

Klonidinin Sıçan İleumunda Meydana Getirdiği Gevşeme Yanıtları Üzerine Nitrik Oksit Rolü

Aşkın HEKİMOĞLU¹
Piraye KERVANCIOĞLU²
Ramazan ÇİÇEK¹

¹Dicle Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı
Diyarbakır-TÜRKİYE

²Dicle Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı
Diyarbakır-TÜRKİYE

Gastrointestinal kanalda α 2-adrenoseptör ve nitrik oksit (NO) sisteminin rolü göz önüne alınarak, sedatif, analjezik ve anestetik özelliklerinden ötürü anestezi ve yoğun bakımda kullanılmakta olan α 2-adrenoseptör agonisti klonidinin sıçan ileumu gevşeme yanıtlarında NO sistemi ile muhtemel etkileşimi araştırıldı.

Elektriksel alan stimülasyonu ile indüklenen sıçan ileum preparatlarının kontraktıl yanıtlarında α 2-adrenoseptör agonisti klonidinin inhibitör etkisi üzerinde NO'in rolü araştırıldı. In vitro izole sıçan ileum preparatlarının kullanıldığı çalışmada ortamda NO prekürsörü L-arginin (L-Arg) (10-4M), NO sentaz inhibitörü L-nitro-arjinin-methyl ester (L-NAME) (10-4M) ve alfa 2-adrenoseptör antagonist yohimbinin (10-6M) farklı kombinasyonlarının bulundurulduğu farklı serilerde klonidinin (10-8-10-5M) kümülatif dozlarda elektriksel alan stimülasyonuna verilen kasılma yanıtları üzerine olan etkileri incelenmiştir.

Klonidinin artan dozlarında meydana getirdiği gevşeme yanıtları ortamda yohimbinin bulundurulması durumunda bozulmuştur. Farklı bir seride ortamda L-arg bulundurulması durumunda gevşeme yanıtlarında belirgin bir artış kaydedilirken L-NAME bulundurulması durumunda gevşeme yanıtları üzerinde belirgin bir değişikliğe neden olmamıştır. Ortamda L-Arg bulundurulması halinde klonidinin elektriksel stimülasyon ile elde edilen kasılma yanıtları üzerine olan inhibitör etkinliğinin artması nedeniyle klonidin ve NO'in muhtemelen sıçan ileumunun elektriksel olarak uyarılan gevşeme yanıtları üzerinde etkileşebileceği sonucuna ulaşılmıştır

Anahtar Kelimeler: Klonidin, L-arjinin, L-NAME, Yohimbin, İleum.

The Role of Nitric Oxide on Clonidine Mediated Relaxation Effects of Rat Ileum

Considering the roles of the α 2-adrenoceptor and nitric oxide (NO) system in gastrointestinal tract, we studied the possible interaction of α 2-adrenoceptor agonist clonidine that used in anesthesia and intensive care because of its sedative, analgesic and anesthetic properties, with the NO system in rat ileum relaxation.

The influence of the NO on the inhibitory effect of α 2-adrenoceptor agonist clonidine on the contractile responses given to the electrical field stimulation was investigated in rat ileum strips. In different series, the effect of clonidine (10-8-10-5M) in cumulative concentrations were studied in the presence of NO precursore L-arginine (L-Arg) (10-4M), NO synthase inhibitor L-nitro-arginine-methyl ester 2-adrenoceptor antagonist yohimbine (10-6M) and their α (L-NAME) (10-4M) and various combinations on isolated rat ileum in vitro.

The relaxation responses elicited by the increasing concentrations of clonidine abolished in the presence of yohimbine. In the presence of L-Arg, relaxation responses were potentialised, but in a different serie the presence of L-NAME didn't change the relaxation effects. The inhibitory effect of clonidine increased in the presence of L-Arg shows that clonidine and nitric oxide probably interacts on electrically stimulated relaxation responses in rat ileum.

Key Words: Clonidine, L-arginine, L-NAME, Yohimbine, Ileum.

Geliş Tarihi : 08.12.2006
Kabul Tarihi : 05.07.2006

Yazışma Adresi
Correspondence

Aşkın HEKİMOĞLU

Dicle Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Farmakoloji Anabilim Dalı
Diyarbakır-TÜRKİYE

askin@dicle.edu.tr

Giriş

İntestinal peristaltizmin inhibisyonu yoğun bakım ünitesindeki hastalarda anestezi, analjezi ve sedasyon amacıyla kullanılan ilaçların oluşturduğu yan etkilerin en önemlilerinden biridir. İntestinal ileus, kritik hastalarda bakteriyel gelişim, gastrointestinal kanala translokasyon, pulmoner enfeksiyon, enteral beslenmede bozukluk ve villüs atrofisine bağlı olarak intestinal bariyer mukozal disfonksiyonu gibi durumlara yol açabilir (1,2). Alfa 2-adrenoseptör agonisti klonidin sedatif, analjezik ve anestetik özelliklerinden ötürü anestezi ve yoğun bakımda kullanılmaktadırlar (3,4). Klinik gözlemciler tarafından yayımlanan bilgiler deliryum tremens ve hipertansiyon gibi durumlarda tedavi amacıyla kullandıkları klonidinin akut kolonik psödoobstrüksiyona (Ogilvie Sendromu) neden olabileceğini göstermektedir (5).

Gastrointestinal motor aktivitenin koordinasyonu ve modülasyonu iki kompleks nöronal inputa bağlıdır: barsak duvarı içinde tamamiyle intrinsik enterik sinir sistemi ve etkisini sindirim sistemine ekstrinsik sinirler (vagal, sempatik) aracılığıyla gönderen santral sinir sistemi. İntestinal sempatik sinir sistemi prevertebral gangliada yer alan ve postgangliyonik lifleri ile barsaklara giren sinir hücrelerinden ibarettir (6). Hepsi olmasa da çoğunluğu motiliteyi etkileyen sempatik postgangliyonik liflerin direkt olarak düz kas hücrelerine değil, enterik sinir sisteminde sinaps yaptığı düşünölmektedir. Daha önce de adrenerjik sinirlerin barsaktaki nonsfinkter kas hücrelerinde direkt olarak sinaps yapmadığı öne sürölmüş (7), ancak farklı çalışmalarda sıçan jejunum ve ileumunda adrenerjik inputa, enterik sinir sisteminden ziyade ağırlıklı olarak adrenerjik aracılı motor mekanizmalar tarafından aracılık edildiği gösterilmiştir (8,9).

Gastrointestinal kanalda α 2-adrenoseptörler intestinal motiliteyi kontrol eden önemli presinaptik reseptörler olarak bilinirler (10,11). Çeşitli hayvan türlerinde ve insanlarda (12) yapılmış olan deneysel çalışmalarda ve klinik gözlemlerde (13,5), klonidinin intestinal motilite üzerine inhibitör etki ettiği bildirilmiştir (14). Uygun modeller üzerinde yapılan çalışmaların yetersizliği nedeniyle klonidinin intestinal kasılmalar üzerine etkisinin mekanizması detaylı bir şekilde incelenmediği için henüz yeterli bir şekilde bilinmemektedir.

NO çeşitli dokularda L-argininden nitrik oksit sentaz tarafından sentezlenir. Nitrik oksit sentazın (NOS) üç izoformu bulunmaktadır. Bunlar sırasıyla; nöronal NOS (NOS I), indüklebilir NOS (NOS II) ve endotelial NOS (NOS III). Nöronal NOS (nNOS), NO salınımı için anahtar enzimdir ve myenterik plexus ve santral sinir sisteminde saptanmıştır(15). NO salınımı gastrointestinal kanal düz kaslarında gevşemeye neden olmaktadır.

Aynı zamanda nNOS ekspresyonunun sempatik sinir sistemi tarafından negatif olarak regüle edildiğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (16). Ancak NO'ı suprese eden sempatik sinir sistemi reseptörü henüz belirlenmemiştir.

NO myenterik plexusta nöronal NOS aktivasyonu ile sentezlenir. Salınan NO gastrointestinal kanalın çeşitli bölümlerinde önemli fizyolojik rol oynar. nNOS ekspresyonundaki azalmanın lokal NO üretimini bozarak gastrointestinal kanalda motilite düzensizliklerine neden olabileceği gösterilmiştir (17).

Yapılan çalışmalarda klonidinin ileum kasılma yanıtlarını doza bağlı olarak düşürdüğü (18) ve L-NAME'in in vivo olarak uygulanmasının klonidinin etkisini azalttığı gösterilmiştir (19).

Klonidinin hidrofobik heterosiklik NOS inhibitörleri ile yapısal benzerlik gösterdiği ve farklı yapılarda NOS l'i selektif olarak inhibe ettiği ve NOS II aracılı NO üretimini artırdığı (20) ve NOS II ekspresyonunun artışının ileum kontraktilesinde azalmaya neden olabileceği gösterilmiştir (21).

Gastrointestinal kanalda α 2-adrenoseptör ve NO sisteminin rolü göz önüne alınarak α 2-adrenoseptörlerin sıçan ileumunda NO sistemi ile muhtemel etkileşimi in vitro olarak araştırıldı.

Gereç ve Yöntem

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezinden (DÜSAM) Deney Hayvanları Etik Kurulunca (DEHEK) onaylanarak, temin edilen her iki cinsten 10 adet erişkin Wistar Albino sıçan (250-300g) kullanıldı.

Eter ile anestetize edilen sıçanlar eksanguinasyon ile sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen sıçanların karın boşlukları longitudinal abdominal insizyon ile açılarak belirlenen ileum mezenterden ayrılarak izole edildi ve Magnus Yöntemine (13) göre 2-3 cm'lik tüp şeritler şeklinde kesildi. Her bir preparat ayrı bir deneysel protokol için kullanıldı. Doku şeritleri aynı gün içinde kullanıldı.

Her grupta her iki cinsten sıçan preparatı eşit şekilde kullanılmıştır. Her bir sıçandan hazırlanan preparatların her birine farklı prosedür uygulandı ve gün içinde kullanım sıralarının homojenize edilmesi amacıyla prosedürlerin sıralamaları düzenli bir şekilde değiştirildi (Tablo 1).

Tablo1. Çalışmamızda oluşturulan gruplar ve madde derişimleri.

GRUPLAR	
1.	EFS + Klonidin (10^{-8} - 10^{-5} M)
2.	EFS + Yohimbin (10^{-6} M) + Klonidin (10^{-8} - 10^{-5} M)
3.	EFS + L-Arjinin (10^{-6} M) + Klonidin (10^{-8} - 10^{-5} M)
4.	EFS + L-Arjinin (10^{-6} M) +Yohimbin (10^{-6} M) + Klonidin (10^{-8} - 10^{-5} M)
5.	EFS + L-NAME (10^{-6} M) + Klonidin (10^{-8} - 10^{-5} M)
6.	EFS + L-NAME (10^{-6} M) + Yohimbin (10^{-6} M) + Klonidin (10^{-8} - 10^{-5} M)

Deney süresince hayvan hakları ile ilgili olarak Amerika Birleşik Devletleri Sağlık Enstitüleri (NIH) tarafından belirlenen kriterlere özenle uyuldu.

Deneyde kullanılan Tirod Solüsyonunun bileşimi: NaCl 139.2mmol/lit, KCl 2.7 mmol/lit, NaH₂PO₄ 0.4 mmol/lit, CaCl₂ 1.8 mmol/lit NaHCO₃ 11.9 mmol/lit, MgCl₂ 0.49 mmol/lit, Glukoz 5.5 mmol/lit.

Dokular 10 ml tirod solüsyonu içeren organ banyosuna asıldı. İleum şeritlerine 1 g gerilim uygulanarak iki adet platin tel elektrod arasına yerleştirildi ve elektrotların dokuya direkt olarak temas etmesi sağlandı. Banyo solüsyonu 37°C ısıda tutuldu ve sürekli olarak havalandırıldı. İlaç uygulanmasından önce 15'er dakikada bir yıkama yapılmak koşulu ile dokular 45 dakika dinlendirilerek banyo ortamına adapte olmaları sağlandı. Çalışmamızda ısıtıcılı ceketli izole organ banyosu olarak May IOBS 99 ve beraberinde MAY WBC 3044 V3 ısıtıcı sirkülatör cihazı kullanıldı. İzole organ banyosuna asılı doku preparatlarının gerek çeşitli maddelere ve gerekse elektriksel alan stimülasyonuna verdiği yanıtların saptanmasında, izometrik tipte FDT 10-A Force Displacement Transducer'dan saptanan yanıtların amplifiye edilmesinde, BIOPAC Systems Inc.

Amplifikatöründen yanıtların bilgisayar ortamına aktarılmasında ise BIOPAC Student Lab PRO Manual Professional Version 3.6.6 for PC with Windows programından faydalanıldı. Stimülör olarak MAY ST 95 PT Stimülör, güç kaynağı olarak da, MAY ISO 150 A Stimulus Isolated Power Supply cihazlarından yararlanıldı. Elektrodlar, 40 V gerilim altında, 1 saniye süreyle, 20 Hz frekanslı, 30 ms durasyonlu kare dalga formunda alan stimülasyonu oluşturacak şekilde ayarlanan stimülöre bağlandı. Her bir uyarıdan sonra üç dakika dinlendirilen doku şartlarına her seride üç uyarı uygulandı ve bu uyarılara verilen yanıtların ortalamaları elde edildi

Kullanılan İlaçlar: Clonidine HCl (Sigma Co.), Yohimbine HCl (Sigma Co.), L-arginine (Sigma Co.), N-omega-Nitro-L-Arginine Methyl Ester Hydrochloride (L-NAME) (Sigma Co.).

Tüm ilaçlar için deneyler öncesinde 1mM'lık stok solüsyonlar hazırlandı. Kullanılmayan stok solüsyonlar derin dondurucuda muhafaza edilirken, bunlardan hazırlanan dilüe solüsyonlar buzdolabında +4°C'de saklandı. Stok solüsyonlar ve bunlardan hazırlanan konsantrasyonlar tüpleriyle birlikte haftada bir yenilendi.

Solvent olarak kullanılan distile su temininde AutostillTM, Jencons Scientific Lim. Cherrycourt Way Industrial Estate cihazı kullanıldı.

Veri analizi: İlaç uygulaması öncesinde 1 g'lık gerilim uygulanan siçan ileum preparatlarının yohimbin, L-Arg, L-NAME ile ve bunların çeşitli kombinasyonlarının bulundurulduğu ve hiçbirinin bulundurulmadığı ortamda klonidinin farklı derişimlerinde elektriksel alan stimülasyonu ile elde edilen kasılma yanıtları BIOPAC Student Lab PRO MPV 3.6.6 for PC programında 'peak to peak' değerleri hesaplanarak gram (g) cinsinden ifade edildi.

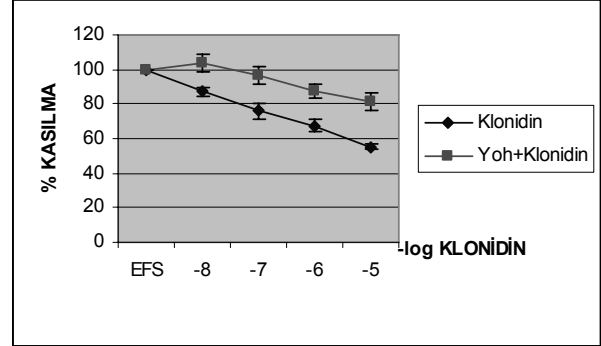
Elektriksel alan stimülasyonu ile elde edilen kasılma yanıtları üzerine klonidinin inhibitör etki gücünü göstermek amacıyla IC50 ve -log IC50 (PD2) değerleri Graph Pad Prism Version 4.00 (Trial) for Windows, San Diego, USA programı kullanılarak non-linear regresyon analizi ile hesaplandı. Bütün veriler ortalama±ortalamanın standart hatası (SH) şeklinde tanımlandı. Verilerin değerlendirilmesinde eşleştirilmiş Student's t testi ve One-way varyans analizi (ANOVA) kullanıldı; p< 0,05 ise gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu kabul edildi.

Bulgular

Çalışmamızda izole siçan ileum preparatlarında a2-agonisti klonidinin efektif dozunu belirlemek amacıyla ortama kümülatif konsantrasyonlarda ilave edilmiştir.

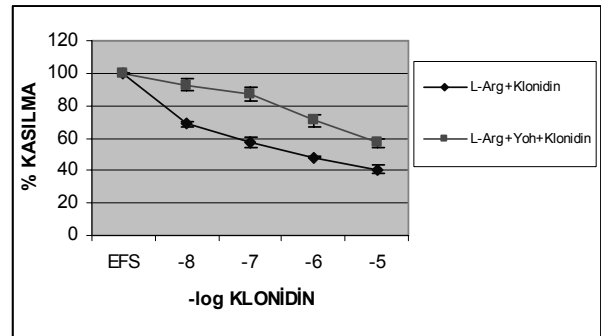
Ortama klonidin ilave edildiği zaman kontrol yanıtları olarak kabul ettiğimiz EFS yanıtlarına göre kasılma yanıtlarında doza bağımlı bir azalma meydana geldi. Klonidinin 10-8 derişiminde elde edilen kasılma yanıtları % 87,3±2,7, 10-7 derişimde % 75,8±4,2, 10-6 derişimde % 67,3±3,7, 10-5 derişimde ise % 55,3±1,8 olarak değişmiştir (n=6) (p<0,05) (Şekil 1). Ortama a2-

adrenoseptör antagonisti yohimbinin ilave edilmesi ile klonidinin 10-8 derişiminde elde edilen kasılma yanıtları % 103,6±4,9, 10-7 derişimde % 96,4±5,3, 10-6 derişimde % 87,4±4,1, 10-5 derişimde ise % 81,7±5,2 olarak gözlenmiştir. Klonidin tarafından oluşturulan bu inhibisyon yohimbinin tarafından baskılanmıştır (n=6) (p<0,05) (Şekil 1).



Şekil 1. Klonidin (10⁻⁸-10⁻⁵M) ve Yohimbin (10⁻⁶M)+Klonidin(10⁻⁸-10⁻⁵M) grupları arasında belirgin farklılık gözlenmiştir (n=6) (p>0,05).

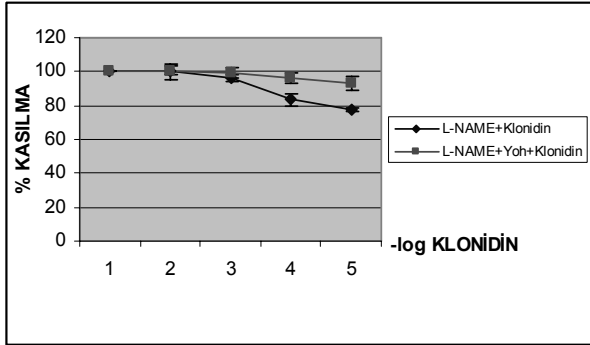
Nitrik oksit aracılı gevşeme yanıtları üzerine olası katkısının incelenmesi amacıyla ortama ilave edilen NO prekürsörü L-Arg, klonidinin EFS ile indükte kasılma yanıtları üzerine olan inhibitör etkinliğini artırdığı gözlenmiştir. Klonidinin 10-8 derişiminde elde edilen kasılma yanıtları % 68,6±1,3, 10-7 derişimde % 57,3±3,1, 10-6 derişimde % 48±0,7, 10-5 derişimde ise % 40,7±2,6 olarak değişmiştir (n=6) (p<0,05) (Şekil 2) ve benzer olarak kurgulanmış farklı seride ortama yohimbin ilave edilmesi durumunda kasılma yanıtlarının anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Bu şartlarda klonidinin 10-8 derişiminde elde edilen kasılma yanıtları % 92,5±3,7, 10-7 derişimde % 86,9±4,2, 10-6 derişimde % 70,7±3,5, 10-5 derişimde ise % 56,8±2,3 olarak değişmiştir (n=6) (p<0,05)(Şekil 2). Kasılma yanıtları üzerine inhibitör etkinliğinin sadece L-Arg bulundurulmuş gruba göre anlamlı şekilde azaldığı görüldü (p<0,05)(Şekil 2).



Şekil 2. EFS+L-Arjinin(10⁻⁶M)+Klonidin(10⁻⁸-10⁻⁵M) ve EFS+L-Arjinin(10⁻⁶M) +Yohimbin(10⁻⁶M)+Klonidin(10⁻⁸-10⁻⁵M) grupları arasında belirgin farklılık gözlemlendi (n=6) (p<0,05).

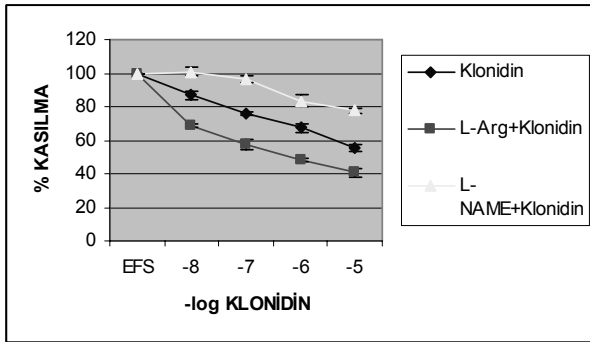
Nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME bulundurulduğu ortama ilave edilen klonidin kümülatif dozlarında EFS'a verilen kasılma yanıtları klonidinin 10-8 derişiminde %

100,7±2,4, 10⁻⁷ derişimde % 96,2±2,1, 10⁻⁶ derişimde % 83,4±3,9, 10⁻⁵ derişimde ise % 77,5±1,2 olarak değişmiştir ancak bu yanıtlar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (n=6)(p>0,05)(Şekil 3). Ortamda yohimbin ve L-NAME'in birlikte bulundurulduğu halde kasılma yanıtları klonidinin 10⁻⁸ derişiminde % 100±4,7, 10⁻⁷ derişimde % 99,4±3,2, 10⁻⁶ derişimde % 96,1±2,7, 10⁻⁵ derişimde ise % 93,1±4,1 olarak değişmiş ve yanıtlar arasında anlamlı farklılık gözlenmiştir (n=6) (p<0,05)(Şekil 3). Ortamda yohimbin bulundurulduğu halde EFS kasılma yanıtları üzerine inhibitör etkinliğinin sadece L-NAME bulundurulan gruba göre anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür (p<0,05)(Şekil 3).



Şekil 3. EFS+L-NAME(10⁻⁶M)+Klonidin(10⁻⁸-10⁻⁵M) ve EFS+L-NAME(10⁻⁶M) + Yohimbin(10⁻⁶M)+Klonidin(10⁻⁸-10⁻⁵M) grupları arasında belirgin farklılık gözlendi (p<0,05).

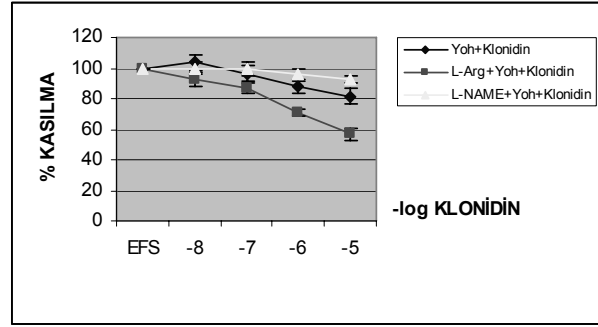
Klonidinin EFS'a verdiği kasılma yanıtları ortama L-Arg ilave edildiği durumda belirgin olarak azalırken (p<0,05)(Şekil 4), L-NAME bulundurulan seride anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (p<0,05)(Şekil 4).



Şekil 4. EFS+Klonidin (10⁻⁸-10⁻⁵M), EFS+ L-Arjinin (10⁻⁶ m)+Klonidin (10⁻⁸-10⁻⁵M), EFS+L-NAME(10⁻⁶ m)+Klonidin (10⁻⁸-10⁻⁵M) grupları arasında belirgin farklılık gözlenmiştir (n=6) (p<0,05).

Klonidinin ortamda yohimbin bulunduğu halde EFS'a verdiği kasılma yanıtları farklı serilerde ortamda L-Arg bulundurulduğunda belirgin bir inhibisyona neden olurken ortamda L-NAME bulunduğu halde anlamlı bir farklılık ile karşılaşmamıştır (p>0,05)(Şekil 5). Ancak ortamda L-Arg ve yohimbin bulundurulduğu durumda klonidinin kümülatif derişimlerinde kasılma yanıtlarında inhibisyon görülürken, L-NAME+ yohimbin bulundurulduğu durumlarda kasılma yanıtları üzerine olan inhibisyonda

düşüş kaydedilmiştir (p<0,05)(Şekil 5). Bu üç grup karşılaştırıldığı zaman aralarında anlamlı farklılık ile karşılaşmıştır(p<0,05)(Şekil 5).



Şekil 5. Yohimbin(10⁻⁶ m)+Klonidin(10⁻⁸-10⁻⁵M), L-Arg(10⁻⁶ m)+Yohimbin(10⁻⁶ m)+Klonidin (10⁻⁸-10⁻⁵M) ve L-NAME(10⁻⁶ m)+Yohimbin(10⁻⁶ m)+Klonidin(10⁻⁸-10⁻⁵M) grupları kasılma yanıtları arasında anlamlı farklılıklar gözlendi (n=6) (p<0,05).

Elektriksel alan stimülasyonu ile elde edilen kasılma yanıtları üzerine klonidinin inhibitör etki gücünü göstermek amacıyla saptanan IC₅₀ değerleri aşağıda gösterilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Gruplar arasında IC₅₀ değerleri açısından farklılık gözlendi. Gruplar ve ortalama -log IC₅₀ değerleri (n=6) (p<0,05).

GRUPLAR	- log IC ₅₀
Klonidin	7,167 ± 0,078
Yohimbin+Klonidin	6,576 ± 0,198
L-arginin+Klonidin	7,568 ± 0,073
L-Arg+Yohimbin+Klonidin	6,475 ± 0,074
L-NAME+Klonidin	6,445 ± 0,191
L-NAME+Yohimbin+Klonidin	6,125 ± 0,076

Tartışma

Alfa 2-adrenoseptör agonistlerinin kobay ileum kontraktil aktivitesi üzerine inhibitör etkinliği bulunmaktadır ve bu etkide en potent ajan klonidindir (22,23,24). Çalışmadaki amacımız, spesifik adrenerjik α 2-adrenoseptör agonisti klonidin ve nitrik oksitin sıçan ileum düz kas kontraktil aktivitesi üzerindeki inhibitör aktivitelerinde muhtemel bir etkileşim içerisinde bulunup bulunmadıklarının incelenmesidir.

NO veya benzeri bir yapının EFS ile uyarılmış NANK inhibitör yanıtlarının mediyatörü olduğu gösterilmiştir(25). Bu gözlem NO üretiminin Nitrik Oksit Sentaz aracılığı ile NO üretimi kalıbına dayanan L-argininin etkisinin L-NAME tarafından geri çevrilmesi ile desteklenmektedir (26,27).

Klonidin çeşitli bölgelerde nitrik oksiti indükleyerek etkilerini meydana getirmekte ve hatta birçok yerde etkinlik gösterebilmesi açısından nitrik oksite ihtiyaç duymaktadır. Bu konu üzerinde yapılan çeşitli çalışmalar klonidin ve nitrik oksitin çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda muhtemelen birbirlerinin etkileri üzerinde

mediyatör rol oynayabileceğini göstermektedir (28,29, 30,31).

Çalışmamızda klonidinin elektriksel olarak uyarılan ileum kasılma yanıtları üzerine inhibitör rol oynadığı ve farklı serilerde ortama ilave edilen α 2-adrenoseptör blokörü yohimbinin inhibitör etkinliğinde azalmaya neden olduğu görülmüştür. Elde edilen bulgular benzer bir çalışma ile desteklenmektedir (18)

NO sentaz pozitif nöronlar intramural pleksuslarda bulunmakta ve NO gastrointestinal dokularda inhibitör nörotransmitter olarak önemli rol oynamaktadır (32,33).

Klonidinin hidrofobik heterosiklik nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörleri ile yapısal benzerlik gösterdiği, farklı yapılarda nitrik oksit sentaz tip I'i selektif olarak inhibe ettiği, NOS II aracılı nitrik oksit üretimini artırdığı ve (20) NOS II ekspresyonunun artışının ileum kontraktilesinde azalmaya neden olabileceği gösterilmiştir (21). Benzer şekilde çalışmamızda, klonidinin kümülatif derişimlerinde EFS'a verilen kasılma yanıtlarındaki inhibisyon ortama ilave edilen L-arjinin tarafından potansiyalize edilmiş ve farklı seride benzer ortama ilave edilen yohimbini bu inhibitör etkiyi azaltmıştır (27).

L-NAME'in in vivo olarak uygulanmasının klonidinin etkisini azalttığı gösterilmiştir (19), ancak çalışmamızda

ortama nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME ilave edilmesi durumunda klonidinin kasılma yanıtları üzerine etki etmediği gözlenmiştir. Benzer şekilde intestinal peristaltizm üzerinde klonidinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada klonidin tarafından oluşturulan inhibisyonun L-NAME tarafından engellenmediği gösterilmiştir (24).

Bu konuda yapılan çalışmaların yetersizliği nedeniyle klonidin ve nitrik oksitin ileum düz kas kontraktil aktivitesi üzerine yaptıkları inhibisyonun mekanizması bilinmemektedir.

Sonuç olarak klonidinin elektriksel olarak uyarılmış kasılma yanıtlarını inhibe etmesi ve bu inhibisyonun yohimbini tarafından bozulması, L-arjininin klonidin aracılı gevşeme yanıtlarını potansiyelize etmesi ancak bu güçlü inhibisyonun L-NAME tarafından değil ama yohimbini tarafından bozulması, ancak ortamda L-NAME ve α 2-adrenoseptör blokörü yohimbini bulundurulduğu halde inhibisyonun yohimbini tek başına uygulandığı gruba göre belirgin olarak azalması; NO ve klonidinin sıçan ileumunda gevşeme yanıtları üzerinde muhtemel bir etkileşim içerisinde olabileceklerini göstermektedir.

Çalışmamızda, bulgularımızın istatistiksel değerlendirmelerinde değerli katkılarına esirgemeyen Prof. Dr. Yusuf Çelik'e teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Van der Hulst RR, von Meyenfeldt MF, van Kreel BK, et al. Gut permeability, intestinal morphology, and nutritional depletion. *Nutrition* 1998; 14:1-6.
2. Kompan L, Kremzar B, Gadzijev E, et al. Effects of early enteral nutrition on intestinal permeability and the development of multiple organ failure after multiple injury. *Intensive Care Med* 1999; 25:157-61.
3. Kamibayashi T, Maze M: Clinical uses of α 2-adrenergic agonists. *Anesthesiology* 2000; 93:1345-9.
4. Hall JE, Uhrich TD, Barney JA, et al. Sedative, amnestic, and analgesic properties of small-dose dexmedetomidine infusions. *Anesth Analg* 2000; 90:699-705.
5. Stieger DS, Cantieni R, Frutiger A. Acute colonic pseudoobstruction (Ogilvie's syndrome) in two patients receiving high dose clonidine for delirium tremens. *Intensive Care Medicine* 1997; 23(7):780-782.
6. Goyal RK and Hirano I. Mechanisms of disease: The enteric nervous system. *N Engl J Med* 1996; 334:1106-1115.
7. Johnson LR, Alpers DH, Christensen J, et al. *Physiology of the Gastrointestinal Tract* (3rd ed.), Raven Press, New York, 1994: 751-794.
8. Shibata C, Balsiger BM, Anding WJ and Sarr MG. Adrenergic denervation hypersensitivity in ileal circular smooth muscle after small bowel transplantation in rats. *Dig Dis Sci* 1997; 42:2213-2221.
9. Ohtani N, Balsiger BM, Anding WJ, et al. Small bowel transplantation induces adrenergic hypersensitivity in ileal longitudinal smooth muscle in rats. *J Gastrointest Surg* 2000; 4:77-85.
10. Nishizaki K, Nakao K, Ishii H, et al. Induction of neuronal nitric oxide synthase by sympathetic denervation is mediated via α 2-adrenoceptors in the jejunal myenteric plexus. *Brain Research* 2003; 965:121-129.
11. Langer SZ. 25 Years since the discovery of presynaptic receptors: present knowledge and future perspectives. *Trends Pharmacol Sci* 1997; 18:95-99.
12. Puig MM, Warner W, Pol O: Intestinal inflammation and morphine tolerance alter the interaction between morphine and clonidine on gastrointestinal transit in mice. *Anesthesiology* 2000; 93:219-30.
13. Bauer GE, Hellestrand KJ: Pseudo-obstruction due to clonidine (shortreport). *BMJ* 1976; 1:769.
14. Bredt DS, Hwang PM, Snyder SH. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature* 1990; 347:768-770.
15. Aimi Y, Kimura H, Kinoshita T, et al. Vincent, Histochemical localization of nitric oxide synthase in rat enteric nervous system. *Neuroscience* 1993; 53:553-560.
16. Nakao K, Takahashi T, Utsunomiya J and Owyang C. Extrinsic neural control of nitric oxide synthase expression in the myenteric plexus of rat jejunum. *J Physiol* 1998; 507:549-560.
17. Takahashi T. Pathophysiological significance of neuronal nitric oxide synthase in the gastrointestinal tract. *J Gastroenterol* 2003; 38(5):421-30.
18. Chahl LA. The properties of the clonidine withdrawal response of guinea-pig isolated ileum. *Br J Pharmacol* 1985; 85(2):457-62.

19. Shadpour D et al. Alpha-2-adrenoceptor hyporesponsiveness in isolated tissues of cholestatic animals: involvement of opioid and nitric oxide systems. *Life Sciences* 2003; 73(2):209-220.
20. Venturini G, Colasanti M, Persichini T, et al. Selective inhibition of nitric oxide synthase type I by clonidine, an anti-hypertensive drug. *Biochemical Pharmacology* 2000; 60(4):539-544.
21. Weisbrodt NW, Pressley TA, Li YF, et al. Decreased ileal muscle contractility and increased NOS II expression induced by lipopolysaccharide. *Am J Physiol* 1996; 271(3):454-60.
22. Shebuski RJ and Zimmerman BG. Prejunctional alpha 2-adrenoceptor mediated inhibitory action of clonidine and B-HT 920, but not urapidil in guinea pig ileum. *Experimental Biology and Medicine* 1985; 178:133-138.
23. Stebbing MJ, Johnson PJ, Vremec MA and Bornstein JC. Role of α 2-adrenoceptors in the sympathetic inhibition of motility reflexes of guinea-pig ileum. *Journal of Physiology* 2001; 534(2):465-478.
24. Herbert MK, Goldbrunner SR, Holzer, Roewer N. Clonidine and Dexmedetomidine Potently Inhibit Peristalsis in the Guinea Pig Ileum In Vitro *Anesthesiology* 2002; 97:1491-9.
25. Todorov S, Pozzoli C, Zamfirova R & Poli E. Prejunctional modulation of non-adrenergic non-cholinergic (NANC) inhibitory responses in the isolated guinea-pig gastric fundus. *Neurogastroenterology and Motility* 2003; 15:299-301.
26. Desai KM, Warner TD, Bishop AE, Polak JM, Vane JR. Nitric oxide, and not vasoactive intestinal peptide, as the main neurotransmitter of the vagally induced relaxation of the guinea pig stomach. *Br J Pharmacol* 1994; 113:1197-202.
27. Boeckxstaens GE, De Man JG, Pelckmans PA, Herman AG, Van Maercke YM. Alpha 2-adrenoceptor-mediated modulation of the nitrergic innervation of the canine isolated ileocolonic junction. *Br J Pharmacol* 1993; 109:1079-84.
28. Figueroa XF, Poblete MI, Boric MP, et al. Clonidine-induced nitric oxide-dependent vasorelaxation mediated by endothelial α 2-adrenoceptor activation. *British Journal of Pharmacology* 2001; 134, 957-968.
29. Xu Z, Chen SR, Eisenach J, Pan HL. Role of spinal muscarinic and nicotinic receptors in clonidine-induced nitric oxide release in a rat model of neuropathic pain. *Brain Res* 2000; 861(2):390-8.
30. Dobrucki LW, Cabrera CL, Bohr DF, Malinski T. Central hypotensive action of clonidine requires nitric oxide. *Circulation* 2001; 104:1884-1886.
31. Moura RS, Rios AAS, de Oliveira LF, et al. The Effects of Nitric Oxide Synthase Inhibitors on the Sedative Effect of Clonidine. *Anesth Analg* 2001; 93:1217-1221.
32. Bayguinov O, Keef KD, Hagen B, Sanders KM. Parallel pathways mediate inhibitory effects of vasoactive intestinal polypeptide and nitric oxide in canine fundus. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 1543-52, 1999.
33. Williams SJ, Parson ME. Evidence for a role for nitric oxide in relation of the frog oesophageal body to electrical field stimulation. *Br J Pharmacol* 1997; 122: 179-85.
34. Storr M, Gaffal E, Schusdzarra V, Allescher HD. Endomorphins 1 and 2 reduce relaxant non-adrenergic, non-cholinergic neurotransmission in rat gastric fundus. *Life Sci* 2002; 71: 383-9.