

Deneyel Araştırma/Experimental Research

Non-steroidal anti-inflamatuar ilaçların izole sıçan mesanesi detrusör striplerine etkisi

The effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on isolated rat bladder detrusor strips

Duygu Belkıs Baş*, Süleyman Sırrı Bilge , Yüksel Kesim

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

MAKALE BİLGİLERİ

Makale geçmişi

Geliş 08 / 03 / 2011

Kabul 15 / 04 / 2011

*** Yazışma Adresi:**

Duygu Belkıs Baş
Ondokuz Mayıs Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Farmakoloji Anabilim Dalı,
Kurupelit, Samsun,
e-posta: dbbas@omu.edu.tr

Anahtar Kelimeler:

NSAİİ
Prostaglandinler
Karbakol
İsoprenalin
EAS
Detrusör

Keywords:

NSAIDs
Prostaglandins
Carbachol
Isoprenalin
EFS
Detrusor

ÖZET

Bu çalışmada farklı gruplardan non-steroidal anti-inflamatuar ilaçların (NSAİİ) mesane kas motilitesinin düzenlenmesine katılan çeşitli fizyolojik mekanizmalar üzerindeki etkileri izole sıçan mesanesi detrusör striplerinde incelendi. Bu amaçla; aspirin, indometazin ve ketoprofen varlığında izole detrusör striplerinin karbakol, isoprenalin ve elektriksel alan stimülasyonu (EAS)'na verdiği yanıtlar değerlendirildi. İn vitro çalışmalar için, mesane detrusör kasları çıkarılarak organ banyolarına asıldı. Deney protokolünün başlangıcında, detrusör kaslarının karbakol, isoprenalin ve EAS'ye verdiği yanıtlar kontrol yanıtları kabul edilerek kaydedildi. Daha sonra, bu yanıtlar NSAİİ'ler ile 30 dakika muamelenin (inkübasyon) ardından tekrar alındı. Her bir NSAİİ varlığında mesane bazal tonuslarında meydana gelen değişiklikler de değerlendirildi. Aspirin varlığında mesane bazal tonusu değişmedi. Düşük konsantrasyonlarda aspirin ($10^{-8}M$ ve $10^{-7}M$) detrusör striplerinin karbakole verdiği yanıtları anlamlı olarak azalttı, fakat daha yüksek konsantrasyonlarda (10^{-6} - $10^{-4}M$) kontrol yanıtları ile karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı. İsoprenalin yanıtları, aspirin (10^{-7} - $10^{-5}M$) varlığında değişmedi. Aspirin, sadece en düşük konsantrasyonda ($10^{-7}M$) EAS'nun yüksek frekanslı yanıtlarını anlamlı olarak azalttı, fakat düşük frekanslı yanıtlarını değiştirmeydi. Bununla birlikte, daha yüksek konsantrasyonlarda ($10^{-6}M$, $10^{-5}M$) EAS yanıtları üzerinde etkili bulunmadı. İndometazin varlığında (10^{-7} - $10^{-5}M$) bazal tonus azaldı. Karbakol ve EAS yanıtları değişmedi. İsoprenalin yanıtları indometazin ile muamelenin ardından doz bağımlı olarak azaldı. Ketoprofen (10^{-7} - $10^{-5}M$) ile inkübasyon bazal tonusta düşüşe neden oldu ve karbakol yanıtlarını anlamlı olarak artırdı. Sadece en yüksek ketoprofen konsantrasyonu isoprenalin yanıtlarını anlamlı olarak azalttı. Ketoprofen kullanılan dozların hiçbirinde EAS yanıtlarını değiştirmeydi. Sonuçlarımız, izole detrusör striplerinde NSAİİ'ler varlığında karbakol, isoprenalin ve EAS yanıtlarında meydana gelen değişikliklerin temel olarak prostaglandin sentez inhibisyonu ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Ancak diğer mekanizmaların katkısı da göz ardı edilmemelidir. Bununla birlikte, farklı gruplardan NSAİİ'lerin bu yanıtlar üzerindeki etkileri birbirlerinden farklıdır.

J. Exp. Clin. Med., 2011; 28:71-78

ABSTRACT

In this study, the effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) from different groups on various physiological mechanisms involving bladder muscle motility were investigated in isolated rat detrusor strips. For this purpose, in the presence of aspirin, indomethacin and ketoprofen the responses of isolated detrusor strips to carbachol, isoprenalin, and electrical field stimulation (EFS) were evaluated. For in vitro studies, bladder detrusor muscles were removed and placed in organ baths. At the beginning of experimental protocol, the responses of detrusor strips to carbachol, isoprenalin and EFS were taken as control responses and recorded. Subsequently, following 30 minutes incubation with NSAIDs these responses were recorded again. The changes that occur in bladder basal tone in the presence of each NSAIDs were also assessed. In the presence of aspirin basal tone did not change. Aspirin at low concentrations ($10^{-8}M$ and $10^{-7}M$) significantly reduced detrusor responses to carbachol. But, at the higher concentrations (10^{-6} - $10^{-4}M$) when compared with control responses there was no significant difference. Isoprenalin-evoked responses were not changed in the presence of aspirin (10^{-7} - $10^{-5}M$). Only, the lowest aspirin concentration ($10^{-7}M$) significantly reduced the high

frequencies of EFS-evoked responses, but the low frequencies of EFS-evoked responses left unchanged. Furthermore, at the higher concentrations (10^{-6} M, 10^{-5} M) of aspirin did not change EFS-evoked responses. In the presence of indomethacin (10^{-7} - 10^{-5} M) basal tone reduced and carbachol- and EFS-evoked responses did not change. The detrusor responses to isoprenaline significantly reduced dose-dependant way after incubation with indomethacin. Incubation with ketoprofen (10^{-7} - 10^{-5} M), caused a fall in basal tone and significantly enhanced carbachol-evoked responses. Only the highest ketoprofen concentration significantly inhibited isoprenaline-evoked responses. Ketoprofen, at the doses used, did not change EFS-evoked responses. Our results show that; the effects of NSAIDs on isolated detrusor strips are mainly due to prostaglandin synthesis inhibition but contribution of other mechanisms can not be ruled out. Furthermore, effects of NSAIDs from different on these responses are different from each other.

J. Exp. Clin. Med., 2011; 28:71-78

© 2011 OMU All rights reserved

1. Giriş

Non-steroidal anti-inflamatuar ilaçların (NSAİİ) prostaglandin (PG) sentezini siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe etmek suretiyle inhibe ettiği uzun zamandır bilinmektedir. Prostanoidler, lokal olarak hem mesane kasında hem de mukozasında sentezlenmektedir ve sentezleri detrusör kasının gerilmesi, vezikal mukoza hasarı ve sinir stimülasyonu gibi çeşitli fizyolojik uyarılar ve adenozin trifosfat (ATP), inflamasyon mediyatörleri gibi çeşitli ajanlar tarafından başlatılmaktadır (Andersson, 2010). Prostanoidler, mesane aktivitesini düz kas üzerine etki etmek suretiyle direkt olarak ve/veya nörotransmisyon üzerine etki ederek indirekt olarak etkileyebilirler (Andersson, 2002). PG'ler, mesanenin bazal tonusunun sürdürülmesine ve miksiyon refleksine katkıda bulunurlar. Daha önce yapılan çalışmada izole detrusör striplerinde PGE2' nin doz-bağımlı olarak kontraksiyona neden olduğu ve indometazin ile inkübasyonun ise bazal tonusta düşüşe ve spontan aktivite kaybına neden olduğu gösterilmiştir (Khan ve ark., 1998). Bu sonuçlar, NSAİİ'ler varlığında mesane bazal tonusunda meydana gelen düşmenin prostaglandin sentez inhibisyonu ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Mesane kas motilitesinin düzenlenmesinde kolinerjik, adrenerjik ve non-adrenerjik non-kolinerjik (NANK) mekanizmalar rol oynar (Andersson ve Arner, 2004). Çeşitli in vitro çalışmalarda, NSAİİ'ler ve bu fizyolojik mekanizmalar arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Ancak bu çalışmalarda sonuçların çoğu birbiriyile çelişmektedir ve genellikle tek bir mekanizmanın değerlendirilmesiyle sınırlandırılmıştır (Maggi ve ark., 1984; Klarskov, 1987; Bolle ve ark., 1998; Schneider ve ark., 2004).

Çalışmamızda, izole sıçan mesanesi detrusör striplerinin karbakol (kolinerjik), isoprenalin (adrenerjik) ve EAS (kolinerjik ve/veya adrenerjik)'ye yanıtlarını farklı gruplardan NSAİİ'ler; aspirin, indometazin ve ketoprofen varlığında değerlendirdik.

2. Araştırma Yöntemi

2.1. Deney Hayvanları

Çalışmada, ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen standart yem ve çeşme suyu ile beslenen, sıcaklığı ve bağıl nemi sabit (22°C ve $\%60\pm 5$) aynı odada, 12 saat aydınlık/karanlık ortamında tutulan, erkek Sprague-Dawley sıçanlar kullanıldı. Çalışmalar Helsinki Deklarasyonu'na ve Amerikan Ulusal Sağlık Örgütü (USA NIH) tarafından bildirilen Laboratuvar Hayvanlarının Kullanımına ve Bakımına İlişkin Rehber'e uygun olarak gerçekleştirildi. Ondokuz Mayıs Üni-

versitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Etik Kurulu'nun onayı alındıktan sonra deneylere başlandı.

2.2. Doku Hazırlanması

Hayvanlar eter anestezisi altındayken median kesi ile abdominal kaviteye girilerek, mesane dışarı çıkarıldı. İçinde Krebs-Henseleit solüsyonu (NaCl: 6,9 g/L, KCl: 0,35 g/L, CaCl_2 : 0,28 g/L, MgSO_4 : 0,14 g/L, NaHCO_3 : 2,09 g/L, KH_2PO_4 : 0,16 g/L, Glukoz: 1,09 g/L) bulunan petri kaplarına kondu. Mesaneler etraflarındaki yağ ve bağ dokudan temizlendikten sonra kesilerek mesane gövdesi (detrüsör) ayrıldı. 3×10 mm boyutlarında longitudinal stripler hazırlandı. Hazırlanan stripler içinde Krebs-Henseleit solüsyonu bulunan, 37°C sabit sıcaklıkta, $\%95 \text{O}_2 + \%5 \text{CO}_2$ karışımı ile gazlandırılan 20 ml'lik cam organ banyolarına bir ucu izometrik transdusere bağlı olacak şekilde ring elektrodlar yardımıyla asıldı.

2.3. İn vitro Deneyler

Preparatlara 2 gram istirahat gerilimi uygulandı. 1 saat süresince stripler banyoların besleyici solüsyonları 15 dakikada bir değiştirilmek suretiyle tazelenerek dinlendirildi (dengelenme periyodu). Dengelenme periyodunun ardından, önce izole detrusör striplerinin kontrol yanıtları alındı. Bu amaçla, karbakol 10^{-7} - 10^{-5} M doz aralığında kümülatif olarak uygulandı. Kısaca, her bir doz bir önceki doz platoya ulaşır, stabil hale geldikten sonra ilave edildi.

Tek doz isoprenalin (10^{-5} M) organ banyosuna ilave edildi, preparatlar plato yanıtına ulaşınca kadar isoprenalin ile temasta bırakıldı.

Grass S88 stimulator (Grass, USA)'den sağlanan elektrik akımı sayesinde 3 mm çaplı ring elektrodlar (MLA0305/8, ADInstruments, UK) kullanılarak preparatlara alan stimülasyonu yapıldı. 100V, 5ms süre, artan frekansta (2, 4, 8, 16, 32, 64 Hz) elektriksel alan stimülasyonu (EAS) uygulandı. İzole detrusör striplerinin kontrol yanıtlarının alınmasının ardından, preparatlar yıkandı ve 30 dakika dinlendirildi. Daha sonra organ banyolarına aspirin (10^{-8} - 10^{-4} M) veya ketoprofen (10^{-7} - 10^{-5} M) veya indometazin (10^{-7} - 10^{-5} M) ilave edildi. COX enziminin inhibitör etkisinin sağlanabilmesi için stripler her bir NSAİİ ile 30 dakika bekletildi. Bekleme süresinin ardından, yıkama işlemi yapılmaksızın stripler kontrol yanıtları için açıklandığı şekilde karbakol veya isoprenalin veya EAS yanıtları alındı. Stripler bir diğer konsantrasyona geçişte yıkandı ve 30 dakika dinlendirildi.

Deney protokolünde, yıkama işlemi ve 30 dakikalık din-

lenmenin ardından, değişen bazal tonus değerleri kendiliğinden bazal aktivite değerlerine geri döndü.

Her bir NSAİİ için deney protokolünde en az 8 deney hayvanı (n=8) kullanıldı. Aspirin, indometazin ve ketoprofen dozları daha önceki çalışmalara göre belirlendi (Klarskov, 1987; Bolle ve Tucci, 1998; Schneider ve ark., 2004). İso-prenalin ve karbakol dozları ise ön çalışmalar ile belirlendi.

Tüm preparatlardan elde edilen yanıtlar QuadBridge amplifier (ML118, ADInstruments, UK) aracılığı ile, bilgisayara bağlı PowerLab veri kayıt analiz sistemi (PowerLab/4SP, ADInstruments, UK) tarafından kaydedildi.

2.4. İlaçlar

(±)-DL-İso-prenalin hidroklorid (isoprenalin), karbakol ve indometazin (Sigma, USA), aspirin (Bayer, Almanya), ketoprofen (Eczacıbaşı, Türkiye). İso-prenalin ve karbakol distile suda, aspirin (3:1) ve indometazin (1:1) ise distile su: etanol karışımında çözündürüldü. Tüm ilaçlar kullanılmadan önce taze olarak hazırlandı. Kontrol çalışmaları çözücü olarak kullanılan etanol konsantrasyonlarının detrusör striplerinin yanıtlarını değiştirmediğini gösterdi (data gösterilmemiştir).

2.5. İstatistiksel Analiz

Tüm değerler ortalama ± standart hata şeklinde verildi. Kasılma yanıtları miligram (mg) gerilim olarak ifade edildi. Verilerin normal dağılımının tespitinden sonra çoklu karşılaştırmalar için tek yönlü varyans analizini (ANOVA) takiben Bonferoni post-hoc test kullanıldı. Anlamlılık için p<0,05 düzeyi esas alındı.

3. Sonuçlar

3.1. NSAİİ'lerin mesane bazal tonusu üzerine etkisi

Aspirin kullanılan dozların hiçbirinde mesane bazal tonusunu değiştirmede. İndometazin ve ketoprofen ise tüm konsantrasyonlarda mesane bazal tonusunu azalttı. Deneyin başlangıcındaki gerim ağırlık değerleri (mg) %100 kabul edildi ve NSAİİ'ler varlığında bu değerlerdeki azalma yüzdeleri gösterildi (Tablo 1).

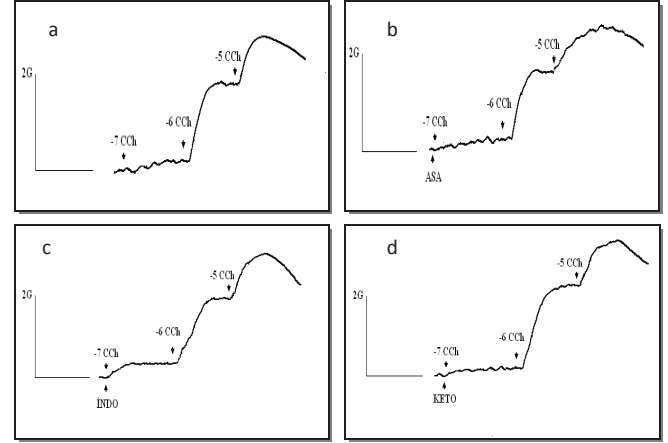
Tablo 1. NSAİİ'lerin varlığında detrusör stiplerinde bazal tonusta meydana gelen değişiklikler

Konsantrasyon	Aspirin	İndometazin	Ketoprofen
10 ⁻⁸ M	-		
10 ⁻⁷ M	-	%13±5.2	%19±4.03
10 ⁻⁶ M	-	%55±4.4	%66±6.03
10 ⁻⁵ M	-	%62±3.3	%68±5.4
10 ⁻⁴ M	-		

Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir (n=8).

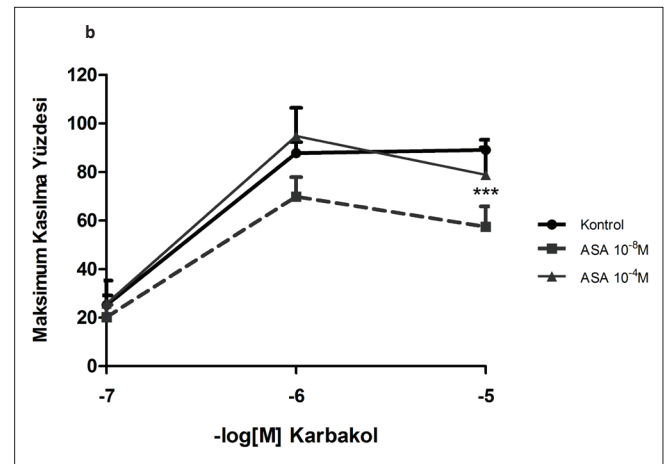
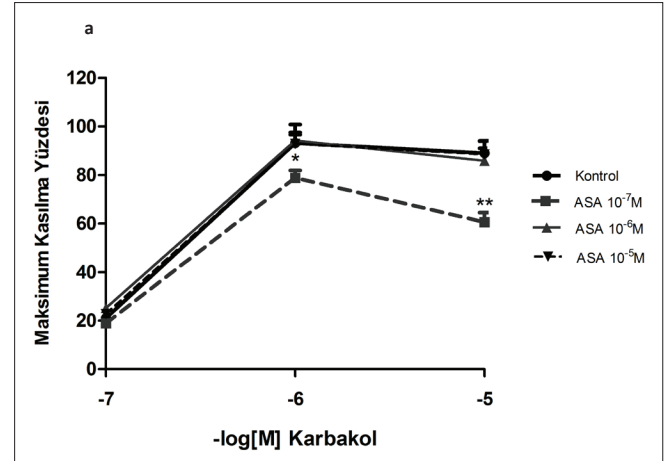
3.2. NSAİİ'lerin varlığında karbakolle-indüklenen kasılma yanıtları

Kümülatif olarak uygulanan karbakol (10⁻⁷-10⁻⁵M), detrusör striplerinde kasılma yanıtları meydana getirdi (Şek. 1a). Aspirin, indometazin ve ketoprofenin uygulanmasının ardından bu yanıt trasesinde meydana gelen değişiklikler gösterilmiştir (Şek. 1b, c ve d).

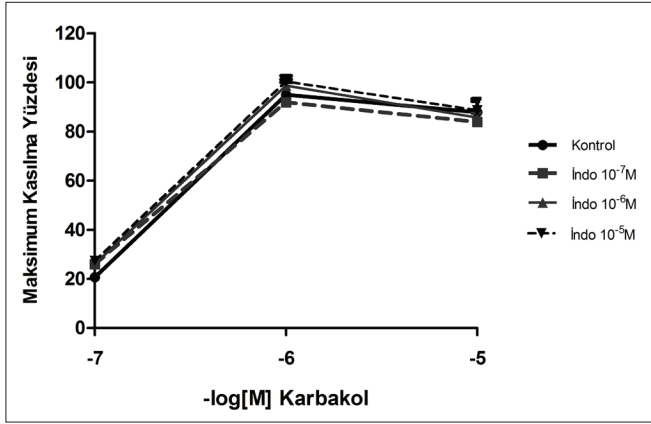


Şek. 1. (a) İzole sıçan mesanesi detrusör striplerinde kümülatif (10⁻⁷-10⁻⁵M) karbakole ait yanıt trasesi, (b) 10⁻⁷M aspirin varlığında karbakole ait yanıt trasesi, (c) 10⁻⁷M indometazin varlığında karbakole ait yanıt trasesi, (d) 10⁻⁶M ketoprofen varlığında karbakole ait yanıt trasesi.

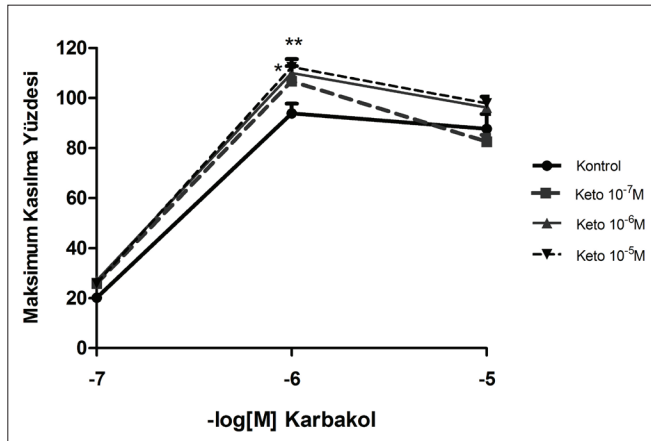
Aspirin varlığında karbakol yanıtlarında meydana gelen değişiklikler iki ayrı grupta incelendi; birinci grupta 10⁻⁷-10⁻⁵M aspirin ile 30 dakika inkübasyonun ardından izole sıçan mesanesi detrusör striplerinde karbakolle-indüklenen kasılma yanıtları sadece 10⁻⁷M aspirin dozunda anlamlı olarak azaldı (p<0.01), 10⁻⁵M ve 10⁻⁶M aspirin varlığında



Şek 4. (a) 10⁻⁷-10⁻⁵M aralığında aspirin'in izole sıçan mesanesi detrusör striplerinde kümülatif (10⁻⁷- 10⁻⁵M) karbakolle-indüklenen kasılma yanıtlarına etkisi, (b) 10⁻⁸ ve 10⁻⁴ M aralığında aspirin'in izole sıçan mesanesi detrusör striplerinde karbakolle-indüklenen kasılma yanıtlarına etkisi. Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir (n=8). * p<0.05, ** p<0.01, *** p< 0.001 kontrol grubu ile karşılaştırıldığına



Şek 5. 10^{-7} - 10^{-5} M aralığında indometazin'in izole sıçan mesanesi detrüsör striplerinde kümülatif (10^{-7} - 10^{-5} M) karbakolle-indüklenen kasılma yanıtına etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (n=8).

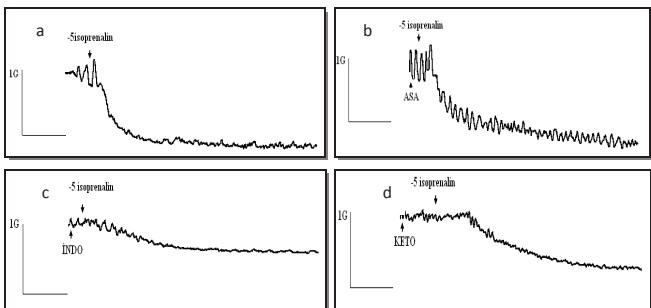


Şek 6. 10^{-7} - 10^{-5} M aralığında ketoprofen'in izole sıçan mesanesi detrüsör striplerinde kümülatif (10^{-7} - 10^{-5} M) karbakolle-indüklenen kasılma yanıtına etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (n=8). * p < 0.05, ** p < 0.01 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

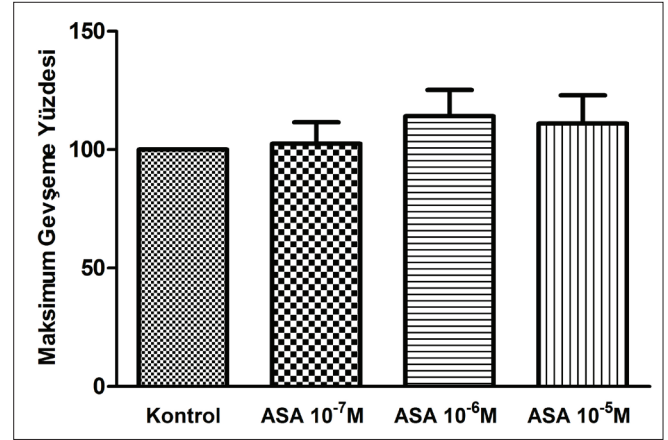
ise karbakol yanıtları kontrol değerlerinden istatistik olarak farklı değildi ($p > 0.05$), (Şek. 4a), ikinci grupta 10^{-8} M aspirin karbakolle-indüklenen kasılma yanıtlarını anlamlı olarak azalttı ($p < 0.001$), 10^{-4} M aspirin ise yanıtlar üzerinde herhangi bir değişiklik meydana getirmede ($p > 0.05$), (Şek. 4b).

İndometazin hiçbir konsantrasyonda karbakol yanıtlarını değiştirmede ($p > 0.05$), (Şek. 5).

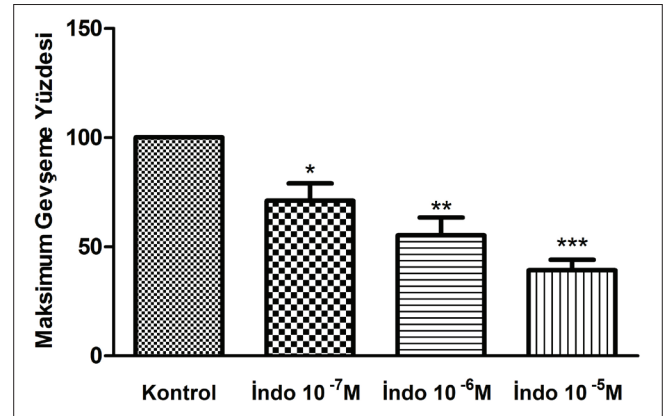
10^{-7} M ketoprofen karbakolle-indüklenen kasılma yanıtlarını değiştirmede, 10^{-6} ve 10^{-5} M konsantrasyonlarında ise



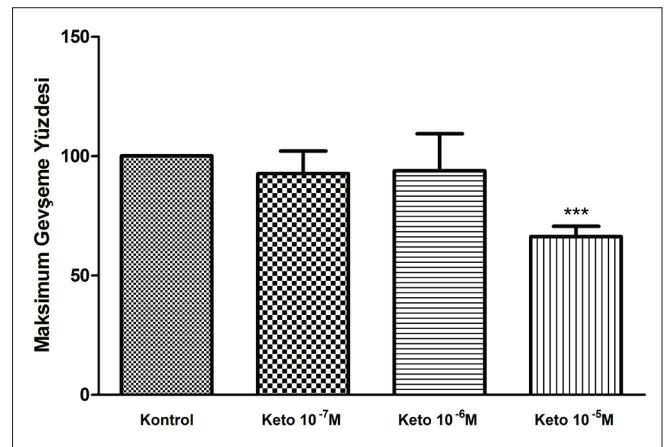
Şek 2. (a) İzole sıçan mesanesi detrüsör striplerinde tek doz (10^{-5} M) isoprenaline ait yanıt trasesi, (b) 30 dakika 10^{-5} M aspirin ile inkübasyonun ardından isoprenaline ait yanıt trasesi, (c) 30 dakika 10^{-5} M indometazin ile inkübasyonun ardından isoprenaline ait yanıt trasesi, (d) 30 dakika 10^{-5} M ketoprofen ile inkübasyonun ardından isoprenaline ait yanıt trasesi.



Şek 7. 10^{-7} - 10^{-5} M aralığında aspirin'in izole sıçan mesanesi detrüsör striplerinde tek doz (10^{-5} M) isoprenaline-indüklenen gevşeme yanıtına etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (n=8).



Şek 8. 10^{-7} - 10^{-5} M aralığında indometazin'in izole sıçan mesanesi detrüsör striplerinde tek doz (10^{-5} M) isoprenaline-indüklenen gevşeme yanıtına etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (n=8). * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında



Şek 9. 10^{-7} - 10^{-5} M aralığında ketoprofen'in izole sıçan mesanesi detrüsör striplerinde tek doz (10^{-5} M) isoprenaline-indüklenen gevşeme yanıtına etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (n=8). *** p < 0.001 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

maksimum karbakol yanıtlarını (10^{-6} M) anlamlı olarak artırdı (sırasıyla; $p < 0.05$ ve $p < 0.01$), (Şek. 6).

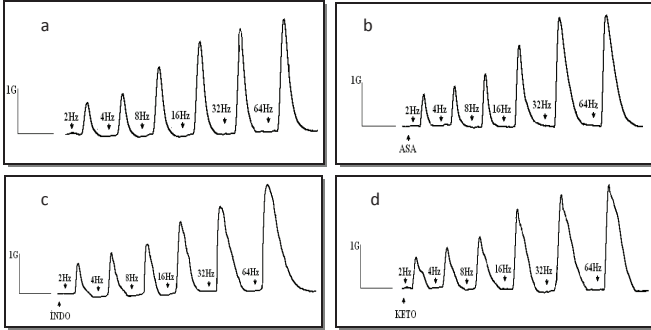
3.3. NSAİİ'lerin varlığında isoprenalinle-indüklenen gevşeme yanıtları

Tek doz (10^{-5} M) olarak uygulanan isoprenalin izole detrusör striplerinde hızlı bir gevşeme meydana getirdi (Şek. 2a). Aspirin, indometazin ve ketoprofenin uygulanmasının ardından kontrol yanıt trasesinde meydana gelen değişiklikler gösterilmiştir (Şek. 2b, c ve d).

Aspirin kullanılan konsantrasyonların (10^{-7} - 10^{-5} M) hiçbirinde isoprenalin yanıtlarını değiştirmedi ($p>0,05$), (Şek. 7).

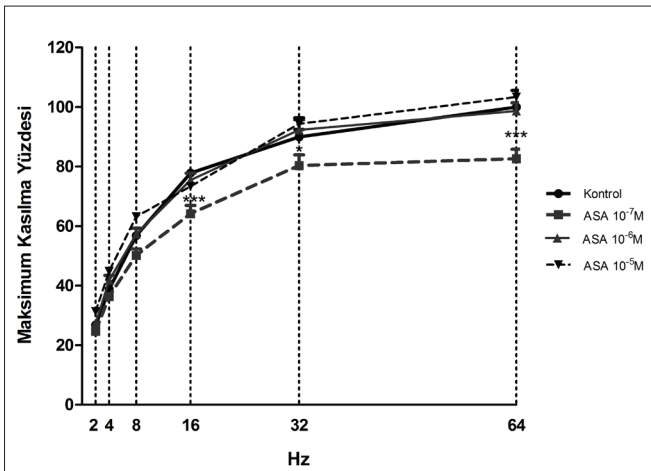
İndometazin ile 30 dakika inkübasyon tüm konsantrasyonlarda (10^{-7} - 10^{-5} M) isoprenalin yanıtlarını anlamlı olarak azalttı (sırasıyla; $p<0,05$, $p<0,01$ ve $p<0,001$), yanıtlarda görülen bu azalma doz bağımlıydı (Şek. 8).

Ketoprofen sadece 10^{-5} M konsantrasyonda isoprena-



Şek. 3. (a) İzole sıçan mesanesi detrusör striplerinde 100V, 5ms süre artan frekansta (2, 4, 8, 16, 32, 64 Hz) EAS'na ait yanıt trasesi (b) 30 dakika 10^{-6} M aspirin ile inkübasyonun ardından EAS'na ait yanıt trasesi, (c) 30 dakika 10^{-6} M indometazin ile inkübasyonun ardından EAS'na ait yanıt trasesi, (d) 30 dakika 10^{-6} M ketoprofen ile inkübasyonun ardından EAS'na ait yanıt trasesi.

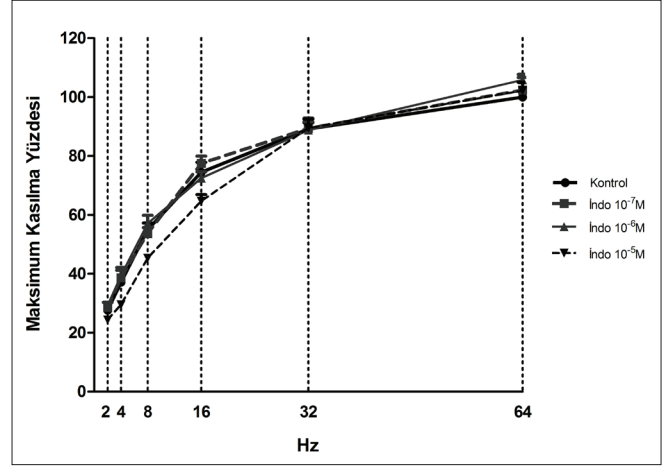
lin ile indüklenen gevşeme yanıtlarını anlamlı olarak azalttı ($p<0,001$), diğer konsantrasyonlarda ise kontrol yanıtlarıyla karşılaştırıldığında istatistik olarak fark bulunmadı ($p>0,05$), (Şek. 9).



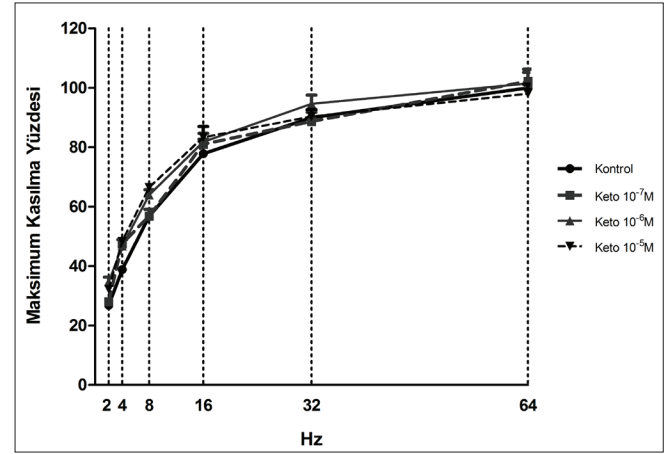
Şek. 10. 10^{-7} - 10^{-5} M aralığında aspirin'in izole sıçan mesanesi detrusör striplerinde artan frekansta (2-64 Hz) EAS ile-indüklenen kasılma yanıtlarına etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (n=8). * $p<0,05$, *** $p<0,001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

3.4.NSAİİ'lerin varlığında EAS ile- indüklenen kasılma yanıtları

Detrusör stripleri artan frekansta (2-64Hz) elektriksel



Şek. 11. 10^{-7} - 10^{-5} M aralığında indometazin'in izole sıçan mesanesi detrusör striplerinde artan frekansta (2-64 Hz) EAS ile-indüklenen kasılma yanıtlarına etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (n=8).



Şek. 12. 10^{-7} - 10^{-5} M aralığında ketoprofen'in izole sıçan mesanesi detrusör striplerinde artan frekansta (2-64 Hz) EAS ile-indüklenen kasılma yanıtlarına etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (n=8).

uyarıya frekans-bağımlı kasılma yanıtları verdi (Şek. 3a). Aspirin, indometazin ve ketoprofenin uygulanmasının ardından bu yanıt trasesinde meydana gelen değişiklikler gösterilmiştir (Şek. 3b, c ve d).

10^{-7} M aspirin düşük frekanstaki (2, 4 ve 8 Hz) EAS yanıtlarını etkilemedi ($p>0,05$), fakat yüksek frekanstaki (16, 32, 64 Hz) EAS ile-indüklenen kasılma yanıtlarını anlamlı olarak azalttı ($p<0,05$), (Şek. 10).

İndometazin ve ketoprofen ile 30 dakika inkübasyon kontrol yanıtları ile karşılaştırıldığında EAS yanıtları üzerinde istatistiki olarak anlamlı değişiklik meydana getirmede ($p>0,05$), (Şek. 11 ve 12).

4. Tartışma

Aspirin sadece 10^{-7} M konsantrasyonda karbakolle-indüklenen yanıtları azalttı, fakat diğer konsantrasyonlarda herhangi bir etki meydana getirmede. Bir başka çalışmada elde edilen sonuca benzer şekilde, kullandığımız dozlarda aspirin mesane bazal tonusunda bir değişiklik yapmadı (Bolle ve ark., 1998). Bu sonuç, aspirinin karbakolle-indüklenen kasılma yanıtlarını değiştirmemesini açıklayabilir ancak, düşük doz aspirin varlığında yanıtlarda meydana gelen azalma açıklanamamaktadır. Düşük doz aspirin ile elde ettiğimiz bu

sonuçlar ilginç olmakla birlikte, çalışmamızla kıyaslamamızı sağlayacak başka bir çalışma bulunmamaktadır. Diğer fizyolojik mekanizmaların bu yanıtlar üzerine olası katkısı da göz ardı edilmemelidir. Çalışmamızda, aspirin'in düşük dozda görülen bu etkisinden emin olabilmek için, 10^{-8} M aspirin konsantrasyonu grubunu ilave ettik. 10^{-7} M aspirinde elde ettiğimiz sonuçlara benzer sonuçlar elde ettik. En yüksek aspirin konsantrasyonunda (10^{-5} M) bazal tonusta herhangi bir düşme olmadığından bir üst konsantrasyonu da çalışmamıza ekledik. 10^{-4} M aspirin konsantrasyonu da bazal tonusu değiştirmede. Olasılıkla, aspirin varlığında bazal tonusta değişiklik görebilmek daha yüksek dozlar gerekmektedir (Grilli ve ark., 1996).

Daha önce de belirttiğimiz gibi, NSAİİ'lerin varlığında mesane bazal tonusunda meydana gelen düşme COX enzim inhibisyonuna ve sonuç olarak da PG sentez inhibisyonuna bağlıdır (Tucci ve ark., 2002). İndometazin varlığında, mesane bazal tonusu düşmesine rağmen, karbakol yanıtlarında bir değişiklik meydana gelmedi. Bizim sonuçlarımızı destekler şekilde, indometazin varlığında karbakolle-indüklenen yanıtların değişmediği gösterilmiş ve COX enziminin dışında M3 reseptörü aracılı mesane kontraksiyonlarını etkilemediği görüşü ile açıklanmıştır (Schneider ve ark., 2004; Badawi ve ark., 2008). Ancak bundan farklı olarak, bir başka çalışmada ise indometazin varlığında artan karbakol yanıtları araziidonik asit kaskadının lipooksijenaz yolağına kayması neticesinde açığa çıkan kontraktıl lökotrienler ile karakterize 'redirection hipotezi' ile açıklanmıştır (Björling ve ark., 1994). Ketoprofen, indometazin gibi, mesane bazal tonusunu azalttı ve düşük konsantrasyonu dışındaki diğer konsantrasyonlarda indometazinden farklı olarak karbakol yanıtlarını doz-bağımlı olarak artırdı. Çeşitli çalışmalarda ketoprofen ve bir başka propionik asit türevi olan flurbiprofen ile çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Ketoprofen varlığında prostaglandin sentez inhibisyonuna bağlı azalmış karbakol yanıtları, diğer yanda ise flurbiprofen varlığında artan karbakol yanıtlarından bahsedilmektedir (Klarskov, 1987; Kishii ve ark., 1992). Her ne kadar, redirection hipotezi çelişkili bir hipotez ise de; NSAİİ'lerin bronşlar ve gastrointestinal sistem üzerine olan etkilerinin bu hipotezle ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Picado, 2006; Leone ve ark., 2007). Bu durum, ketoprofen varlığında, artan karbakol yanıtlarını açıklayabilir ancak bu durumda indometazin varlığında herhangi bir artış görülmesi ilginçtir. Öte yandan, mesanedeki in vitro prostanooid sentezinin M2 reseptör subtipi aracılığı ile olduğu, PG'lerin mesane üzerindeki düzenleyici etkileri ile kolinerjik transmisyon arasında bir ilişki olmadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, mesanedeki kasılma yanıtlarına aracılık eden esas reseptörün M3 reseptör subtipi olduğu, asetilkolinin mesane detrusör kası üzerinde muskarinik M3 reseptörlerini etkilediği ve M2 subtipinin sadece indirekt bir rolünün olduğu da belirtilmiştir (Kories ve ark., 2003; Schneider ve ark., 2004; Giglio ve Tobin, 2009). Bunlar dikkate alındığında, PG'ler ve M2 reseptör subtipi arasında olası bir ilişkinin varlığı kabul edilecek olsa bile, bunun mesane kasılması üzerinde önemli bir rolü olmadığı ileri sürülebilir. Bununla birlikte, farklı gruplardan NSAİİ'lerin karbakol yanıtları üzerinde farklı etkiler meydana getirdiği de görülmektedir.

Çalışmamızda aspirin isoprenalinle-indüklenen gevşeme yanıtlarını değiştirmede. Bir başka çalışmada aspirin'in mesane bazal tonusunda değişiklik yapmamasına karşın, isop-

renalin yanıtlarını azalttığı gösterilmiştir ve bu sonuç aspirinin β -adrenerjik sistem üzerindeki etkisinin prostaglandin sentez inhibisyonu dışındaki etkilerine bağlı olduğu görüşü ile açıklanmıştır (Bolle ve Tucci, 1998). İndometazin doz bağımlı olarak isoprenalin yanıtlarını azalttı. Daha önce yapılan çalışmalarda, indometazin ve bir başka propionik asit türevi olan ibuprofen varlığında isoprenalin yanıtlarında doz bağımlı olmayan bir azalma olduğu, bu nedenle de sadece COX inhibisyonu ile açıklanamayacağı ileri sürülmüştür. Bununla birlikte, indometazin ve ibuprofen varlığında azalmış olan isoprenalinle-indüklenen gevşeme yanıtlarının PGE2, PGE1 ve ETYA ilavesiyle arttığı ve COX inhibisyonunun mesanedeki isoprenalin yanıtları üzerinde önemli etkiye sahip olduğu da gösterilmiştir (Bolle ve Tucci, 1998; 1999). Bundan başka, ketoprofen sadece en yüksek konsantrasyonda isoprenalin yanıtlarını anlamlı olarak azalttı ki, bu sonuçlar da doz artışına bağlı olarak bir inhibisyona işaret etmektedir. Çalışmamızda, aspirin, indometazin ve ketoprofen sonuçları, NSAİİ'ler ve isoprenalinle-indüklenen gevşeme yanıtları arasındaki ilişkinin büyük oranda prostaglandin sentez inhibisyonuna dayandığı göstermektedir. Sonuç olarak, farklı gruplardan NSAİİ'lerin β -adrenerjik sistem üzerindeki inhibitör etki düzeyleri de farklılık göstermektedir.

Sıçan mesanesi elektriksel olarak uyarıldığında; parasempatik sinir terminalerinden asetilkolin ile ATP salınır ve bu transmitterler M3 muskarinik reseptörlerini ve P2X1 purinerjik reseptörlerini uyarak kasılma yanıtı meydana getirirler. Kısaca bu yanıtın hem in vivo hem de in vitro iki komponenti vardır; kolinerjik ve NANK (Lluel ve ark., 2002; Lai ve ark., 2008). NANK sistem aracılı yanıtın katkısı türlere ve uyarının frekansına göre değişmektedir (Wust ve ark., 2002; Andersson ve Arner, 2004). Çeşitli hayvan türlerinde mesaneden elde edilen izole preparatlarda tek bir EAS ile meydana gelen nörojenik kontraksiyon atropin tarafından bloklanmamıştır ki bu non-kolinerjik olduğunu gösterir. Ancak ard arda artan frekanslarda uygulanan EAS'da düşük frekanslarda baskın olarak non-kolinerjik, yüksek frekanslarda ise kolinerjik sistem hakimiyeti ortaya çıkmaktadır (Brading ve Williams, 1990; Hoyle, 1994; Lai ve ark., 2008). Yukarıdaki bilgiler ışığında EAS'da sıçanlar için kolinerjik komponentin yanı sıra NANK komponentin varlığı yadsınamaz bir gerçektir.

10^{-7} M aspirin düşük frekanstaki (2, 4, 8 Hz) yanıtları etkilemezken, yüksek frekanstaki (16, 32, 64 Hz) yanıtları anlamlı olarak azalttı. Ancak diğer dozlarda, EAS ile-indüklenen yanıtlar üzerinde etkili değildi. Aspirin'in düşük dozunda görülen bu etki yüksek frekanstaki yanıtlarda kolinerjik sistemin hakimiyeti göz önüne alındığında karbakol yanıtları üzerinde elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Aspirin ile benzer doz ve frekans aralığı kullanılarak yapılan başka bir çalışma bulunamadı. İndometazin, EAS yanıtlarını değiştirmede, bulduğumuz sonuçlar indometazin ile yapılan başka bir çalışma ile uyumludur (Creed ve Callahan, 1989). Bununla birlikte, anlamlı olmamakla birlikte, EAS yanıtlarında düşük frekanslarda düşme görüldü. Çeşitli çalışmalarda, NSAİİ'lerin EAS ile-indüklenen yanıtlar üzerine etkisinin PG sentez inhibisyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Uzun zamandan beri PG'lerin kolinerjik sistemden ziyade purinerjik sistem ile ilişkili olduğu bilinmektedir, yakın bir zamanda da ATP ile indüklenen PGE2 üretiminin COX-1 sistemi aracılığı ile olduğu gösterilmiştir (Dean ve Downie, 1978; Choo

ve ark.,1980; Nile ve ark., 2010). Ketoprofen, ise kullanılan dozların hiçbirinde EAS ile- indüklenen kasılma yanıtlarını değiştirmedir. Sıçan mesanesinde, NANK komponentin EAS yanıtlarına katkısı tam olarak bilinmemektedir ancak sonuçlarımız göze alındığında kolinerjik komponentin katkısı olasılıkla daha fazladır. Bununla birlikte, karbakol yanıtları göz önüne alındığında EAS yanıtlarında ketoprofen varlığında bir artış beklenebilir. Yine, indometazin varlığında düşük frekanslarda görülen anlamlı olmayan azalma, purinerjik komponentin inhibisyonuna bağlı olabilir. Belki de anlamlı düzeyde bir inhibisyon görmemiz için daha yüksek bir doz seçmemiz gerekmektedir.

Aşırı aktif mesane başta olmak üzere çeşitli detrusör instabilitelerine ait hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda ketoprofen ve indometazinin in vivo etkinliği ortaya konmakla beraber aspirinle yapılan çalışmalar sınırlıdır (Velasco ve ark., 2001; Takagi-Matsumoto ve ark., 2004). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada NSAİİ'lerin mesane kapasitesini artırma potensleri aspirin \leq indometazin \leq ketoprofen şeklinde sıralanmıştır (Takagi-Matsumoto ve ark., 2004). Özellikle düşük doz aspirin verilerek yapılan bir başka çalışmada tıkanma (obstrüksiyon) oluşturulmuş hayvan modelinde azalmış karbakol yanıtlarını düşük doz aspirinin artırdığı görülmüştür (Schröder ve ark., 2001). Bu noktada bu sonuçlar ile bizim çalışmamız arasında bir çelişki ortaya çıkmaktadır. Çünkü çalışmamızda in vitro düşük doz aspirin karbakol yanıtlarını azaltmış, indometazin değişiklik yapmamış, ketoprofende ise

artış görülmüştür. Ancak, bizim çalışmamız sağlıklı hayvanlar üzerinde yapılmıştır ve mesane patolojileri durumunda normalde sessiz olup devreye giren C liflerinden (deGroat, 2006), M2 muskarinik reseptörlerinin kontraksiyonlara dahil olmasından (Andersson ve Arner, 2004), çeşitli yayınlarda bahsedilmektedir.

Sonuçlarımız, sıçan detrusör striplerinde NSAİİ'ler varlığında karbakol, isoprenalin ve EAS yanıtlarında meydana gelen değişikliklerin temel olarak PG sentez inhibisyonu ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Diğer fizyolojik mekanizmaların bu yanıtlara olası katkısı daha az görünmektedir. Olasılıkla PG'lerin mesanedeki düzenleyici etkileri kolinerjik transmisyonla ilişkili değildir. Bununla birlikte, EAS yanıtlarında bulduğumuz sonuçlar PG'ler ile NANK sistem arasında bir ilişki varlığını kısmen de olsa göstermektedir. Pek çok çalışmada NANK sistem özellikle ATP ve PG'ler arasındaki pozitif yönlü ilişki ortaya konmuş, ATP'nin PG sentezini indüklediği gösterilmiştir (Naramatsu ve ark.,1997; Khattab ve ark., 2002; Nile ve ark., 2010). Bizim çalışmamızda ise EAS yanıtları bunun sadece bir göstergesi olabilir.

Sonuç olarak, farklı gruplardan NSAİİ'lerin mesane kas motilitesinin düzenlenmesine katılan çeşitli fizyolojik mekanizmalar üzerindeki etkileri birbirlerinden farklılık göstermektedir. Bundan başka, NSAİİ'lerin bu fizyolojik sistemler üzerindeki etkilerinde siklooksijenaz enzim inhibisyonu dışında diğer mekanizmaların olası katkısını değerlendirmek için kapsamlı mekanizma çalışmaları gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Andersson, K.E. 2002. Bladder activation: afferent mechanisms. *Urology*. 59, 43-50.
- Andersson, K.E., Anders, A. 2004. Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*. 84, 935-986.
- Andersson, K.E. 2010. Detrusor myocyte activity and afferent signaling. *NeuroUrol Urodyn*. 29, 97-106.
- Badawi, J.K, Seja, T., Bross, S. 2008. In vitro effects of the cyclooxygenase inhibitor indomethacin and of the phospholipase-C inhibitor U-73122 on carbachol-induced contractions of porcine detrusor muscle. *Fundam Clin. Pharmacol*. 22, 667-72.
- Bjorling, D.E., Saban, M.R., Bruskwitz, R.C., Saban, R.A. 1994. Response of the isolated guinea pig bladder to exogenous and leukotriens. *J. Urol*. 152, 1281-1286.
- Bolle, P., Tucci, P. 1998. Response to isoprenalin of rabbit detrusor strips following exposure to NSAIDs. *Pharmacol Res*. 37, 395-401.
- Bolle, P., Fidanza S., Tucci P. 1999. Response to isoprenaline of rabbit detrusor muscle following exposure to 5,8,11,14 eicosatetraynoic acid. Role of prostanoids on beta-adrenergic -evoked response. *J. Auton Pharmacol*. 19, 161-165.
- Brading A.F., Williams J.H. 1990. Contractile responses of smooth muscle strips from rat and guinea pig urinary bladder to transmural stimulation: effects of atropine and alpha,beta-methylene ATP. *Br. J. Pharmacol*. 99,493-498.
- Choo, L.K., Mitchelson, F. 1980. The effect of indomethacin and adenosine 5'-triphosphate on the excitatory innervation of the rat urinary bladder. *Can. J. Physiol. Pharmacol*. 58, 1042-1048.
- Creed, K.E., Callahan, S.M. 1989. Prostaglandin and neurotransmission at the guinea pig and rabbit urinary bladder. *Eur. J. Physiol*. 413, 299-302.
- de Groat, W. 2006. Integrative control of the lower urinary tract: preclinical perspective. *Br. J. Pharmacol*. 147, 25-40.
- Dean, D.M., Downie, J.W. 1978. Interaction of prostaglandins and adenosine 5'-triphosphate in the noncholinergic neurotransmission in rabbit detrusor. *Prostaglandins*. 16, 245-251.
- Giglio, D., Tobin, G. 2009. Muscarinic receptor subtypes in the lower urinary tract. *Pharmacology*. 83, 259-269.
- Grilli, M., Pizzi, M., Memo, M., Spano, P. 1996. Neuroprotection by aspirin and sodium salicylate through blockade of NF-kB activation. *Science*. 274, 1383-1385.
- Hoyle, C.H.V. 1994. Non-adrenergic, non-cholinergic control of the urinary bladder. *World J. Urol*. 12, 233-244.
- Khan, M.A., Thompson, C.S., Mumtaz, F., H., Jeremy, J.Y. 1998. Role of prostaglandins in the urinary bladder: an update. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 59, 415-422.
- Khattab, M., AL-Shabanah, O., EL-Kashef, H. 2002. Comparative study of the contractile activity evoked by ATP and diadenosine tetraphosphate in isolated rat urinary bladder ATP- NSAIDs. *Pharmacol. Res*. 45, 93-99.
- Kishii, K-I., Tetsuhiro, H.I.T. 1992. Comparison of contractile mechanisms by carbachol and ATP in detrusor strips of rabbit urinary bladder. *Japan. J. Pharmacol*. 58, 219-229.
- Klarskov, P. 1987. Influence of prostaglandins and ketoprofen on contractile responses of human and pig detrusor and trigone muscles in vitro. *Pharmacol. Toxicol*. 61, 37-41.
- Kories, C., Cyzborra, C., Fetscher, C., Schneider, T. 2003. Gender comparison of muscarinic receptor expression and function in rat and human urinary bladder: differential regulation of M2 and M3. *Naunyn-Schmeiderberg Arch. Pharmacol*. 367, 524-531.
- Lai, H.H., Smith, C.P., Munoz, A., Boone, T.B., Szigeti, G.P., Somogyi, G.T. 2008. Activation of cholinergic receptors blocks non-adrenergic non-cholinergic contractions in the rat urinary bladder. *Brain Res. Bull*. 77, 420-426.

- Lluel, P., Barras, M., Palea, S. 2002. Cholinergic and purinergic contribution to the micturition reflex in conscious rats with longterm bladder outlet obstruction. *Neurourol. Urodyn.* 21, 142–153.
- Maggi, A.A., Evangelista, S., Grimaldi, G. 1984. Evidence for the involvement of arachidonic acid metabolites in spontaneous and drug-induced contractions of rat urinary bladder. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 230, 500-513.
- Naramatsu, M., Yamashita, T., Kokubun, S. 1997. The signalling pathway which causes contraction via P2-purinoceptors in rat urinary bladder smooth muscle. *Br. Pharmacol.* 122, 558-562.
- Nile, C.J, de Vente, J., Gillespie, J.I. 2010. Stretch independent regulation of prostaglandin E(2) production within the isolated guinea-pig lamina propria. *BJU Int.* 105, 540-548.
- Picado, C. 2006. Mechanisms of aspirin sensitivity. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 6, 198-202.
- Schneider, T., Hein, T., Michel, M.C. 2004. Signal transduction underlying carbachol- induced contraction of rat urinary bladder. I. Phospholipases and Ca⁺⁺ sources. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 308, 47-53.
- Schröder, A., Levin, R.M., Kogan, B.A. 2001. Aspirin treatment improves bladder function after outlet obstruction in rabbits. *Urology.* 58, 608–613.
- Takagi-Matsumoto H., Tsukimi, Y., Tajimi, M. 2004. Effects of NSAIDs on bladder function in normal and cystitis rats: a comparison study of aspirin, indomethacin, and ketoprofen. *J. Pharmacol. Sci.* 95, 458–465.
- Tucci, P., Bartocci, C., Bolle, P. 2002. Cyclo-oxygenase- and capsaicin-sensitive afferent fibres affect beta-adrenoceptor –evoked response in the rat urinary bladder. *Pharmacol.* 64, 57-62.
- Velasco, C., Angelico, P., Guarneri, L., Leonardi, A., Clarke, D.E. 2001. Effects of the nuclear factor-kappaB inhibitors 2-hydroxy-4-trifluoromethylbenzoic acid and aspirin on micturition in rats with normal and inflamed bladder. *J. Urol.* 66, 1962–1968.
- Wust, M., Averbek, B., Reif, S., Brater, M. 2002. Different responses to drugs against overactive bladder in detrusor muscle of pig, guinea pig and mouse. *Eur. J. Pharmacol.* 454, 59–69.