

Etanol ile İndüklenen Gevşemeler Üzerinde Sodyum-Potasyum Değiştirici ATPaz ve Nitrik Oksid'in Etkileri

Effects of Sodium-Potassium-Exchanging ATPase and Nitric Oxide on Ethanol Induced Relaxations

Derya KAYA,^a
Naciye YAKTUBAY DÖNDAŞ^a

^aTıbbi Farmakoloji AD,
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Adana

Geliş Tarihi/Received: 24.07.2017
Kabul Tarihi/Accepted: 23.10.2017

Yazışma Adresi/Correspondence:
Naciye YAKTUBAY DÖNDAŞ
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Farmakoloji AD, Adana,
TÜRKİYE/TURKEY
yakdas25@cu.edu.tr

Bu çalışma, 15. Ulusal Sinirbilimleri Kongresi
(07-10 Mayıs 2017, Sakarya)'nde ve
"International Journal of Experimental and
Clinical Anatomy" dergisinin supplement kısmında
özet olarak basılmıştır.

ÖZET Amaç: Alkol (etanol) dünyada yaygın olarak kullanılmakta olup gastrointestinal (GI) rahatsızlıklara neden olabilmektedir. Etanolün GI sistemde oluşturduğu etkilerin moleküler mekanizmasını aydınlatmak alkole bağlı GI sistem rahatsızlıklarının tedavi yaklaşımlarına katkı sağlayabilir. Bundan dolayı şimdiki çalışmada, GI sistem düz kas dokusu olan izole fare gastrik fundusunda etanolün oluşturduğu etkilerin moleküler mekanizmasını araştırmayı amaçladık. Bu amaçla, ilgili dokuda etanol ile indüklenen gevşeme cevapları üzerinde nitrik oksid ve sodyum-potasyum değiştirici ATPaz'ın rolünü araştırdık. **Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışmada her iki cinsten beyaz fare (Swiss albino) kullanıldı. Fareler servikal dislokasyon ile öldürüldükten sonra gastrik funduslar izole edildi. İzole edilen gastrik fundus dokuları longitudinal olarak kesilmek suretiyle gastrik fundus şeritleri hazırlandı ve içinde Tyrode solüsyonu bulunan organ banyosuna 0.5 g tansiyon altında asıldı. Banyo ortamı 37°C'de sabit tutuldu ve %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırıldı. Deneysel veriler izometrik transduser vasıtasıyla kaydedildi. Bir saatlik dengelenme periyodundan sonra, izole fare gastrik fundus şeridinin bazal tonusu 5 dakika boyunca kaydedildi ve etanol organ banyosuna uygulandı (etanolün organ banyosu ortamındaki nihai konsantrasyonu 164 mM idi). **Bulgular:** Etanol (164 mM) izole fare mide fundus şeritlerinde tekrarlanabilir gevşemelere neden oldu. Bu gevşemeler NO sentaz enziminin potent ve spesifik inhibitörü olan N ω -nitro-L-arginin (L-NOARG; 10⁻⁵-5x10⁻⁴ M) tarafından konsantrasyona bağımlı bir şekilde inhibe edildi. Bu inhibisyon istatistiksel olarak anlamlı idi. Buna karşılık, sodyum-potasyum değiştirici ATPaz'ın potent ve spesifik inhibitörü olan uvabain (10⁻⁵-10⁻⁴ M), izole fare gastrik fundus şeritlerinde etanol (164 mM) ile indüklenen gevşemeleri etkilemedi. **Sonuç:** Deneysel sonuçlar, izole fare gastrik fundus düz kasında etanol ile indüklenen gevşemelerde nitrik oksidin rolünün olabileceğini göstermektedir. Deneysel çalışma sonuçları aynı zamanda, ilgili dokuda etanol ile indüklenen gevşeme yanıtlarında sodyum-potasyum değiştirici ATPaz'ın rolünün olmadığını telkin etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Etanol; nitrik oksid; sodyum-potasyum değiştirici ATPaz; kas gevşemesi

ABSTRACT Objective: Alcohol is widely used in the world and can cause gastrointestinal (GI) disturbances. Elucidating the molecular mechanism of alcohol in the GI tract may contribute to the therapeutic approaches on GI diseases caused by alcohol. So in the present study we aimed to elucidate the molecular mechanism of ethanol on isolated mouse gastric fundus. We investigated the role of nitric oxide and sodium-potassium-exchanging ATPase on relaxations induced by ethanol in the related tissue. **Material and Methods:** Mice (Swiss albino) of either sex were used in this study. After killing the mice by cervical dislocation the gastric fundal strips were prepared by longitudinal incision and mounted under 0.5 g tension in an organ bath filled with Tyrode's solution. The bath medium was maintained at 37°C and gassed with 95% O₂ and 5% CO₂. After equilibrium period of an hour, the basal tonus of isolated mouse gastric fundal strip was recorded for 5 minutes and ethanol was applied into organ bath (the final concentration of ethanol in the organ bath medium was 164 mM). **Results:** Ethanol (164 mM) caused reproducible relaxations in isolated mouse gastric fundal strips. These relaxations were statistically significantly inhibited by N ω -Nitro-L-arginine (L-NOARG; 10⁻⁵-5x10⁻⁴ M), a potent and specific inhibitor of nitric oxide synthase, in a concentration dependent manner. On the other hand ouabain (10⁻⁵-10⁻⁴ M), a potent and specific inhibitor of the sodium-potassium-exchanging ATPase, failed to affect the relaxations induced by ethanol (164 mM) in the mouse gastric fundus. **Conclusion:** The results of experimental data suggest that nitric oxide may play a role on relaxations induced by ethanol in the isolated mouse gastric fundal smooth muscle. The results also suggest that sodium-potassium-exchanging ATPase may not have a role on relaxations induced by ethanol in the related tissue.

Keywords: Ethanol; nitric oxide; sodium-potassium-exchanging ATPase; muscle relaxation

Etanol, 'alkollü içkiler' şeklinde dünyada yaygın olarak tüketilmektedir. Etanolün sağlığa zarar verdiği iyi bilinmektedir.¹⁻³ Etanolün biyolojik membranlar ve proteinler ile etkileşmek suretiyle birçok kompleks etkiye neden olduğu rapor edilmiştir.⁴ Alkolün akut alımının gastrik mukozada ve ince barsak mukozasında hasar oluşturduğu bildirilmiştir.⁵⁻¹⁰ Kronik alımının ise ince barsakta yapısal ve fonksiyonel bozukluklara neden olduğu ve gastrointestinal karsinojenik riski artırdığı rapor edilmiştir.^{11,12} Buna ilave olarak, etanolün gastrointestinal sistem dahil birçok sistem fonksiyonunda inhibitör etki oluşturduğu gösterilmiştir.¹³⁻¹⁵ Ayrıca, etanolün gastrointestinal düz kaslar üzerinde hem kasılma hem de gevşeme yanıtına neden olduğu rapor edilmiştir.^{4,16-20} Etanolün düz kas kasılmasını artırıcı etkisinde kalsiyumun yanı sıra fosfolipaz C ve protein kinaz C'nin de rol oynayabileceği rapor edilmiştir.²¹⁻²³ Gastrointestinal sistemde etanole bağlı gevşeme yanıtında ise, kalsiyum, fosfolipaz C ve araşidonik asit yolağının rolü telkin edilse de bu konuda yapılan çalışmalar yeterli olmayıp başka çalışmalara ihtiyaç vardır.^{4,24} Etanolün GI sistemde oluşturduğu etkilerin moleküler mekanizmasını aydınlatmak alkole bağlı gastrointestinal sistem rahatsızlıklarının tedavi yaklaşımlarına katkı sağlayabilir. Bundan dolayı şimdiki çalışmada, gastrointestinal sistem düz kas dokusu olan izole fare gastrik fundusunda etanolün oluşturduğu etkilerin moleküler mekanizmasını araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı ve "Guide for the Care and Use of the Laboratory Animals" prensipleri (<http://www.nap.edu/catalog/5140.html>) doğrultusunda hayvan hakları korunarak yapıldı.

Deneylerde Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (ÇÜTF-DETAUM)'nden temin edilen 30-35 g ağırlığında Swiss *albino* türü erkek ve dişi fareler kullanıldı. Bütün hayvanlar standart laboratuvar koşullarına (12 saat aydınlık / 12 saat karanlık) tabi tutuldu. Her deneysel grupta yaklaşık eşit sayıda erkek ve dişi fare kullanıldı.

DOKU HAZIRLANMASI

24 saat aç bırakılan farelerin sadece su içmelerine izin verildi. Fareler servikal dislokasyon ile öldürüldükten sonra mide kısmı izole edildi ve içerisinde *Tyrode* solüsyonu (mM: NaCl 136.92, KCl 2.69, CaCl₂ 1.8, MgCl₂.6H₂O 0.87, NaH₂PO₄ 0.36, NaHCO₃ 1.2 ve Glukoz 5.5) bulunan bir petri kutusuna alındı. Daha sonra midenin gastrik fundusu ayrılarak küçük kurvatür boyunca kesildi. Gastrik fundus dokusu eni yaklaşık 0.3 cm ve boyu 1.2 cm olacak şekilde longitudinal strip (şerit) şeklinde hazırlandı. Stripler *Tyrode* solüsyonu içeren organ banyosuna 0.5 g tonus altında asıldı. Banyo ortamı %95 O₂ ve %5 CO₂ ile sürekli olarak gazlandırıldı. Ortam sıcaklığı 37°C'de sabit tutuldu. Daha sonra dokular 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sırasında, 15 dakika aralar ile dokular *Tyrode* solüsyonu ile yıkandı. Cevaplar izometrik transduser (Harvard ve May FDT O.5 MP35) ile kaydedildi.

DENEYSEL PROTOKOL

Kontrol Deneyleri

1 saatlik inkübasyon periyodundan sonra izole fare gastrik fundus dokusunun bazal tonusu kaydedildi ve daha sonra 10 ml'lik banyo ortamına mikropipet yardımıyla 100 µl etanol (%98'lik) uygulandı. 10 ml'lik banyodaki etanolün nihai konsantrasyonu 164 mM idi. Etanole bağlı oluşan gevşeme cevabı 10 dakika boyunca kaydedildi. Daha sonra doku *Tyrode* solüsyonu ile yıkandı ve 40 dakikalık süreyle inkübasyona (dengelenmeye) bırakıldı. İnkübasyondan sonra, dokunun bazal tonusu tekrar kaydedilerek birinci etanol uygulamasında olduğu gibi deney tekrarlandı.

Çalışma Grubu Deneyleri

Çalışma grubu deneylerinde, birinci etanol uygulaması, kontrol deneylerinin birinci uygulaması gibi yapıldı. Daha sonra preparatlar *Tyrode* solüsyonu ile yıkanarak banyo ortamına nitrik oksid sentaz enziminin potent ve spesifik inhibitörü olan N^ω-Nitro-L-arginin (L-NOARG; 10⁻⁵, 10⁻⁴, 5x10⁻⁴ M) veya sodyum-potasyum değiştirici ATPaz'ın potent ve spesifik inhibitörü olan uvabain (10⁻⁵, 5x10⁻⁵, 10⁻⁴ M) uygulandı. İlgili kimyasal ajan varlığında dokular 40 dakika süre ile inkübe edildi ve daha

sonra ikinci etanol (164 mM) uygulaması ilgili kimyasal ajan varlığında yapıldı. Çalışma grubu deneylerinde, her kimyasal ajanın her konsantrasyonu için ayrı deney grupları oluşturuldu.

KULLANILAN İLAÇLAR VE SOLÜSYONLARIN HAZIRLANMASI

Deney sırasında kullanılan kimyasal ajanlar Sigma (Sigma Chemical Co.; St. Louis, MO, USA), firmasından satın alındı. N^ω-Nitro-L-arginin ve uvabain Tyrode solüsyonunda çözülerek hazırlandı.

SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ VE İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Her bir deneydeki ikinci etanol (164 mM) gevşeme cevabının birinci etanol (164 mM) gevşeme cevabına oranlanması suretiyle % gevşeme değeri saptandı. Bütün % gevşeme değerleri tek yönlü varyans analizi (one way ANOVA; posthoc: Bonferroni) ile değerlendirildi. 0.05'den küçük P değerleri anlamlı olarak kabul edildi. Bütün veriler, ortalama ± Standart Hata olarak ifade edildi.

BULGULAR

İzole fare gastrik fundus striplerinin etanol (164 mM)'e verdiği cevap bütün preparatlar için yalnızca gevşeme cevabı şeklinde değildi. Bazı stripelerde, gevşemenin yanısıra kasılma cevabını da içeren bifazik cevaplar elde edildi. Şimdiki çalışmanın amacı, izole fare gastrik fundus striplerinde etanole bağlı gevşeme cevaplarının mekanizmasını

araştırmak olduğundan, deneylerde bazı striplerin etanole bağlı olan bifazik cevaplarından sadece gevşeme cevabı değerlendirilmiştir.

KONTROL GRUBU

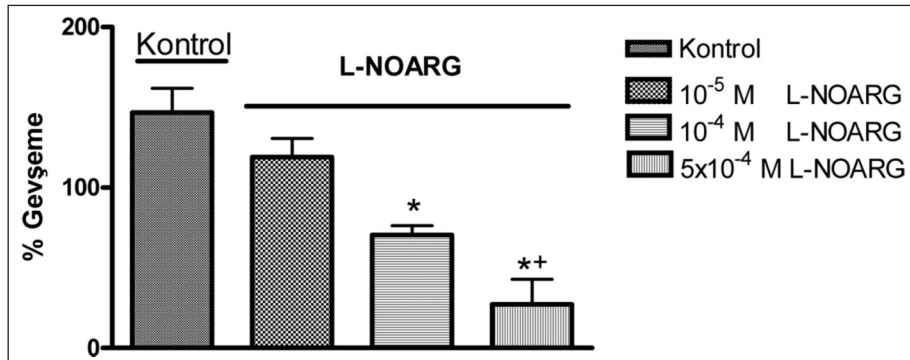
164 mM etanol, izole fare gastrik fundus striplerinde tekrarlanabilir gevşeme cevapları oluşturdu. Etanole bağlı iki ayrı gevşeme cevabı oluşturuldu. Kontrol grubunun ortalama yüzde gevşeme cevabı: 146,75±15.75 (n=12) idi.

ETANOL İLE İNDÜKLENEN GEVŞEME CEVAPLARI ÜZERİNDE N^ω-NİTRO-L-ARGİNİN'İN ETKİSİ

İzole fare gastrik fundus striplerinde nitrik oksid sentaz enziminin potent ve spesifik inhibitörü olan N^ω-nitro-L-arginin (L-NOARG), düşük konsantrasyonda (10⁻⁵ M, n=4) etanol (164 mM) ile indüklenen gevşeme cevaplarında anlamlı olmayan bir azalmaya neden olurken, daha yüksek olan konsantrasyonlarda (10⁻⁴ M, n=7; 5x10⁻⁴ M, n=4) etanole bağlı gevşeme yanıtını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe etti (Şekil 1).

ETANOL İLE İNDÜKLENEN GEVŞEME CEVAPLARI ÜZERİNDE UVABAİN'İN ETKİSİ

Sodyum-potasyum değiştirici ATPaz'ın potent ve spesifik inhibitörü olan uvabain (10⁻⁵, 5x10⁻⁵, 10⁻⁴ M) izole fare gastrik fundus striplerinde etanole (164 mM) bağlı gevşeme cevaplarını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde etkilemedi (Tablo 1).



ŞEKİL 1: İzole fare gastrik fundus striplerinde etanol (164 mM) ile indüklenen gevşemeler üzerinde N^ω-Nitro-L-arginin (L-NOARG; 10⁻⁵, 10⁻⁴, 5x10⁻⁴ M)'in etkisi. Veriler ortalama ± Standart Hata olarak ifade edildi (Kontrol grubu için n=12, 10⁻⁵ ve 5x10⁻⁴ M L-NOARG grupları için n=4, 10⁻⁴ M L-NOARG grubu için n=7). İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (one-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. *: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir (P<0.05). +: 10⁻⁵ M L-NOARG grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir (P<0.05).

Uvabain düşük konsantrasyonda (10^{-5} M) etanole bağılı gevşemeleri istatistiksel bakımdan anlamlı olmayan bir şekilde azaltırken daha yüksek olan konsantrasyonlarda (5×10^{-5} , 10^{-4} M) istatistiksel bakımdan anlamlı olmayan hafif bir artışa neden oldu ($P > 0.05$; 5×10^{-5} ve 10^{-4} M uvabain grupları için $n=3$, 10^{-5} M uvabain grubu için $n=4$).

TARTIŞMA

Bu çalışmada etanol, izole fare gastrik fundusunda belirgin ve tekrarlanabilir gevşeme cevapları oluşturdu. Nitrik oksid (NO)'in²⁵ ve sodyum-potasyum değiştirici ATPaz (Na^+/K^+ -ATPaz; sodyum pompası; sodyum-potasyum pompası)'in²⁶ düz kas gevşeme cevaplarında rol oynayabildikleri iyi bilinmektedir. Bundan dolayı çalışmada, etanolün ilgili dokuda oluşturduğu gevşeme yanıtlarında NO ve sodyum-potasyum değiştirici ATPaz'ın muhtemel etkilerini araştırmayı amaçladık. Bu amaçla, NO sentaz enziminin potent ve spesifik inhibitörü olan N^{ω} -nitro-L-arginin²⁷ kullanıldı. İlgili dokuda etanole bağılı gevşeme cevaplarında sodyum-potasyum değiştirici ATPaz'ın muhtemel rolünü araştırmak için de spesifik inhibitörü olan uvabain²⁸ kullanıldı.

Alkollü içki kullanımı sırasında mide dokusu alkole direkt olarak maruz kalır. Bu maruziyet sırasında meydana gelen etkiyi test etmek amacıyla şimdiki çalışmada izole fare gastrik fundus dokusunu kullandık. Ayrıca, alkolün midede oluşturduğu etkileri doğal şekliyle araştırmak için, ilgili dokulara aktif tonüs uygulamadan, dokuların bazal tonüsleri üzerinde etanolün etkisi araştırıldı. Buna ilave olarak, çalışmada izole fare gastrik fundu-

sunda stabil ve tekrarlanabilir gevşeme cevaplarını oluşturabilen optimal etanol konsantrasyonunu belirlemek için etanolün bir seri konsantrasyonu (2.5-5248 mM) denendi. Etanolün ilgili dokudaki en uygun (stabil ve tekrarlanabilir) gevşeme cevaplarını 164 mM'da gözlemledik. Bu konsantrasyonda etanol bazı gastrik fundus preparatlarında hem kasılma hem de gevşeme şeklinde bifazik cevaplar oluşturdu. Şimdiki çalışmanın amacı etanolün gastrik fundusta oluşturduğu gevşeme yanıtlarını araştırmak olduğundan, ilgili konsantrasyonda etanole bağılı gevşeme yanıtları çalışmaya dahil edildi. Bu çalışmada kullanılan etanol konsantrasyonu (164 mM), alkol kullanımı sırasında midenin maruz kaldığı konsantrasyon ile uyumludur.^{4,17,23} Bu görüşü destekleyen diğer bir çalışma da Sim ve ark. tarafından yapılmıştır.²⁹ İlgili çalışmada, 342 mM etanol konsantrasyonunun canlı hayvanların mide kas dokularında ulaşılabilir bir konsantrasyon olduğu rapor edilmiştir.²⁹ Çalışmamızda ayrıca, etanol ile indüklenen gevşeme cevaplarının altında yatan mekanizmaları aydınlatmak için kullanılan kimyasal ajanların (N^{ω} -nitro-L-arginin ve uvabain) izole fare gastrik fundus tonüsünde direkt etkilerinin olup olmadığı da araştırıldı. Bunun için, deneysel protokolda ilk etanol cevabı alındıktan sonra doku Tyrode solüsyonu ile yıkanarak etanol ortamdan uzaklaştırıldı. Daha sonra dokular ilgili kimyasal ajan (N^{ω} -nitro-L-arginin veya uvabain) ile muamele edilerek 40 dakika süre ile kimyasal ajanın etkisi gözlemlendi. N^{ω} -nitro-L-arginin, ilk uygulandığında başlangıçta hafif ve kısa süreli (geçici) bir kasılma cevabı oluşturdu. Daha sonra bu cevap ortadan kalkarak normal bazal tonüs şeklinde devam etti. Uvabain ise ilgili dokuların tonüsleri üzerinde herhangi bir etki oluşturmadı. Bu deneysel gözlemler, hem N^{ω} -nitro-L-arginin hem de uvabain'in bazal tonüsü direk etkileri ile modüle etmediklerini göstermektedir. Çünkü ilgili kimyasal ajanlar uygulandıktan 40 dakika sonra ikinci etanol uygulaması yapılmaktadır.

İzole fare gastrik fundusunda etanol ile indüklenen gevşemeler üzerinde nitrik oksid'in muhtemel rolünü araştırmak için, potent ve spesifik NO sentaz inhibitörü olan N^{ω} -nitro-L-arginin kullanıldı. NO, bir amino asit olan L-argininden NO

TABLO 1: İzole fare gastrik fundusunda etanol (164 mM)'e bağılı gevşeme cevapları üzerinde uvabain (10^{-5} , 5×10^{-5} , 10^{-4} M)'in etkisi.

İlaç konsantrasyonları	Ortalama ± Standart hata
Kontrol	146.75 ± 15.75
10^{-5} M Uvabain	115.87 ± 10.62
5×10^{-5} M Uvabain	149.69 ± 34.88
10^{-4} M Uvabain	147.0 ± 38.5

Veriler ortalama±standart hata şeklinde ifade edildi (Kontrol grubu için $n=12$, 10^{-5} M uvabain grubu için $n=4$, 5×10^{-5} ve 10^{-4} M uvabain grupları için $n=3$). İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni, $P > 0.05$.

sentaz (NOS) denilen bir izoenzim ailesi tarafından sentez edilir ve vücutta birçok fizyolojik ve patolojik proseslerde rol oynar.^{30,31} NO, guanilil siklaz enzimini aktive etmek suretiyle siklik GMP seviyesini artırır ve böylece kasta gevşeme cevabı meydana gelir.^{30,31} İzole fare gastrik fundus striplerinde 164 mM etanol ile indüklenen gevşeme cevapları N^ω-nitro-L-arginin tarafından konsantrasyona bağımlı ve istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe edildi. Bu deneysel sonuç, etanol ile indüklenen gevşeme yanıtlarında nitrerjik sistemin rolünü telkin etmektedir. Bu konuda yapılan bazı çalışma sonuçları bulgularımızı destekler niteliktedir. Örneğin, Rocha ve ark., izole sıçan aortasında yaptıkları bir çalışmada, etanol (0.03-200 mM) ile indüklenen vasküler gevşemelerde nitrik oksidin rolünün olabileceğini rapor etmişlerdir.³² Polikandriotis ve ark.nın yapmış olduğu çalışmanın sonuçları da hipotezimizi destekler niteliktedir.³³ İlgili çalışmada, sıçanlarda kronik etanol alımının akciğerde nitrik oksid üretimini artırdığını rapor etmişlerdir.³³ Mayhan ve Didion tarafından serebral arteriyoller üzerinde yapılan diğer bir çalışmada, ilgili dokuların düşük konsantrasyondaki (20-60 mmol/L) akut etanol maruziyetinden etkilenmez iken, daha yüksek etanol konsantrasyonlarına (80-100 mmol/L) maruziyette serebral arteriyollerde dilatasyon meydana geldiği ve bu dilatasyonda hem endotelial hem de nöronal NO'nun sentezi ve salıverilmesinin rol oynayabileceği rapor edilmiştir.^{1,34} Benzer şekilde, Greenberg ve ark.nın pulmoner arter üzerinde yaptıkları çalışmada da, ilgili dokuda etanol ile indüklenen gevşeme cevaplarında nitrik oksidin rolü bildirilmiştir.³⁵

Çalışmamızda, nitrerjik sistem dışında, etanol ile indüklenen gevşeme cevaplarında sodyum-potasyum değiştirici ATPaz'ın da muhtemel rolünü araştırdık. Çünkü, sodyum-potasyum değiştirici ATPaz, hücre membranında bulunan sodyum-potasyum adenzin trifosfataz olup çalışması sırasında 3 sodyum iyonunu hücre dışına pompalarken iki potasyum iyonunu hücre içine pompalar.³⁶ Böylece hücrede hiperpolarizasyona neden olarak düz kasta gevşeme cevabına aracılık ettiği için, çalışmamızda

etanole bağlı olan gastrik fundus düz kas gevşemelerinde ilgili pompanın muhtemel rolünü de araştırmayı amaçladık. Bu amaçla, sodyum-potasyum değiştirici ATPaz'ın potent ve spesifik inhibitörü olan uvabain kullanıldı.²⁸ Uvabain, kullanılan 3 ayrı konsantrasyon (10⁻⁵, 5x10⁻⁵, 10⁻⁴ M) grubunda da izole fare gastrik fundus striplerinde etanol ile indüklenen gevşeme cevaplarını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde etkilemedi. Bu deneysel bulgu, sodyum-potasyum değiştirici ATPaz'ın ilgili dokuda etanole bağlı gevşeme cevaplarında rolünün olmadığını telkin etmektedir. İzole fare özofagusunda yapılan çalışma sonuçları uvabain ile ilgili deneysel sonuçlarımıza benzerlik göstermektedir.⁴ İlgili çalışmada, uvabainin izole fare özofagusunda etanole bağlı gevşeme yanıtlarında anlamlı bir etki oluşturmadığı gözlemlenmiş ve ilgili dokudaki etanol ile indüklenen gevşeme yanıtlarında sodyum-potasyum değiştirici ATPaz'ın rol oynamadığı bildirilmiştir.⁴ Diğer taraftan, bizim deneysel bulgularımızın aksine, Rodrigo ve ark. tarafından sıçan papiller toplayıcı tübül hücrelerinde yapılan bir çalışmada, etanolün akut uygulanmasının sodyum pompası üzerinde bifazik etki oluşturduğu; düşük (%1'in altında) konsantrasyonlarda sodyum-potasyum değiştirici ATPaz aktivitesini arttırırken, yüksek (%1'in üstünde) konsantrasyonlarda inhibe ettiği ileri sürülmüştür.³⁷ Buna ilave olarak, Kashkin ve ark. tarafından fare beyin korteksinde yapılan bir diğer çalışmada ise, etanolün (%2) sodyum-potasyum değiştirici ATPaz aktivitesini inhibe ettiği rapor edilmiştir.³⁸ Etanol etkisindeki bu farklılıkların nedeni, çalışılan dokuların ve/veya kullanılan etanol konsantrasyonlarının farklı olmasından kaynaklanmış olabilir.

Özet olarak, çalışmamızın deneysel sonuçları, izole fare gastrik fundus düz kas striplerinde etanol ile indüklenen gevşeme cevaplarında nitrik oksidin rol oynayabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, deneysel veriler ilgili dokuda etanole bağlı gevşeme yanıtlarında sodyum-potasyum değiştirici ATPaz'ın rolünün olmadığını düşündürmektedir.

SONUÇ

Alkol dünyada yaygın kullanılmakta olup sağlığı olumsuz olarak etkileyen bir risk faktörü kabul edilmektedir. Etanolün vücutta meydana getirdiği etkilerin mekanizmalarını aydınlatmaya yönelik olan bilimsel çalışmalar, alkol alımından kaynaklanan hastalıkları tedavi etme yaklaşımlarına katkı sağlaması açısından önemlidir. Çalışmamızın sonuçları, alkolün midede oluşturduğu rahatsızlıkları önlemeye yönelik olan tedavi yaklaşımlarına katkı sağlayabilir.

Teşekkür

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (TF20 06YL7) ve 15. Ulusal Sinirbilimleri Kongresi kapsamında

“International Journal of Experimental and Clinical Anatomy” dergisinin supplement kısmında bildiri özeti olarak basılmıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemiştir.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Naciye Yaktubay Döndaş; **Tasarım:** Naciye Yaktubay Döndaş; **Denetleme/Danışmanlık:** Naciye Yaktubay Döndaş; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Derya Kaya; **Analiz ve/veya Yorum:** Derya Kaya, Naciye Yaktubay Döndaş; **Kaynak Tarayması:** Derya Kaya; **Makalenin Yazımı:** Derya Kaya, Naciye Yaktubay Döndaş; **Malzemeler:** Derya Kaya, Naciye Yaktubay Döndaş.

KAYNAKLAR

1. Wurm CSE. How much does alcohol-related brain damage extend length of stay in alcohol-related liver disease? *Intern Med J* 2017;47(7):834-5.
2. Altura BM, Altura BT. Role of magnesium and calcium in alcohol-induced hypertension and strokes as probed by in vivo television microscopy, digital image microscopy, optical spectroscopy, ³¹P-NMR, spectroscopy and a unique magnesium ion-selective electrode. *Alcohol Clin Exp Res* 1994;18(5):1057-68.
3. Altura BM, Gebrewold A. Alpha-tocopherol attenuates alcohol-induced cerebral vascular damage in rats: possible role of oxidants in alcohol brain pathology and stroke. *Neurosci Lett* 1996;220(3):207-10.
4. Döndaş NY, Kaya D, Kaplan M, Ertuğ P, Singirik E. Ethanol-induced relaxation of mouse esophagus: subcellular mechanisms. *Fundam Clin Pharmacol* 2010;24(2):161-70.
5. Al-Mulla Hummadi YM, Najim RA, Farjou IB. A new in vitro model for ethanol-induced gastric mucosal damage. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1999;41(4):167-72.
6. Siegmund S, Haas S, Schneider A, Singer MV. Animal models in gastrointestinal alcohol research-a short appraisal of the different models and their results. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003;17(4):519-42.
7. Shirpoor A, Barmaki H, Khadem Ansari M, Lkhanizadeh B, Barmaki H. Protective effect of vitamin E against ethanol-induced small intestine damage in rats. *Biomed Pharmacother* 2016;78:150-5.
8. Peres WA, Carmo MG, Zucoloto S, Iglesias AC, Braulio VB. Ethanol intake inhibits growth of the epithelium in the intestine of pregnant rats. *Alcohol* 2004;33(2):83-9.
9. Bode C, Bode JC. Effect of alcohol consumption on the gut. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003;17(4):575-92.
10. Zucoloto S, Muccilo G, Wright NA, Alison MR. Chronic effects of alcohol on the epithelium of the small intestine using two experimental models. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1985;49(4):365-73.
11. Persson J. Alcohol and the small intestine. *Scand J Gastroenterol* 1991;26(1):3-15.
12. Bujanda L. The effects of alcohol consumption upon the gastrointestinal tract. *Am J Gastroenterol* 2000;95(12):3374-82.
13. Thomas AP, Sass EJ, Tun-Kirchmann TT, Rubin E. Ethanol inhibits electrically-induced calcium transients in isolated rat cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1989;21(6):555-65.
14. Altura BT, Pohorecky LA, Altura BM. Demonstration of tolerance to ethanol in non-nervous tissue: effects on vascular smooth muscle. *Alcohol Clin Exp Res* 1980;4(1):62-9.
15. Burbige EJ, Lewis DR Jr, Halsted CH. Alcohol and the gastrointestinal tract. *Med Clin North Am* 1984;68(1):77-89.
16. Sanders KM, Bauer AJ. Ethyl alcohol interferes with excitation-contraction mechanisms of canine antral muscle. *Am J Physiol* 1982;242(3):G222-30.
17. Döndaş NY, Kaplan M, Kaya D, Singirik E. The impact of extracellular and intracellular Ca²⁺ on ethanol-induced smooth muscle contraction. *Acta Pharmacol Sin* 2009;30(10):1421-7.
18. Li W, Zheng T, Altura BT, Altura BM. Antioxidants prevent ethanol-induced contraction of canine cerebral vascular smooth muscle: relation to alcohol-induced brain injury. *Neurosci Lett* 2001;301(2):91-4.
19. Altura BM, Edgarian H, Altura BT. Differential effects of ethanol and mannitol on contraction of arterial smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1976;197(2):352-61.
20. Brizzolara AL, Morris DG, Burnstock G. Ethanol affects sympathetic cotransmission and endothelium-dependent relaxation in the rat. *Eur J Pharmacol* 1994;254(1-2):175-81.
21. Simasko SM, Boyadjieva N, De A, Sarkar DK. Effect of ethanol on calcium regulation in rat fetal hypothalamic cells in culture. *Brain Res* 1999;824(1):89-96.
22. Yang Z, Weng J, Zheng T, Altura BT, Altura BM. Importance of extracellular Ca²⁺ and intracellular Ca²⁺ release in ethanol-induced contraction of cerebral arterial smooth muscle. *Alcohol* 2001;24(3):145-53.
23. Döndaş Y, Kaplan HM, Kaya D, Şingirik E. Contribution of phospholipase C and protein kinase C but not endothelin-converting enzyme to contractile responses of ethanol. *Turk J Med Sci* 2012;42(4):649-56.
24. Kaya D, Döndaş NY. The relaxant responses induced by ethanol in the smooth muscle: role of extracellular and intracellular Ca²⁺. *Int J Med Sci* 2016;5(4):967-71.
25. Ziessen T, Moncada S, Cellek S. Characterization of the non-nitroergic NANC relaxation responses in the rabbit vaginal wall. *Br J Pharmacol* 2002;135(2):546-54.
26. Xie Z, Askari A. Na⁺/K⁺-ATPase as a signal transducer. *Eur J Biochem* 2002;269(10):2434-9.

27. Moore PK, al-Swayeh OA, Chong NW, Evans RA, Gibson A. L-NG-nitro arginine (L-NOARG), a novel, L-arginine-reversible inhibitor of endothelium-dependent vasodilatation in vitro. *Br J Pharmacol* 1990;99(2): 408-12.
28. Tao QF, Soszynski PA, Hollenberg NK, Graves SW. A sensitive [Na,K]ATPase assay specific for inhibitors acting through the digitalis-binding site. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;25(6):859-63.
29. Sim SS, Choi JC, Min DS, Rhie DJ, Yoon SH, Hahn SJ, et al. The involvement of phospholipase A2 in ethanol-induced gastric muscle contraction. *Eur J Pharmacol* 2001;413(2): 281-85.
30. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43(2):109-42.
31. Rand MJ, Li CC. Nitric oxide as a neurotransmitter in peripheral nerves: nature of transmitter and mechanism of transmission. *Annu Rev Physiol* 1995;57(1):659-82.
32. Rocha JT, Hipólito UV, Callera GE, Yogi A, Neto Filho Mdos A, Bendhack LM, et al. Ethanol induces vascular relaxation via redox-sensitive and nitric oxide-dependent pathways. *Vascul Pharmacol* 2012;56(1-2):74-83.
33. Polikandriotis JA, Rupnow HL, Brown LA, Hart CM. Chronic ethanol ingestion increases nitric oxide production in the lung. *Alcohol* 2007; 41(5):309-16.
34. Mayhan WG, Didion SP. Acute effects of ethanol on responses of cerebral arterioles. *Stroke* 1995;26(11):2097-102.
35. Greenberg SS, Xie J, Wang Y, Kolls J, Shelito J, Nelson S, et al. Ethanol relaxes pulmonary artery by release of prostaglandin and nitric oxide. *Alcohol* 1993;10(1):21-9.
36. Nakamura Y, Ohya Y, Abe I, Fujishima M. Sodium-potassium pump current in smooth muscle cells from mesenteric resistance arteries of the guinea-pig. *J Physiol* 1999;519 Pt 1:203-12.
37. Rodrigo R, Thielemann L, Orellana M. Acute and chronic effect of ethanol on (Na+K) ATPase activity and cyclic AMP response to vasopressin in rat papillary collecting duct cells. *Gen Pharmacol* 1998;30(5):663-7.
38. Kashkin VA, Bagrov AY, Fedorova OV, Bagrov YY, Agalakova NI, Patkina NA, et al. Marinobufagenin (MBG) suppression of ethanol-seeking behavior is associated with inhibition of brain cortex Na/K-ATPase in mice. *Eur Neuropsychopharmacol* 2002;12(3):217-23.