



Emine KAÇAR^{1, a}
Mehtap PERVİN^{1, b}
İhsan SERHATLIOĞLU^{2, c}
Ahmed Sait BOZYİL^{1, d}
Orhan SAYIN^{1, e}
Münevver Gizem HEKİM^{3, f}
Zeynep Dila ÖZ^{1, g}

¹ Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Fizyoloji Ana Bilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

² Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Biyofizik Ana Bilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

³ Elazığ Fethi Sekin Şehir
Hastanesi,
Fizyoloji Departmanı,
Elazığ, TÜRKİYE

^a ORCID:0000-0002-1585-7248
^b ORCID: 0009-0000-3660-2909
^c ORCID: 0000-0002-2384-7971
^d ORCID: 0009-0006-2768-5224
^e ORCID: 0000-0003-1813-2311
^f ORCID: 0000-0002-6697-8795
^g ORCID: 0000-0002-3406-4657

Geliş Tarihi : 31.08.2023
Kabul Tarihi : 08.01.2024

Yazışma Adresi

Mehtap PERVİN
Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Fizyoloji Ana Bilim Dalı,
Elazığ - TÜRKİYE

mehtap_ph@hotmail.com

Parasetamolün Dişi Sıçanlarda Bronş Düz Kas Kontraksiyonu Üzerindeki *In Vitro* Etkilerinin Araştırılması *

Amaç: Parasetamol analjezik ve antipiretik olarak yaygın kullanılan farmakolojik bir ajandır. Birçok farmakolojik ajan gibi farklı sistemler üzerinde de etkinliğinin olabileceği düşünülmüş, hatta bu bağlamda daha önce yapılan çalışmalarda uterus ve mesane düz kasının kontraktıl aktivitesi üzerinde inhibisyona neden olduğu gösterilmiştir. Başka bir düz kas olan bronş üzerinde de parasetamolün etkinliğinin olup olmadığı bilinmemektedir. Bu çalışmada, parasetamolün dişi sıçanların bronş düz kasının kontraktıl aktivitesi üzerindeki olası etkinliğinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Diöstrustaki Sprague-Dawley cinsi dişi erişkin sıçanların çıkartılan bronşlarından 3 mm'lik halka şeklinde stripler elde edildi. 1.5 gram gerim altında krebs solüsyonu içeren izole organ banyolarına asıldı (n=8). Regülasyon periyodunun ardından önce 0.1 M parasetamol uygulandı. Sonrasında dokular yıkandı ve 10 µM asetilkolin (Ach) ile indüklemeye üzerine 0.1 M parasetamol uygulandı. Uygulama öncesi ve sonrası maksimal kasılma değerleri (E_{max}) % değişim olarak normalize edildi. İstatistiksel olarak verileri değerlendirmek için eşleştirilmiş t testi ve Student's t testi kullanıldı.

Bulgular: Parasetamol, hem Ach ile indüklenmemiş (p<0.05) hem de indüklenmiş (p<0.001) bronş düz kas kontraktıl aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı azalmaya neden oldu. Ach ile indüklenmiş bronş düz kas kontraktıl aktivitesinde daha güçlü inhibisyona neden olmuştur (p<0.05).

Sonuç: Parasetamolün hem bazal hem de Ach ile indüklenmiş bronş kontraksiyonu üzerinde inhibitör etkiye neden olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Parasetamol, bronş, izometrik kontraksiyon, sıçan

Investigation of *In Vitro* Effects of Paracetamol on Bronchial Smooth Muscle Contraction in Female Rats

Objective: Paracetamol is a pharmacologic agent widely used as analgesic and antipyretic. Like many pharmacologic agents, it has been thought that it may have activity on different systems. In this context, it has been shown to cause inhibition on the contractile activity of uterine and bladder smooth muscle. It is not known whether paracetamol has an effect on another smooth muscle, the bronchus. This study aimed to investigate the possible effect of paracetamol on the contractile activity of bronchial smooth muscle of female rats.

Materials and Methods: 3mm ring-shaped strips were obtained from the removed bronchi of adult female Sprague-Dawley rats in diestrus. Under 1.5 g tension, they were suspended in isolated organ baths containing Krebs solution (n=8). After the regulation period, 0.1 M paracetamol was first applied. The tissues were then washed and 0.1 M paracetamol was applied upon induction with 10 µM acetylcholine(Ach). Maximal contraction values(E_{max}) before and after the application were normalized as % change. Paired t test and Student's t test were used to evaluate the data statistically.

Results: Paracetamol caused a statistically significant decrease in both non-Ach-induced (p<0.05) and induced (p<0.001) bronchial smooth muscle contractile activity. It caused stronger inhibition of Ach-induced bronchial smooth muscle contractile activity (p<0.05).

Conclusion: Paracetamol was shown to cause an inhibitory effect on both basal and Ach-induced bronchial contraction.

Key Words: Paracetamol, bronchus, isometric contraction, rat

Giriş

Düz kaslar tek çekirdekli iğsi şekilli hücrelerden oluşur ve aktin miyozin gibi kasılabilen proteinleri bulundururlar. Lümenli organların yapısında yoğun olarak bulunurlar (1, 2). Kendiliğinden kasılma yeteneğine sahiptirler ve bu sayede gastrointestinal sistem organları, damarlar, uterus, bronşlar, bez yapılar gibi daha birçok organın istemsiz ve daimi bir şekilde görevlerini yerine getirmelerini sağlarlar (2, 3). İstemli hareketlerden sorumlu olan çizgili kaslardan çok daha uzun süre kasılı kalabilirler ve buna karşılık enerji tüketimleri çok daha azdır. Çizgili kastan bir diğer farkı da intraselüler değil ekstraselüler kalsiyum, kasılmadaki esas görevli iyondur (1, 2, 4).

*48.Ulusal Fizyoloji Kongresi, 03 Kasım 2023, Sakarya/TÜRKİYE

Birçok lümenli organın kontraktil aktivitesini meydana getirmesinden dolayı, düz kas dokularındaki kasılma aktivitesini değiştiren etmenler her zaman araştırma konusu olmuştur.

Trakea ve bronşlar dış ortam ile akciğerler arasındaki hava iletiminden sorumlu, düz kas dokusundan oluşan lümenli organlardır. Düz kaslar kasılıp gevşeyebilmeleri ile hava yolunun genişleyip daralmasıdaki temel görevli dokulardır (5). Solunumun yeterli ve kontrollü düzeyde devam edebilmesi için hava yolunun optimal miktarda açık olması gereklidir. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), astım, amfizem gibi hava akımına direncin arttığı hastalıklarda bronşların açıklığı son derece önemlidir (6). Bu hastaların tedavileri planlanırken seçilecek ilaçların, bronş düz kasları ve dolayısıyla hava yolu açıklığının üzerine etkisinin bilinmesi önem arz etmektedir.

Parasetamol analjezik ve antipiretik olarak yaygın kullanılan farmakolojik bir ajandır. Siklooksijenaz enzim inhibisyonu, endokanabinoidlerin uptake inhibisyonu ve serotonerjik yolak inhibisyonu gibi mekanizmalar üzerinden analjezik ve antipiretik etkinliğini gösterir (7). Solunum yolu enfeksiyonları, osteoartrit, baş ağrısı, kas ağrısı, dismenore gibi toplumda görülme sıklığı çok yüksek olan, ağrılı ve ateşli hastalıkların tedavisinde önemli yere sahiptir. Hatta gebelikte dahi güvenle kullanılmaktadır (Gebelik kategorisi B) (8). Parasetamolün daha önce yaptığımız çalışmalarda uterus ve mesane düz kas kontraksiyonları üzerinde inhibitör etkinliğinin olduğunu gösterildi (9, 10). Geniş kullanım alanına sahip olan parasetamolün diğer düz kas içeren dokularda da etkinliğinin olabileceğini düşündürmüştür. Bu dokulardan biri de bronştur (5). Hava akımının düzgün ve devamlı olması açısından bronş düz kas aktivitesinin değişmesi hayatidir. Bu bilgiler ışığında yaygın olarak kullanılan parasetamolün bronş düz kas aktivitesi üzerinde de etkinliğinin olup olmadığını bilinememektedir. Bu bağlamda bu çalışmada ise parasetamolün bronş düz kas kontraksiyonu üzerindeki olası etkinliğinin ortaya konması amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada Sprague-Dawley türünden ağırlıkları 200-220 gram arasında olan intakt dişi sıçanlar kullanıldı (n=8). Düzenli havalandırılan ve sıcaklığı $21 \pm 1^\circ\text{C}$ olan odada, 12 saat gece ve 12 saat gündüz olacak şekilde plastik kafeslerde barındırıldı. Beslenmeleri için sıçana özel pelet yemi ve cam şişede çeşme suyu ad-libitum olarak verildi.

14 gün boyunca vajinal smear yöntemiyle siklus tayini yapılan hayvanlardan, düzenli siklus gösterenler çalışmaya dahil edildi. Siklus tayini vajinal smear yöntemiyle saat 09:00'da pastör pipeti kullanılarak yapıldı. Menstrual dönem farklılıklarını ortadan kaldırmak amacıyla tüm sıçanlar diöstrus fazında dekapite edildi.

Düz kas kontraktilesinin etkilenmemesi için, dekapitasyon öncesi anestezi madde verilmedi. Dekapite edilen hayvanların sağ ve sol ana bronş

dokuları lümen yapıları korunacak şekilde hızlıca eksize edildi ve Krebs solüsyonu içeren petri kabına alındı.

İzole Organ Banyosu: Deneş süresince düzeneğin sıcaklığı 37°C 'de tutuldu. Banyo sıvısı %95 O_2 , %5 CO_2 olacak şekilde oksijenize edildi. Sağ ve sol ana bronşların her birinden birer tane olmak üzere 3'er mm genişliğinde sirküler kesitler alındı. Hazırlanan stripler, Krebs çözeltisi (118 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 1.2 mM MgSO_4 , 15.8 mM NaHCO_3 , 1.18 mM KH_2PO_4 , 11.5 mM glukoz ve 2.4 mM CaCl_2 , 0.016 mM EDTA) içeren organ banyolarına lümeden karşılıklı 2 çengel geçecek şekilde asıldı ve 1.5 gram gerim uygulandı. Dokuların düzeneğe adaptasyonu için 60 dakikalık regülasyon periyodu sağlandı.

Önce 0.1 M parasetamol verildi 20 dakika beklendikten sonra dokular yıkandı. Ardından kontraksiyonu aktivitesi için $10 \mu\text{M}$ Ach uygulandı ve 20 dakika sonrasında 0.1 M parasetamol verildi. Tüm bekleme sürelerinde 15 dk aralıklarla Krebs ile yıkama yapıldı.

Kasılma kuvvetleri izometrik olarak amplifikatöre bağlı transdüser ve veri toplama sistemi ile Acqknowledge programına kaydedildi. Madde uygulamalarının öncesi ve sonrası E_{max} değerleri % değişim olarak normalize edildi.

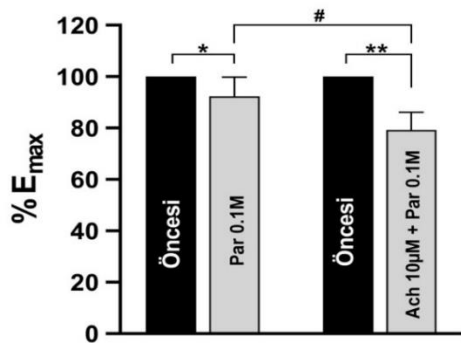
İstatistiksel Analiz: Denek sayısını belirlemek için "Güç analizi" yapıldı. Her gruptaki denek sayısı 8 olarak belirlenmiştir (Tip 1 hata = 0.05, Testin gücü = 0.80). Gruplardan elde edilen veriler Kolmogorov Smirnov testi ile normal dağıldığı tespit edildi. SPSS 22.0 programı kullanılarak uygulamaların öncesi ve sonrası verileri eşleştirilmiş t-testi yöntemiyle değerlendirildi. Bazal bronş dokusuna uygulamanın sonrası ile Ach indüklü bronş dokusuna uygulamanın sonrası verileri ise Student's t-testi ile değerlendirildi. Tüm sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

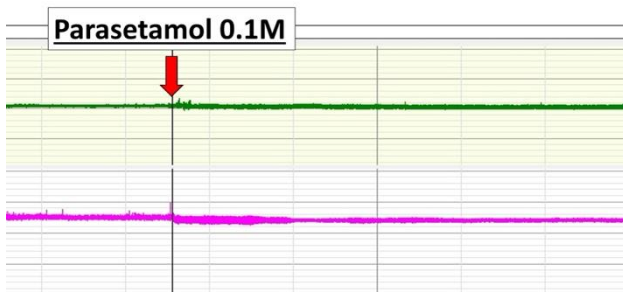
Parasetamol hem Ach ile indüklenmemiş ($p < 0.05$) hem de Ach ile indüklenmiş ($p < 0.001$) bronş düz kas kontraksiyonunda istatistiksel olarak anlamlı azalmaya neden olmuştur. Ayrıca parasetamolün Ach ile indüklenmiş bronş düz kas kontraksiyonundaki inhibisyonu indüklenmemiş ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede daha güçlüdür ($p < 0.05$) (Şekil 1, Tablo 1). İzole organ banyosundan elde edilen kesitler Şekil 2 ve 3 üzerinde gösterildi.

Tablo 1. Parasetamol uygulama öncesi ve sonrası ortalama \pm hata değerleri

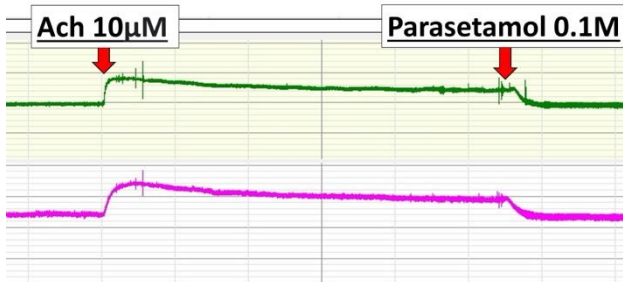
Değişkenler	% E_{max}	Ortalama \pm Hata	P değeri
Parasetamol Öncesi		100 \pm 0	
Parasetamol Sonrası		92.34 \pm 2.6	0.024
Ach+Parasetamol Öncesi		100 \pm 0	
Ach+Parasetamol Sonrası		79.2 \pm 2.4	0.00006
Parasetamol Sonrası		92.34 \pm 2.6	
Ach+Parasetamol Sonrası		79.2 \pm 2.4	0.03



Şekil 1. Kasılmanın E_{max} değerleri. (Par: Parasetamol, Ach:Asetilkolin #,*p <0.05, **p<0.001)



Şekil 2. Bazal bronş dokusuna 0.1 M parasetamol uygulaması sonrası izole organ banyosunda elde edilen trase



Şekil 3: 10 µM Ach altındaki bronş dokusuna 0.1 M parasetamol uygulaması sonrası izole organ banyosunda elde edilen trase

Tartışma

Parasetamol analjezik ve antipiretik olarak yaygın kullanılan farmakolojik bir ajandır. Birçok farmakolojik ajan gibi ana endikasyonu dışında farklı sistemler üzerinde de etkinliğinin olabileceği düşünülmüş, hatta bu bağlamda daha önce yapılan çalışmalarda uterus ve mesane düz kasının kontraktıl aktivitesi üzerinde inhibisyona neden olduğu gösterilmiştir (9, 10). Bu bilgiler doğrultusunda yine bir düz kas olan bronş üzerinde de olası etkinliği araştırıldı ve çalışmanın sonucunda elde edilen verilere göre parasetamolün hem herhangi bir indükleyici kullanılmamış bazal bronş dokusunda hem de Ach ile indüklenmiş bronş kontraktıl aktivitesi üzerinde inhibitör etkisinin olduğu tespit edildi ve bu etkinin Ach ile indüklü bronşta daha güçlü olduğu gözlemlendi.

Literatürde, parasetamolün bronş düz kas kontraksiyonu üzerindeki etkisini araştıran çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Bunlardan bir tanesi (11) erkek farelerin bronşları üzerinde yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda Ach ile indüklü bronş kontraksiyonunda inhibisyon olduğu gösterilmiştir (11). Bu çalışma kapsamında da elde edilen bulgular bu literatür bilgisiyle uyum göstermektedir. Buna ek olarak parasetamolün, indüklenmemiş bazal bronş dokusundaki etkisine de bakıldı ve bazal bronş kontraksiyonunda da istatistiksel olarak anlamlı inhibisyon gözlemlendi. Ayrıca hem ırk yönünden hem de cinsiyet yönünden farklı hayvanların kullanılmış olması bu çalışmayı öncekinden farklı ve özgün kılmıştır.

Erkek sıçanlardan elde edilen bronş dokuları ile yapılan bir çalışmada (12) ise bir gruba parasetamol bir gruba ibuprofen verilmiş ve parasetamol uygulanan grupta bronş kontraksiyonunda istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirtilmiştir (12). Ancak başlangıçta ketamin anestezisi verilmesinin bu sonuca neden olabileceği düşünüldü. Çünkü anestezik maddeler düz kaslar üzerinde miyorelaksan etkiye sahiptir. Bu bilgiye dayanarak yapılan çalışmada örnek literatürün aksine anestezisiz dekapitasyon uygulanmıştır.

Ayrıca parasetamolün farklı düz kas kontraksiyonu üzerindeki etkisini araştıran çalışmalardan biri(13) de sıçan aort düz kası üzerinde yapılmıştır. Sıçan aortunda kontraktıl aktiviteyi inhibe edici bir etkiye neden olduğu gösterilmiştir ve bu etkinin L tipi Ca kanalları yoluyla Ca akışını bloke ederek olduğu düşünülmüştür (13). Elde edilen literatür bilgisi mevcut çalışmadaki bulgularla uyum göstermektedir.

Daha önce ana bilim dalımızda yapılan çalışmalardan birinde (9) parasetamolün, spontan uterus düz kas kontraksiyonunu inhibe ettiği ortaya konmuştur. Yine bir diğer çalışmada da (10) parasetamolün sıçan mesane düz kas kontraksiyonu üzerinde inhibitör etkiye yol açtığı gösterilmiştir.

İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada (14) ise aspirin kullanımına bağlı bronkokonstriksiyon geliştiği bilinen (aspirine duyarlılığı olan) astım hastalarında aspirin yerine kullanılabilir uygun analjezik seçimi konusu araştırılırken analjezik ilaçlar verilmiş ve sonuçlar şu şekilde belirtilmiştir: Terapotik dozlarda kullanılan indometasin tüm hastalarda, mefenamik ve flufenamik asit ise çoğu hastada bronkokonstriksiyona neden olmuştur ve salisilamid, parasetamol, benzydamin ve klorokinin terapötik dozlarında herhangi bir reaksiyon görülmemiştir (14). Aspirine duyarlılığı olan hastalarda dahi parasetamolün bronkokonstriksiyona neden olmaması ilaç seçiminde çok değerlidir. Buradan yola çıkarak klinikte analjezik ilaç seçiminde, aspirin duyarlılığı olan bronkokonstriksiyon ile karakterize hastalıklara sahip olan kişilerde non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlara (NSAİİ) göre parasetamolün öncelikli olarak tercih edilmesi faydalı olabilir. Astımlı çocuk hastalarda yapılan, tek doz uygulanan parasetamolün hava yolu yanıtı üzerine etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada (15), spirometri testi sonuçlarında bronkokonstriksiyon olmadığı yönünde

yorumlanacak değerler elde edilmiştir (15). Ancak bu çalışmada deneklere yapılan spirometri testinin ölçüm sonuçları değerlendirilmiştir. Mevcut çalışmada ise direkt olarak bronş düz kas dokularının kontraksiyon cevabı değerlendirilmiştir.

Farklı bir çalışmada (16) elde edilen bulgulara göre aspirinle tetiklenen astım hastalarının en az yarısı astımlarını kontrol altına almak için birçok yan etkisinin olduğu bilinen sistemik kortikosteroidlere ihtiyaç duyar. Oysa bu hastalarda parasetamole karşı çapraz duyarlılık insidansı düşüktür ve bir reaksiyon meydana geldiğinde yaşanan semptomlar, bir NSAİİ tarafından tetiklendiği duruma göre daha kısa ve daha hafif olur (17). Parasetamol bu etkilerinden dolayı NSAİİ göre kullanım açısından daha avantajlı olabilir. Bunun için de daha çok ve ayrıntılı çalışmaya ihtiyaç vardır.

Parasetamolün uzun vadeli olumsuz etkileri konulu bir başka yayında 12 hafta boyunca günde iki kez 1 g parasetamol veya plasebo alan, aspirine duyarlı

olmayan deneklerde (n= 85) yapılan bir çift-kör randomize kontrollü çalışmada (18), bronş aşırı duyarlılığında herhangi bir fark görülmeyeceği belirtilmiştir. Elde edilen bu bulgular mevcut çalışmanın bronş düz kası üzerindeki etkinliğiyle uyumluluk göstermektedir. Parasetamolün bronkodilatör etkisinde bu duyarlılığın azalmasının da etkili olabileceği düşünülmektedir (18).

Elde edilen bulgulara göre parasetamol bronş düz kas kontraksiyonu üzerinde inhibitör etkiye sahiptir. Literatürdeki benzer çalışmalarla uyum göstermektedir. Dişi sıçan bronşunda yapılan literatürdeki ilk çalışma olması nedeniyle önem arz etmektedir. Çalışmanın devamında parasetamolün bronş düz kası üzerindeki etkilerinin süresi ve doza bağımlılığı gibi konuların yanı sıra bronş düz kas üzerindeki inhibitör etkinin altında yatan fizyopatolojik mekanizmaların aydınlatılması amaçlanmaktadır. Klinik kullanımı esnasında olumsuz etkilere yol açmaması amacıyla daha ileri çalışmalar yapılması uygun olacaktır.

Kaynaklar

1. Webb RC. Smooth muscle contraction and relaxation. *Advances in Physiology Education* 2003; 27: 201-206.
2. Prosser CL. Smooth muscle. *Annual Review of Physiology* 1974; 36: 503-535.
3. Somlyo AP, Somlyo AV, Signal transduction and regulation in smooth muscle. *Nature* 1994; 372: 231-236.
4. Rosenfeld SS, Xing J, Cheung HC, et al. Structural and kinetic studies of phosphorylation-dependent regulation in smooth muscle myosin. *Journal of Biological Chemistry* 1998; 273: 28682-28690.
5. Stephens N. Airway smooth muscle. *Lung* 2001; 179.
6. Mims JW. Asthma: Definitions and pathophysiology. *International Forum of Allergy & Rhinology* 2015; 5: S2-S6.
7. Ottani A, Leone S, Sandrini M, et al. The analgesic activity of paracetamol is prevented by the blockade of cannabinoid CB1 receptors. *European Journal of Pharmacology*; 2006; 531: 280-281.
8. Rebordosa C, Kogevinas M, Horváth-Puhó E, et al. Acetaminophen use during pregnancy: effects on risk for congenital abnormalities. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*; 2008; 198: 178.
9. Ercan Z, Zorlu G, Bulmuş Ö, et al. Relaxing effects of paracetamol on uterine spontaneous contraction in rats in vitro. *Medical Records* 2022; 4:166-170.
10. Kaçar E, Hekim MG, Bozyıl AS, ve ark. Parasetamolün dişi sıçanlarda mesane düz kasının spontan kasılması üzerindeki olası etkisi. *FÜ Sağ Bil Tıp Derg* 2023; 37(3): 261-264.
11. Chen Y-Y, Yu M-F, Zhao X-X, et al. Paracetamol inhibits Ca²⁺ permeant ion channels and Ca²⁺ sensitization resulting in relaxation of precontracted airway smooth muscle. *Journal of Pharmacological Sciences* 2020; 142: 60-68.
12. Erdem AO, Erel KV, Özkısacık S, et al. The effects of paracetamol and ibuprofen on smooth muscle response of the bronchospasm: An in vitro study. *Meandros Medical and Dental Journal* 2019; 20:82-86.
13. Correia MC, Santos ES, Neves BJ, et al. Acetaminophen treatment evokes anticontractile effects in rat aorta by blocking L-type calcium channels. *Pharmacological Reports* 2022; 74: 493-502.
14. Szczeklik A, Gryglewski R, Czerniawska-Mysik G. Relationship of inhibition of prostaglandin biosynthesis by analgesics to asthma attacks in aspirin-sensitive patients. *Br Med J* 1975; 1: 67-69.
15. Soferman R, Tsivion A, Farber M, et al. The effect of a single dose of acetaminophen on airways response in children with asthma. *Clinical Pediatrics* 2013; 52: 42-48.
16. Harrington LS, Lucas R, McMaster SK, et al. COX-1, and not COX-2 activity, regulates airway function: relevance to aspirin-sensitive asthma. *The FASEB Journal* 2008; 22: 4005.
17. Szczeklik A, Nizankowska E, Mastalerz L, et al. Analgesics and asthma. *American Journal of Therapeutics* 2002; 9: 233-243.
18. Ioannides SJ, Williams M, Jefferies S, et al. Randomised placebo-controlled study of the effect of paracetamol on asthma severity in adults. *BMJ Open* 2014; 4: e004324.