tanımlaması:

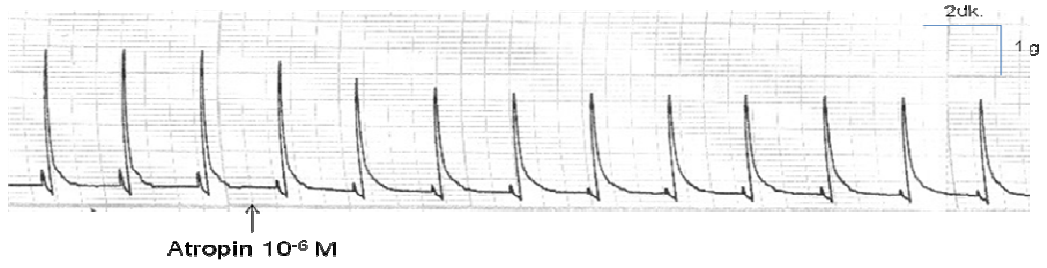
Ön çalışmalarda dokularda bifazik yanıtlar elde edildi. Bifazik yanıtlar EAU başlamasıyla olan “on” fazı ve EAU bitmesiyle başlayan “off” fazı olarak elde edildi. “off” fazı tüm dokularda stabil iken, “on” fazı çoğunluğu kasılma yanıtı olmak üzere, bazı dokularda da gevşeme yanıtı olarak gözlendi (Şekil 1). Bu yüzden maddelerin “off” fazı üzerine etkileri değerlendirildi.



Şekil 1 : Alt özefagus sfinkterinde EAU aracılı bifazik yanıtlar

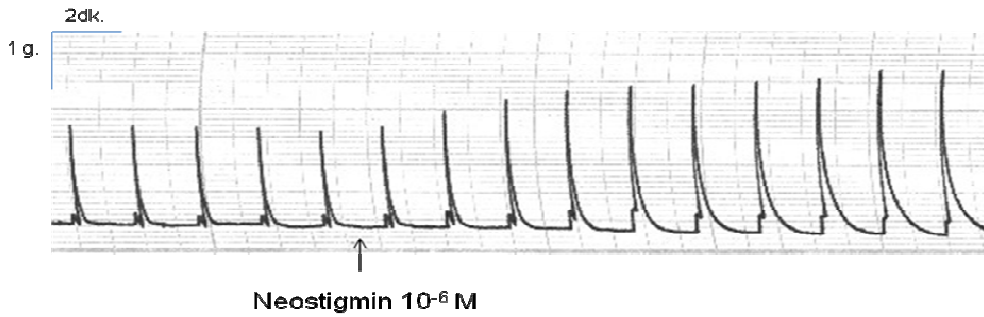
Guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M) EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmadi.

Atropin (10^{-6} M) EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı ($\%47,41 \pm 3,97$) (Şekil 2) (Grafik 1). Ayrıca atropin “on” kasılma fazı olan dokularda bu fazı ortadan kaldırdı ve “on” gevşeme fazının ortaya çıkmasına neden oldu.



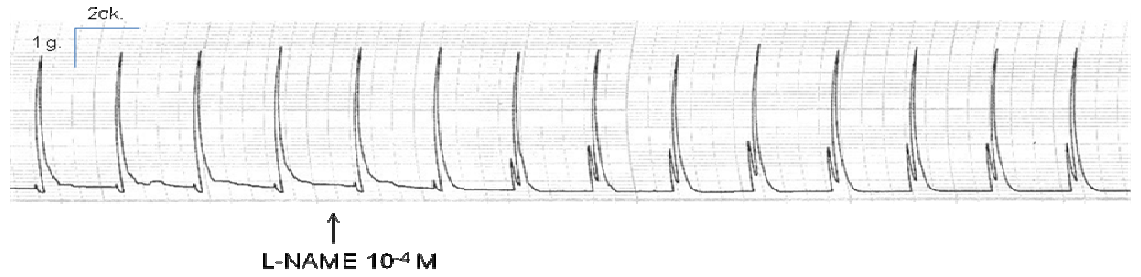
Şekil 2 : EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine atropin (10^{-6} M)’in etkisi.

Neostigmin (10^{-6} M) EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda arttırdı ($\%64,71 \pm 2,08$) (Şekil 3) (Grafik 1).

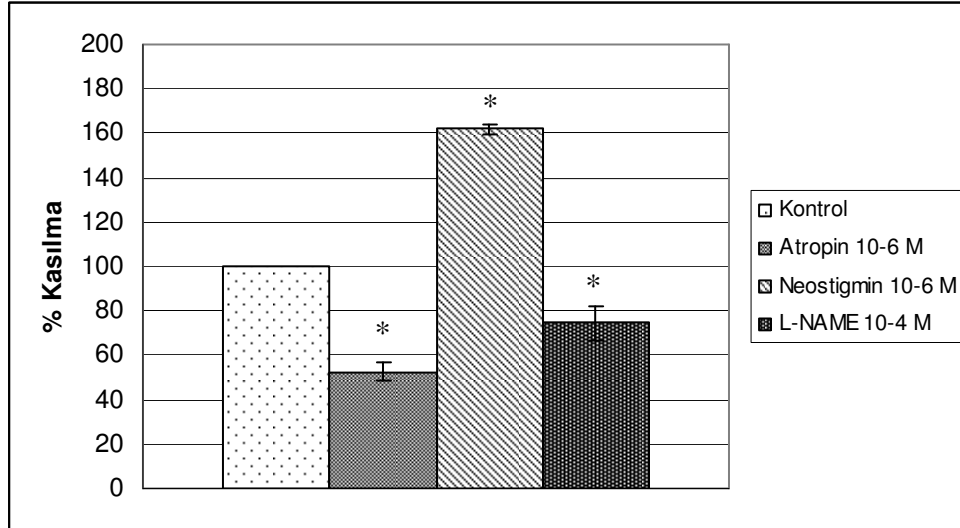


Şekil 3 : EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine neostigmin (10^{-6} M)’in etkisi.

L-NAME (10^{-4} M) EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı ($\%21,93 \pm 5,37$) (Grafik 1). Ancak bazı dokularda EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını etkilemedi veya artışa neden oldu. L-NAME “on” gevşeme fazı olan dokularda bu fazı ortadan kaldırdı. “on” fazı kasılma olan dokularda bu fazda artışa neden oldu (Şekil 4).



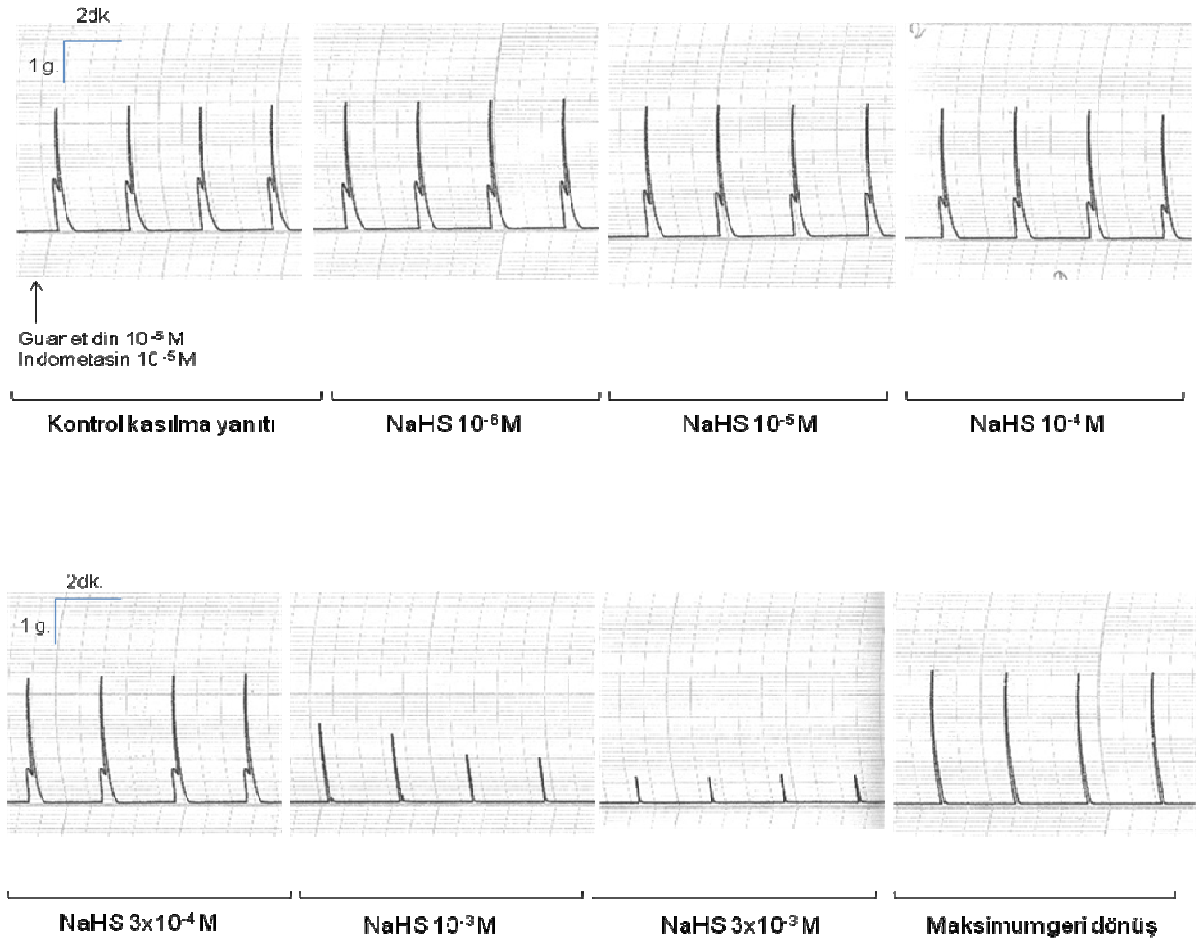
Şekil 4 : EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine L-NAME (10^{-4} M)'in etkisi.



Grafik 1: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine atropin (10^{-6} M), neostigmin (10^{-6} M) ve L-NAME (10^{-4} M)'in etkisi. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p<0,05, n=4$).

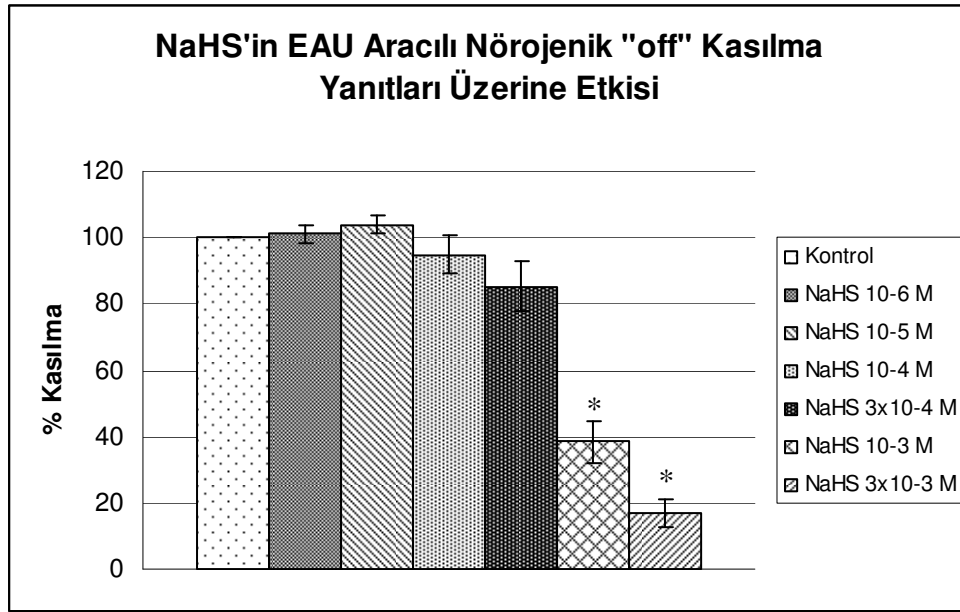
4.2. EAU Aracılı Nörojenik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi:

NaHS (10^{-6} – 3×10^{-3} M) EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı ($\%83,24 \pm 4,06$). NaHS'in bu azaltıcı etkisi zamanla geri döndü. Maksimum geri dönüş $\% 79,17 \pm 7,90$ olup, dönüşün ortalama 110dk. (50 – 152dk.) da olduğu gözlemlendi (Şekil 5) (Grafik 2).



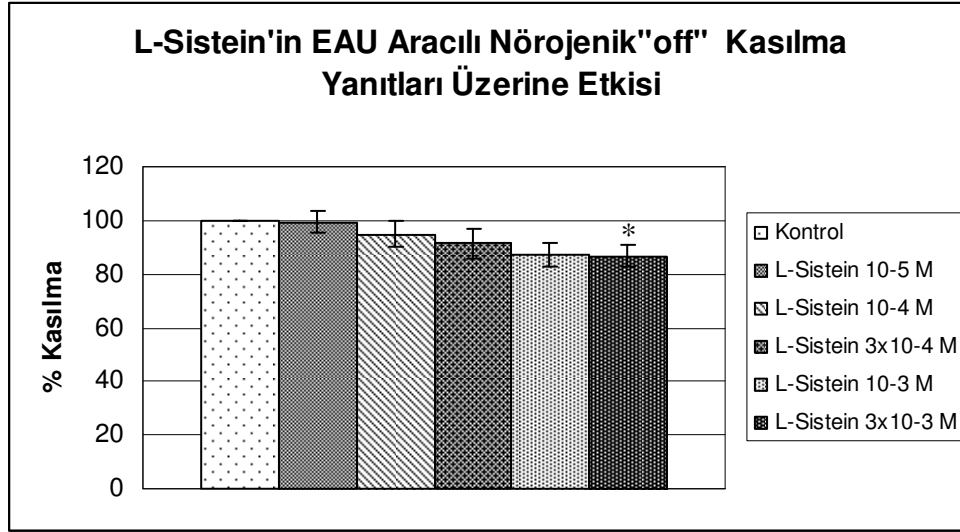
Şekil 5 : EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine NaHS (10^{-6} – 3×10^{-3} M)'in etkisi.

NaHS “on” kasılma fazını da azalttı ve geri dönüşte sadece “off” kasılma fazında dönüş oldu (Şekil 5). Ancak bazı preparatlarda “on” kasılma fazında da geri dönüş gözlemlendi.



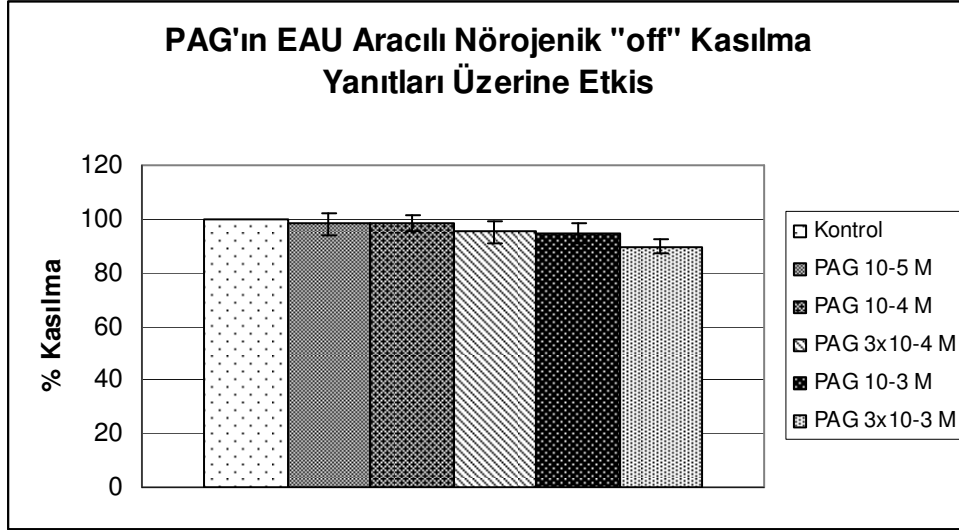
Grafik 2: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine NaHS (10^{-6} – 3×10^{-3} M) ’in etkisi. Kasılma yanıtları guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M) varlığında alındı. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p < 0,05$, $n=5$).

L-sistein (10^{-5} - 3×10^{-3} M) EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı ($13,35 \pm 4,22$)(Grafik 3).



Grafik 3: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine L-sistein (10^{-5} - 3×10^{-3} M) 'in etkisi. Kasılma yanıtları guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M) varlığında alındı. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p < 0,05$, $n=5$).

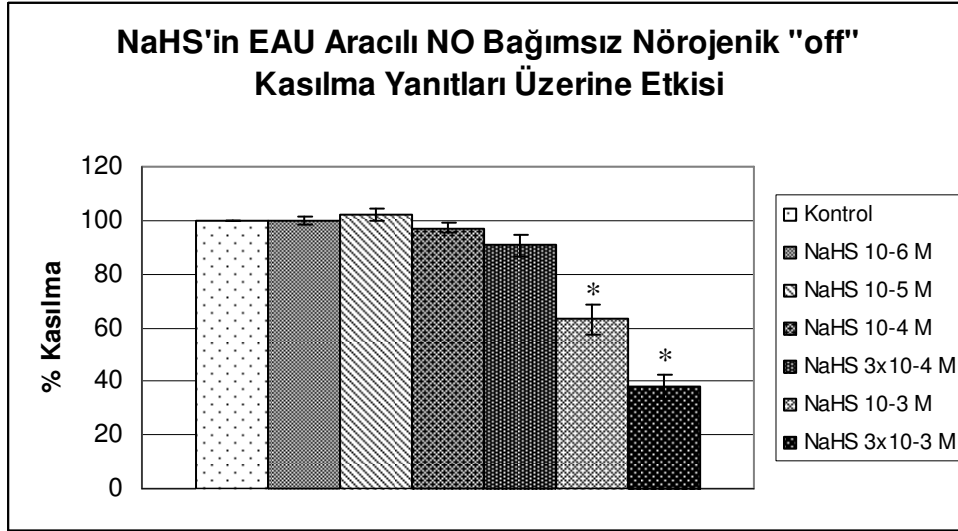
PAG (10^{-5} - 3×10^{-3} M) EAU aracılı "off" kasılma yanıtlarını $11,14 \pm 4,22$ oranında azalttı (Grafik 4).



Grafik 4: EAU aracılı nörojenik "off" kasılma yanıtları üzerine PAG (10^{-5} - 3×10^{-3} M)'ın etkisi. Kasılma yanıtları guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M) varlığında alındı. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (n=5).

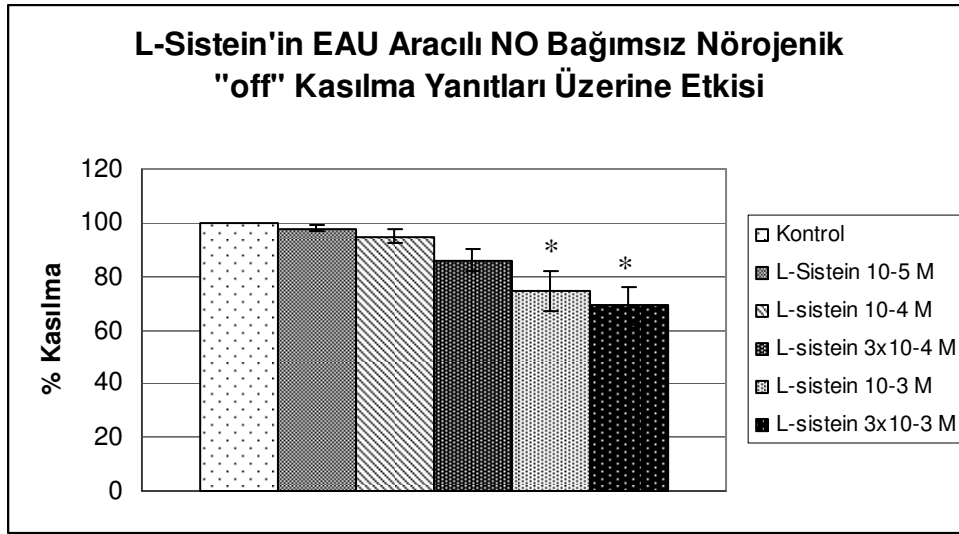
4.3. EAU Aracılı NO Bağımsız Nörojenik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi:

Guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve L-NAME (10^{-4} M) varlığında NaHS (10^{-6} – 3×10^{-3} M) EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı ($62,04 \pm 4,55$) (Grafik 5). NaHS'in bu azaltıcı etkisi zamanla geri döndü. Maksimum geri dönüş % $85,37 \pm 5,14$ olup, dönüşün ortalama 74,25 dk. (46 – 92dk.) da olduğu gözlemlendi.



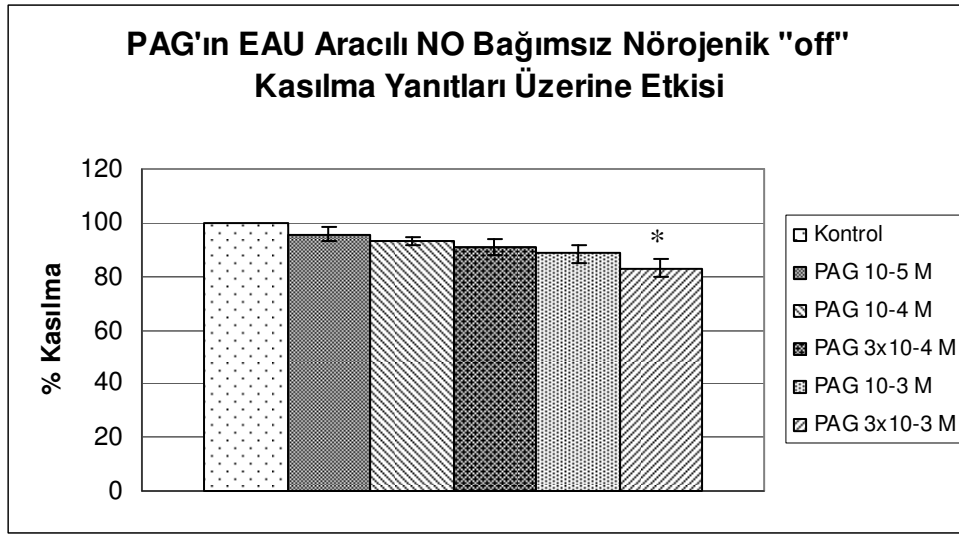
Grafik 5: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine NaHS (10^{-6} – 3×10^{-3} M)’in etkisi. Kasılma yanıtları guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve L-NAME (10^{-4} M) varlığında alındı. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p < 0,05$, $n=6$).

Guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve L-NAME(10^{-4} M) varlığında L-sistein (10^{-5} - 3×10^{-3} M) EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı ($30,81 \pm 7,08$) (Grafik 6).



Grafik 6: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine L-sistein (10^{-5} - 3×10^{-3} M)’in etkisi. Kasılma yanıtları guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve L-NAME (10^{-4} M) varlığında alındı. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p < 0,05$, $n=5$).

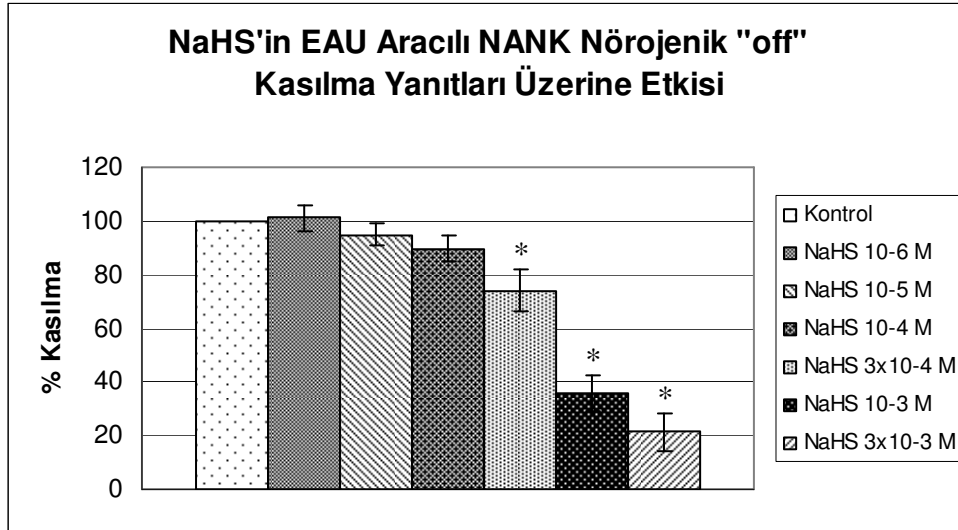
Guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve L-NAME(10^{-4} M) varlığında PAG (10^{-5} - 3×10^{-3} M) EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı ($16,96 \pm 3,55$) (Grafik 7) .



Grafik 7: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine PAG (10^{-5} - 3×10^{-3} M)’ın etkisi. Kasılma yanıtları guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve L-NAME (10^{-4} M) varlığında alındı. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p < 0,05$, $n=5$).

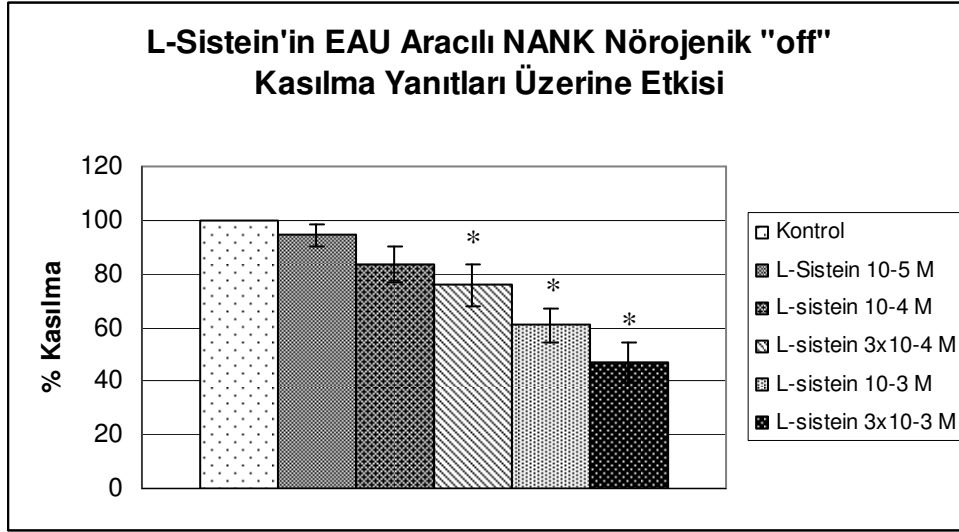
4.4. EAU Aracılı NANK Nörojenik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi:

Guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve atropin (10^{-6} M) varlığında NaHS (10^{-6} – 3×10^{-3} M) EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı ($78,64 \pm 6,90$) (Grafik 8). NaHS'in bu azaltıcı etkisi zamanla geri döndü. Maksimum geri dönüş % $73,89 \pm 10,71$ olup, dönüşün ortalama 79 dk. (60 – 111 dk.) da olduğu gözlemlendi.



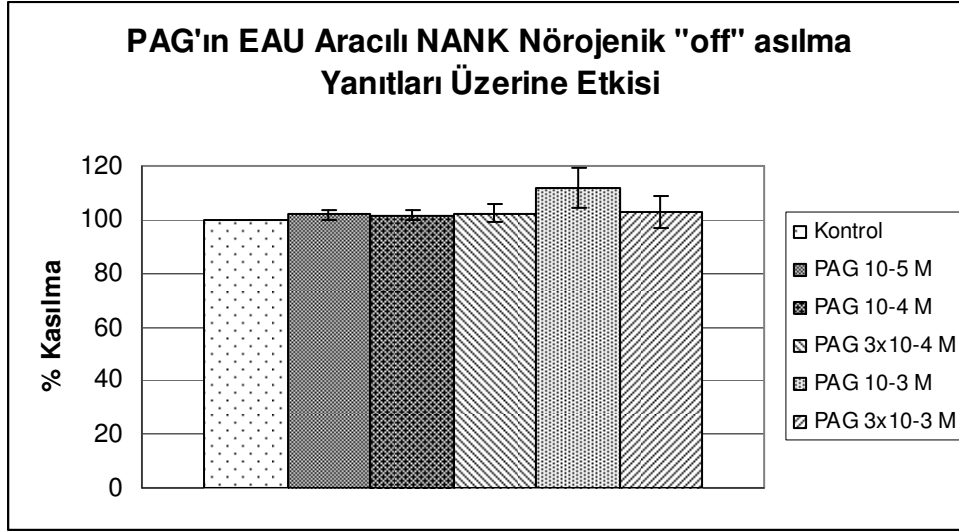
Grafik 8: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine NaHS (10^{-6} – 3×10^{-3} M)’in etkisi. Kasılma yanıtları guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve atropin (10^{-6} M) varlığında alındı. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p < 0,05$, $n=5$).

Guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve atropin (10^{-6} M) varlığında L-sistein (10^{-5} - 3×10^{-3} M) EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı ($53,02 \pm 7,42$) (Grafik 9).



Grafik 9: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine L-sistein (10^{-5} - 3×10^{-3} M)’in etkisi. Kasılma yanıtları guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve atropin (10^{-6} M) varlığında alındı. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p < 0,05$, $n=5$).

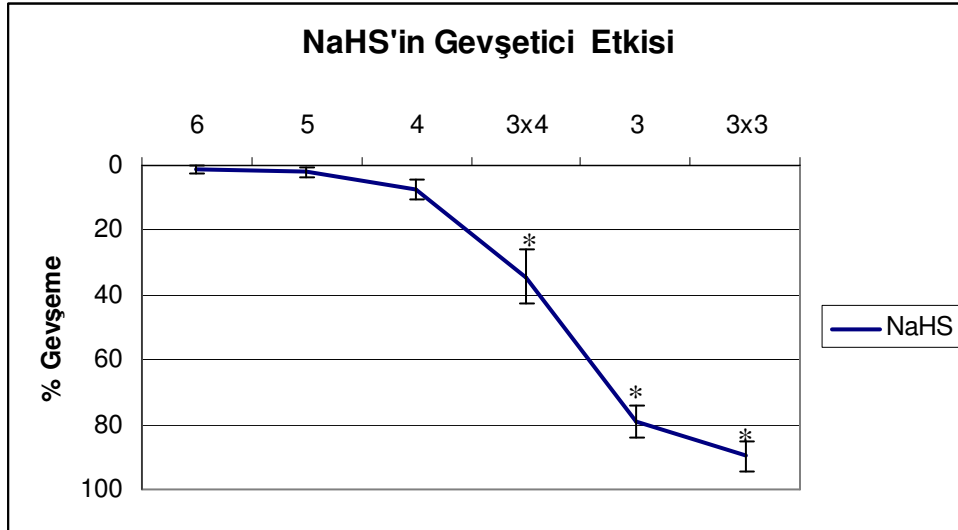
Guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve atropin (10^{-6} M) varlığında PAG (10^{-5} - 3×10^{-3} M) EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını etkilemedi (Grafik 10).



Grafik 10: EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine PAG (10^{-5} - 3×10^{-3} M) ’ın etkisi. Kasılma yanıtları guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve atropin (10^{-6} M) varlığında alındı. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (n=5).

4.5. Ekzojen Potasyum Klorür ile Oluşan Kasılma Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisi:

Alt özefagus sfinkter şeritleri 80 mM potasyum klorür (KCl) ve 2,5 mM kalsiyum (Ca^{+2}) ile kastırılmış olan dokuda NaHS istatistiksel olarak anlamlı gevşemeye ($89,79 \pm 4,67$) neden olurken, L-sistein ve PAG istatistiksel olarak anlamlı gevşemeye neden olmadı (Grafik 11).



Grafik 11: 80mM KCL ile kastırılmış dokularda NaHS (10^{-6} - 3×10^{-3} M)'in gevşetici etkisi. Gevşeme yanıtları guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M) varlığında alındı. Gevşeme 80mM KCL ile oluşan kasılmaların yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p < 0,05$, $n=5$).

5. TARTIŞMA

Sunulan çalışmada alt özefagus sfinkter dokusunda EAU aracılı bifazik yanıtlar elde edildi. Bifazik yanıtlar EAU başlamasıyla olan “on” fazı ve EAU bitmesiyle başlayan “off” fazı olarak elde edildi. “off” fazı tüm dokularda stabil iken, “on” fazı çoğunluğu kasılma, bazı dokularda da gevşeme yanıtı olarak gözlemlendi. “on” gevşeme yanıtları nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME ile ortadan kalktı. Bu sonuçlar on fazının NO aracılı olduğunu göstermektedir. Ayrıca “on” fazında kasılma olan dokularda da NO’nun bu yanıtı baskıladığını göstermektedir. L-NAME aynı zamanda “off” kasılma fazını da azalttı. Cellek ve Moncada’nın 1997 yılında keseli sıçan alt özefageal sfinkterinde yaptığı çalışmada da bifazik yanıtlar elde edilmiş ve “on” gevşeme fazının endotelial nitrik oksit sentaz inhibitörü N^G – nitro –L- arjinin (L-NOARG) tarafından ortadan kalktığı gösterilmiş. Bu çalışmada da “off” kasılma yanıtları EAU bittiği anda olduğu gözlemlenmiş⁽¹³¹⁾. Sempatik sinir sonlanmalarından noradrenalin salıverilmesini inhibe eden guanetidin ve siklooksijenaz inhibitörü indometasin bifazik yanıtlarda anlamlı bir değişikliğe neden olmadı. Muskarinik reseptör antagonisti atropin “off” kasılma yanıtlarını azalttı, ancak bu yanıtlar tamamen ortadan kalkmadı. Kolinesteraz enzim inhibitörü neostigmin de “off” kasılma yanıtlarını arttırdı. Bu bulgular “off” kasılma yanıtlarında kolinerjik komponentin olduğunu göstermektedir. Ancak bu yanıtlarda atropin ve guanetidinle ortadan kalkmayan NANK kasılma yanıtları da bulunmaktadır. Cellek ve Moncada’nın çalışmasında tüm dokularda kasılma yanıtlarının skopolaminle, hem gevşeme hem de kasılma yanıtlarının tetrodotoksin (TTX) ile ortadan kalktığı gösterilmiş. Bu sonuçlar EAU aracılı kasılma yanıtlarının sinirsel uyarıya bağlı olduğunu göstermektedir⁽¹³¹⁾. 1969 yılında Lund ve Christensen de keseli sıçan özefagusunda yaptıkları çalışmada EAU sonrası kasılma fazı olduğunu ve bu yanıtların TTX’e duyarlı olduğunu, ancak bu yanıtların atropin ile bloke olmadığını tespit

etmişlerdir ⁽¹³²⁾ . Knudsen ve ark. yaptıkları bir çalışmada benzer şekilde “off” kontraksiyonlarını L-NAME’in azalttığını göstermişler ve bu olası rebound kasılmada nitrerjik transmisyonun düzenleyici olabileceğini ileri sürmüşlerdir ⁽¹³³⁾ .

Bu çalışmada H₂S donörü NaHS’in guanetidin ve indometasinli ortamda, NO bağımsız ve NANK EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine etkileri değerlendirildi. NaHS, bütün dokularda EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı. NaHS “on” kasılma yanıtlarını da azalttı. NaHS “on” gevşeme fazını da ortadan kaldırdı, ama bu NaHS dokunun tonusunu azaltmasına bağlı olabilir. NaHS’in NO bağımsız dokularda etkisi anlamlı düzeyde azaldı. Ayrıca NANK cevaplarda da NaHS’in etkisi potansiyelize olmadı. NaHS uygulandıktan sonra kasılma yanıtları yaklaşık %80 oranında geri döndü. Geri dönüş zamanı dokular arasında farklılık gösterdi. Sadece iki dokuda hiç geri dönüş olmadı. NaHS’in 80 mM KCL ile kastırılmış dokularda da gevşetici etkisi görüldü. Aynı zamanda H₂S’in endojen prekürsörü L-sistein ve CSE enzim inhibitörü PAG’ın guanetidin ve indometasinli ortamda, NO bağımsız ve NANK EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine etkileri değerlendirildi. L-sistein tüm dokularda EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı. Ancak bu etkisi NO bağımsız dokularda ve NANK cevapları alındığı dokularda arttı. PAG, guanetidin ve indometasinli ortamda ve NO bağımsız dokularda azalmaya neden oldu. NANK yanıtların alındığı dokularda hiç etki göstermedi. L-sistein ve PAG 80 mM KCL ile kastırılmış dokularda gevşetici etkisi görüldü.

Gastrik mukozada CSE ve CBS enzimlerinin her ikisinin de eksprese edildiği gösterilmiştir ⁽²⁴⁾ . Endojen H₂S’in mukozal yaralanmaya

karşı koruyucu faktör olduğu ileri sürülmüştür. CBS ve CSE kobay ve insan kolonunda submukozal ve myenterik sinir pleksusunda immünohistokimyasal olarak saptanmıştır ⁽²⁵⁾. Kobay ileumunda yapılan bir çalışmada L-sistein ile dokular inkübe edilmiş ve CBS antagonistleri ile inhibe edilen H₂S üretimi olduğu saptanmıştır ⁽¹⁴⁾.

H₂S'in gastrointestinal motilitenin düzenlenmesi ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır. Tavşan ve kobay ileumunda yapılan çalışmalarda H₂S'in spontan ve asetilkolin ile indüklenmiş kasılmaları inhibe ettiği tespit edilmiştir ^(14,27). Kobaylarda yapılan bir çalışmada gastrik antrum düz kasında ekzojen H₂S kaynağı olarak kullanılan NaHS'in çift yönlü etkisi görülmüştür. Düşük konsantrasyonlarda NaHS, K_{ATP} kanallarını direkt aktive ettiği, K⁺'un dışarı atılmasına ve membranın hiperpolarizasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Buna bağlı kalsiyumun hücre içine girişini azalttığı ve spontan kontraksiyonun amplitüdünü düşürdüğü gözlemlenmiştir Aynı zamanda K_V açılmasını kısmen inhibe ettiği, böylece membran depolarizasyonuna neden olup hücre içi kalsiyum seviyesinin artmasına sebep olduğu ve gastrik düz kasın istirahat gerimini arttırdığı saptanmıştır. Memelilerdeki H₂S'in fizyolojik konsantrasyonlarından çok daha yüksek NaHS konsantrasyonlarında yapılan bir çalışmada ise K_{ATP} kanalının açılmasını indüklediği gözlemlenmiştir ⁽²⁶⁾. Teague B ve ark. tavşan ve kobay ileumunda yapmış oldukları çalışmada H₂S'in spontan ve asetilkolin ile indüklenmiş kasılmaları inhibe ettiği, ancak buna K_{ATP} blokörü glibenklamid'in bu inhibisyonu etkilemediği gösterilmiştir ⁽²⁷⁾. Fare ve insan kolonunda da NaHS yaptığı gevşemeyi glibenklamid'in engellemediği saptanmıştır ⁽¹³⁴⁾. Kasperek ve arkadaşları rat jejunumunda yaptıkları çalışmada spontan kasılmaları ve betanekol ile oluşturulmuş kasılmaları NaHS'in inhibe ettiğini göstermişler. Bu çalışmada NANK durumunda spontan kasılmalar

üzerine NaHS'in etkisinin arttığı, glibenklamid'in spontan kasılmalar üzerine NaHS'in etkisini değiştirmediği ancak betanekol ile oluşturulmuş kasılmalar üzerindeki inhibitör etkisinin azaldığı bulunmuştur. Glibenklamid'in bu etkisinin spesifik olmadığı ileri sürölmüştür. Ayrıca NO sentaz inhibitörü L-N^G-nitro arjinin (L-NNA)'in, NaHS'in hem spontan kasılmalar hem de betanekol ile oluşturulmuş kasılmalar üzerindeki inhibitör etkinliğini arttırdığı gösterilmiştir ⁽¹³⁵⁾. Fare kolonunda ve kobay ileumunda yapılan çalışmalarda L-sistein (10^{-2} M)'in H₂S sentezini arttırdığı, ancak endojen üretilen H₂S'in kasılmayı inhibe etmediği gösterilmiştir ^(14,21). H₂S'in gastrointestinal sistemde gevşetici etkisinin dışında sekresyonları artırıcı etkisi de bulunmaktadır. Kobay ve insan kolonunda NaHS veya L-sistein seroz alana uygulandığında lümen içine klor sekresyonu artmaktadır. Bu etki tetradotoksinle, afferent sinirlerin kapsaisinle desensitize edilmesiyle veya TRPV-1 antagonisti olan kapsazepinle bloke edilmektedir. Buna ek olarak NaHS'in sekretuar etkisi insan kolon epitelyal hücrelerinde gözlenmemektedir. Bu veriler doğrultusunda H₂S'in enterik sinir sisteminden kaynaklandığı ve mukoza veya submukozal sekretomotor sinirlere kollateraller veren TRPV-1 reseptörleri içeren duyusal sinir sonlanmalarının indirekt olarak mukozal sekresyonda rol oynadığı gösterilmiştir. Böylelikle H₂S'in mide motilitesindeki ve sekretuar fonksiyonundaki rolü belirlenmiştir ⁽²⁵⁾.

Sunulan alışmada AÖS'de EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine H₂S'in inhibitör etkilerinin gösterilmesi diğer çalışmalarla da uyumludur. Ancak H₂S'in KCL ile kasılmış dokularda da aynı konsantrasyonlarda benzer etkiyi göstermesi etkisinin sinir sonlanmalarından daha çok düz kas üzerinde postsinaptik bir etkisi olduğunu göstermektedir. Ancak EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine H₂S'in etkisinin zaman bağımlı olarak %80 oranında geri dönmesine rağmen KCL ile kasılmış dokularda geri dönüşün olmaması

H₂S'in sinir sonlanmalarından nörotransmitter saliverilmesine etkisi olduğunu düşündürmektedir.

H₂S'in gastrointestinal düz kasta gevşetici mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen vasküler düz kasta K_{ATP} kanallarını açarak hiperpolarizasyona neden olduğu ve voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını kapatarak düz kas gevşemesine neden olduğu tespit edilmiştir ^(17,22). H₂S, NO ve CO benzer olarak gevşemeye neden olmaktadır ve damar düz kasında güçlü gevşetici etki gösteren bir gazotransmitter olabileceği ileri sürülmektedir ^(21,22,23). H₂S, NO ve CO'dan farklı olarak vasküler endotelyumdan değil, vasküler düz kas hücrelerinden saliverilmektedir ^(17,22,136). İn vitro yapılan bir çalışmada norepinefrinle kasılmış sıçan torasik aortasının ve portal veninin H₂S ve NaHS ile gevşediği tespit edilmiştir. Özellikle periferik dayanıklılığı olan sıçan mezenterik arterinde H₂S'in vasküler direncin ve kan basıncının düzenlenmesinde yüksek debili damarlara göre daha belirgin gevşetici etkiye sahip olduğu bulunmuştur ⁽²³⁾. Vasküler dokularda rolü iyi bilinen NO tarafından indüklenen gevşeme yanıtı NO'ya duyarlı guanilat siklaz inhibitörü ODC tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Fakat H₂S tarafından indüklenen gevşeme yanıtının üzerinde bir etkisi yoktur ^(21,22). Sonuç olarak H₂S, NO'dan farklı olarak vasküler dokularda sGMP yolağının aktivasyonundan bağımsız gevşetici etki göstermektedir ⁽¹⁷⁾. H₂S'in torasik aortada K_{ATP} açarak damarları gevşettiği ve in vivo hipotansiyon oluşturduğu bildirilmiştir ⁽²²⁾. Ayrıca bu dokuda çok düşük konsantrasyonda H₂S, NO ile indüklenmiş düz kas gevşemesini arttırdığı da gösterilmiştir ⁽¹⁴⁾. H₂S'in düz kas gevşetici etkisi sıçan mezenter arterinde K_{ATP} kanalları aracılığıyla meydana geldiği ileri sürülmektedir. Mezenterik arterde endotelin uzaklaştırılmasıyla veya potasyum kanallarını bloke eden ayrıca endotel bağımlı vazodilatasyon kısmen inhibe etmekte yaygın kullanılan apamin ve karibdotoksinin uygulanmasıyla H₂S'in yüksek gaz konsantrasyonunda indüklediği

gevşeme yanıtının azaldığı saptanmıştır ⁽²³⁾. Vasküler düz kasta NO'nun CSE ekspresyonunu ve aktivitesini arttırarak H₂S'in gevşetici etkisini arttırdığı gösterilmiştir ^(22,137). Geng B. ve arkadaşlarının sıçan aortunda yaptıkları çalışmada H₂S'in L-arjinin-NO-NOS yolağını down regüle ettiğini bildirmişlerdir. H₂S ve NaHS'in eNOS ekspresyonunu ve L-arjinin transportunu azalttığını bildirmişlerdir. Bunun mekanizmasının H₂S'in K_{ATP} kanallarını açmasının eNOS ekspresyonunun baskılanmasına ve NO'nun sentezinin azalmasına neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. K_{ATP} kanal açıcısı pinasidil'in pulmoner arter endotelial hücrelerinde NO sentezini azaltması ve bu etkinin glibenklamid ile kalkmasında başka bir çalışmada gösterilmiş olması bu teoriyi desteklemektedir ^(138,139).

Wang Y ve arkadaşlarının sıçan pulmoner arterinde yaptıkları bir çalışmada sodyum nitroprussid'in etkisinin PAG varlığında azaldığını, benzer şekilde NaHS'in etkisinin de L-NAME varlığında azaldığını göstermişler. Bunun nedeninin endojen NO'nun pulmoner arterde H₂S'in gevşetici etkisini başlatıcı rolü olabileceğini ileri sürmüşlerdir ⁽¹⁴⁰⁾. NO ve H₂S arasındaki etkileşimin araştırıldığı aortta yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bulunmuştur. Hosoki ve arkadaşları sıçan aortunda SNP'nin gevşetici etkisini NaHS'in arttırdığını, aksine Zhao ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada SNP'nin gevşetici etkisini NaHS'in azalttığını bildirmişlerdir ^(14,141).

Sunulan çalışmada NO'nun etkisinin araştırıldığı EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerinde NaHS'in inhibitör etkinliğindeki azalma NO ile H₂S arasında bir etkileşim olduğunu düşündürmektedir. Bu sonuçlar Wang Y ve arkadaşlarının sıçan pulmoner arterinde yaptıkları çalışma ile uyumludur. Ayrıca guanetidin ve indometasinli ortama atropin ilave edilmesiyle elde edilen NANK cevaplarında da NaHS'in etkisi potansiyelize

olmadı. Ancak L-sistein'in etkisi NANK ortamda potansiyelize oldu. L-sistein'in etkisindeki bu artış kolinerjik sistemin H₂S'in sentez aşamasında bir inhibitör etkisi olabileceğini göstermektedir. Bu sonuçlar H₂S'in etkisinin tek bir nörotransmitter üzerinden spesifik olmadığını ve birçok nörotransmitter üzerinden olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan H₂S'in sinir sonlanmalarındaki ve düz kastaki bu etkilerinin iyon kanalları üzerindeki etkilerinin araştırılması gerekmektedir.

6. SONUÇ

Ön çalışmalarda dokularda bifazik yanıtlar elde edildi. Bifazik yanıtlar EAU başlamasıyla olan “on” fazı ve EAU bitmesiyle başlayan “off” fazı olarak elde edildi. Guanetidin ve indometasin EAU aracılı nörojenik “off” kasılma yanıtları üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmadi. Atropin EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı. Ayrıca atropin “on” kasılma fazı olan dokularda bu fazı ortadan kaldırdı ve “on” gevşeme fazının ortaya çıkmasına neden oldu. Neostigmin EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda arttırdı. L-NAME EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı. Ancak bazı dokularda EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını etkilemedi veya artışa neden oldu. L-NAME “on” gevşeme fazı olan dokularda bu fazı ortadan kaldırdı. “on” fazı kasılma olan dokularda bu fazda artışa neden oldu.

NaHS, EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı. NaHS’in bu etkisi NO bağımsız ortamda azalırken, NANK yanıtlar üzerinde de aynı oranda inhibisyona neden oldu. NaHS’in bu azaltıcı etkisi zamanla geri döndü. Maksimum geri dönüşün %80 olduğu gözlemlendi. Ayrıca NaHS KCL ile kastırılmış dokularda da istatistiksel olarak anlamlı gevşemeye neden oldu.

L-sistein EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı. L-sistein’in etkisi, NO bağımsız ortamda artarken, NANK ortamda potansiyelize oldu. Bu sonuç kolinerjik sistemin H_2S ’in sentez aşamasında inhibitör bir etkisinin olabileceğini göstermektedir. L-sistein KCL ile kastırılmış dokularda gevşemeye neden olmadı.

PAG EAU aracılı “off” kasılma yanıtlarını azalttı. PAG’ın etkisi, NO bağımsız ortamda artarken, NANK ortamda etkisi olmadı. PAG KCL ile kastırılmış dokularda gevşemeye neden olmadı.

Bu sonuçlar H₂S’in etkisinin tek bir nörotransmitter üzerinden spesifik olmadığını ve birçok nörotransmitter üzerinden olduğunu göstermektedir.

7. ÖZET

İzole Tavşan Alt Özefagus Sfinkterinde Elektriksel Alan Uyarısı Aracılı Nörojenik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfür'ün Etkisinin Araştırılması

Dr. Halil KARA

Bu çalışmada izole tavşan alt özefagus sfinkterinde EAU'ya bağlı nörojenik kasılma cevaplarının tanımlanması ve bu yanıtlar üzerine hidrojen sülfürün etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Deneylerde 4-6 aylık 3-3,5 kg. ağırlığında 18 adet albino tavşandan elde edilen alt özefagus sfinkter şeritleri Krebs solüsyonu içeren organ banyosuna izometrik kasılmaları kayıt etmek için Grass izometrik kuvvet transdüserine bağlı olacak şekilde yerleştirilmiştir. Ön çalışmalarda dokularda bifazik yanıtlar elde edildi. Bifazik yanıtlar EAU başlamasıyla olan "on" fazı ve EAU bitmesiyle başlayan "off" fazı olarak elde edildi. Guanetidin ve indometasin EAU aracılı nörojenik "off" kasılma yanıtları üzerine anlamlı bir etki oluşturmadi. Atropin EAU aracılı "off" kasılma yanıtlarını anlamlı oranda azaltırken, neostigmin bu yanıtları anlamlı oranda arttırdı. L-NAME, EAU aracılı "off" kasılma yanıtlarını anlamlı oranda azalttı. L-NAME "on" gevşeme fazı olan dokularda bu fazı ortadan kaldırdı. NaHS, EAU aracılı "off" kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı. NaHS'in etkisi NO bağımsız ortamda azalırken, NANK yanıtlar üzerinde de aynı oranda inhibisyona neden oldu. NaHS'in azaltıcı etkisi zamanla %80 oranında geri döndü. Ayrıca NaHS, KCL ile kasılmış dokularda da anlamlı gevşemeye neden oldu. L-sistein, EAU aracılı "off" kasılma yanıtlarını anlamlı oranda azalttı. L-sistein'in etkisi, NO bağımsız ortamda artarken,

NANK ortamda potansiyelize oldu. Bu sonuç kolinerjik sistemin H₂S'in sentez aşamasında inhibitör bir etkisinin olabileceğini göstermektedir. PAG, EAU aracılı "off" kasılma yanıtlarını azalttı. PAG'ın etkisi, NO bağımsız ortamda artarken, NANK ortamda etkisi olmadı. L-sistein ve PAG, KCL ile kastırılmış dokularda gevşemeye neden olmadı. Bu sonuçlar H₂S'in etkisinin tek bir nörotransmitter üzerinden spesifik olmadığını ve birçok nörotransmitter üzerinden olduğunu göstermektedir.

8. SUMMARY

Isolated Rabbit Lower Esophageal Sphincter Neurogenic Contractile Responses Mediated Research for Alert Electrical Field Effects of Sulfur on the Hydrogen.

Dr. Halil KARA

In this study, contractile responses in isolated rabbit lower esophageal sphincter (LOS) EAU's identification of neurogenic contractile responses to study the effect of sulfur on the hydrogen. In the experiments 3-3,5 kg of 4-6 months weight of 18 albino rabbits LOS strips obtained from the organ bath containing Krebs solution Grass isometric force transducer for recording of isometric contractions of the way that they are connected. Preliminary studies, tissues were obtained from biphasic responses. Biphasic responses of the start of the EFS, "on" phase and starting the end of the EFS, "off" phase was obtained. EFS guanethidine and indomethacin-mediated neurogenic "off" has not created a significant impact on the contractile responses. Atropine EFS mediated "off" responses to contraction were significantly reducing, Neostigmine significantly increased these responses. L-NAME, EFS mediated "off" significantly reduced the contractile responses. L-NAME in the "on" relaxation phase, this phase of the tissues removed. NaHS, EFS mediated "off" statistically significantly reduced the contractile responses. Independent effect of NO decreased NaHS's environment, NANC on the responses caused by the same percentage inhibition. NaHS returned to the effect of reducing by 80% over time. In addition, NaHS, the tissues contracted with KCl also caused significant relaxation. L-cysteine, EFS mediated "off" significantly reduced the contractile responses. L- cysteine effect, while NO independent environment, NANC environment was potentiated. This result shows that the cholinergic system may have the

effect of H₂S synthesis of an inhibitory phase. PAG, EFS mediated "off" reduced the rate of contraction responses. PAG's effect, while NO independent media, did not take effect NANC environment. L-cysteine, and the PAG, did not cause relaxation in tissues precontracted with KCL. This results in a single neurotransmitter through the specific impact of H₂S over there and show that many neurotransmitters.

9.KAYNAKLAR

1. Farré R, Sifrim D. Regulation of basal tone, relaxation and contraction of the lower oesophageal sphincter. Relevance to drug discovery for oesophageal disorders. *Br J Pharmacol* 2008; 153(5): 858-69.
2. Uc A, Oh ST, Murray JA, Clark E, Conklin JL. Biphasic relaxation of the opossum lower esophageal sphincter: roles of NO, VIP, and CGRP. *Am J Physiol* 1999; 277(3 Pt 1): 548-54.
3. Boeckxstaens GE. The lower oesophageal sphincter. *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17 Suppl 1: 13-21.
4. De Man JG, Pelckmans PA, Boeckxstaens GE, Bult H, Oosterbosch L, Herman AG et al. The role of nitric oxide in inhibitory non-adrenergic non-cholinergic neurotransmission in the canine lower oesophageal sphincter. *Br J Pharmacol* 1991; 103(1): 1092-6.
5. Goyal RK, Rattan S. Nature of the vagal inhibitory innervation to the lower esophageal sphincter. *J Clin Invest* 1975; 55(5): 1119-26.
6. Sohn UD, Harnett KM, De Petris G, Behar J, Biancani P. Distinct muscarinic receptors, G proteins and phospholipases in esophageal and lower esophageal sphincter circular muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 267(3): 1205-14.
7. Hornby PJ, Abrahams TP. Central control of lower esophageal sphincter relaxation. *Am J Med* 2000; 108 Suppl 4a: 90S-98S.

- 8.** Rattan S. The non-adrenergic non-cholinergic innervation of the esophagus and the lower esophageal sphincter. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1986; 280(2Suppl): 62-83.
- 9.** Blackshaw LA, Haupt JA, Omari T, Dent J. Vagal and sympathetic influences on the ferret lower oesophageal sphincter. *J Auton Nerv Syst* 1997; 66(3): 179-88.
- 10.** Kawahara H, Blackshaw LA, Lehmann A, Dent J. Responses of the rat lower oesophageal sphincter (LOS) to vagal efferent activation. *Neurogastroenterol Motil* 1997; 9(2): 85-97.
- 11.** Reiffenstein RJ, Hulbert WC, Roth SH: Toxicology of hydrogen sulfide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1992; 32: 109–134.
- 12.** Abe K, Kimura H: The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci* 1996; 16(3): 1066–1071.
- 13.** Doeller JE, Isbell TS, Benavides G, Koenitzer J, Patel H, Patel RP et al. Polarographic measurement of hydrogen sulfide production and consumption by mammalian tissues. *Anal Biochem* 2005; 341(1), 40–51.
- 14.** Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 237(3): 527-31.
- 15.** Chen X, Jhee KH, Kruger WD. Production of the neuromodulator H₂S by cystathionine γ -synthase *via* the condensation of cysteine and homocysteine. *J Biol Chem* 2004; 279 (50), 52082–52086.

- 16.** Stipanuk MH, De la Rosa J, Hirschberger LL. Catabolism of cysteine by rat renal cortical tubules. *J Nutr* 1990; 120(5), 450–458.
- 17.** Wang R. Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB J* 2002; 16(13): 1792-8.
- 18.** Kimura H. Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; 267(1): 129-33.
- 19.** Patacchini R, Santicoli P, Giuliani S, Maggi CA. Hydrogen sulfide (H₂S) stimulates capsaicin-sensitive primary afferent neurons in the rat urinary bladder. *Br J Pharmacol* 2004; 142(1): 31-4.
- 20.** Patacchini R, Santicoli P, Giuliani S, Maggi CA. Pharmacological investigation of hydrogen sulfide (H₂S) contractile activity in rat detrusor muscle. *Eur J Pharmacol* 2005; 509(2-3): 171-7.
- 21.** Lowicka E, Betowski J. Hydrogen sulfide (H₂S)—the third gas of interest for pharmacologists *Pharmacol Rep* 2007; 59(1): 4-24.
- 22.** Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener. *EMBO J* 2001; 20(21): 6008-16.
- 23.** Cheng Y, Ndisang JF, Tang G, Cao K, Wang R. Hydrogen sulfide-induced relaxation of resistance mesenteric artery beds of rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287(5): 2316-23.
- 24.** Linden DR, Sha L, Mazzone A, Stoltz GJ, Bernard CE, Furne JK et al. Production of the gaseous signal molecule hydrogen sulfide in mouse tissues. *J Neurochem.* 2008; 106(4): 1577-85.

- 25.** Schicho R, Krueger D, Zeller F, Von Weyhern CW, Frieling T, Kimura H et al. Hydrogen sulfide is a novel prosecretory neuromodulator in the Guinea-pig and human colon. *Gastroenterology* 2006; 131(5): 1542–1552.
- 26.** Zhao P, Huang X, Wang ZY, Qiu ZX, Han YF, Lu HL et al. Dual effect of exogenous hydrogen sulfide on the spontaneous contraction of gastric smooth muscle in guinea-pig *Eur J Pharmacol* 2009; 616(1-3): 223-8.
- 27.** Teague B, Asiedu S, Moore PK. The smooth muscle relaxant effect of hydrogen sulphide *in vitro*: evidence for a physiological role to control intestinal contractility. *Br J Pharmacol*, 2002; 137(2): 139–145.
- 28.** Huycke MM, Gaskins HR: Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models. *Exp Biol Med* (Maywood) 2004; 229(7): 586–597.
- 29.** Collman PI, Tremblay L, Diamant NE. The distribution of spinal and vagal sensory neurons that innervate the esophagus of the cat. *Gastroenterology* 1992; 103(3): 817-22.
- 30.** Collman PI, Tremblay L, Diamant NE. The central vagal efferent supply to the esophagus and lower esophageal sphincter of the cat. *Gastroenterology* 1993; 104(5): 1430-8.
- 31.** Rossiter CD, Norman WP, Jain M, Hornby PJ, Benjamin S, Gillis RA. Control of lower esophageal sphincter pressure by two sites in dorsal motor nucleus of the vagus. *Am J Physiol* 1990; 259(6 Pt 1): 899-906.
- 32.** Smid SD, Blackshaw LA. Vagal ganglionic and nonadrenergic noncholinergic neurotransmission to the ferret lower oesophageal sphincter. *Auton Neurosci* 2000; 86(1-2): 30-6.

- 33.** Rattan S, Goyal RK. Evidence of 5-HT participation in vagal inhibitory pathway to opossum LES. *Am J Physiol* 1978; 234(3): 273-6.
- 34.** Paterson WG, Anderson MA, Anand N. Pharmacological characterization of lower esophageal sphincter relaxation induced by swallowing, vagal efferent nerve stimulation, and esophageal distention. *Can J Physiol Pharmacol* 1992; 70(7): 1011-5.
- 35.** Fournet J, Snape WJ Jr, Cohen S. Sympathetic control of lower esophageal sphincter function in the cat. Action of direct cervical and splanchnic nerve stimulation. *J Clin Invest* 1979; 63(4): 562-70.
- 36.** Gonella J, Niel JP, Roman C. Sympathetic control of lower oesophageal sphincter motility in the cat. *J Physiol* 1979; 287: 177-90.
- 37.** Liebermann-Meffert D, Allgöwer M, Schmid P, Blum AL. Muscular equivalent of the lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* 1979; 76(1): 31-8.
- 38.** Friedland GW, Kohatsu S, Lewin K. Comparative anatomy of feline and canine gastric sling fibers. Analogy to human anatomy. *Am J Dig Dis* 1971; 16(6): 493-507.
- 39.** Christensen J, Torres EI. Three layers of the opossum stomach: responses to nerve stimulation. *Gastroenterology* 1975; 69(3): 641-8.
- 40.** Preiksaitis HG, Tremblay L, Diamant NE. Cholinergic responses in the cat lower esophageal sphincter show regional variation. *Gastroenterology* 1994; 106(2): 381-8.

- 41.** Vicente Y, Da Rocha C, Yu J, Hernandez-Peredo G, Martinez L, Pérez-Mies B et al. Architecture and function of the gastroesophageal barrier in the piglet. *Dig Dis Sci* 2001; 46(9): 1899-908.
- 42.** Preiksaitis HG, Diamant NE. Regional differences in cholinergic activity of muscle fibers from the human gastroesophageal junction. *Am J Physiol* 1997; 272(6 Pt 1): 1321-7.
- 43.** Farré R, Aulí M, Lecea B, Estrada O, Suñol X, Clavé P. Mechanisms controlling function in the clasp and sling regions of porcine lower oesophageal sphincter. *Br J Surg* 2007; 94(11): 1427-36.
- 44.** Muinuddin A, Kang Y, Gaisano HY, Diamant NE. Regional differences in L-type Ca²⁺ channel expression in feline lower esophageal sphincter. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287(4): 772-81.
- 45.** Muinuddin A, Neshatian L, Gaisano HY, Diamant NE. Calcium source diversity in feline lower esophageal sphincter circular and sling muscle. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286(2): 271-7.
- 46.** Tian ZQ, Liu JF, Wang GY, Li BQ, Wang FS, Wang QZ et al. Responses of human clasp and sling fibers to neuromimetics. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19(4): 440-7.
- 47.** Richter JE, Wu WC, Johns DN, Blackwell JN, Nelson JL 3rd, Castell JA et al. Esophageal manometry in 95 healthy adult volunteers. Variability of pressures with age and frequency of "abnormal" contractions. *Dig Dis Sci* 1987; 32(6): 583-92.
- 48.** Pandolfino JE, Ghosh SK, Zhang Q, Jarosz A, Shah N, Kahrilas PJ. Quantifying EGJ morphology and relaxation with high-resolution

manometry: a study of 75 asymptomatic volunteers. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290(5): 1033-40.

49. Zhang Y, Miller DV, Paterson WG. Opposing roles of K(+) and Cl(-) channels in maintenance of opossum lower esophageal sphincter tone. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279(6): 1226-34.

50. Fox JA, Daniel EE. Role of Ca²⁺ in genesis of lower esophageal sphincter tone and other active contractions. *Am J Physiol* 1979; 237(2): 163-71.

51. Biancani P, Hillemeier C, Bitar KN, Makhlouf GM. Contraction mediated by Ca²⁺ influx in esophageal muscle and by Ca²⁺ release in the LES. *Am J Physiol* 1987; 253(6 Pt 1): 760-6.

52. Salapatek AM, Lam A, Daniel EE. Calcium source diversity in canine lower esophageal sphincter muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 287(1): 98-106.

53. Kovac JR, Preiksaitis HG, Sims SM. Functional and molecular analysis of L-type calcium channels in human esophagus and lower esophageal sphincter smooth muscle. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289(6): 998-1006.

54. Goyal RK, Rattan S. Genesis of basal sphincter pressure: effect of tetrodotoxin on lower esophageal sphincter pressure in opossum in vivo. *Gastroenterology* 1976; 71(1): 62-7.

55. Rattan S, Goyal RK. Neural control of the lower esophageal sphincter: influence of the vagus nerves. *J Clin Invest* 1974; 54(4): 899-906.

- 56.** Yamato S, Saha JK, Goyal RK. Role of nitric oxide in lower esophageal sphincter relaxation to swallowing. *Life Sci* 1992; 50(17): 1263-72.
- 57.** Xue S, Valdez D, Collman PI, Diamant NE. Effects of nitric oxide synthase blockade on esophageal peristalsis and the lower esophageal sphincter in the cat. *Can J Physiol Pharmacol* 1996; 74(11): 1249-57.
- 58.** Konturek JW, Thor P, Lukaszyk A, Gabryelewicz A, Konturek SJ, Domschke W. Endogenous nitric oxide in the control of esophageal motility in humans. *J Physiol Pharmacol* 1997; 48(2): 201-9.
- 59.** Dodds WJ, Dent J, Hogan WJ, Arndorfer RC. Effect of atropine on esophageal motor function in humans. *Am J Physiol* 1981; 240(4): 290-6.
- 60.** González AA, Farré R, Clavé P. Different responsiveness of excitatory and inhibitory enteric motor neurons in the human esophagus to electrical field stimulation and to nicotine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287(1): 299-306.
- 61.** Farré R, Aulí M, Lecea B, Martínez E, Clavé P. Pharmacologic characterization of intrinsic mechanisms controlling tone and relaxation of porcine lower esophageal sphincter. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316(3): 1238-48.
- 62.** Sivarao DV, Mashimo HL, Thatte HS, Goyal RK. Lower esophageal sphincter is achalasic in nNOS(-/-) and hypotensive in W/W(v) mutant mice. *Gastroenterology* 2001; 121(1): 34-42.

- 63.** DiMarino AJ, Cohen S. The adrenergic control of lower esophageal sphincter function. An experimental model of denervation supersensitivity. *J Clin Invest* 1973; 52(9): 2264-71.
- 64.** Holloway RH, Hongo M, Berger K, McCallum RW. Gastric distention: a mechanism for postprandial gastroesophageal reflux. *Gastroenterology* 1985; 89(4): 779-84.
- 65.** Holloway RH, Wyman JB, Dent J. Failure of transient lower oesophageal sphincter relaxation in response to gastric distension in patients with achalasia: evidence for neural mediation of transient lower oesophageal sphincter relaxations. *Gut* 1989; 30(6): 762-7.
- 66.** Holloway RH, Kocyan P, Dent J. Provocation of transient lower esophageal sphincter relaxations by meals in patients with symptomatic gastroesophageal reflux. *Dig Dis Sci* 1991; 36(8): 1034-9.
- 67.** Mittal RK, Balaban DH. The esophagogastric junction. *N Engl J Med* 1997; 336(13): 924-32.
- 68.** Kahrilas PJ, Shi G, Manka M, Joehl RJ. Increased frequency of transient lower esophageal sphincter relaxation induced by gastric distention in reflux patients with hiatal hernia. *Gastroenterology* 2000; 118(4): 688-95.
- 69.** Fahrenkrug J, Haglund U, Jodal M, Lundgren O, Olbe L, de Muckadell OB. Nervous release of vasoactive intestinal polypeptide in the gastrointestinal tract of cats: possible physiological implications. *J Physiol* 1978; 284: 291-305.

- 70.** Burnstock G, Campbell G, Satchell D, Smythe A. Evidence that adenosine triphosphate or a related nucleotide is the transmitter substance released by non-adrenergic inhibitory nerves in the gut. *Br J Pharmacol* 1997; 120(4 Suppl): 337-57.
- 71.** Goyal RK, Rattan S, Said SI. VIP as a possible neurotransmitter of non-cholinergic non-adrenergic inhibitory neurones. *Nature* 1980; 288(5789): 378-80.
- 72.** Behar J, Guenard V, Walsh JH, Biancani P. VIP and acetylcholine: neurotransmitters in esophageal circular smooth muscle. *Am J Physiol* 1989; 257(3 Pt 1): 380-5.
- 73.** Biancani P, Walsh JH, Behar J. Vasoactive intestinal polypeptide. A neurotransmitter for lower esophageal sphincter relaxation. *J Clin Invest* 1984; 73(4): 963-7.
- 74.** Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327(6122): 524-6.
- 75.** Mülsch A, Busse R. NG-nitro-L-arginine(N5-[imino(nitroamino)methyl]-L-ornithine) impairs endothelium-dependent dilations by inhibiting cytosolic nitric oxide synthesis from L-arginine. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1990; 341(1-2): 143-7.
- 76.** Bult H, Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, Jordaens FH, Van Maercke YM, Herman AG. Nitric oxide as an inhibitory non-adrenergic non-cholinergic neurotransmitter. *Nature* 1990; 345(6273): 346-7.

- 77.** Murray J, Du C, Ledlow A, Bates JN, Conklin JL. Nitric oxide: mediator of nonadrenergic noncholinergic responses of opossum esophageal muscle. *Am J Physiol* 1991; 261(3 Pt 1): 401-6.
- 78.** Tøttrup A, Svane D, Forman A. Nitric oxide mediating NANC inhibition in opossum lower esophageal sphincter. *Am J Physiol* 1991; 260(3 Pt1): 385-9.
- 79.** Oliveira RB, Matsuda NM, Antonioli AR, Ballejo G. Evidence for the involvement of nitric oxide in the electrically induced relaxations of human lower esophageal sphincter and distal pylorus. *Braz J Med Biol Res* 1992; 25(8): 853-5.
- 80.** Tøttrup A, Ny L, Alm P, Larsson B, Forman A, Andersson KE. The role of the L-arginine/nitric oxide pathway for relaxation of the human lower oesophageal sphincter. *Acta Physiol Scand* 1993; 149(4): 451-9.
- 81.** Korteza N, Mizhorkova Z, Milusheva E, Varga G, Vizi ES, Papasova M. Non-adrenergic non-cholinergic neuron stimulation in the cat lower esophageal sphincter. *Eur J Pharmacol* 1996; 304(1-3): 109-15.
- 82.** Yuan S, Costa M, Brookes SJ. Neuronal pathways and transmission to the lower esophageal sphincter of the guinea Pig. *Gastroenterology* 1998; 115(3): 661-71.
- 83.** Barnette M, Torphy TJ, Grous M, Fine C, Ormsbee HS 3rd. Cyclic GMP: a potential mediator of neurally- and drug-induced relaxation of opossum lower esophageal sphincter. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 249(2): 524-8.

- 84.** Jun CH, Lee TS, Sohn UD. NO/cyclic GMP pathway mediates the relaxation of feline lower oesophageal sphincter. *Auton Autacoid Pharmacol* 2003; 23(3): 159-66.
- 85.** Rattan S, Goyal RK. Evidence against purinergic inhibitory nerves in the vagal pathway to the opossum lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* 1980; 78(5 Pt 1): 898-904.
- 86.** Imaeda K, Joh T, Yamamoto Y, Itoh M, Suzuki H. Properties of inhibitory junctional transmission in smooth muscle of the guinea pig lower esophageal sphincter. *Jpn J Physiol* 1998; 48(6): 457-65.
- 87.** Rattan S, Grady M, Goyal RK. Vasoactive intestinal peptide causes peristaltic contractions in the esophageal body. *Life Sci* 1982; 30(18): 1557-63.
- 88.** Jury J, Ahmedzadeh N, Daniel EE. A mediator derived from arginine mediates inhibitory junction potentials and relaxations in lower esophageal sphincter: an independent role for vasoactive intestinal peptide. *Can J Physiol Pharmacol* 1992; 70(8): 1182-9.
- 89.** Grider JR, Murthy KS, Jin JG, Makhoul GM. Stimulation of nitric oxide from muscle cells by VIP: prejunctional enhancement of VIP release. *Am J Physiol* 1992; 262(4 Pt 1): 774-8.
- 90.** Parkman HP, Reynolds JC, Elfman KS, Ogorek CP. Calcitonin gene-related peptide: a sensory and motor neurotransmitter in the feline lower esophageal sphincter. *Regul Pept* 1989; 25(1): 131-46.

- 91.** Kohjitani A, Shirakawa J, Okada S, Obara H. Effects of various peptides on isolated rabbit lower esophageal sphincter. *Peptides* 1996; 17(6):927-31.
- 92.** Lim I, Gibbons SJ, Lyford GL, Miller SM, Strege PR, Sarr MG et al. Carbon monoxide activates human intestinal smooth muscle L-type Ca^{2+} channels through a nitric oxide-dependent mechanism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288(1): 7-14.
- 93.** Ny L, Alm P, Ekström P, Larsson B, Grundemar L, Andersson KE. Localization and activity of haem oxygenase and functional effects of carbon monoxide in the feline lower oesophageal sphincter. *Br J Pharmacol* 1996; 118(2): 392-9.
- 94.** Gaumnitz EA, Bass P, Osinski MA, Sweet MA, Singaram C. Electrophysiological and pharmacological responses of chronically denervated lower esophageal sphincter of the opossum. *Gastroenterology* 1995; 109(3): 789-99.
- 95.** González AA, Farré R, Clavé P. Different responsiveness of excitatory and inhibitory enteric motor neurons in the human esophagus to electrical field stimulation and to nicotine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287(1): 299-306.
- 96.** Porter AJ, Wattchow DA, Brookes SJ, Costa M. Cholinergic and nitrenergic interneurons in the myenteric plexus of the human colon. *Gut* 2002; 51(1): 70-5.
- 97.** Yip L, Kwok YN, Buchan AM. Cellular localization and distribution of neurokinin-1 receptors in the rat stomach. *Auton Neurosci* 2003; 104(2): 95-108.

- 98.** Yunker AM, Krause JE, Roth KA. Neurokinin B- and substance P-like immunoreactivity are co-localized in enteric nerves of rat ileum. *Regul Pept* 1999; 80(1-2): 67-74.
- 99.** Cao W, Pricolo VE, Zhang L, Behar J, Biancani P, Kirber MT. Gq-linked NK(2)receptors mediate neurally induced contraction of human sigmoid circular smooth muscle. *Gastroenterology* 2000; 119(1): 51-61.
- 100.** Brookes SJ, Chen BN, Hodgson WM, Costa M. Characterization of excitatory and inhibitory motor neurons to the guinea pig lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* 1996; 111(1): 108-17.
- 101.** Smid SD, Blackshaw LA. Neuromuscular function of the human lower oesophageal sphincter in reflux disease and Barrett's oesophagus. *Gut* 2000; 46(6): 756-61.
- 102.** Gilbert R, Rattan S, Goyal RK. Pharmacologic identification, activation and antagonism of two muscarine receptor subtypes in the lower esophageal sphincter. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 230(2): 284-91.
- 103.** Harnett KM, Cao W, Biancani P. Signal-transduction pathways that regulate smooth muscle function I. Signal transduction in phasic (esophageal) and tonic (gastroesophageal sphincter) smooth muscles. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288(3): 407-16.
- 104.** Sandler AD, Maher JW, Weinstock JV, Schmidt CD, Schlegel JF, Jew JY et al. Tachykinins in the canine gastroesophageal junction. *Am J Surg* 1991; 161(1): 165-70.
- 105.** Huber O, Bertrand C, Bunnett NW, Pellegrini CA, Nadel JA, Nakazato P et al. Tachykinins mediate contraction of the human lower

esophageal sphincter in vitro via activation of NK2 receptors. *Eur J Pharmacol* 1993; 239(1-3): 103-9.

106. Kim CD, Goyal RK, Mashimo H. Neuronal NOS provides nitroergic inhibitory neurotransmitter in mouse lower esophageal sphincter. *Am J Physiol* 1999; 277(2 Pt 1): 280-4.

107. Beyak MJ, Collman PI, Valdez DT, Xue S, Diamant NE. Superior laryngeal nerve stimulation in the cat: effect on oropharyngeal swallowing, oesophageal motility and lower oesophageal sphincter activity. *Neurogastroenterol Motil* 1997; 9(2): 117-27.

108. Wang Y, Chen C, Loake GJ, Chu C. Nitric oxide: promoter or suppressor of programmed cell death? *Protein Cell* 2010; 1(2): 133-42.

109. Beltowski J, Jamroz A, Borkowska E: Heme oxidase and carbon monoxide in cardiovascular physiology and pathology *Postepy Hig Med Dosw* 2004; 3: 83–99.

110. Herman ZS: Carbon monoxide: a novel neural messenger or putative neurotransmitter *Pol J Pharmacol* 1997; 49(1): 1–4.

111. Warenycia MW, Goodwin LR, Benishin CG, ReiffensteinRJ, Francom DM, Taylor JD, Dieken FP: Acute hydrogen sulfide poisoning. Demonstration of selective uptake of sulfide by the brainstem by measurement of brain sulfide levels. *Biochem Pharmacol* 1989; 38(6): 973–981.

112. Nagata T, Kage S, Kimura K, Kudo K, Noda M: Sulfide concentrations in postmortem mammalian tissues. *J Forensic Sci* 1990; 35(3): 706–712.

- 113.** Suarez F, Furne J, Springfield J, Levitt M. Production and elimination of sulfur-containing gases in the rat colon. *Am J Physiol* 1998; 274: G727–733.
- 114.** Stipanuk MH. Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine. *Annu Rev Nutr* 2004; 24: 539–577.
- 115.** Ishigami M, Hiraki K, Umemura K, Ogasawara Y, Ishii K, Kimura H. A source of hydrogen sulfide and a mechanism of its release in the brain. *Antioxid Redox Signal* 2009; 11(2): 205–214.
- 116.** Shibuya N, Tanaka M, Yoshida M, Ogasawara Y, Togawa T, Ishii K et al. 3-Mercaptopyruvate sulfurtransferase produces hydrogen sulfide and bound sulfane sulfur in the brain. *Antioxid Redox Signal* 2008; 11(4): 703–714.
- 117.** Maclean KN, Janosik M, Kraus E, Kozich V, Allen RH, Raab BK et al. Cystathionine beta-synthase is coordinately regulated with proliferation through a redox-sensitive mechanism in cultured human cells and *Saccharomyces cerevisiae* *J Cell Physiol* 2002; 192(1): 81–92.
- 118.** Kamoun P. Endogenous production of hydrogen sulfide in mammals. *Amino Acids* 2004; 26(3), 243–254.
- 119.** Belardinelli MC, Chabli A, Chadeaux-Vekemans B, Kamoun P. Urinary sulfur compounds in Down syndrome. *Clin Chem* 2001; 47: 1500–1501.
- 120.** Furne J, Springfield J, Koenig T, DeMaster E, Levitt MD. Oxidation of hydrogen sulfide and methanethiol to thiosulfate by rat tissues: a

specialized function of the colonic mucosa. *Biochem Pharmacol* 2001; 62(2): 255–259.

121. Levitt MD, Furne J, Springfield J, Suarez F, DeMaster E. Detoxification of hydrogen sulfide and methanethiol in the cecal mucosa. *J Clin Invest* 1999; 104(8): 1107–1114.

122. Picton R, Eggo MC, Merrill GA, Langman MJ, Singh S. Mucosal protection against sulphide: importance of the enzyme rhodanese. *Gut* 2002; 50(2): 201–205.

123. Nagai Y, Tsugane M, Oka J, Kimura H. Hydrogen sulfide induces calcium waves in astrocytes. *FASEB J* 2004; 18(3): 557-9.

124. Lee SW, Hu YS, Hu LF, Lu Q, Dawe GS, Moore PK et al. Hydrogen sulphide regulates calcium homeostasis in microglial cells. *Glia* 2006; 54(2): 116-24.

125. Geng B, Yang J, Qi Y, Zhao J, Pang Y, Du J et al. H₂S generated by heart in rat and its effects on cardiac function. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004; 313(2): 362-8.

126. Fiorucci S, Antonelli E, Distrutti E, Rizzo G, Mencarelli A, Orlandi S et al. Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by non-steroidal drugs. *Gastroenterology* 2005; 129(4): 1210-24.

127. Distrutti E, Sediari L, Mencarelli A, Renga B, Orlandi S, Antonelli E et al. Evidence that hydrogen sulfide exerts antinociceptive effects in the gastrointestinal tract by activating K channels. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316(1): 325–335.

- 128.** Fiorucci S, Antonelli E, Mencarelli A, Orlandi S, Renga B, Rizzo G et al. The third gas: H₂S regulates perfusion pressure in both the isolated and perfused normal rat liver and in cirrhosis. *Hepatology* 2005; 42(3): 539–548.
- 129.** Attene-Ramos MS, Wagner ED, Plewa MJ, Gaskins HR. Evidence that hydrogen sulfide is a genotoxic agent. *Mol Cancer Res* 2006; 4(1): 9–14.
- 130.** Ramasamy S, Singh S, Taniere P, Langman MJ, Eggo MC: Sulfide-detoxifying enzymes in the human colon are decreased in cancer and upregulated in differentiation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 291(2): 288–296
- 131.** Celtek S, Moncada S. Nitroergic modulation of cholinergic responses in the opossum lower oesophageal sphincter. *Br J Pharmacol* 1997 ; 122(6):1043-6.
- 132.** Lund GF, Christensen J. Electrical stimulation of esophageal smooth muscle and effects of antagonists. *Am J Physiol.* 1969 ; 217(5):1369-74.
- 133.** Knudsen MA, Svane D, Tøttrup A. Importance of the L-arginine-nitric oxide pathway in NANC nerve function of the opossum esophageal body. *Dig Dis* 1991;9(6):365-70.
- 134.** Linden DR, Levitt MD, Farrugia G, Szurszewski JH. Endogenous production of H₂S in the gastrointestinal tract: still in search of a physiologic function. *Antioxid Redox Signal* 2010 1;12(9):1135-46.

- 135.** Kasperek MS, Linden DR, Farrugia G, Sarr MG. Hydrogen Sulfide Modulates Contractile Function in Rat Jejunum. *J Surg Res* 2011 Apr 22. [Epub ahead of print].
- 136.** Wang R. The gasotransmitter role of hydrogen sulfide. *Antioxid Redox Signal*. 2003 ;5(4):493-501.
- 137.** Zhao W, Ndisang JF, Wang R. Modulation of endogenous production of H₂S in rat tissues. *Can J Physiol Pharmacol*. 2003 ;81(9):848-53.
- 138.** Geng B, Cui Y, Zhao J, Yu F, Zhu Y, Xu G et al. Hydrogen sulfide downregulates the aortic L-arginine/nitric oxide pathway in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007 ; 293(4): 1608-18.
- 139.** Zharikov SI, Block ER. Characterization of L-arginine uptake by plasma membrane vesicles isolated from cultured pulmonary artery endothelial cells. *Biochim Biophys Acta*. 1998 ; 2;1369(1):173-83.
- 140.** Wang YF, Mainali P, Tang CS, Shi L, Zhang CY, Yan H et al. Effects of nitric oxide and hydrogen sulfide on the relaxation of pulmonary arteries in rats. *Chin Med J (Engl)*. 2008; 5;121(5):420-3.
- 141.** Zhao W, Wang R. H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002; 283(2): 474-80.

10. EKLER

ETİK KURUL İZNİ



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/ 33-2333
KONU :

08./02/2011

Sayın
Prof.Dr.Yusuf SARIOĞLU
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Yusuf SARIOĞLU, Sevim ERCAN, Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN, Fatma İŞLİ, Şeniz YILDIRIM ve Halil KARA'dan oluşan, G.Ü.ET-11.004 kod numaralı ve "*İzole tavşan alt özefageal sfinkterinde elektriksel alan uyarısına bağlı nörojenik kasılma cevapları üzerine hidrojen sülfürün etkisi*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-11.004 and entitled "*Effects of hydrogen sulfide on the electrical field stimulation induced neurogenic contraction responses in the isolated rabbit lower oesophageal sphincter*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübesiyle yolumu aydınlatan, emeğini, hoşgörüyü ve desteğini esirgemeyen öğrencisi olmaktan gurur ve şeref duyduğum çok kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Yusuf SARIOĞLU'na hoşgörüsünü, güleryüzünü esirgemediği yoğun desteğini her zaman yanımda hissettiğim çok kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Sevim ERCAN'a eğitimimde emekleri olan Anabilim Dalımızın bütün öğretim üyelerine, tez hazırlama aşaması başta olmak üzere çalışmalarım boyunca her zaman yanımda hissettiğim laboratuvar çalışmalarını öğrenmemde katkısını esirgemeyen Uzm. Dr. Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN'a, laboratuvar çalışmalarımda desteklerinden dolayı Arş. Gör. Dr. Fatma İŞLİ ve Arş. Gör. Dr. Şeniz YILDIRIM kardeşlerime, yoğun çalışma temposunda teşvik ve desteğiyle her an yanımda olan eşim ve çocuklarıma en içten duygularla teşekkür ederim.

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Halil

Soyadı : KARA

Doğum Yeri ve Tarihi : DEVELİ – 15.12.1971

Eğitimi : Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesinden 1997 yılında mezun oldu. 1989 yılında Develi lisesini bitirdi. 1986 yılında Develi Ortaokulunu, 1983 yılında Seyrani İlkokulunu bitirdi.

Yabancı Dili : İngilizce

Bilimsel Etkinlikleri : Değişik kurum ve kuruluşlar tarafından düzenlenen toplantı ve sempozyumlarda konuşmacı olarak görev almıştır.

Çeşitli sağlık kongrelerinde bildiri ve posterleri yayınlanmıştır. Sağlığın Başkenti, Numune Sağlık dergilerinde makaleleri yayınlanmıştır.

Yürüttüğü projeler kapsamında Macaristan, Finlandiya gibi ülkelerde bilimsel toplantılara katılmıştır.