

İzole Sıçan Mesane Detrusor Kasında Omeprazolün Etkisi ve Bu Etkide Rac-1 Yolağının Rolü

The Effect of Omeprazole on Isolated Rat Bladder Detrusor Muscle and the Role of the Rac-1 Pathway in This Effect

Hakan Balcı^{1,2}, Bahar Akyüz³, Süleyman Sırrı Bilge³

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

²Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Tokat, Türkiye

³Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

ÖZ

Giriş: Omeprazol ve diğer proton pompası inhibitörlerini kullanan bazı hastalarda bildirilen üriner retansiyon problemi bu ilacın mesane düz kasını da gevşeterek bu etkiyi oluşturduğunu düşündürmektedir. Omeprazol ve diğer proton pompası inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda bu ilaçların çeşitli doku ve organ düz kaslarında gevşemeye neden olduğunun gösterilmesi de hipotezimizi desteklemektedir. Fakat omeprazolün mesane düz kası üzerindeki olası etkisi ve etki mekanizmasıyla ilgili bir çalışmaya literatürde rastlanmamaktadır. Bu çalışmanın amacı omeprazolün izole sıçan mesane detrusor kasındaki olası etki ve etki mekanizmasının araştırılmasıdır.

Materyal ve Metot: 10^{-4} , 5×10^{-4} , 10^{-3} M omeprazol varlığında asetilkolin (10^{-6} - 10^{-3} M) ve elektriksel alan stimülasyonu (2-64 Hz) ile indüklenen kasılma yanıtları ölçüldü. Omeprazolün etki mekanizmasını araştırmak için Rac-1 yolak inhibitörü NSC23799 (10^{-4} M) kullanıldı. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey-Kramer post-hoc test kullanıldı.

Bulgular: Omeprazol (10^{-4} , 5×10^{-4} , 10^{-3} M) doza bağlı olarak asetilkolin ve elektriksel alan stimülasyonu ile indüklenen maksimum kasılma yanıtlarını anlamlı olarak inhibe etti. Omeprazolün (5×10^{-4} M) NSC23766 ile kombine uygulandığında tek başına NSC23766 uygulanan gruba göre ACh ve EFS ile indüklenen yanıtlarda anlamlı bir artış meydana getirdi.

Sonuç: Bu sonuçlar omeprazolün izole sıçan detrusor kasındaki kasılmaları inhibe etmesinin Rac-1 yolağının blokajı aracılığıyla olduğunu göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Detrusor Kası, Omeprazol, Rac-1 Yolağı, Sıçan

ABSTRACT

Introduction: The urinary retention problem reported in some patients using omeprazole and other proton pump inhibitors suggests that this drug has this effect by relaxing the bladder smooth muscle. Studies with omeprazole and other proton pump inhibitors show that these drugs cause relaxation in various tissue and organ smooth muscles, which also supports our hypothesis. However, there is no study in the literature about the possible effect and mechanism of action of omeprazole on bladder smooth muscle. The aim of this study is to investigate the possible effect and mechanism of action of omeprazole in isolated rat bladder detrusor muscle.

Materials and Methods: In the presence of omeprazole (10^{-4} , 5×10^{-4} , 10^{-3} M), contraction responses induced by acetylcholine (10^{-6} - 10^{-3} M) and electrical field stimulation (2-64 Hz) were measured. Rac-1 pathway inhibitor NSC23799 (10^{-4} M) was used to investigate the mechanism of action of omeprazole. One-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey-Kramer post-hoc test were used for statistical analysis.

Results: Omeprazole (10^{-4} , 5×10^{-4} , 10^{-3} M) dose-dependently inhibited maximal contraction responses induced by acetylcholine and electrical field stimulation. When omeprazole (5×10^{-4} M) was applied in combination with NSC23766, it caused a significant increase in ACh and EFS-induced responses compared to the NSC23766 alone group.

Conclusion: These results show that omeprazole inhibits contractions in isolated rat detrusor muscle through blockade of Rac-1 pathway.

Keywords: Detrusor Muscle, Omeprazole, Rac-1 Pathway, Rat

Cite this article as: Balcı H, Akyüz B, Bilge SS. İzole Sıçan Mesane Detrusor Kasında Omeprazolün Etkisi ve Bu Etkide Rac-1 Yolağının Rolü. YIU Sağlık Bil Derg 2023;4:17-23

Giriş

Üriner inkontinans her türlü idrar tutamama şikâyeti olarak tanımlanmaktadır. Benzer bir tanım ise, mesane kontrolünün kaybı ve beraberinde istem dışı, damlalar halinde veya daha yoğun olarak idrarın kaçırılması durumudur. Bu duruma santral sinir sistemi hastalıkları neden olabileceği gibi mesane detrusor kasının kontrol dışı kasılmaları da neden olabilmektedir (1).

Üriner inkontinans tedavisinde antihistaminikler, antipsikotikler ve trisiklik antidepressan ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçların tedavide kullanılma nedeni temel etki mekanizmalarından farklı olarak antikolinergik etkiye de sahip olarak detrusor kasında asetilkolin ile meydana gelen kasıcı etkinin ortadan kaldırılmasıdır (2). Ancak bu ilaçların uzun süreli kullanımına bağlı istenmeyen etkiler meydana gelebilmektedir.

Proton pompa inhibitörleri (PPI'ler), gastrik parietal hücrede H⁺/K⁺-ATPaz enzimini inhibe ederek gastrik asit sekresyonunu baskılayan benzimidazol türevi ilaçlardır (3). PPI'ler, mide ülseri, duodenal ülser ve gastroözofageal reflü hastalığı gibi asit-peptik bozuklukların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (4). Kolon, uterus, böbrek ve vasküler düz kasta bulunan izoenzimler ailesinin bir üyesi olan H⁺/K⁺-ATPaz'ın mesanede de eksprese edildiği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (5).

Omeprazol ve diğer proton pompası inhibitörlerini kullanan bazı hastalarda bildirilen üriner retansiyon problemi bize bu ilacın mesane düz kasında olası etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Omeprazol ve diğer proton pompası inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda bu ilaçların çeşitli doku ve organ düz kaslarında gevşemeye neden olduğunun gösterilmesi de hipotezimizi desteklemektedir. Proton pompası inhibitörlerinin çeşitli doku ve organlarda meydana getirdiği gevşetici etkinin bu grup ilaçların temel etki mekanizması olan H⁺/K⁺-ATPaz inhibisyonundan bağımsız olduğu düşünülmektedir (6). Ayrıca, izole sıçan aortu üzerinde omeprazolün etkisi ve etki mekanizmasının araştırıldığı bir çalışmada da omeprazolün sıçan aortunu gevşettiği ve bu gevşetici etkiye nitrik oksitin aracılık ettiği bildirilmiştir (7, 8).

Proton pompa inhibitörlerinin düz kaslar üzerindeki gevşetici etkileri yapılan pek çok çalışma ile gösterilmiş olsa da (7, 9-11) sıklıkla kullanılan bir PPI olan omeprazolün mesane düz kası üzerine olan etkisini gösteren çalışmalar çok sınırlı kalmakta ve olası etki mekanizmasını araştıran bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Omeprazolün mesane düz kasındaki olası etkisi ve bu etkide Rac-1 yolağının rolünün aydınlatılmasının üriner inkontinans tedavisinde yeni yaklaşımlara ışık tutabileceğini düşünmekteyiz.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada deneysel protokol, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 21/09/2020 tarihli ve 68489742-604.01.03-E.15902 sayılı kararını takiben Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Deneysel Hayvanları

Bu çalışmada Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEHAM)'nde yetiştirilen 250-300 gram ağırlığında olan, suya ve yeme erişiminin serbest olduğu ve 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık döngüsünün bulunduğu ortamda tutulan 14 adet Wistar albino sıçan kullanıldı.

Kullanılan Kimyasal Ajanlar

a. Omeprazol (Sigma)

Proton pompa inhibitörü

Kapalı formülü: C₁₇H₁₉N₃O₃S

Molekül ağırlığı: 345.42 g/mol

b. NSC23766 (Sigma)

Rac-1 yolak inhibitörü

Kapalı formül: C₂₄H₃₅N₇·3HCl

Molekül ağırlığı: 530.96 g/mol

c. Asetil kolin (Sigma) Non-selektif muskarinik reseptör agonisti

Kapalı formül: C₇H₁₆ClNO₂

Molekül ağırlığı: 181.66 g/mol

d. Krebs-Henseleit Çözeltisi

Glukoz (C₆H₁₂O₆) (Sigma): 11 mM

Potasyum dihidrojenfosfat (KH₂PO₄) (Sigma): 0.9 mM

Sodyum bikarbonat (NaHCO₃) (Sigma): 25 mM

Magnezyum sülfat (MgSO₄) (Sigma): 1,2 mM

Kalsiyum klorür (CaCl₂) (Sigma): 2.5 mM

Potasyum klorür (KCl) (Sigma): 5.6 mM

Sodyum klorür (NaCl) (Sigma): 118 mM

Deneysel Protokol

Anestezi altındaki hayvanların (ketamin (100 mg/kg, i.p.) + klorpromazin (0,75 mg/kg i.p.)) abdominal bölgelerine yapılan insizyon ile mesane görünür hale getirildi. Mesane dışarı çıkarılarak Petri kutusuna alındı ve detrusor kası izole edildi. 4x10 mm uzunluğunda hazırlanan strip iki ucundan 4/0 ipek suturelerle bağlanarak içinde Krebs Henseleit solüsyonu bulunan ve %95 O₂ + %5 CO₂ karışımı ile gazlandırılan organ banyosuna transfer edildi. Stripler izometrik kontraksiyonların kayıt edilmesine imkan veren veri kayıt ve analiz sistemine bağlı (Adinstruments, UK) transducer'lara (Adinstruments, UK) longitudinal olarak asıldı. Elektriksel alan stimülasyonu için Grass Stimulatore bağlı bipolar elektrotlar kullanıldı. Banyoya asılan stripinin gerimi 1 grama ayarlandı ve 1 saat boyunca dinlenmeye bırakıldı. Bir saatlik dinlenme süresi boyunca dokular her 15 dakikada bir Krebs-Henseleit çözeltisi ile yıkandı ve bir saatin sonunda deney protokolüne geçildi.

1. Grup: Omeprazolun mesane detrusor kasi üzerindeki etkisi (n=7)

-ACh yanıtları

ACh 10^{-6} - 10^{-3} M doz aralığında kümülatif yanıt alındı, alınan değerler kontrol yanıtları olarak değerlendirildi. Omeprazolün 3 farklı dozu (10^{-4} , 5×10^{-4} , 10^{-3} M) ile stripler inkübe edilip ACh yanıtları tekrar alındı. Elde edilen değerler kontrol ACh yanıtlarının yüzdesi olarak hesaplandı.

-Elektriksel alan stimülasyonu (EFS) yanıtları

İzole detrusor striplere bipolar elektrotlar yardımıyla 100V, 0.2 ms, 2-64 Hz frekans aralığında alan stimülasyonu yapıldı. Alınan değerler stripin kontrol yanıtları olarak değerlendirildi. Omeprazol (10^{-4} , 5×10^{-4} , 10^{-3} M) ile stripler inkübe edilip EFS yanıtları tekrar alındı. Elde edilen değerler kontrol EFS yanıtlarının yüzdesi olarak hesaplandı.

2. Grup: Omeprazolun mesane detrusor kasındaki etkisinde Rac-1 yolağının rolü (n=7)

Omeprazolün mesane detrusor kasındaki etkisinde Rac1 yolağının rolünü araştırmak için ACh, ve EFS yanıtları alındıktan sonra ortama Rac-1 inhibitörü NSC23766 (10^{-4} M) eklenerek ACh, ve EFS yanıtlarındaki değişiklikler kaydedildi.

İstatistiksel Analiz

İzole sıçan detrusor kasında ACh ve EFS ile indüklenen kontrol yanıtlarındaki maksimum yanıtlar %100 olarak kabul edildi. Omeprazol NSC23766 varlığındaki yanıtlar ise bu maksimum yanıtın yüzdesi olarak ifade edildi.

Sonuçlar ortalama \pm standart hata (SEM) olarak ifade edildi. Veri analizleri GraphPad Prism yazılımı (v6.0) (GraphPad Software Inc., San Diego, Ca, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve post-hoc test için de

Tukey-Kramer testi kullanıldı. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Omeprazolün Mesane Detrusor Kasında ACh ile İndüklenen Kasılma Yanıtları Üzerine Etkisi

Omeprazol 10^{-4} M konsantrasyonda ACh nin 10^{-5} M, 10^{-4} M ve 10^{-3} M konsantrasyonlarındaki kasılma yanıtlarını kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttı ($p < 0,05$) (Şekil 1).

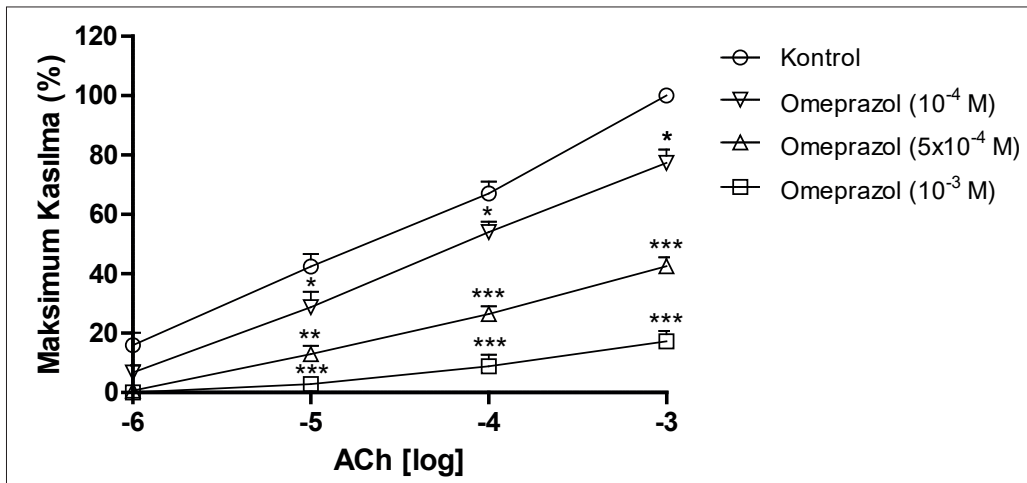
Omeprazol 5×10^{-4} M ve 10^{-3} M konsantrasyonlarda ACh nin 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M konsantrasyonlarındaki kasılma yanıtlarını kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttı ($p < 0,01$, $p < 0,001$) (Şekil 1).

Omeprazolün Mesane Detrusor Kasında EFS ile İndüklenen Kasılma Yanıtları Üzerine Etkisi

Omeprazol 10^{-4} M konsantrasyonda EFS ile indüklenen kasılma yanıtlarını kontrol grubuna göre değiştirmede. 5×10^{-4} M konsantrasyonda 4-64 Hz frekanslarında EFS ile indüklenen kasılma yanıtlarını kontrol grubuna anlamlı olarak azalttı ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$) ve 10^{-3} M konsantrasyonda ise tüm frekanslarda (2-64 Hz) EFS ile indüklenen kasılma yanıtlarını kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttı ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$) (Şekil 2).

Omeprazolün Mesane Detrusor Kasında ACh ile İndüklenen Kasılma Yanıtları Üzerine Etkisinde Rac-1 Yolağının Rolü

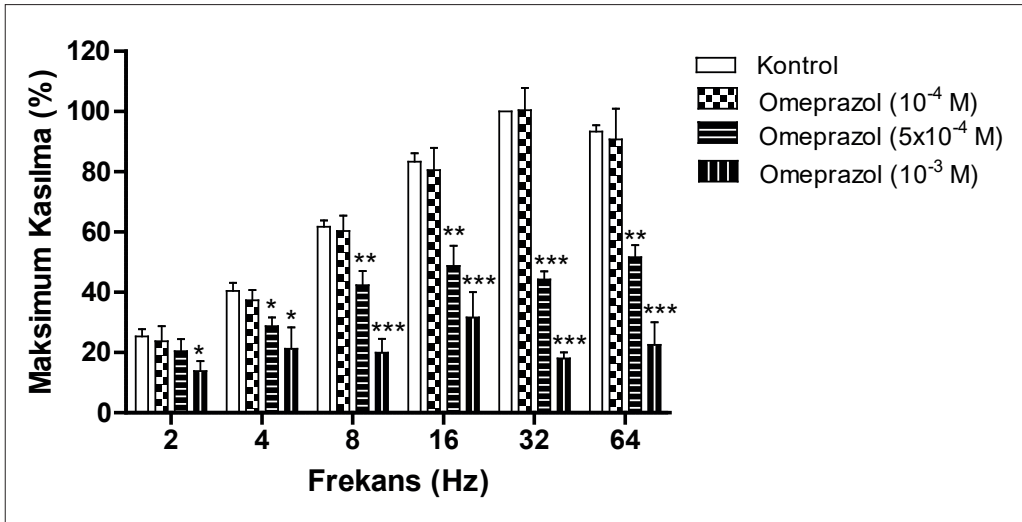
NSC23766 (10^{-4} M) ACh'nin 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M konsantrasyonlarındaki kasılma yanıtlarını değiştirmede. Omeprazol (5×10^{-4} M) ile NSC23766 (10^{-4} M) kombinasyonu, ACh'nin 10^{-4} ve 10^{-3} M konsantrasyonlarındaki kasılma yanıtlarını azaltırken ($p < 0,05$, $p < 0,01$), tek başına NSC23766 (10^{-4} M) uygulanan grup ile karşılaştırıldığında ise ACh'nin 10^{-4} ve 10^{-3}



Şekil 1. Omeprazolün ACh ile indüklenen kasılma yanıtları üzerine etkisi

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ Kontrol grubuna göre (n=7)

Tüm değerler ortalama \pm S.E.M. olarak verilmiştir



Şekil 2. Omeprazolün EFS ile indüklenen kasılma yanıtları üzerine etkisi
*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 Kontrol grubuna göre (n=7)
Tüm değerler ortalama ± S.E.M. olarak verilmiştir

M konsantrasyonlarındaki kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak artırdı (p<0,05, p<0,01) (Şekil 3).

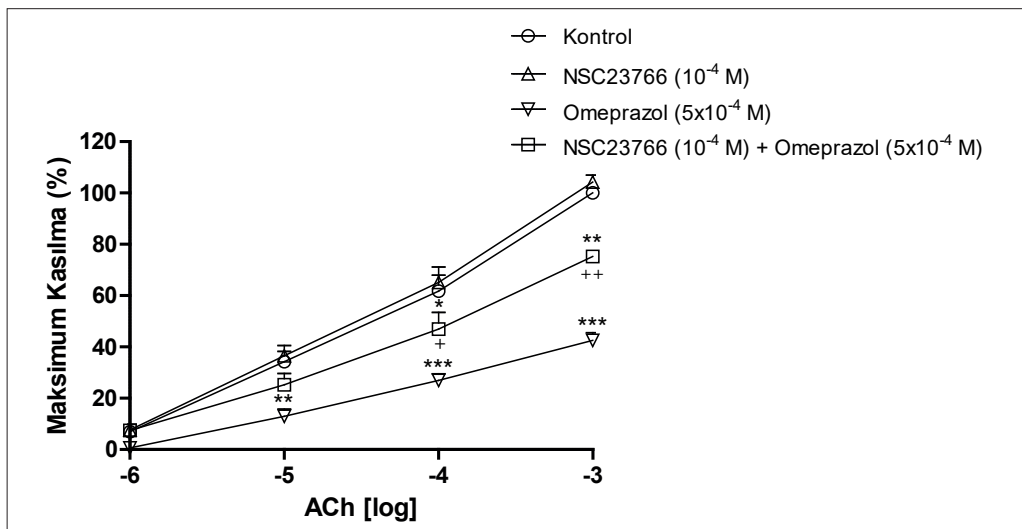
Omeprazolün Mesane Detrusor Kasında EFS ile İndüklenen Kasılma Yanıtları Üzerine Etkisinde Rac-1 Yolağının Rolü

NSC23766 10⁻⁴ M konsantrasyonda tüm frekanslarda EFS ile indüklenen kasılma yanıtlarını kontrol grubuna göre değiştirmedir. Omeprazol (5x10⁻⁴ M) ile NSC23766 (10⁻⁴ M) kombinasyonu, 4-32 Hz frekanslarda EFS ile indüklenen kasılma yanıtlarını kontrol grubuna göre azaltırken (p<0,05, p<0,01), tek başına NSC23766 (10⁻⁴ M) uygulanan grup ile karşılaştırıldığında ise 16-32 Hz frekanslarda EFS ile indüklenen kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak artırdı (p<0,05) (Şekil 4).

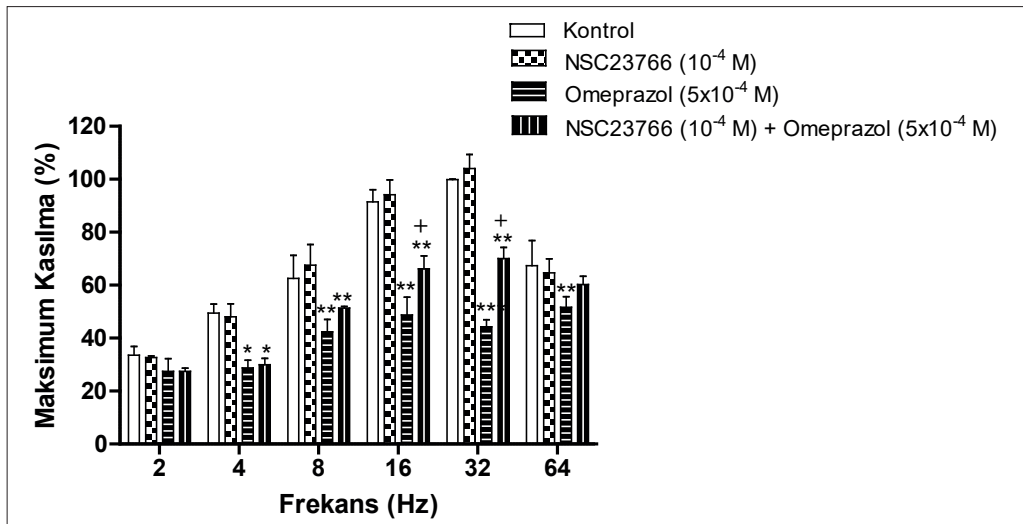
Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada H⁺/K⁺ ATPaz inhibitörü olan omeprazolün (OMP) sıçanlarda asetilkolin (ACh) ve Elektriksel Alan Stimülasyonu (EFS) ile indüklenen detrusor düz kas kasılmalarını doza bağlı olarak inhibe ettiği gösterildi. OMP'nin gevşetici etkisinde Rac-1 yolağının etkisinin araştırıldığı ve Rac-1 yolağı inhibitörü NSC23766 ile kombine uygulanan OMP'nin, tek başına uygulanan OMP grubuna kıyasla ACh ve EFS ile indüklenen kasılma yanıtlarında da anlamlı bir artışa neden olduğu ortaya kondu.

PPİ'ler dünya çapında yaygın olarak kullanılan ilaçlar arasındadır ve özellikle yaşlı bireyler arasında yüksek reçete oranına sahip ilaçlardır (12-14). PPİ'ler mide bezlerinin pariyetal



Şekil 3. Omeprazolün NSC23766 varlığında ACh ile indüklenen kasılma yanıtları üzerine etkisi
*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 Kontrol grubuna göre (n=7)
+p<0,05, ++p<0,01 Omeprazol grubuna göre (n=7)
Tüm değerler ortalama ± S.E.M. olarak verilmiştir



Şekil 4. Omeprazolün NSC23766 varlığında EFS ile indüklenen kasılma yanıtları üzerine etkisi

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 Kontrol grubuna göre (n=7)

+p<0,05 Omeprazol grubuna göre (n=7)

Tüm değerler ortalama ± S.E.M. olarak verilmiştir.

hücrelerinde H⁺/K⁺-ATPaz enzimini inhibe ederek midedeki asiditeyi azaltır. Omeprazol gibi PPI'lerin kullanımı, B12 vitamini, magnezyum, kalsiyum, demir, C vitamini, β-karoten ve çinko absorpsiyonunun azalmasıyla ilişkilendirilmiştir (15, 16). Ayrıca, uzun süreli PPI kullanımının kaslarda bir tür kronik inflamasyon olan polimiyozit ile sonuçlanabileceği bildirilmiştir (17). İlâveten omeprazol ve pantoprazol gibi ilaçları kullanan bireylerin üriner retansiyon gibi çeşitli üriner problemler bildirdiği de ortaya konmuştur (18). Bu veri bize omeprazolün detrusor düz kasını etkileyerek üriner retansiyona neden olabileceğini düşündürdüğünden biz de çalışmamızda bir proton pompa inhibitörü olan omeprazolün mesane düz kası üzerindeki olası etkisini ve bu etkide Rac-1 yolağının rolünü araştırmayı hedefledik.

Omeprazol ve diğer proton pompa inhibitörleri ile yapılan in vitro çalışmalarla bu ilaçların düz kaslar üzerinde gevşetici etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur. İzole sıçan aortu üzerinde omeprazolün etkisinin araştırıldığı bir çalışma da fenilefrin aracılı kasılmaların omeprazol tarafından inhibe edildiği vurgulanmıştır (7). Kobay izole safra kesesi stripleri ile yapılan başka bir çalışmada omeprazol ve lansoprazolün, spontan kasılmalar üzerinde güçlü inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir (19). Omeprazol ve lansoprazolün izole insan arter stripleri üzerindeki etkisinin araştırıldığı diğer çalışmada ise fenilefrin ile oluşturulan kasılmaların doza bağlı bir şekilde omeprazol ve lansoprazol tarafından bloke edildiği rapor edilmiştir (20). Omeprazol, lansoprazol ve pantoprazolün izole sıçan ileumu üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada bu üç ilacında ileumun spontan kasılmalarını inhibe ettiği bulunmuştur (11). Omeprazolün ve diğer proton pompa inhibitörlerinin birçok doku ve organın düz kasları üzerinde etkili bir gevşeme meydana getirdikleri gösterilmiş olmasına rağmen omeprazolün mesane detrusor düz kası üzerindeki etkisi ve bu etkide Rac-1 yolağının rolü ile ilgili bir çalışmaya literatürde rastlanmamaktadır.

Bu çalışmada 10⁻⁴ M, 5x10⁻⁴ M ve 10⁻³ M konsantrasyonlarda uygulanan omeprazol izole sıçan detrusor kasında kümülatif ACh (10⁻⁶-10⁻³ M) ile indüklenen kasılma yanıtlarını doza bağımlı olarak azalttı. Literatürdeki bilgiler ışığında ACh tarafından indüklenen kasılma yanıtlarının omeprazol ile azalmasının farklı mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşebileceği düşünülmektedir. Bunlardan biri de omeprazolün hücre içinde kasılma mekanizmasında görev alan reseptör altı yolakları (Rac-1 yolağı gibi) bloklayarak kasılma yanıtlarını azalabileceğidir.

Sıçan detrusor kasında, küçük GTPaz Rho (Rac-1) ve onun efektörlerinden biri olan Rho ile ilişkili kinaz (ROCK) içeren bir Ca²⁺ sensitizasyon yolunu içeren başka M3-reseptör sinyal yolakları tanımlanmıştır (21-25). Aktive edilmiş Rac-1'in miyozin hafif zincir fosfatazın regülatör alt birimini fosforile edeceği ve fosfataz aktivitesini inhibe ederek detrusor düz kasının Ca²⁺'a duyarlılığını artırarak kasılmaya neden olabileceği öne sürülmüş olsa da (26) bu yolağın detrusor düz kas kasılması üzerindeki etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır (25). Bu çalışmada biz de ACh ile indüklenen kasılma yanıtlarının omeprazol tarafından inhibisyonu üzerinde Rac-1 yolağının etkisini araştırdık. Bu amaçla tek başına kullandığımız Rac-1 yolak inhibitörü olan NSC23766'nın kontrol grubuna göre kasılma yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmadığını; omeprazol-NSC23766 kombinasyonunun ise NSC23766 grubuna kıyasla 10⁻⁴ M ve 10⁻³ M konsantrasyonlarındaki ACh yanıtlarını istatistiksel olarak azalttığını gösterdik. Bu da bize omeprazolün yüksek konsantrasyonlardaki ACh ile indüklenen kasılma yanıtlarını inhibe etmesinin altında yatan mekanizmalardan birinin de detrusor düz kasının Ca²⁺ duyarlılığını artırarak kasılmasına neden olabileceği düşünülen Rac-1 yolağının inhibisyonu aracılığıyla olduğunu göstermektedir. Bu bulgu literatürde Rac-1 yolağının düz kas kasılması üzerindeki

etkisinin araştırıldığı diğer bulgularla uyumludur. Rac-1 ekspresyonunun baskılandığı sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada detrusor düz kas kasılmasında azalmanın meydana geldiği bildirilmiştir (27). Aynı çalışmada Rac-1 yolağının EHT1864 tarafından bloklanmasının sıçan detrusor düz kas kasılmasını azalttığı ileri sürülmüştür (27). İnsan detrusor düz kası üzerinde yapılan başka bir çalışma ise detrusor düz kasının kasılmasında Rac-1 yolağının görev aldığı gösterilmiştir (28). Bu bilgiler detrusor düz kasının kasılmasının altında yatan mekanizmalardan birinin de Rac-1 yolağı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Omeprazolün de düz kas gevşetici etkisinde de bu yolağın rolü çalışmamızda ortaya konmuştur.

Mesanein elektriksel alan stimülasyonu (EFS) ile uyarılması sonucu dokudan ACh salınarak M_2 ve M_3 kolinerjik reseptörleri aracılığıyla dokunun kasılması gerçekleştirilir. M_2 reseptörlerinin aktivasyonu cAMP miktarını azaltarak voltaja duyarlı L-tipi kalsiyum kanallarının depolarizasyonunu sağlayarak intraselüler Ca^{+2} akışına neden olur (29). M_3 reseptörlerinin aktivasyonu ise ürotelyal hücrelerden ATP salınmasını tetikler (30). ATP ise Rac-1 aktivasyonunu indükleyerek intraselüler Ca^{+2} artışına ve dolayısıyla dokunun kasılmasına katkıda bulunur (31).

Bu çalışmada omeprazol 5×10^{-4} M konsantrasyonda 4-64 Hz ve 10^{-3} M konsantrasyonda 2-64 Hz frekanslarda elektriksel alan stimülasyonu ile indüklenen kasılma yanıtlarını anlamlı derecede azaltmıştır. Omeprazol tarafından EFS yanıtlarının azaltılması ATP ve ACh reseptörlerinin blokajına ve/veya bu mediyatörlerin M_2 - M_3 reseptörlerini aktivasyonu sonucu oluşan yolakların bileşeni olan Ca^{+2} kanallarının bloke edilmesine bağlı olabilir. Yapılan çalışmalar sonucu detrusor kasının EFS ile kasılmasında Rac-1 yolağının rolü olduğu ortaya konmuştur (25, 32). Rac-1 yolağının mesane kasılmasına neden olmasının altında yatan mekanizma tam olarak tespit edilememiş olsa da intraselüler depolardan Ca^{+2} salınmasına ve dokuda Ca^{+2} sensitizasyonunun artmasına neden olabileceği düşünülmektedir (32). Bu sonuçlar ışığında biz de çalışmamızda omeprazolün EFS ile indüklenen kasılma yanıtlarını azaltmasında Rac-1 yolağının rolünü araştırmak amacıyla Rac-1 antagonisti olan NSC23766 ile omeprazolü (5×10^{-4} M) kombine halde uyguladık. Bu kombinasyonun tek başına uygulanan omeprazol (5×10^{-4} M) grubuna göre 16-32 Hz frekanslardaki EFS ile indüklenen kasılma yanıtlarını anlamlı olarak artırdığını tespit ettik. Bu sonuç bize omeprazolün Rac-1 yolağını bloklayarak intraselüler depolardan Ca^{+2} salınmasını azalttığı ve hücrenin Ca^{+2} 'a karşı duyarsızlaşmasını sağladığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda omeprazolün izole sıçan detrusor kası üzerindeki etkileri ve olası etki mekanizması ilk kez gösterildi. İzole sıçan detrusor kası üzerinde ACh ve EFS ile indüklenen kasılma yanıtlarının omeprazol tarafından azaltıldığı bulundu. Omeprazolün gevşetici etkisinin Rac-1 yolağının blokajına bağlı olduğu gösterildi.

Teşekkür: Bu çalışmaya katılarak destek veren herkese teşekkür ederiz.

Etik Kurul Onayı: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'dan (21.09.2020 tarihli ve 68489742-604.01.03-E.15902 sayılı) etik onay alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir ve tasarım: H.B., S.S.B.; Literatür taraması: H.B.; Veri toplama: H.B., B.A.; Kayıtların analizi: H.B., B.A., S.S.B.; Makalenin raporlanması: H.B., B.A., S.S.B.; Eleştirel inceleme: H.B., B.A., S.S.B.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi BAP tarafından PYO. TIP.1904.21.003 proje numarası ile desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: Ethical approval was obtained from Ondokuz Mayıs University Animal Experiments Local Ethics Committee (dated 21.09.2020 and numbered 68489742-604.01.03-E.15902).

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept and Design - H.B., S.S.B.; Data Collection and/ or Processing - H.B., B.A.; Analysis and/ or Interpretation - H.B., B.A., S.S.B.; Literature Search- H.B.; Writing - H.B., B.A., S.S.B.; Critical Reviews - H.B., B.A., S.S.B.

Conflict of Interest: The authors declared that there is no conflict of interest.

Financial Disclosure: This work was supported by the Ondokuz Mayıs University BAP with the project number PYO.TIP.1904.21.003.

Kaynaklar

1. Irwin GM. Urinary Incontinence. Prim Care. 2019;46:233-242.
2. Andersson KE, Wein AJ. Pharmacology of the lower urinary tract: basis for current and future treatments of urinary incontinence. Pharmacol Rev. 2004;56:581-631.
3. Shin JM, Sachs G. Pharmacology of proton pump inhibitors. Curr Gastroenterol Rep. 2008;10:528-534.
4. Boparai V, Rajagopalan J, Triadafilopoulos G. Guide to the use of proton pump inhibitors in adult patients. Drugs. 2008;68:925-947.
5. Terranova C, Petrella C, Improta G, Severini C, Signore F, Damiani P et al. Relaxant effect of proton pump inhibitors on in vitro myometrium from pregnant women. Eur J Pharm Sci. 2014;52:125-131.
6. Bağcivan I, Gökçe G, Ayan S, Yıldırım S, Sarac B, Kilicarslan H et al. Hydrogen-potassium ATPase inhibitors induce relaxation on rabbit prostatic strips in vitro. Int J Urol. 2002;9:641-644.
7. Kelicen P, Pekiner C, Sarioglu Y, Uma S. Omeprazole-induced relaxation in rat aorta is partly dependent on endothelium. Pharmacol Res. 2002;46:321-323.
8. Duman M, Ozer M, Reyhan E, Demirci Y, Atici AE, Dalgic T et al. In vitro effect of pantoprazole on lower esophageal sphincter tone in rats. World J Gastroenterol. 2011;17:5105-5109.
9. Okabe S, Amagase K, Fujita H, Iwata K, Satake N, Shibata S. Vasoinhibitory effect of leminoprazole, a H⁺,K⁽⁺⁾-ATPase inhibitor, on rat aortic rings. Gen Pharmacol. 1996;27:117-121.
10. Sarioglu Y, Yıldırım S, Utkan T, Yıldırım MK, Uma S. Evidence of relaxant effect of omeprazole in rabbit corpus cavernosum in vitro. Life Sci. 2000;66:1411-1421.
11. Kurt A, Altun A, Bağcivan I, Koyuncu A, Topcu O, Aydın C et al. Effects of proton pump inhibitors and h(2) receptor antagonists on the ileum motility. Gastroenterol Res Pract. 2011;218-342.
12. Parsons C, Johnston S, Mathie E, Baron N, Machen I, Amador S ve diğ. Potentially inappropriate prescribing in older people with dementia in care homes: a retrospective analysis. Drugs Aging. 2012;29:143-155.
13. Zhang X, Zhou S, Pan K, Li X, Zhao X, Zhou Y et al. Potentially inappropriate medications in hospitalized older patients: a cross-sectional study using the Beers 2015 criteria versus the 2012 criteria. Clin Interv Aging. 2017;12:1697-1703.
14. Boucherie Q, Rouby F, Frankel D, Roll P, Micallef J. Proton pump inhibitors prescriptions in France: Main trends from 2006 to 2016 on French health insurance database. Therapie. 2018;73:385-388.
15. Freedberg DE, Kim LS, Yang YX. The Risks and Benefits of Long-term Use of Proton Pump Inhibitors: Expert Review and Best Practice Advice From the American Gastroenterological Association. Gastroenterology. 2017;152:706-715.

16. Kinoshita Y, Ishimura N, Ishihara S. Advantages and Disadvantages of Long-term Proton Pump Inhibitor Use. *J Neurogastroenterol Motil.* 2018;24:182-196.
17. Clark DW, Strandell J. Myopathy including polymyositis: a likely class adverse effect of proton pump inhibitors? *Eur J Clin Pharmacol.* 2006;62:473-479.
18. Vinke P, Wesselink E, van Orten-Luiten W, van Norren K. The Use of Proton Pump Inhibitors May Increase Symptoms of Muscle Function Loss in Patients with Chronic Illnesses. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(1).
19. Aydin C, Sarac B, Koyuncu A, Yildirim S, Sen M, Sarioglu Y. Relaxant effect of omeprazole and lansoprazole in guinea pig gallbladder muscle strips in vitro. *J Gastroenterol.* 2003;38:765-771.
20. Naseri E, Yenisehirli A. Proton pump inhibitors omeprazole and lansoprazole induce relaxation of isolated human arteries. *Eur J Pharmacol.* 2006;531:226-231.
21. Wu C, Bayliss M, Newgreen D, Mundy AR, Fry CH. A comparison of the mode of action of ATP and carbachol on isolated human detrusor smooth muscle. *J Urol.* 1999;162:1840-1847.
22. Fry CH, Skennerton D, Wood D, Wu C. The cellular basis of contraction in human detrusor smooth muscle from patients with stable and unstable bladders. *Urology.* 2002;59:3-12.
23. Schneider T, Fetscher C, Krege S, Michel MC. Signal transduction underlying carbachol-induced contraction of human urinary bladder. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004;309:1148-1153.
24. Peters SL, Schmidt M, Michel MC. Rho kinase: a target for treating urinary bladder dysfunction? *Trends Pharmacol Sci.* 2006;27:492-497.
25. Li B, Wang R, Wang Y, Stief CG, Hennenberg M. Regulation of smooth muscle contraction by monomeric non-RhoA GTPases. *Br J Pharmacol.* 2020;177:3865-3877.
26. Wibberley A, Chen Z, Hu E, Hieble JP, Westfall TD. Expression and functional role of Rho-kinase in rat urinary bladder smooth muscle. *Br J Pharmacol.* 2003;138:757-766.
27. Wang R, Yu Q, Wang X, Li B, Ciotkowska A, Rutz B et al. Rac1 silencing, NSC23766 and EHT1864 reduce growth and actin organization of bladder smooth muscle cells. *Life Sci.* 2020;261:118468.
28. Wang RX, Wang XL, Ciotkowska A, Rutz B, Tamalunas A, Gratzke C et al. Rac1 Inhibition by Eht1864, Nsc23766 or by Knockdown of Rac1 Expression Reduces Proliferation and Actin Organization in Human Bladder Smooth Muscle Cells. *Journal of Urology.* 2019;201:130-131.
29. Semenov I, Herlihy JT, Brenner R. In vitro measurements of tracheal constriction using mice. *J Vis Exp.* 2012;64.
30. Benarroch EE. Neural control of the bladder: recent advances and neurologic implications. *Neurology.* 2010;75:1839-1846.
31. Kwon TH, Jung H, Cho EJ, Jeong JH, Sohn UD. The Signaling Mechanism of Contraction Induced by ATP and UTP in Feline Esophageal Smooth Muscle Cells. *Mol Cells.* 2015;38:616-623.
32. Li B, Yu Q, Wang R, Gratzke C, Wang X, Spek A et al. Inhibition of Female and Male Human Detrusor Smooth Muscle Contraction by the Rac Inhibitors EHT1864 and NSC23766. *Front Pharmacol.* 2020;11:409.