

Sıçan İzole Duodenum ve İleumunda GABA'nın Etkileri

Dr. S. Murat KESİM

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, SAMSUN

- ✓ Sıçan izole duodenum ve ileumunun spontan aktivitesi üzerine γ -aminobutirik asid (GABA) ve selektif reseptör agonistleri musimol ($GABA_A$) ve (\pm) baklofen ($GABA_B$)'in etkileri invitro olarak çalışılmıştır. Sıçan izole duodenum ve ileumunda GABA 10^{-12} M- 10^{-5} M, musimol 10^{-11} M- 10^{-3} M doz aralıklarında konsantrasyona bağımlı kasılmaya neden oldu. GABA ve musimolün neden olduğu kasılmalar 10^{-6} M bikukulin ile kompetitif olarak antagonize oldu. GABA ve musimolün ED_{50} değerleri benzerdi. 10^{-4} M pikrotoksin GABA ve musimolün etkisini antagonize etti. Fakat (\pm) baklofeni etkilemedi. (\pm) Baklofen 10^{-7} M- 10^{-3} M doz aralıklarında konsantrasyona bağımlı kasılmaya neden olurken, yüksek dozlarda (3×10^{-3} - 3×10^{-2}) yalnız gevşemeye neden oldu. (\pm) Baklofenin etkisi 10^{-5} M CGP35348 tarafından kompetitif olarak antagonize oldu. Bikukulin ise etkilemedi. GABA, musimol ve (\pm) baklofenin neden olduğu kasılmalar 3×10^{-6} M atropin tarafından antagonize olurken, heksametyonyum (3×10^{-4} M), rezepin (3×10^{-6} M), indometazin (10^{-5} M), aminofilin (2×10^{-4} M) ve nalokson (10^{-5} M) tarafından antagonize edilemedi. (\pm) Baklofenin neden olduğu gevşemeler atropin (3×10^{-6} M), nalokson (10^{-5} M), aminofilin (2×10^{-4} M), rezepin (3×10^{-6} M), heksametyonyum (3×10^{-4} M) ile önlenemedi.

Bu sonuçlar göstermiştir ki sıçan izole duodenum ve ileumundaki GABAerjik etkiler $GABA_A$ ve $GABA_B$ bölgeleri olmak üzere iki farklı farmakolojik reseptör aracılığı ile oluşmaktadır. GABA, sıçan izole duodenum ve ileumunda postsinaptik $GABA_A$ reseptörler ile asetilkolin salınımını artırarak kasılmaya neden olmaktadır. Keza eksitator ve inhibitör nonadrenerjik-nonkolinerjik (NANC) nöronlar üzerinde $GABA_B$ reseptörler bulunmaktadır ve bu reseptörlere agonistlerin etkisi sonucu kasılma ve gevşeme meydana gelmektedir.

Anahtar kelimeler: $GABA_A$ -agonist-antagonist, $GABA_B$ -agonist-antagonist, duodenum, ileum, sıçan

✓ The Effects of GABA in Isolated Rat Duodenum and Ileum

The actions of γ -aminobutyric acid (GABA) and the receptor selective agonists muscimol ($GABA_A$), (\pm) baclofen ($GABA_B$) on spontaneous activity of rat duodenum and ileum were studied in vitro. GABA (10^{-12} M- 10^{-5} M), muscimol (10^{-11} M- 10^{-3} M) induced concentration-dependent contraction in isolated rat duodenum and ileum. GABA- and muscimol-induced concentration-dependent contraction was competitively antagonized by 10^{-6} M bicuculline. Their ED_{50} values were similar. 10^{-4} M picrotoxin antagonized the effect of GABA and muscimol but did not the effects of (\pm) baclofen. (\pm) Baclofen (10^{-7} M- 10^{-3} M) induced concentration-dependent contraction while at higher doses (3×10^{-3} M- 3×10^{-2} M) caused only relaxation. The effects of (\pm) baclofen was competitively antagonized by 10^{-5} M CGP35348 but did not affect by bicuculline. GABA- muscimol- and (\pm) baclofen-induced contraction antagonized by 3×10^{-6} M atropine but did not affect by hexamethonium (3×10^{-4} M), reserpine (3×10^{-6} M), indomethacin (10^{-5} M), aminophylline (2×10^{-4} M) or naloxone (10^{-5} M) pretreatment. (\pm) Baclofen induced relaxation not affected by atropine (3×10^{-6} M), naloxone (10^{-5} M), aminophylline (2×10^{-4} M), reserpine (3×10^{-6} M), hexamethonium (3×10^{-4} M) pretreatment.

These results show that GABAergic actions in isolated rat duodenum and ileum are mediated by two pharmacologically distinct neural receptor populations, the $GABA_A$ and

GABA_B sites. GABA can act at postsynaptic GABA_A receptors to elicit acetylcholine release from isolated rat duodenum and ileum and by this way can induce contractions. There are also GABA_B receptors on excitatory and inhibitory non-adrenergic non-cholinergic (NANC) neurons and agonist action at these neurons and the effect of agonists to these receptors results in contraction and relaxation.

Key words: GABA_A-agonist-antagonist, GABA_B-receptor agonist-antagonist, duodenum, ileum, rat

GİRİŞ

GABA, çeşitli memelilerin periferik dokularında bulunmuştur. Birçok dokuda GABA konsantrasyonları serebral seviyenin %1'inden daha azdır⁽¹⁾. Ancak bazı dokulardaki (tuba uterina, pankreas hücreleri, barsak miyenterik pleksusu ve sıçan overleri) GABA seviyeleri serebral düzeylerden daha yüksektir⁽²⁾. GABA için beyinde yüksek afiniteli uptake sistemleri olduğu gibi periferik dokularda da (tiroid, over, tüpler, barsak, mesane, adrenal, karaciğer) benzer uptake mekanizmaları bulunmuştur⁽¹⁾. Kobay barsağının miyenterik pleksusunda [³H]-GABA'nın yüksek afiniteli uptake'i gösterilmiştir⁽³⁻⁶⁾. [³H]-GABA'nın bu uptake sistemi enterik sinir sisteminin hem glial hücreleri hem de nöronlarında bulunmuştur. Sıklıkla nöronal salınım da gösterilmiştir^(4,7). Elektrofizyolojik ve farmakolojik çalışmalar periferik dokularda GABA reseptörlerinin otonomik ganglionlarda lokalize olduğunu göstermektedir⁽¹⁾.

GABA'nın gastrointestinal sistemde nörotransmitter olabileceğine dair görüşler, enterik sinir sisteminde GABA'nın immunohistokimyasal metodlarla gösterilmesi ile kanıtlanmıştır⁽⁸⁻¹¹⁾. GABA, onun metabolik enzimleri (GAD, GABA-T) GABAerjik nöronlar ve barsak miyenterik pleksusunda bulunmuştur⁽¹²⁻¹⁶⁾. GABAerjik nöronların otoradyografik ve salınım çalışmaları ile miyenterik pleksusta yüksek afiniteli GABA uptake'i gösterilmiştir⁽⁶⁾.

Spesifik GABA reseptör aracılı cevaplar düz kash dokularda (barsak, tuba uterina, mesane, safra kesesi, vas deferens, kan da-

marları, anokoksigeus kası) ve endokrin organlarda (pankreas, adrenaller ve midenin antral mukozası) gösterilmiştir⁽¹⁾. GABA'nın hem santral hem de periferik sinir sistemindeki etkisine GABA_A ve GABA_B reseptörlerinin aracılık ettiği bildirilmiştir^(17,18). GABA'nın genellikle enterik sinir pleksusunun inhibitör ve eksitör nöronlarının her ikisini de etkilediği tanımlanmıştır⁽¹⁹⁾. Pleksus nöronlarında farmakolojik olarak GABA_A ve GABA_B reseptör bölgeleri tanımlanmıştır⁽⁸⁾. GABA_A reseptörünün neden olduğu kasılma klorüre bağımlı ve bikukuline duyarlıdır. GABA_B aracılıklı gevşemeler ise klorürden bağımsız ve nörotransmitter çıkışının depresyonuna bağlıdır⁽⁸⁾. Fakat GABA_B agonistleri ile yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bulunmuştur. Örneğin GABA_B agonistleri kobay ileumu ve kolonda^(20,21) gevşemeye neden olmakta, sıçanda ise gastrik motiliteyi stimüle etmektedir⁽²²⁾.

GABA barsakta kolinerjik postganglionik nöronlarda modülatör bir rol oynamaktadır. GABA bikukuline duyarlı reseptörlerle (GABA_A) klorür membran permeabilitesini arttırarak kolinerjik nöronları uyarmakta, kolinerjik sinirlerde lokalize bikukuline duyarlı, klorürden bağımsız diğer bir reseptör olan GABA_B reseptörleri aracılığıyla da inhibisyon oluşturmaktadır⁽²⁰⁾.

GABA'nın barsağın motilitesinin stimülasyonu ve spontan hareketi üzerine olan etkisi intrinsik kolinerjik nöronlardan asetilkolin salınımının dual etkisi sonucudur. Bikukuline duyarlı GABA_A reseptör aracılığı ile asetilkolin outputunda artış olmakta,

GABA_B reseptör aracılığı ile de asetilkolin salınımı azalmaktadır⁽²⁰⁾. Keza yapılan bir başka çalışmadaki veriler⁽²³⁾ göstermektedir ki GABA, presinaptik GABA_B reseptörlerini etkileyerek enterik nöronlardan asetilkolin salınımını inhibe etmekte ve spontan kasılmaları azaltmaktadır. Eksitator ve inhibitör nöronlardaki GABA_B reseptörleri ise kasılma ve gevşemeden sorumlu tutulmuşlardır⁽²³⁾.

Bizim bu çalışmadaki amacımız, sıçan izole duodenum ve ileumunun spontan aktivitesi üzerine GABA, musimol ve (±) baklofenin etkilerini ve bu etkilere aracılık eden reseptörlerin araştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneylerde, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi araştırma merkezi ve Farmakoloji bölümünden temin edilen 150-250 g ağırlığında her iki cinsten 143 adet sıçan randomize yöntemle seçilerek kullanılmıştır. Deneye alınmadan 24 saat önce hayvanların yemleri kesilmiş, su kısıtlaması yapılmamıştır. Sıçanlar eterle uyutulup boyunlarından kesilerek öldürüldüler. Daha sonra karın bölgesi açılarak duodenum ve ileumu çıkartıldı. Duodenum ve ileumdan 1 cm'lik longitudinal kesitler hazırlandı. Hazırlanan preparatlar %95 O₂ + %5 CO₂ ile havalandırılan, pH= 7-7.35 Krebs solüsyonu [(mM): NaCl: 119; NaHCO₃: 25; KCl: 4.7; CaCl₂: 2.5; MgSO₄:1.5; KH₂PO₄:1.2; Glukoz: 11] ihtiva eden ve 37 °C'deki 20 ml'lik izole organ banyosuna 0,5 g istirahat gerilimi altında asıldı. İnce barsağın spontan hareketleri Harvard Universal Ossilografda izotonik transduser kullanılarak kayıt edildi.

Preparatlar asıldıktan sonra yaklaşık 1 saat süreyle dinlenme periyodunda bırakıldı. Bu süre içinde 15'er dakika arayla yıkandı. Bir saat sonunda çalışmaya başlandı. İlaç banyo volümünün %1'ini geçmeyecek şekilde verildi.

Stimüle edilmemiş sıçan izole duodenum

ve ileumunun spontan hareketi üzerine GABA, GABA_A agonisti musimol ve GABA_B agonisti baklofenin etkilerine bakıldı. GABA, musimol ve baklofenin konsantrasyon- cevap eğrileri non-kümülatif olarak elde edildi. Ayrıca GABA, musimol ve baklofenin maksimum etkisinin yarısı kadar etki oluşturan EC₅₀ değerinin (-) logaritması olan pD₂ değerleri lineer regresyon metodu ile hesaplandı.

Sonra GABA ve musimol'ün sıçan izole duodenum ve ileumunda oluşturduğu etkilere karşın GABA_A antagonisti bikukulin (10⁻⁶ M)'in etkisine bakıldı. GABA ve musimol'ün bikukulin varlığında oluşan konsantrasyon- cevap eğrisi non-kümülatif olarak elde edildi. Ayrıca bikukuline ait pA₂ değerleri Furchgott (1972)'un metoduyla hesaplandı.

Sonraki aşamada GABA ve musimol'ün sıçan izole duodenum ve ileumunda oluşturduğu etkilere karşın GABA_A-barbitürat bağlanma bölgesi antagonisti olan pikrotoksin (10⁻⁴ M)'in etkisi araştırıldı. Pikrotoksine ait pA₂ değerleri hesaplandı.

GABA_B agonisti baklofenin sıçan izole duodenum ve ileumunda oluşturduğu etkiler üzerine GABA_B antagonisti CGP35348 (10⁻⁵M)'in etkisine bakıldı. Ortamda CGP35348 (10⁻⁵M) varken baklofenin sıçan izole duodenum ve ileumunda oluşturduğu etkilere ait konsantrasyon-cevap eğrisi non-kümülatif olarak oluşturuldu. CGP35348 ait pA₂ değerleri hesaplandı.

GABA, baklofen ve musimol'ün sıçan izole duodenum ve ileumunda oluşturduğu etkiler üzerine diğer bazı farmakolojik ajanların etkisi incelendi.

Kullanılan ilaçlar: Atropin sülfat (Sigma), Aminofilin etilendiamin, Asetil kolin (Sigma), (±) Baklofen (Lioresal) (Ciba-Geigy), (+)-Bikukulin methioid (Sigma), CGP35348 (Ciba-Geigy), GABA (γ Amino-n-butirik asid) (Sigma), Heksametonyum bromid (Sigma), İndometazin (Fako), Musimol (5-aminometil-

3-hidroksiisoksazol (Sigma), Nalokson hidroklorid (Sigma), Pikrotoksin (Sigma), Rezerpin, GABA, musimol, CGP35348, heksametonyum, nalokson, indometazin, atropin distile suda, baklofen %0,5N HCl'de, bikukulin DMSO (Dimetilsülfo oksit)'de, pikrotoksin %95 etanol'de çözüldü. Bütün ilaçların dilüe solüsyonları distile suda hazırlandı. Aminofilin ve rezerpinin ampul formu kullanıldı.

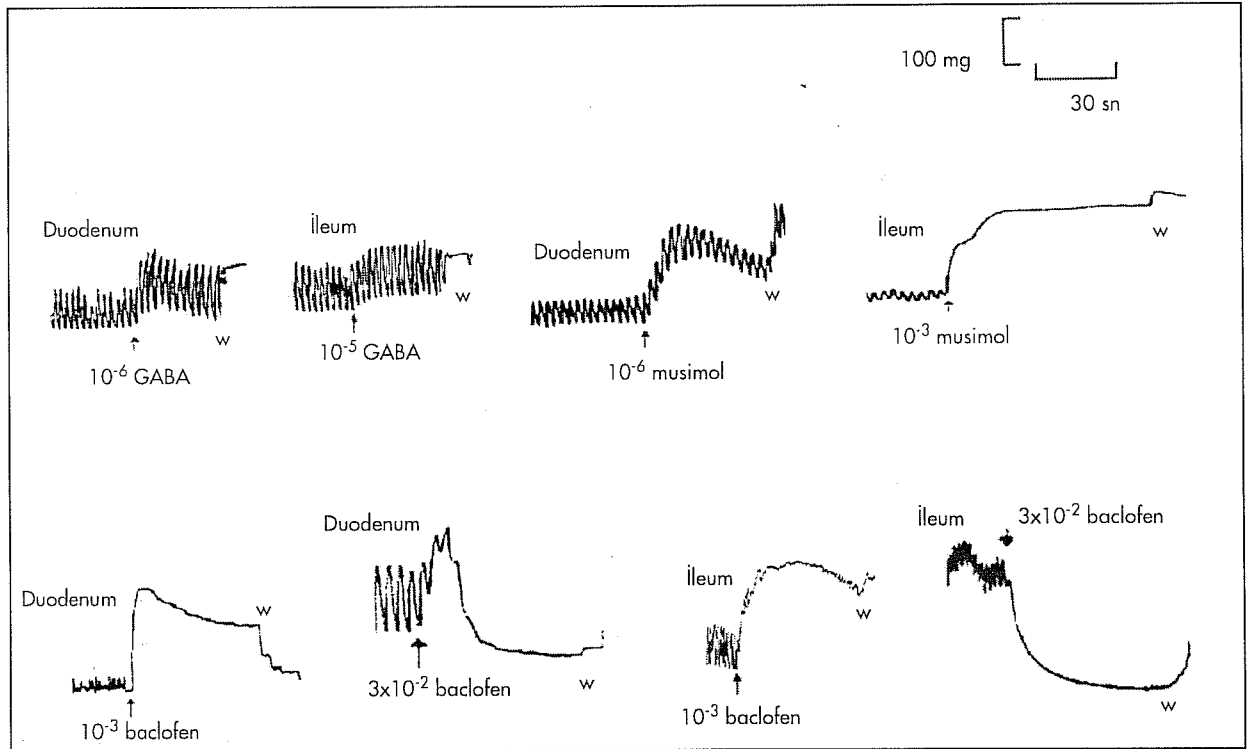
Hesaplamalarda her bir deneydeki maksimum kasıcı etkiye göre % değerlendirme yapıldı. İstatistiksel olarak student'in t-testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata şeklinde hesaplandı. Bütün istatistiksel değerlendirmede anlamlılık düzeyi olarak $p < 0,05$ değeri esas alındı.

BULGULAR

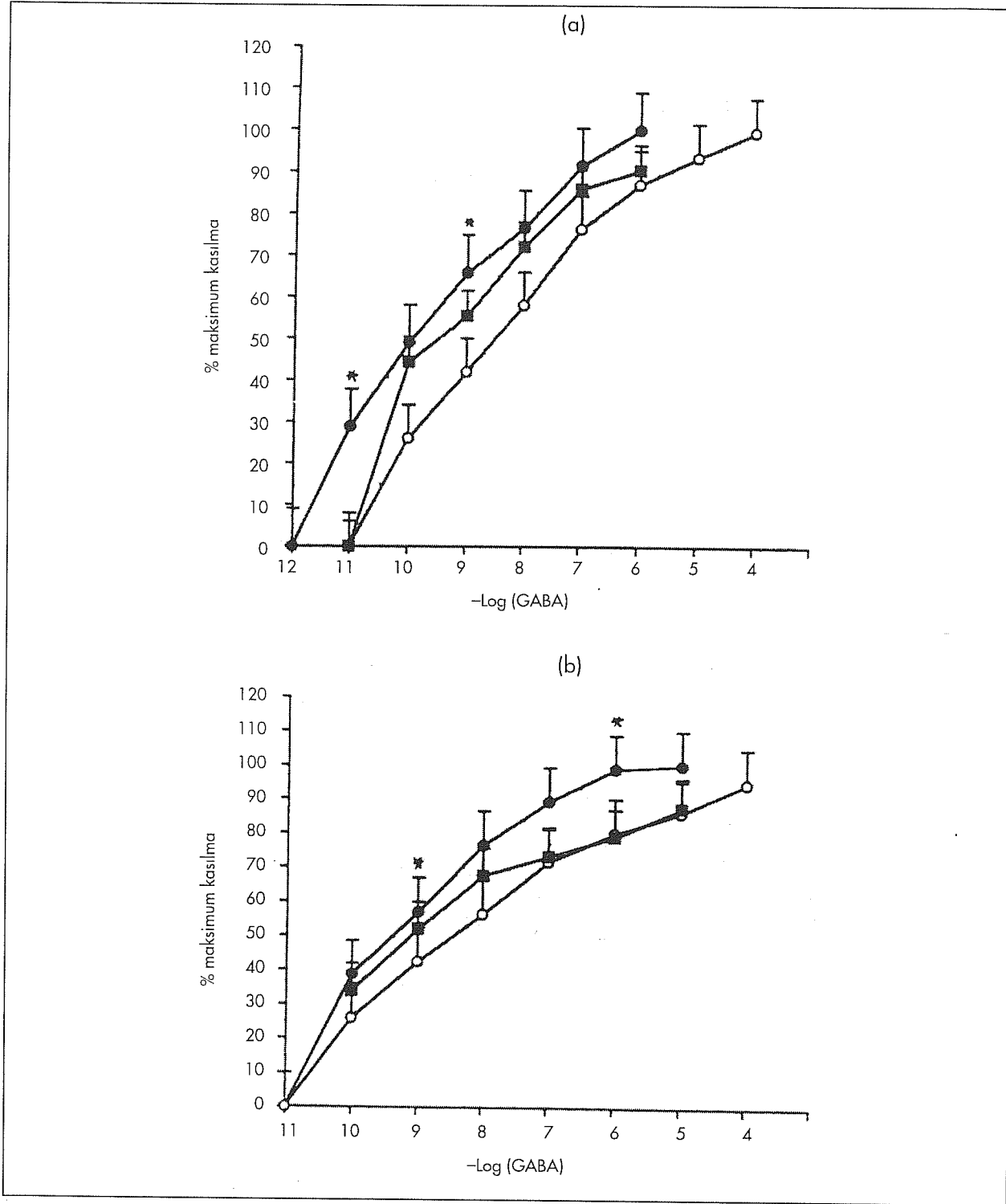
GABA, sıçan izole duodenumu ve ileumunda bütün preparatlarda kasıcı etki oluşturdu (Şekil 1). GABA duodenumda 10^{-12} - 10^{-6} M

($n=17$), ileumda ise 10^{-11} - 10^{-5} M ($n=21$) doz aralıklarında uygulandı. GABA'nın bu doz aralığında konsantrasyon-cevap eğrileri elde edildi (Şekil 2). GABA'nın maksimum kasıcı etkisini duodenumda 10^{-6} M, ileumda ise 10^{-5} M dozlarında oluşturduğu gözlemlendi. Bulunan pD_2 değeri duodenum ve ileumda sırasıyla 6.66 ± 0.41 ; 7.06 ± 0.47 idi.

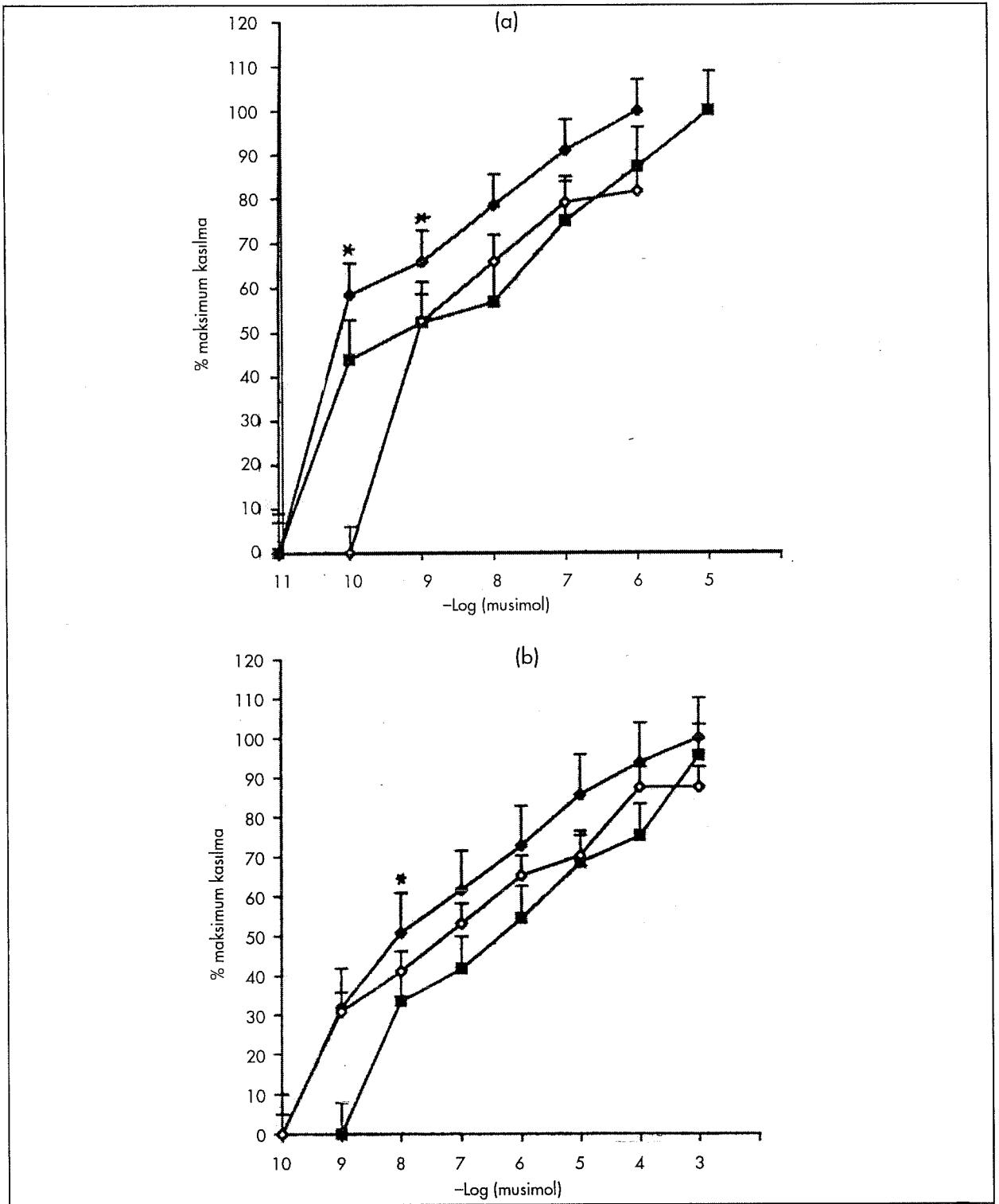
Musimol de aynı GABA gibi sıçan izole duodenum ve ileumu üzerinde kasıcı etki oluşturdu (Şekil 1). Musimolün uyguladığımız doz aralığı duodenumda 10^{-11} - 10^{-6} M ($n=7$), ileumda ise 10^{-10} - 10^{-3} M ($n=9$) arasında idi. Musimolün de bu doz aralığında konsantrasyon-cevap eğrileri elde edildi (Şekil 3). Musimolün maksimum kasıcı etkisi duodenumda 10^{-6} M konsantrasyonda, ileumda ise 10^{-3} M konsantrasyonda gözlemlendi. Ayrıca musimolün pD_2 değeri hesaplandı. Musimolün pD_2 değeri duodenum ve ileumda sırasıyla 6.80 ± 0.68 ; 7.33 ± 0.74 idi.



Şekil 1. Sıçan izole duodenum ve ileumunda GABA, musimol ve (\pm) baklofenin etkileri.



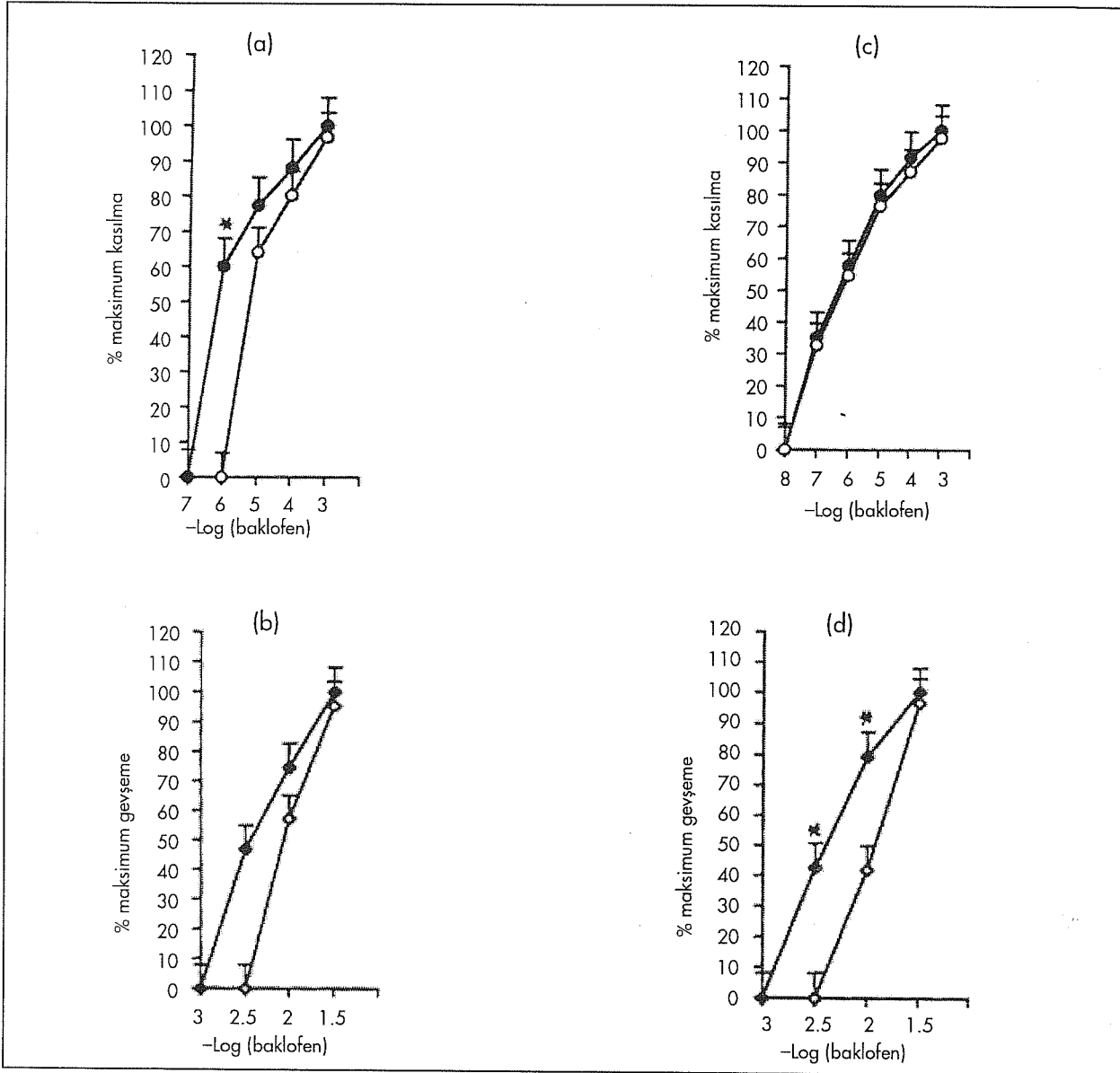
Şekil 2. Duodenum (a) ve ileumda (b) bikukulin (○) ve pikrotoksin (■) varlığında GABA (●)'nin neden olduğu kasımlara ait konsantrasyon-cevap eğrileri (* $p < 0.05$).



Şekil 3. Duodenum (a) ve ileumda (b) bikukulün (■) ve pikrotoksin (◊) varlığında musimolün (◆) neden olduğu kasılmalara ait konsantrasyon-cevap eğrileri (*p<0.05).

Baklofen de aynı GABA ve musimol gibi sıçan izole duodenumunda 10^{-7} - 10^{-3} M (n=12) ve ileumunda ise 10^{-8} - 10^{-3} M (n=16) konsantrasyonlarda kasıcı etki oluşturdu. Ancak baklofenin duodenumda 3×10^{-3} - 3×10^{-2} M (n=13), ileumda da 3×10^{-3} - 3×10^{-2} M (n=16) gibi yüksek konsantrasyonlarda

gevşetici etkisi gözlemlendi (Şekil 1). Baklofenin bu doz aralıklarında duodenum ve ileumda konsantrasyon-cevap eğrileri elde edildi (Şekil 4). Ayrıca hesaplanan pD_2 değerleri duodenum ve ileumda kasıcı ve gevşetici etkilere göre sırasıyla 4.53 ± 0.26 ; 5.38 ± 0.25 ; 2.14 ± 0.04 ; 2.30 ± 0.07 idi.



Şekil 4. Duodenum (a, b) ve ileumda (c, d) CGP35348 (O, ◇) varlığında (±) baklofenin kasıcı (●) ve gevşetici (◆) gevşetici etkisine ait konsantrasyon-cevap eğrileri (*p<0.05).

Bikukulin 10^{-6} M konsantrasyonda sıçan izole duodenum ve ileumunda GABA'nın oluşturduğu konsantrasyon-cevap eğrisini kompetitif olarak antagonize etti (n=4) (Şekil 2). pA_2 değeri duodenum ve ileumda sırasıyla 7.27 ± 0.37 ; 10.43 ± 1.90 idi. Bikukulin 10^{-6} M konsantrasyonda aynı GABA gibi musimolün de sıçan izole duodenum ve ileumu üzerinde oluşturduğu kasıcı etkiyi kompetitif olarak antagonize etti (n=5) (Şekil 3). pA_2 değeri duodenum ve ileumda sırasıyla 7.32 ± 0.50 ; 8.00 ± 1.24 idi.

Baklofenin sıçan izole duodenum ve ileum üzerinde oluşturduğu kasıcı ve gevşetici etkiler bikukulin tarafından antagonize edilemedi.

10^{-4} M konsantrasyonda pikrotoksin GABA ve musimolün sıçan izole duodenum ve ileumu üzerindeki kasıcı etkisini non-kompetitif olarak antagonize etti (n=4) (Şekil 2, 3). Sıçan izole duodenum ve ileumunda baklofenin etkisini pikrotoksin antagonize edemedi.

CGP35348 10^{-5} M konsantrasyonda baklofenin sıçan izole duodenum ve ileumunda oluşturduğu kasıcı ve gevşetici etkileri kompetitif olarak antagonize etti (n=4) (Şekil 4). pA_2 değerleri kasıcı ve gevşetici olarak duodenum ve ileumda sırasıyla 5.45 ± 0.20 ; 5.48 ± 0.16 ; 5.21 ± 0.30 ; 5.11 ± 0.27 idi. GABA ve musimolün oluşturduğu kasıcı etkiler ise 10^{-5} M konsantrasyonda CGP35348 tarafından antagonize edilemedi.

Kasıcı etki üzerine atropin (3×10^{-6} M), indometazin (10^{-5} M), rezerpin (3×10^{-6} M) ve heksametyonyum (3×10^{-4} M)'un etkisi incelendi. Atropin varlığında GABA, musimol ve baklofenin sıçan izole duodenum ve ileumunda oluşturduğu kasıcı cevaplar antagonize olurken diğerlerinin varlığında ise herhangi bir değişiklik gözlenmedi (n=4). Baklofenin oluşturduğu gevşetici etki üzerine atropin (3×10^{-6} M), nalokson (10^{-5} M), aminofilin

(2×10^{-4} M), rezerpin (3×10^{-6} M), heksametyonyum (3×10^{-4} M)'un etkisi incelendi. Baklofenin gevşetici etkisini bu farmakolojik ajanlar antagonize edemedi (n=4).

TARTIŞMA VE SONUÇ

GABA, sıçan izole duodenum ve ileumu longitudinal kas tabakalarında 10^{-12} - 10^{-5} M doz aralıklarında kasılma meydana getirdi. Krantis ve ark. 1981, 1987, Ong ve Kerr 1982'de yıllarında sıçan ince barsağı, kobay ileumu ve distal kolonunda yaptıkları çalışmalarda GABA ile kasıcı etki izlemiştirler⁽²⁴⁻²⁶⁾. Bu araştırmacılar kobay myenterik nöronlarındaki GABA'nın etkisinin antagonize edilmesi ile normal peristaltik hareketlerin yavaşlayıp duracağını bildirmişlerdir. Giotti ve ark. 1983'de, Ong ve ark. 1984'de, Pencheva ve ark. 1993'de izole kobay ileumu longitudinal kas tabakası ve kedi terminal ileumu sirküler kas tabakasında GABA'nın gevşemeyi takiben kasılma yaptığını bildirmişlerdir^(20,27,28). Maggi ve ark. 1984'de sıçan ince barsak çalışmalarında GABA'nın duodenumda hızlı ve geçici bir gevşeme yaptığını bildirmişlerdir⁽²⁹⁾. Bizim bulgularımıza uymayan bu gevşeme sonuçlarının çeşitli nedenleri olabilir. Bunlardan birisi GABA'nın gastrointestinal sistemdeki etkilerinin dokulara ve dokunun farklı bölgelerine göre değişmesidir⁽²⁴⁾.

Çalışmamızda musimol, sıçan izole duodenum ve ileumu longitudinal kas preperatlarında 10^{-11} - 10^{-3} M doz aralıklarında kasıcı etki meydana getirdi. Kaplita ve ark. 1982 yılında yaptıkları çalışmada musimol ile kobay ileumunda GABA benzeri kasıcı etki izlemiştirler⁽³⁰⁾. Ong ve ark. 1987 yılında kobay barsağının çeşitli bölgelerinde (duodenum, jejunum, ileum ve kolon) yaptıkları çalışmada ise musimol ile duodenumda gevşeme gözlerken, ileumda kasıcı etki izlemiştirler⁽³¹⁾. Yine Giotti ve ark. 1983'de

kobay ileumunda, Pencheva ve ark. 1993'de kedi terminal ileumunda musimol ile yaptıkları çalışmalarda gevşemeyi takiben kasılma izlemişlerdir^(20,28). Sıçan izole duodenum ve ileumunda yapılan çalışmalarda GABA ve musimolün kasıcı etkisi bikukulin tarafından antagonize edilmiştir^(20,27,28). Çalışmamızda izole sıçan duodenum ve ileumunda GABA ve musimolün bikukulin antagonizmasının pA₂ değerleri benzer olarak bulunmuştur. Diğer yapılan çalışmalardaki^(20,25,28,32) pA₂ değerleri ile karşılaştırıldığında bizim bulduğumuz pA₂ değerlerinin biraz daha yüksek olduğunu izledik. Bu da GABA ve musimolün kasıcı cevaplarının GABA_A reseptörlerine spesifik olduğunu göstermektedir.

GABA ve musimolün kasıcı cevapları GABA_A reseptör bölgesindeki barbitürat bağlanma bölgesinin antagonisti olan pikrotoksin tarafından antagonize edildi. Pikrotoksinin bu etkisi Krantis ve ark.1981 ve 1987'de kobay ileumu, sıçan ince barsağı ve Ong ve Kerr'in 1982'de kobay ileumundaki çalışmaların sonuçlara uymaktadır^(25,26,31). GABA, eksitator kolinerjik nöronlardaki bikukuline duyarlı (GABA_A) reseptörleri aracılığıyla klorür membran permeabilitesini arttırmaktadır⁽²⁵⁾. Pikrotoksin, GABA'nın neden olduğu klorür ionofor konduktansını bloke etmektedir⁽³³⁻³⁵⁾. Bu çalışmalar ve bizim bulduğumuz sonuçlar sıçan izole duodenum ve ileumunda enterik motor nöronlarda klorür ionofor ile kaplı GABA_A reseptör bölgelerinin mevcudiyetini desteklemektedir.

Diğer taraftan Harty ve ark. 1986'da, sıçan submukozal pleksusunda GABAerjik nöronların mevcut olduğunu ve GABA'nın submukozal kolinerjik nöronlardan asetilkolin açığa çıkışını stimüle ettiğini bildirmişlerdir⁽³⁶⁾. Bizim çalışmamızda GABA ve musimolün kasıcı etkileri atropin tarafından antagonize edildi, rezerpin, indometazin, heksametonyum tarafından antagonize edi-

lemedi. Krantis ve ark. 1980'de, Ong ve Kerr 1982'de kobay ileumunda yaptıkları çalışmada GABA'nın kasıcı etkisini atropin ile bloke etmişlerdir^(19,26). Benzer çalışmalarda guanetidin ile sempatotektomiden sonra GABA'nın etkisi değişmemiştir⁽³⁷⁾. Giotti ve ark. ise 1983'de yaptıkları çalışmada, kobay ileumunda GABA'nın kasıcı etkisini heksametonyum ile bloke edememişlerdir⁽²⁰⁾. Bu bulgularımıza ve yukarıda yapılan çalışmaların sonuçlarına dayanarak GABA ve musimolün kasıcı etkilerinin nikotinic kolinerjik, adrenerjik ve prostoglandinler üzerinden değil muskarinik kolinerjik karakterli olduğu ve GABA'nın submukozal kolinerjik nöronlardan asetilkolin açığa çıkışını stimüle ettiği sonucuna varılır.

Çalışmamızda baklofen, sıçan izole duodenum ve ileumunda düşük dozlarda kasılma yüksek dozlarda ise gevşeme oluşturdu. Fargeas ve ark 1988'de, baklofenin santral ve periferik muskarinik reseptörler üzerinden sıçan duodenal motilitesini stimüle ettiğini bildirmişlerdir⁽³⁸⁾. Yine biz çalışmamızda atropinin sıçan izole duodenum ve ileumunda baklofenin kasılma cevaplarını antagonize ettiğini gözledik. Fakat baklofenin kasıcı etkisini rezerpin, indometazin ve heksametonyum antagonize etmedi. Fargeas ve arkadaşlarının öne sürdükleri gibi baklofenin duodenum ve ileumdaki kasıcı etkisinin muskarinik kolinerjik karakterli olması muhtemeldir. Ancak Ong ve Kerr 1983'de, Giotti ve ark. 1983; 1985 yıllarında yapmış oldukları çalışmalarda baklofenin GABA_B reseptörlerini uyarması ile kobay ileumu ve kolonunda kolinerjik tonusun inhibisyonu ve kasılmanın depresyonunu bildirmişlerdir^(20,21,26). Biz yüksek dozlarda (3×10^{-3} - 3×10^{-2} M) baklofen ile sıçan izole duodenum ve ileumunda gevşeme gözledik. Krantis ve ark. 1987'de yaptıkları çalışmada, bizim uyguladığımız gibi uyarı-

mamış sıçan barsak preperatlarında baklofen ile düşük dozlarda cevap alamazken yüksek dozlarda gevşeme izlemişlerdir⁽²⁴⁾. Bu cevapları bazen kolinerjik aktiviteye etkisiz olmuştur. Bizim de gevşeme cevaplarımız atropin tarafından bloke edilemedi. Ayrıca rezepin, nalokson, heksametyonim ve aminofilin tarafından da bloke edilemedi. Giotti ve ark. 1983, 1985'de yaptıkları çalışmalarda, baklofenin gevşetici etkisinin propranolol, fentolamin, heksametyonim, nalokson ve teofilin tarafından antagonize olmadığını bildirmişlerdir^(20,21). Buradan hareketle baklofenin gevşeme cevabı Burnstock'un 1972'de tarif ettiği gibi nonadrenerjik nonkolinerjik (NANK) inhibitör motor nöronların stimülasyonu ile olabileceği söylenebilir⁽³⁹⁾. Pencheva ve ark.1991'de, kedi terminal ileumu longitudinal kas tabakasında GABA_B reseptörlerinin hem kolinerjik presinaptik hem de kolinerjik postsinaptik bölgelerde olduğunu bildirmişlerdir⁽³⁷⁾. Çalışmamızda düşük dozlarda baklofen ile izlediğimiz kasıcı cevaplar kolinerjik postsinaptik GABA_B reseptörlerinin uyarılması ile asetilkolin açığa çıkışının artışı şeklinde olabilir. Çünkü kasıcı etkiler atropin tarafından bloke oldu. Baklofenin yüksek dozlarda izlenen gevşeme cevapları ise ya kolinerjik presinaptik GABA_B reseptörlerin uyarılması sonucu asetilkolin açığa çıkışının engellenmesi veya NANK inhibitör sinirler üzerindeki GABA_B reseptörlerin uyarılması ile inhibisyon şeklinde olabilir. Kerr ve Ong 1984'de, GABA_B reseptör aracılı gevşemelerin klorürden bağımsız ve nörotransmitter çıkışının depresyonuna bağlı olduğunu bildirmişlerdir. GABA_B reseptörlerinin aktivasyonu ile asetilkolin salınımı azalmakta ve spontan kasılmalar inhibe olmaktadır⁽⁴⁰⁾. Belvisi ve ark. 1988'de yapmış oldukları çalışmada kobay solunum yollarında NANK nöronlar üzerinde GABA_B reseptörlerinin

varlığını ve bu reseptörleri rasemik baklofen ile uyararak gevşeme meydana geldiğini bildirmişlerdir⁽⁴¹⁾. Solunum yollarının innervasyonunun embriyolojik orjini gastrointestinal sistemle ortaktır. GABA_B reseptör agonistleri ile yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar mevcuttur. Örneğin yapılan çalışmalarda kobay barsağında baklofen gevşemeye neden olurken^(20,23,31,42) sıçanda gastrik motiliteyi stimüle etmektedir⁽²²⁾.Yapılan çalışmalarda sıçan barsağında GABA_B reseptörlerinin dağılımının ve duyarlılığının farklı olabileceği^(17,26) ve baklofenin etkisinin stereospesifik olduğu bildirilmiştir⁽²⁰⁾. Bu durumlar göz önüne alındığında baklofenin GABA_B reseptörlerini uyarılmasında barsağın değişik bölgelerine, doza ve stereospesifiteye göre değişik cevaplar alınabilir. Giotti ve ark. 1983'de yapmış oldukları çalışmada, kobay ileumunda (-) baklofenin gevşemeye neden olurken, (+) baklofenin düşük dozlarda etkisiz yüksek dozlarda gevşetici etki oluşturduğunu gözlemişlerdir⁽²⁰⁾. Biz baklofeni rasemik (±) form kullanarak düşük dozlarda kasılma, yüksek dozlarda gevşeme izledik. Bu bulgumuz kullandığımız deney hayvanının farklı oluşundan olabileceği gibi kullandığımız baklofenin rasemik form olmasından da kaynaklanabilir. Böylece farklı dozlarda izlediğimiz kasıcı ve gevşetici etkileri izah edilebilir. Çalışmamızda baklofenin doza bağlı her iki(kasılma-gevşeme)etkisinin bikukulin ve pikrotoksine duyarsız olduğunu gördük. Baklofenin etkisinin bikukuline ve pikrotoksine duyarsız olduğunu bildiren pek çok çalışma vardır^(20,26). Çalışmamızda CGP35348, baklofenin etkisini kompetitif biçimde antagonize etti. Yapılan çalışmalarda CGP35348'in potent ve selektif bir GABA_B reseptör antagonisti olduğu gösterilmiştir⁽⁴³⁻⁴⁵⁾. Sıçanlarda hipokampus dilimlerinde yapılan çalışmalarda bizim kullandığımız gibi (±) baklofenin etkisini antagonize etmişlerdir⁽⁴³⁾.

İzole ileum çalışmalarında CGP35348 antagonizmasında bulunan pA_2 değerleri bizim bulduğumuz değerlerle karşılaştırıldığında yakın bulunmuştur⁽⁴⁶⁾. CGP35348, yeni bir GABAB reseptör antagonisti olduğu için duodenum antagonizmasının pA_2 değerlerini karşılaştırmak için yaptığımız literatür taramalarında herhangi bir bilgiye rastlamadık. Buradan hareketle çalışmamızda GABA_B reseptör agonisti olan baklofenin etkisinin selektif GABA_B reseptör antagonisti olan CGP35348'in antagonize ettiğini göstermiş olduk.

Sonuç olarak sıçan izole duodenum ve ileumunda GABA, kolinerjik postganglionik nöronlarda modülatör bir etkiye sahiptir. GABA, bikukuline hassas postsinaptik GABA_A reseptörleri aracılığıyla kolinerjik nöronları uyarır ve asetil kolin açığa çıkartır, klorür iyonuna karşı membran permeabilitesini artırarak kasılmaya neden olur. Bu etkiyi atropin bloke etmektedir. Bikukuline hassas olmayan GABA_B reseptörleri ya kolinerjik sinir uçlarında ya da NANK nöronlarda bulunurlar. GABA_B reseptör aracılı cevaplar klorürden bağımsızdır⁽⁴⁰⁾. GABA_B agonisti baklofenin düşük dozlarda kasıcı etkisi atropin ile bloke edilirken yüksek dozlardaki gevşetici etkisi atropin ile bloke olmamaktadır. Buradan hareketle baklofenin kasıcı etkisinde atropin ile bloke edilebilen kolinerjik sinir uçlarından asetil kolin açığa çıkarışı, gevşetici etkisinde ise kolinerjik presinaptik otoresptörlerin aktivasyonu ile asetil kolin ve diğer nöromediyatörlerin salınımının engellenmesi ve/veya NANK inhibitör sinirlerdeki GABA_B reseptörlerinin aktivasyonu olduğu görüşündeyiz.

Sıçan izole duodenum ve ileumunda GABA reseptörlerinin mevcudiyeti ve bu reseptörler aracılığı ile oluşan etkilerin gastrointestinal sistemin normal motilitesi üzerinde rolü olduğunu bildiren çalışmaları des-

telemektedir. Bu konuda yapılacak başka çalışmalar, gastrointestinal sistem motilite ve tonüsünün fonksiyonunun bozulduğu durumlarda kullanılacak yeni ilaçların bulunmasına yardımcı olacaktır.

Geliş tarihi : 02.11.1998

Yayına kabul tarihi : 08.04.1999

Yazışma adresi:

Dr. S. Murat KESİM

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi,

Farmakoloji Anabilim Dalı

61080, TRABZON

KAYNAKLAR

1. Sandor LE. Peripheral GABAergic mechanisms. TIPS. 1985; 205-208.
2. Tanaka C. γ -Aminobutyric acid in peripheral tissues. Life Sciences. 1985; 37: 2221-2235.
3. Jessen K, Mirsky R, Dennison M, et al. GABA may be a neurotransmitter in vertebrate peripheral nervous system. Nature. 1979; 281: 71-74.
4. Jessen KR, Hills JM, Dennison ME, et al. γ -aminobutyrate as an autonomic neurotransmitter: release and uptake of [³H]- γ -aminobutyrate in guinea-pig large intestine and cultured enteric neurons using physiological methods and electron microscopic autoradiography. Neuroscience 1983; 10: 1427-1442.
5. Krantis A, Kerr DIB. Autoradiographic localization of [³H]-gamma aminobutyric acid in the myenteric plexus of guinea-pig small intestine. Neurosci Lett 1981a; 23: 263-268.
6. Krantis A, Kerr DIB, Dennis BJ. Autoradiographic study of distribution of [³H]- γ -aminobutyrate-accumulating neural elements in guinea-pig intestine: evidence for a transmitter function of γ -aminobutyrate. Neuroscience 1986; 17: 1243-1256.
7. Kerr DIB, Ong J. Evidence that ethylendiamine acts in the isolated ileum of guinea-pig by releasing endogenous GABA. Br J Pharmacol. 1984; 83: 169-177.

8. Jessen KR, Hills JM, Saffery MJ. Immunohistochemical demonstration of GABAergic neurons in the enteric nervous system. *J Neurosci* 1986; 6: 1628-1634.
9. Saito N, Tanaka C. Immunohistochemical demonstration of GABA containing neurons in the guinea pig ileum using purified GABA antiserum. *Brain Res* 1986; 78-84.
10. Davanger S, Ottersen OP, Storm-Mathisen J. Immunocytochemical localization of GABA in cat myenteric plexus. *Neurosci Lett* 1987; 73: 27-32.
11. Baetge G, Gershon DM. GABA in the PNS: Demonstration in enteric neurons. *Brain Research Bulletin* 1986; 16: 421-424.
12. Miki Y, Taniyama K, Tanaka C, et al. GABA, glutamic acid decarboxylase and GABA transaminase levels in the myenteric plexus in the intestine of humans and other mammals. *J Neurochem* 1983; 40: 861-865.
13. Taniyama K, Miki Y, Tanaka C. Presence of γ -aminobutyric acid and glutamic acid decarboxylase in Aurbach's plexus of cat colon. *Neurosci Lett* 1982; 29: 53-56.
14. Krantis A, Harding RK. The distribution of GABA-transaminase dehydrogenase activity in the myenteric plexus of rat small intestine. *Neurosci Lett* 1986; 64: 85.
15. Taniyama K, Kusunoki M, Saito N, et al. Release of γ -aminobutyric acid from cat colon. *Science* 1982; 217:1038.
16. Taniguchi H, Hosoya Y, Okado Y, et al. Presence of GABA and GAD and high affinity uptake of [3 H]GABA in Aurbach's plexus. In Okado Y, Roberts E. (ed). *Problems in GABA research-from brain to bacteria*. Amsterdam, 1982, p 113.
17. Bowery NG, Doble A, Hill DR, et al. Bicuculine insensitive GABA receptors on peripheral autonomic nerve terminals. *Eur J Pharmacol* 1981; 71: 53.
18. Bowery NG, Hill DR, Hudson AL. Characteristics of GABAB receptors binding sites on rat whole brain synaptic membranes. *Br J Pharmacol* 1983; 78.
19. Krantis A, Costa M, Furness JB, et al. Gamma-aminobutyric acid stimulates intrinsic inhibitory and excitatory nerves in the guinea-pig intestine. *Eur J Pharmacol* 1980; 67: 461-468.
20. Giotti A, Luzzi S, Spagnesi S, et al. GABA_A and GABAB receptor mediated effects in guinea-pig ileum. *Br J Pharmacol* 1983; 78: 469-478.
21. Giotti A, Luzzi S, Maggi CA, et al. Modulatory activity of GABAB receptors on cholinergic tone in guinea-pig distal colon. *Br J Pharmacol* 1985; 84: 883-895.
22. Andrews PLR, Wood KL. Systemic baclofen stimulates gastric motility and secretion via a central action in the rat. *Br J Pharmacol* 1986; 89: 461-
23. Minocha A, Galligan JJ. Excitatory and inhibitory responses mediated by GABA_A and GABA_B receptors in guinea-pig distal colon. *Eur J Pharmacol* 1993; 20: 187-193.
24. Krantis A, Harding RK. GABA-related actions in isolated invitro preparations of rat small intestine. *Eur J Pharmacol* 1987; 141: 291-298.
25. Krantis A, Kerr DIB. GABA induced excitatory responses in guinea-pig small intestine are antagonized by bicuculine, picrotoxin and chloride ion blockers. *Naunyn-Schmiedebergs Archives of Pharmacology*. 1981; 317: 257-261.
26. Ong J, Kerr DIB. GABAA and GABAB receptor mediated modification of intestinal motility. *Eur J Pharmacol* 1982; 86: 9-17.
27. Ong J, Kerr DIB. Evidence for a physiological role of GABA in control of guinea-pig intestinal motility. *Neurosci Lett* 1984; 50: 339-343.
28. Pencheva N, Rodomirow R. Biphasic GABA_B receptor mediated effect on the spontaneous activity of circular layer in cat terminal ileum. *Gen Pharmac* 1993; 24: 955-960.
29. Maggi CA, Manzini S, Meli A. Evidence that GABA_A receptors mediate relaxation of rat duodenum by activating intramural nonadrenergic-noncholinergic neurons. *J Auton Pharmac* 1984; 4: 77-85.
30. Kaplita PV, Waters DH, Tiggler DJ. γ -aminobutyric acid action in guinea-pig ileal myenteric plexus. *Eur J Pharmac* 1982; 79: 43-51.
31. Ong J, Kerr DIB. Comparison of GABA induced responses in various segments of guinea-pig

- intestine. *Eur J Pharmac* 1987; 134: 349-353.
32. Klerinrock A, Kilbinger H. γ -Aminobutyric acid and cholinergic transmission in guinea-pig ileum. *Naunyn-Schmiedeberg's Archs Pharmac* 1983; 322: 216-220.
 33. Curtis DR, Johnston GAR. Aminoacid transmitter in the mammalian central nervous system. *Ergebn Physiol* 1974; 69: 27.
 34. Johnston GAR. Neuropharmacology of aminoacid inhibitory neurotransmitters. *Ann Rev Pharmacol Tox* 1978; 18: 269.
 35. Ticku MK, Olsen RW. γ -Aminobutyric acid stimulated chloride permeability in crayfish muscle. *Biochem Biophys Acta* 1977; 464(3): 519-529.
 36. Harty RF, Carr T, Bohorski MB, et al. Cholinergic and γ -aminobutyric acid neurotransmitter release from antral mucosal and submucosal neurons. *Can J Physiol Pharmacol* 1986; 184.
 37. Pencheva N, Rodomirov R, Venkova K. GABAA and GABAB receptor mediated effects on the spontaneous activity of the longitudinal layer in cat terminal ileum. *Gen Pharmac* 1991; 22: 159-163.
 38. Fargeas MJ, Fioromenti J, Bueno L. Central and peripheral action of GABA_A and GABA_B agonist on small intestine motility in rats. *Eur J Pharmacol* 1988; 150: 163-169.
 39. Burnstock G. Purinergic Nerves. *Pharmacol Rev* 1972; 24(3): 509.
 40. Kerr DIB, Ong J. GABA and GABA-receptors in enteric nervous system. *Neuropharmacology* 1984; 23: 835-836.
 41. Belvisi MG, Ichinose N, Barnes PJ. Modulation of non-adrenergic, non-cholinergic neural bronchoconstriction in guinea-pig airway via GABAB-receptors. *Br J Pharmacol* 1988; 97: 1225-1231.
 42. Ronai AZ, Kardos J, Simony M. Potent inhibitory GABA_B receptors in stimulated guinea-pig teania coli. *Neuropharmacology* 1987; 26: 1623-1627.
 43. Olphe HR, Karlsson MF, Pozza MF, et al. CGP35348: a centrally active blocker of GABAB receptors. *Eur J Pharmacol* 1990; 187: 27-38.
 44. Bolser DC, Blythin DJ, Chapman RW, ve diğ. The pharmacology of SCH5091: a novel orally-active GABA-beta receptor antagonist. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics*. 1995; 274: 1393-1398.
 45. Kerr DI, Ong J, Doolette DJ, et al. 3-amino-2-(4-chlorophenyl)-nitropropone is a new GABA_B receptor agonist more active peripherally. *Eur J Pharmacol* 1993; 236: 239-245.
 46. Ong J, Ker DI, Lacey G, et al. Differing actions of nitropropone analogs of GABA and baclofen in central and peripheral preparations. *Eur J Pharmacol* 1994; 264: 49-54.

