

Diazepam ve Baklofenin Fare İnce ve Kalın Bağırsaklarının *In Vitro* Kasılımları Üzerine Etkileri

Ali KARADENİZ^{1*}

İlksin PİŞKİN²

Murat SERT³

¹Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Erzurum

²Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara

³Ankara Üniversitesi, Sağlık Kültür ve Spor Dairesi Başkanlığı, Ankara

*e-posta: karadenizali@atauni.edu.tr

Özet: Bu çalışmada, diazepam ve baklofenin farelerde *in vitro* ince ve kalın bağırsak düz kas kasılımları üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışmada 80–100 gram ağırlığında 14 adet fareden elde edilen ince ve kalın bağırsak parçaları, içerisinde “Tyrode” çözeltisi bulunan izole organ banyosuna yerleştirildi. İlk önce bütün dokularda asetilkolinin (ACh) etkili dozunun tespiti için çeşitli konsantrasyonlarda ACh (10^{-6} M, 3×10^{-6} M, 10^{-5} M, 3×10^{-5} M, 10^{-4} M) organların bulunduğu ortama sırasıyla katılarak etkili doz tespit edildi. Elde edilen ACh'nin etkili dozunun yalnız, diazepam (10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M) ve baklofenin (10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) çeşitli konsantrasyonlarının varlığında denenmesiyle oluşan cevaplar incelendi. İnce ve kalın bağırsak düz kaslarında en büyük cevapların oluştuğu 3×10^{-5} M'lık ACh derişimi bütün segmentler için etkili konsantrasyon olarak tespit edildi. Diazepamın en düşük konsantrasyonu (10^{-6} M) hariç diğer derişimlerinin (10^{-5} M, 10^{-4} M) varlığında elde edilen amplitüt değerlerinin azaldığı, latent sürelerinin ise uzadığı tespit edildi. Bu durum, fare ince ve kalın bağırsak düz kas kasılımlarını diazepamın ancak artan konsantrasyonlarına bağlı bir şekilde baskılayabildiğini gösterdi. Baklofenin ise yine en yoğun derişimi (10^{-3} M) hariç diğer iki derişiminde (10^{-4} M, 10^{-3} M) ACh'nin yalnız denenmesine göre bütün dokuların hem latent sürelerde hem de amplitütlerinde önemli farklılıklar oluşturmadığı gözlemlendi. Sonuç olarak *in vitro* koşullarda farelerde ince ve kalın bağırsak düz kasında ACh kaynaklı kasılımları diazepamın inhibe edici etkisinin baklofene oranla daha güçlü olduğu görüldü.

Anahtar kelimeler: Baklofen, Diazepam, *in vitro* kasılım, fare, ince ve kalın bağırsak

The Effects of Diazepam and Baclofen on The *In Vitro* Contraction of Small and Large Intestines in Mice

Summary: In this study, the effects of diazepam and baclofen on the *in vitro* smooth muscle contractions of small and large intestines of mice were examined. In the study, the tissues of small and large intestines of 14 mice weighting 80-100 g were placed into the isolated organ bath including “Tyrode” solution. Firstly, in order to determine the effective dosage of acetylcholine (ACh) on all tissues, the effective dose determined by putting various concentrations of ACh (10^{-6} M, 3×10^{-6} M, 10^{-5} M, 3×10^{-5} M, 10^{-4} M) into the medium including organs respectively. The responses of the application of the effective dose of ACh alone in the presence of various concentrations of diazepam (10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M) and baclofen baklofenin (10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) were examined. 3×10^{-5} M ACh concentration having the biggest responses on the smooth muscles of small and large intestine determined as the effective concentration for all segments. Except the lowest concentration of diazepam (10^{-6} M), the amplitude values obtained with the other concentrations (10^{-5} M, 10^{-4} M) decreased; on the other hand, latent duration increased. This situation showed that diazepam could only prevent the smooth muscle contractions of small and large intestines of mice due to its increasing concentrations. On the other hand, it observed that there wasn't any difference in both latent duration and amplitude values of all tissues for both concentration of baclofen (10^{-4} M, 10^{-3} M) except the highest concentration of baclofen (10^{-3} M) compared to the application of ACh alone. As a conclusion, it observed that diazepam had stronger inhibiting effect for ACh –induced contractions in the smooth muscle of small and large intestines of mice *in vitro* conditions compared to baclofen.

Key words: Baclofen, Diazepam, *in vitro* contraction, mouse, small and large intestine

GİRİŞ

Gamma-aminobutyric acid (GABA) salınımını düzenleyen otoreseptörler merkezi sinir sistemi nöronlarında bulunmanın yanı sıra insanlarda ve yüksek memelilerin enterik sinir sistemlerinde de bulunmaktadır (Bayer ve ark., 2002). Günümüze kadar yapılan çalışmalar ile otuzdan fazla GABA'erjik nörotransmitter maddelerin periferik dokulardaki varlığı tespit edilmiş olup bunlardan enterik sinir

sistemdekiler hariç diğerleri otonom özelliktedirler (Nut, 2006). İmmunhistokimyasal çalışmalarla özellikle myenterik pleksusta yüksek yoğunlukta GABA içeren sinir lifleri ve hücre gövdelerinin varlığı gastrointestinal kanal boyunca tespit edilmiştir (Zhou ve Galligan, 2000). Enterik sinir sistemindeki GABA'erjik nöronlar glutamik asit dekarboksilaz enzimi içerirler ve bu enzim ile glutamattan GABA sentezi yaparlar. GABA

sistemi temel olarak GABA_A ve GABA_B adı verilen iki alt reseptör tarafından aktive edilmektedir. Bu reseptörler *in vitro* ve *in vivo* ortamlarda gastrointestinal motiliteyi uyarabilir (Akıncı ve Schonfiel, 1999; Castelli ve ark., 1999).

Bir tür GABA analogu olan diazepam ve baklofen klinik olarak farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Diazepam, Veteriner Hekimlikte hayvanlarda yatıştırıcı olarak, çırpınma yapıcı maddelerle zehirlenmelerin sağaltımında, üretral tıkanma ve üretra büzgeci tonusunun arttığı durumlarda gevşetici amaçlarla kullanılmaktadır (Mars ve ark., 2004). Baklofen ise başlıca çizgili kaslarda spazm, rijidite ve klonus ile birlikte görülen nörolojik hastalıkların sağaltımında kullanılmak amacıyla üretilmiştir. Ayrıca medulla spinalisteki monosinaptik bağlantılar olarak bilinen merkezi sinir sistemi nöronlarının uyarılmasını baskılamakla birlikte GABA_B reseptörleri için spesifik bir liganuttur (Addolorato ve ark., 2006).

Diazepam ve baklofen ile günümüze kadar yapılan çalışmalarda oldukça farklı sonuçlar bildirilmiştir. Örneğin Meldrum ve ark. (1986) diazepamın düşük konsantrasyonlarının rat safra kesesi ve ileum kasılımları üzerine etki etmediğini ancak yüksek konsantrasyonda kasılımları inhibe ettiğini bildirilmişlerdir. Diazepam damar içi uygulamalarının ise mide bağırsak içeriğinin geçiş süreleri üzerine köpeklerde (Chandler ve ark., 1999) herhangi bir etki etmediği, ratlarda (Martinez ve ark. 1992) ise intestinal geçiş süresini kısalttığı bildirilmektedirler. Diğer taraftan baklofenin guinea pig ileum (Giotti ve ark., 1983) ve tavşan colon (Tonini ve ark., 1989) kaslarında tonus azalmasına neden olduğu yapılan çalışmalarla bildirilmiştir. Gentilini ve ark. (1992) baklofenin *in vitro* ortamda insanlarda jejunum longitudinal düz kas kasılımlarının hem amplitüt hemde frekansını azalttığını, daha yüksek konsantrasyonlarda ise kasılımları tamamen bloke ettiğini, oysa kolon sirküler ve longitudinal kas kasılımlarına ise etki etmediğini bildirmektedir. Bütün bu bilgiler GABA reseptörleri üzerinden etki eden ilaçların gastrointestinal motilite üzerine olan etkilerinin hayvan türlerine ve sindirim sisteminin bölümlerine göre oldukça farklı olduğunu göstermektedir. Bu nedenle merkezi sinir sistemi etkili çizgili kas gevşeticilerinin farelerde sindirim kanalı düz kası üzerine olan etkilerinin aydınlatılmasının ileride bu konuda yapılacak araştırmalara katkıda bulunacağı düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı GABA türevi iki ilaç olan diazepam ve baklofenin farelerin ince ve kalın bağırsaklarında *in vitro* ortamda kasılım yönünden segmentler arasında bir farklılık oluşturup oluşturmadığını incelemektir.

MATERYAL ve METOD

Araştırmada 80–100 gram ağırlığında Swiss albino ırkı 14 adet fare kullanıldı. Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik

Kurulu tarafından onaylanmıştır. Hayvanlara hafif eter anestezisi uygulanarak boyun eklemlerinden disloke edildi. Daha sonra ince bağırsak olarak distal ileum ve medial jejunum ile kalın bağırsak olarak proksimal ve distal kolonlar kullanıldı. Bunun için ileo-sekal kapağın 3–4 cm yukarısından distal ileum, 25 cm yukarısından ise jejunumun orta bölgesinden 2 cm ince bağırsak örnekleri çıkarıldı. Kalın bağırsak örnekleri ise sekumunun bitiminden 2 cm aşağıda proksimal kolon ve rektumun 2 cm önünden distal kolon olmak üzere yine 2 cm olarak alındı. Alınan bağırsak parçaları Tyrode (mM cinsinden 1 lt'de, NaCl, 136.9; KCl, 2.7; CaCl₂, 1.8; MgCl₂, 1.0; NaHCO₃, 11.9; NaH₂PO₄, 0.4; glikoz, 5.0) solüsyonu ile temizlendikten sonra bağırsak mukozasına zarar verilmeden mezenter dokularından temizlendi. Daha sonra hazırlanan bağırsak parçaları, organ banyosunun her iki kadehinde eş zamanlı olarak çalışılırken diğer iki parça +5 °C'de buzdolabı ısısında bekletildi. Bağırsak parçaları, 37 °C'lik bir ısıda ve % 95 O₂ - % 5 CO₂ gaz karışımı ile sürekli havalandırılan 15 ml'lik Tyrode çözeltisi içerisinde olacak şekilde izole organ banyosunun kadehlerine yerleştirildi.

Çalışmada kullanılan dokulara uygulanan protokoller Tablo 1'de özetlenmiştir. Buna göre dokulara başlangıçta 2 gramlık bir gerim uygulandı ve dokuların ortama alışmaları için en az 1 saat süreyle ve her 15 dakikada bir değiştirmek koşulu ile tyrode çözeltisi içerisinde bekletildi (Tablo 1). Uyum süresini takiben ilk önce 6 adet farede asetilkolinin (Ach) bağırsak segmentlerindeki etkili derişimini bulmak için doz cevap eğrisi oluşturuldu (n = 6). Bunun için dokunun bulunduğu çözelti içerisine Ach'nin *in vitro* ortamda etkili olduğu bilinen 5 farklı dozu (10⁻⁶ M, 3x10⁻⁶ M, 10⁻⁵ M, 3x10⁻⁵ M ve 10⁻⁴ M) kümülatif olmayan bir şekilde verilerek her doku için en etkili doz tespit edildi. Ach'nin her konsantrasyonu verildikten sonra tyrode çözeltisi ikişer dakika arayla iki kez değiştirilerek dokunun önceki tonusuna kavuşması sağlandı. Bu uygulamanın sonunda asetilkolinin etkili dozu bütün segmentler için 3x10⁻⁵ M olarak tespit edildi. Geriye kalan 8 farede ise Ach'nin bu en etkili dozu diazepamın 10⁻⁶ M, 10⁻⁵ M ve 10⁻⁴ M'lık ve baklofeninde 10⁻⁵ M, 10⁻⁴ M ve 10⁻³ M'lık literatürlerde bildirilen (Sert ve Pişkin, 2004) konsantrasyonları varlığında tekrarlandı (n = 8). Bu uygulamalar arasında her bir konsantrasyona verdikleri cevaplar kaydedilerek yıkama işlemleri tekrar edildi. Baklofen ile olan uygulamalara başlamadan önce doku dinlenmesi için 45 dakika "Tyrode" çözeltisi içerisinde bekletilerek dinlendirdi. Bağırsak düz kaslarına ait alınan bu cevaplar, izometrik "force transducer" (Force Displacement Transducer 10-A) ve "acquisition system" (MP30 Model Biopac WSW) yardımı ile bilgisayarda görüntülenerek kayıt edildi. Asetilkolinin tek başına, ayrıca diazepam ve baklofen varlığında uygulanması

sonucu oluşan kasılmı cevapları gram cinsinden (amplitüt) ve asetilkolin uygulamasından cevabın oluşmaya başladığı ana kadar geçen süreler (latent süre) saniye cinsinden değerlendirildi. İstatistiksel yöntem olarak, Ach'nin etkili dozunun tespiti ve etkili Ach dozu varlığında uygulanan konsantrasyonların bağırsağın farklı

bölümünde oluşturdukları amplitüt ve latent süre değerleri arasında yapılan karşılaştırmalarda "Varyans analizi" ile "Duncan" testleri uygulandı. Çalışmada $p < 0.05$ fark düzeyi istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

Tablo 1. İzole organ banyosunda fare ince ve kalın bağırsak segmentleri üzerine uygulanan protokoller.

Uygulama	Protokol
İnkübasyon	Tyrode içersinde bekleme (1 saat)
Uygulama I	Ach (10^{-6} M, 3×10^{-6} M, 10^{-5} M, 3×10^{-5} M ve 10^{-4} M)
Uygulama II	Diazepam (10^{-6} M, 10^{-5} M ve 10^{-4} M) + 3×10^{-5} M (Ach)
Uygulama III	Baklofen (10^{-5} M, 10^{-4} M ve 10^{-3} M) + 3×10^{-5} M (Ach)

BULGULAR

Asetilkolinin etkili dozuna ait elde edilen kasılmı (gr) değerleri Tablo 2'de verilmiştir. Ayrıca asetilkolinin etkili dozunun (3×10^{-5} M) yalnız, diazepam (10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M) ve baklofenin (10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) çeşitli konsantrasyonları varlığında fare ince ve kalın bağırsak düz kaslarına uygulanmasıyla elde edilen amplitüt (gr) ve latent süre (sn) değerleri Tablo 3 ve Tablo 4'de verilmiştir.

Fare ince ve kalın bağırsak düz kasları üzerinde asetilkolinin 10^{-6} M, 3×10^{-6} M, 10^{-5} M, 3×10^{-5} M ve 10^{-4} M'lık konsantrasyonlarının oluşturduğu kasılmıların amplitütleri kendi içinde karşılaştırıldığında konsantrasyonun yükselmesine bağlı olarak bütün dokuların kasılmı değerlerinde en yoğun derişim hariç rakamsal bir artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu rakamsal artışların bütün dokularda konsantrasyonlar arasında istatistiksel yönden önemli farklılıklar ($p < 0.05$) oluşturduğu gözlemlendi (Tablo 2).

Tablo 2. Farelerde asetilkolinin çeşitli konsantrasyonlarının ince ve kalın bağırsak düz kaslarına uygulanmasıyla elde edilen amplitüt (gr) değerleri (n = 6).

Konsantrasyon (M)	Amplitüt (gr)			
	Jejunum	İleum	Proksimal kolon	Distal kolon
10^{-6}	2.16 ± 0.22^{aA}	1.66 ± 0.12^{aB}	2.35 ± 0.32^{aA}	2.84 ± 0.30^{aC}
3×10^{-6}	2.93 ± 0.18^{bA}	2.12 ± 0.28^{bB}	2.75 ± 0.25^{bA}	3.26 ± 0.24^{bC}
10^{-5}	3.54 ± 0.40^{cA}	2.65 ± 0.30^{cB}	3.20 ± 0.35^{cA}	3.74 ± 0.35^{cA}
3×10^{-5}	4.18 ± 0.32^{dA}	3.20 ± 0.22^{dB}	3.85 ± 0.22^{dA}	4.52 ± 0.26^{dC}
10^{-4}	3.75 ± 0.20^{cA}	2.82 ± 0.20^{cB}	3.55 ± 0.30^{cC}	4.05 ± 0.15^{cA}

Aynı sütunda (a, b, c, d) farklı harfleri taşıyan konsantrasyonlar ve aynı satırda farklı harf taşıyan (A, B, C) dokular arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$).

Diazepamın bütün konsantrasyonlarının (10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M) varlığında asetilkolinin etkili dozunun (3×10^{-5} M) her doku için vermiş olduğu cevaplar kendi içerisinde karşılaştırıldığında en düşük derişim hariç, yine bütün dokularda olmak üzere amplitütlerde istatistiksel olarak önemli bir azalma meydana

gelirken ($p < 0.05$) latent sürelerde ise uzama ($p < 0.05$) belirlendi (Tablo 3 ve Tablo 4). Ayrıca diazepamın her bir konsantrasyonunun her bağırsak segmentinde meydana getirdiği kasılmıların latent süreleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak önemli bir farklılık tespit edilemedi (Tablo 4)

Tablo 3. Farelerde asetilkolinin etkili dozunun (3×10^{-5} M) yalnız, diazepam (10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M) ve baklofenin (10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) çeşitli konsantrasyonları varlığında ince ve kalın bağırsak düz kaslarına uygulanmasıyla elde edilen amplitüt (gr) değerleri (n = 8).

Konsantrasyon (M)	Amplitüt (gr)			
	Jejunum	İleum	Proksimal kolon	Distal kolon
Ach 3×10^{-5}	2.48 ± 0.20^{aA}	2.52 ± 0.15^{aA}	3.15 ± 0.30^{aB}	3.24 ± 0.25^{aB}
Diazepam 10^{-6}	2.23 ± 0.15^{aA}	2.30 ± 0.26^{aA}	2.85 ± 0.24^{aB}	3.06 ± 0.20^{aB}
Diazepam 10^{-5}	1.74 ± 0.20^{bA}	2.05 ± 0.30^{bB}	2.50 ± 0.18^{bB}	2.54 ± 0.25^{bB}
Diazepam 10^{-4}	1.28 ± 0.22^{cA}	1.80 ± 0.18^{cB}	1.95 ± 0.26^{cB}	2.03 ± 0.22^{cB}
Baklofen 10^{-5}	2.40 ± 0.30^{aA}	2.45 ± 0.25^{aA}	3.00 ± 0.30^{aB}	3.18 ± 0.18^{aB}
Baklofen 10^{-4}	2.25 ± 0.24^{aA}	2.30 ± 0.20^{aA}	2.80 ± 0.28^{aB}	3.00 ± 0.25^{aB}
Baklofen 10^{-3}	2.05 ± 0.20^{dA}	2.10 ± 0.30^{dA}	2.55 ± 0.25^{dB}	2.75 ± 0.30^{dB}

Aynı sütunda (a, b, c, d) farklı harfleri taşıyan konsantrasyonlar ve aynı satırda farklı harf taşıyan (A, B) dokular arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$).

Ancak baklofende ise yine bütün konsantrasyonlarının (10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) varlığında asetilkolinin etkili dozunun (3×10^{-5} M) her dokuya verdiği cevaplar kendi içerisinde incelendiğinde baklofenin en yüksek derişimi hariç diğer konsantrasyonların bütün dokuların amplitütlerinde bir azalma, latent sürelerinde ise uzamaya neden olduğu görülse de bunun istatistiksel olarak önemli olmadığı gözlemlendi. Sadece baklofenin en yüksek derişiminde (10^{-3} M) amplitütlerde istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p < 0.05$) latent sürenin ise uzadığı ($p < 0.05$)

Tablo 4. Farelerde asetilkolinin etkili dozunun (3×10^{-5} M) yalnız, diazepam (10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M) ve baklofenin (10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M) çeşitli konsantrasyonları varlığında ince ve kalın bağırsak düz kaslarına uygulanmasıyla elde edilen latent süre (sn) değerleri (n = 8).

Konsantrasyon (M)	Latent süre (sn)			
	Jejunum	İleum	Proksimal kolon	Distal kolon
Ach 3×10^{-5}	3.20 ± 0.25^a	3.26 ± 0.32^a	3.40 ± 0.35^a	3.55 ± 0.30^a
Diazepam 10^{-6}	3.30 ± 0.20^a	3.40 ± 0.38^a	3.55 ± 0.25^a	3.75 ± 0.25^a
Diazepam 10^{-5}	4.15 ± 0.40^b	4.05 ± 0.30^b	4.30 ± 0.45^b	4.10 ± 0.25^a
Diazepam 10^{-4}	5.10 ± 0.35^c	4.85 ± 0.20^c	5.05 ± 0.30^c	4.90 ± 0.20^b
Baklofen 10^{-5}	3.30 ± 0.20^a	3.35 ± 0.30^a	3.55 ± 0.25^a	3.80 ± 0.15^a
Baklofen 10^{-4}	3.80 ± 0.22^a	3.65 ± 0.40^a	3.95 ± 0.30^a	4.00 ± 0.35^a
Baklofen 10^{-3}	4.40 ± 0.30^d	4.45 ± 0.25^d	4.20 ± 0.35^d	4.95 ± 0.40^c

Aynı sütunda farklı harf (a, b, c, d) taşıyan konsantrasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$).

TARTIŞMA

Sunulan bu çalışmada, benzodiazepin türevleri olan diazepam ve baklofenin fare ince ve kalın bağırsak düz kas kasılımları üzerine olan etkileri incelendi. Çalışmada ACh'nin çeşitli derişimlerine verilen cevaplar incelendiğinde ACh'nin 3×10^{-5} M konsantrasyonunun bütün dokularda en yüksek kasılımı oluşturduğu görüldü. Bununla birlikte elde edilen bu en yüksek cevap ile en düşük ACh (10^{-6} M) konsantrasyonu arasında kalan derişimlere verilen cevaplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). ACh'nin en yüksek derişimi olan 10^{-4} M ise bütün dokularda bir önceki konsantrasyona göre gevşemeye neden oldu. Bu nedenle çalışma boyunca bütün dokularda etkili ACh konsantrasyonu olarak 3×10^{-5} M derişim kullanıldı. ACh uygulamalarından elde edilen kasılımların fare ince ve kalın bağırsak düz kasında bulunan muskarinik reseptörler aracılığıyla gerçekleştiği bilinmektedir. Ayrıca ince ve kalın bağırsaklarda yaygın olarak M_2 ve M_3 tipi muskarinik reseptörlerin bulunduğu ve bunların ACh aracılığıyla bağırsaklarda kasılım meydana getirdiği pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Ehlert ve ark., 1999; Fareashi ve ark., 2001).

Diazepamın en düşük derişiminin (10^{-6} M) varlığında uygulanan etkili ACh konsantrasyonu ile elde edilen kasılım cevapları ile ACh'nin etkili konsantrasyonun tek başına oluşturduğu kasılımlar arasında bütün segmentlerde istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunamadı. Bu durum diazepamın en düşük konsantrasyonlarının fare ince ve kalın bağırsak düz kası üzerinde ACh kaynaklı kasılımları inhibe edemediğini gösterdi. Diazepamın düşük konsantrasyonlarının fare kalp

görüldü (Tablo 2 ve Tablo 4). Diazepamda olduğu gibi baklofenin bütün konsantrasyonlarının her bir bağırsak segmentinde meydana getirdiği kasılımların latent süreleri arasında ise yine istatistiksel olarak önemli bir farklılık tespit edilemedi (Tablo 4). Ayrıca baklofenin her bir konsantrasyonlarının her bağırsak segmentinde meydana getirdiği kasılımların latent süreleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise diazepamda olduğu gibi istatistiksel olarak önemli bir farklılık tespit edilemedi (Tablo 4).

kası (Clanachan ve Marshall, 1980), safra kesesi (Kubota ve ark., 1985) ve ileumu (Meldrum ve ark., 1986) ile rat vas deferens (Clanachan ve Marshall, 1980) üzerinde de inhibe edici etkisinin olmadığını bildiren pek çok çalışma mevcuttur. Bununla birlikte diazepamın diğer orta (10^{-5} M) ve yüksek (10^{-4} M) derişimleri varlığında elde edilen kasılım cevapları ile ACh'nin etkili konsantrasyonun tek başına oluşturduğu kasılımlar arasında bütün segmentlerde istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edildi ($p < 0.05$). Bu sonuç diazepamın farede ince ve kalın bağırsak düz kas kasılımlarını artıran (10^{-4} M) konsantrasyona bağlı olarak ancak yarışmalı bir şekilde baskılayabildiğini göstermektedir. Ishii ve ark. (1982) farenin izole longitudinal ileum kas dokularında 10^{-4} M'lık diazepam derişiminin kasılım cevaplarını % 97.8 oranında inhibe ettiğini bildirmektedirler. Ayrıca yine diğer bir çalışmada Meldrum ve ark. (1986) fare ileumu ve safra kesesinde diazepamın sadece yüksek dozlarının kasılımları baskıladığını haber vermektedirler. Elde edilen bu sonuçlara göre farede ince ve kalın bağırsak düz kaslarında ACh'nin oluşturduğu kasılımları diazepamın konsantrasyona bağlı olarak inhibe ettiği görüldü. Bu durum, postgangliyonik kolinerjik nöronların uyarılmasında GABA'nın etkisine bağlanmaktadır (Ong ve ark., 1983). Diğer taraftan Ong ve ark. (1983) fare ince ve kalın bağırsaklarında bulunan muskarinik reseptör tipinin, GABA salınımını düzenleyen GABA_A reseptörleri ile uygunluk gösterdiğini bildirmektedirler. Bu durumda diazepam fare bağırsak segmentlerinde, benzodiazepin reseptörlerine bağlanarak GABA_A

reseptörlerinin aktive olmasına neden olmaktadır. Sonuçta postgangliyonik kolinerjik nöronlardan salınan ACh inhibe olmakta ve bağırsak segmentlerinin kasılım gücü azalmaktadır. GABA reseptörlerinin ince ve kalın bağırsak hareketlerinin düzenleyici inhibitörü olduğu bildirimleri de bu düşüncüyü destekler niteliktedir (Kerr ve ark., 1983).

Baklofenin üç farklı derişiminin varlığında ACh'nin en etkili konsantrasyonunun uygulanması ile elde edilen kasılımların, derişimin artmasına bağlı olarak azaldığı görüldü. Ancak bu azalan kasılımların en yoğun baklofen derişimi hariç ($p < 0.05$) istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edildi. Giotti ve ark. (1983) fare ince ve kalın bağırsak düz kaslarında baklofenin GABA_B reseptörlerin uyarımında oldukça etkili olduğu ve elektriksel alan stimülasyonu ile yapılan kasılımlar üzerine çok az inhibisyon yaptığını bildirmektedirler. Ayrıca fare (Carai ve ark., 2002) ve tavşanların (Tonini ve ark., 1989) ince ve kalın bağırsak düz kaslarında ACh' ile oluşturulan kasılımlarda baklofenin inhibisyon yapmadığı bildirimleri de sonuçlarımızı desteklemektedir. Ayyat ve ark. (1984)'nın baklofenin hem *in vivo* hem *in vitro* ortamlarda rat, tavşan ve insan sidik kesesi düz kaslarındaki kasılımları inhibe edici bir etkisinin olmadığı bildirimleri de sonuçlarımızı destekleyen diğer bir bildirimdir. Baklofen bir GABA_B reseptör agonisti olduğu için düz kaslar üzerine olan etkisini bu reseptörler aracılığıyla oluşturmaktadır. Bununla birlikte ACh kaynaklı kasılımları ise GABA_A reseptörlerince baskılandığı bilinmektedir (Grider ve Makhlof, 1992). Sunulan bu çalışmada baklofenin bütün dokularda diazepam kadar güçlü gevşemelere neden olamayışını bir GABA_B reseptör agonisti olmasından kaynaklanabileceğini düşünüyoruz.

Sonuç olarak, fare ince ve kalın bağırsak düz kasında ACh kaynaklı kasılımları diazepamın inhibe edici, baklofenin ise bu kasılımları etkilemediği tespit edildi. Diazepamın bu etkiyi bağırsaklarda bulunan muskarinik ve GABA_A reseptörleri aktive ederek gerçekleştirdiği düşüncesine varıldı. Diazepamın, farelerde konsantrasyona bağlı olarak ince ve kalın bağırsaklarda bulunan postgangliyonik kolinerjik nöronları inhibe ederek, ince ve kalın bağırsak motilitesini azaltabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Addolorato, G., Leggio, L., Agabio, R., Colombo, G., Gasbarrini, G., 2006. Baclofen: a new drug for the treatment of alcohol dependence. *Int. J. Clin. Pract.* 60, 1003–1008.
- Akıncı, MK., Schonfiel, PR., 1999. Widespread expression of GABAA receptor subunits in peripheral tissues. *Neurosci. Res.* 35, 145–153.
- Ayyat, FM., Lloyd, LK., Kuhlemeier, KV., 1984. Effect of skeletal muscle relaxants on bladder smooth muscle. *J. Urol.* 132, 372–375.
- Bayer, S., Crenner, F., Aunis, D., Angel, F., 2002. Effects of GABA on circular smooth muscle spontaneous activities of rat distal colon. *Life Sci.* 71, 911–925.
- Carai, MA., Agabio, R., Lobina, C., Reali, R., Vacca, G., Colombo, G., Gessa, GL., 2002. GABAB-receptor mediation of the inhibitory effect of gamma-hydroxybutyric acid on intestinal motility in mice. *Life Sci.* 70, 3059–3067.
- Castelli, MP., Ingianni, A., Stefanini, E., Gessa, GL., 1999. Distribution of GABAB receptor mRNAs in the rat brain and peripheral organs. *Life Sci.* 64, 1321–1328.
- Chandler, ML., Guilford, WG., Lawoko, CR., Whitem, T., 1999. Gastric emptying and intestinal transit times of radiopaque markers in cats fed a high-fiber diet with and without low-dose intravenous diazepam. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 40, 3–8.
- Clanachan, AS., Marshall, RJ., 1980. Potentiation of effects of adenosine on isolated cardiac and smooth muscle by diazepam. *Br. J. Pharmacol.* 71, 459–466.
- Ehlert, FJ., Sawyer GW., Esqueda EE., 1999. Contractile role of M2 and M3 muscarinic receptors in gastrointestinal smooth muscle. *Life Sci.* 64 (6/7), 387–394.
- Fareashi, S., Ikeda, K., Miyata, K., Yamada, T., Honda, K., 2001. A method for measurement of muscarinic receptor-mediated responses in dissociated single colon longitudinal smooth muscle cells. *J. Pharm. Toxicol. Methods*, 45, 199–205.
- Gentilini, G., Franchi-Micheli, S., Pantalone, D., 1992. GABAB receptor-mediated mechanisms in human intestine *in vitro*. *Eur. J. Pharmacol.* 217, 9–14.
- Giotti, A., Luzzi, S., Spagnesi, S., Ziletti, L., 1983. GABA_A and GABA_B receptor mediated effects in guinea-pig ileum. *Br. J. Pharmacol.* 78, 469–478.
- Grider, JR., Makhlof, GM., 1992. Enteric GABA, mode of action and role in the regulation of the peristaltic reflex. *Am. J. Physiol.* 262, 690–694.
- Ishii, K., Kano, M., Akutagawa, M., Makino, M., Tanaka, T., Ando, J., 1982. Effects of flurazepam and diazepam in isolated guinea-pig taenia coli and longitudinal muscle. *Eur. J. Pharm.*, 83, 329–333.
- Kerr, DIB., Krantis, A., 1983. Uptake and stimulus-evoked release of [³H] gamma-aminobutyric acid by myenteric nerves of guinea-pig. *Br. J. Pharmacol.* 78, 271–276.
- Kubota, K., Sugaya, K., Sunagane, N., Matsuda, I., Uruno, T., 1985. Cholecystokinin antagonism by benzodiazepines in the contractile response of the isolated guinea-pig gallbladder. *Eur. J. Pharm.*, 110, 225–231.

- Mars, T.C., 2004. The role of diazepam in the treatment of nerve agent poisoning in a civilian population. *Toxicol. Rev.* 23, 145–157.
- Martinez, J., Fargeas, MJ., Bueno, L., 1992. Gastrointestinal motor alterations induced by precipitated benzodiazepine withdrawal in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2603, 1067–172.
- Meldrum, LA., Bojarski, JC., Calam, J., 1986. Effects of benzodiazepines on responses of guinea-pig ileum and gall-bladder and rat pancreatic acini to cholecystokinin. *Eur. J. Pharm.* 123, 427–432.
- Nutt, D., 2006. GABAA receptors: subtypes, regional distribution, and function. *J Clin Sleep Med.* 2, S7-S11.
- Ong, J., Kerr, DIB., 1983. GABA_A and GABA_B receptor-mediated modification of intestinal motility. *Eur. J. Pharmacol.* 86, 9–17.
- Sert, M., Pişkin, İ., 2004. Diazepam ve baklofenin kobaylarda sidik kesesi düz kası üzerine etkileri. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 51, 189–193.
- Tonini, M., Crema, A., Frigo, GM., Rizzi, CA., Manzo, L., Candura, SM., Onori, L., 1989. An in vitro study of the relationship between GABA receptor function and propulsive motility in the distal colon of the rabbit. *Br. J. Pharmacol.* 98, 1109–1118.
- Zhou, X., Galligan, J.J., 2000. GABA(A) receptors on calbindin-immunoreactive myenteric neurons of guinea pig intestine. *J. Auton. Nerv. Syst.* 78, 122–135.