

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

**İZOLE TAVŞAN MİDE FUNDUSUNDA
HİDROJEN SÜLFÜR'ÜN ENDOJEN MEDİYATÖRLERLE
ETKİLEŞİMİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Dr. ŞENİZ GÖRAL

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Z. Sevim ERCAN

ANKARA
MAYIS 2012

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

**İZOLE TAVŞAN MİDE FUNDUSUNDA
HİDROJEN SÜLFÜR'ÜN ENDOJEN MEDİYATÖRLERLE
ETKİLEŞİMİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Dr. ŞENİZ GÖRAL

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Z. Sevim ERCAN

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 01/2010-61 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
MAYIS 2012



TEZ SAVUNMA TUTANAĞI

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü FARMAKOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI Anabilim/Bilim Dalı'nda PROF.DR. SEVİM ERCAN danışmanlığında, Doktora öğrencisi ŞENİZ GÖRAL tarafından hazırlanan " TAVŞAN İZOLE MİDE FUNDUSUNDA HİDROJEN SÜLFÜRÜN ENDOJEN MEDİYATÖRLERLE ETKİLEŞİMİNİN ARAŞTIRILMASI " konulu tez savunmasını yapmak üzere 21.10.2012 tarihinde saat 10.30 da FARMAKOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI Anabilim/Bilim Dalı'nda toplanan jüri, yapılan tez savunma sınavı sonucunda Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinin 33.maddesi gereğince, tezin;

☒ Oybirliği

☐ Oyçokluğu ile,

☒ Başarılı olduğuna,

☐ Düzeltilmesine,

☐ Reddine, karar vermiştir.

Gereğini saygılarımızla arz ederiz.

Tez hakkında Düzeltme veya Red kararının gerekçeleri

BAŞKAN
PROF.DR. YUSUF SARIOĞLU

Üye
PROF.DR. SEVİM ERCAN

Üye
PROF.DR. AYDAN BABÜL

Üye
PROF.DR. ÇİMEN KARASU

Üye
PROF.DR. ŞAHİN YILDIRIM

Üye
PROF.DR. KEMAL YILDIRIM

Üye
YRD.DOÇ.DR. SEVİL ÖZGER İLHAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Şekil ve Grafik Dizini	v
Semboller, Kısaltmalar	vi
1-GİRİŞ	1
2-GENEL BİLGİLER	4
2.1. Midenin Yapısı	4
2.1.1. Midenin Fonksiyonel Komponentleri	4
2.1.2. Mide Duvar Yapısı	4
2.1.3. Midenin Fonksiyonları	5
2.1.4. Midenin İnnervasyonu	6
2.1.5. Mide Asit Salgısının Kontrolü	7
2.1.6. Gastrik Motilite	8
2.2. Gastrik Mukozal Defans ve Sitoproteksiyon	9
2.2.1. Mukus ve Bikarbonat	9
2.2.2. Yüzeyel Epitelyal Hücreler	10
2.2.3. Mukozal Mikrosirkülasyon	10
2.2.4. Gastrik Mukozanın İnnervasyonu	11
2.2.5. PGE ₂ ve PGI ₂ Üretimi	11
2.2.6. Mide Asidi	12
2.2.7. Yüzeyel Aktif Fosfolipidler	12
2.2.8. Nitrik Oksit	12

2.3. Hidrojen Sülfür	13
2.3.1. Hidrojen Sülfür'ün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	14
2.3.2. Hidrojen Sülfür'ün Sentezi ve Katabolizması	15
2.3.3. Hidrojen Sülfür'ün Santral Sinir Sistemindeki Etkileri	17
2.3.4. Hidrojen Sülfür'ün Kardiyovasküler Sistemdeki Etkileri	19
2.3.5. Hidrojen Sülfür'ün Gastrointestinal Sistemdeki Etkileri	22
2.3.6. Hidrojen Sülfür'ün Diğer Sistemlerdeki Etkileri	25
3.GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. İzole Tavşan Mide Fundus Preparatının Hazırlanması	28
3.2. Deney Protokolü	29
3.2.1. EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma Yanıtların Tanımlaması	30
3.2.2. EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfürün Etkisinin Araştırılması	30
3.2.3. NOS İnhibitörü L-NAME Varlığında EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfürün Etkisinin Araştırılması	30
3.2.4. Noradrenalinle Kastırılmış Dokularda Hidrojen Sülfürün Etkisinin Araştırılması	31
3.3. Deneylerde Kullanılan Solüsyon ve Maddeler	31
3.4. Bulguların Sunuluşu ve İstatistiksel Analiz	32
4.BULGULAR	33
4.1. EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma Yanıtların Tanımlaması	33
4.2. EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfürün Etkisinin Araştırılması	35
4.3. NOS İnhibitörü L-NAME Varlığında EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfürün Etkisinin Araştırılması	38
4.4. Noradrenalinle Kastırılmış Dokularda Hidrojen Sülfürün Etkisinin Araştırılması	41

5-TARTIŞMA	43
6-SONUÇ	49
7-ÖZET	51
8-SUMMARY	53
9-KAYNAKLAR	55
10- EKLER	72
11- ÖZGEÇMİŞ	74

ŞEKİL VE GRAFİK DİZİNİ

Şekil 1: H ₂ S'in endojen sentezi ve metabolizması	17
Grafik 1: : EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine ω -konotoksin GVIA (10^{-7} M), atropin (10^{-6} M) ve neostigmin (10^{-6} M)'in etkisi	33
Grafik 2: EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine L-NAME (10^{-4} M)'in etkisi	34
Grafik 3: EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine NaHS (10^{-7} – 3×10^{-3} M)'in etkisi	35
Grafik 4: EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine L-sistein (10^{-5} - 3×10^{-3} M) 'in etkisi	36
Grafik 5: EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine PAG (10^{-5} - 3×10^{-3} M) 'in etkisi	37
Grafik 6: EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine NaHS (10^{-7} – 3×10^{-3} M)'in etkisi	38
Grafik 7: EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine L-sistein (10^{-5} - 3×10^{-3} M) 'in etkisi	39
Grafik 8: EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine PAG (10^{-5} - 3×10^{-3} M) 'in etkisi	40
Grafik 9: Noradrenalin ile kastırılmış dokularda NaHS (10^{-7} - 3×10^{-3} M)'in gevşetici etkisi	41
Grafik 10: Noradrenalin ile kastırılmış dokularda L-sistein (10^{-5} - 3×10^{-3} M) 'in gevşetici etkisi	42

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

ACh	Asetil kolin
ATP	Adenozin-3-fosfat
Ca ⁺²	Kalsiyum
cAMP	Siklik adenosin monofosfat
cGMP	Siklik guanosin monofosfat
CAT	Sistein aminotransferaz
CBS	Sistatyonin beta sentaz
CCK	Kolesistokinin
cGMP	Siklik guanosin monofosfat
CGRP	Kalsitonin geni ilişkili peptid
Cl ⁻	Klor iyonu
CO	Karbon monoksit
COX	Siklooksijenaz
CSE	Sistatyonin gama liyaz
DMSO	Dimetilsülfoksit
dk	Dakika
EAU	Elektriksel alan uyarısı
EDHF	Endotel derived hiperpolarizan faktör
EGF	Epidermal growth faktör
g	Gram
GABA	Gama-aminobutirik asit
GIS	Gastrointestinal sistem
H ⁺	Hidrojen iyonu
HCO ₃ ⁻	Bikarbonat iyonu
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HS ⁻	Hidrojen sülfid iyonu
H ₂ S	Hidrojen sülfür

Hz	Hertz
K _{ATP}	ATP-bağımlı potasyum kanalı
K _{Ca}	Kalsiyum-bağımlı potasyum kanalı
K _V	Voltaj bağımlı potasyum kanalı
L-NAME	N ^G -nitro-L-arjinin metil ester
L-NNA	L-N ^G -nitro L-arjinin
LTC ₄	Lökotrien C ₄
LTP	Uzun dönem potansiyalizasyonu
3MST	3-merkaptopiruvat sülfürtransferaz
M	Molar
mM	Milimolar
ms	Milisaniye
NaHS	Sodyum hidrojen sülfür
NANK	Nonadrenerjik nonkolinerjik
NMDA	N-metil-D-aspartat
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
NSAİİ	Non steroid antiinflamatuvar ilaç
PAG	D,L- proprajilglisin
PG	Prostaglandin
s	Saniye
SNP	Sodyum nitro purisid
SNAP	S-nitroso-N-asetilpenisilamin
SSS	Santral sinir sistemi
TGF- α	Transforming growth faktör α
TNF- α	Tümör nekrotizan faktör α
TTX	Tetradotoksin
TXA ₂	Trombaksan A ₂
V	Volt
VIP	Vasoaktif intestinal polipeptid

1- GİRİŞ

Mide fundus, korpus ve antrum olmak üzere 3 fonksiyonel bölümden oluşur. Gastrik içerik üstte alt ösefagial sfinkterle, altta ise pilorik sfinkterle gastrointestinal sistemin (GIS) diğer bölümlerinden ayrılır ¹. Mide duvarı mukoza, submukoza, muskularis eksterna ve seroza tabakalarından oluşur ². Özofagusdan anüse kadar GIS kendi intrinsek sinir sistemine sahiptir. Submukozada submukozal pleksus (Meissner pleksusu) bulunur. Sirküler ve longitudinal düz kas tabakaları arasında myenterik pleksus (Auerbach pleksusu) bulunur. Bu intramural pleksuslar, GIS'deki diğer nöronlarla birlikte enterik sinir sistemini oluşturur. GIS'de enterik sinir sistemi sempatik ve parasempatik sinirlerden bağımsız olarak motor ve sekretuar aktiviteden sorumludur ^{2, 3, 4}.

Gastrointestinal mukoza endojen prostaglandin (PG) üretimi için oldukça aktif bir yerdir. PGE₂, PGI₂, nitrik oksit (NO) gibi mediyatörler; nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar (NSAİİ), stres, safra kaçağı gibi mukozal hasara neden olan durumlarda gastrik koruma ve adaptasyon yaparlar ^{5, 6}. İndometazin ve diğer NSAİİ'lerin gastrik hasara yol açmalarının altında yatan sebep de endojen PGI₂ sentezini inhibe etmeleri ve mukozal kan akımını azaltmalarıdır ^{5, 6, 7}.

Hidrojen sülfür (H₂S), uzun yıllardır çürük yumurta kokulu çevresel toksik bir gaz olarak biliniyordu. İlk tanımlandığı 18. yüzyıldan itibaren monoaminoksidaz inhibisyonu yapması ve beyinde nörotransmitter seviyelerini değiştirmesiyle santral sinir sisteminde (SSS) toksik bir ajan ve beyin sapında solunum merkezinde yaptığı biyokimyasal değişiklikler sonucu ölüme sebep olmasıyla tanınmaktaydı ^{8, 9, 10}. Bu toksik

etkileriyle ilgili çalışmalar sürerken birçok farklı dokuda farklı fizyolojik fonksiyonlarının da olduğu bulunmuştur ¹¹.

Aktif radikal özelliği taşımayan ancak, organizmada bulunduğu anlaşılan H₂S'in nasıl sentezlendiği, sentezinde rol oynayan enzimlerin ne şekilde dağılım gösterdiği, etkileri ve etki mekanizmaları ortaya konulmuştur. Prekrsr homosistein olan H₂S, homosistein'in serin ile reaksiyona girmesinden sonra sistationin beta sentaz (CBS) enzimi ile sistation'a dönüşmekte ve sistation'dan sistationin gama liyaz (CSE) enzimi ile L-sistein oluşmaktadır ¹². H₂S'in memeli dokularında L-sisteinden endojen olarak sentezlendiği gösterilmiştir. L-sistein'de CBS ve CSE enzimleri ile H₂S'e dönüşmektedir. Sentezde rol oynayan diğer bir enzim de 3-merkaptopiruvat slfrtransferaz (3MST)'dir ¹³.

H₂S birçok dokuda önemli miktarlarda sentezlenmektedir. Beyin, kardiyovasküler sistem, karaciğer ve böbrekte en yüksek düzeyde üretildiği tespit edilmiştir ^{14, 15}. Yapılan alışmalarda H₂S'in vasküler tonusun regülasyonu, myokardiyal kontraktileti düzenleme, nörotransmisyon ve insülin sekresyonu gibi pek çok fizyolojik fonksiyonu sağlamada rol aldığı gösterilmiştir ^{16, 17, 18}. Etki mekanizmasında adenosin-3-fosfat'a (ATP) duyarlı potasyum kanallarının (K_{ATP}) aktive edilmesi, adenilat siklaz'ın uyarılması ve serbest radikallerle etkileşimi söz konusudur ¹⁹. Vasküler sistemde H₂S'in sentezindeki esas enzim olan CSE aracılığıyla torasik aorta ve portal vende gevşeme yaptėı gösterilmiştir ²⁰. Kan basıncını düşürdüğü ^{21, 22}, vasküler oksidatif stresi ve fibrozisi azalttığı ²³, vasküler inflamasyonu ve aterosklerozun progresyonunu azalttığı gösterilmiştir ²⁴. Diyabetiklerde ve Down Sendromu'nda düzeyi yüksek bulunmuştur ^{25, 26}. Alzheimer hastalığında ve homosisteinri hastalığında ise CBS eksikliği olduğu gösterilmiştir ^{27, 28, 29}.

Sinir hücrelerinde N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör aktivitesini artırarak hipokampal uzun dönem potansiyalizasyonu (LTP) kolaylaştırdığı görülmüştür ²⁰. H₂S'in oksidatif strese karşı da sinir koruyucu olarak etki gösterdiği düşünülmektedir ³⁰.

GIS üzerinde yapılan çalışmalarda H₂S sentezinde görevli olan CBS ve CSE enzimlerinin ikisinin de varlığı gastrik mukozada tespit edilmiştir ^{31, 32}. H₂S'in NSAİİ'lerle oluşturulan ülserlerde koruyucu etkisi olduğu gösterilmiş ³³, ancak buna karşın H₂S sentez inhibitörü D,L-propargilglisin'in (PAG), etanol ile oluşturulan gastrik ülserden koruduğu da bildirilmiştir ³⁴. Bu konu henüz tartışmalı olup kesinlik kazanmamıştır. Yapılan birçok çalışmada H₂S'in enterik sinir sisteminde olduğu ve gastrointestinal sekretuar olaylarda regülatuar rolünün olduğu gösterilmiştir. H₂S'in tavşan ve kobayda yapılan çalışmalarda spontan veya asetilkolinin (ACh) indüklediği ileum kontraksiyonlarını inhibe ettiği bildirilmiştir ^{20, 35}. H₂S'in karaciğerde intrahepatik mikrosirkülasyonu regüle eden endojen bir mediyatör olduğu ve portal hipertansiyonun patogenezinde de önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir ^{36, 37}.

Bu çalışmada, H₂S'in tavşan mide fundusunda elektriksel alan uyarısı (EAU) aracılı kolinerjik aşırım üzerine etkisi ve NO ile etkileşiminin araştırılması için nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü N^G-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) varlığında, EAU aracılı kolinerjik aşırım üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2- GENEL BİLGİLER

2.1. Midenin Yapısı

2.1.1. Midenin Fonksiyonel Komponentleri

Midenin fundus, korpus ve antrum olmak üzere 3 fonksiyonel bölümü vardır. Gastrik içerik üstte alt ösefagial sfinkterle, altta ise pilorik sfinkterle GIS'in diğer bölümlerinden ayrılır. Antrum ve pilor anatomik olarak birbirinin devamı gibidir ve sinirsel cevapta tek bir birim gibi davranır. Fundustaki kas tabakası midenin diğer bölgelerine göre nispeten daha incedir ve kontraksiyonların gücü de zayıftır. Antrumda ise kas tabakası daha kalındır ve kontraksiyonlar daha güçlüdür. Mide ve duodenum, midenin distalinde kalınlaşmış kas tabakalarından oluşmuş bir yapı olan pilorik sfinkterle birbirinden ayrılırlar ¹.

2.1.2. Mide Duvar Yapısı

Mide duvarı şu tabakalardan oluşur:

1- Mukoza: Tüm GIS de olduğu gibi en içteki tabakadır. Bu tabaka fiziksel bir bariyer olarak rol alır ve gastrik bezler tarafından lümene salgılanan asit ve pepsinin mukozaya altı tabakalara geçmesini önler. Mukoza; epitelium, lamina propria ve muskularis mukozaya olmak üzere 3 yapıdan oluşmuştur.

2- Submukoza: Kollajen ve elastin fibrillerden oluşan gevşek konnektif dokudan oluşur. GIS'in bazı bölümlerinde submukozada glandlar bulunmaktadır. En fazla sinir gövdesi ve damarsal yapı barındıran kısımdır.

3- Muskularis eksterna: İçte sirküler tabaka ve dışta longitudinal tabaka olmak üzere 2 kısımdan oluşur. Muskularis eksterna tabakasının kasılmasıyla lümen içeriği karıştırılarak gastrointestinal lümende ilerlemesi sağlanmış olur.

4- Seroza veya adventisya: GIS'in en dış tabakasıdır. Skuamoz mezoteliyal hücrelerden oluşan bağ dokusundan oluşmaktadır ².

38

2.1.3. Midenin Fonksiyonları

GIS'in ana fizyolojik fonksiyonu yiyeceklerin sindirilmesi ve besin maddelerinin absorbe edilip kan dolaşımına verilmesidir. Bu görevleri yerine getirebilmesi için gereken şu fonksiyonlara sahiptir:

1- Motilite: Gastrointestinal içeriğin karıştırılması ve sistemde ilerleyebilmesi için gerekli hareketlerdir. Normalde fizyolojik koşullarda gastrointestinal içerik ağızdan anüse kadar ileriye doğru pulsatif hareketlerle taşınır.

2- Sekresyon: GIS'e su ve birçok maddenin salgılanması.

3- Sindirim: Yiyeceklerin ve büyük kimyasal moleküllerin GIS'den emilebilecek şekilde küçük moleküllere dönüşmesiyle sağlanabilir.

4- Absorbsiyon: Besin maddelerinin GIS'den emilip kana geçmesini sağlar ².

2.1.4. Midenin İnnervasyonu

1- İntrensek innervasyon: GIS özofagusdan anüse kadar kendi intrensek sinir sistemine sahiptir. Submukozada submukozal pleksus (Meissner pleksusu) bulunur. Sirküler ve longitudinal düz kas tabakaları arasında myenterik pleksus (Auerbach pleksusu) bulunur. Bu pleksuslar, GIS'de diğer nöronlarla birlikte enterik sinir sistemini oluşturur. GIS'de enterik sinir sistemi sempatik ve parasempatik sinirlerden bağımsız olarak motor ve sekretuar aktiviteden sorumludur ^{2, 3, 4}.

2- Ekstresek innervasyon: Otonomik innervasyon çölyak pleksus yoluyla sempatik sistemle ve vagus sinir yoluyla parasempatik sistem üzerinden sağlanır ¹.

2.1.5. Mide Asit Salgısının Kontrolü

1- Nöronal Kontrol: Mide çeperinde otonom sinir sisteminin enterik sinir sistemi kısmına ait intrensek Meissner ve Auerbach pleksusları birbirleriyle bağlantılıdır. Bunların gangliyon hücreleri çoğunluğu kolinerjik ve eksitatör olan vagusdan gelen pregangliyonik parasempatik liflerdir. Gelen sempatik lifler ise çoğunlukla postgangliyoniktir ve bunlar kan damarlarını, düz kasları ve bazı glandüler hücreleri innerve etmek üzere ACh sekresyonunu inhibe ettikleri pleksusda sonlanırlar. Enterik sinir sistemi sadece ACh'i değil, noradrenalini, 5 hidroksitriptamini, purinleri, NO'u ve çeşitli farmakolojik olarak aktif peptidleri de sekrete eder.

2- Hormonal Kontrol: GIS'de endokrin ve parakrin olmak üzere 2 tip hormonal kontrol vardır. Mukozadaki endokrin hücrelerce başlıca peptid yapıda olmak üzere sentez edilen hormonlar salgılanarak kan akımına karışırlar. En önemli endokrin hormon ise gastrin'dir. Mide duvarındaki özelleşmiş hücrelerden salgılanan lokal hormonlar, düzenleyici peptidler ise midenin parakrin sekresyonlarıdır. Bu hormonlar yakındaki hücrelerde aktivite gösterirler. En önemli parakrin hormon ise histamin'dir. Bazı parakrin sekresyonlar ise nörotransmitter olarak rol oynarlar ⁴. Gastrinin midede asit sekresyonunu artırmasındaki etkisi, histamin salgılanmasını artırmasına bağlanmıştır ³⁹.

2.1.6. Gastrik Motilite

Gastrik motilite 3 temel fonksiyonu sağlar

1. Depolama: Besin maddeleri mideye girdiğinde, özellikle fundusda genişleme olur ve daha rahatlıkla depolanması sağlanmış olur.

2. Karıştırma: Besinler midede özellikle korpus ve antruma geldiğinde midenin kontraktilesi artar. Mide peristaltizmi ve retropulsiyon (besin maddelerinin midede pilorik sfinkter basıncına karşı ileri-geri hareketleri) sayesinde besin maddeleri mide asidi ve enzimlerle karışarak daha küçük parçalara ayrılarak kimus denilen yarı sıvı hale gelir.

3. Boşaltma: Kimus yeterince ufak parçalara ayrıldıktan sonra pilorik sfinkter yardımıyla ince barsaklara sindirim ve absorpsiyon için uygun bir yavaşlıkta boşalır .

Mide Peristaltizminin Mekaniği: Peristaltik kontraksiyonlar yavaş dalga veya temel elektriksel ritim denen membran potansiyelindeki periyodik değişikliklerle meydana gelir. Gastrik yavaş dalgalar mide duvarındaki pacemaker hücreleri tarafından oluşturulur. Sivri ve plato fazlarından oluşur. Mide peristaltizmi gastrin ve ACh ile regüle edilir. Yavaş dalga plato potansiyelinin boyutunun yükselmesi ekstrasellüler sıvıdan kalsiyumun (Ca^{+2}) hücre içine girmesiyle meydana gelir ^{1, 40}.

Gastrik motiliteyi etkileyen hormonlardan eksitator etkili olan gastrin antral distansiyona yanıt olarak dolaşıma verilir. İnhibitör etkili olan ve enterogastronlar olarak bilinen kolesistokinin (CCK) ve sekretin hormonları gastrik kontraksiyonları inhibe ederler. CCK, proteinlerin ve yağların sindirimine cevap olarak duodenumdan salgılanır. Sekretin ise asit varlığında duodenumdan salgılanır. Düz kaslar üzerinde direkt inhibitör etkilidirler ^{1, 41}.

2.2. Gastrik Mukozal Defans ve Sitoproteksiyon

2.2.1. Mukus ve Bikarbonat

Asit ve pepsine karşı mukozal defansın ilk bariyeridir. Epitel yüzeyini yağlı bir tabaka gibi döşeyerek bakterilerin, kimyasalların, enzimlerin zararlı etkilerinden yüzey epitelini korumada önemli bir role sahiptir ⁴². Mukus, bakteriler veya immünoisitler tarafından oluşturulabilecek mukozal hasarı azalttığı için aslında bir tür antioksidandır ⁴³. Yüzeydeki epitelyum hücrelerden bikarbonat (HCO_3^-) salgılanmasıyla mikroçevrede nötral pH sağlanmış olur. Böylelikle pepsinin penetrasyonu ve yüzeyel epitelde proteolitik etkisi önlenmiş olur ³⁸. Duyusal afferent nöronlar, lamina propriada asit geri difüzyonu algıladıkları zaman epitelyal HCO_3^- sekresyonunda artış olur ⁴⁴.

2.2.2. Yüzeyel Epitelial Hücreler

Bu hücreler mukozal bariyerin diğer bir parçasıdır ve yüksek konsantrasyondaki asitlere karşı koymak üzere sürekli olarak yaşlı hücrelerin lümene atılarak yerine genç hücrelerin geçmesiyle yenilenir. İnsan mide epitelinde bu döngü 2-4 gün sürer ⁴⁵. Mukus, HCO₃⁻ ve PG'leri salgılar. Yüzeylerinde bulunan fosfolipidler sayesinde bu hücreler hidrofobiktir. Böylece asitlerden ve suda çözünen mukozaya zarar verebilecek ajanlardan korunmuş olur. Yüzeyel epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantıyla oluşturulmuş olan bariyer sayesinde asit ve pepsinin geri difüzyonu önlenmiş olur ^{46, 47}.

2.2.3. Mukozal Mikrosirkülasyon

Mukozal mikrosirkülasyon oksijen ve besin maddelerinin mukozaya taşınabilmesi, artık ve toksik maddelerin uzaklaştırılabilmesi için gereklidir. Muskularis mukozada çoğu gastrik arter kapillerlere ayrılır, bunlar ise lamina propriyaya geçer ve gastrik glandüler epitelial hücrelere ulaşır. Burada kapillerler venüllerle birleşir ⁴⁸. Bu kapillerlerdeki endotel hücreleri ise potent vazodilatörler olarak bilinen NO ve PGI₂ üretirler. NO ve PGI₂ gastrik mukozal hasara yol açabilen lökotrien C₄ (LTC₄), trombaksan A₂ (TXA₂) ve endotelin gibi vasokonstriktörlerden gastrik mukozayı korumuş olur. NO ve PGI₂ endotel hücrelerinin viabilitelerini korumasını sağlar. Trombosit ve lökositlerin vasküler endotele yapışmasını önleyerek mikrosirkülasyonun devamını sağlar ⁴⁹. Gastrik mukozaya bir iritanla karşılaşır veya asit geri difüzyonu olursa hızla barsaklarda mukozal kan akımında artış olur. H₂S de NO gibi endojen üretilen bir mukozal koruyucudur. Tümör nekrotizan faktör α (TNF- α)

ekspresyonunu, lökositlerin vasküler endotele adheransını azaltır, NSAİİ'lara bağlı gastrik mukozal yaralanmayı inhibe eder ^{31, 36}.

2.2.4. Gastrik Mukozanın İnervasyonu

Mide mukoza ve submukozal damarları birçok capsaisin sensitif duyusal lifler tarafından innerve edilir. Sinir lifleri substans P, kalsitonin geni ilişkili peptid (CGRP), nörokinin A ve vasoaktif intestinal polipeptid (VIP) gibi çeşitli peptidleri içerir. Bu liflerin özellikle asit geri difüzyonu gibi durumlarda uyarılmasıyla gastrik mukozal kan akımı artar. CGRP en potent gastrik vasodilatördür ve NO gibi mukozal koruyucu etki gösterir ^{50, 51}.

2.2.5. PGE₂ ve PGI₂ Üretimi

PG'ler siklooksijenaz 1 ve 2 (COX-1 ve COX-2) enzimleri tarafından araşidonik asitten sentezlenir. Midede predominant olarak bulunan enzim COX-1'dir. COX-2 ise sitokinler, mitojenler, endotoksinler gibi inflamatuvar uyarılarla indüklenir ⁵². Gastrointestinal mukoza endojen PG'lerin üretimi için oldukça aktif bir yerdir. Mukozal PG üretimi ve gastrik lümene salgılanması vagal ve hormonal uyarılarla olmaktadır ⁵³. Mide mukozasında PGE₂ ve PGI₂ üretimi; mukozal bütünlüğün sağlanması, ülserojenik ve nekrotizan ajanlara karşı mukozanın korunması için gereklidir. PG'ler asit sekresyonunu inhibe ederler, mukus, bikarbonat ve fosfolipid sekresyonunu uyarırlar, mukozal kan akımını artırır, epitelyal onarımı ve mukozal iyileşmeyi hızlandırırlar ^{54, 55, 56, 57}.

2.2.6. Mide Asidi

Gastrik pariyetal hücrelerden K^+/H^+ -ATPase proton pompası aracılığıyla salgılanır. Histamin, ACh ve gastrin endojen asit salgılanmasına neden olurlar ⁴. Mide asidinin primer fonksiyonu yiyeceklerle alınan bakterileri öldürmektir. Helikobakter pylori dışındaki bakterilerin mideye kolonizasyonlarını sınırlamada oldukça etkindir ⁵⁸.

2.2.7. Yüzey Aktif Fosfolipidler

Midenin lüminal yüzeyinde surfaktan benzeri moleküllerden oluşan tabakadır ve bu mukozal yüzeye hidrofobik özellik kazandırır ve luminal aside karşı direnç sağlar ^{59, 60}.

2.2.8. Nitrik Oksit

NO, NOS ile L-arjininden sentezlenir. NOS'un 3 tip izomeri vardır. Midede bulunan yapısal formlarından enterik nöronlarda bulunan formu nNOS ve endotelial formu ise eNOS'dur. İndüklenebilir formu olan iNOS ise endotoksin maruziyetinden sonra midede tespit edilebilir ^{61, 62}. GIS'de NO'nun majör inhibitör nonadrenerjik nonkolinerjik (NANK) nörotransmitter olduğu gösterilmiştir. NANK sinir stimülasyonu ile oluşan relaksasyon NO biyosentez inhibitörleri L-NAME ve L-N^G-nitro L-arjinin (L-NNA) tarafından antagonize edilir ^{63, 64}.

Mukozal korumada PG ile birlikte en önemli rolü oynar. Asit sekresyonunu inhibe eder, mukozal kan akımını artırır, mukus ve HCO_3^- sekresyonunu uyarır. Mast hücre aktivasyonu ve lökositlerin vasküler endotelyuma adheransını inhibe eder, immünomodülatör olarak rol oynar.

49

2.3. Hidrojen Sülfür

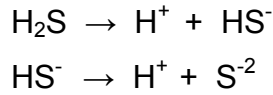
H_2S de NO gibi yıllarca çevresel toksik bir gaz olarak bilinmekteydi. NO gibi hem doku hasarı ve inflamasyonu önleyici olarak hem de bunlara neden olan ajan olarak bilinmektedir. Artık H_2S bilinen son önemli endojen mediyatör gaz olarak sayılmaktadır ³⁶.

NO ve karbon monoksit (CO) gibi H_2S de damar düz kasında gevşetici etki gösteren bir gazotransmitterdir. H_2S vasküler düz kas hücrelerinde, nöronlarda, kardiyomiyositlerde ve pankreatik β hücrelerinde K_{ATP} 'i stimüle eder. NO gibi, reaktif oksijen ve/veya nitrojen türlerinin, toksik etkilerini sınırlamalarını tersine çevirir, ama onların fizyolojik fonksiyonlarını da azaltır. NO ve CO'in aksine solubl guanilat siklazı stimüle etmez. Vasküler tonüsün, myokardiyal kontraktilitenin, nörotransmisyonun, insülin sekresyonunun regülasyonuna katılır. Yapılan birçok hayvan deneylerinde, arteriyel ve pulmoner hipertansiyonda, Alzheimer hastalığında, gastrik mukozal hasarda ve karaciğer sirozunda H_2S eksikliği gözlenmiştir. Eksojen H_2S 'in myokardiyal disfonksiyonu iyileştirdiği, antiinflamatuvar ilaçlarla oluşturulan gastrik mukozal hasarı azalttığı; ancak fazla H_2S üretiminin ise inflamatuvar hastalıkların patogenezeine, septik şoka ve Down sendromuna katkıda bulunduğu;

üretiminin azalmasıyla da bu hastalık süreçlerinin tedavisine katkıda bulunmuş olduğu gösterilmiştir ^{15, 16, 17, 18, 19, 21, 22}.

2.3.1. Hidrojen Sülfürün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

H₂S renksiz, kuvvetli çürük yumurta kokusunda çevresel toksik gazdır. Toksik dozundan 400 kat daha az konsantrasyonda insan burnu tarafından hissedilebilir. Mitokondriyal sitokrom c oksidaz enzimini kuvvetli inhibe etmesiyle toksisitesinin mekanizması açıklanabilmektedir. H₂S mitokondriyal solunumun siyanidden daha güçlü inhibitörüdür. H₂S ürünleri özellikle kağıt hamuru sanayinde, petrol rafinerilerinde, madencilikte kullanılır. H₂S'in oksidasyonu ile elemental sülfür, sülfür oksit ve sülfürik asit gibi sülfatlar oluşur. H₂S'in hidroliziyle hidrosülfid ve sülfid iyonları oluşur.



Aköz solüsyonlarda pH 7.4'de üçte biri ayrışmamış halde bulunur. Üçte ikisi hidrojen iyonu (H⁺) ve hidrojen sülfid iyonu (HS⁻) olarak ayrışmış halde bulunmaktadır. Sudan 5 kat daha fazla lipofilik çözeltilerde çözünebildiği için plazma membranlarından rahatlıkla geçer. H₂S mikromolar konsantrasyonlarda kanda bulunur ^{36, 65, 66}.

2.3.2. Hidrojen Sülfürün Sentezi ve Katabolizması

Endojen H₂S, pridoksal 5' fosfat bağımlı iki enzim olan CBS ve CSE tarafından L-sisteinden sentezlenir. Her iki enzimin de aktiviteleri karaciğer, böbrek ve beyin örneklerinde çalışılmıştır ^{67, 68}. Prekürsör homosisteinin serin ile reaksiyona girmesinden sonra CBS enzimi ile sistation'a dönüşmekte ve sistation'dan CSE enzimi ile L-sistein oluşmaktadır ¹². L-sistein'de CBS ve CSE enzimleri ile H₂S'e dönüşmektedir ^{13, 65} (Şekil 1).

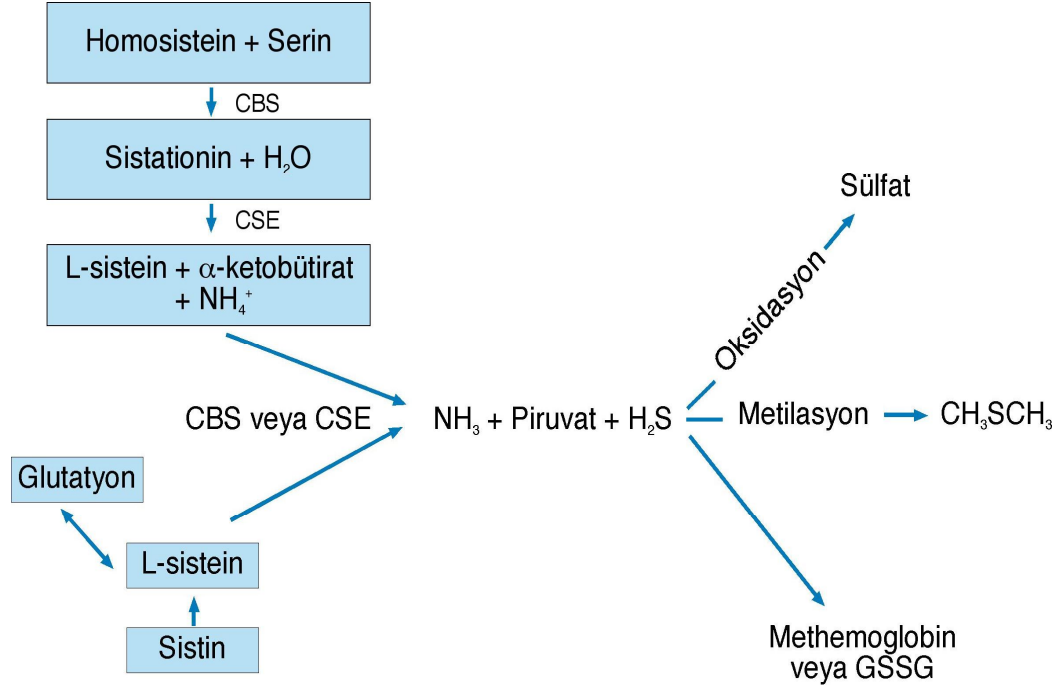
CBS; karaciğer, böbrek, beyin, ileum, uterus, plasenta ve pankreas adacıklarında gösterilmiştir. CBS beyinde, serebellar Bergman gliada ve astrositlerde saptanmıştır. CBS erken gelişim evrelerinde ventriküllerin nöroepitelial hücrelerinde lokalize iken, geç embriyonik ve neonatal periyotta radyal glial hücrelerde ve astrositlerde lokalize olmuştur. CBS'in; epidermal growth faktör (EGF), transforming growth faktör- α (TGF- α), siklik adenosin monofosfat (cAMP) ve deksametazon tarafından astrositlerde ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir ²⁹. CBS aktivatörü olan S-adenozil metionin de CBS aracılı H₂S üretimini artırır. H₂S'in yüksek konsantrasyonları sinaptik cevabı inhibe etmesine rağmen, fizyolojik konsantrasyonlarında ise tıpkı NO ve CO gibi hipokampüsde LTP'nin indüksiyonunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir ⁶⁸. Bu potansiyalizasyon için NO ve CO, NMDA reseptör aktivasyonuna gerek duymazken, H₂S'in LTP'i kolaylaştırıcı etkisinin NMDA reseptörleri bloke olduğunda ortadan kalktığı saptanmıştır ⁶⁹.

CSE aracılığıyla L-sistein veya homosisteinden H₂S sentezlenir. Normal şartlar altında H₂S'in %70'i L-sistein'den, kalanı da

homosisteinden sentezlenir. Ancak homosisteinemi gibi homosisteinin yüksek konsantrasyon durumlarında H₂S sentezinde homosisteinin tercih edilen öncül aminoasit olduğu gösterilmiştir ⁷⁰. CSE; karaciğer, böbrek, torasik aorta, ileum, portal ven, uterus, beyin, pankreas adacıkları ve plasenta'da saptanmıştır ^{20, 71, 72, 73, 74}. CSE aktivitesinin NO donörleriyle, S-nitroso-N-asetilpenisillamin (SNAP) tarafından arttırıldığı saptanmıştır ²². CSE fizyolojik olarak Ca⁺² - kalmodulin kompleksi tarafından aktive edilir, bu durum H₂S'in vasküler yanıtındaki rolü için önemli olduğunu düşündürmektedir ⁷⁵.

H₂S'in sentezinde rol alan pridoksal 5' fosfat bağımlı iki enzim olan CBS ve CSE'den başka bir enzim daha 3MST saptanmıştır. CBS enzimi yıkıma uğratılmış farelerde ve pridoksal 5' fosfat yokluğunda beyin ekstrelerinde yapılan çalışmalarda, beyinde majör H₂S sentezleyen enzim olan CBS yokluğunda bile H₂S sentezinin sürdüğü gösterilmiş ve saptanan 3MST enziminin α -ketoglutarat ve sistein aminotransferaz (CAT) varlığında L-sisteinden H₂S sentezini gerçekleştirdiği tespit edilmiştir ^{74, 76}. 3MST enzimi karaciğer, böbrek, kalp, akciğer, timus, testis, torasik aorta ve beyinde saptanmıştır ^{74, 77}.

H₂S mitokondride oksidasyon veya sitozolde metilasyonla metabolize edilmektedir ⁶⁵. Mitokondride H₂S oksidasyona uğrayıp sülfid ve tiyosülfata dönüşür. Sülfid, sülfid oksidaz enzimiyle okside olup sülfata dönüşür. Sitozolde ise metilasyona uğrayıp metanetiol ve sonra dimetil sülfid'e dönüşür. Kolonik mukoza H₂S'in hızlı bir şekilde metanetiol ve tiyosülfata metabolize olabilmesi için özelleşmiş detoksifikasyon sistemine sahiptir ^{78, 79}. Okside glutatyon gibi metallo veya disülfid içeren moleküller veya methemoglobin tarafından vücuttan temizlenir. Vücuttan atılımı serbest veya konjuge sülfat şeklinde böbreklerle olur ⁶⁵ (Şekil 1).



Şekil 1: H₂S'in endojen sentezi ve metabolizması. CBS: Sistatyonin β sentaz, CSE: Sistatyonin γ liyaz, GSSG: Oksidize glutasyon ⁶⁵.

2.3.3. Hidrojen Sülfür'ün Santral Sinir Sitemindeki Etkileri

SSS'de H₂S'in sentezindeki esas enzimin CBS olduğu gösterilmiştir ^{65, 80}. İlk kez 1996 yılında Abe ve Kimura tarafından sıçan beyin, hipokampus, beyin sapı ve serebellumunda yüksek konsantrasyonda CBS gösterilmiştir ⁶⁸. Beyinde CBS aracılı H₂S sentezinin Ca⁺² ve kalmazullin tarafından regüle edildiği tespit edilmiştir ⁸¹. Bu durumun ise Ca⁺²'in hücre içine girmesine neden olan elektriksel stimülasyon ve glutamat reseptörlerinin aktivasyonu ile artırıldığı düşünülmektedir. Beyinde H₂S sentezinin CBS inhibitörleri tarafından

inhibe edildiği ve CBS enziminin eksikliğinin görüldüğü farelerde sentezin çok belirgin oranda azaldığı tespit edilmiştir ⁸².

Beyinde CBS aracılığıyla sentezlenen endojen H₂S, SSS'de birçok fizyolojik fonksiyonunu gösterir. NMDA reseptörleri bu etkilerindeki hedeflerinden birisi olabilir. H₂S donörü olan sodyum hidrojen sülfürün (NaHS) fizyolojik konsantrasyonlarının, öğrenme ve hafızanın bir sinaptik modeli olan hipokampal LTP'yi kolaylaştırdığı görülmüştür. NaHS'in postsinaptik potansiyel üzerine etkisinin olmadığı, fakat konsantrasyon bağımlı olarak NMDA ile indüklenmiş bağlantıları artırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca H₂S'in NMDA reseptörlerinin cAMP bağımlı glutamata duyarlılığını artırdığı tespit edilmiştir ^{18, 83}. H₂S'in LTP'yi kolaylaştırıcı etkisinin NMDA reseptörleri bloke olduğunda ortadan kalktığı saptanmıştır ⁶⁹.

H₂S'in sinyal transdüksiyonundaki rolü incelendiğinde, sadece antioksidan glutatyonun düzeyini artırarak değil, ayrıca K_{ATP} ve klor (Cl⁻) kanallarını da aktive ederek sinir hücrelerini oksidatif stresden koruduğu tespit edilmiştir. Oksidatif stres SSS hastalıklarında nöronal hasara ve dejenerasyona neden olmaktadır. H₂S'in insan sinir hücre kültürlerinde, insan nörodejeneratif hastalıklarında en önemli rolü olan mediyatörlerden peroksinitriti inhibe ettiği gösterilmiştir. SSS hastalıklarında oksidatif stresin nöron hasarı ve dejenerasyondan sorumlu olduğu bilinmektedir. Bu tespitler H₂S'in oksidatif strese karşı sinir koruyucu olarak etki gösterdiğini düşündürmektedir ³⁰.

SSS hastalıklarında H₂S'in beyindeki konsantrasyonlarında değişiklik gözlemlenmiştir. Alzheimer hastalarında beyinde H₂S düzeyinin %55 oranında azaldığı ve CBS aktivitesinin de çok büyük oranda düştüğü

tespit edilmiştir ⁸⁴. Ayrıca CBS aktivitesinin homosistinüri hastalığında da azaldığı gösterilmiştir ^{27, 28, 29}. Çocuklarda sık görülen febril nöbetlerde hem gama-aminobutirik asit (GABA) B reseptörlerinin hem de H₂S/CBS sisteminin rol aldığı ve H₂S'in GABA_B reseptörlerini regüle ederek febril nöbetlerde koruyucu olduğu gösterilmiştir ⁸⁵. Ayrıca insanların 21. kromozom çiftinde fazladan bir kromozom bulunmasıyla karakterize Down Sendromlu hastaların beyinlerinde normal insanlarınkinden yaklaşık olarak 3 kat daha fazla oranda CBS düzeyi tespit edilmiştir. CBS geni 21. kromozomda lokalizedir. CBS'nin bu hastaların astrositlerinde birikip gelişimsel mental anormalliklere sebep olduğu düşünülmektedir ^{26, 86}.

2.3.4. Hidrojen Sülfür'ün Kardiyovasküler Sistemdeki Etkileri

Vasküler sistemde H₂S'in sentezindeki esas enzimin CSE olduğu bilinmektedir ^{65, 80}. CSE enzimi immünohistokimyasal çalışmalar ve ters transkripsiyon zincir reaksiyonları çalışmalarıyla, endotelial hücrelerde değil sadece vasküler düz kas hücrelerinde gösterilmiştir ²². Endojen ve eksojen H₂S'in kardiyovasküler etkileri tam anlaşılmamıştır. Hosoki ve arkadaşları H₂S'in in vitro sıçan aortik dokusunda gevşemeye neden olduğunu bulmuşlardır ^{20, 22}. Ancak H₂S'in bu etkisi in vivo tüm hayvanlarda mı görülmekte yoksa in vitro sellüler düzeyde mi görülmektedir konusu tartışmalıdır. Diğer gazotransmitterler NO ve CO'nun, damar düz kas hücrelerinde siklik guanosin monofosfat (cGMP) aktivitesini artırarak ve/veya kalsiyum-bağımlı potasyum kanallarını (K_{Ca}) stimüle ederek damar gevşetici etkilerini gösterdikleri, H₂S'in ise NO ve CO'nun aksine solubl guanilat siklazı stimüle etmediği tespit edilmiştir ²².

H₂S tarafından gerçekleşen vazodilatasyonun oksijen konsantrasyonuna bağlı olduğu, fizyolojik oksijen koşullarında H₂S'in düşük konsantrasyonlarının damar genişletici etkisi için yeterli olduğu gösterilmiştir. H₂S'in yüksek oksijen düzeylerinde aortik düz kasda kontraksiyona yol açarken, düşük oksijen düzeylerinde gevşemeye yol açtığı saptanmıştır. Aortanın kollajen miktarıyla karşılaştırıldığında daha küçük yarıçapa ve duvar kalınlığına ancak daha fazla düz kas hücresine sahip olan periferik damarlarda, oksijen seviyesi çok düşük seviyelere inene kadar, oksijen tüketiminin yüksek olduğu, düşük oksijen konsantrasyonlarında aortadan çok periferik damarların etkili olduğu ve bu şartlarda H₂S'in etkili bir şekilde arterlerde gevşeme yaptığı gösterilmiştir

87

Spontan hipertansiyon oluşturulan sıçan modelinde H₂S'in plazma düzeyinde düşüklük ve CSE aktivitesinin suprese olduğu görülmüştür. Eksojen H₂S uygulamasıyla kan basıncında ve vasküler düz kas hücre proliferasyonunda azalma gösterilmiştir. Aynı şekilde plazma H₂S düzeyleri ve CSE aktivitesinde artış tespit edilmiştir⁸⁸. H₂S tarafından indüklenen kan basıncının düşmesinin, spesifik K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid tarafından antagonize edilirken, spesifik K_{ATP} kanal aktivatörü pinasidil tarafından aktive edildiği gösterilmiştir^{22, 89}. Bu da H₂S'in damar gevşetici etkisine bağlı hipotansiyonun, H₂S'in K_{ATP} kanallarını açıcı etkisine bağlı olarak gerçekleştiğini göstermektedir²². H₂S'in, endoteli etkileyerek NO ve endotel derived hiperpolarizan faktör (EDHF) gibi damar gevşetici faktörlerin salgılanmasını artırabildiği, direkt olarak vasküler düz kas hücrelerine etki ederek ekstrasellüler Ca⁺² girişini azaltıp vasküler dokularda gevşemeye yol açabildiği düşünülmektedir. Vasküler düz kas hücrelerinde K_{ATP} kanallarını stimüle edip, membran hiperpolarizasyonuna yol açar ki bu da voltaj bağımlı Ca⁺² kanallarının kapanmasına neden olur

ya da H₂S direkt olarak vasküler düz kas hücrelerinde voltaj bağımlı Ca⁺² kanallarını inhibe eder diye düşünülmektedir ⁹⁰.

NO'nun vasküler dokularda endojen H₂S düzeyini iki mekanizmayla düzenlediği tespit edilmiştir. İlkinde NO'nun, vasküler dokularda CSE aktivitesini artırdığı, bunu da cGMP bağımlı protein kinaz aktivitesini artırarak gerçekleştirdiği ayrıca direkt kendisinin de CSE proteinlerini etkileyebildiği gösterilmiştir. İkinci mekanizmada ise NO'nun, CSE'nin ekspresyonunu artırdığı tespit edilmiştir. Vasküler düz kas hücreleri NO donörleriyle birlikte inkübe edildiğinde CSE ekspresyonunun arttığı görülmüştür ²². Aortik doku örneklerinde bir NO donörü olan sodyum nitroprusidin (SNP) H₂S yapımını uyardığı, diğer bir NO donörü olan SNAP ise CSE ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir ^{11, 22}. H₂S ile stimüle edilmiş vazorelaksasyon ya endotelin ortadan kaldırılmasıyla, ya NO sentezinin blokajıyla ya da K_{Ca} kanal blokörleriyle azalmaktadır ki bu da H₂S'in endotel hücrelerini stimüle ederek düz kas gevşemesini kolaylaştıracak bazı faktörlerin endotelden salgılanmasını sağladığını göstermektedir ⁹⁰.

İn vivo ve invitro yapılan çalışmalarda NaHS'in myokardiyal kontraktiliteyi azalttığı gösterilmiştir. Glibenklamidle yapılan öntedavinin bu negatif inotropik etkiyi tamamen ortadan kaldırmayıp sadece azalttığı tespit edilmiştir. Bu ise K_{ATP} kanallarının bu olaya kısmen katıldığını düşündürmektedir ⁹¹.

H₂S'in NO ve CO gibi aterosklerozisi önleyici etkileri incelendiğinde; sıçan aortik düz kas hücrelerinde endotelin tarafından indüklenen proliferasyonu baskıladığı ve bu etkiyi de mitojenle aktive

olmuş protein kinazın down regülasyonu ile sağladığı gözlemlenmiştir ⁹². Ayrıca H₂S'in human aortik düz kas hücrelerinde apoptozisi indüklediği ve böylelikle de aterosklerotik lezyonları azaltabildiği tespit edilmiştir ⁹³.

2.3.5. Hidrojen Sülfür'ün Gastrointestinal Sistemdeki Etkileri

H₂S sentezinde görevli olan CBS ve CSE enzimlerinin ikisinin de varlığı gastrik mukozada gösterilmiştir ^{31, 32}. H₂S'in GIS'de özellikle mukozal hasar ve inflamasyon sürecinde multipl ve kompleks rollerinin olduğu bilinmektedir ³³. Fiorucci ve arkadaşlarının sıçanlarda yaptığı bir çalışmada bir H₂S donörü olan NaHS'ün sistemik uygulamasıyla, NSAİİ'lerin neden olduğu gastrik mukozal hasarın azaldığı tespit edilmiştir. H₂S tarafından indüklenmiş bu mukozal korumanın altında yatan mekanizmanın ise, NaHS'in K_{ATP} aktivasyonuna bağlı oluşturduğu damarlarda genişleme nedeniyle gelişen gastrik mukozal kan akımında artış olduğu düşünülmüştür. Gastrik mukozada NSAİİ'lerin endojen H₂S sentezini azalttıkları ve H₂S donörleri uygulandığında ise NSAİİ'lerin neden olduğu gastrik hasarın ciddiyetinin azaldığı görülmüştür ³¹. Mukozal hasara karşı rezistansta H₂S'in NO ile birlikte vasküler endotelyuma lökosit adheransını inhibe ettiği düşünülmektedir ⁹⁴.

Bu düşünceyle çelişkili olarak sıçanlarda yapılan bir çalışmada H₂S'in gastrik ülser iyileşmesini hızlandırmasında K_{ATP} kanallarının rolünün olmadığı düşünülmüştür. Çünkü ülser iyileşmesinde ne K_{ATP} kanal antagonisti glibenklamid'in ne de K_{ATP} kanal aktivatörü pinasidil'in etkisi bulunmuştur ^{32, 94}.

H₂S'in etanolle indüklenmiş gastrik mukozal hasarda da koruyucu rolü olduğu bilinmektedir. Etanolle indüklenmiş gastrik hasar epiteliyal hücre kaybı, mukozal ödem ve subepitelyal hemoraji ile karakterizedir ^{95, 96}. Ancak buna karşın H₂S sentez inhibitörü PAG'ın sıçanlarda etanol ile oluşturulan gastrik ülserden koruduğu da bildirilmiştir. Etanolle indüklenmiş mide hasarının endojen H₂S düzeylerinin yükselmesine neden olduğu ve PAG tarafından CSE inhibisyonu ile H₂S düzeylerinin bazal seviyeye inmesine sebep olmasıyla mide hasarın geriye döndüğü gösterilmiştir ¹².

CBS ve CSE enzimleri kobay ve insan kolon submukozal ve myenterik sinir pleksuslarında saptanmıştır. NaHS veya L-sistein'in serozal uygulamasının luminal klorid sekresyonunu stimüle ettiği bulunmuştur ⁹⁷. Bu bilgiler H₂S'in enterik sinir sisteminde olduğu ve gastrointestinal sekretuar olaylardaki regülatuar rolünü göstermektedir. Yapılan birçok çalışmada H₂S'in gastrointestinal motilitenin regülasyonunda rolü olduğunu göstermektedir. H₂S'in tavşan ve kobayda yapılan çalışmalarda spontan veya ACh'in indüklediği ileum kontraksiyonlarını inhibe ettiği gösterilmiştir ^{20, 35}. İn vivo yapılan çalışmalarda NaHS'in intraperitoneal uygulamasıyla sıçan kolonunda gevşemeye yol açtığı gözlemlenmiştir ⁹⁸.

H₂S de diğer gazöz mediyatörler gibi (NO ve CO) inflamatuvar olaylarda paradoksal etkiler göstermektedir. Doku hasarı, lökosit migrasyonu, ödem gelişimi ve nosisepsiyonu önleyici etkisi varken, aynı zamanda bu olayların gelişimine neden olacak etkileri de vardır. Endojen pronosiseptif etkisi nötrofil migrasyonunun upregülasyonuna bağlanırken, antinosiseptif etkisi ise K_{ATP} kanallarıyla modüle edilen nosiseptör sensitizasyonunun blokajıyla gerçekleşir ^{36, 99}. Aslında H₂S'in

antiinflamatuvar etkisinin mekanizması tam olarak anlaşılmış değildir ³⁶. H₂S'in K_{ATP} kanallarının aktivasyonu ile lökosit infiltrasyonu ve ödem formasyonunu azalttığı gösterilmiştir ^{94, 95}. Aynı zamanda H₂S donörlerinin analjezik etkilerini de bu K_{ATP} kanallarını aktive ederek gösterdiği düşünülmektedir ^{94, 98}.

Kobay gastrik antral düz kası üzerinde NaHS'in dual etkisinin olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. NaHS'in düşük konsantrasyonlarda, K_{ATP} kanallarını direkt olarak aktive ederek K⁺'in hücre dışına çıkmasına ve membran hiperpolarizasyonuna yol açtığı ve bu durumun da Ca⁺²'in hücre içine girişini azaltıp spontan kontraksiyonların amplitüdünü düşürdüğü tespit edilmiştir. Bu sırada voltaj bağımlı K⁺ kanallarının (K_V) açılmasının kısmen inhibe olduğu ve bunun membran depolarizasyonuna ve intrasellüler Ca⁺² konsantrasyonunun artmasına neden olduğu gösterilmiştir. Böylece gastrik düz kas istirahat geriminin arttığı tespit edilmiştir. Yüksek konsantrasyonda spontan kontraksiyon amplitüdünü suprese ettiği görülmüştür ¹⁰⁰.

Fiorucci ve arkadaşlarının safra kanalı ligasyonu ile siroz geliştirdikleri sıçanlarda yaptıkları çalışmalarda; H₂S'in normal ve sirotik sıçan karaciğerinde norepinefrinle indüklenmiş vazokonstriksiyonu azalttığı ve bu etkinin glibenklamid tarafından önlendiği tespit edilmiştir. Normal karaciğerde L-sistein ve H₂S uygulamasıyla intrahepatik dirençte azalma olduğu gözlemlenmiştir. Sirotik hayvanlarda methionin metabolizmasında transsülfürasyon aşamasında blokaj gelişmesiyle plazma homosistein düzeylerinde artış ve H₂S sentezinde azalma görülmüştür. Yapılan invitro çalışmalarda hepatositlerde H₂S'in vazodilatör etkisinin normal ve sirotik karaciğerde intrahepatik mikrosirkülasyonu

regüle eden endojen bir mediyatör olduğu ve portal hipertansiyonun patogeneğinde önemli bir rol oynadığı görülmüştür^{36, 37}.

NaHS'in hidrojen peroksit (H_2O_2)'e bağlı oksidatif strese karşı gastrik mukozal epiyelyal hücrelerde dual etkisinin olduğu görülmüştür. Yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir koruyucu etki gösterirken, düşük konsantrasyonlarda ise toksisiteyi bir miktar arttırdığı görülmüştür³³.

2.3.6. Hidrojen Sülfür'ün Diğer Sistemlerdeki Etkileri

Diabette H_2S 'in etkileri incelendiğinde insülin sekresyonunun düzenlenmesinde pankreatik K_{ATP} kanallarının asıl rolü aldığı tespit edilmiştir. Glukoz konsantrasyonunun artması hücrede ATP'nin birikmesine, K_{ATP} kanallarının blokajına, plazma membranının depolarizasyonuna, Ca^{+2} 'un hücreye girmesine ve insülin sekresyonuna yol açar. Sıçan insülinoma hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda eksojen H_2S 'in glukozla indüklenmiş insülin sekresyonunu inhibe ettiği, bu durumda K_{ATP} kanallarının açılmasında artışa bağlı olduğu düşünülmektedir. PAG ile endojen H_2S inhibe edildiğinde tersi etkiler gözlemlenmiştir. Bu bulgularla endojen H_2S 'in insülin sekresyonunu inhibe ettiği düşünülmektedir. Ayrıca sıçan pankreatik adacıklarında baskın olarak CSE enzimi gösterilmiş ve pankreasta H_2S üretiminden asıl sorumlu enzimin CSE olduğu düşünülmüştür^{17, 25}.

Fare böbreğiyle yapılan iskemi sonrası reperfüzyon çalışmasında CSE enziminin düzeyinin arttığı görülmüş, ayrıca hem

plazmada hem böbrek dokusunda H₂S sentezinin arttığı saptanmıştır. Bu durum iskemi reperfüzyon hasarına karşı böbreğin endojen H₂S sentezini arttırarak koruyucu rol oynadığını göstermektedir ¹⁰¹.

H₂S'in etkilediği diğer bir dokunun da korpus kavernozum düz kas hücreleri olduğu gösterilmiştir. Penil dokuda CBS ve CSE enzimleri ve bunlar aracılığıyla H₂S sentezinin gerçekleştiği gösterilmiştir. CBS ve CSE enzimleri musküler trabekülde ve penil arter düz kasında gösterilmiştir. CSE varlığı ayrıca periferik sinirlerde de gösterilmiştir. Eksojen H₂S ve L-sistein uygulamasının insan korpus kavernozum kesitlerinde doza bağımlı gevşemeye neden olduğu görülmüştür. Sistein tarafından indüklenen gevşemenin CBS inhibitörü olan aminoksiasetik asit tarafından baskılandığı izlenmiştir. İstirahat durumunda dokuların EAU'sunun PAG veya aminoksiasetik asit tarafından potansiyalize edilerek dokuların geriminde artışta neden olduğu gösterilmiştir ¹⁰².

İzole domuz irisi kasında muskarinik reseptör agonisti karbakol ile elde edilen kasılmalar üzerine H₂S'in gevşetici etkisi olduğu ve bu etkiye NO'nın katkısı bulunmadığı ancak gevşetici etkisinde kısmen K_{ATP} kanallarının rolü olabileceği bildirilmiştir ¹⁰³.

H₂S'in periferik sinir sistemindeki etkileri incelendiğinde kapsaisin duyarlı duyusal sinirleri uyardığı ve substans P ve nörokinin A gibi taşıkininlerin salıverilmesine neden olduğu gösterilmiştir. H₂S'in düz kaslarda gevşeme yaptığı bilinmesine rağmen sıçan mesane detrüsör kasında doza bağımlı olarak güçlü kasıcı etkisini gösterdiği tespit edilmiştir ¹⁰⁴.

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada septik ve endotoksik şokta arteriyel H₂S düzeylerinin anlamlı ölçüde yükseldiği görülmüştür. Endojen H₂S ve NO'nun; kan basıncını, kardiyak fonksiyonu ve hipogliseminin derecesini negatif olarak etkilediği görülmüştür ¹⁰⁵. Sıçanlarda oluşturulan hemorajik şok modeli çalışmasında ise kan basıncı ve kalp hızı düşen sıçanlarda 1 saat sonra plazma H₂S düzeyinin yükseldiği ve CSE inhibitörleriyle tedavide ise kan basıncı ve kalp hızında kısmen düzelme olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum CSE inhibitörlerinin hemorajik şok tedavisinde yeni bir yaklaşım sağlayabileceğini düşündürmektedir ¹⁰⁶.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. İzole Tavşan Mide Fundus Preparatının Hazırlanması

Deneylerde 2.5-3 kg. ağırlığında 20 adet albino tavşan kullanılmıştır. Çalışma Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (G.Ü.ET-10.066). Tavşanlar normal laboratuvar koşullarında standart laboratuvar hayvan yemi ile beslendi, tavşanlar kulak veninden tiyopental (30 mg/kg, i.v.) ile anesteziye edildikten sonra karın orta hat bölgesinden açılarak mideye ulaşıldıktan sonra büyük kurvatür boyunca açılıp özefagus sfinkteri ile büyük kurvatur arasındaki bölge kesilerek vücut haricine çıkarıldı. Doku, önceden 37° C'ye ısıtılmış ve %5 CO₂, %95 O₂ karışımı ile havalandırılan Krebs solüsyonu bulunan petrilere konulup, petrilere epidermal doku, bağ dokusu dokudan uzaklaştırılmıştır. Üzerindeki mukoza tabakası uzaklaştırılan mide fundusu 3x3x20 mm boyutunda longitudinal şeritler halinde kesilerek hazırlandı. Dokular organ askısı yardımıyla Krebs solüsyonu içeren 20 ml'lik organ banyosuna bir ucu organ askısına, bir ucu izometrik kasılmaları kayıt etmek için izometrik kuvvet transdüserine (MAY, FDT05, COMMAT Ltd., Ankara, Türkiye) bağlı olacak şekilde yerleştirilmiştir. İzometrik düz kas kasılmaları ve gevşemeleri transdüserler aracılığı ile (BIOPAC, MP35 System Inc, COMMAT Ltd., Ankara, Türkiye) kayıt edilmiştir.

3.2. Deney Protokolu

Dokulara deneylerin başlangıcında 1 g ön gerim 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 STPT 03 Stimülatör (MAY STPT 03 Stimülatör Research Stimulator, COMMAT Ltd., Ankara, Türkiye) kullanılmıştır. EAU aracılı kasılma yanıtları 120 s. aralıkla 10 s. süre ile 60 V., 1 ms. parametrelerinde ve 8 Hz de alınmıştır.

EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları, sempatik sinir sisteminin ve PG'lerin 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.

Ayrı bir seri deneyde kolinerjik kasılma yanıtları, guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M)'e ek olarak NOS inhibitörü L-NAME (10^{-4} M) varlığında alınmıştır. Guanetidin, indometasin ve L-NAME organ banyosuna EAU aracılı kasılma yanıtları elde edilmeden 20 dk. önce eklenmiştir.

3.2.1. EAU Aracılı Kolinerjik 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^{-9} - 10^{-7} M); neostigmin (antikolinesteraz, 10^{-7} - 10^{-6} M); ω -konotoksin GVIA (spesifik voltaj bağımlı N tipi Ca^{+2} kanal blokörü, 10^{-7} M) uygulanarak tanımlama yapıldı.

3.2.2. EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfürün Etkisinin Araştırılması

Mide fundus 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^{-7} – 3×10^{-3} M), L-sistein (endojen H_2S prekürsörü) (10^{-5} – 3×10^{-3} M) ve PAG (CSE enzim inhibitörü) (10^{-5} – 3×10^{-3} M) eklendi ve EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine etkilerine bakıldı.

3.2.3. NOS İnhibitörü L-NAME Varlığında EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfürün Etkisinin Araştırılması

Mide fundus 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^{-7} – 3×10^{-3} M), L-sistein (10^{-5} – 3×10^{-3} M) ve PAG (10^{-5} – 3×10^{-3} M) eklendi ve EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine etkilerine bakıldı.

3.2.4. Noradrenalinle Kastırılmış Dokularda Hidrojen Sülfürün Etkisinin Araştırılması

Mide fundus şeritleri, guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M) varlığında noradrenalin (10^{-6} M) ile kasıldı. Kasılma yanıtları platoya ulaşınca ortama artan dozlarda NaHS (10^{-7} – 3×10^{-3} M), L-sistein (10^{-5} – 3×10^{-3} M) ve PAG (10^{-5} – 3×10^{-3} M) eklendi ve gevşeme yanıtları elde edildi.

3.3. Deneylerde Kullanılan Solüsyon ve Maddeler

Banyo solüsyonu olarak kullanılan Krebs-Henseleit çözeltisinin bileşimi (mM), NaCl 118; KCl 4.7; NaHCO_3 25; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.9; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.26; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.5; Glukoz monohidrat 11.80 mM KCl 'lik Krebs-Henseleit çözeltisinin bileşimi (mM), NaCl 42.7; KCl 80.0 mM; NaHCO_3 25; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.9; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.26; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 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, ω -konotoksin GVIA, NaHS, L-sistein, PAG distile suda, indometasin dimetil sülfoksit (DMSO)'te çözünmüştür.

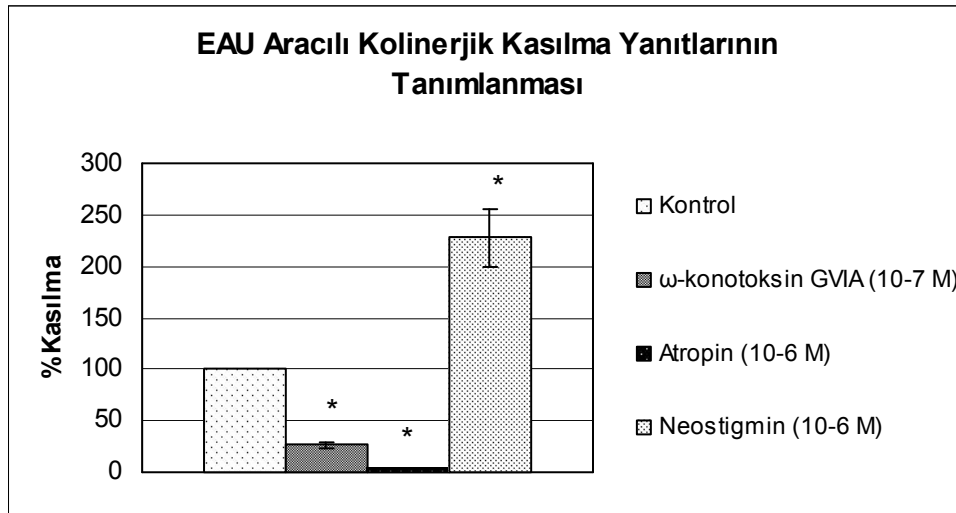
3.4. Bulguların Sunuluğu ve İstatistiksel Analiz

NaHS, L-sistein ve PAG'ın kontrol yanıtlarına olan etkisi ifade edilirken, EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları kontrol yanıtlarının yüzdesi olarak hesaplandı. Ekzojen gevşeme yanıtları ise noradrenalin kasılmalarının yüzdesi olarak ifade edildi. Verilerin istatistiksel analizi "SPSS for Windows 10.0" programı ile bilgisayar ortamında yapılmıştır. Deneysel sonuçlar, ortalama değeri $\pm$ standart hata ile ifade edilmiştir. Deney gruplarından elde edilen yanıtların istatistiksel olarak anlamlılığını değeriendirmek için bağımlı gruplarda Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi, bağımsız gruplarda Mann Whitney U testi kullanılmış, $p < 0.05$ ise ortalamalar arası fark anlamlı kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

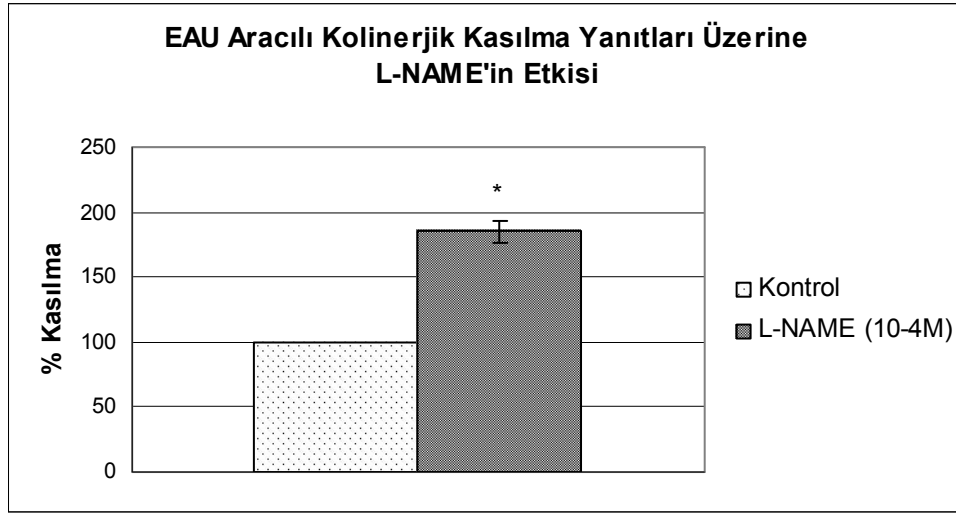
4.1. EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma Yanıtlarının Tanımlaması

Guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M) EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmadı. ω -konotoksin GVIA (10^{-7} M) EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı (73.19 ± 2.90). Atropin (10^{-6} M) EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtlarını tamamen ortadan kaldırdı. Neostigmin (10^{-6} M) EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda arttırdı (227.43 ± 28.33) (Grafik1).



Grafik 1: EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine ω -konotoksin GVIA(10^{-7} M), atropin (10^{-6} M) ve neostigmin (10^{-6} M)'in etkisi. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p < 0.05$, $n=4$).

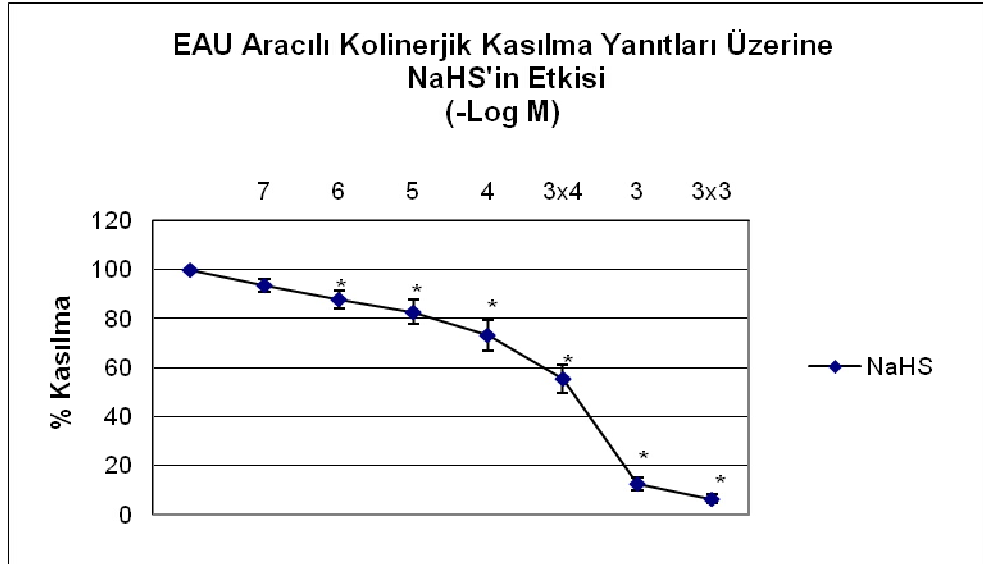
Ayrı bir seri deneyde kolinerjik kasılma yanıtları, guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M)'e ek olarak NOS inhibitörü L-NAME (10^{-4} M) varlığında alınmıştır. L-NAME (10^{-4} M) kolinerjik kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda arttırdı ($\%185.10 \pm 8.13$) (Grafik 2).



Grafik 2: EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine L-NAME (10^{-4} M)'in etkisi. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p < 0.05$, $n=11$).

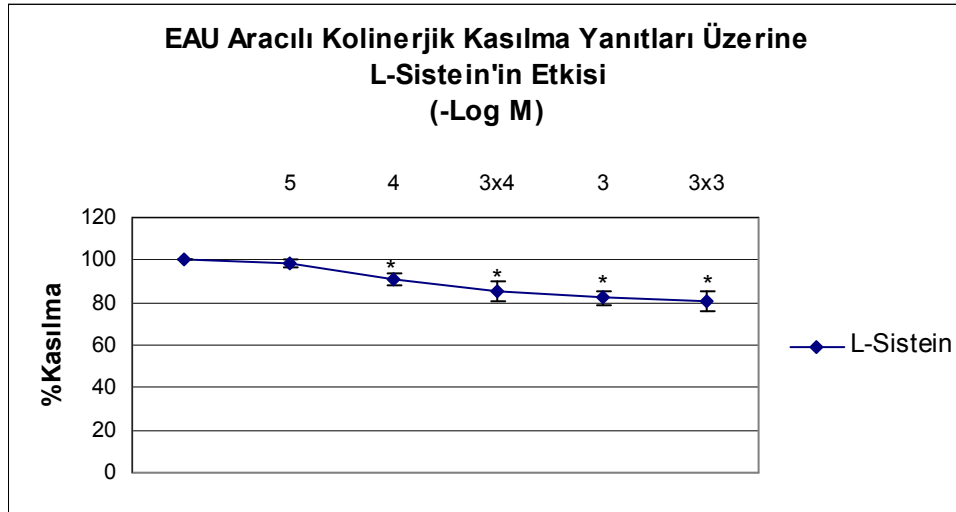
4.2. EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfürün Etkisinin Araştırılması

Guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M) varlığında NaHS (10^{-7} – 3×10^{-3} M) EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı (93.55 ± 1.73) (Grafik 3). NaHS'in bu azaltıcı etkisi zamanla geri döndü. Maksimum geri dönüş % 54.80 ± 5.92 olup, dönüşün ortalama 65.71 ± 4.66 dk. da olduğu gözlemlendi.



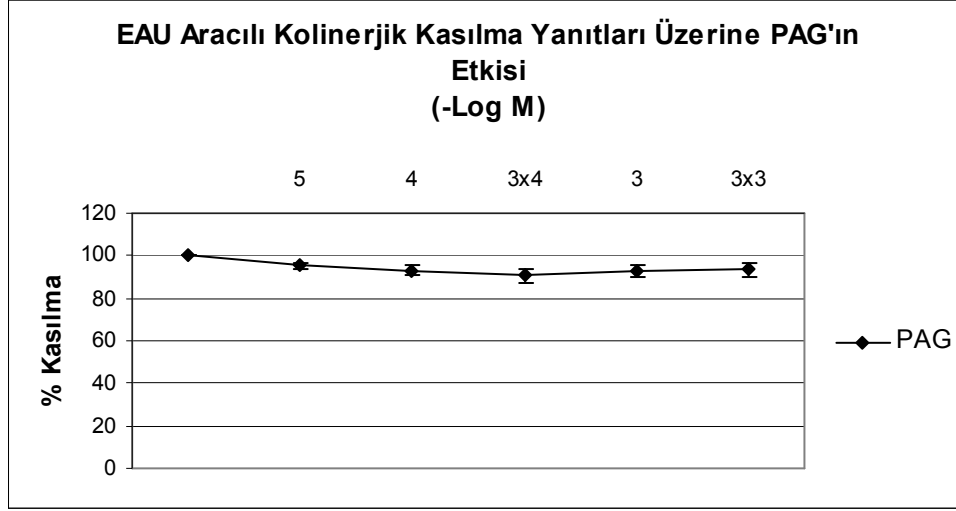
Grafik 3: EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine NaHS (10^{-7} – 3×10^{-3} M)'in etkisi. Kasılma yanıtları guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M) varlığında alındı. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p < 0.05$, $n=9$).

Guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M) varlığında L-Sistein (10^{-5} - 3×10^{-3} M) EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı ($\%19.22 \pm 4.90$) (Grafik 4).



Grafik 4: EAU aracılı kolinerjik 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 (*, $p < 0.05$, $n=5$).

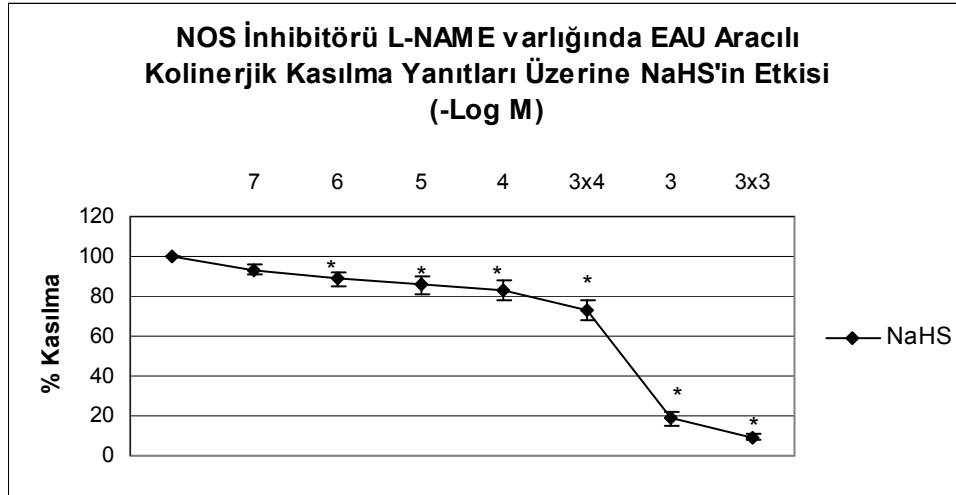
Guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-5} M) varlığında PAG (10^{-5} - 3×10^{-3} M) EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtlarını etkilemedi (Grafik 5) .



Grafik 5: EAU aracılı kolinerjik 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 (*, $p < 0.05$, $n=10$).

4.3. NOS İnhibitörü L-NAME Varlığında EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfürün Etkisinin Araştırılması

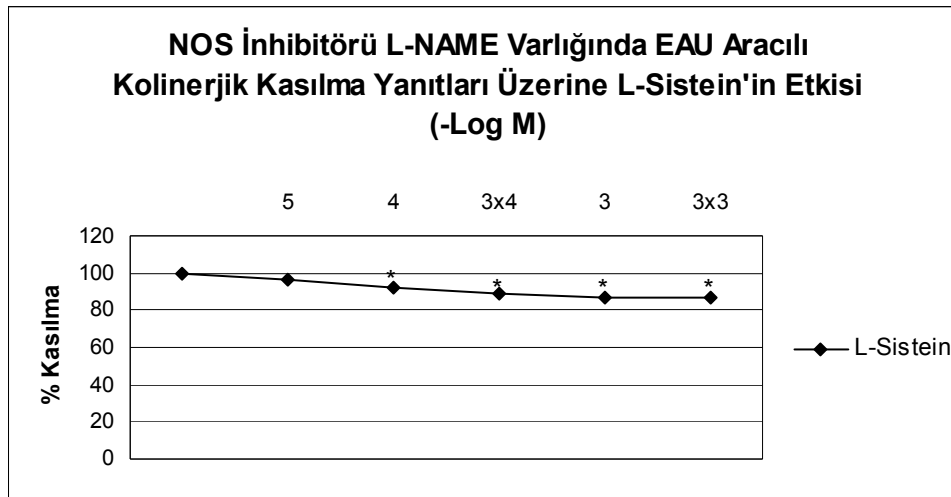
Guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve L-NAME (10^{-4} M) varlığında NaHS (10^{-6} – 3×10^{-3} M) EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı (90.81 ± 1.51) (Grafik 6). NaHS'in bu azaltıcı etkisi zamanla geri döndü. Maksimum geri dönüş 79.46 ± 3.56 olup, dönüşün ortalama 63.78 ± 4.97 dk. da olduğu gözlemlendi.



Grafik 6: EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine NaHS(10^{-7} – 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 (*, $p < 0.05$, $n = 9$).

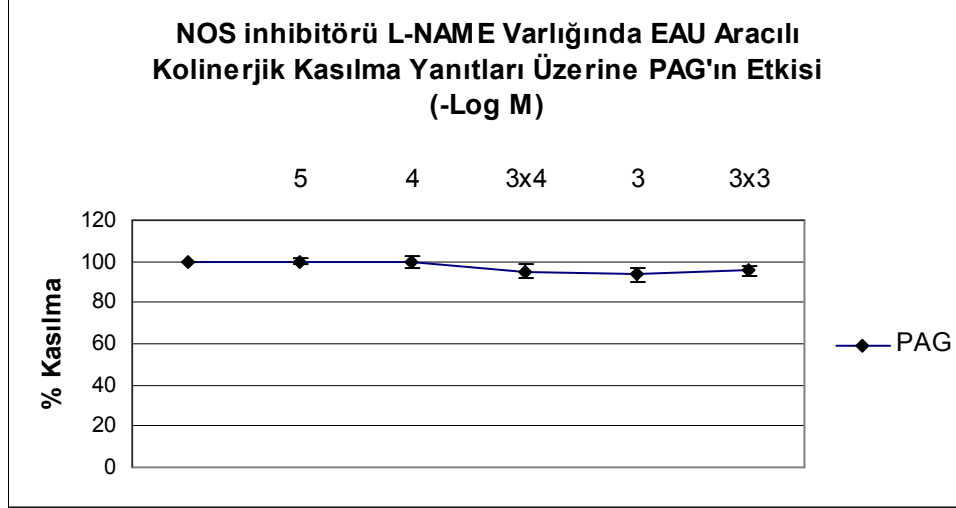
NaHS'in EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine olan inhibitör etkisi NOS inhibitörü L-NAME varlığında istatistiksel olarak anlamlı oranda değişmedi, ancak etkisinin geri dönüşü istatistiksel olarak anlamlı oranda arttı.

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 kolinerjik kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttı ($\%13.68 \pm 3.80$) (Grafik 7).



Grafik 7: EAU aracılı kolinerjik 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 (*, $p < 0.05$, $n=6$).

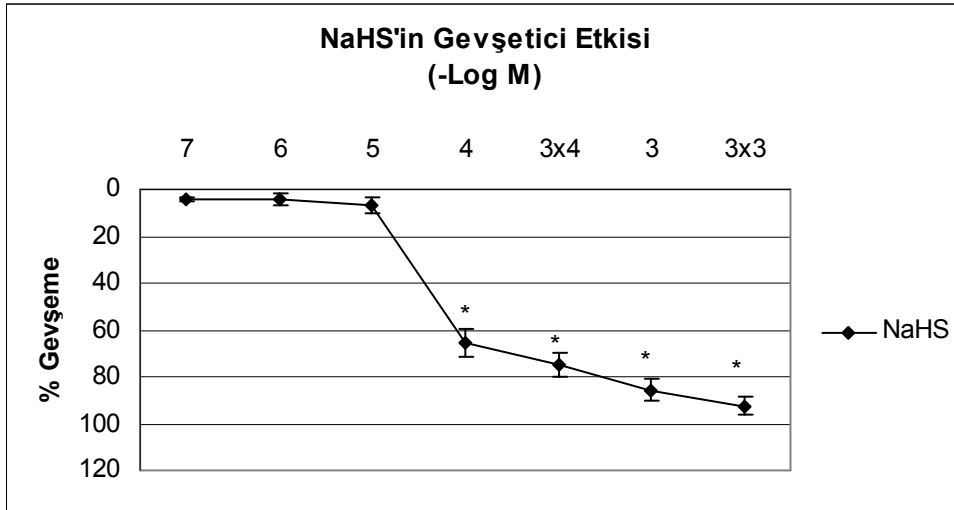
Guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve L-NAME (10^{-4} M) varlığında PAG (10^{-5} - 3×10^{-3} M) EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtlarını etkilemedi (Grafik 8) .



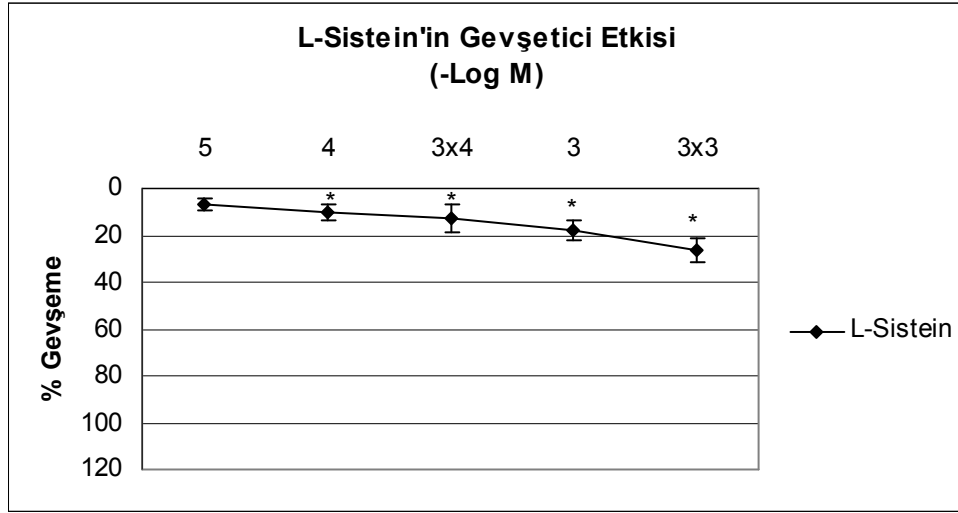
Grafik 8: EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine PAG (10^{-5} - 3×10^{-3} M) 'ın etkisi. Kasılma yanıtları guanetidin (10^{-6} M), indometasin (10^{-5} M) ve L-NAME (10^{-4} M) varlığında alındı. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p < 0.05$, $n=7$).

4.4. Noradrenalinle Kastırılmış Dokularda Hidrojen Sülfürün Etkisinin Araştırılması

Noradrenalin (10^{-6} M) ile kastırılmış mide fundus şeritlerinde NaHS ve L-Sistein istatistiksel olarak anlamlı gevşemeye neden olurken (92.58 ± 3.87 ; $\%26.76 \pm 5.06$), PAG istatistiksel olarak anlamlı gevşemeye neden olmadı (Grafik 9,10).



Grafik 9: Noradrenalin ile kastırılmış dokularda NaHS (10^{-7} - 3×10^{-3} M)'in gevşetici etkisi. Gevşeme yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p < 0.05$, $n=5$).



Grafik 10: Noradrenalin ile kastrılmış dokularda L-sistein (10^{-5} - 3×10^{-3} M) 'in gevşetici etkisi. Gevşeme yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi (*, $p < 0.05$, $n=5$).

5- TARTIŞMA

Sunulan çalışmada mide fundus dokusunda EAU aracılı kasılma yanıtları elde edildi. EAU aracılı kasılma yanıtları üzerinde sempatik sinir sonlanmalarından noradrenalin salıverilmesini inhibe eden guanetidin ve siklooksijenaz inhibitörü indometasin istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmadi. Muskarinik reseptör antagonisti atropin, EAU aracılı kasılma yanıtlarını tamamen inhibe ederken, bir antikolinesteraz olan neostigmin ve NOS inhibitörü L-NAME, EAU aracılı kasılma yanıtlarını artırdı. Ayrıca spesifik voltaj bağımlı N tipi Ca^{+2} kanal blokörü ω -konotoksin GVIA, EAU aracılı kasılma yanıtlarını büyük oranda azalttı. Bu sonuçlar mide fundusunda elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtlarının sinirsel uyarı ve kolinerjik sinirler aracılı olduğunu, ayrıca NO'nun inhibitör etkisini göstermektedir.

Daha önce laboratuvarımızda mide fundusunda yapılan çalışmalarla da benzer şekilde, atropin EAU aracılı kasılma yanıtlarını tamamen ortadan kaldırırken, neostigmin bu yanıtları potansiyelize etmiştir. Aynı zamanda mide fundusundaki EAU aracılı kasılma yanıtlarının tetradotoksin (TTX) ile ortadan kalktığı gösterilmiştir ^{107, 108, 109}. Kolinerjik sinirler, GIS motilitesinin düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Mide fundusunun kolinerjik innervasyonunun olduğu ve muskarinik reseptörler aracılığı ile kasılma oluşturduğu bilinmektedir. Gastrointestinal kanalda ACh, gastrointestinal motilitenin primer düzenleyicisi ve kasılmaya neden olan ana nörotransmitter olarak kabul görmektedir. Enterik sinirlerden ACh salıverilmesi spesifik nöronal reseptörler içeren presinaptik kontrol altındadır ^{110, 111, 112}.

Bu çalışmada H_2S donörü NaHS'in guanetidin ve indometasinli ortamda, EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları ve NOS inhibitörü L-NAME varlığında EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine etkileri değerlendirildi. NaHS, bütün dokularda EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı. NaHS uygulandıktan sonra EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları yaklaşık %55 oranında geri döndü. Geri dönüş zamanı dokular arasında farklılık göstermekle birlikte ortalama 65 dk'dı. NaHS uygulandıktan sonra L-NAME varlığında EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları aynı sürede yaklaşık %80 oranında geri döndü. NaHS'in noradrenalin ile kastırılmış dokularda da gevşetici etkisi görüldü. Aynı zamanda H_2S 'in endojen prekürsörü L-sistein ve CSE enzim inhibitörü PAG'ın guanetidin ve indometasinli ortamda, EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları ve NOS inhibitörü L-NAME varlığında EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine etkileri değerlendirildi. L-sistein tüm dokularda EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı. PAG, tüm dokularda EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilemedi. L-sistein'in noradrenalin ile kastırılmış dokularda da gevşetici etkisi görüldü. PAG'ın noradrenalin ile kastırılmış dokularda da gevşetici etkisi görülmedi.

Gastrik mukozada CSE ve CBS enzimlerinin her ikisinin de eksprese edildiği gösterilmiştir ¹¹³. CBS ve CSE kobay ve insan kolonunda submukozal ve myenterik sinir plexusunda immünohistokimyasal olarak saptanmıştır ⁹⁷. Kobaylarda yapılan bir çalışmada gastrik antrum düz kasında ekzojen H_2S kaynağı olarak kullanılan NaHS'in çift yönlü etkisi görülmüştür. Düşük konsantrasyonlarda NaHS'in, K_{ATP} kanallarını direkt aktive ettiği, K^+ 'un dışarı atılmasına ve membranın hiperpolarizasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Buna bağlı Ca^{+2} ' in 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 Ca^{+2} seviyesinin artmasına sebep olduğu ve gastrik düz kasın istirahat gerimini artırdığı saptanmıştır. Memelilerdeki H_2S 'in fizyolojik konsantrasyonlarından çok daha yüksek NaHS konsantrasyonlarında yapılan bir çalışmada ise K_{ATP} kanalının açılmasını indüklediği gözlemlenmiştir ¹⁰⁰. Kobay ileumunda yapılan bir çalışmada L-sistein ile dokular inkübe edilmiş ve CBS antagonistleri ile inhibe edilen H_2S üretimi olduğu saptanmıştır ²⁰. Tavşan ve kobay ileumunda yapılan çalışmalarda H_2S 'in spontan ve ACh ile indüklenmiş kasılmaları inhibe ettiği tespit edilmiştir ^{20, 35}. Kasperek ve arkadaşları sıçan 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 değiştirmedeği ancak betanekol ile oluşturulmuş kasılmalar üzerindeki inhibitör etkisinin azaldığı bulunmuştur. Glibenklamid'in bu etkisinin spesifik olmadığı ileri sürülmüştür. Ayrıca NOS inhibitörü L-NNA'nın, NaHS'in hem spontan kasılmalar hem de betanekol ile oluşturulmuş kasılmalar üzerindeki inhibitör etkinliğini artırdığı gösterilmiştir ¹¹⁴.

H_2S 'in GIS'de özellikle mukozal hasar ve inflamasyon sürecinde multipl ve kompleks rollerinin olduğu bilinmektedir ³³. Fiorucci ve arkadaşlarının ratlarda yaptığı bir çalışmada bir H_2S donörü olan NaHS'ün sistemik uygulamasıyla, NSAİİ'lerin neden olduğu gastrik mukozal hasarın azaldığı tespit edilmiştir. H_2S tarafından indüklenmiş bu mukozal korumanın altında yatan mekanizmanın ise, NaHS'in K_{ATP} aktivasyonuna bağlı oluşturduğu damarlarda genişleme nedeniyle gelişen gastrik mukozal kan akımında artış olduğu düşünülmüştür. Gastrik mukozada NSAİİ'lerin endojen H_2S sentezini azalttıkları ve H_2S donörleri uygulandığında ise NSAİİ'lerin neden olduğu gastrik hasarın ciddiyetinin

azaldığı görülmüştür ³¹. Mukozal hasara karşı rezistansta H₂S'in NO ile birlikte vasküler endotelyuma lökosit adheransını inhibe ettiği düşünülmektedir ⁹⁴. NaHS veya L-sistein'in serozal uygulamasının luminal klorid sekresyonunu stimüle ettiği bulunmuştur ⁹⁷. Bu bilgiler H₂S'in enterik sinir sisteminde oluştuğunu ve gastrointestinal sekretuvar olaylardaki regülatuvar rolünü göstermektedir.

Sunulan çalışmada mide fundusunda EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine H₂S'in inhibitör etkilerinin gösterilmesi diğer çalışmalarla da uyumludur. Ancak H₂S'in noradrenalin ile kastırılmış dokularda da aynı konsantrasyonlarda benzer etkiyi göstermesi, 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 %55 oranında geri dönmesine rağmen noradrenalin ile kastırılmış dokularda geri dönüşün olmaması H₂S'in sinir sonlanmalarından nörotransmitter salıverilmesine etkisi olduğunu düşündürmektedir.

H₂S, NO ve CO'e benzer olarak gevşemeye neden olmaktadır ve damar düz kasında güçlü gevşetici etki gösteren bir gazotransmitter olabileceği ileri sürülmektedir ^{15, 22, 115}. H₂S, NO ve CO'dan farklı olarak vasküler endotelyumdan değil, vasküler düz kas hücrelerinden salıverilmektedir ^{22, 65, 116}. 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 ^{22, 65}. 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 üzerine ODQ'nun bir etkisi bulunmamaktadır ^{15, 22}. H₂S, NO'dan farklı olarak vasküler dokularda cGMP yolağının aktivasyonundan bağımsız gevşetici etki göstermektedir ⁶⁵.

Sıçan mezenterik arterinde yapılan bir çalışmada H₂S'in vasküler direncin ve kan basıncının düzenlenmesinde yüksek debili damarlara göre daha belirgin gevşetici etkiye sahip olduğu bulunmuştur. H₂S'in sıçan mezenter arterindeki düz kas gevşetici etkisinin 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 kullanılan apamin ve karibdotoksinin uygulanmasıyla H₂S'in yüksek gaz konsantrasyonunda indüklediği gevşeme yanıtının azaldığı saptanmıştır ¹¹⁵. H₂S'in torasik aortada K_{ATP} açarak damarları gevşettiği ve in vivo hipotansiyon oluşturduğu bildirilmiştir ²². Sıçan aortunda yapılan bir 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 ^{117, 118}.

H₂S'in çok düşük konsantrasyonlarda, NO ile indüklenmiş düz kas gevşemesini artırdığı da gösterilmiştir ²⁰. Vasküler düz kasta NO'nun CSE ekspresyonunu ve aktivitesini artırarak H₂S'in gevşetici etkisini artırdığı gösterilmiştir ^{22, 119}. Sıçan pulmoner arterinde yapılan bir çalışmada PAG varlığında sodyum nitroprussid'in etkisinin azaldığını,

benzer şekilde L-NAME varlığında da NaHS'in etkisinin azaldığını göstermişler. Bunun nedeninin endojen NO'nun pulmoner arterde H₂S'in gevşetici etkisini başlatıcı rolü olabileceğini ileri sürmüşlerdir ¹²⁰. Aortta yapılan çalışmalarda, NO ve H₂S arasındaki etkileşim ile ilgili 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 ^{11, 20}. NO'nun vasküler dokularda endojen H₂S düzeyini iki mekanizmayla düzenlediği tespit edilmiştir. İlkinde NO'nun, vasküler dokularda CSE aktivitesini artırdığı, bunu da cGMP bağımlı protein kinaz aktivitesini artırarak gerçekleştirdiği ayrıca direkt kendisinin de CSE proteinlerini etkileyebildiği gösterilmiştir. İkinci mekanizmada ise NO'nun, CSE'nin ekspresyonunu artırdığı tespit edilmiştir. Vasküler düz kas hücreleri NO donörleriyle birlikte inkübe edildiğinde CSE ekspresyonunun arttığı görülmüştür ²². Aortik doku örneklerinde bir NO donörü olan SNP'in H₂S yapımını uyardığı, diğer bir NO donörü olan SNAP'in ise CSE ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir ^{11, 22}. H₂S ile stimüle edilmiş vazorelaksasyon ya endotelin ortadan kaldırılmasıyla, ya NO sentezinin blokajıyla ya da K_{Ca} kanal blokörleriyle azalmaktadır ki bu da H₂S'in endotel hücrelerini stimüle ederek düz kas gevşemesini kolaylaştıracak bazı faktörlerin endotelden salgılanmasını sağladığını göstermektedir ⁹⁰.

Sunulan çalışmada NO'nun etkisinin araştırıldığı EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerinde NaHS'in inhibitör etkinliği NOS inhibitörü L-NAME bulunan ortamda değişmedi. Ancak bu inhibitör etkideki geri dönüş % 55 iken, NOS inhibitörü L-NAME bulunan ortamda inhibitör etkideki geri dönüş istatistiksel olarak anlamlı oranda arttı. Bu sonuçlar, H₂S'in etkisi ile NO arasında bir etkileşim olduğunu düşündürmektedir.

6.SONUÇ

EAU aracılı kasılma yanıtları üzerinde sempatik sinir sonlanmalarından noradrenalin salıverilmesini inhibe eden guanetidin ve siklooksijenaz inhibitörü indometasin istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmadi. Muskarinik reseptör antagonisti atropin, EAU aracılı kasılma yanıtlarını tamamen inhibe ederken, bir antikolinesteraz olan neostigmin bu yanıtları arttırdı. Nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME, EAU aracılı kasılma yanıtlarını arttırdı. Ayrıca spesifik voltaj bağımlı N tipi Ca^{+2} kanal blokörü ω -konotoksin GVIA, EAU aracılı kasılma yanıtlarını büyük oranda azalttı. Bu sonuçlar mide fundusunda elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtlarının sinirsel uyarıya bağılı olduğunu ve kolinerjik sinirler kaynaklı olduğunu, ayrıca NO'nun inhibitör bir etkisinin olduğunu göstermektedir.

EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerine H_2S 'in inhibitör etkisi gösterildi.. Ancak H_2S 'in noradrenalin ile kastırılmış 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 H_2S 'in etkisinin zaman bağımlı olarak %55 oranında geri dönüşüne rağmen noradrenalin ile kastırılmış dokularda geri dönüşün olmaması H_2S 'in sinir sonlanmalarından nörotransmitter salıverilmesine etkisi olduğunu düşündürmektedir.

NO'nun etkisinin araştırıldığı EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtları üzerinde NaHS'in inhibitör etkinliği NOS inhibitörü L-NAME bulunan ortamda değişmedi. Ancak bu inhibitör etkideki geri dönüş % 55 iken, NOS inhibitörü L-NAME bulunan ortamda inhibitör etkideki geri

dönüş istatistiksel olarak anlamlı oranda arttı. Bu sonuçlar, H₂S'in etkisi ile NO arasında etkileşim olduğunu düşündürmektedir.

7. ÖZET

İzole Tavşan Mide Fundusunda Hidrojen Sülfür'ün Endojen Mediyatörlerle Etkileşiminin Araştırılması

Dr. Şeniz GÖRAL

Bu çalışmada, H₂S'in tavşan mide fundusunda elektriksel alan uyarısı (EAU) aracılı kolinerjik aşırım üzerine etkisi ve NO ile etkileşiminin araştırılması için NOS inhibitörü L-NAME varlığında, EAU aracılı kolinerjik aşırım üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Deneylerde 2.5-3 kg ağırlığında 20 adet albino tavşandan elde edilen mide fundus şeritleri Krebs solüsyonu içeren organ banyosuna izometrik kasılmaları kayıt etmek için izometrik kuvvet transdüserine bağlı olacak şekilde yerleştirilmiştir. EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtlarına guanetidin ve indometasin'in etkisi olmadı, atropin tamamen ortadan kaldırdı, neostigmin bu yanıtları artırdı, ω-gonotoksin GVIA ise anlamlı oranda azalttı. Nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME, EAU aracılı kasılma yanıtlarını artırdı. Bu sonuçlar mide fundusunda elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtlarının sinirsel uyarıya bağlı olduğunu ve kolinerjik sinirler kaynaklı olduğunu göstermektedir. Guanetidin ve indometasin varlığında, EAU aracılı kolinerjik kasılma yanıtlarını NaHS ve L-sistein konsantrasyon bağımlı olarak azaltırken, PAG etkilemedi. L-NAME varlığında, NaHS ve L-sistein'in inhibitör etkisi değişmedi. Ancak L-NAME varlığında inhibitör etkisinin geri dönüşü anlamlı oranda arttı. Noradrenalin ile kastırılmış mide fundus şeritlerinde NaHS ve L-Sistein anlamlı oranda gevşemeye neden olurken, PAG gevşemeye neden olmadı. NaHS ve L-sistein'in EAU aracılı

kolinerjik kasılma yanıtları üzerinde oluşturduğu inhibitör etkisini noradrenalin ile kastırılmış dokularda da göstermesi etkilerinin postsinaptik mekanizma ile olduğunu göstermektedir. Ancak EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine H₂S'in etkisinin zaman bağımlı olarak %55 oranında geri dönmesine rağmen noradrenalin ile kastırılmış dokularda geri dönüşün olmaması ve L-NAME varlığında bu geri dönüşte artış olması, H₂S'in sinir sonlanmalarından nörotransmitter salıverilmesine etkisi olduğunu ve NO ile bir etkileşimi olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler:

Hidrojen sülfür, tavşan mide fundusu, elektriksel alan uyarısı, kolinerjik aşırım

8. SUMMARY

Investigation of Interactions of Hydrogenous Sulfide with
Endogenous Mediators in Isolated Rabbit Gastric Fundus

Şeniz GÖRAL, MD.

The aim of this study is to investigate the effects of H₂S in rabbit gastric fundus on electrical field stimulation (EFS)-mediated cholinergic transmission and for the evaluation of interaction with NO, in the presence of NOS inhibitor, L-NAME, on EFS-mediated cholinergic neurotransmission. In the experiments, in order to record isometric contractions, 2.5-3 kg of 20 albino rabbits gastric smooth muscle strips were placed into an organ bath containing Krebs solution after being connected to an isometric force transducer. Guanethidine and indometacin had no effect on EFS-mediated cholinergic contraction responses while atropin totally abolished, neostigmine increased and ω -gonotoxin GVIA significantly diminished the responses. Nitric oxide synthase inhibitor, L-NAME increased the EFS-mediated contraction responses. These results show that EFS-mediated contraction responses obtained from gastric fundus depend on neural stimulation and are originated from cholinergic neurons. In the presence of guanethidine and indometacin, while NaHS and L-cysteine diminished EFS-mediated cholinergic contraction responses depending on concentration, PAG had no effect. In the presence of L-NAME, inhibitor effect of NaHS and L-cysteine showed no difference. However, in the presence of L-NAME, the reversal of inhibitor effect significantly increased. In gastric fundus strips contracted by noradrenaline, while NaHS and L-cysteine caused a significant relaxation,

PAG had no relaxant effect. Since the inhibitor effect NaHS and L-cysteine on EFS-mediated cholinergic contraction responses were seen on also noradrenalin-contracted tissues, the effects are thought to occur via a postsynaptic mechanism. Although H₂S effect on EFS-mediated neurogenic contraction responses reversed 55% depending on time, since no reversal was seen in noradrenalin-contracted tissues and the reversal increased in the presence of L-NAME, it is considered that H₂S has an effect on neurotransmitter release from neural endings and has an interaction with NO.

Key Words:

Hydrogenous sulfide, rabbit gastric fundus, electrical field stimulation, cholinergic transmission

9. KAYNAKLAR

1. Bullock J, Boyle JB III, Wang MB. NMS Physiology (National Medical Series for Independent Study). 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott, Williams&Wilkins; 2001.

2. Berne RM, Levy MN. Physiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 1998.

3. Kramer K, da Silveira AB, Jabari S, Kressel M, Raab M, Brehmer A. Quantitative evaluation of neurons in the mucosal plexus of adult human intestines. Histochem Cell Biol 2011; 136(1): 1-9.

4. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. Pharmacology. 5th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2003.

5. Pajdo R, Brzozowski T, Konturek PC, Kwiecień S, Konturek SJ, Sliwowski Z, et al. Ischemic preconditioning, the most effective gastroprotective intervention: involvement of prostaglandins, nitric oxide, adenosine and sensory nerves. Eur JPharmacol 2001; 427: 263-276.

6. Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Schuppan D, Kwrecten S, Majka J, et al. Effect of local application of growth factors on gastric ulcer healing and mucosal expression of cyclooxygenase -1 and -2. Digestion 2001; 64: 15-29.

7. Whittle BJ. Mechanisms underlying gastric mucosal damage induced by indomethacin and bile salts and the actions of prostaglandins. Br J Pharmacol 1977; 60: 455-460.

8. Guidotti TL. Hydrogen sulphide. *Occup Med* 1996; 46: 367–71.
9. Beauchamp RJ, Bus JS, Popp JA, Boreiko CJ, Andjelkovich DA. A critical review of the literature on hydrogen sulfide toxicity. *Crit Rev Toxicol* 1984; 13: 25–97.
10. Warenycia MW, Goodwin LR, Benishin CG, Reiffenstein RJ, Francom DM, Taylor JD, et al. Acute hydrogen sulfide poisoning. Demonstration of selective uptake of sulfide by the brainstem by measurement of brain sulfide levels. *Biochem Pharmacol* 1989; 38(6): 973-81.
11. Kimura H. Hydrogen sulfide: from brain to gut. *Antioxid Redox Signal* 2010; 12(9): 1111-1123.
12. Monjok EM, Kulkarni KH, Kouamou G, McKoy M, Opere CA, Bongmba ON, et al. Inhibitory action of hydrogen sulfide on muscarinic receptor-induced contraction of isolated porcine irides. *Exp Eye Res* 2008; 87(6): 612-6.
13. Tang CS, Li XH, Du JB. Hydrogen sulfide as a new endogenous gaseous transmitter in the cardiovascular system. *Curr Vasc Pharmacol* 2006; 4: 17–22.
14. 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.
15. Lowicka E, Bełtowski J. Hydrogen sulfide (H₂S) – the third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacol Rep* 2007; 59: 4–24.

- 16.** Xu M, Wu YM, Li Q, Wang X, He RR. Electrophysiological effects of hydrogen sulfide on pacemaker cells in sinoatrial nodes of rabbits. *Sheng Li Xue Bao* 2008; 60: 175–180.
- 17.** Yang W, Yang G, Jia X, Wu L, Wang R. Activation of K_{ATP} channels by H_2S in rat insulin-secreting cells and the underlying mechanisms. *J. Physiol* 2005; 569: 519–531.
- 18.** Kimura H. Hydrogen sulfide as a neuromodulator. *Mol Neurobiol* 2002; 26: 13–19.
- 19.** Sidhapuriwala JN, Ng SW, Bhatia M. Effects of hydrogen sulfide on inflammation in caerulein-induced acute pancreatitis. *J Inflamm (Lond)* 2009; 6: 35.
- 20.** 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.
- 21.** Li L, Whiteman M, Guan YY, Neo KL, Cheng Y, Lee SW, et al. Characterization of a novel, water-soluble hydrogen sulfide-releasing molecule (GY4137): new insights into the biology of hydrogen sulfide. *Circulation* 2008; 117(18): 2351–2360.
- 22.** Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. The vasorelaxant effect of H_2S as a novel endogenous gaseous K_{ATP} channel opener. *EMBO J* 2001; 20: 6008–6016.
- 23.** Shi YX, Chen Y, Zhu YZ, Huang GY, Moore PK, Huang SH, et al. Chronic sodium hydrosulfide treatment decreases medial thickening of intramyocardial coronary arterioles, interstitial fibrosis, and ROS production in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293: 2093–2100.

- 24.** Wang Y, Zhao X, Jin H, Wei H, Li W, Bu D, et al. Role of hydrogen sulfide in the development of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 173–179.
- 25.** Wu L, Yang W, Jia X, Yang G, Duridanova D, Cao K, et al. Pancreatic islet overproduction of H₂S and suppressed insulin release in Zucker diabetic rats. *Lab Invest* 2009; 89(1): 59-67.
- 26.** Kamoun P, Belardinelli MC, Chabli A, Lallouchi K, Chadeaux-Vekemans B. Endogenous hydrogen sulfide overproduction in Down syndrome. *Am J Med Genet A* 2003; 116(3): 310-1.
- 27.** Kraus JP, Janosik M, Kozich V, Mandell R, Shih V, Sperandio MP, et al. Cystathionine β synthase mutations in homocystinuria. *Hum Mutat* 1999; 13: 362–375.
- 28.** Beard RS Jr, Bearden SE. Vascular complications of cystathionine β -synthase deficiency: future directions for homocysteine-to-hydrogen sulfide research. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 300(1): 13-26.
- 29.** Enokido Y, Suzuki E, Iwasawa K, Namekata K, Okazawa H, Kimura H. Cystathionine β -synthase, a key enzyme for homocysteine metabolism, is preferentially expressed in the radial glia/astrocyte lineage of developing mouse CNS. *FASEB J* 2005; 19(13): 1854-6.
- 30.** Chen CQ, Xin H, Zhu YZ. Hydrogen sulfide: third gaseous transmitter, but with great pharmacological potential. *Acta Pharmacol Sin* 2007; 28 (11): 1709–1716.

31. 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 anti-inflammatory nonsteroidal drugs. *Gastroenterology* 2005; 129: 1210–1224.

32. Wallace JL, Dicay M, McKnight W, Martin GR. Hydrogen sulfide enhances ulcer healing in rats. *FASEB J* 2007; 21: 4070-4076

33. Yonezawa D, Sekiguchi F, Miyamoto M, Taniguchi E, Honjo M, Masuko T, et al. A protective role of hydrogen sulfide against oxidative stress in rat gastric mucosal epithelium. *Toxicology* 2007; 241: 11-18.

34. Chávez-Piña AE, Tapia-Alvarez GR, Navarrete A. Inhibition of endogenous hydrogen sulfide synthesis by PAG protects against ethanol-induced gastric damage in the rat. *Eur J Pharmacol* 2010; 630(1-3): 131-6.

35. 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): 139-45.

36. Fiorucci S, Distrutti E, Cirino G, Wallace JL. The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver. *Gastroenterology* 2006; 131: 259–271.

37. 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: 539-48.

38. Atuma C, Strugala V, Allen A, Holm L. The adherent gastric mucus gel layer: thickness and physical state in vivo. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: 922–929.

39. Sandvik AK, Waldum HL. CCK-B (gastrin) receptor regulates gastric histamine release and acid secretion. *Am J Physiol* 1991; 260: 925-928.

40. Sherwood L. *Human Physiology: from cells to systems*. 7th edition. Belmont: Brooks/ Cole Cengage Learning; 2010.

41. Rhoades R, Pflanzer R. *Human Physiology*. 4th ed. Pacific Grove CA: Brooks/Cole—Thomson Learning; 2003.

42. Forstner JF. Intestinal mucins in health and disease. *Digestion* 1978; 17: 234-263.

43. Grisham MB, Von Ritter C, Smith BF, LaMont JT, Granger DN. Interaction between oxygen radicals and gastric mucin. *Am J Physiol* 1987; 253: 93-96.

44. Takeuchi K, Ueshima K, Matsumoto J, Okabe S. Role of capsaicin-sensitive sensory nerves in acid-induced bicarbonate secretion in rat stomach. *Dig Dis Sci* 1992; 37: 737-743.

45. Wallace JL, Granger DN. The cellular and molecular basis for gastric mucosal defense. *FASEB J* 1996; 10: 731-740.

46. Werther JL. The gastric mucosal barrier. *Mt Sinai J Med* 2000; 67: 41–53.

47. Lichtenberger LM. Gastroduodenal mucosal defense. *Curr Opin Gastroenterol* 1999; 15: 463–472.

48. Gannon B, Browning J, O'Brien P, Rogers P. Mucosal microvascular architecture of the fundus and body of the human stomach. *Gastroenterology* 1984; 86: 866–875.

49. Whittle BJR, Lopez-Belmonte J, Moncada S. Regulation of gastric mucosal integrity by endogenous nitric oxide: Interaction with prostanoids and sensory neuropeptides in the rat. *Br J Pharmacol* 1990; 99: 607-611.

50. Guth PH. Current concepts in gastric microcirculatory pathophysiology. *Yale J Biol Med* 1992; 65: 677–688.

51. Lippe IT, Pabst MA, Holzer P. Intragastric capsaicin enhances rat gastric acid elimination and mucosal blood flow by afferent nerve stimulation. *Br J Pharmacol* 1989; 96: 91-100.

52. Mitchell JA, Akarasereenont P, Thiemermann C, Flower RJ, Vane JR. Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 11693-11697.

53. Tarnawski A, Brzozowski T, Sarfeh J, Krause WJ, Ulich TR, Gergely H, et al. Prostaglandin protection of human isolated gastric glands against indomethacin and ethanol injury. Evidence for direct cellular action of prostaglandin. *J Clin Invest* 1998; 81: 1081-1089.

54. Ham M, Kaunitz JD. Gastroduodenal mucosal defense. *Curr Opin Gastroenterol* 2008; 24(6): 665-73.

55. Kobayashi K, Arakawa T. Arachidonic acid cascade and gastric mucosal injury, protection, and healing: topics of this decade. *J Clin Gastroenterol* 1995; 21: 12–17.

56. Peskar BM. Neural aspects of prostaglandin involvement in gastric mucosal defense. *J Physiol Pharmacol* 2001; 52: 555–568.

57. Zengil H, Onuk E, Gökok N, Ercan ZS, Türker RK. Prevention by a new synthetic stable analog of prostacyclin of the gastric lesions due to restraint-cold stress. *Arzneimittel-Forschung* 1986; 36(3): 482-483.

58. Gray JDA, Shiner M. Influence of gastric pH on gastric and jejunal flora. *Gut* 1967; 8: 574-581.

59. Hills BA, Butler BD, Lichtenberger LM. Gastric mucosal barrier, hydrophobic lining to the lumen of the stomach. *Am J Physiol* 1983; 244: 561-568.

60. Goddard PJ, Hills BA, Lichtenberger LM. Does aspirin damage canine gastric mucosa by reducing its surface hydrophobicity? *Am J Physiol* 1987; 252: 421-430.

61. Miller MJS, Crisham MB. Nitric oxide as a mediator of inflammation? You had better believe it. *Mediators Inflamm* 1995; 4: 387-396.

62. Brown JF, Tepperman BL, Hanson PJ, Whittle BJ. Lipopolysaccharide induces Ca^{2+} -independent nitric oxide synthase activity in rat gastric mucosal cells. *Eur J Pharmacol* 1994; 292: 111-4.

63. 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: 346–7.

64. Takahashi T. Pathophysiological significance of neuronal nitric oxide synthase in the gastrointestinal tract. *J Gastroenterol* 2003; 38: 421-30.

65. Wang R. Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB J* 2002; 16: 1792–1798.

66. Reiffenstein RJ, Hulbert WC, Roth SH. Toxicology of hydrogen sulfide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1992; 32: 109-134.

67. Stipanuk MH, Beck PW. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat. *Biochem J* 1982; 206: 267-277.

68. Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci* 1996; 16(3): 1066-71.

69. Zhuo M, Small SA, Kandel ER, Hawkins RD. Nitric oxide and carbon monoxide produce activity-dependent long-term synaptic enhancement in hippocampus. *Science* 1993; 260(5116): 1946-50.

70. Chiku T, Padovani D, Zhu W, Singh S, Vitvitsky V, Banerjee R. H₂S biogenesis by human cystathionine gamma-lyase leads to the novel sulfur metabolites lanthionine and homolanthionine and is responsive to the grade of hyperhomocysteinemia. *J Biol Chem* 2009; 284(17): 11601-12.

71. Kaneko Y, Kimura Y, Kimura H, Niki I. L-cysteine inhibits insulin release from the pancreatic beta-cell: possible involvement of metabolic production of hydrogen sulfide, a novel gasotransmitter. *Diabetes* 2006; 55(5): 1391-7.

72. Patel P, Vatish M, Heptinstall J, Wang R, Carson RJ. The endogenous production of hydrogen sulphide in intrauterine tissues. *Reprod Biol Endocrinol* 2009; 7: 10.

73. Vitvitsky V, Thomas M, Ghorpade A, Gendelman HE, Banerjee R. A functional transsulfuration pathway in the brain links to glutathione homeostasis. *J Biol Chem* 2006; 281(47): 35785-93.

74. Kimura H. Hydrogen sulphide: its production, release and functions. *Amino Acids* 2011; 41(1): 113-121.

75. Yang G, Wu L, Jiang B, Yang W, Qi J, Cao K, et al. H₂S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase. *Science* 2008; 322(5901): 587-90.

76. 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* 2009; 11(4): 703-14.

77. Nagahara N, Ito T, Kitamura H, Nishino T. Tissue and subcellular distribution of mercaptopyruvate sulfurtransferase in the rat: confocal laser fluorescence and immunoelectron microscopic studies combined with biochemical analysis. *Histochem Cell Biol* 1998; 110(3): 243-50.

78. 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): 1107-14.

79. 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): 255-9.

80. Moore PK, Bhatia M, Mochhala S. Hydrogen sulfide: from the smell of the past to the mediator of the future? *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24(12): 609-11.

81. Eto K, Kimura H. The production of hydrogen sulfide is regulated by testosterone and S-adenosyl-L-methionine in mouse brain. *J Neurochem* 2002; 83: 80-6.

82. Eto K, Kimura H. A novel enhancing mechanism for hydrogen sulfide-producing activity of cystathionine β -synthase. *J Biol Chem* 2002; 277: 42680–42685.

83. Kimura H: Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 267: 129–133.

84. Eto K, Asada T, Arima K, Makifuchi T, Kimura H. Brain hydrogen sulfide is severely decreased in Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293: 148–58.

85. Han Y, Qin J, Bu DF, Chang XZ, Yang ZX, Du JB. Gammaaminobutyric acid B receptor regulates the expression of hydrogen sulfide/cystathionine-beta-synthase system in recurrent febrile seizures. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* 2006; 8: 141-3.

86. Ichinohe A, Kanaumi T, Takashima S, Enokido Y, Nagai Y, Kimura H. Cystathionine beta-synthase is enriched in the brains of Down's patients. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338: 1547–50.

87. Koenitzer JR, Isbell TS, Patel HD, Benavides GA, Dickinson DA, Patel RP, et al. Hydrogen sulfide mediates vasoactivity in an O₂-dependent manner. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292(4): 1953-60.

88. Yan H, Du JB, Tang CS. The possible role of hydrogen sulfide on the pathogenesis of spontaneous hypertension in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 313: 22–7.

89. Beech DJ, Zhang H, Nakao K, Bolton TB. K channel activation by nucleotide diphosphates and its inhibition by glibenclamide in vascular smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* 1993; 110: 573-582.

90. Zhao W, Wang R. H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283(2): 474-80.

91. 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): 362–368.

92. Du J, Hui Y, Cheung Y, Bin G, Jiang H, Chen X, et al. The possible role of hydrogen sulfide as a smooth muscle cell proliferation inhibitor in rat cultured cells. *Heart Vessels* 2004; 19(2): 75-80.

93. Yang G, Sun X, Wang R: Hydrogen sulfide-induced apoptosis of human aorta smooth muscle cells via the activation of mitogen-activated protein kinases and caspase-3. *FASEB J* 2004; 18: 1782–1784.

94. Zanardo RC, Brancialeone V, Distrutti E, Fiorucci S, Cirino G, Wallace JL. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. *FASEB J* 2006; 20(12): 2118-20.

95. Medeiros JV, Bezerra VH, Gomes AS, Barbosa AL, Lima-Júnior RC, Soares PM, et al. Hydrogen sulfide prevents ethanol-induced gastric damage in mice: role of ATP-sensitive potassium channels and capsaicin-sensitive primary afferent neurons. *Pharmacol Exp Ther* 2009; 330(3): 764-70.

96. Medeiros JV, Gadelha GG, Lima SJ, Garcia JA, Soares PM, Santos AA, et al. Role of the NO/cGMP/K(ATP) pathway in the protective effects of sildenafil against ethanol-induced gastric damage in rats. *Br J Pharmacol* 2008; 153: 721–727.

97. 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): 1542-52.

98. 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_{ATP} channels. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 316: 325–335.

99. Cunha TM, Dal-Secco D, Verri WA Jr, Guerrero AT, Souza GR, Vieira SM, et al. Dual role of hydrogen sulfide in mechanical inflammatory hypernociception. *Eur J Pharmacol* 2008; 590(1-3): 127-35.

100. 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.

101. Tripatara P, Patel NS, Brancalone V, Renshaw D, Rocha J, Sepodes B, et al. Characterisation of cystathionine gamma-lyase/hydrogen sulphide pathway in ischaemia/reperfusion injury of the mouse kidney: an in vivo study. *Eur J Pharmacol* 2009; 606: 205-9.

102. d'Emmanuele di Villa Bianca R, Sorrentino R, Maffia P, Mirone V, Imbimbo C, Fusco F, et al. Hydrogen sulfide as a mediator of human corpus cavernosum smooth-muscle relaxation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 4513-8.

103. Ohia SE, Opere CA, Monjok EM, Kouamou G, Leday AM, Njie-Mbye YF. Role of hydrogen sulfide production in inhibitory action of L-cysteine on isolated porcine irides. *Curr Eye Res* 2010; 35(5): 402-7.

104. Patacchini R, Santicioli P, Giuliani S, Maggi CA. Hydrogen sulfide (H₂S) stimulates capsaicin-sensitive primary afferent neurons in the rat urinary bladder. *Br J Pharmacol* 2004; 142: 31–34.

105. Hui Y, Du J, Tang C, Bin G, Jiang H. Changes in arterial hydrogen sulfide (H₂S) content during septic shock and endotoxin shock in rats. *J Infect* 2003; 47(2):155-60.

106. Mok YY, Atan MS, Yoke Ping C, Zhong Jing W, Bhatia M, Mochhala S, et al. Role of hydrogen sulphide in haemorrhagic shock in the rat: protective effect of inhibitors of hydrogen sulphide biosynthesis. *Br J Pharmacol* 2004; 143(7): 881-9.

107. İlhan SO, Vural IM, Dileköz E, Öztürk GS, Sarioğlu Y. Enhancement effects of nicotine on neurogenic contractile responses in rabbit gastric fundus. *Eur J Pharmacol* 2007; 561(1-3):182-8.

108. Anuvarbekova A, Fincan GS, Vural IM, Özger SI, Ercan ZS, Utkan T, et al. Investigation of enhancement effects of nicotine on cholinergic neurotransmission in isolated rabbit gastric fundus: role of antioxidants. *Auton Autacoid Pharmacol* 2010; 30(3):179-84.

109. İmıl Duyuran N. İzole tavşan mide fundusunda kolinerjik aşırım üzerine kannabinoidlerin etkilerinin araştırılması. Doktora. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2011.

110. Hammer R. Muscarinic receptors in the stomach. *Scan J Gastroenterol Suppl* 1980; 66: 5-11.

111. Lecler PG, Lefebvre RA. Characterization of pre and post synaptic muscarinic receptors in circular muscle of pig gastric fundus. *Br J Pharmacol* 2002; 135: 1245-1254.

112. Ogishima M, Kaibara M, Veki S, Kurimato T, Taniyama K. Z-338 facilitates acetylcholine release from enteric neurons due to blockade of muscarinic otoreceptors in guinea-pig stomach. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 294: 33-37.

113. 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.

114. Kasparek MS, Linden DR, Farrugia G, Sarr MG. Hydrogen Sulfide Modulates Contractile Function in Rat Jejunum. *J Surg Res* 2011 Apr 22.

115. 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.

116. Wang R. The gasotransmitter role of hydrogen sulfide. *Antioxid Redox Signal* 2003 ;5(4): 493-501.

117. 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.

118. Zharikov SI, Block ER. Characterization of L-arginine uptake by plasma membrane vesicles isolated from cultured pulmonary artery endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1369(1): 173-83.

119. Zhao W, Ndisang JF, Wang R. Modulation of endogenous production of H₂S in rat tissues. *Can J Physiol Pharmacol.* 2003; 81(9): 848-53.

120. 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; 121(5): 420-3.

10. EKLER



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

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/ 126 - 9369
KONU:

04.02.2010

Sayın

Prof.Dr.Sevim ERCAN
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

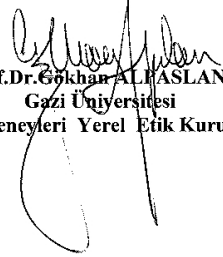
Araştırmacı grubu Prof.Dr.Sevim ERCAN, Prof.Dr.Yusuf SARIOĞLU, Uzm.Dr.Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN, Arş.Gör.Dr.Fatma İŞLİ, Arş.Gör.Dr.Şeniz YILDIRIM ve Dr.Şeniz GÖRAL ÖZDEMİR'den oluşan, G.Ü.ET-10.066 kod numaralı ve "*İzole Tavşan Mide Fundusunda Hidrojen Sülfür'ün Endojen Mediatorlerle Etkileşimi*" başlıklı 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-10.066 and entitled "*Interaction of hydrogen sulfide and endogenous mediators in the isolated rabbit gastric fundus*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste


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

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tezimin her aşamasında engin bilgi ve deneyimleriyle yoluma ışık tutan, gösterdikleri hoşgörü, yardım, destek ve emekleri için çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Sevim Ercan'a,

Doktora eğitimim sırasında bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, hoşgörüsü ve destekleri için çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Yusuf Sarioğlu'na,

Doktora eğitimimde emekleri olan Anabilim dalımızın tüm değerli öğretim üyelerine,

Değerli destekleriyle bilgi ve deneyimlerini aktaran tez izleme komitesinde yer alan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Aydan Babül'e,

Tez çalışmamın her aşamasında yardımını, bilgisini ve desteğini esirgmeden özverisiyle hep yanımda olan çok değerli arkadaşım Öğr. Gör. Dr. Gökçe Sevim Öztürk Fincan'a,

Laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Arş. Gör. Dr. Fatma İşli ve Arş. Gör. Dr. Şeniz Sırma Yıldırım'a,

Beni yetiştiren, bugünlere gelmemi sağlayan canım anneme, canım babama ve değerli destekleri için başta canım kızım Elifsu olmak üzere sevgili aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

11. ÖZGEÇMİŞ

Dr. Şeniz GÖRAL

Adı Soyadı: Şeniz Göral

Doğum yeri ve Tarihi: Ankara, 1968

İş Adresi: Gazi Üniversitesi Hastanesi Kan Merkezi ve Pediatrik Terapötik
Aferez Merkezi

Eğitimi:

Doktora eğitimi: 2006-2012 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi
Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara

Lisans: 1985-1992 Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Kuruluşlar:

1. Türk Farmakoloji Derneği
2. Anti-Aging ve Estetik Tıp Derneği
3. Ankara Tabip Odası

Projeler:

1. BAP 01/2011-27 - Çocuk ve erişkinlerde Hepatit A seroprevalansı
2. BAP 01/2011-33 - Kan bağıışçılarında parvovirus seroprevalansı
3. BAP 01/2011-43 - Erişkin ve çocuklarda tetanoz anti-toksoid düzeyinin yeterliliğinin sorgulanması; Tetanoz aşısının tekrar doz aralığı için farklı öneriler olabilir mi?
4. BAP 01/2010-61 - İzole tavşan mide fundusunda kolinerjik aşırım üzerine hidrojen sülfür (H₂S)' in etkisi

Bilimsel Toplantılar ve Kurslar:

1. 8. Gazi İç Hastalıkları Günleri. Mart 2011.
2. III. Anti-aging kongresi. Aralık 2010
3. Terapötik aferez sertifikasyon programı. Eylül – Aralık 2010
4. V. Ulusal hemaferes kongresi. Eylül 2010
5. Kan bankacılığı ve transfüzyon tıbbı sertifikasyon programı. Şubat – Temmuz 2010
6. Aile hekimliği 1. aşam uyum eğitimi sertifikası. Mart 2010.
7. VII. Deney hayvanları uygulama ve etik kursu. Aralık 2009.
8. 5.Gazi İç Hastalıkları Günleri. Mart 2008
9. II. Ulusal kan merkezleri ve transfüzyon tıbbı kongresi Kasım 2007
10. 4.Gazi İç Hastalıkları Günleri. Mart 2007.
11. Yüksek doz kemoterapi ve hematopoietik kök hücre bankacılığı Haziran 2005
12. VI. Febril nötropeni sempozyumu Şubat 2005
13. Neonatal resüsitasyon programı uygulayıcı sertifikası Ekim 2003
14. Türk Tabipler Birliği işyeri hekimliği sertifikasyon programı Aralık 2002
15. 1. Ankara acil yardım ve kurtarma hizmetleri doktor eğitim kursu Kasım - Aralık 1998

Ulusal Kongre - Sempozyumlarda Bildiri ve Posterler:

1. **Göral Özdemir Ş**, İşli F, Yıldırım ŞS, Öztürk Fincan GS, Ercan SZ, Sarıoğlu Y. İzole tavşan mide fundusunda kolinerjik aşırım üzerine hidrojen sülfür (H₂S)' in etkisi. XXI. Ulusal Farmakoloji Kongresi. Ekim 2011.
2. Yenicesu İ, Dilsiz G, **Göral Özdemir Ş**. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kan Merkezi'ne başvuran donörlerin yıllara göre kesin red nedenleri. II. Ulusal kan merkezleri ve transfüzyon tıbbı kongresi. Kasım 2007.
3. Yenicesu İ, Dilsiz G, **Göral Özdemir Ş**, Kurtçu Y. Kan merkezimize başvuran donörlerin demografik özellikleri ve davranış modelleri. II. Ulusal kan merkezleri ve transfüzyon tıbbı kongresi. Kasım 2007.
4. Yenicesu İ, Çoşkun Ö, Dilsiz G, **Göral Özdemir Ş**. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kan Merkezi'ne başvuran bağışçıların süregen ve durumluluk anksiyeteleri ile demografik özellikler, donör reaksiyonları ve seropozitivite arasındaki ilişki. II. Ulusal kan merkezleri ve transfüzyon tıbbı kongresi. Kasım 2007.
5. Sucak G, Rota S, Yeğin ZA, Yağcı M, **Özdemir Ş**, Haznedar R. Otolog ve allojeneik kök hücre nakli yapılan hastalarda sitomegalovirus reaktivasyonu 6. Febril Nötropeni Sempozyumu. Şubat 2005.

Kitap:

1. Solaroğlu A, **Göral Özdemir Ş**, Müftüoğlu E. Kadın hastalıkları ve doğum cep kitabı. Hekimler Yayın Birliği 2002.