

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

İZOLE KOBAY İLEUMUNUN LONGİTUDİNAL KASINDA
GABA_A -RESEPTÖR ARACILI KONTRAKSİYONLARA SUBSTANS P,
ANJİOTENSİN DÖNÜŞTÜRÜ ENZİM ve ENKEFALİNAZ
İNİHİTÖRLERİNİN ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. A. Şükrü AYNACIOĞLU

T623/1-1

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr.Gülay ŞADAN

ANTALYA, 1992

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
KÜTÜPHANASI

623

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

İZOLE KOBAY İLEUMUNUN LONGİTUDİNAL KASINDA
GABA_A -RESEPTÖR ARACILI KONTRAKSİYONLARA SUBSTANS P,
ANJİOTENSİN DÖNÜŞTÜRÜ ENZİM ve ENKEFALİNAZ
İNİHİTÖRLERİNİN ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. A. Şükrü AYNACIOĞLU

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Gülay ŞADAN

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonu
Tarafından Desteklenmiştir. (Proje No: 91.01.0103.02)

"Kaynakça Gösterilerek Tezinden Yararlanılabilir"

ANTALYA, 1992

TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Hocam Prof.Dr.Gülay ŞADAN'a daha önceki çalışmalarında olduğu gibi tezimin hazırlanmasında da gösterdiği titizlik, özveri, sabır ve bilimsel katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Anabilim Dalımız Öğretim üyeleri ile diğer tüm çalışma arkadaşlarıma, tezimin yazılmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın arkadaşlarım Hakan GENÇ ve İurhan TAI'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

1-GİRİŞ ve AMAÇ	1-4
2-GENEL BİLGİLER	5-32
3-GEREÇ ve YÖNTEMLER	33-35
4-BULGULAR	36-45
5-TARTIŞMA	46-51
6-SONUÇLAR	52
7-ÖZET	53
8-KAYNAKLAR	54-62

GİRİŞ

Gama-aminobutirik asid'in (GABA) santral sinir sistemi dışında memelilerin çeşitli periferik dokularında transmitter, modülatör ya da her iki şekilde rol oynadığı bilinmektedir (7,24,50).

GABA reseptörleri $GABA_A$ ve $GABA_B$ olmak üzere iki alttipe ayrılmaktadır (6,28). Bu sınıflandırma hem santral sinir sistemi, hem de periferik otonomik ve enterik sinir sistemi için geçerlidir. GABA reseptörlerinin periferik dokularda sempatik ve parasempatik otonomik gangliyonların üzerinde lokalize olduğu (nöronların hücre gövdeleri, aksonlar ve dentritler) gösterilmiştir (38).

Farklı memeli türlerinde barsağın çeşitli segmentlerinin kasılabilirliği yerel GABA reseptörleri ile modüle edilebilmektedir. GABA, barsağın myenterik pleksusundaki postgangliyonik kolinerjik nöronlar üzerinde yerleşmiş $GABA_A$ reseptörleri aracılığıyla kasılma oluşturmaktadır. Diğer yandan $GABA_B$ reseptörleri postgangliyonik sinirlerin inhibisyonu sonucu gevşemeye aracılık etmektedir (23,44,45,66,68).

Santral ve otonomik sinir sisteminde peptiderjik bir nörotransmitter olan substans P'nin (SP), kobay incebarsağının myenterik pleksusundan kısmen GABAerjik nöronların stimülasyonu ile asetilkolin salınımına yol açtığı ve incebarsakta iki lokal nöronal dolanımın (SPerjik-GABAerjik-postgangliyonik kolinerjik nöronlar ve SPerjik-postgangliyonik kolinerjik nöronlar) varlığı ileri sürülmüştür (65). Kobay ileumunda GABA_A agonistlerinin neden olduğu nörojenik kontraksiyonların kısmen SP salınımına bağlı olarak myenterik pleksustaki kolinerjik sinirlerin uyanılmasıyla gerçekleşebileceği bildirilmiştir (66,67).

Kırmızı biberin acı lezzetini veren ve çeşitli biyolojik olaylarda duyuşal nöronların katkısını değerlendirmede yararlı bir farmakolojik ajan olarak kabul edilen kapsaisin'in barsakta ekstrinsik sinir uçlarında SP depolarını boşalttığı ve SP salınımına neden olduğu gösterilmiştir (66). Kapsaisin'in kobay ileumunda GABA_A agonistleri 3-aminopropansulfonik asid ve musimol'un oluşturduğu kolinerjik kontraktıl yanıtları inhibe ettiğinin gösterilmesi, GABA agonistleri ile oluşan bu kolinerjik yanıtlarda SP'nin ilişkisine indirekt kanıt sağlamıştır (4,66).

SP'nin yıkımında serin proteazların, asetilkolinesteraz'ın yanısıra enkefalinaz ve anjiotensin dönüştürücü enziminin (ADE) de rolü vardır (11,13,27,60). ADE inhibitörlerinin kobayda SP ile oluşan bronkokonstriksiyonu güçlendirdiği ve bunun ADE inhibitörleri ile tedavi edilen hastalarda gözlenen öksürük ve bronşiyal hiperreaktiviteden

sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (63). Enkefalinaz inhibitörleri lösin-tiorfan ve fosforamidon'un SP ve kapsaisin ile oluşan öksürüğü güçlendirdiği, SP'nin öksürük yanıtının güçlü bir uyarıcısı olduğu, kapsaisin ile oluşan öksürüğe SP ya da diğer benzer bir nöropeptid'in aracılık ettiği ve öksürük yanıtlarının endojen enkefalinaz ile modüle edilebileceği ileri sürülmüştür (29,32). ADE, kan ve akciğerlerin yanı sıra memeli incebarsağı ve böbrek proksimal tübüllerinin epitel hücrelerindeki mikrovilluslarda membrana bağlı olarak bulunmaktadır (61). Ayrıca insanda da incebarsakta ADE'nin kan damarları ve intestinal mukozanın absorptif epitel hücrelerinde ekstravasküler olarak bulunduğu gösterilmiştir (9,69,70). ADE gibi membrana bağlı bir peptidaz olan enkefalinaz da akciğerde alveoler yüzeyin yanı sıra böbrek ve barsağın mikrovillus membranları gibi epitel hücrelerinin membranlarında da bulunmaktadır (16).

Kobay ileumunun myenterik pleksus-longitudinal kas preparatı opiat reseptörlerini de içermektedir. Enkefalin ve dinorfin içeren nöronlara sahip olan bu preparattan yüksek frekanslı elektrik stimülasyonu ile endojen opioid salınımı gerçekleşmektedir (51). Dışardan verilen enkefalinlerin aynı preparatta elektriksel olarak oluşturulan kontraksiyonları inhibe ettikleri ve aminopeptidaz, ADE ve enkefalinaz inhibitörlerinin enkefalinlerin bu etkisini güçlendirdikleri ve böylece aminopeptidaz, ADE ve enkefalinaz enzimlerinin, enkefalinlerin inaktivasyonunda önemli rol oynadıkları bildirilmiştir (1).

SP'nin yıkımında da rol oynayan ADE ve bu enzimle birçok ortak özelliği bulunan enkefalinaz'ın, ADE ve enkefalinaz inhibitörleri, sırasıyla kaptopril ve tiorfan ile inhibe edilmelerinin tıpkı bronşlarda olduğu gibi incebarsakta da SP'nin etkisini güçlendirebileceklerini düşündürmektedir. Diğer yandan gastrointestinal sistemin işlevlerini fizyolojik olarak kontrol edebilen GABA'nın kobay ileumunda GABA_A reseptörler aracılığıyla oluşturduğu kontraksiyonlarda kısmen SP'nin katkısı olduğu gösterildiğinden (66,67), ADE ve enkefalinaz inhibitörlerinin de GABA ve GABA_A reseptör agonistlerinin kontraktıl yanıtlarını değiştirmesi olası görülmektedir.

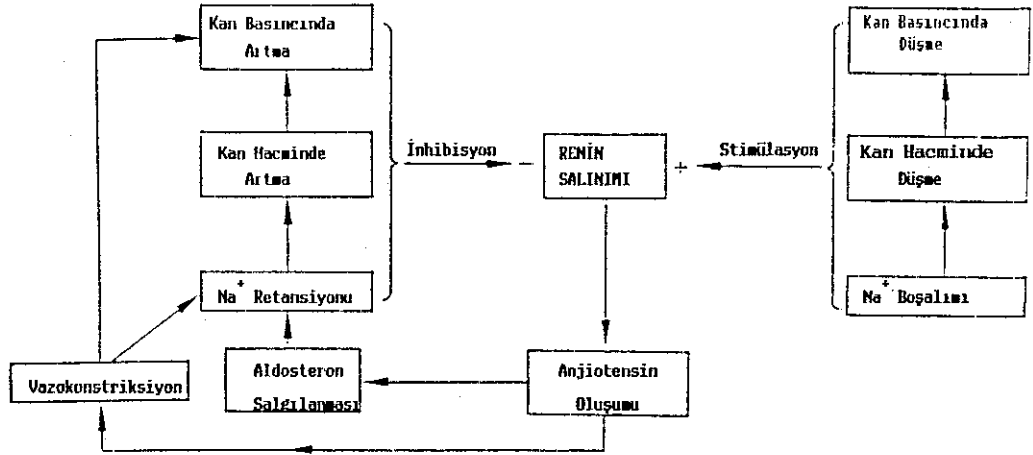
Bu çalışmada izole kobay ileumunda GABA ve GABA_A agonistleri, musimol ve 3-APS'nin GABA_A reseptör aracılı kontraksiyonlarında SP, ADE ve enkefalinaz inhibitörlerinin ilişkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

RENİN-ANJİOTENSİN SİSTEMİ

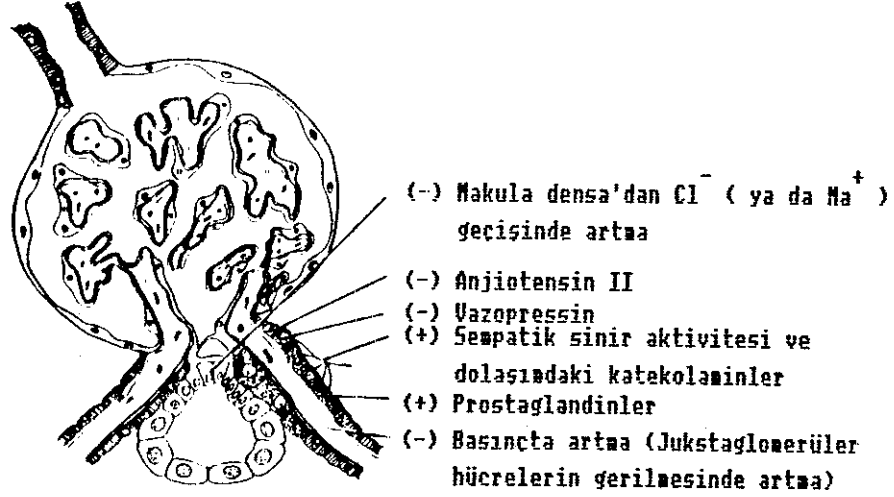
Renin-anjiotensin sistemi, arteriyoler tonusun devamlılığını, sodyum ve sıvı dengesinin ayarlanmasını, aldosteron ve vazopressin salınımının artırılmasını ve böylece arteriyel basıncın düzenlenmesini sağlayan önemli bir hormonal sistemdir (36,72). Kan hacmini, böbrek perfüzyon basıncını ve plazma sodyum konsantrasyonunu düşüren faktörler bu sistemin işlevini aktive etmesine karşın bu parametreleri artıran faktörler baskılama eğilimindedir (21) (Şekil 1).

Bir asid proteaz olan renin'in başlıca kaynağı böbreklerdir. Renin, afferent arteriyollerin duvarında ve bunların glomerüllere girdikleri yerde bulunan granüler jukstaglomerüler hücreler tarafından sentezlenir, depolanır ve böbreğin arteriyel dolaşımına salgılanır (20). Renin ve renin-anjiotensin sisteminin diğer komponentleri santral sinir sisteminde de bulunur.



Sekil 1 : Renin-Anjiotensin sisteminin homeostatik rolü.

Jukstaglomerüler hücrelerden renin salgılanması başlıca üç mekanizma ile düzenlenir. Bunlardan ilk ikisi intrarenal mekanizmalar olup, üçüncüsü santral mekanizmaları içerir (21,54). Birinci intrarenal mekanizma mekaniktir ve aferent arteriyollerde baroreseptörlerin uyarılması ile ilgilidir. Böbrek perfüzyon basıncını düşürmeye eğilimli faktörler (örneğin kardiyak output'da azalma, total periferik dirençte düşme, kanama ve sodyum eksikliği sonucu kan hacminde azalma gibi herhangi bir nedenle kan basıncının düşmesi) renin salınımını artırmaktadır. Renal arteriyel ve aortik stenoz gibi lokal vasküler etkiler de renin salınımını artırmaktadır. Ani uyarıya bağlı renin salınımının, glomerüler aferent damarların duvarındaki gerginliğin azalması sonucu olduğu kabul edilmektedir. Glomerüllere gelen aferent arteriyollerin gerilmesi veya vazokonstriksiyonu sonucu renin salınımı azalmaktadır (20,21,49,55) (Şekil 2).



Şekil 2 : Renin salgılanmasını inhibe (-) ve stimüle (+) eden faktörler.

İkinci intrarenal mekanizma iyoniktir. Distal tubulusun Henle kıvrımına yakın kısmında tubulus hücrelerinin farklılaşması sonucu oluşmuş özel hücreler olan makula densa hücreleri, distal tubulusa giren ultrafiltrat içindeki sodyum ve klor konsantrasyonunu izleyen kemoreseptör hücrelerdir (20). Tubulus içindeki ultrafiltratta sodyum ve klor fazlalır ve böylece reabsorpsiyon nedeni ile makula densa hücreleri içinden geçen iyonların konsantrasyonu artarsa bunlar jukstaglomerüler hücreler üzerinde yaptıkları uyarıyı azaltırlar. Bu hücreler içinden geçen sodyum ve klor konsantrasyonu ile renin salgılanması arasında ters orantı vardır. Bu iyonların ultrafiltratta konsantrasyonu düştüğünde renin salgılanması artmaktadır (20,21) (Şekil 2). Furosemid ve etakrinik asid gibi güçlü diüretikler sodyum ve klor reabsorpsiyonunu belirgin şekilde azaltarak, bu iyonların makula densa hücreleri içinden geçen miktarını düşürürler ve renin salınımını artırırırlar (31).

Uçuncü mekanizma postgangliyonik sempatik sinir uçlarından noradrenalin salınımı aracılığıyla gerçekleşmektedir. Noradrenalin olasılıkla jukstaglomerüler hücrelere direkt etki ile renin salınımını uyarmaktadır (21) (Şekil 2). Bu etkiye beta-adrenoseptörler aracılık etmekte ve olasılıkla adenilat siklaz'ın aktivasyonu sonucu siklik AMP oluşumu ise karışmaktadır. İnsanda bu beta-reseptörler beta₁ alt tipindedir. Bazı durumlarda noradrenalin renin salınımını alfa-reseptörler aracılığı ile indirekt olarak uyarmaktadır. Bu uyarıcı etki olasılıkla aferent arteriyollerin büzülmesi ve böylece renal vasküler reseptörlerin aktivasyonu ile makula densa'ya NaCl sunumunun azalması sonucudur. Diğer durumlarda alfa reseptörlerin uyarılması gerçekte renin salınımını inhibe etmektedir (54). Kan basıncının çeşitli nedenlerle düşmesi baroreseptörleri ve hacim reseptörlerini etkileyerek sempatik aşırı etkinliğe ve böylece renin salınımında artmaya neden olmaktadır (21,49,54).

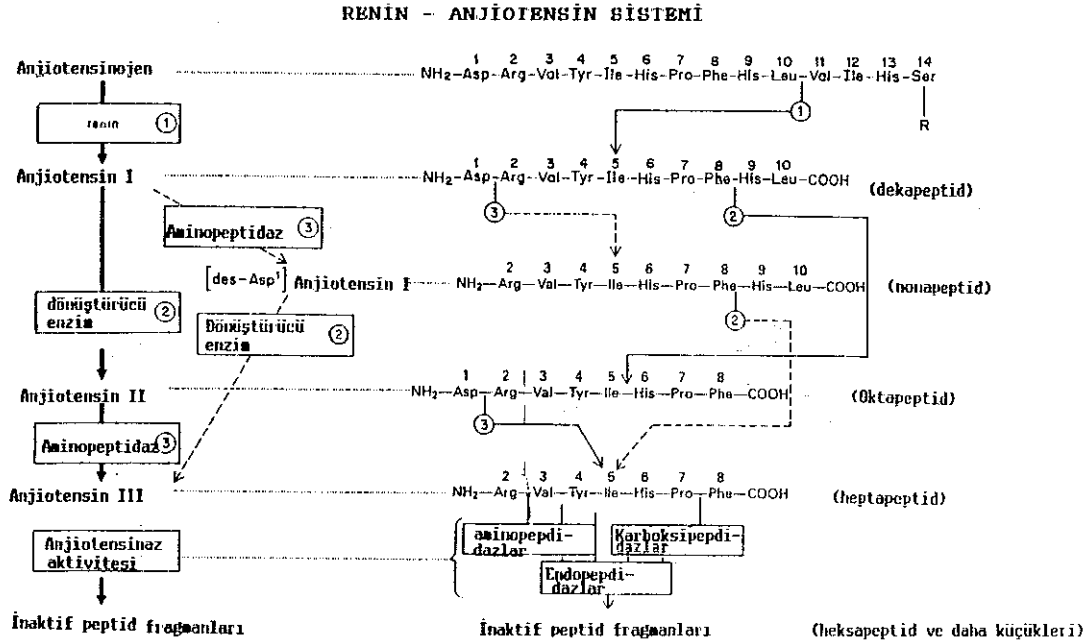
Çeşitli otakoidler de renin salınımını etkileyebilmektedir (Şekil 2). Bunlar arasında prostaglandinler, özellikle de böbrekte fizyolojik uyarıların modülasyonu ve transdüksiyonuna katılan prostaglandin I₂ bulunmaktadır. Anjiotensin II'nin kendisi de direkt inhibitör etki oluşturur (-) feedback mekanizması. Antidiüretik hormon (ADH) ve potasyum da renin salgılanmasını inhibe etmektedir. ADH renin salınımını çok düşük konsantrasyonlarda inhibe eder ve olasılıkla renin salınım hızının önemli bir modülatördür. Plazma potasyum konsantrasyonlarında ufak değişiklik renin salınım hızında karşıt değişikliklere yol açar.

Potasyumun makula densaya NaCl sunum hızını artırarak indirekt olarak renin salınımını inhibe ettiği kabul edilmektedir. Diüretikler ve anjiotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri, renin salınımını ve yapımını indirekt olarak uyaran ilaçların önemli bir bölümünü oluşturmaktadırlar (21,31,54).

Renin'in başlıca doğal substratı anjiotensinojen'dir. Anjiotensinojen üzerine etkisi sonucu inaktif bir dekapeptid olan anjiotensin I oluşmaktadır. Anjiotensin I, büyük oranda akciğerlerde bulunan ADE ile vazoaaktif bir oktapeptid olan anjiotensin II'ye dönüştürülmektedir. Dönüşüm anjiotensin I'den C-ucundaki iki amino asid'in (histidil-lösin) ayrılması ile olur. Çinko içeren bir karboksipeptidaz olan bu enzim tüm damar endotel hücreleri ve bazı epitel hücrelerin membranlarında bulunmaktadır. Kan ve akciğerlerin yanısıra memelilerin incebarsağı ve böbrek proksimal tübüllerinin epitel hücrelerindeki mikrovilluslarda membrana bağlı olarak bulunan ADE, enkefalinler de dahil bradikinin'i ve diğer güçlü vazodilatör peptidleri (SP gibi) inaktive etmektedir (9,21,61,70).

Plazma ve bazı dokularda bulunan alfa-aminopeptidaz enzimi, anjiotensin II'den N-ucundaki aspartik asidi kopararak dezaspartil anjiotensin II ya da diğer adıyla anjiotensin III olarak adlandırılan etkili bir anjiotensin türünü oluşturur. anjiotensin III bir başka yolla da oluşmaktadır. Şöyle ki, anjiotensin I önce aminopeptidaz ile dezaspartil anjiotensin I'e, daha sonra bu madde de ADE ile anjiotensin III'e dönüşmektedir. Anjiotensin II ve anjiotensin III'ün inaktivasyonu anjiotensinazlar adı verilen 3 farklı peptidaz

(aminopeptidazlar, karboksipeptidazlar ve endopeptidazlar) tarafından gerçekleştirilmektedir(21,31,52,54) (Şekil 3)



Şekil 3 : Anjiotensin oluşumu ve yıkımı.

Anjiotensin II ani ve uzun süreli pressör etkileri olan güçlü bir vazokonstriktördür. Hem santral etkilerle hem de periferel katekolamin salınımını kolaylaştırarak sempatik sinir sistemini uyarır, ayrıca vagal tonusu inhibe eder. Anjiotensin II;

- 1-Aldosteron salınımını uyararak,
- 2-Tübüler sodyum reabsorpsiyonuna direkt etki ve
- 3-Santral etkilerle (susama, tuz istahı ve ADH ile adrenokortikotropik hormon'un salınımını artırması gibi) su ve tuz tutulumuna neden olur (34).

Anjiotensin II özellikle arteriyolleri ve prekapiller sfinkterleri büzerek periferik damar direncini artırır ve böylece kan basıncını yükseltir. Venüller ve venler üzerindeki büzücü etkisi zayıftır. Yüksek dozda verildiğinde santral sinir sisteminde sempatik merkezler üzerindeki uyarıcı etkisinin ve periferde adrenerjik sinir uçlarından noradrenalin salıverilmesini artırmasının da kan basıncı yükselmesine katkısı vardır. Özellikle deri, böbrek ve diğer organların damar yataklarında güçlü vazokonstriksiyon yapar ve kan akımını azaltır. Böbreklerdeki aferent arteriyoller anjiotensin II'nin büzücü etkisine en duyarlı damarlardır. Anjiotensin II böbrek kan akımı, glomerüler filtrasyon hızı ve sodyum itrahında belirgin azalma oluşturur. Kan basıncı yükselmesine bağlı olarak baroreseptör refleksin aktivasyonu, bradikardi ve aritmeye neden olur. Venöz dönüşün azalması ve refleks bradikardi sonucu kalp debisi genellikle azalır (21,31,54). Normal bir kişide sodyum dengesi bozulmamışsa renin-anjiotensin sisteminin kardiyovasküler homeostaza katkısı önemsizdir. Ancak düşük sodyum diyeti ile beslenen normal kişilerde veya renovasküler hipertansiyon, kanama, hepatorenal sendrom, üreterin tıkanması ve diğer bazı patolojik durumlarda renin-anjiotensin sistemi aşırı etkinlik gösterir ve damar tonusu üzerinde endojen anjiotensin'in büzücü etkisi belirginleşir. Bu durumda anjiotensin antagonisti ilaçların uygulanması kan basıncını anlamlı olarak düşürür. Renin-anjiotensin sisteminin etkinliğinin arttığı durumlarda böbreklerde vazodilatör prostaglandinlerin sentez ve salıverilmesinin arttığı ve böylece anjiotensin'in böbrek

kan akımı ve glomerüler filtrasyon hızında oluşturduğu azaltıcı etkinin tamponlandığı saptanmıştır (21,31).

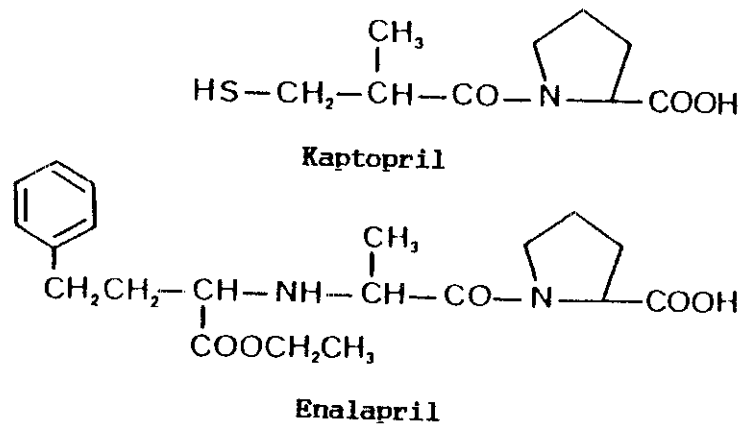
Anjiotensin II ve anjiotensin III'ün en önemli fizyolojik etkisi aldosteron sentez ve salıverilmesini artırmasıdır. Böylece sodyum ve su dengesi düzenlenir. Hiponatremi ve hiperkalemi, aldosteron salgılayan hücrelerin anjiotensinlere duyarlılığını artırır. Anjiotensin II, trofik bir faktör olarak da davranabilir ve damar düz kasının ve myokardiyal hücrelerin büyümesini uyarabilir (36,54).

ADE İNHİBİTÖRLERİ

Kan basıncının kontrolünde önemli bir hormonal sistem olan renin-anjiotensin sisteminin 1950 ve 1960'lı yıllarda doğası ve renovasküler hipertansiyon ile malign hipertansiyon gibi durumlardaki patojenik rolünün tanımlanması, bu sistemi bloke eden ajanların araştırılması ve geliştirilmesine yol açmıştır(34). Ferreira (1965), Güney Amerikan cingiraklı yılan zehirinin bradikinin'e (Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg) [bradikinin¹⁻⁹] yanıtı artıran faktörler içerdiğini bulmuştur. Bu bradikinin potansiyalize edici faktörler (BPF), bradikinin'in inaktivasyonu ve yıkımını katalize eden ve şimdi kininaz II olarak bilinen enzimi inhibe ettiği gösterilen 5-13 amino asid rezidülü bir peptid ailesini oluşturmaktadır. Daha sonra bir peptidil dipeptidaz (ya da dipeptidil karboksipeptidaz) olan ADE ve kininaz II'nin aynı enzim olduğu bulunmuştur (74).

Böylece tek bir enzim hem güçlü pressör bir madde olan anjiotensin II'nin yapımını, hem de güçlü vazodilatör bir madde olan bradikinin'in yıkımını katalize etmektedir. BPF'lerin bulunmasından sonra nonapeptid BPF_{7α} (teprotid) sentezlenmiş ve insanlarda denenmeye başlanmıştır. Bu ilacın esansiyel hipertansiyonlu birçok hastada kan basıncını anjiotensin II antagonistlerine göre daha uzun süreli düşürdüğü bulunmuştur. Teprotid aynı zamanda kalp yetmezliği olan hastalarda da yararlı etkiler oluşturmıştır. Teprotid etkili bir ADE inhibitörü olmasına karşın pahalı olması ve parenteral uygulama gerektirmesi nedeni ile ağızdan etkili olan bileşiklerin sentezlenmesi yoluna gidilmiştir (21,34).

Bir merkaptoacil amino asid olan kaptopril (D-3-merkaptometil-propionil-L-prolin) ağızdan etkili olduğu bulunan ilk ADE inhibitörüdür (14) (şekil 4).



Şekil 4 : Ağızdan verildiğinde etkili iki ADE inhibitörü :
Kaptopril ve Enalapril

Kaptopril ve bunu izleyerek geliştirilen ağızdan etkili ADE inhibitörleri (enalapril, lisinopril, alasepril, silazapril, ramipril, perindopril, kuinapril, benazepril ve fosenopril gibi) klinikte yaygın olarak kullanılmaya başlanmış ve bunların esansiyel hipertansiyon, renovasküler hipertansiyon, dirençli hipertansiyon ve kalp yetmezliği gibi pek çok kalp damar hastalığının tedavisinde değerli oldukları kanıtlanmıştır (25,34,36). Karboksil, fosfinil ya da sülfidril grupları içermelerine göre kimyasal yapıları birbirinden farklı olan bu ajanların birçoğu emilimi artırmak amacı ile esterlenmiş olan ön-ilaçlardır (Tablo 1).

Tablo 1: Halen kullanımda olan ve gelişmekte olan başlıca ADE inhibitörleri

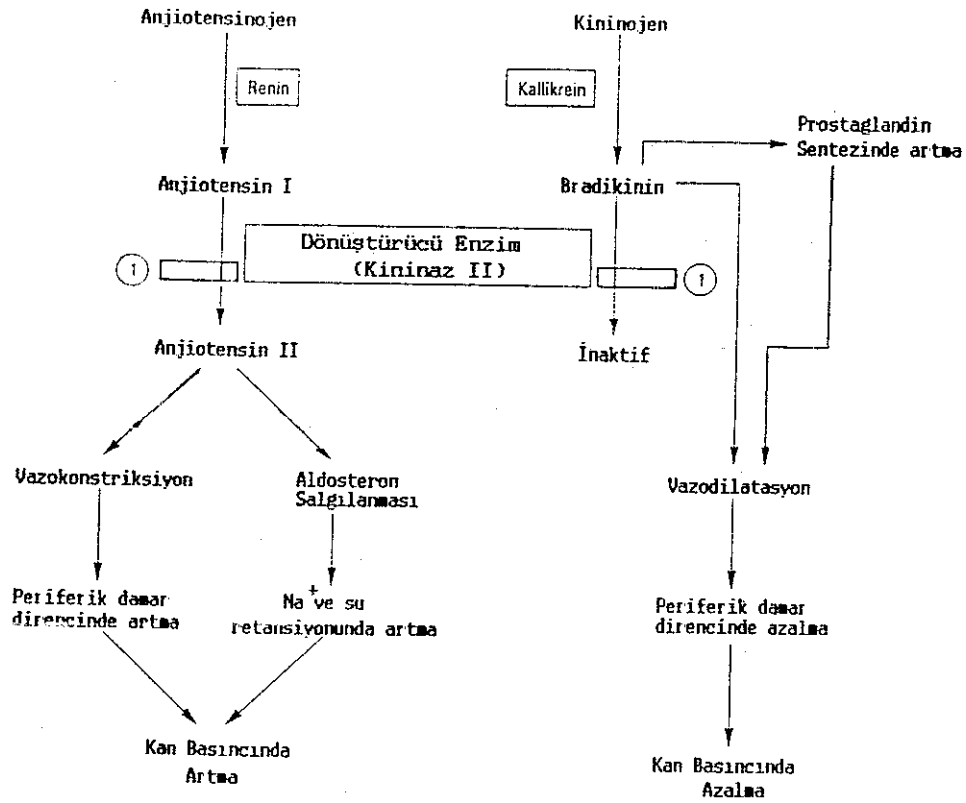
Ligan	Önilaç	Plazma yarı-ömrü (saat)	Atılım yolu	Antihipertansif etki süresi	Öngörülen günlük doz (mg)
Sülfidril					
Kaptopril	Hayır	2	Böbrek	K	25-150
Alasepril	Evet	19	Barsak/ Böbrek	U	25-50
Karboksil					
Enalapril	Evet	110	Böbrek	U	2.5-40
Lisinopril	Hayır	12.6	Böbrek	U	10-80
Silazapril	Evet	15-20	Barsak/ Böbrek	U	5-20
Perindopril	Evet			U	4-8
Kuinapril	Evet	2-3	Karaciğer	U	5-20
Ramipril	Evet	11-27	Böbrek	U	2.5-10
Benazepril	Evet	11.0	Böbrek/ Barsak	U	10-40
Fosfinil					
Fosenopril	Evet	15 ^e	Karaciğer/ Barsak/ Böbrek	U	10-160

Örneğin, enalapril bir serum esteraz enzimi ile hidrolize uğrayarak aktif olan enalaprilat'a dönüşmektedir. Ön-ilaçlar emilimi izleyerek karaciğerde aktif duruma geçmekte ve bunun sonucu olarak etkilerinin başlama süresi gecikmekte ve etkileri uzamaktadır. Ön-ilaçların bir başka üstünlüğü de emilimlerinin yiyeceklerle etkilenmemesidir (36).

ADE İnhibitörlerinin Farmakolojik ve Klinik Etkileri

ADE inhibitörleri, ADE'nin aktif merkezine reversibl olarak bağlanıp doğal substrat olan anjiotensin I ile bağlanma yerine karşı yarışmaya girerek vücutta çeşitli hedef yapılarda anjiotensin II düzeyini azaltmaktadırlar (Şekil 5). Anjiotensin reseptörlerine dokunmazlar ve dışarıdan verilen anjiotensin II'nin etkilerini azaltmazlar. Plazmada anjiotensin I düzeyini yükseltirler ve enjeksiyon suretiyle dışarıdan verilen anjiotensin I'in etkilerini önlerler. Plazma renin düzeyini ileri derecede yükseltmelerinin nedeni anjiotensin düzeyinin düşmesi sonucu onun jukstaglomerüler hücrelerden renin salgılanması üzerine yaptığı negatif feedback inhibisyonun azaltılmasıdır. Anjiotensin düzeyinin düşmesi sonucu aldosteron salgılanması stimülasyondan kurtulduğu için azalır ve plazma düzeyi düşer (72). ADE inhibitörleri ADE'ye tamamen spesifik olmalarına karşın prostaglandinlerin oluşumunda rolü olan enzimler dahil diğer enzimleri de etkileyebilirler (21).

ADE'nin inhibisyonu, bradikinin yıkılmasını azalttığı için ADE inhibitörleri vücutta oluşan veya dışarıdan verilen bradikinin'in vazodilatör, hipotansif ve diğer etkilerini güçlendirebilirler (Şekil 5).



Şekil 5 : ADE inhibitörlerinin etki yeri (i).

Ancak ADE inhibitörlerinin doku düzeyinde yaptıkları bradikinin artışı plazmaya çoğu zaman yansımaz. Kaptopril'in insanlarda plazma bradikinin düzeyinde çoğu zaman bir artma yapmadığı saptanmıştır. Ayrıca kaptopril'den sonra bradikinin düzeyinin yükseldiği kimselerde bunun derecesi ile kan basıncındaki düşmenin boyutu arasında bir ilişki

bulunmamıştır. Kaptopril'den önce aprotinin verilerek plazma kininlerinin oluşumunun engellendiği deneklerde kaptopril'in vazodilatör etkisinin azalmadığı bulunmuştur. Kaptopril ile elde edilen bu gözlemler, ADE inhibitörlerinin terapötik dozları ile oluşan hipotansif etkide plazma kininlerinin birikiminin rol oynamadığını göstermektedir (31,36).

ADE inhibitörleri özellikle hipertansiyon ve konjestif kalp yetmezliğinin tedavisinde etkili olan ilaçlardır (21,25,31,34,36,46,52,72). Primer aldosteronizm haric birçok hipertansif durumda sistemik arteriyoler direnci ve sistolik, diyastolik ve ortalama kan basınçlarını düşürmektedirler. Venüller üzerindeki gevşetici etkileri arteriyoller üzerindeki daha azdır. Akut uygulamada kan basıncında yaptıkları düşme, ilaçtan önceki plazma renin etkinliği (PRE) ile doğru orantılıdır. Sağlıklı ve özellikle sodyum dengesi normal olan kimselerde kan basıncını düşürmeyebilirler veya hafif bir düşme oluştururlar. PRE'nin yükseldiği fizyolojik durumlarda ya da esansiyel hipertansiyonlularda kan basıncında belirgin düşme yaparlar. Uzun süreli kullanılışlarında yaptıkları antihipertansif etki ile bu ilaçtan önceki PRE düzeyi arasında anlamlı bir ilişki yoktur. Baroreseptör refleks mekanizmayı bozamazlar, sempatik sinir sistemini terapötik dozlarda etkilemezler ve postural hipotansiyon yapmazlar. Sistemik kan basıncındaki düşme periferik dirençteki azalmadan kaynaklanmaktadır. Böbrek damarlarında belirgin vazodilatör etki ve kan akımındaki artma hemen hemen sabit bir bulgudur. Çünkü böbrek damarları anjiotensin II'nin vazokonstriktör etkilerine oldukça duyarlıdır.

sistemik arteriyoler dilatasyonun yanısıra ADE inhibitörleri sistemik basıncın azalmasına katkıda bulunan büyük arterlerin kompliansını da artırır. Her ne kadar kalbin atım hacmi ve kardiyak output uzun süreli tedavi ile hafifçe artsa da komplikasyonsuz hipertansiyonlu hastalarda kalbin işlevi pek değişmemektedir. ADE inhibitörleri hipertansiyonlu hastalarda sol ventrikül duvar kalınlığını ve kitlesini de azaltmaktadırlar (21,31,46).

ADE inhibitörleri sistemik damar direncini azaltarak sağ ve sol ventrikül dolma basıncını azaltırlar, sol ventrikül önyük ve ardyükünü düşürürler, akciğer kapiller wedge basıncını azaltırlar, kardiyak output ve egzersiz toleransını ise artırırırlar (31,36). Sıçanlarda ADE inhibitörlerinin myokard enfarktüsünü izleyen konjestif yetmezliğe karşı da koruma sağladığı gösterilmiştir. Kaptopril'in ilerleyici ventrikül genişlemesini azalttığı ve anterior myokard enfarktüsü olan hastalarda egzersiz kapasitesini düzelttiği bildirilmiştir (21).

ADE inhibitörleri diüretik ve natriüretik etki oluştururlar, potasyum itrahını azaltırlar ve kalemiyi yükseltebilirler. Bu etkiler esas olarak aldosteron salgılamasını inhibe etmelerine ve böbreklerde vazodilatasyon yapmalarına bağlıdır. Kaptopril'in böbrekte prostaglandin E₂ ve prostasiklin sentezini artırması da diüretik ve natriüretik etkisine katkıda bulunur (21,31,54).

ADE inhibitörlerinin Yan Etkileri

ADE inhibitörleri ile tedavide sıklıkla başağrısı, yorgunluk, öksürük, deri döküntüleri, hipertansiyon, bulantı-kusma ve ishal gibi yan etkilere rastlanmaktadır (22,36,39,43,47,72)

ADE inhibitörlerinin bazı yan etkileri farmakolojik mekanizmalarına ve kimyasal yapılarına bağlanmaktadır. Özellikle yüksek renin düzeyli hastalarda, daha önceden diüretik kullananlarda, böbrek veya kalp yetmezliği olanlarda ya da yaşlı hastalarda gözlenen hipotansiyon farmakolojik mekanizmaya bağlı yan etkilere örnek oluşturmaktadır (21,36).

ADE inhibitörleri ile uzun süreli tedavide rahatsızlık verici bir öksürük ortaya çıkabilmektedir. ADE inhibitörleri ile yapılan bir çalışmada 80 hastanın 25'inde (%31) öksürük geliştiği bildirilmiştir (69). Diğer bir çalışmada ADE inhibitörü ilaç kullanan 17 hastanın 9'unda öksürük geliştiği ve bu 9 hastanın 8'inin bronşiyal hiperreaktivite gösterdiği saptanmıştır (30). ADE inhibitörleri ile gözlenen öksürük ve deri döküntüsünün kininlerle etkileşime bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (8). Lisinopril ile yapılan bir çalışmada en sık rastlanan yan etkilerin başağrısı, baş dönmesi, öksürük, bulantı-kusma ve ishal olduğu, öksürük ve bulantı sonucu %6.1 hastada tedavinin kesilmesi gerektiği (10), buna karşın enalapril ile öksürüğün daha az sıklıkta görüldüğü ve tedavinin kesilmesinin genelde zorunlu olmadığı bildirilmiştir (71).

Strocchi ve ark. (1989) daha önce bildirilenin aksine ADE inhibitörleri ile öksürüğün daha sık görüldüğünü ve sıklık açısından kaptopril ve enalapril ile tedavi edilen hastalar arasında önemli bir farklılığın olmadığını ileri sürmüşlerdir (62). ADE inhibitörleri daha önce bronşiyal hiperreaktivitesi olmayan kişilerde de inatçı kuru öksürüğe neden olmaktadır (33). Bu olasılıkla bradikinin gibi bazı maddelerin metabolizmasının önlenmesi sonucu bronşiyal mukozadaki inflamasyonda bir artmaya bağlanmaktadır. ADE inhibitörleri ile oluşan kuru öksürüğün kadınlarda erkeklere göre daha sık olduğu ve akciğerde perinöral Substans P (SP) ya da bradikinin konsantrasyonlarında bir lokal artma sonucu olabileceği de ileri sürülmektedir (37). Subissi ve ark. (1990) ise ADE inhibitörlerinin kobayda SP ile oluşan bronkokonstriksiyonu güçlendirdiklerini ve bunun ADE inhibitörleri ile tedavi edilen hastalarda gözlenen öksürük ve bronşiyal hiperreaktiviteden sorumlu olabileceğini bildirmişlerdir (63). Hekimlerin, ADE inhibitörleri ile tedaviye başlandıktan sonra gözlenen öksürüğün nedeni olarak bu ilaçlardan kuşkulanmaları gerektiği vurgulanmaktadır (55).

ADE inhibitörleri ile sık olarak gözlenen yan etkilerden biri olan ishal'in mekanizması henüz aydınlatılamamıştır.

Bilateral böbrek darlığı olan hastalarda ADE inhibisyonu sonucu böbrek yetmezliği gelişebilmektedir. Tek böbrekli ve bu organın arterinde darlık gelişmiş hastalar için de benzer bir durum söz konusudur (21,43).

Seyrek görülen ancak major iki yan etki proteinüri ve nötropeni'dir. Proteinüri (günde 1 g'dan çok) özellikle böbrek parankim hastalığı olanlarda görülmektedir. Nötropeni seyrek olarak görülürse de kollajen-damar ya da böbrek parankim hastalığı ile komplike olmuş hipertansiyonlularda daha sık olarak ortaya çıkmaktadır (21,22,39,72).

ADE inhibitörleri ile uzun süreli tedavi sırasında metabolik yan etkilere rastlanmamaktadır. Bu ilaçlar karbonhidrat metabolizmasını etkilemediği gibi ürik asid, lipoproteinler ve kolesterol'un plazma konsantrasyonlarını da değistirmemektedir. Ancak renin salgılanmasında göze çarpan kompensatuvar bir artma görülmektedir (39,42).

ENKEFALINAZ İNHİBİTÖRLERİ

Enkefalinaz (Nötral endopeptidaz-24.11., EC 3.4.24.11) bir Zn^{2+} -metallopeptidaz'dır ve enkefalinlerin yanısıra bradikinin, anjiotensinler, kolesistokinin ve SP gibi birçok nöropeptid'in yıkımında da rol oynamaktadır (56,58). Enkefalinaz, SSS ve çeşitli periferik dokularda (renal ve intestinal mikrovillus membranlarında, akciğerde, lenf düğümleri, kıkırdak ve tükürük, adrenal, ön hipofiz ile pankreas gibi çeşitli bezlerde) bulunmaktadır (23,58).

İlk tanımlanan sentetik enkefalinaz inhibitörü tiorfan'dır [(D,L-3-merkaptο-2-benzilpropanοil)-glisin] ve enkefalinaz'ın yanısıra kısmen ADE'yi de inhibe etmektedir. Tior grubu içeren bu enkefalinaz inhibitörü dışında karboksil (SCH 39370, UK 69578 gibi), fosforil ve hidroksamat (ilk tanımlanan doğal enkefalinaz inhibitörü fosforamidon, HACBO-Gli ve kelatorfan'ın SS-izomeri RB45 gibi) grubu içeren inhibitörler geliştirilmiştir. Tiorfan'ın bir ön-ilacı olan asetorfan'da olduğu gibi lipofilik grupların eklenmesiyle biyoyararlamında bir düzelme sağlanabilmektedir (56). Asetorfan lipofilik molekülünden dolayı kolaylıkla beyne girerek tiorfan'a dönüşebilmektedir (58).

Tiorfan ve diğer enkefalinaz inhibitörleri, eksojen enkefalinlerin antinosiseptif aktivitelerini potansiyalize etmelerinin yanısıra, çeşitli zararlı uyarılara yanıtları da azaltmaktadırlar. Ancak bu etkiler eksojen opioidlerin etkilerinden daha zayıftır. Analjezinin yanısıra enkefalinaz inhibitörleri genelde opioid reseptör antagonistleri ile önlenebilen çeşitli opioid-benzeri etkilere neden olmaktadır. Örneğin kedilerde intraserebroventriküler (i.c.v) tiorfan ya da parenteral uygulanan asetorfan, hint yağı ile oluşan diyareyi inhibe etmektedirler (59).

Çeşitli opioid-benzeri etkilerinin aksine, enkefalinaz inhibitörlerinin belirgin kardiyovasküler ve respiratuvar etkiler oluşturmadığı ve bunlarla kronik olarak tedavi edilen rodentlerde (kemiricilerde) nalokson uygulananının opioid kesilme sendromuna neden olmadığı ileri sürülmüştür (58).

Enkefalinaz inhibitörlerinin sıçanda eksojen uygulanan atriyal natriüretik peptid'in (ANP) yarı ömrünü artırmaları, böbrekteki etkilerini uzatmaları ve güçlendirmeleri, ANP'nin yıkımında enkefalinaz'ın rolünü göstermektedir (56). Enkefalinaz inhibitörleri, bazı dokularda (in vitro) eksojen ANP'yi hidrolizden kısmen korumasının yanısıra plazma ve daha belirgin olarak böbrekte (in vivo) eksojen ANP'nin yarı ömrünü artırmaktadır. Ayrıca enkefalinaz inhibitörleri konjestif kalp yetmezlikli hastalarda olduğu gibi, endojen ANP'nin dolaşımdaki düzeyini 2-3 kat artırmaktadırlar. Enkefalinaz inhibitörleri diürez, natriürez ve siklik GMP itrahında artma gibi ANP-benzeri yanıtlar oluşturdıklarından konjestif kalp yetmezliği, esansiyel hipertansiyon ve çeşitli sodyum tutulum durumlarında (nefrotik sendrom ve siroza bağlı asid'de olduğu gibi) kullanılacakları ileri sürülmüştür (59). Enkefalinaz inhibitörleri insanda şimdiye dek kullanılan diüretiklerde gözlenen renin ve aldosteron düzeylerindeki kompensatuvar yükselmeye yol açmaksızın belirgin diürez ve natriürez oluşturmaktadırlar. Ancak yapılan çalışmalar kan basıncı üzerindeki etkilerinin ADE inhibitörlerinden daha düşük olduğunu göstermektedir (56). Orta derecede konjestif kalp yetmezliği olan hastalarda sağ atriyum basıncında hafif bir düşme gözlenmiştir (42).

Aoki ve ark. (1984), kobay ileumunun myenterik pleksus-longitudinal kas preparatında enkefalinaz, ADE ve aminopeptidaz enzimlerinin olasılıkla opioid reseptörlerinin yakınında bulunduğunu ve bu enzim inhibitörlerinin eksojen enkefalinlerin inhibitör potensini artırdıklarını

bildirmişlerdir (1). Kobay ileumunda enkefalinlerin potensinin dokunun defalarca yıkınmasına karşın anlamlı olarak değişmemesi, enkefalinleri yıkan peptidazların salgılanmadığı, fakat membrana bağlı olarak bulduklarını göstermiştir.

Bir enkefalinaz inhibitörü olan asetorfan'ının da insanlarda atropin ile kolinerjik eksitator yolağın blokajına karşın rektal motiliteyi aktive ettiği ve bu etkiyi enkefalinaz'ın inhibisyonu sonucu endojen opioidlerin hidrolizini önleyerek gerçekleştirdiği bildirilmiştir (26). Ancak nalokson'un bu etkiyi önleyememesi, bunun enkefalinaz'ın diğer nöropeptidlerin (kolesistokinin, nörotensin, anjiotensin, oksitosin ve SP gibi) yıkımında da rol oynamasına bağlı olabileceğini düşündürmüştür. Bununla ilişkili olarak SP yıkımında da rol oynayan enkefalinaz enziminin inhibe edilmesinin çeşitli dokularda (insan bronşları, ferret trakeası, rat ve ferret ileumu ile rat jejenumu gibi) eksojen SP'nin etkisini artırabileceğini göstermiştir (15,16,29,32).

GABA ve FONKSİYONEL ÖNEMİ

Gama-aminobutirik asid'in (GABA) santral sinir sisteminde ve memelilerin çeşitli periferik dokularında transmitter ve/veya modülatör rolü bulunmaktadır (50). Ancak birçok periferik dokuda spesifik GABA'erjik yanıtlar gösterilmiş olmasına karşın beyin dışındaki GABA'erjik mekanizmaların fonksiyonel önemi tam olarak aydınlatılmamıştır (17).

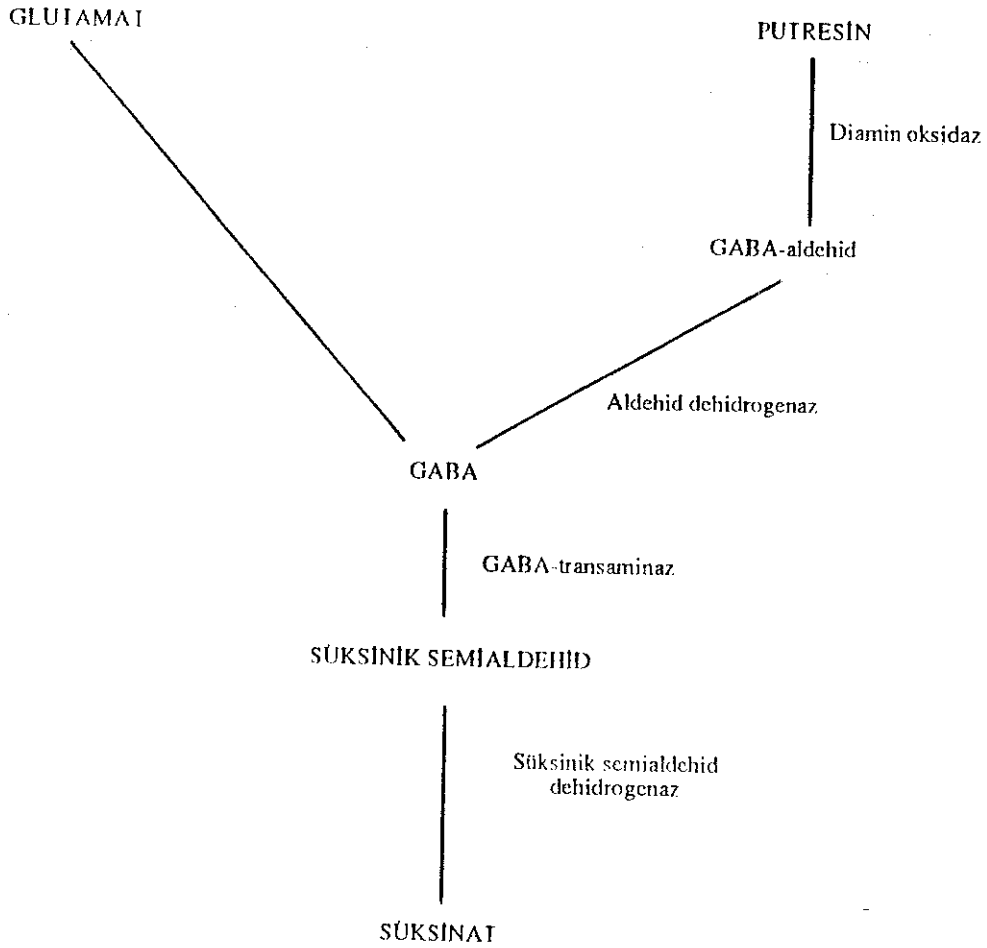
GABA, çeşitli memelilerin yaklaşık 30 farklı periferik dokusunda tanımlanmıştır. İncelenen pek çok dokuda GABA konsantrasyonu beyindeki düzeyin oldukça altında (yaklaşık %1'den az) bulunmasına karşın over, fallop tüpleri, pankreas adacıkları ve barsağın myenterik pleksusu gibi diğer bazı dokularda yüksek düzeyde GABA konsantrasyonu saptanmıştır (17).

Beyinde GABA'nın başlıca biyosentez yolağı glutamat dekarboksilaz (GAD) enzimi aracılığı ile gerçekleşmektedir. Oysa periferdeki bazı dokularda GAD'a rastlanmamıştır. Böylece GABA'nın lokal oluşumunda glutamat dışındaki başka endojen maddelerin işe karışması söz konusu olabilir. Bazı araştırmacılar in vivo olarak putresin'den GABA oluşabileceğini bildirmişlerdir (17) (Şekil 6). In vivo sıçan fallop tüplerinde glutamat ve putresin'den yaklaşık aynı miktarda GABA sentezlenebileceği gösterilmiştir. Ayrıca putresin yolağı beyin dokusunda da tanımlanmıştır.

Beyindeki GABA'nın yıkımından başlıca sorumlu olan GABA-transaminaz (GABA-T) enziminin aktivitesi de çeşitli periferik dokularda gösterilmiştir (73). GABA, bu enzim aracılığıyla süksinik semialdehid'e yıkılmakta ve trikarboksilik asid siklusuna girerek sonuçta GABA prekürsörü olan glutamik asid'e dönüşmektedir.

Beyinde GABA'nın yeniden kullanımı ve inaktiveasyonundan sorumlu olduğu düşünülen yüksek affiniteli re-uptake sistemleri bulunmaktadır. Çeşitli periferik dokularda da buna benzer aktif GABA uptake mekanizmalarının varlığı ileri sürülmüştür (17). Barsağın myenterik pleksusu,

mesane, hepatositler, adrenallerdeki kromafin hücreleri ve trombositler aktif GABA uptake sistemleri içermektedirler. Myenterik pleksus, mesane ve adrenal bezinde daha çok kalsiyuma bağımlı nöronal salınım mekanizmalarına benzer bir GABA salınım olayı gösterilmiştir (17).



Şekil 6: Periferik dokularda GABA'nın metabolik yolları

Bowery ve ark. (1981) GABA reseptörlerini $GABA_A$ ve $GABA_B$ olmak üzere iki alttipe ayırmışlardır (8). Bu sınıflandırma hem santral sinir sistemi hem de otonomik ve enterik sinir sistemi için geçerlidir. $GABA_A$ reseptörleri postsinaptik yerleşim gösterirler, nöronların sitoplazma membranındaki klorür kanalları ile kenetlenmişlerdir, musimol ile selektif olarak aktive ve bikukulin ile bloke edilirler. $GABA_B$ reseptörleri GABAerjik sinir uçları ile diğer sinir uçlarında bulunan presinaptik reseptörlerdir ve bu reseptörler nöromediyatör salıverilmesini inhibe ederler. Bu reseptörler baklofen ile selektif olarak aktive edilirler, bikukulin'e yanıt vermezler ve faklofen ile bloke edilirler (Tablo 2). Elektrofizyolojik ve farmakolojik deneyler $GABA$ reseptörlerinin periferik dokularda sempatik, parasempatik ve otonomik gangliyonların üzerinde lokalize olduğunu (nöronal hücre gövdeleri, aksonlar ve dendritler) göstermektedir (38).

Tablo 2: GABA reseptör alttipleri

Reseptör	Agonistler	Antagonistler	Modülatörler	İkincil etkiler
$GABA_A$	GABA Musimol İzoguvasin 3-APS	Bikukulin Pikrotoksinin Homotaurin SR 95531	Benzodiazepinler Barbitüratlar Bisiklofosfatlar	Yok
$GABA_B$	GABA Baklofen 3-APFA	Faklofen DAVA	Yok	Adenilat siklaz Fosfatidilinozitol turnover'i

3 APS : 3-Aminopropan sülfonik asid
3 APFA : 3-Aminopropil fosfinik asid
DAVA: Delta amino valcrik asid

Farklı memeli türlerinde barsağın çeşitli segmentlerinin kasılabilirliği lokal GABA reseptörleri ile modüle edilebilmektedir (44). GABA ve GABA_A reseptör agonistleri myenterik pleksustaki postgangliyonik kolinerjik nöronlar üzerindeki bikukulin'e duyarlı GABA_A reseptörleri aracılığıyla kasılma oluşturmaktadır. Bikukulin, pikrotoksinin ve klor kanal blokörü pretanid bu etkiyi antagonize etmektedir. GABA_A reseptör aracılı kontraksiyonların antikolinerjik ajanlardan atropin ve hyosin ile antagonize edilmesi, buna karşın antikolinesteraz bir ajan olan fizostigmin ile güçlenmesi bulgusu, GABA kontraksiyonlarında kolinerjik mekanizmaların rol oynadığının diğer bir kanıtıdır. Diğer yandan GABA_B reseptörleri, presinaptik etki ile postgangliyonik kolinerjik sinirlerin inhibisyonu sonucu gevsemeye aracılık etmektedir (23,44,45,66,68).

Kobay ileumunda GABA_A reseptör agonistlerinin (musimol ve 3-aminopropansulfonik asid) neden olduğu nörojenik (kolinerjik) kontraksiyonların bir bölümüne peptiderjik bir nörotransmitter olan SP'nin aracılık ettiği ve bu maddenin barsak düz kasında hem indirekt (kolinerjik) hem de direkt stimülatör etki ile eksitator yanıtlar oluşturduğu gösterilmiştir (66,67).

SUBSTANS P

İlk kez 1931 yılında Euler ve Gaddum tarafından barsak ve beyinden izole edilen ve bir undekapeptid olan SP'nin (Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂) santral

sinir sisteminde bir nörotransmitter olarak işlev gördüğü ve gastrointestinal kanalda bir lokal hormon olarak rol oynadığı kabul edilmektedir (54). İmmünohistokimyasal çalışmalar SP'nin beyin sapı ve omuriliğin bazı myelinsiz ufak primer duyuşal nöronlarında bulunduğunu göstermektedir. Ayrıca duyuşal nöronların uyarılması omurilikten SP salınımına neden olmaktadır. Omurilikteki nöronlara SP'nin uygulanması, ağrılı uyarılara yanıt veren nöronlarda eksitasyona yol açmaktadır. Ağrılı uyarıların myelinsiz duyuşal lifleri selektif olarak aktive ettiği bilinmektedir. SP, motor nöronları direkt olarak depolarize edebildiği gibi motor nöronlarla sinaps yapan eksitator ara nöronları aktive ederek motor nöronları indirekt olarak da etkileyebilmektedir. Bu gözlemlere dayanarak SP'nin primer duyuşal nöronların eksitator bir transmitteri olduğu kabul edilmektedir. SP'nin ağrı yolları ile ilişkili olmayan birçok bölgede bulunması ağrı duyusu dışında diğer işlevlerinin olduğunu da göstermektedir(19,40).

SP, güçlü bir vazodilatör olduğundan insanlarda ve bazı hayvan türlerinde belirgin hipotansif etki oluşturmaktadır. Bu peptid'in vazodilatör etkisi, arteriyoler düz kasa direkt inhibitör etkisinden kaynaklanmaktadır ve bu etkiye spesifik reseptörler aracılık etmektedir. Arteriyoler düz kasa etkisinin aksine SP venöz, bronşiyal ve barsak düz kasında kontraksiyona, ayrıca tükürük salgısında artma, diürez ve natriürezis'e neden olmaktadır (7,54).

SP, gastrointestinal kasların tümünde kontraksiyona yol açmaktadır. Bradikinin'den farklı olarak rat duodenumunda (bradikinin gevsemeye neden olur) ve kuşların rektal çekumunda

(bradikininin etkisizdir) kasılma oluşturmaktadır (7). SP, peristaltik hareketleri barsak sinir pleksusuna etki ile uyardığından peristaltizmi düzenlemede bir lokal hormon olarak fizyolojik rol oynadığı kabul edilmektedir. Substans P'nin düz kasın hem indirekt (kolinerjik) hem de direkt stimülasyonuna bağlı eksitator yanıtlar oluşturduğu gösterilmiştir. Ayrıca SP'nin kobay ileumunda nonkolinerjik sinaptik iletimden sorumlu transmitter olabileceği ileri sürülmüştür (66). SP aynı zamanda ürogenital kanalın düz kasını da kasmaına karşı bu etkisi sindirim sistemi kanalına olandan daha zayıftır (7). SP, gastrointestinal ve safra yollarının enterokromafin hücrelerinde 5-hidroksitriptamin ve diğer otakoidlerle birlikte bulunduğundan bu hücrelerin tümörleri tarafından salınan otakoidlerden biri olabileceği ve karsinoid sendromun bulgu ve belirtilerine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (19).

KAPSAİSİN

Kırmızı biberin acı lezzetini veren kapsaisin (8-metil-N-vanilil-6-nonenamid) primer afferent duyuşal nöronlarla ilgili çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Kapsaisin'in iyi bilinen bir özelliği bazı duyuşal nöronları uyararak yanık ağrısı duyumsamasına neden olmasıdır. Kapsaisin duyuşal nöronların bu alt popülasyonunu selektif olarak zedeleyerek buradan SP ve diğer duyuşal nöropeptidleri boşaltmaktadır. Kapsaisin olasılıkla bir membran reseptör-iyon kanalı kompleksi ile doğrudan etkileşerek katyona duyarlı iyon

kanallarını açmak suretiyle primer afferent duyuşal nöronları spesifik olarak etkilemektedir. Kapsaisin'e duyarlı nöronlar nosisepsiyon ile ilişkilidir ve inflamatuvar yanıtın nörojenik komponentinden sorumludur. Ayrıca bunların periferik hedef dokularda efferent etkileri de söz konusudur. Kapsaisin eksitatör etkilerine ek olarak bunu izleyen antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkiler oluşturmaktadır. İc organların motor kontrolünde kapsaisin'e duyarlı nöronların işe karıştığı kabul edilmektedir. Bunlar arasında solunum yollarında bronkokonstriksiyon ve mukosilyer hareketlerde artma, iris'in konstriksiyonu, mesanenin kasılması ve gastrointestinal kanalın peristaltizminde artma bulunmaktadır (5). Kapsaisin'e duyarlı sinir lifleri çeşitli türlerin genitoüriner kanalı boyunca yaygın olarak dağılmıştır. Aynı şekilde kapsaisin'e duyarlı lifler gastrointestinal kanalda da bulunur. Ancak bu durumda duyuşal nöropeptidlerin (SP gibi) doku düzeylerinin büyük bir bölümü sistemik kapsaisin desensitizasyonundan sonra intrinsik nöronların varlığından dolayı genelde değişmeden kalmaktadır. Kedi ve köpeklerin gastrointestinal kanal ve diğer çeşitli karın organlarına (safra kesesi, pankreas ve karaciğer) kapsaisin'in topikal uygulanımı veya yakın intraarteriyel injeksiyonu refleks kardiyovasküler yanıtları aktive etmektedir. Bu afferent lifler için doğal uyarılar ve sonuçta bu mekanizmaların patofizyolojik önemi pek bilinmemektedir. Yemekten sonra mide boşalması, gastrointestinal geçiş zamanı ya da defekasyonun, erişkin sıçanlara sistemik olarak kapsaisin'in bir hafta ön uygulanımı ile anlamlı olarak etkilenmediği bulunmuştur. Sıçanlarda

post-operatif ileus ve peritoneal kemonosiseptif liflerin iritasyonu ile intestinal motilitede oluşan inhibisyon, kapsaisin ön tedavisi ile önlenmektedir. Bunun kapsaisin'e duyarlı afferentlerin, intestinal motiliteyi inhibe eden bir sempatik refleksi aktive etmesine bağlı olabileceği ileri sürülmektedir (35).

izole organlarda (kobay ileumu, kolonu ve trakeası, rat mesanesi ve iris sfinkter kası) kapsaisin'e viseromotor yanıtların bir bölümünün duyuşal sınırlardan SP'nin salınımına bağlı olabileceği kabul edilmektedir. Bütün bu dokularda kapsaisin eksojen SP ile oluşana benzer bir yanıtı neden olmaktadır. Ayrıca SP reseptörlerinin desensitizasyonu ve SP antagonistleri kullanılarak endojen SP'nin ilişkisine kanıt da elde edilmiştir (35). Farmakolojik ve immunohistokimyasal bulgular kapsaisin'in barsakta SP salınımına yol açtığını ve ekstrinsik sinir uçlarında SP depolarını boşalttığını göstermektedir. Bu nedenle kapsaisin bir dizi nörojenik barsak kontraksiyonlarında SP'nin olası ilişkisini araştırmada yaygın olarak kullanılmaktadır (66).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada her iki seksten 300-400 g ağırlığında 40 adet kobay kullanıldı. Hayvanlar bir gün öncesinden ac bırakıldıktan sonra başlarına vurularak sersemletildi ve her iki karotis arterleri kesilerek kanları akıtıldı. Karınları açılan hayvanların ileoçekal birleşme yerinin 10 cm kadar yukarı bölümünden yaklaşık 20-25 cm'lik ileum segmenti çıkarılarak bileşimi aşağıda belirtilen Krebs solüsyonuna alındı (mM): NaCl 113, NaHCO₃ 25, KCl 4.7, KH₂ PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5 ve glukoz 11.5. ileumun lümeni Krebs solüsyonu ile yıkandı ve myenterik pleksus-longitudinal kas stripleri Paton ve Zar (1968) yöntemine göre hazırlandı (48). Yaklaşık 8-10 cm'lik ileum parçası alınarak 7 mm çapında cam bir boruya geçirildi ve mezenter kesilerek uzaklaştırıldı. Longitudinal kası daha kolay sıyrabilmek amacıyla Krebs solüsyonuna batırılmış bir parça pamuk ile barsağın mezenterik birleşme yerine ufak darbelerle vurularak bir pens aracılığıyla longitudinal kas, altındaki sirküler kastan ayrılarak çıkarıldı.

Yaklaşık 4 cm uzunluğunda stripler hazırlanarak 20 ml'lik organ banyosuna asıldı ve %95 O₂ -%5 CO₂ ile gazlandırıldı. Banyo ısısı 37°C'ye ayarlandı. Her bir preparat ilaç uygulanımından önce 60 dakika boyunca 0.5 g istirahat tansiyonu altında dengede bırakıldı ve bu arada her 10 dakikada bir preparat Krebs solüsyonu ile yıkandı. Striplerin aktivitesi bir izometrik transduser aracılığıyla Harvard Universal Ossilograf'a yazdırıldı. Desensitizasyonu önlemek için ilaçlar 30 dakikalık aralarla ve banyo volümünün %'ini aşmayacak şekilde uygulandı.

Denevlerde kullanılan ilaçlar

Denevlerde gama-aminobutirik asid, musimol, 3-aminopropansulfonik asid, substans P, kapsaisin, kaptopril ve tiorfan (hepsi Sigma'dan) kullanıldı. Substans P, 0.01 M asetik asid'de çözülerek 10⁻² M stok solüsyonu hazırlandı ve derin dondurucuda (-20°C'de) saklandı. Denevlerden hemen önce bu stok solüsyondan substans P'nin değişik molar konsantrasyonları hazırlandı. Kapsaisin, önce etanol'de (%99.5) çözülerek 10 mg/ml'lik stok solüsyonu elde edildi ve buzdolabında (4°C) saklandı. Yine denevlerden hemen önce kapsaisin'in bu stok solüsyonundan distile su ile değişik molar konsantrasyonları hazırlandı. Tiorfan, dilüe NaOH (0.01N) ile çözüldü ve kullanılmadan hemen önce hidroklorik asid ile nötrale edilerek değişik molar konsantrasyonları hazırlandı. Diğer tüm maddeler distile suda çözüldü ve dilüe edildi.

Sonuçlar Akdeniz Üniversitesi Bilgi İşlem Merkezinde iki ortalama arasındaki farkın anlamlılık testi (student t testi) kullanılarak değerlendirildi.

BULGULAR

izole kobay ileumunun longitudinal kasında GABA, musimol ve 3-APS ile oluşan yanıtlar ve bu yanıtlara kaptopril ve tiorfan'ın etkisi.

izole kobay ileumunun longitudinal kasında GABA, musimol ve 3-APS doza bağımlı (10^{-5} - 10^{-3} M) geçici bir kontraksiyon oluşturdu (Şekil 7). GABA, musimol ve 3-APS (10^{-5} M ve 10^{-4} M) ile oluşan kontraktıl yanıtların ortama 3 dakika önce ADE inhibitörü kaptopril (10^{-4} M ve 10^{-3} M) veya enkefalinaz inhibitörü tiorfan (10^{-4} M ve 10^{-3} M) eklenmesiyle anlamlı olarak güçlendiği saptandı (Şekil 8,9 ve 10). Kaptopril ve tiorfan'ın GABA, musimol ve 3-APS'nin kontraktıl yanıtlarını güçlendirici etkileri arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

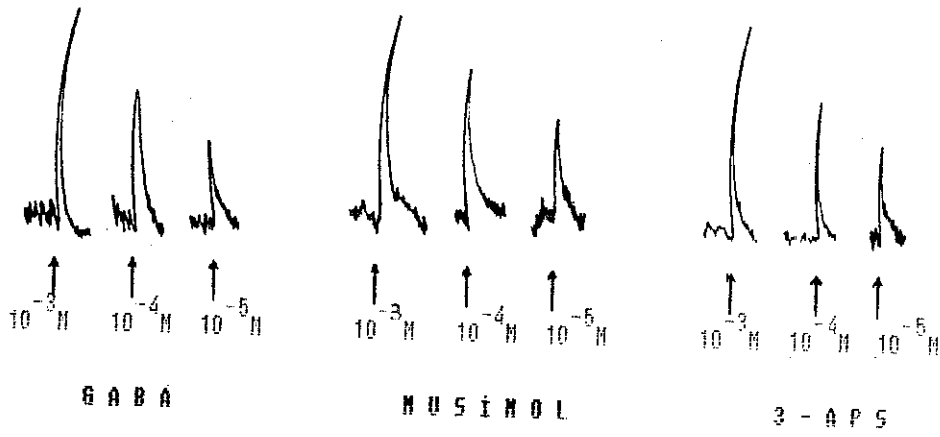
izole kobay ileumunun longitudinal kasında SP ile oluşan yanıtlar ve bu yanıtlara kaptopril ve tiorfan'ın etkisi.

izole kobay ileumunun longitudinal kasında SP doza-bağımlı (10^{-7} - 10^{-5} M) ve uzun süreli (yaklaşık 10 dakika) bir kontraktıl yanıt oluşturdu. 10^{-7} ve 10^{-6} M SP ile oluşan yanıtların, ortama 3 dakika önce kaptopril (10^{-4} M ve 10^{-3} M) veya tiorfan (10^{-4} M ve 10^{-3} M) eklenmesiyle anlamlı olarak güçlendiği saptandı (şekil 11). Kaptopril ve tiorfan'ın SP kontraksiyonlarını güçlendirici etkileri arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

izole kobay ileumunun longitudinal kasında SP desensitizasyonu ve kapsaisin'in GABA, musimol ve 3-APS ile oluşan yanıtlara etkisi.

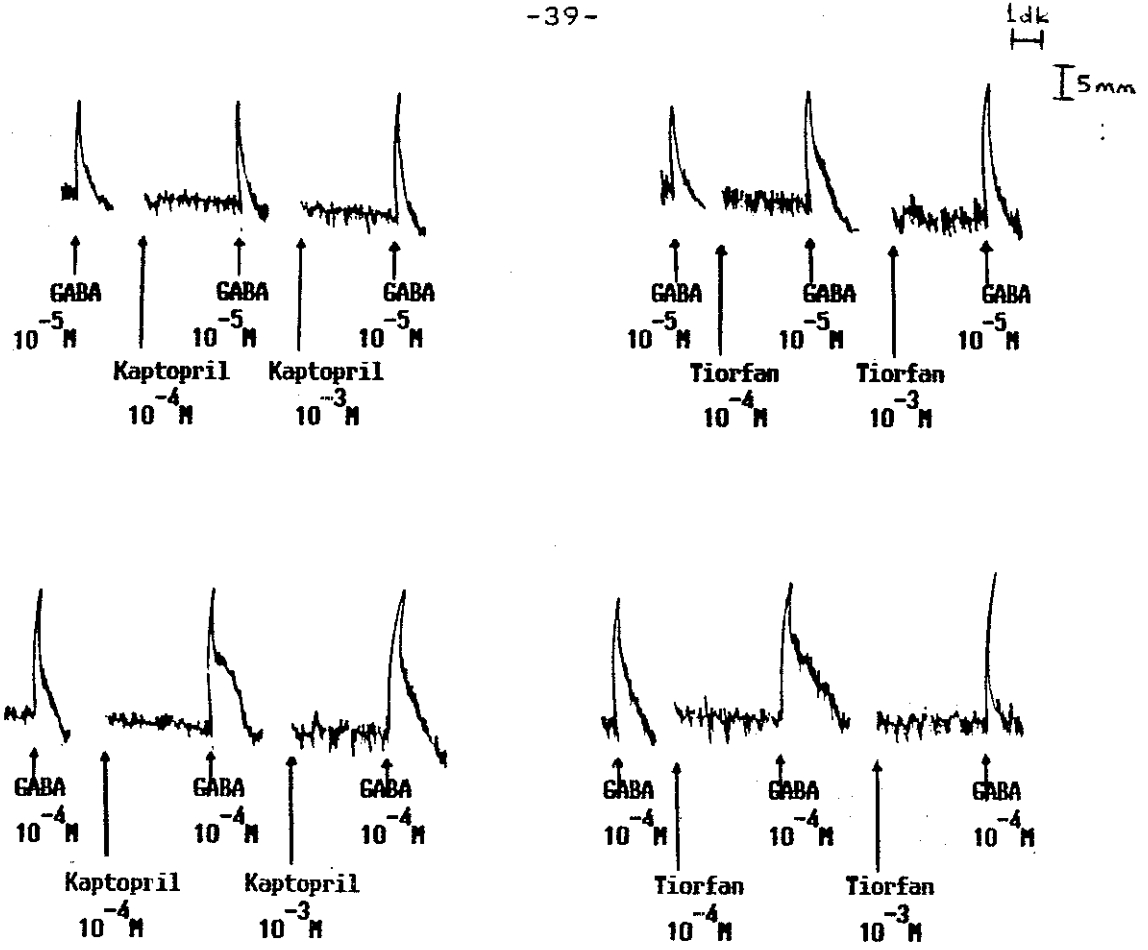
Preparatlara SP'nin desentize edici dozundan (10^{-6} M) 8-10 dakika sonra GABA, musimol ve 3-APS (10^{-5} ve 10^{-4} M) uygulanması ile oluşan kontraktıl yanıtların kontrol yanıtlara göre istatistiksel yönden anlamlı olarak azaldığı bulundu (şekil 12).

10^{-6} kapsaisin ile izole longitudinal kasda SP yanıtına benzer uzun süreli bir kontraktıl yanıt elde edildi. 10^{-6} M kapsaisin ile enkübasyondan 30 dakika sonra uygulanan GABA, musimol ve 3-APS (10^{-5} ve 10^{-4} M) ile oluşan kontraktıl yanıtların kontrole göre istatistiksel yönden anlamlı olarak azaldığı saptandı (şekil 13).

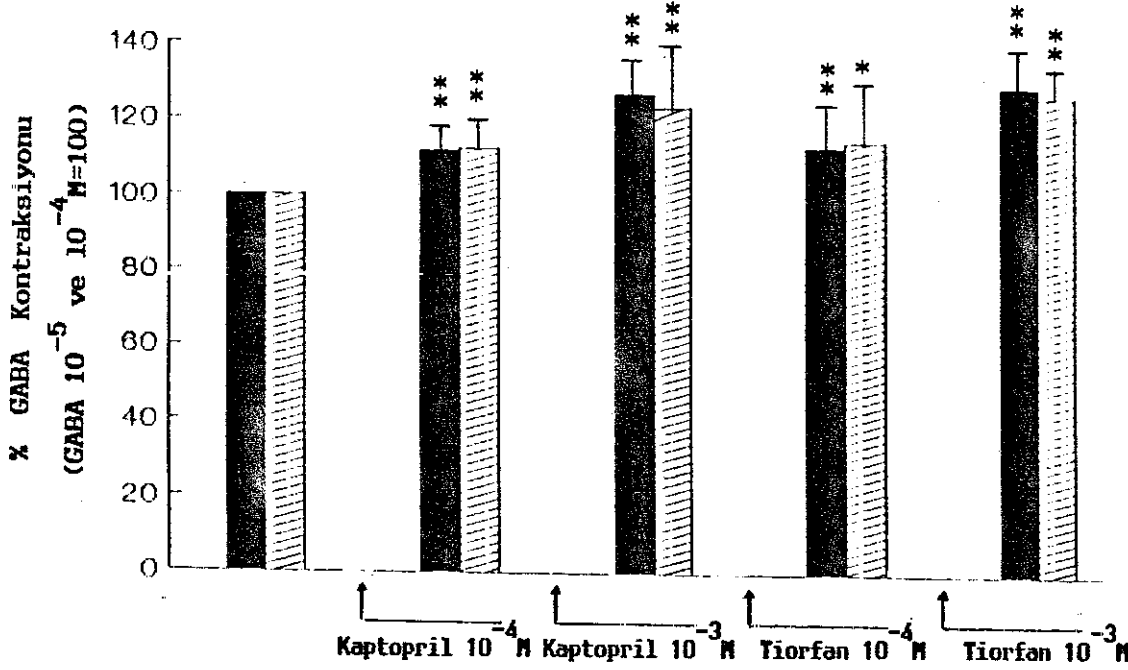


Şekil 1: İzole kobay ileumunun longitudinal kasında Gama-aminobutirik asid (GABA), Musimol ve 3-Aminopropansulfonik asid'in (3-APS) oluşturdukları doza bağımlı kontraksiyonlar.

A)

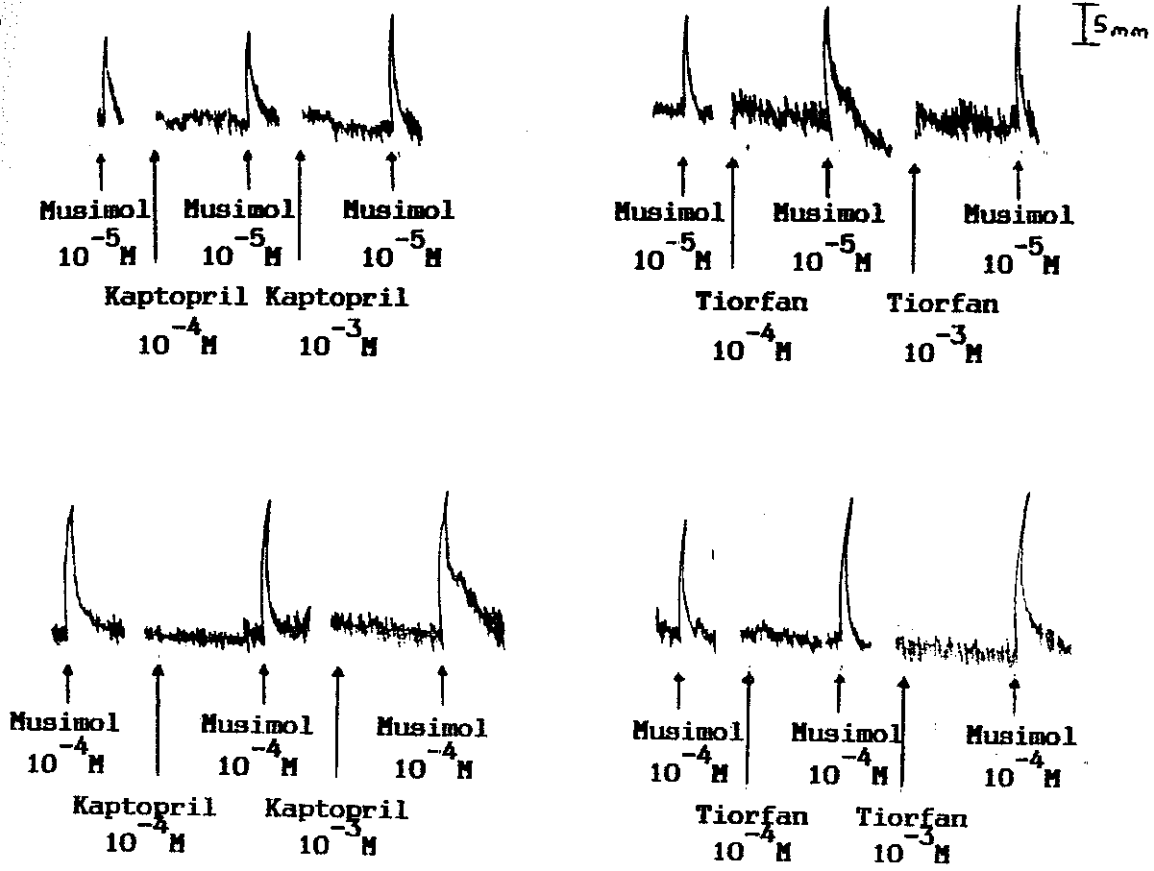


B)

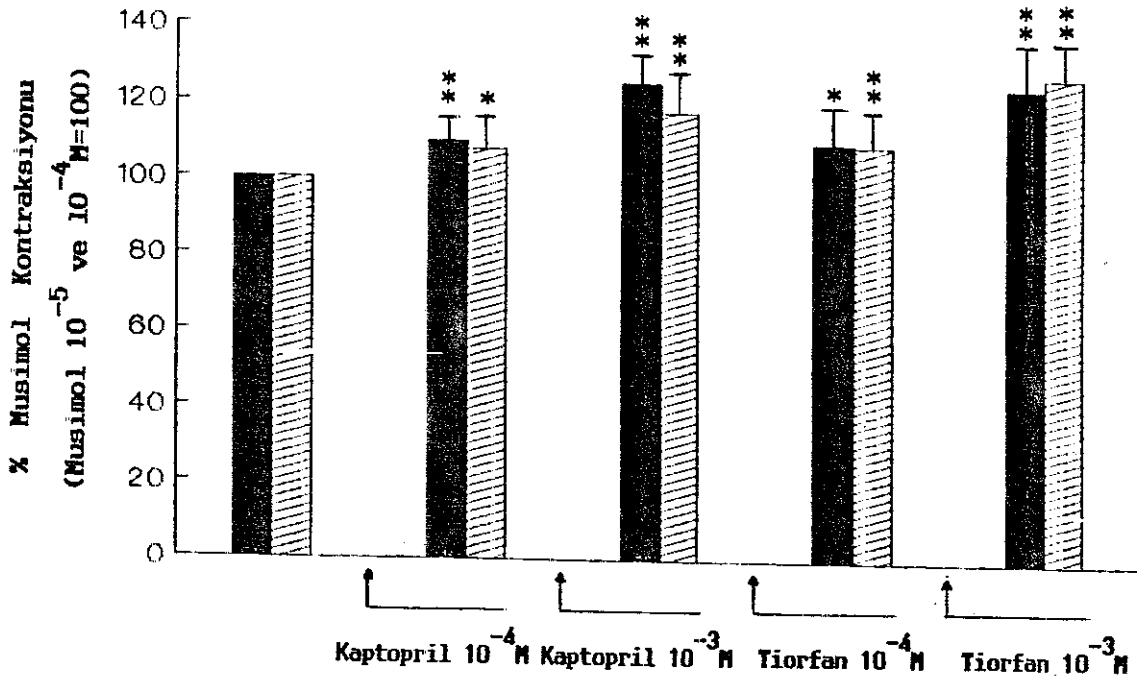


Şekil 8 : İzole kobay ilemmum longitudinal kasında ; A) 10^{-5} ve 10^{-4} M GABA'nın oluşturduğu kontraksiyonlara kaptopril (10^{-4} ve 10^{-3} M) ve tiorfan'ın (10^{-4} ve 10^{-3} M) etkisi. B) 10^{-5} M GABA (■) ve 10^{-4} M GABA'nın (▨) oluşturduğu kontraksiyonlarda kaptopril (10^{-4} ve 10^{-3} M) ve tiorfan'ın (10^{-4} ve 10^{-3} M) neden olduğu yüzde değişiklik (sonuçlar ortalama \pm standart sapmalar olarak verilmiştir, n=10.*p<0.05, ** p<0.01).

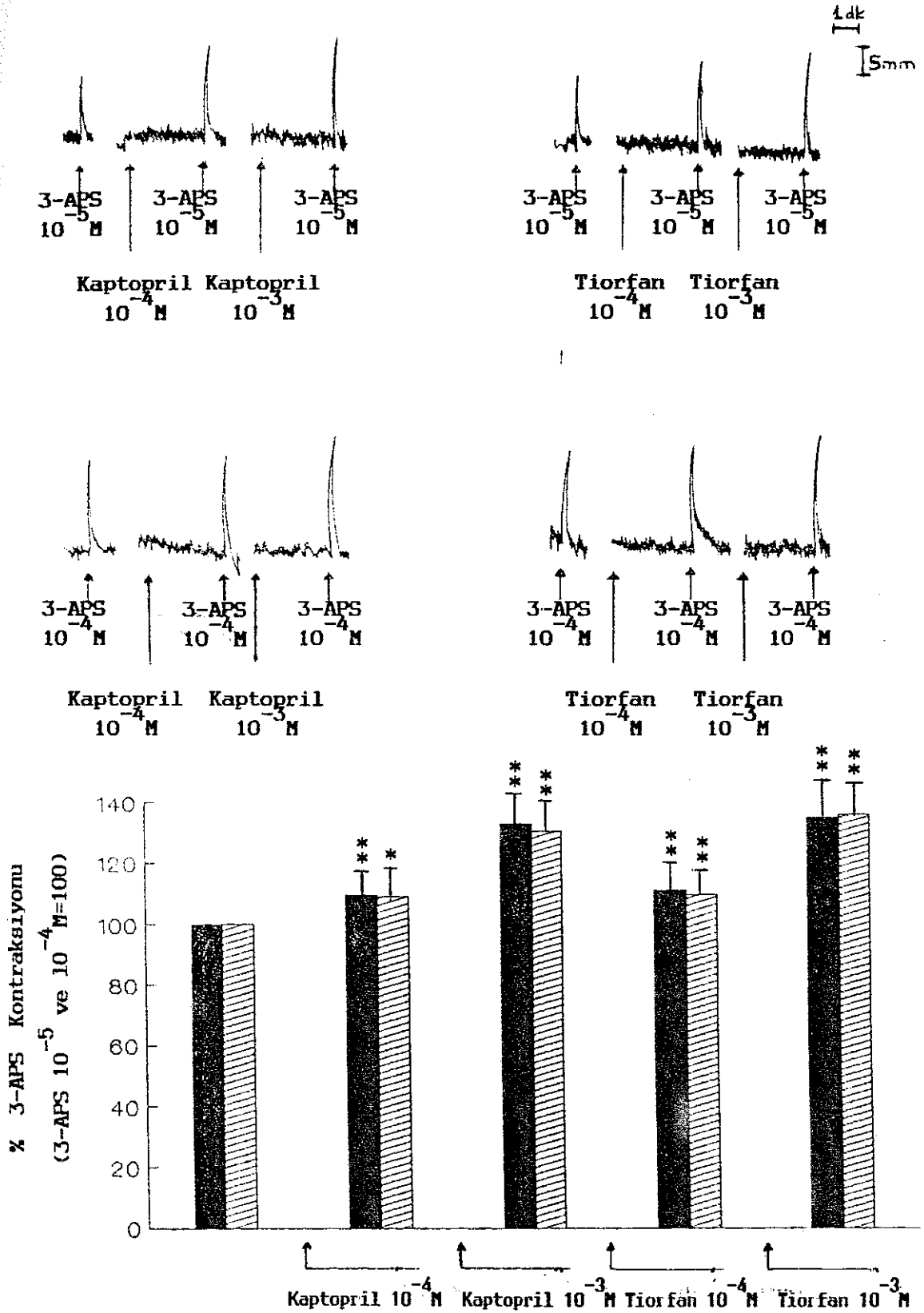
A)



B)



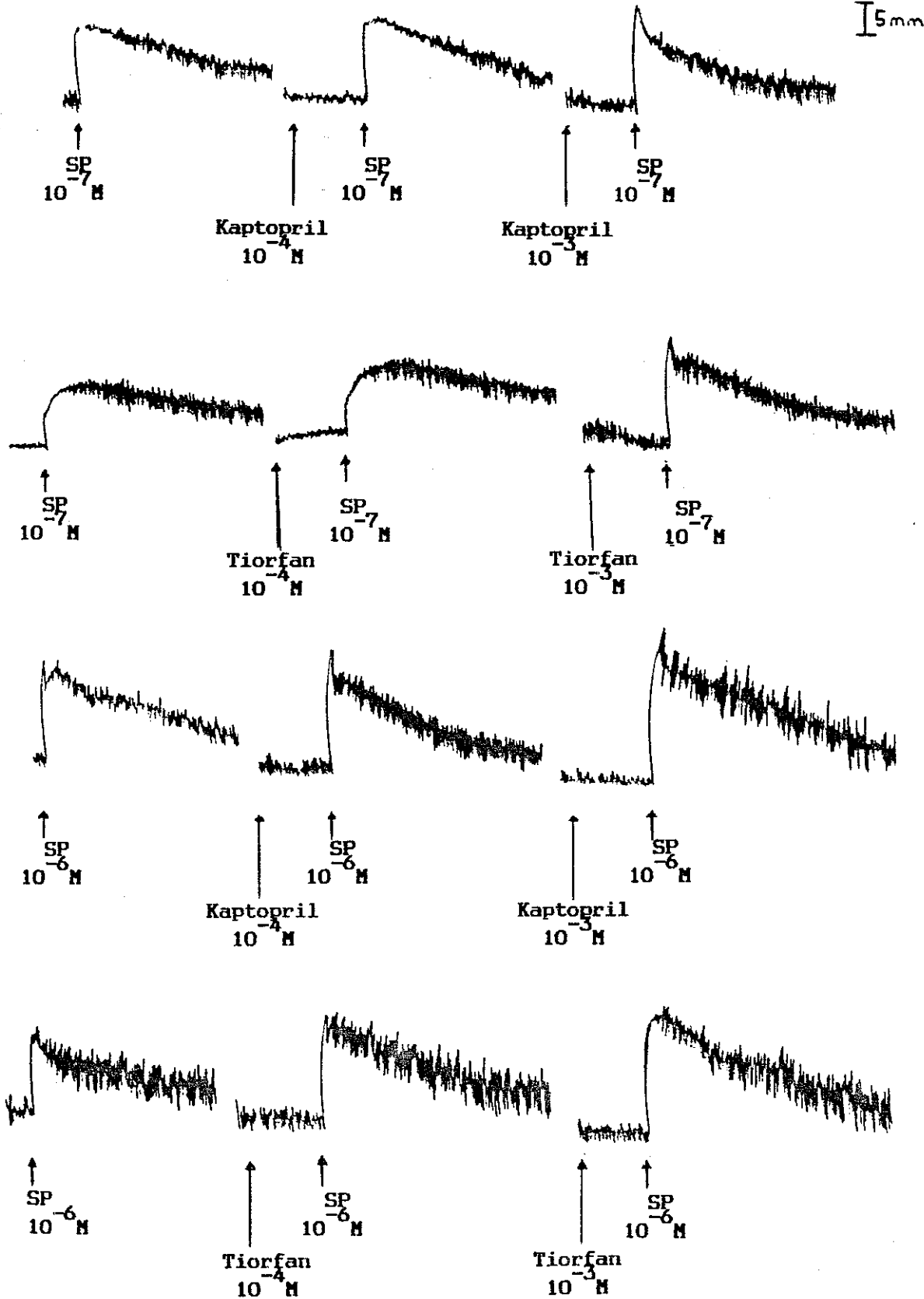
Şekil 9 : İzole kobay ileumunun longitudinal kasında ; A) 10^{-5} ve 10^{-4} M musimol'un oluşturduğu kontraksiyonlara kaptopril (10^{-4} ve 10^{-3} M) ve tiorfan'ın (10^{-4} ve 10^{-3} M) etkisi . B) 10^{-5} M musimol (■) ve 10^{-4} M musimol'un (▨) oluşturduğu kontraksiyonlarda kaptopril (10^{-4} ve 10^{-3} M) ve tiorfan'ın (10^{-4} ve 10^{-3} M) neden olduğu yüzde değişiklik (sonuçlar ortalama \pm standart sapmalar olarak verilmiştir, n=10.*p<0.05, ** p<0.01).



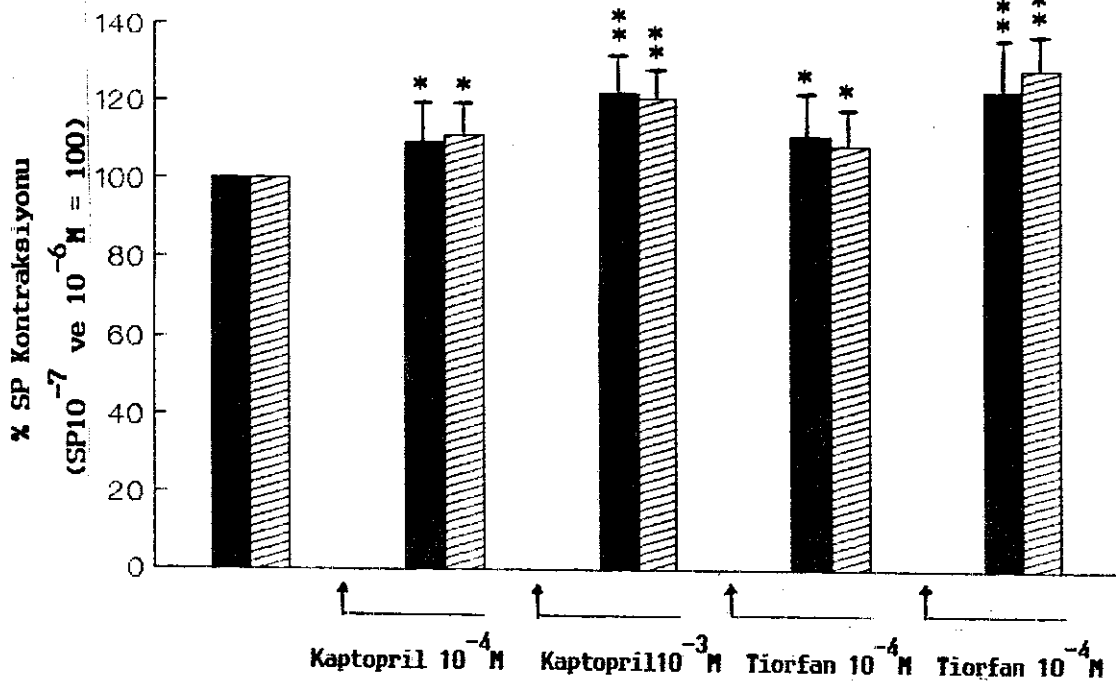
Şekil 10 : İzole kobay ileumunun longitudinal kasında ; A) 10^{-5} ve 10^{-4} M 3-APS'nin oluşturduğu kontraksiyonlara kaptopril (10^{-4} ve 10^{-3} M) ve tiorfan'ın (10^{-4} ve 10^{-3} M) etkisi . B) 10^{-4} M 3-APS (■) ve 10^{-4} M 3-APS'nin (▨) oluşturduğu kontraksiyonlarda kaptopril (10^{-4} ve 10^{-3} M) ve tiorfan'ın (10^{-4} ve 10^{-3} M) neden olduğu yüzde değişiklik (sonuçlar ortalama \pm standart sapmalar olarak verilmiştir, n=10. *p<0.05, ** p<0.01).

A)

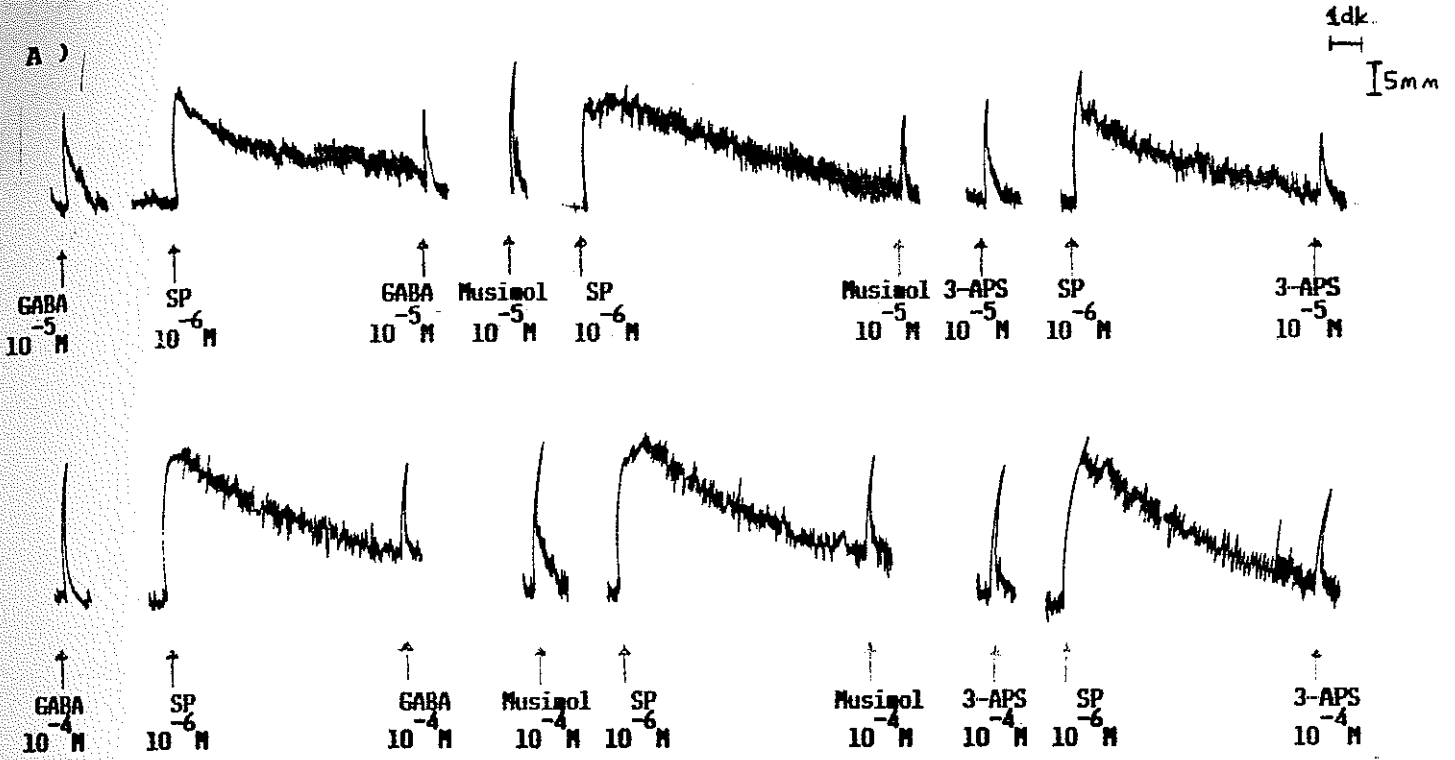
1dk
5mm



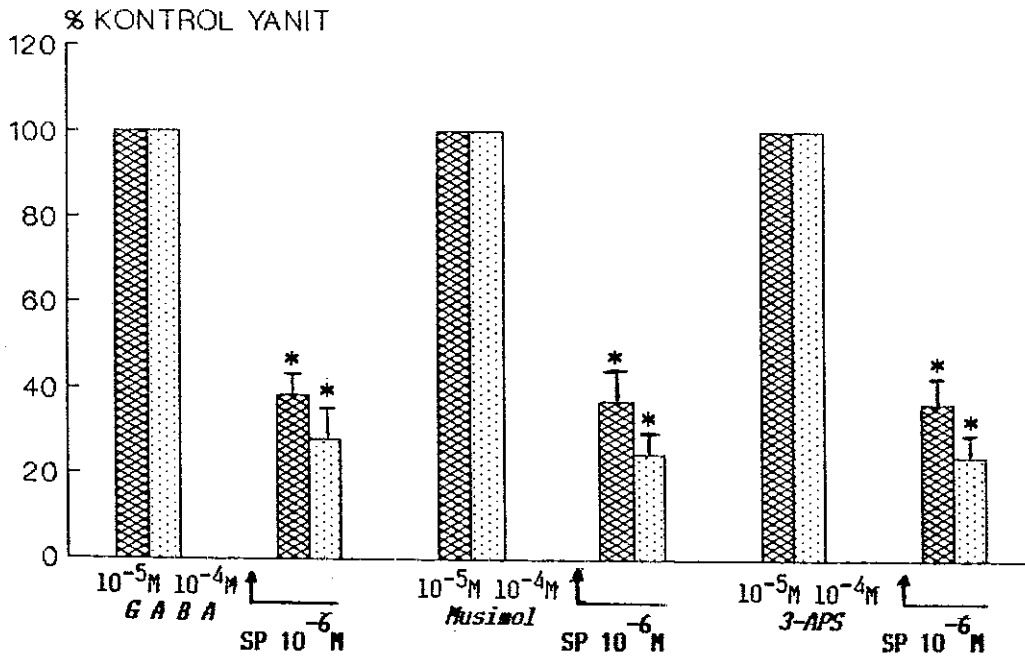
B)



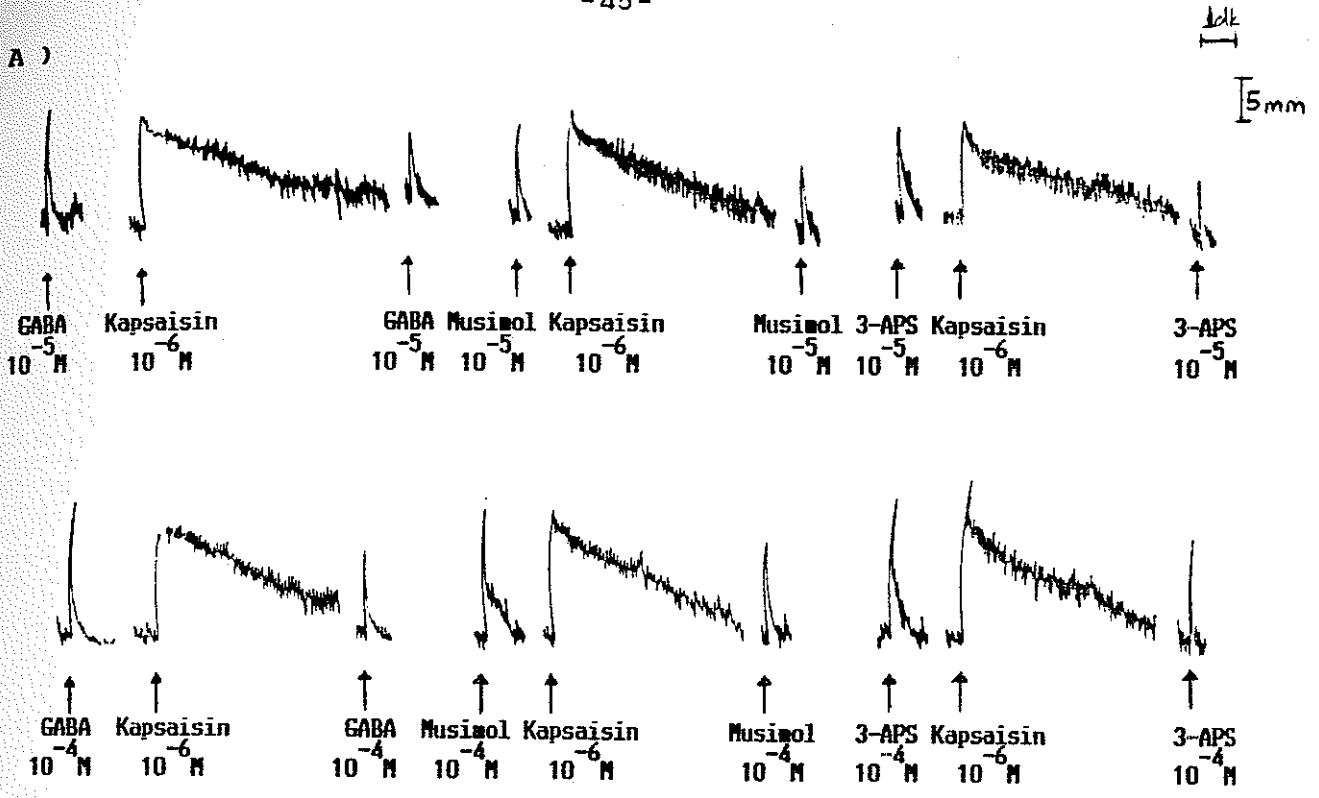
Şekil 11 : İzole kobay ileumunun longitudinal kasında ; A) 10^{-7} ve 10^{-6} M SP'nin oluşturduğu kontraksiyonlara kaptopril (10^{-4} ve 10^{-3} M) ve tienorfan'ın (10^{-4} ve 10^{-3} M) etkisi . B) 10^{-7} M SP (■) ve 10^{-6} M SP'nin (▨) oluşturduğu kontraksiyonlarda kaptopril (10^{-4} ve 10^{-3} M) ve tienorfan'ın (10^{-4} ve 10^{-3} M) neden olduğu yüzde değişiklik (sonuçlar ortalama \pm standart sapmalar olarak verilmiştir, n=10.*p<0.05, ** p<0.01).



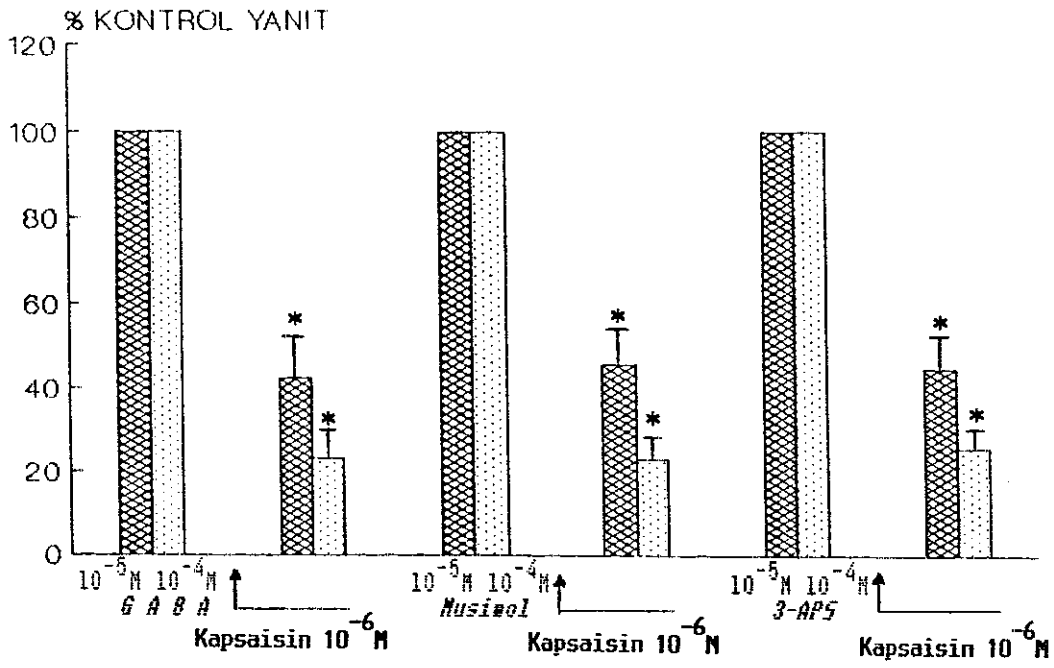
B)



Sekil 12 : İzole kobay ileumunun longitudinal kasında ; A) 10^{-5} ve 10^{-4} M GABA, musimol ve 3-APS ile oluşan kontraksiyonlara SP'nin (10^{-6} M) etkisi, B) 10^{-5} ve 10^{-4} M GABA, musimol ve 3-APS ile oluşan kontraksiyonlarda SP'nin (10^{-6} M) neden olduğu yüzde değişiklik (sonuçlar ortalama \pm standart sapmalar olarak verilmiştir, n=10. *p<0.001).



B)



Şekil 13 : İzole kobay ileumunun longitudinal kasında ; A) 10^{-5} ve 10^{-4} M GABA, musimol ve 3-APS ile oluşan kontraksiyonlara kapsaisin'in (10^{-6} M) etkisi , B) 10^{-5} ve 10^{-4} M GABA , musimol ve 3-APS ile oluşan kontraksiyonlarda kapsaisin'in (10^{-6} M) neden olduğu yüzde değişiklik (sonuçlar ortalama \pm standart sapmalar olarak verilmiştir, n=10.*p<0.001).

TARTIŞMA

GABA'nın santral sinir sisteminin yanısıra memelilerin cesitli periferik dokularında da bulunduğu ve bir transmitter ve/veya modölatör olabileceği konusunda kanıtlar bulunmaktadır (17,24,50). GABA ve metabolik enzimlerinin enterik sinir sisteminde, özellikle de myenterik pleksusda bulunması, GABA'nın enterik işlevlerin denetiminde fizyolojik rol oynayabileceğini göstermektedir (44).

Kobay ileumunda GABA'nın kendine özgü reseptörleri aracılığıyla kasılma ve gevşeme şeklinde ikili bir etki oluşturduğu bilinmektedir. Eksojen olarak uygulanan GABA'ya kobay ileumunun yanıtı gecici bir kontraksiyonu takiben geç ve uzun süreli bir gevşemedir (24,44,45,66,68). Çalışmamızda da diğer araştırmacıların bulgularına uyumlu olarak izole kobay ileumunun longitudinal kasında GABA ve GABA_A reseptör agonistleri, musimol ve 3-aminopropansulfonik asid'in (3-APS) doza-bağımlı (10^{-5} - 10^{-3} M) gecici bir kontraksiyon oluşturduğu saptandı. GABA ile oluşan kontraktıl yanıtı uzun süreli bir gevşeme izlemesine karşın GABA_A agonistleri ile bu

etki görülmedi.

Kobay ileumunda oluşan kontraksiyonlar, GABA ve agonistlerinin postgangliyonik kolinerjik eksitator nöronları, bir klor iyonoforuna kenetli ve bikukulin'e duyarlı GABA_A reseptörleri aracılığıyla etkilemelerine bağlanmaktadır. Kontraktıl yanıtların atropin, hyosin ve tetrodotoksin ile bloke edilmesi bunların nörojenik kolinerjik postgangliyonik doğada olduğunu doğrulamaktadır (24,44,45). Biz de önceki bir çalışmamızda kobay ileumunun longitudinal kasında GABA ve musimol'ün doza bağımlı kontraksiyonlarının (10^{-5} - 10^{-3} M) bikukulin (10^{-5} M), pikrotoksin (5×10^{-5} M), atropin (10^{-5} M) ve hyosin (10^{-6} ve 5×10^{-6} M) ile tamamen antagonize edildiğini fizostigmin'in (10^{-5} M) ise bu kontraksiyonları güçlendirdiğini saptamıştık (64).

Kobay ileumunda GABA ile oluşan kolinerjik eksitator yanıtların AH-tipi myenterik nöronlarda yoğun olarak bulunan GABA_A reseptörlerinin aktivasyonuna bağlı olduğu bilinmektedir (66). Hem AH hem de S hücreleri ile sinaps yapan bu nöronların kolinerjik sinir uçları ve pregangliyonik nöronları içerdikleri ve bu nöronların bazılarının yavaş sinaptik iletimden sorumlu nonkolinerjik bir transmitter (olasılıkla SP) salınımına neden olduğu ileri sürülmüştür (41). Bu nedenle ileumda GABA_A reseptör aktivasyonu ile oluşan eksitator yanıtlara kısmen kolinerjik sinirlerin indirekt aktivasyonunun aracılık etmesi ve bu indirekt etkide SP'nin rol oynaması olası görülmektedir (66). SP'nin kobay ileumunda nonkolinerjik sinaptik iletme karışan olası bir putatif transmitter olduğu ve düz kasın hemen indirekt (kolinerjik) hem de direkt

stimülasyonu ile eksitator yanitlar olusturduđu gösterilmiştir (2).

Farmakolojik ve immünokimyasal çalışmalardan kapsaisin'in barsakta ekstrinsik sinir uçlarından SP depolarını boşalttığı ve SP salınımına neden olduğu anlaşılmaktadır (2,3,12). Kobay ileumunda kapsaisin'in uzun süreli bir kontraktıl yanıt şeklinde beliren etkisinin tamamen olmasa bile büyük ölçüde duyusal sinir uçlarından SP (ve/veya ilgili bir peptid) salınımı ve boşalımı aracılığıyla olduğu kabul edilmektedir. Salınan SP daha sonra hem kolinerjik nöronları ve hem de kısmen direkt olarak düz kası aktive etmektedir (3,12). Tonini ve ark. (1986) kobay ileumunda GABA_A agonistleri, musimol ve 3-APS ile oluşan nörojenik (kolinerjik) kontraksiyonların kapsaisin ile belirgin olarak deprese edildiğini göstermişlerdir (66). Çalışmamızda da kapsaisin'in (10^{-6} M), kobay ileumunun longitudinal kasında tek başına uzun süreli bir kontraktıl yanıt oluşturmalarının yanısıra GABA, musimol ve 3-APS (10^{-5} ve 10^{-4} M) ile oluşan kontraktıl yanıtı anlamlı olarak azalttığı bulundu. Böylece bu sonuçlar da GABA ve GABA_A agonistlerinin oluşturdıkları kolinerjik yanıtta SP'nin ilişkisini ortaya koymaktadır. Ancak kapsaisin, GABA_A reseptör aracılı yanıtarda ilişkisi olduğu varsayılan intrinsik nöronlarda SP içeriğini etkilemediğinden etkisini nöral depolardan SP boşalımından çok salınımına ikincil olarak kolinerjik sinirlerdeki SP (ya da diğer takikininlerin) reseptörlerinin desensitizasyonu aracılığıyla oluşturduğu kabul edilmektedir. Ayrıca bu varsayım, kobay ileumunda düşük doz kapsaisin uygulananının preparatın

yıkanmasıyla yeniden nörojenik kontraksiyonlar oluşturabildiğini, ancak kapsaisin'in ilk dozunun varlığında ikinci doz uygulanımının etkisiz olduğunu gösteren bulgularla da desteklenmektedir (67). GABA_A reseptör aracılı yanıtlarda SP ve/veya ilgili bir peptidin rol oynadığını gösteren diğer kanıt da GABA_A reseptör aktivasyonu ile oluşan kolinerjik yanıtların nöral SP reseptörlerine antagonistik özellikleri olan (D-Pro⁴, D-Trp^{7,9}) SP-(4-11) ile deprese edilmesidir (67).

Biz de çalışmamızda SP'nin (10^{-7} ve 10^{-6} M) kobay ileumunun longitudinal kasında uzun süreli bir kontraktıl yanıt oluşturmasının yanısıra, desentize edici bir dozundan (10^{-6} M) sonra GABA_A, musimol ve 3-APS (10^{-5} ve 10^{-4} M) uygulanmasıyla oluşan kontraktıl yanıtları anlamlı olarak azalttığını saptadık.

Tanaka ve ark. (1985) kapsaisin ve SP'nin, GABA_A reseptör aracılı yanıtları deprese etmelerinin endojen GABA salınımı sonucu GABA_A reseptörlerin desensitizasyonuna bağlı olabileceğini de ileri sürmüşlerdir (65). Ancak GABA_A reseptör agonistlerinin (bikukulin gibi) kapsaisin'in SP aracılı yanıtlarını değiştirmediğinin gösterilmesi bu mekanizmanın öneminin pek olmadığını, SP'nin (ve/veya ilgili bir peptidin) GABA_A reseptörlerinin aktivasyonuna ikincil olarak internöronal bir salınımının olabileceğini ve SP'nin myenterik pleksusun kolinerjik sinirlerini uyardığını düşündürmektedir (67).

Anjiotensin I'i anjiotensin II'ye dönüştüren ADE enzimi aynı zamanda enkefalinleri, bradikinin ve SP yıkımını da

katalize etmektedir. Diğer yandan ADE ile birçok ortak özelliği bulunan enkefalinaz enziminin de enkefalinler dahil diğer birçok nöropeptid'i hidrolize ettiği bilinmektedir. Aoki ve ark. (1984) ADE inhibitörü kaptopril ve enkefalinaz inhibitörü tiorfan'ın, kobay ileumunda eksojen uygulanan enkefalinlerin inhibitör etkilerini artırdıklarını göstermişlerdir (1). Djokic ve ark. (1989) da çalışmalarında enkefalinaz inhibitörleri lösin-tiorfan ve fosforamidon'un sıçan ve ferret ileumunda SP kontraksiyonlarını artırdıklarını, ancak ferret ileumunda enkefalinaz aktivitesinin düşük olması nedeniyle etkisinin sıçan ileumunda daha belirgin olduğunu saptamışlardır (15). Aynı çalışmada kaptopril'in etkisiz bulunması nedeniyle araştırmacılar, bu ajanın SP ile oluşan etkileri modüle edemeyeceğini ileri sürmüşlerdir.

Rani ve ark. (1991) ise kaptopril'in sıçan mide preparatında spontan motiliteyi artırdığını bildirmişler ve bununla ilgili iki mekanizma ileri sürmüşlerdir (53). Buna göre kaptopril ya salınan SP'nin yıkımını önleyip etkisini artırmakta ya da yıkıma uğramamış kininlerin birikimi aracılığıyla SP salımını artırmaktadır. Kaptopril'in ferret trakea düz kası ve kobay ileumunda bradikinin ile oluşan kontraksiyonları da potansiyalize ettiği bildirilmiştir (16,57). Barsakta kinin oluşumu ya da yıkımına neden olan enzimlerin yani kalikreinler ve ADE'nin gösterilmesiyle, kaptopril'in bradikinin etkisini güçlendirmesinde yıkıma uğramayan endojen kininlerin birikiminin rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (53).

Geary ve ark. (1982), bir enkefalinaz inhibitörü olan tiorfan'ın da ileumda bradikinin ve anjiotensin I ile oluşan kontraksiyonları artırdığını bildirmişlerdir (23). Bu etki tiorfan'ın kısmen ADE'yi de inhibe edici özelliğine bağlanmıştır. Çalışmamızda hem ADE inhibitörü kaptopril hem de enkefalinaz inhibitörü tiorfan'ın (10^{-4} ve 10^{-3} M) kobay ileumunda SP (10^{-7} ve 10^{-6} M) ile oluşan kontraksiyonları güçlendirdiği ve bu iki inhibitörün güçlendirici etkileri arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark olmadığı saptandı. Ayrıca kaptopril ve tiorfan'ın (10^{-4} ve 10^{-3} M), SP'nin yanısıra GABA, musimol ve 3-APS'nin (10^{-5} ve 10^{-4} M) kontraktıl yanıtlarını da doza bağımlı ve anlamlı olarak artırdığı bulundu. Bu bulgularımızdan ADE ve enkefalinaz enzimlerinin kobay ileumunda varlığı, bu enzimlerin SP'nin yıkımında rol oynadıkları, GABA ve GABA_A agonistleri ile SP arasındaki etkileşimde ADE ve enkefalinaz enzimlerinin de rol oynayabileceği kanısına varıldı.

SONUÇLAR

Kobay ileumunda $GABA_A$ reseptör aracılı etkide SP, ADE ve enkefalinaz enzim inhibitörlerinin rolünü araştırmak amacıyla yaptığımız bu çalışmada;

1-GABA ve $GABA_A$ agonistleri, musimol ve 3-APS'nin izole kobay ileumunun longitudinal kas-myenterik plexus preparatında doza bağımlı kontraktıl yanıtlar oluşturduğu saptandı.

2-Aynı preparatta SP ve kapsaisin'in uzun süreli bir kontraksiyona neden olduğu ve bu ajanların varlığında GABA, musimol ve 3-APS'nin kontraktıl yanıtlarının azaldığı bulundu.

3-ADE ve enkefalinaz inhibitörleri, sırasıyla kaptopril ve tiorfan'ın SP, GABA, musimol ve 3-APS'nin oluşturdukları kontraksiyonları artırdıkları gözlemlendi.

Böylece GABA ve $GABA_A$ agonistlerinin izole longitudinal kas preparatında $GABA_A$ reseptör aracılı kontraksiyonlara neden olduğu, bu kontraksiyonlarda kısmen SP'nin rolü bulunduğu, ADE ve enkefalinaz inhibitörlerinin eksojen SP'nin yanısıra GABA, musimol ve 3-APS'nin kontraktıl yanıtlarını artırdığı ve sonuçta ADE ve enkefalinaz enzimleri ile SP ve GABA arasında bir etkileşimin olabileceği sonucuna varıldı.

Ö Z E T

İzole kobay ileumunun longitudinal kasında $GABA_A$ reseptör aracılı kontraksiyonlarda SP, ADE ve enkefalinaz inhibitörlerinin etkisi araştırıldı. $GABA$ ve $GABA_A$ agonistleri, musimol ve 3-APS'nin longitudinal kasda doza bağımlı (10^{-5} - 10^{-3} M) kontraksiyonlar oluşturdukları saptandı. Oluşan bu kontraksiyonların kapsaisin (10^{-6} M) ön uygulaması ve SP (10^{-6} M) desensitizasyonu ile azaldığının gösterilmesi, bu etkide kısmen SP'nin ilişkisini ortaya koydu. ADE inhibitörü kaptopril ve enkefalinaz inhibitörü tiorfen'in (10^{-4} ve 10^{-3} M) hem SP (10^{-7} ve 10^{-6} M) hem de $GABA$ ve $GABA_A$ agonistlerinin (10^{-5} ve 10^{-4} M) kontraktıl yanıtlarını artırması bu preparatta her iki enzimin varlığını ve böylece SP yıkımının azalıp etkisinin artmasının, $GABA_A$ reseptör aracılı kontraksiyonların indirekt komponentinden sorumlu olabileceğini gösterdi.

Bu bulgulardan $GABA$ 'nın barsak işlevlerinin kontrolünde bir modölatör olabileceği ve etkisinin SP, ADE ve enkefalinaz enzim inhibitörleri ile değişebileceği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1-Aoki K., Kajiwara M., Oka T. :The role of bestatin-sensitive aminopeptidase, angiotensin converting enzyme and thiorphan-sensitive "enkephalinase" in the potency of enkephalins in the guinea-pig ileum. Japan J Pharmacol. 36:59-65, 1984.

2-Bartho L., Holzer P. :Search for a physiological role of substance P in gastrointestinal motility. Neuroscience. 16:1-8, 1985.

3-Bartho L., Vizi ES. :Neurochemical evidence for the release of acetylcholine from the guinea-pig ileum myenteric plexus by capsaicin. Eur J Pharmacol. 110:125-127, 1985.

4-Bernoussi A., Rioux F. :Effects of capsaicin desensitization on the stimulatory effect of kinins, prostaglandins, biogenic amines and various drugs in guinea-pig isolated atria. Br J Pharmacol. 96:563-572, 1989.

5-Bevan S., Szolcsanyi J. :Sensory neuron-specific actions of capsaicin: mechanisms and applications. TIPS. 11:330-333, 1990.

6-Bowery NG., Doble A., Hill DR., et al. :Bicuculline-insensitive GABA receptors on peripheral autonomic nerve terminals. Eur J Pharmacol. 71(1):53-70, 1981

7-Bowman WC., Rang MJ. :Amino acids. Textbook of pharmacology. Second edition. Blackwell Scientific Publications. 12.27-31, 1980.

8-Breckenridge AM. : Drug interactions with ACE inhibitors. J Hum Hypertens. (3 Suppl 1): 133-138, 1989.

9-Bruneval P., et al. :Angiotensin I converting enzyme in human intestine and kidney. Ultrastructural immunohistochemical localization. Histochemistry. 85:73-80, 1986.

10-Cameron HA., Higgins TJ. : Clinical experience with lisinopril. Observations on safety and tolerability. J Hum Hypertens. (3 Suppl 1) : 177-186, 1989.

11-Cascieri MA., et al. : Carboxyl-terminal tripeptidyl hydrolysis of substance P by purified rabbit lung angiotensin-converting enzyme and the potentiation of substance P activity in vivo by captopril and MK-422. Mol Pharmacol. 25:287-293, 1983.

12-Chahl LA. :Evidence that the contractile response of the guinea-pig ileum to capsaicin is due to substance P release. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol. 319:212-215, 1985.

13-Chubb IB., Hodgson AJ., White GH. : Acetylcholinesterase hydrolyzes substance P. Neuroscience. 5: 2065-2072, 1990.

14-Cushman DW., et al. : Design of potent competitive inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Carboxy-alkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids. *Biochemistry*. 16: 5484-5491, 1977.

15-Djokic ID., et al. : Neutral endopeptidase inhibitors potentiate substance P-induced contraction in gut smooth muscle. *Am J Physiol*. 256:G39-G43, 1989.

16-Dusser DJ., et al. : Neutral endopeptidase and angiotensin converting enzyme inhibitors potentiate kinin-induced contraction of ferret trachea. *J Pharmacol Exp Ther*. 244:531-536, 1988.

17-Erdö SL. : Peripheral GABAergic mechanisms. *TIPS*. 205-208, 1985.

18-Ferreira SH. : A bradykinin potentiating factor (B.P.F.) present in the venom of *Bothrops jararaca*. *Br J Pharmacol*. 24: 163-169, 1965.

19-Ganong WF. : Synaptic and junctional transmission. *Review of Medical Physiology*. Fourth Edition. Lange Medical Publications. 85-88, 1989.

20-Ganong WF. : Other endocrine organs. *Review of Medical Physiology*. Fourth Edition. Lange Medical Publications. 388-391, 1989.

21-Garrison JC. Peach MJ., : Renin and angiotensin. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. (Ed: Gilman AG. et al.). Eighth edition. Pergamon Press. 749-763, 1990.

22-Gavras H., Gavras I. : Angiotensin converting enzyme inhibitors : Properties and side effects. *Hypertension* 11

(Suppl II). II-37-II-41, 1988.

23-Geary LE., Wiley KS., Scott WL., Cohen ML. : Degradation of exogenous enkephalin in the guinea-pig ileum: relative importance of aminopeptidase, enkephalinase and angiotensin converting enzyme activity. J Pharmacol Exp Ther. 221:104-111, 1982

24-Giotti A., Luzzi S., Spagnesi S., Zilletti L. : GABA_A and GABA_B receptor-mediated effects in guinea-pig ileum. Br J Pharmacol. 78:469-478, 1983.

25-Goldstein RJ. : The treatment of moderate to severe hypertension with ACE inhibitors. J Cardiovasc Pharmacol. 15(Suppl.2) : 529-535, 1990.

26-Grimaud JC., Bouvier M., Naudy B., Salducci J. : Non-cholinergic neural excitation of the human rectum induced by acetorphan, an inhibitor of enkephalinase. Gastroenterol Clin Biol. 13: 799-803, 1989.

27-Hanson GR., Lovenberg W. : Elevation of substance P-like immunoreactivity in rat central nervous system by protease inhibitors. J Neurochem. 35: 1370-1374, 1980.

28-Hill DR., Bowery NG. : [³H] baclofen and [³H] GABA bind to bicuculline-insensitive GABA_B sites in rat brain. Nature. 290:149-152, 1981.

29-Honda I., et al. : Enkephalinase inhibitor potentiates substance P and capsaicin-induced bronchial smooth muscle contractions in humans. Am Rev Respir Dis. 143: 1416-1418, 1991.

30-Kaufmann J., et al. : Bronchial hyperreactivity and cough due to angiotensin-converting enzyme inhibitors. Chest.

95(3) : 544-548, 1989.

31-Kayaalp SO. :Peptid yapıllı otakoidler. Rasyonel Tedavi Yönünden Tibbi Farmakoloji. Dördüncü Baskı, Feryal Matbaacılık San.ve Tic. Ltd.Şti. Cilt 3:2767-2782, 1989.

32-Kohrogi H., et al. :Neutral endopeptidase inhibitors potentiate substance P and capsaicin-induced cough in awake guinea pigs. J Clin Invest. 82(6): 2063-2068, 1988.

33-Lindgren BR., Andersson RG. : Angiotensin-converting enzyme inhibitors and their influence in inflammation, bronchial reactivity and cough. A research review. Med Toxicol Advers Drug Exp. 4(5): 369-380, 1989.

34-Macdonald NJA., Reid JL. :Angiotensin converting enzyme inhibitors in hypertension. ISI Atlas of Science:Pharmacology. 14-18, 1988.

35-Maggi CA., Meli A. :The sensory-efferent function of capsaicin-sensitive sensory neurons. Gen Pharmac. 19 (1): 1-43, 1988.

36-Mc Areavey D., Robertson JJS. :Angiotensin converting enzyme inhibitors and moderate hypertension. Drugs. 40(3) : 326-345, 1990.

37-Morice AH., Brown MJ., Higenbottam T. : Cough associated with angiotensin converting enzyme inhibition. J Cardiovasc Pharmacol. (13 Suppl 3): S 59-62, 1989.

38-Morris ME., Di Constanzo GA., Werman R. : Depolarizing action of GABA (gamma-aminobutyric acid) on myelinated fibers of peripheral nerves. Brain Res. 278:117-126, 1983.

39-Nicholls MG. : Side effects and metabolic effects of converting enzyme inhibitors. Clin Exp Theo Prac. A9 (2-3) : 653-664, 1987.

40-Nicoll RA. :Introduction to the Pharmacology of CNS drugs. Basic and Clinical Pharmacology. (Ed.:Katzung BG.) Fourth edition. Lange Medical Publications. 263-264, 1989.

41-North RA. :Electrophysiology of the enteric nervous system. Neuroscience. 7:315-320, 1982.

42-Northridge DB., Alabaster CT., Connell JMC :Effects of UK 69578: A novel atriopeptidase inhibitor. Lancet ii: 591-593, 1989.

43-Omaea T., et al. :Side effects and metabolic effects of converting enzym inhibitors. Clin Exper Theo Prac. A9:635-42, 1987.

44-Ong J., Kerr DIB. :GABA_A and GABA_B - receptor-mediated modification of intestinal motility. Eur J Pharmacol. 86:9-17, 1983.

45-Ong J., Kerr DIB. :Comparison of GABA-induced responses in various segments of the guinea-pig intestine. Eur J Pharmacol. 134:349-53, 1987.

46-Opie LH., Chatterjee K., Wilson PAP., Sonnenblick E.:Angiotensin converting enzyme inhibitors and conventional vasodilators. Drugs for the heart. Third edition (Ed.:Opie LH., et al.) WB Saunders Company. 100-117, 1991.

47-Özcan N., Uzbay T. :Anjiyotensin konverting enzim inhibitörleri. Pharmacia-JTPA. 30 (2):66-76, 1990.

48-Paton WDM., Zar Aboo. :The origin of acetylcholine released from guinea-pig intestine and longitudinal muscle

strips. *J Physiol.* 194:13-33, 1968.

49-Peach MJ. :Vasoactive substances:renin, angiotensin, and kinins. *Modern Pharmacology*. Third edition. (Ed: Craig CR., Stitzel RE.). Little, Brown and Company. 223-230, 1990.

50-Price GW., Bowery NG. :GABA-A and GABA-B receptor site distribution:An overview. *ISI Atlas of Science: Pharmacology*. 136-140, 1988.

51-Puig MM., Turndorf H., Warner W. :Effects of azepexole on opioid receptors and endogenous opioid release in the guinea pig ileum. *Anesthesiology*. 72:846-850, 1990.

52-Rang HP., Dale MM. :The circulation. *Pharmacology*. Second edition. Churchill Livingstone. 360-363, 1991.

53-Rani R., Rao KS. :Enhanced contractility of the rat stomach during suppression of angiotensin converting enzyme by captopril in vitro. *Br J Pharmacol*. 102:827-830, 1991.

54-Reid IA. : Polypeptides. *Basic and clinical pharmacology*. (Ed. Katzung BG.)Fourth edition. Lange Medical Publications. 217-225, 1989.

55-Roth A. : Chronic cough caused by angiotensin converting enzyme inhibitors. *Ann Allergy*. 64(1): 47-48, 1990.

56-Roques BP., Beaumont A. : Neutral endopeptidase -24.11 inhibitors : from analgesics to antihypertensives ?. *TIPS*. 11 : 245-249, 1990.

57-Rubin B., et al. :SQ 14,225 (D-3-mercapto-2-methylpropanyl-L-proline), a novel orally active inhibitor of angiotensin I-converting enzyme. *J.Pharmacol. Exp. Ther.* 204:271-280, 1978.

58-Schwartz JC., Constantin J., Lecomte JM. : Pharmacology of enkephalinase inhibitors. TIPS.472-476, 1985.

59-Schwartz JC., Gros C., Lecomte JM., Bralet J. : Enkephalinase (EC 3.4.24.11) inhibitors : protection of endogenous ANF against inactivation and potential therapeutic applications. Life Sci. 47: 1279-1297, 1990.

60-Skidgel RA., et al. : Hydrolysis of substance P and neurotensin by converting enzyme and neutral endoprotease. Peptides. 5: 769-776, 1984.

61-Stevens BR., Fernandez A., Del Rio CM. : Angiotensin converting enzyme in brush-border membranes of avian small intestine. J Exp Biol. 135:1-8, 1988.

62-Strocchi E., Valtancoli G., Ambrosioni E. : The incidence of cough during treatment with angiotensin converting enzyme inhibitors. J Hypertens Suppl. 7(6): S 308-309, 1989.

63-Subissi A., Guelfi M., Criscuoli. : Angiotensin converting enzyme inhibitors potentiate the bronchoconstriction induced by substance P in the guinea-pig. Br J Pharmacol. 100:502-506, 1990.

64-Sadan G., Aynacıoğlu S. : İzole kobay ileumunun longitudinal kasında GABA ve simetidin etkilerinin karşılaştırılması. Akd.Ü.Tıp Fak. Dergisi. Cilt VII, Sayı 3-4:25-31, 1990.

65-Tanaka C., Taniyama K. : Substance P provoked gamma-aminobutyric acid release from the myenteric plexus of the guinea-pig small intestine. J Physiol. 362: 319-329, 1985.

66-Tonini M., et al. :Inhibitory action of capsaicin on cholinergic responses induced by GABA_A agonists in the guinea-pig ileum. Eur J Pharmacol. 128:273-76, 1986.

67-Tonini M., et al. :Involvement of substance P in the excitatory action of GABA_A agonists on cholinergic neurons in the guinea-pig ileum. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol. 335:629-635, 1987.

68-Tonini M., et al. :The role of GABA_A receptor function in peristaltic activity of the guinea-pig ileum: a comparative study with bicuculline, SR 95531 and picrotoxinin. Br J Pharmacol. 97:556-562, 1989.

69-Town GI., et al. : Angiotensin converting enzyme inhibitors and cough. NZ Med J. 100(820): 161-163, 1987.

70-Van Sande ME., Scharpe SL., Neels HM., Van Camp KO. :Distribution of angiotensin converting enzyme in human tissues. Clinica Chimica Acta. 147:255-260, 1985.

71-Warner NJ., Rush JE., Keegan ME. : Tolerability of enalapril in congestive heart failure. Am J Cardiol. 63(8) : 33 D-38 D, 1989.

72-Williams GH. :Converting-enzyme inhibitors in the treatment of hypertension. New Eng J Med. 319:1517-1525, 1988.

73-Wu JY. :Problems in GABA research from brain to bacteria. Excerpta Medica, Amsterdam, Oxford, Princeton. 40-54, 1982.

74-Yang HYT., Erdos EG., Levin Y. : A dipeptidyl carboxypeptidase that converts angiotensin I and inactivates bradykinin. Biochim Biophys Acta. 214: 374-376, 1970.