



**HİDROJEN SÜLFÜRÜN SIÇAN İZOLE KOLON DÜZ KASINDA
ELEKTRİKSEL ALAN UYARISI ARACILI YANITLAR ÜZERİNDEKİ
ETKİSİNİN VE ETKİ MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI**

Melis DÜLGEROĞLU

**DOKTORA TEZİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MART 2025

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Melis DÜLGEROĞLU

10.03.2025

HİDROJEN SÜLFÜRÜN SIÇAN İZOLE KOLON DÜZ KASINDA ELEKTRİKSEL ALAN
UYARISI ARACILI YANITLAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN VE ETKİ
MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI
(Doktora Tezi)

Melis DÜLGEROĞLU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mart 2025

ÖZET

Hidrojen sülfür (H_2S), bir gazotransmitter olarak pek çok fizyolojik süreçte rol oynamaktadır. Bir sinyal molekülü olan hidrojen sülfürün gastrointestinal sistem motilitesindeki etkisi önemli bir araştırma konusudur. Bu çalışmada, izole sıçan kolon düz kas kasılma yanıtları üzerine hidrojen sülfürün etkisi ile bu etkinin oluşmasında nitrik oksit (NO) ve potasyum kanallarının rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada, izole organ banyosunda elektriksel alan uyarısı (EAU) aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine sodyum hidrojen sülfürün (NAHS), L-sistein, DL-propargilglisin (PAG) ve aminooksiasetik asit (AOAA) etkisi araştırılmıştır. Ek olarak potasyum klorür ve kalsiyum klorür ile kasılan dokularda postsinaptik yanıtlar üzerine H_2S , L-sistein, PAG ve AOAA'nın etkisi araştırılmıştır. Ayrıca, EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine NO ve potasyum kanallarının katkısı NO sentez blokeri N-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) ve potasyum kanal blokerleri glibenklamid, 4-aminopiridin ve iberiotoksin varlığında ayrı gruplarda bu etkiler tekrar çalışılmıştır. H_2S sentez enzimleri sistasyonin beta sentaz (CBS) ve sistasyonin gama liyaz (CSE) enzim proteinlerinin distal kolon dokusundaki varlığının gösterilmesi için Western Blot analizi kullanılmıştır. NaHS'nin EAU aracılı kasılma yanıtlarını %36,8 ($p<0,05$), L-sistein'in ise %12,13 azalttığı ($p<0,05$) ve bu etkilerinin NO-bağımsız olduğu saptanmıştır ($p>0,05$). EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine PAG'ın %15,72 ($p<0,05$) ve AOAA'nın %26,97 ($p<0,05$) gevşetici etkisi olduğu tespit edilmiştir. H_2S 'nin EAU araçlı nörojenik kasılma yanıtları üzerine gevşetici etkisine potasyum kanallarının katkısı olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$). Postsinaptik yanıtlar üzerine NaHS %54,53 ($p<0,05$), L-sistein %38,26 ($p<0,05$), PAG %24,95 ($p<0,05$) ve AOAA %33,68 ($p<0,05$) gevşetici etkilili olduğu göstermiştir. Western Blot analizde, sıçan kolon düz kas dokusunda CSE ve CBS enzimlerinin varlığı gösterilmiştir. H_2S 'nin presinaptik ve postsinaptik kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisi gösterilmiş olup, NO ve potasyum kanallarının H_2S 'nin bu etkisine katkısı olmadığı saptanmıştır.

Bilim Kodu : 1092
Anahtar Kelimeler : Hidrojen sülfür, elektriksel alan uyarısı, nitrik oksit, potasyum kanalları
Sayfa Adedi : 77
Danışman : Doç. Dr. Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN

INVESTIGATION OF THE EFFECTS AND ITS MECHANISM OF HYDROGEN SULFIDE
ON ELECTRICAL FIELD STIMULATION INDUCED RESPONSES IN ISOLATED RAT
COLON SMOOTH MUSCLE

(PhD Thesis)

Melis DÜLGEROĞLU

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

March 2025

ABSTRACT

Hydrogen sulfide (H₂S) plays a significant role in many physiological processes as a gasotransmitter. Its effect as a signal molecule in gastrointestinal system motility is an important research topic. The aim of this study is to investigate the effect of hydrogen sulfide on isolated rat colon smooth muscle contraction responses and the role of nitric oxide (NO) and potassium channels in the development of this effect. In the study, the effects of sodium hydrogen sulfide (NaHS), L-cysteine, DL-propargylglycine (PAG), and aminooxyacetic acid (AOAA) on neurogenic contraction responses mediated by electrical field stimulation (EFS) in isolated organ baths were investigated. Additionally, the effects of H₂S, L-cysteine, PAG, and AOAA on postsynaptic responses in tissues contracted with potassium chloride and calcium chloride were examined. The contribution of NO and potassium channels to EFS-induced contraction responses was also studied in separate groups in the presence of the NO synthesis inhibitor N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) and potassium channel blockers glibenclamide, 4-aminopyridine, and iberiotoxin. Western blot analysis was used to show the presence of H₂S synthesis enzymes cystathionine β-synthase (CBS) and cystathionine γ-lyase (CSE) enzyme proteins in distal colon tissue. NaHS reduced EFS-induced contraction responses 36.8% (p<0.05), and L-cysteine reduced 12.13% (p<0.05), and these effects were independent of NO (p>0.05). PAG reduced EFS-induced contraction responses 15.72% (p<0.05), and AOAA reduced 26.97% (p<0.05). There is no contribution of potassium channels to the relaxing effect of H₂S on EFS-mediated neurogenic contraction responses (p>0.05). NaHS showed a relaxing effect of 54.53% (p<0.05), L-cysteine 38.26% (p<0.05), PAG 24.95% (p<0.05), and AOAA 33.68% (p<0.05) on postsynaptic responses. Western blot analysis confirmed the presence of CSE and CBS enzymes in rat colon smooth muscle tissue. The results demonstrated that H₂S reduced both presynaptic and postsynaptic contraction responses, NO and potassium channels did not contribute to this effect of H₂S.

Science Code : 1092
Key Words : Hydrogen sulfide, electrical field stimulation, nitric oxide, potassium channels
Page Number : 77
Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bana her zaman yol gösteren, sabırla destek olan, her zaman ve her konuda değerli bilgilerini benimle paylaşan, bu tezin gerçekleşmesini sağlayan, öğrencisi olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum değerli hocam Doç. Dr. Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN'a, doktora eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen, kendilerinden çok şey öğrendiğim saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Canan ULUOĞLU, Prof. Dr. Çimen KARASU, Prof. Dr. Sevil ÖZGER İLHAN, Prof. Dr. Süreyya BARUN, Doç. Dr. Ergin DİLEKÖZ'e ve tez sürecimde her zaman yanımda olup desteklerini esirgemeyen, ekip olmanın keyfini birlikte yaşadığım değerli arkadaşlarım Dr. Celil İlker AŞKIN, Dr. Ayşe Kübra KİBAR GÜZİN, Dr. Tilbenur AKYEL ve Dr. Aynur Arslan SABANCI'ya,

Bana bilgilerini ve deneyimlerini her zaman cömertçe sunarak tez sürecimi daha verimli hale getiren, kıymetli katkılarından dolayı Prof. Dr. Atiye Seda YAR SAĞLAM ve Dr. Öğr. Üyesi Duygu Deniz USTA SALİMİ'ye,

Hayatımın her anında sevgi, şefkat ve anlayışla yanımda olan, her zaman en büyük destekçim olan sevgili babam Mustafa TÜRKER, annem Hilal TÜRKER ve kardeşim Ceren TÜRKER'e,

Sevgiyle yanımda olan, bana her zaman inanan çok sevdiğim eşim Emek DÜLGEROĞLU'na ve hayatımızın renkleri canım kızlarım Ada ve Ela'ya,

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2022-8225 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Kolon.....	5
2.1.1. Kolon anatomisi ve histolojisi.....	5
2.1.2. Kolon fizyolojisi	5
2.1.3. Kolon innervasyonu	6
2.2. Ratlarda Kolon Anatomisi.....	7
2.3. Hidrojen Sülfür (H ₂ S)	7
2.3.1. Hidrojen Sülfür'ün fiziksel ve kimyasal özellikleri	7
2.3.2. Hidrojen Sülfür'ün endojen sentezi ve metabolizması.....	8
2.3.3. Hidrojen Sülfür'ün organ sistemleri üzerindeki etkisi.....	9
2.3.4. Hidrojen Sülfür'ün gastrointestinal sistem etkileri	12
2.5. Nitrik Oksit (NO)	14
2.6. Hidrojen Sülfür ve Nitrik Oksit Etkileşimi	16
2.7. Potasyum Kanalları	17
2.8. Potasyum Kanallarının Hidrojen Sülfür'ün Etki Mekanizmalarındaki Rolü	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Deney Hayvanları ve İzole Distal Kolon Preparatlarının Hazırlanması	21

	Sayfa
3.2. İzole Organ Banyosu Sistemi.....	21
3.3. Deney Protokolü.....	22
3.3.1. EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarının tanımlanması.....	23
3.3.2. Presinaptik EAU aracılı NO-bağımlı ve NO-bağımsız kasılma yanıtları üzerine NaHS ve L-sistein'in etkisinin araştırılması	23
3.3.3. Presinaptik EAU aracılı NO-bağımlı ve NO-bağımsız kasılma yanıtları üzerine PAG ve AOAA'nın etkisinin araştırılması	23
3.3.4. Postsinaptik yanıtların üzerine hidrojen sülfürün etkisinin araştırılması.	24
3.3.5. NO-bağımlı ve NO-bağımsız kasılma yanıtları üzerine NaHS ve L-sistein'in etkisine potasyum kanal blokörlerinin katkısının araştırılması.	24
3.3.6. NO-bağımlı ve NO-bağımsız kasılma yanıtları üzerine PAG ve AOAA'nın etkisine potasyum kanal blokörlerinin katkısının araştırılması.....	24
3.4. Western Blot Yöntemi.....	25
3.4.1. Sıçan distal kolon doku örneklerinden total protein izolasyonu	25
3.4.2. Western blot analizi	25
3.5. Deneylerde Kullanılan Solüsyon ve Maddeler	26
3.6. Bulguların Sunuluşu ve İstatistiksel Analiz	27
4. BULGULAR	29
4.1. EAU Aracılı Nörojenik Kasılma Yanıtlarının Tanımlanması:.....	29
4.2. Presinaptik EAU Aracılı NO-Bağımlı ve NO-Bağımsız Kasılma Yanıtları Üzerine NaHS ve L-sistein'in Etkisi.....	29
4.3. Presinaptik EAU Aracılı NO-Bağımlı ve NO-Bağımsız Kasılma Yanıtları Üzerine PAG ve AOAA'nın Etkisi.....	333
4.4. Postsinaptik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfürün Etkisi	355
4.5. NO-Bağımlı ve NO-Bağımsız Kasılma Yanıtları Üzerine NaHS Etkisine Potasyum Kanal Blokörlerinin Katkısının Araştırılması	388
4.6. NO-Bağımlı ve NO-Bağımsız Kasılma Yanıtları Üzerine L-sistein Etkisine Potasyum Kanal Blokörlerinin Katkısının Araştırılması	40
4.7. NO-Bağımlı ve NO-Bağımsız Kasılma Yanıtları Üzerine PAG ve AOAA Etkisine Potasyum Kanal Blokörlerinin Katkısının Araştırılması	42

	Sayfa
4.8. Western Blot Bulguları	46
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ	57
KAYNAKLAR	59
EKLER.....	73
EK-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onam Formu	74
ÖZGEÇMİŞ	76

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarının tanımlanması	29
Şekil 4.2. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine NaHS'nin etkisi	30
Şekil 4.3. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine L-sistein'in etkisi	31
Şekil 4.4. Enzim inhibitörlerinin varlığında NO-bağımlı EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine L-sistein'in etkisi	34
Şekil 4.5. Enzim inhibitörleri varlığında NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine L-sistein'in etkisi	35
Şekil 4.6. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine PAG'ın etkisi	36
Şekil 4.7. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine AOAA'nın etkisi	395
Şekil 4.8. Postsinaptik Kasılma Yanıtları Üzerine NaHS, L-sistein, PAG ve AOAA'nın Etkisi	416
Şekil 4.9. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine NaHS'nin Etkisine Potasyum Kanallarının Katkısı	39
Şekil 4.10. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine L-sistein'in Etkisine Potasyum Kanallarının Katkısı	451
Şekil 4.11. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine PAG'ın Etkisine Potasyum Kanallarının Katkısı	46
Şekil 4.12. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine AOAA'nın Etkisine Potasyum Kanallarının Katkısı	465
Şekil 4.13. Dokularından izole edilen protein örneklerinden CBS ve CSE protein bantları	466

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
C°	Santigrat
%	Yüzde
µg	Mikrogram
Ca⁺²	Kalsiyum
CaCl₂	Kalsiyum klorür
dk	Dakika
g	Gram
HNO	Nitroksil
HS⁻	Hidrosülfid anyonu
HSNO	Tiyonitröz asit
Hz	Hertz
K⁺	Potasyum
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
M	Molar
Mg	Miligram
ml	Mililitre
ms	Milisaniye
s	Saniye
S⁻²	Sülfid anyonu
V	Volt

Kısaltmalar	Açıklama
3-MP	3-merkaptopirüvat
3-MST	3-merkaptopürivat sülfürtransferaz
4-AP	4-aminopiridin

Kısaltmalar**Açıklama**

AC	Adenilat siklaz
AOAA	Aminooksiasetik asit
BK_{Ca}	Yüksek iletkenlikli Ca ⁺² -bağımlı potasyum kanalları
BCA	Bikoninik asit
BSA	Bovin serum albumin
cAMP	Siklik adenzin mono fosfat
CAT	Sistein amino transferaz
CBS	Sistasyonin beta sentaz
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
CO	Karbonmonoksit
CSE	Sistasyonin gama liyaz
EAU	Elektriksel alan uyarısı
ESS	Enterik sinir sistemi
GiS	Gastrointestinal sistem
IK_{Ca}	Orta iletkenli Ca ⁺² -bağımlı potasyum kanalı
IK_v	Voltaj/ligand kapılı potasyum kanalı
IR	İskemi reperfüzyon
im	İntramusküler
K_{2P}	İki gözenekli potasyum kanalı
K_{ATP}	ATP duyarlı potasyum kanalı
K_{Ca}	Ca ⁺² -bağımlı potasyum kanalı
KCl	Potasyum klorür
K_{ir}	İçe doğrultulu potasyum kanalı
K_v	Voltaj/ligand kapılı potasyum kanalı
KVS	Kardiyovasküler sistem
L-NAME	N-nitro-L-arjinin metil ester
mRNA	Mitokondriyal RNA
NANK	Non-adrenerjik ve non kolinerjik
NMDA	N-metil-D-aspartat
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
OSS	Otonom sinir sistemi

Kısaltmalar**Açıklama****P5P**

Piridoksal 5-fosfat

PAG

DL-proparjilglisin

PGF2 α

Prostaglandin F2 alfa

PKA

Protein kinaz A

PKG

Protein kinaz G

PVDF

Poliviniliden florur

ROS

Reaktif oksijen radikalleri

SDS-PAGE

Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel

SEM

Ortalamanın standart hatası

sGC

Çözünür guanilat siklaz

SK_{Ca}Küçük iletkenli Ca⁺²-bağımlı potasyum kanalı**SNP**

Sodyum nitroprussid

SSS

Santral sinir sistemi

1. GİRİŞ

Hidrojen sülfür (H_2S), memeli hücrelerinde endojen mekanizmalarla sentez edilen, farklı doku ve organ sistemlerinde, birçok fizyolojik ve patolojik işlevde rol oynadığı bildirilen bir sinyal molekülüdür (Cirino, Szabo ve Papapetropoulos, 2023; Gil, Gallego ve Jimenez, 2011). Nitrik oksit (NO) ve karbonmonoksitten (CO) sonra keşfedilmiş olan gaz şeklinde nörotransmitter bir molekül olarak tanımlanan H_2S , son yıllarda biyolojik sistemlerdeki rolü nedeniyle önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir (Wang, 2002).

Hidrojen sülfür renksiz, kötü kokulu, doğadaki bakteriler tarafından üretilen, aynı zamanda toksik bir gazdır. H_2S 'nin toksik etkilerinin keşfinden sonra, karaciğer ve böbrekte transsülfürasyon reaksiyonu sonucu endojen olarak sentezlendiği tespit edilmiştir (Stipanuk ve Beck, 1982). Warenycia ve arkadaşları beyin dokusunda H_2S 'nin endojen sentezlendiğini saptamışlardır (Warenycia ve diğerleri, 1989). Abe ve Kimura'nın H_2S 'nin beyinde endojen bir mediatör olabileceğini destekleyen çalışması, H_2S 'nin fizyolojik ve patolojik düzenleyici rolünü bildiren ilk önemli çalışmalardan biri olmuştur (Abe ve Kimura, 1996). Hidrojen sülfür metabolizmada enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlarla sentezlenmektedir. H_2S 'nin enzimatik sentezinden sorumlu başlıca enzimler, sistasyonin beta sentaz (CBS), sistasyonin gama liyaz (CSE) ve 3-merkaptopürivat sülfürtransferaz (3-MST) olup, bu enzimler organlar, dokular ve hücresel yapılar arasında farklı yoğunluklarla dağılmaktadır. CBS, santral sinir sistemi (SSS) ve karaciğerde, CSE kardiyovasküler sistemde (KVS) özellikle vasküler dokularda ve karaciğerde, 3-MST ise beyin ve vasküler dokularda daha yoğun şekilde bulunmaktadır (Abe ve Kimura, 1996; Kolluru ve diğerleri, 2013; Szabo, 2007).

Hidrojen sülfür, pek çok doku ve organ sisteminde özellikli etkilere sahiptir. Hücresel etkileri, ikincil mesajcı ya da reseptör etkileşimi olmadan direkt sinyal yolları üzerinden gerçekleşebilmektedir. SSS'de nörotransmisyon ve nöromodülasyon üzerine önemli etkilere sahiptir (Wang, 2012). KVS'de, damar düz kas tonusu, inotropi/kronotropi, hücre proliferasyonu ve anjiyogenezle ilişkili etkilere sahiptir (Nagpure ve Bian, 2016; Wang, 2012; Wu, Hu ve Zhu, 2018). Genitoüriner sistemde, farklı memeli türlerinde mesane düz kas tabakasında H_2S sentez enzimlerinin varlığı immün histokimyasal olarak tespit edilmiş ve gevşetici etkisi olduğu saptanmıştır (Fernandes ve diğerleri, 2013; Gai ve diğerleri, 2013; Matsunami ve diğerleri, 2012). Korpus kavernoza olan etkisi ile erektil disfonksiyonda

rol oynadığı bildirilmiştir (Srilatha, Adaikan ve Moore, 2006). Sıçan gebe veya gebe olmayan uterus dokusunda CBS ve CSE'nin varlığı gösterilmiş, H_2S 'nin düzenleyici rol oynadığı tespit edilmiştir (Cirino, Szabo ve Papapetropoulos, 2023). H_2S 'nin, glutatyon üretimini arttırarak ve glutatyonun mitokondriyal translokasyonunu kolaylaştırarak hücreleri oksidatif hasardan koruduğu bilinmektedir (Kimura ve Kimura, 2004, Kimura, Goto ve Kimura, 2010).

H_2S , gastrointestinal sistemde (GİS) mukozal bütünlüğün korunması, pro/anti-inflamatuvar modülasyon, sekretuar fonksiyon, barsak motilitesi, oksidatif stres, nöromodülasyon, vasküler tonus, inflamatuvar barsak hastalıkları ve malignite gibi pek çok fizyopatolojik süreçte önemli bir rol oynamaktadır (Wang, 2012). Fizyolojik konsantrasyonlarda H_2S 'nin sıçanlarda mide ve jejunum düz kas dokusunda spontan kasılmaları, kasılma frekansını ve amplitüdünü azaltarak inhibe ettiği gösterilmiştir (Shafigullin ve diğerleri, 2014). NaHS'nin domuz ileum sirküler düz kas dokusunda, asetilkolin aracılı kasılma yanıtlarını azalttığı bildirilmiştir (Hosoki, Matsuki ve Kimura, 1997).

Nitrik oksit, hücre içi ve hücreler arası birçok fizyolojik ve patolojik olayda rol oynayan önemli bir sinyal moleküldür (Idrizaj ve diğerleri, 2021; Lei ve diğerleri, 2013). Nitrik oksit ve H_2S , organizmada enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlarla sentezlenebilen, birbirleriyle etkileşime giren ve birçok fizyolojik süreçte rol oynayan gaz yapısındaki sinyal molekülleridir. Artan bilimsel kanıtlar, bu iki gaz molekülünün birbirlerinin sentezleri ve fizyolojik etkileri arasındaki etkileşimlerin pek çok farklı şekilde gerçekleştiğini ortaya koymaktadır (Wu, Hu ve Zhu, 2018). Bazı çalışmalar bu iki gaz molekülünün birbirlerinin sentezini ve fonksiyonunu aynı yönde etkilerken; diğer bazı çalışmalarda ise ters etki gösterdikleri saptanmıştır (Kondo ve diğerleri, 2013; Kubo ve diğerleri, 2007).

Hidrojen sülfür, NO'ya benzer şekilde; damar homeostazının düzenlenmesi, nörolojik fonksiyonlar, hücre koruyucu, anti-inflamatuvar, yeniden damarlanma, anjiyogenezis gibi süreçlerde ve hücre sağkalım yanıtlarının modülasyonunda önemli etkilere sahiptir (Kolluru, Shen ve Kevil, 2013). Damar düz kasındaki vazodilatasyonu, anjiyogenezis ve damarsal yeniden şekillenmenin modülasyonunda, NO ve H_2S arasındaki etkileşim yapılan çalışmalarla desteklenmektedir (Gu ve diğerleri, 2013; Wang ve diğerleri, 2008). NO, GİS'te enterik inhibitör motor nöronları olan non-adrenerjik, nonkolinerjik (NANK) nöronlardan salıverilen, gevşemeden sorumlu olan ana inhibitör nörotransmitterdir (Sanders ve Ward,

2019). H₂S, GİS'te gevşetici etkisi olan bir diğer moleküldür ve NO ile birbirlerinin gevşetici etkilerini arttırdıklarını bildiren çalışmalar da mevcuttur (Teague, Asiedu ve Moore, 2002; Yoon ve diğerleri, 2011).

Potasyum (K⁺) kanalları, hücre zarında yer alan, potasyum iyonlarının hücre içi ve dışı arasında geçişine izin veren protein yapılı moleküllerdir. K⁺ kanalları, en fazla alt tipe ve en büyük çeşitliliğe sahip iyon kanalı ailesidir. Nörotransmitter ve hormonların salıverilmesi, düz kas hücrelerinin kasılması, su ve elektrolit dengesinin sağlanması, en önemlisi hücrede aksiyon potansiyelin oluşması ve hücre membran potansiyelinin stabilizasyonunda rol oynamaktadır (Alexander ve diğerleri, 2013; Curro, 2016; Jenkinson, 2006). Potasyum kanalları, hücre membran potansiyelinin hiperpolarizasyonunu sağlayarak düz kas tonusunun düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Thorneloe ve Nelson, 2005). Pek çok endojen agonist molekül K⁺ kanallarını aktive ederek hiperpolarizasyon ve düz kas gevşemesini sağladığı gibi diğer pek çok antagonist inhibisyon etkileri ile depolarizasyon ve kasılma yanıtı sağlamaktadırlar (Teramoto, 2006).

H₂S, fizyolojik etkilerini membranda bulunan iyon kanalların modülasyonu aracılığıyla membran potansiyelini ve membranın uyarılabilirliğini etkileyerek gerçekleştirmektedir (Cirino, Szabo ve Papapetropoulos, 2023). H₂S, düz kas dokusundaki gevşetici etkisinde rol oynayan mekanizmalardan biri K⁺ kanallarının modülasyonudur. H₂S'nin domuz mide fundus düz kas motilitesinde, düşük konsantrasyonunda IK_v kanallarının inhibisyonu ve membran depolarizasyonu sonucu kasılma yanıtı oluştururken; yüksek konsantrasyonunda K_{ATP} kanal aktivasyonu ve membran hiperpolarizasyonu sonucu inhibisyon yanıtı oluştuğu saptanmıştır (Zhao ve diğerleri, 2009).

Bu çalışmada, hidrojen sülfürün sıçan distal kolonundaki kasılma yanıtları üzerine etkisinin araştırılması ve olası etkisine nitrik oksit ve potasyum kanallarının katkısının araştırılması amaçlanmıştır. Bir sinyal molekülü olarak H₂S'nin kolon motilitesine olan katkısı, terapötik müdahaleler için yeni bir yaklaşım sunma potansiyeline sahiptir. Bu bağlamda, nitrik oksit ve potasyum kanallarının etkileşimi, kolon motilitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabilir ve gelecekteki tedavi stratejileri için önemli bir temel oluşturabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kolon

2.1.1. Kolon anatomisi ve histolojisi

Kolon, ilioçekal kapaktan anüse kadar uzanan yaklaşık 150 cm uzunluğunda sindirim sisteminin en uzun kısmını oluşturmaktadır. Birbiri ile devamlılık gösteren çekum, apendiks, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve anal kanaldan oluşmaktadır (Sancar ve Cumhuri, 1999). Çekum, kolonun başlangıç kısmı olup, kolon içeriğinin ileuma geçişini engelleyen ilioçekal kapakla terminal ileumdan ayrılmaktadır. Çekumdan sonra, yaklaşık 15 cm uzunluğundaki çıkan kolon retroperitoneal yerleşim göstermektedir. Karaciğer sağ loba kadar yükselerek sola dönerek fleksura coli dextrayı oluşturmakta ve transvers kolon olarak devam etmektedir. Transvers kolondan sonraki 24-45 cm uzunluğundaki bağırsak kısmı inen kolondur. Retroperitoneal yerleşim göstermektedir ve sol iliak çukurda 'S' şeklinde bir kıvrım yaparak sigmoid kolonu oluşturmaktadır. Sigmoid kolon sigmoid mezokolon ile pelvise tutunmakta ve rektum ile devam etmektedir. Kolon, rektumdan sonraki 4-5 cm'lik kısım olan anal kanal ile sonlanmaktadır (Erdogan ve Lee, 2020; Sancar ve Cumhuri, 1999).

Kolon duvarı içten dışa sırasıyla; tunika mukoza, tunika submukoza, tunika muskularis ve tunika serozadan oluşmaktadır.

➤ Tunika muskularis; sirküler ve longitudinal seyirli iki kas tabakasından oluşmaktadır. Longitudinal kas lifleri, kolonun en dışında ve kolon boyunca uzanarak tenya omentalis, tenya libera, tenya mesokolika adı verilen yapıları oluşturmaktadır. Sirküler kas lifleri ise haustra adı verilen keselenmeleri meydana getirmektedir. Haustralar, pilika semilunarisler aracılığı ile birbirinden ayrılmaktadır. Auerbach pleksusu muskuler tabakada yer almaktadır (Kierszenbaum, 2006).

2.1.2. Kolon fizyolojisi

Kolonun görevleri arasında su ve elektrolitlerin emilimi ve salgılanması ile sıvı ve elektrolit dengesinin sağlanması, kolon bakterileri tarafından üretilen vitaminlerin emilimi, sindirim

artıklarının depolanması ve dışarı atılması yer almaktadır (Erdogan ve Lee, 2020). Kolondaki hareketler oldukça yavaş ve sirkadiyen niteliktedir. Motilitenin nörohumoral kontrolü santral SSS ve enterik sinir sistemi (ESS) aracılığı ile gerçekleşmektedir. Kolondaki kasılmalar karıştırıcı (haustral) ve ilerletici (kitle) hareketler olarak iki şekilde incelenmektedir. Karıştırıcı hareketler; geniş sirküler kasılmalar ve longitudinal kaslar tenya koli adı verilen uzunlamasına şeritlerde toplanarak gerçekleşen kasılma şeklidir. Longitudinal ve sirküler kasların eşzamanlı kasılması, haustralar oluşturarak kolona parçalı bir görünüm vermektedir (Guyton, 1998).

2.1.3. Kolon innervasyonu

Kolon, ekstrasik olarak otonom sinir sistemi (OSS) ve intrinsik olarak ESS tarafından innerve edilmektedir. Kolonun ekstrasik innervasyonu, T5 ila L2 düzeylerinden kaynaklanan sempatik sinirler, dorsal vagustan gelen parasempatik sinirler ve S2-S4 pelvik sinirler aracılığıyla sağlanmaktadır. Sempatik inervasyon proksimal kolonda çölyak plexus ve superior mezenterik plexus (T11-T12), sol kolonda inferior mezenterik plexus (L1-2) ve rektumda lumbar splenik sinirler ile superior ve inferior hipogastrik plexus ile sağlanmaktadır. Sempatik sinir sistemi, kolonda kan akımını, sekresyonları ve kolon motor aktivitesini baskılayıcı etki göstermektedir. Parasempatik innervasyon S2-S4 vertebral sinirler ile sağlanmaktadır. Çekum, çıkan kolon, transvers kolonda vagus siniri; inen kolon, sigmoid, rektumda ise pelvik S1-S3 plexusundan köken alan splanchnik sinirler ile gerçekleşmektedir. Parasempatik sinirler sekresyonları ve peristaltizmi arttırmaktadır (Erdogan ve Lee, 2020).

Enterik sinir sistemi, GİS'te bulunmakta ve beyin ile omurilikten bağımsız aktivite göstermektedir. ESS, longitudinal ve sirküler kas tabakaları arasındaki myenterik/Auerbach plexusu ve submukozadaki submukozal/Meissner plexusu ile bu plexuslarla iletişimde bulunan çok sayıda nörondan oluşmaktadır (Spencer ve Hu, 2020; Wiskur ve Greenwood-Van Meerveld, 2010). Myenterik plexus kas hareketlerinin düzenlenmesinden sorumlu iken, submukozal plexus salgı ve lokal kan akımının düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Asetikolin ve taşıkininler (P maddesi, nörokinin A/B), muskarinik M2 ve M3 reseptör agonistleri, gastrin gibi uyarıcı nörotransmitterler iken; nitrik oksit (NO), vazoaaktif intestinal polipeptit (VIP), nöropeptit Y ve adenosin trifosfatın (ATP) gibi inhibitör nörotransmitterler gevşemeyi düzenlemektedir (Wiskur ve Greenwood-Van Meerveld, 2010).

2.2. Ratlarda Kolon Anatomisi

Ratların GİS anatomisi ile insan anatomisi benzerlik göstermektedir. İleumdan sonra büyük bir çekum bulunmaktadır. Ratlarda ilioçekal valv yoktur. Çekum 6-9 santimetre uzunlukta, kolonun en geniş kısmını oluşturmaktadır. Çekumu kolon ve rektum takip etmektedir. Kolonun ortalama 21-24 cm uzunluğundadır. Makroskopik olarak ayırt edilebilen tenya yapısı yoktur. Rektum pelvik taban içerisinde yerleşmiştir. Kolon, mukozal oblik pililerin bağırsak uzun eksenine paralel hale gelmesiyle diğer segmentlerden ayırt edilir. İnsandan farklı olarak, kolonun neredeyse tamamı hareketli olup, visseral peritonla kaplıdır (Sharp ve LaRegina, 1998).

2.3. Hidrojen Sülfür (H₂S)

Çevresel bir toksin olarak keşfedilen H₂S ile ilgili yapılan araştırmalar, öncelikle toksikoloji alanında insan vücuduna etkilerinin ve etki mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik olmuştur. Toksikoloji araştırmalarını bakteriler, bitkiler ve memeli olmayan canlılarda endojen üretiminin gösterilmesi izlemiştir. Son 20 yılda yapılan pek çok araştırma, H₂S'nin memeli hücre ve dokularında endojen sentezlenen, fizyolojik ve patolojik pek çok biyokimyasal yolda rol oynayan gaz formunda bir sinyal molekülü olduğunu ortaya koymaktadır (Cirino, Szabo ve Papapetropoulos, 2023).

2.3.1. Hidrojen Sülfür'ün fiziksel ve kimyasal özellikleri

Hidrojen sülfür renksiz, keskin kokulu, zayıf asidik yapıda (pKa=6,98) kaynama noktası -60°C olan bir gazdır (Reiffenstein, Hulbert ve Roth, 1992). Fizyolojik pH'de üçte biri çözünmemiş, üçte ikisi ise iyonize hidrosülfid anyonu (HS⁻) halinde bulunmaktadır (Reiffenstein, Hulbert ve Roth, 1992). Yüksek alkali pH ortamda, HS⁻'in sülfid anyonuna (S⁻²) daha fazla ayrışarak H₂S meydana gelmektedir. Bu nedenle S⁻², fizyolojik koşullarda ihmal edilebilir düzeydedir. H₂S lipofilik çözeltilerde yüksek çözünürlük göstermekte, bu özellik H₂S'nin membranları kolay geçmesini sağlayarak otokrin ve parakrin etki göstermesine aracılık etmektedir (Reiffenstein, Hulbert ve Roth, 1992; Wang, 2002).

2.3.2. Hidrojen Sülfür'ün endojen sentezi ve metabolizması

Hidrojen sülfür metabolizmada enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlarla sentezlenmektedir. Sentezini sistatyonin beta sentaz (CBS), sistatyonin gama liyaz (CSE), 3-merkaptopiruvat sülfür transferaz (3-MST) ve sistein amino transferaz enzimi (CAT) enzimleri tarafından katalize edilen reaksiyonlar sonucu oluşmaktadır (Abe ve Kimura, 1996; Kolluru ve diğerleri, 2013).

- Sistatyonin beta sentaz (CBS): İnsan 21. kromozomunda yer alan gen tarafından kodlanan, tetramerik yapıda, 63kDa ağırlığında, her alt birimi 551 aminoasit içeren polipeptit yapıda bir enzimdir (Avramopoulos ve diğerleri, 1993; Fiorucci ve diğerleri, 2006; Munke ve diğerleri, 1988). Piridoksal 5-fosfat (P5P) bağımlı olan CBS enziminin substratları L-sistein ve homosisteindir (Braunstein, Goryachenkova ve Lac 1969; Kabil ve Banerjee, 2014). Allosterik aktivatörü olan S-adenozin metiyonin (SAM) aktivitesini 3 kat arttırmaktadır (Finkelstein ve diğerleri, 1975). Esas olarak SSS, karaciğer, böbrek ve pankreasta eksprese edilmektedir (Abe ve Kimura, 1996; Bao ve diğerleri, 1998; Kabil ve diğerleri, 2011; Tamizhselvi, Moore ve Bhatia, 2007). Aminooksiasetik asit (AOAA) tarafından inhibe edilmektedir (Dunn ve diğerleri, 2016).
- Sistatyonin gama liyaz (CSE): İnsan 1. kromozomunda yer alan gen tarafından kodlanan iki izoformu olan tetramerik yapıda, P5P bağımlı bir enzimdir (Dunn ve diğerleri, 2016). Enzim aktivitesi, kalmodulin ile etkileşim yoluyla düşük hücre içi kalsiyum seviyeleri ile düzenlenmekte iken yüksek konsantrasyonda kalsiyum ile enzim aktivitesi baskılanmaktadır (Mikami ve diğerleri, 2013). İlk olarak CSE, L-sistein'i H_2S , pirüvat ve amonyum iyonlarına hidrolize etmektedir. Diğer bir reaksiyonla da L-sistein'in tiyosistein, pirüvat ve amonyum dönüşümünü katalize etmektedir (Qu ve diğerleri, 2008). Tiyosisteinden daha sonra tekrar H_2S ve L-sistein oluşmaktadır. (Qu ve diğerleri, 2008). CSE, DL-propargilglisin (PAG) ile inhibe olmaktadır (Marcotte ve Walsh, 1975).
- 3-Merkaptopiruvat sülfürtransferaz (3-MST) ve sistein amino transferaz (CAT): CAT ve 3-MST enzimleri hem sitozol hem de mitokondride bulunmaktadır. 3-MST, CAT ile birlikte çalışarak 3-merkaptopirüvattan (3-MP), H_2S oluşumunu katalize etmektedir (Dunn ve diğerleri, 2016). CAT, öncelikle α -ketoglutarat ve L-sistein'i 3-MP'ye dönüştürmekte; ardından 3-MP'den 3-MST ile H_2S oluşmaktadır (Dunn ve diğerleri,

2016). 3-MST'nin kofaktörü çinkodur, CAT'ın kofaktörü ise P5P'dir (Jimenez ve diğerleri, 2017). 3-MST memeli dokularda yaygın olarak bulunmaktadır (Cirino, Szabo ve Papapetropoulos, 2023). Adrenal kortekste yüksek aktivite gösterirken eritrositlerde de bulunduğu bildirilmiştir (Taniguchi ve Kimura, 1974; Vitvitsky ve diğerleri, 2015).

Hidrojen sülfür'ün katabolizmasında rol oynayan mekanizmalar; ekspirasyon, oksidasyon, metilasyondur. H_2S esas olarak mitokondride gerçekleşen oksidasyon reaksiyonlarıyla eliminasyona uğramaktadır (Beauchamp ve diğerleri, 1984; Zaorska ve diğerleri, 2020). Bir diğer katabolizma reaksiyonu metilasyondur. Oksidasyondan farklı olarak metilasyon sitoplazmada gerçekleşmekte, son ürün olarak metanetol (CH_3SH) oluşmaktadır (Wang, 2012). H_2S 'nin bir kısmı ekspirasyonla vücuttan atılırken, bir kısmı sülfhemoglobini oluşturmak üzere methemoglobinle reaksiyona girerek kandan uzaklaştırılmaktadır (Kolluru ve diğerleri, 2013; Wang, 2012).

2.3.3. Hidrojen Sülfür'ün organ sistemleri üzerindeki etkisi

Hidrojen sülfür, SSS'de anlamlı miktarda sentez edilmektedir ve nörotransmisyon ile nöromodülasyonda önemli etkileri olan bir sinyal molekülüdür (Wang, 2012). H_2S sentez enzimi CBS'nin, memeli beyin dokusunda hipokampus ve serebellumda, özellikle astrosit ve mikroglialarda eksprese edildiği bildirilmiştir (Enokido ve diğerleri, 2005; Hu ve diğerleri, 2007; Kimura, 2002; Kimura, 2010). H_2S 'nin, beyinde önemli bir nörotransmitter olan glutamatın santral etkilerine aracılık eden N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri üzerindeki direkt etkisi bilinmemekle birlikte, NMDA reseptör aracılı yanıtları seçici artırarak sıçan hipokampus dokusunda sinaptik plastisitenin en sık formu olan uzun dönem güçlendirilmiş potansiyelin indüksiyonunu (long term potentiation-LTP) kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Abe ve Kimura, 1996; Kimura, 2000; Kimura, 2002; Kimura, 2010; Lynch, 2004). Öte yandan H_2S , yüksek konsantrasyonlarda hipokampal sinaptik geçişi inhibe ederek hafıza ve öğrenme fonksiyonlarında azalmaya yol açabilmektedir (Abe ve Kimura, 1996; Wang, 2012). H_2S , protein kinaz A (PKA) aktivitesini artırarak adenilat siklazi (AC) aktive ederek siklik adenosin mono fosfat (cAMP) üretimini artırmaktadır. Bu durum, NMDA reseptörlerinin fosforilasyonu sonucu NMDA reseptör aktivasyonuna ve buna bağlı olarak postsinaptik uyarıcı yanıtlar oluşmasını sağlamaktadır (Abe ve Kimura, 1996; Kimura, 2000). Mevcut veriler H_2S 'nin, NMDA reseptörlerinin aşırı aktivasyonunda rol oynayarak nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde etkili olabileceğini desteklemektedir

(Kimura, 2000). Ayrıca nöronlarda, mikrogliallar ile astrositlerde hücre içi Ca^{+2} ve pH homeostazının düzenlenmesine katkı sağlamaktadır (Lee ve diğerleri, 2006; Lu ve diğerleri, 2010). Literatürdeki çalışmalar H_2S 'nin, Alzheimer hastalığı (AD), Parkinson hastalığı (PD), travmatik beyin hasarı ve iskemik inme gibi SSS hastalıklarında antioksidan, anti-inflamatuar ve antiapoptotik etkileri ile potansiyel terapötik rol oynayabileceğini desteklemektedir (Zhang ve Bian, 2014).

Endojen H_2S 'nin KVS'de, damar düz kas tonusu, inotropik/kronotropik etkiler, hücre proliferasyonu ve anjiyogeneze olan etkileri bilinmektedir (Nagpure ve Bian, 2016; Wang, 2012; Wu, Hu ve Zhu, 2018). Kalp yetmezliğinde, H_2S 'nin farklı sinyal yollarına olan etkisi ile reaktif oksijen radikallerinin (ROS) oluşumunu, iskemi reperfüzyon (IR) hasarını ve renin salıverilmesini azaltarak kalp dokusunda koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (Kondo ve diğerleri, 2013; Liu ve diğerleri, 2014; Nicholson ve diğerleri, 2013; Wu ve diğerleri, 2015). Çalışmalar, H_2S 'nin farklı damar düz kaslarında gevşetici etkisi olduğunu göstermektedir (Wang, 2012). Spontan hipertansif sıçan aortasında CSE mRNA ve H_2S seviyelerinin düşük olduğu saptanmış ve H_2S /CSE'nin kan basıncının düzenlenmesinde endojen bir faktör olabileceği bildirilmiştir (Yan, Du ve Tang, 2004). CSE geni silinmiş olan farelerde, yaşa bağlı hipertansiyon gelişimi, H_2S 'nin damar gevşemesine ve kan basıncı regülasyonuna katkı sağladığını desteklemektedir (Yang ve diğerleri, 2008). Sıçan torasik aortasında, H_2S 'nin *in vitro* gevşetici etki gösterdiği ve bu etkinin K_{ATP} kanalları aracılığı ile gerçekleştiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada, intravenöz H_2S uygulamasının ortalama kan basıncını geçici olarak azalttığı saptanmıştır (Zhao ve diğerleri, 2001). Sıçan torasik aorta düz kasında, L-sistein'in konsantrasyona bağımlı olarak gevşetici etki gösterdiği, NaHS'nin cGMP seviyelerini arttırdığı, PAG ile CSE inhibisyonunun ise NO donörü ile oluşan cGMP seviyelerindeki artışı azalttığı saptanmıştır (Bucci ve diğerleri, 2010). H_2S 'nin mitokondri fonksiyonlarını koruyarak kalbi IR hasarından da koruduğu bildirilmiştir (Elrod ve diğerleri, 2007). ApoE geni silinmiş, yüksek kan lipid değerlerine sahip ateroskleroz gelişen farelerde, H_2S seviyesinin azaldığı, CSE ekspresyonunun ise arttığı tespit edilmiştir. NaHS uygulanan farelerin aort kökünde oluşan ateroskleroz plak kalınlığının azaldığı, H_2S sentez inhibitörleri ile arttığı gözlemlenmiştir (Wang ve diğerleri, 2009).

Hidrojen sülfürün, glutatyon üretimini artırarak ve glutatyonun mitokondriyal translokasyonunu kolaylaştırarak hücreleri oksidatif hasardan koruduğu tespit edilmiştir (Kimura ve Kimura, 2004; Kimura, Goto ve Kimura, 2010). Endojen H_2S seviyesi, H_2S 'nin

inflatuar ya da anti-inflatuar etkisini belirleyen temel faktördür. Arka pençe ödemi oluşturulan sıçanlarda, H_2S donörleri ile damar endoteline lökosit infiltrasyonu ve yapışması ve ödem oluşumunun baskılandığı, bu etkinin K^+ kanal aracılı gerçekleştiği saptanmıştır (Zanardo ve diğerleri, 2006). Septik ve endotoksik şokta CBS, CSE ve H_2S seviyelerinin arttığı, PAG varlığında ise bu moleküllerin düzeylerinin azaldığı ve sağkalımın arttığı tespit edilmiştir (Hui ve diğerleri, 2003; Li ve diğerleri, 2005; Zhang ve diğerleri, 2006). Sepsis modeli oluşturulan farelerde PAG varlığında proinflatuar sitokinlerin ve kemokinlerin azalırken, eksojen H_2S uygulaması ile arttığı ve ERK kinaz yolağı ile H_2S 'nin ilişkili olduğu saptanmıştır (Zhang, Moochhala ve Bhatia, 2008).

Genitoüriner sistemde, farklı memeli türlerinde mesane düz kas tabakasında H_2S sentez enzimlerinin varlığı immün histokimyasal olarak tespit edilmiştir (Fernandes ve diğerleri, 2013; Gai ve diğerleri, 2013; Matsunami ve diğerleri, 2012). H_2S 'nin insan ve sıçan mesane düz kasında gevşetici etki gösterdiği ve bu etkinin K_{ATP} kanal inhibitörü glibenklamid ile inhibe olduğu saptanmıştır (Gai ve diğerleri, 2013). H_2S 'nin erektil fonksiyona potansiyel etkisi, primatlarda intrakavernöz uygulanan NaHS enjeksiyonunun kavernoöz basıncı arttırması ile saptanmıştır. Aynı çalışmada, sıçanlara intravenöz olarak uygulanan PAG'ın elektriksel alan uyarısı (EAU) ile oluşan kavernoöz basınç artışını azalttığı saptanmış ve endojen H_2S 'nin nöronal penil ereksiyonu kolaylaştırmada bir rolü olabileceği bildirilmiştir (Srilatha, Adaikan ve Moore, 2006). NaHS, izole insan korpus kavernozum dokusunda fenilefrin kasılma yanıtlarını konsantrasyona bağımlı olarak inhibe ettiği saptanmıştır. Aynı çalışmada PAG veya AOAA varlığında, EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine L-sistein'in gevşetici etkisinin azaldığı bildirilmiştir. Bu bulgular H_2S 'nin insan korpus kavernozum düz kas gevşemesinde H_2S 'nin rol oynadığını desteklemektedir (d'Emmanuele di Villa Bianca ve diğerleri, 2009).

Sıçan gebe veya gebe olmayan uterus dokusunda CBS ve CSE'nin varlığı gösterilmiş, H_2S 'nin düzenleyici rol oynadığı saptanmıştır (Cirino, Szabo ve Papapetropoulos, 2023). H_2S 'nin uterus düz kasında hipoksiye bağlı oluşan kasılma yanıtları üzerinde iyileştirici etkisi olduğu saptanmıştır (Zetler, 1951). L-sistein'in, doğum yapmayan ve doğum yapan insan miyometriyum dokusunda spontan kasılmaların genliğinde konsantrasyona bağımlı olarak azalmaya neden olduğu ve bu azalmanın K_{ATP} kanallarının modülasyonu ile gerçekleştiği bildirilmiştir (Raoof, Ojani ve Beitollahi, 2007).

2.3.4. Hidrojen Sülfür'ün gastrointestinal sistem etkileri

Hidrojen sülfür, GİS'te pro/anti-inflamatuar, sekretuar, barsak motilitesi, oksidatif stres, nöromodülasyon, vasküler tonus, inflamatuvar barsak hastalıkları, malignite gibi pek çok fizyopatolojik süreçte rol oynamaktadır (Wang, 2012). Memelilerde GİS'te farklı tip hücrelerde CSE, CBS ve 3-MST'ye ait mRNA'lar saptanmıştır (Cirino, Szabo ve Papapetropoulos, 2023). Sıçan, fare ve sağlıklı insan kolonunda CSE ve CBS bulunduğu tespit edilmiştir (Martin ve diğerleri, 2010). Kobay ve insan kolon ESS hücrelerinde CSE ve CBS'nin ekspresyonu ve H₂S'nin kolonda sekretuar rol oynadığı bildirilmiştir (Schicho ve diğerleri, 2006).

Endojen H₂S donörlerinin, deneysel olarak oluşturulan IR modellerinde, mide mukozasındaki akut hasarın azaldığı ve inflamatuvar belirteçlerinin düzeylerinin düştüğü, ayrıca barsak mukozasında mitokondri disfonksiyonunun sınırlandığı bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 2012; Mard ve diğerleri, 2012).

Sıçan gastrik mukozasında CSE ve CBS'nin eksprese olduğu ve CSE'nin daha baskın olan enzim olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada, H₂S'nin mukoza kan akışını düzenleyerek, aspirin kullanımına bağlı olarak azalan mukoza kan akımını iyileştirdiği ve gastrik mukozal bütünlüğü sağladığı, ayrıca lökositlerin adezyonunu azalttığı bildirilmiştir. Bu etkilerin K_{ATP} kanal aktivasyonu aracılığıyla gerçekleştiği tespit edilmiştir (Fiorucci ve diğerleri, 2005).

Endojen H₂S'nin bir diğer önemli fonksiyonu GİS motilitesinin düzenlenmesidir. Literatürdeki pek çok çalışma, H₂S'nin GİS motilitesini azaltıcı etkisine dikkat çekmektedir. Örneğin, domuz mide düz kasında NaHS'nin düşük konsantrasyonda çift yönlü bir etki gösterdiği, tonik kasılmaları indüklerken spontan kasılmaların amplitüdünü önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır (Zhao ve diğerleri, 2009). Tavşan alt özofagus sfinkter düz kasında, H₂S'nin EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını azaltarak motiliteyi azalttığı, bu etkinin sinir terminallerindeki nörotransmisyon aracılığıyla olabileceği bildirilmiştir (Kara ve diğerleri, 2016).

İnsan ve sıçan mide fundus myenterik plexus nöronlarında ve mide düz kas hücrelerinde CSE ve CBS'nin eksprese edildiği, H₂S'nin mide düz kas dokusunda spontan kasılmaları inhibe ettiği ve EAU aracılı nörojenik gevşeme yanıtlarını arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca,

AOAA ile mide düz kas dokusundaki EAU aracılı nörojenik gevşeme yanıtının azaldığı saptanmıştır (Xiao ve diğerleri, 2015). Fizyolojik konsantrasyonlarda H_2S 'nin sıçanlarda mide ve jejunum düz kas dokusunda spontan kasılmaları, kasılma frekansını ve amplitüdünü azaltarak inhibe ettiği gösterilmiştir (Shafigullin ve diğerleri, 2014). NaHS'nin domuz ileum sirküler düz kas dokusunda, asetilkolin aracılı kasılma yanıtlarını azalttığı bildirilmiştir (Hosoki, Matsuki ve Kimura, 1997).

Hidrojen Sülfür'ün kolon motilitesine etkisi

Kolon motilitesi, temel olarak ESS tarafından düzenlenmektedir. GİS nöromusküler tabakasında bulunan nöronlar ve efektör düz kas hücreleri, motilitenin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Linden, 2014). Kolon bakterileri tarafından üretilen az miktarda H_2S lümeninden subepitelyal alana geçebilmektedir (Wallace, Ferraz ve Muscara, 2012). Hüresel düzeyde metabolizmada etki gösteren H_2S , büyük oranda endojen sentez edilmektedir. H_2S 'nin kolonda bulunan epitel hücrelerde, enterik nöronlarda ve düz kas hücrelerinde endojen sentezlendiğini bildiren çok sayıda çalışma mevcuttur (Gil, Gallego ve Jimenez, 2011; Hennig ve Diener, 2009; Linden ve diğerleri, 2008; Liu ve diğerleri, 2013; Martin ve diğerleri, 2010; Schicho ve diğerleri, 2006). Literatürde sunulan çalışmalar, H_2S 'nin kolonda motilite, sekresyon ve inflamasyon gibi süreçlerde rol oynadığını ortaya koymaktadır (Schicho ve diğerleri, 2006; Wang, 2012).

Sıçan kolonunda yapılan bir çalışmada H_2S 'nin, düşük frekanslı kasılma yanıtlarını azalttığı, yüksek frekanslı kasılma yanıtları üzerine etkisi olmadığı saptanmıştır (Gil, 2013). Sıçan kolon düz kasında yapılan bir başka çalışmada, CSE ve CBS inhibitörlerinin H_2S sentezini azaltarak düz kas hücrelerinde depolarizasyona ve kasılma sıklığında artışa yol açtığı bildirilmiştir (Gil, Gallego ve Jimenez, 2011).

İnsan kolonunda yapılan bir çalışmada, NaHS'nin konsantrasyona bağlı olarak, nitrerjik ve pürinerjik olmayan ortamda EAU aracılı kasılma yanıtlarını anlamlı şekilde azalttığı saptanmıştır. Aynı çalışmada, PAG ve AOAA'nın düz kas dokusunda membran depolarizasyonunu ve spontan kasılmaların tonusunu geçici olarak arttırdığı bildirilmiştir (Martinez-Cutillas ve diğerleri, 2015). Üç farklı memeli türünde (fare, sıçan, insan) yapılan bir çalışmada, NaHS'nin GİS motilitesi üzerindeki etkileri araştırılmış ve NaHS'nin jejunum ve kolon düz kas dokusunda spontan kasılmaları inhibe ettiği saptanmıştır (Gallego ve

diğerleri, 2008). Kronik stres modeli oluşturulmuş sıçanlarda, kolon motilitesinin arttığı ve defekasyon sıklığındaki artış ile birlikte, CSE ve CBS ekspresyonunun *down* regüle olduğu, H₂S düzeyinin azaldığı saptanmıştır. Aynı çalışmada, NaHS'nin konsantrasyona bağlı olarak, longitudinal ve sirküler kas dokularında spontan kasılmaları azalttığı saptanmıştır (Liu ve diğerleri, 2013). Bir diğer çalışmada, sıçan kolon düz kas dokusunda, NaHS'nin konsantrasyona bağlı olarak spontan kasılmaları inhibe ettiği, NaHS'nin inhibe edici etkisinin doğrudan düz kas üzerindeki etkilerle gerçekleştiği bildirilmiştir (Quan ve diğerleri, 2015). Ayrıca, irritabl barsak sendromunu taklit eden bir model olan kolorektal distansiyon oluşturulan sıçanlarda, abdominal geri çekme refleksi ile değerlendirildiğinde NaHS'nin kolonda nosisepsiyonu azaltarak anti-nosiseptif etki gösterdiği tespit edilmiştir (Distrutti ve diğerleri, 2006).

2.5. Nitrik Oksit (NO)

NO, 18.yüzyılda Joseph Priestly tarafından renksiz bir gaz olarak keşfedildikten uzun yıllar sonra, 1980'lerde endotel kaynaklı önemli gevşetici bir faktör olarak saptanmıştır (Furchgott ve Zawadzki, 1980; Idrizaj ve diğerleri, 2021). Hücre içi ve hücreler arası birçok fizyolojik ve patolojik olayda sinyal molekülü olarak önemli rol oynamaktadır (Idrizaj ve diğerleri, 2021; Lei ve diğerleri, 2013).

Nitrik oksit, nitrik oksit sentazların (NOS) katalizlediği bir reaksiyonla, NADPH ve O₂ varlığında L-arginin amino asidinden sentezlenir ve bu reaksiyon yan ürünü olarak L-sitrülin oluşur (Nowaczyk ve diğerleri, 2021). nNOS başlıca kardiyak miyositlerin sarkoplazmik retikulumunda, otonom nöronlarda, gangliyonlarda ve vasküler düz kas hücrelerinde; eNOS endotel hücreleri, kardiyak miyositlerde ve trombositlerde; iNOS ise lökositler, endotel hücreleri, damar düz kas hücreleri, kardiyak miyositler, sinir hücreleri ve fibroblastlar gibi birçok hücre tipinde bulunmaktadır (Balligand ve diğerleri, 1994; Balligand ve diğerleri, 1995; Schwarz, Kleinert ve Forstermann, 1999; Wallerath, Gath ve diğerleri, 1997; Wilcox, ve diğerleri, 1997, Xu ve diğerleri, 1999). Artan hücre içi Ca⁺² seviyeleri eNOS ve nNOS aracılı NO oluşumunu artırırken, iNOS aracılı NO oluşumu Ca⁺² bağımsız olarak gerçekleşmektedir (Mungrue ve diğerleri, 2003). NO'nun yarı ömrü oldukça kısadır ve membranları reseptörden bağımsız olarak kolaylıkla geçebilme özelliğine sahiptir. Eşleşmemiş elektronu olan NO, aynı zamanda radikal bir molekül olarak metaller için önemli bir ligand görevi görmektedir. Hemoglobin ve süperoksit anyonlarıyla reaksiyona

girerek hızla metabolize olur ve metabolizması sonucunda nitrit ve nitratlar oluşmaktadır (Lowenstein, Dinerman ve Snyder, 1994; Lundberg, Weitzberg ve Gladwin, 2008). Yüksek konsantrasyonlardaki sitotoksik etkisi nedeniyle septik şok, kardiyak disfonksiyon, ağrı, diyabet ve kanser gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde rol oynamaktadır (Nowaczyk ve diğerleri, 2021). NO, çözünür guanilat siklaz (sGC) yapısında bulunan heme molekülü ile etkileşime girerek enzimi aktifleştirir ve bunu sonucunda siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşur. NO'ya yanıt olarak cGMP'deki artış, cGMP'ye bağımlı protein kinazlar ve iyon kanalları dahil olmak üzere çeşitli reseptörleri etkilemektedir (Francis, Busch ve Corbin, 2010; Lei ve diğerleri, 2013).

Nitrik oksit, GİS gevşemesinde rol oynayan, enterik inhibitör nöronlardan salıverilen, adrenerjik ve kolinerjik olmayan (non-adrenerjik ve non kolinerjik/NANK) sistemdeki önemli bir nörotransmitterdir (Sanders ve Ward, 2019). İkinci sinyal molekülü protein kinaz G (PKG) NO'nun GİS motilitesi üzerindeki etkilerine aracılık eden önemli bir mekanizmadır ve proteinlerin fosforilasyonunu sağlar (Pfeifer ve diğerleri, 1998). sGC geni silinmiş farelerde yapılan bir çalışmada, ince barsakta nitreerjik sinyal yollarının etkileri araştırılmış ve NO/cGMP/PKG yolağının GİS düz kas tonusunun belirlenmesinde temel sinyal yolağı olduğu tespit edilmiştir (Dhaese ve diğerleri, 2009). Fare duodenumunda yapılan EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine NO'nun gevşetici etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada, birbirinden bağımsız olarak sGC ve kalsiyum bağımlı K^+ kanalları aracılığıyla gerçekleştiği bildirilmiştir (Serio, Zizzo ve Mule, 2003).

Nitrik oksit, GİS'te fizyolojik işlevlerin sürdürülmesi için kritik öneme sahiptir. Sağlıklı gönüllülerde, intravenöz uygulanan L-NAME'in duodenum ve jejunumda yapılan manometrik ölçümlerde, ince barsağın maksimum yavaş dalga frekansındaki patlama şeklindeki erken faz 3 aktivitesine yol açarak barsak hareketliliğini arttırdığı ve NO'nun motilitedeki rolünü desteklediği saptanmıştır (Russo ve diğerleri, 1999). Sıçanlarda intraperitoneal olarak uygulanan L-NAME'in proksimal kolon düz kas kasılmalarını anlamlı şekilde arttırdığı bildirilmiştir (Li ve diğerleri, 2002). Malignite nedeni ile kolon rezeksiyonu yapılan hastaların sağlıklı kolon düz kas dokusunda glukagon ilişkili peptid1'in NO'nun nöronal salınımını baskılayarak kolon motilitesinde inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır (Amato ve diğerleri, 2014). Ayrıca nöronal NO'nun, sıçan kolon düz kasında hiperpolarizasyon oluşturarak spontan motiliteyi inhibe ettiği bildirilmiştir (Gil ve diğerleri, 2010).

2.6. Hidrojen Sülfür ve Nitrik Oksit Etkileşimi

NO ve H₂S, endojen olarak sentezlenen, organizmada pek çok fizyolojik süreçte rol oynayan, gaz yapısındaki sinyal molekülleridir. Spesifik membran reseptörlerine ihtiyaç duymadan hücre membranlarından serbest difüzyonla geçebilmektedir (Nagpure ve Bian, 2016). Her iki molekül, birbirlerinin sentezini de içeren birçok sinyal yolağında etkileşime girmektedir (Wu, Hu ve Zhu, 2018). Sıçan damar düz kas hücrelerinin NO donörü ile inkübasyonu sonucu, CSE transkripsiyonunda ve endojen H₂S üretiminde artış saptanmıştır (Zhao ve diğerleri, 2001). Öte yandan, lipopolisakkarit uygulanan sıçanlarda karaciğer ve böbrek dokusunda CSE mRNA seviyelerinde artışı olduğu, NO donörü ile konsantrasyona bağlı olarak bu artışın inhibe olduğu tespit edilmiştir (Anuar ve diğerleri, 2006).

H₂S, okside NO formlarını indirgemekte ve bu reaksiyon sonucu ara ürün olarak tiyonitroz asit (HSNO) oluşmaktadır. HSNO, redoks sensörü olma ve metabolik aktivitelerin düzenlenmesi gibi özelliklere sahiptir. Ayrıca, HSNO ve H₂S'nin reaksiyon sonucu oluşan nitroksil (HNO), kardiyovasküler etkiler göstererek miyositlerin kasılmasını ve damar düz kas tonusunun düzenlenmesini sağlamaktadır (Tocchetti ve diğerleri, 2011; Wang, 2012; Wu, Hu ve Zhu 2018; Yong ve diğerleri, 2010).

Nitrik oksit ve H₂S'nin, KVS'deki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, eNOS'un inhibisyonunun H₂S'nin damar düz kas gevşetici etkisini ve hücre proliferasyonunu yani anjiyogenezi uyarıcı etkisini azalttığı saptanmıştır. Aynı çalışmada, CSE geni silinmiş sıçanlarda, NO ile uyarılan cGMP düzeylerinin, anjiyogenezin ve asetilkolin ile indüklenen damar düz kas gevşemesinin azaldığı tespit edilmiştir (Coletta ve diğerleri, 2012).

Çeşitli çalışmalar L-NAME'in, H₂S'nin kalp dokusundaki koruyucu etkisini anlamlı düzeyde azalttığını, NaHS'nin NO seviyelerini (miyokard ve serumda) artırarak izoproterenol ile oluşturulan kardiyotoksiteyi azalttığını ve H₂S'nin eNOS yolağını aktive ederek iskemik hasarda koruyucu etki gösterdiği ortaya koymaktadır (Pan ve diğerleri, 2006; Sojitra ve diğerleri, 2012; Yong ve diğerleri, 2008). Domuz torasik aortasında, sodyum nitroprussid (SNP) varlığında NaHS'nin güçlü bir gevşeme yanıtı oluşturduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada, H₂S'nin, düşük konsantrasyonlarda sıçan torasik aorta düz kasında NO'nun düz kas gevşetici etkisini arttırdığı, her iki molekülün sinerjik etki gösterdiği saptanmıştır (Hosoki, Matsuki ve Kimura, 1997). Tavşan aort düz kasında ise L-

sistein ve L-homosistein'in, NO aracılı damar düz kas gevşemesini ve cGMP seviyesindeki artışı inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu bulguları H₂S'nin, NO'nun damar düz kasındaki etkisi üzerinde inhibitör etkisi olduğunu desteklemektedir (Li, Liu ve Furchgott, 1997).

Sıçan korpus kavernozumunda yapılan bir çalışmada, H₂S'nin fizyolojik olarak eNOS ekspresyonunu indükleyerek NO sentezini arttırdığının saptanması, H₂S'nin NO'nun etkisini arttırarak ereksiyon fizyolojisinde önemli rol oynadığını göstermektedir (Meng, Ganesan Adaikan ve Srilatha, 2013).

Kolorektal distansiyon ile oluşturulan ağrı modelinin kullanıldığı bir çalışmada, H₂S donörlerinin K_{ATP} kanalları ve NO aracılı anti-nosiseptif etkileri olduğu ve H₂S'nin gevşetici etkisinin NOS inhibisyonu ile geri döndüğü saptanmıştır (Distrutti ve diğerleri, 2006). Sıçan kolon düz kasında PAG'ın düz kas depolarizasyonu ile spontan mekanik yanıtları arttırdığı ve L-NAME varlığında artan yanıtların devam ettiği saptanmıştır (Gil, Gallego ve Jimenez, 2011). Domuz ileum düz kasında ise EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine NaHS ve sodyum nitroprussitin (SNP) sinerjik inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir (Teague, Asiedu ve Moore, 2002).

2.7. Potasyum Kanalları

İyon kanalları, hücre zarı veya hücre içi organelin zarlarında bulunan, seçici transmembran geçiş gibi özel bir işlevlere sahip makromoleküler protein yapılarıdır (Hille, 1986). K⁺ kanalları, en fazla alt tipe ve en büyük çeşitliliğe sahip iyon kanalı ailesidir. Nörotransmitter ve hormonların salıverilmesi, düz kas hücrelerinin kasılması, su ve elektrolit dengesinin sağlanması, en önemlisi hücrede aksiyon potansiyelin oluşması ve hücre membran potansiyelinin stabilizasyonunda rol oynamaktadır (Alexander ve diğerleri, 2013; Curro, 2016; Jenkinson, 2006).

Potasyum kanalları seçici oldukları iyon türleri, geçiş mekanizmaları (aktivasyon veya modülasyon) ve moleküler yapılarına göre; voltaj/ligand kapılı (K_V), Ca⁺²-bağımlı (K_{Ca}), içe doğrultulu (K_{ir}) ve iki gözenekli (K_{2P}) olarak sınıflandırılmaktadır. K_V kanalları membran depolarizasyonu ile aktive olurken, K_{Ca} kanalları hücre içi Ca⁺² artışına bağlı olarak aktive olmaktadır. K_{ATP} kanalları (K_{ir6}), K_{ir} kanal grubunun önemli bir üyesidir ve hücre içi ATP konsantrasyonundaki azalmaya yanıt olarak açılmaktadır. Kalp, endokrin bezler, SSS'de

bulunan K_{ir} kanalları G protein aracılığıyla aktive olmaktadır. K_{2P} kanalları sıcaklık, pH, mekanik stres gibi uyaranlardaki değişikliklere yanıt vermektedir. Kanalların etkinliği ketokanazol (BK_{Ca}), kromakalim (K_{ATP}) staurosporin (K_V) gibi K^+ kanal açıcıları veya glibenklamid (K_{ATP}), 4-AP (K_V), iberiotoksin (BK_{Ca}) gibi farmakolojik ajanlar ile değişmektedir (Alexander ve diğerleri, 2013; Curro, 2016).

K_V kanallarından, I_{KV} -hızlı (A-tipi akımlar) ve I_{KV} -yavaş (gecikmeli doğrultucu kanallar) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. GİS'te bulunan A-tipi akımlar 4-AP'ye oldukça duyarlı iken, TEA'ya karşı direnç göstermektedir (Curro, 2016). K_V kanalları, dinlenim membran potansiyelinin, aksiyon potansiyelinin ve repolarizasyon fazına aracılık ederek hücrelerin uyarılabilirliğinin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Curro, 2016). İnsanda özofagus, domuzda kolon, farede mide antrum ve kolon ve sıçanda ileum düz kasında K_V kanalları bulunduğu saptanmıştır (Amberg ve diğerleri, 2002a; Amberg ve diğerleri, 2002b; Smirnov, Zholos ve Shuba, 1992; Vogalis ve Lang, 1994; Wade, Laurier ve diğerleri, 1999).

K_{ATP} kanalları ilk olarak kardiyak miyositlerde tespit edilmiş olup, farklı türlerdeki GİS dokularında (safra kesesi, mide, özofagus, kolon), mesane, üretra gibi çeşitli düz kas dokularında da bulunduğu bildirilmiştir (Foster ve diğerleri, 1989; Hatakeyama ve diğerleri, 1995; Ito ve diğerleri, 1992; Koh ve diğerleri, 1998; Noma, 1983; Sim ve diğerleri, 2002; Yunoki, Teramoto ve Ito, 2003; Zhang ve diğerleri, 1994). Koh ve arkadaşları, murin kolon düz kas dokusunda K_{ATP} kanallarının varlığını tespit etmişler ve bu kanalların membran dinlenim potansiyeli oluşumu ile hücrelerin uyarılabilirliğine katkısı olduğunu, ayrıca membran potansiyelinin ve uyarılabilirliğinin düzenlenmesinde rol oynadığını bildirmişlerdir (Koh ve diğerleri, 1998).

K_{Ca} kanalları, nörotransmitter salıverilmesi ve düz kas kasılması gibi fonksiyonlarda hücrelerin uyarılabilirliğinde önemli rol oynamaktadır (Curro, 2016). Yüksek iletkenli (BK_{Ca}) kanallar, orta iletkenli (IK_{Ca}) kanallar, küçük iletkenli (SK_{Ca}) kanallar olarak sınıflandırılmaktadır. İnsan kolon dokusunda, SK ve IK'larının esas olarak enterik nöronlarda eksprese edildiği bildirilmiştir (Chen ve diğerleri, 2004). Kanin kolon düz kas dokusunda, BK_{Ca} kanallarının kolon motilitesinde önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir (Carl ve diğerleri, 1995). BK_{Ca} kanal inhibitörlerinin, domuz mide antrum sirküler düz kası ve domuz ileum longitudinal düz kasında depolarizasyonu indüklediği, sinir uyarısı ilişkili

membran hiperpolarizasyonunu inhibe ettiği ve spontan aktiviteyi arttırdığı bildirilmiştir (Hong, Roan ve Chang, 1997; Suzuki ve diğerleri, 1993).

2.8. Potasyum Kanallarının Hidrojen Sülfür'ün Etki Mekanizmalarındaki Rolü

Hidrojen sülfür, fizyolojik etkilerini membranda bulunan iyon kanalların modülasyonu aracılığıyla membran potansiyelini ve membranın uyarılabilirliğini etkileyerek gerçekleştirmektedir (Cirino, Szabo ve Papapetropoulos, 2023). KVS'de, NaHS'nin damar düz kas gevşemesini K_{ATP} kanal modülasyonu aracılığıyla gerçekleştirdiğini destekleyici çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda, K_{ATP} kanal inhibitörü glibenklamid ile gevşeme yanıtlarında inhibisyon saptanmıştır (Cheng ve diğerleri, 2004). Kalp düz kasındaki K_{ATP} kanallarının açılması, I/R hasarında geri dönüşümsüz olan miyokard hasarına karşı koruyucu olan iskemik ön koşullanmanın önemli bir mekanizmasını oluşturmaktadır (Gross ve Fryer, 1999).

Hidrojen sülfür'ün domuz mide fundus düz kas motilitesi üzerine çift yönlü etkisi olduğu saptanmıştır. NaHS'nin düşük konsantrasyonunda IKv kanallarının inhibisyonu ve membran depolarizasyonu sonucu kasılma yanıtı gözlemlenirken, NaHS'nin yüksek konsantrasyonunda ise K_{ATP} kanal aktivasyonu ve membran hiperpolarizasyonu sonucu inhibisyon yanıtı olduğu saptanmıştır (Zhao ve diğerleri, 2009). Sıçan jejunum sirküler düz kas preparatlarında, NaHS'nin kasılma yanıtlarını inhibe ettiği tespit edilmiştir. Glibenklamid varlığında NaHS'nin inhibisyon yanıtı ortadan kalkarken, bazal spontan kasılma yanıtlarının değişmediği saptanmıştır (Nagao ve diğerleri, 2012). Fare ve insan kolon düz kas dokusunda, NaHS ile spontan motor komplekslerde oluşan inhibisyonun büyük ölçüde apamine duyarlı kalsiyumla aktive olan K^+ kanalları ve glibenklamide duyarlı K_{ATP} kanalları aracılığı ile gerçekleştiği bildirilmiştir (Gallego ve diğerleri, 2008). Farelerde yapılan bir çalışmada ise, H_2S 'nin K_{ATP} ve geçici reseptör potansiyeli V1 (TRPV1) kanalları aracılığıyla gastrik boşalmayı arttırdığı tespit edilmiştir (Medeiros ve diğerleri, 2012).

Kolonda H_2S 'in gevşetici etkisinin K^+ kanalları aracılığıyla gerçekleştiğini bildiren çok sayıda çalışma mevcuttur (Distrutti ve diğerleri, 2006; Gallego ve diğerleri, 2008; Liu ve diğerleri, 2013; Nagao ve diğerleri, 2012; Zhao ve diğerleri, 2009). İnsan ve sıçan kolonunda düz kas gevşemesinde K_{ATP} ve SK_{Ca} , rol oynayabileceği bildirilmiştir (Gallego ve diğerleri, 2008). Sıçan kolonunda, NaHS'nin distansiyona bağlı gelişen ağrıyı inhibe ettiği, bu etkinin

glibenklamid ile geri döndürüldüğü saptanmış; ayrıca glibenklamidin NaHS ile oluşan spontan kasılma üzerindeki azaltıcı etkisini inhibe ettiği saptanmıştır (Distrutti ve diğerleri, 2006). Farelerde prostaglandin F2 alfa ($\text{PGF}_{2\alpha}$) ile kasılan kolon düz kasında, NaHS'nin konsantrasyona bağlı olarak gevşeme yanıtı oluşturduğu ve bu gevşeme yanıtına K_{ATP} kanallarının katkısı olmadığı bildirilmiştir (Dhaese, 2010).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi tarafından desteklenen TDK-2022-8225 proje kodlu doktora tez çalışması Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan G.Ü.ET-22.082 onay alınarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Deney Hayvanları ve İzole Distal Kolon Preparatlarının Hazırlanması

Çalışmada 250-300 g ağırlığındaki 36 adet erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar standart laboratuvar koşullarında [$20\pm 2^{\circ}\text{C}$, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık] tutularak ve su içmeleri serbest, standart laboratuvar hayvan yemi ile beslenmiştir. Sıçanlar ketamin/ksilazin (45 mg/kg-5 mg/kg, i.m.) ile anesteziye edildikten sonra karın orta hat bölgesinden açılarak distal kolon kesilerek çıkarılmıştır. Çalışmanın yapıldığı distal kolon segmenti, anorektal bölgeden 2cm ölçüm yapılarak hep aynı bölge olacak şekilde çıkarılmıştır. Dışarı alınan dokular 37°C 'ye ısıtılmış %5 CO_2 , %95 O_2 karışımı ile havalandırılan Krebs solüsyonu bulunan petrilere konulup, petrilerde epidermal doku bağ dokusu dokudan uzaklaştırılmıştır. Üzerindeki mukoza tabakası uzaklaştırılan 2×10 mm boyutunda sirküler şeritler halinde kesilerek hazırlanmıştır. Her bir kolon dokusundan 4 doku elde edildi ve her bir şeritte ayrı maddelerin etkisi değerlendirilmiştir. Krebs solüsyonu içeren 20 ml'lik organ banyosuna bir ucu organ askısına bir ucu da transdüserle bağlanarak yerleştirilmiş ve izometrik kasılmaları kaydedilmiştir. Elektriksel Alan Uyarısı (EAU) için dokular iki platin elektrod arasına vertikal olarak asılıp, (16 Hz, 60 volt ve 1 ms) stimulator ile değişen frekanslarda uyarı uygulanmıştır. Dokulara 1 g ön gerim uygulandı ve 15 dakika ara ile banyolar yıkanıp 1 saat dengelenmeye bırakılmıştır.

3.2. İzole Organ Banyosu Sistemi

Dokular bir ucu organ askısına, bir ucu izometrik kasılmaları kaydetmek için izometrik kuvvet transdüserine (MAY, FDT 10-A, COMMAT Ltd., Ankara, Türkiye) bağlı olacak şekilde Krebs solüsyonu içeren 20 ml'lik organ banyosuna yerleştirilmiştir. İzometrik düz

kas kasılma ve gevşemeleri transdüserler aracılığı ile (BIOPAC, MP35 System Inc, COMMAT Ltd., Ankara, Türkiye) kaydedilmiştir.

3.3. Deney Protokolü

Dokulara deneylerin başlangıcında 1 g ön gerim uygulanmış ve dokular yıkanarak bir saat dengelenmeye bırakılmıştır. Dinlenme ve dengelenme periyodundan sonra 80 mM potasyum klorür (KCl) ile şeritlerin canlılığı değerlendirilmiş ve kasılma güçleri test edilmiştir.

Dinlenme periyodunun ardından yapılan ön deneylerde EAU için uygun parametreler belirlenmiştir. EAU için dokular iki platin elektrod arasına vertikal olarak ve elektrodlara değmeyecek şekilde asılmıştır. EAU için STPT 03 Stimülatör (STPT 03, May Research Stimulator; COMMAT Communication Co., Ankara, Türkiye) kullanılmıştır. Bu çalışmada sıçan kolon şeritlerinin EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları 120 saniye (s) aralıkla 10 s. süre ile 60 Volt (V), 1 milisaniye (ms) ve 16 Hertz (Hz) frekansta alınmıştır.

Elektriksel alan uyarısı aracılı kasılma yanıtları, sempatik sinir sisteminin ve prostaglandinlerin etkisini ortadan kaldırmak için, sempatik sinir sonlanmalarından noradrenalin salıverilmesini inhibe eden guanetidin (10^{-6} M) ve siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5} M) varlığında alınmıştır. Guanetidin ve indometazin organ banyosuna EAU aracılı kasılma yanıtları elde edilmeden 20 dk. önce eklenmiştir.

Ayrı bir seri deneyde EAU aracılı NO-bağımsız kasılma yanıtları 20 dk. önce organ banyosuna guanetidin ve indometazin ile endojen nitrerjik sistemin etkisini ortadan kaldırmak için NOS inhibitörü L-NAME (10^{-4} M) de eklenerek çalışılmıştır.

Her dokudaki kontrol kasılma cevapları üzerinde sadece bir ilacın etkisi incelenmiştir. Her protokolün sonunda EAU sistemi devre dışı bırakılarak dokular stabilizasyon amacıyla 1 saat boyunca yıkanmıştır.

3.3.1. EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarının tanımlanması

Distal kolon şeritlerinde EAU kasılma yanıtları stabilize edildikten sonra, farklı dokulara farklı agonist ve antagonistler: Sempatik sinir sonlanmalarından noradrenalin salıverilmesini inhibe eden guanetidin 10^{-6} M; siklooksijenaz inhibitörü indometazin 10^{-5} M; muskarinik reseptör antagonisti atropin 10^{-6} M; nitrik oksit sentez inhibitörü L-NAME 10^{-4} M uygulanarak yanıtlar tanımlandı. Her bir dokuda sadece bir maddenin kontrol yanıtları üzerine olan etkisine bakılmıştır.

3.3.2. Presinaptik EAU aracılı NO-bağımlı ve NO-bağımsız kasılma yanıtları üzerine NaHS ve L-sistein'in etkisinin araştırılması

EAU aracılı NO-bağımlı kasılma yanıtları üzerine artan konsantrasyonlarda NaHS (10^{-6} – 3×10^{-3} M), L-sistein (10^{-5} – 3×10^{-3} M) ortama eklenmiş ve etkisi incelenmiştir. EAU ile indüklenen yanıtlar, uygulamayı takiben kaydedildi. Ardından, ilaçların yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Ayrı bir seri deneyde, L-NAME (10^{-4} M) varlığında, EAU aracılı NO-bağımsız kasılma yanıtları üzerine NaHS (10^{-6} – 3×10^{-3} M), L Sistein (10^{-5} – 3×10^{-3} M) ortama eklenmiş ve etkisi incelenmiştir. NaHS ve L-sistein'in etkileri NO-bağımlı ve NO-bağımsız gruplarda ayrı olarak değerlendirilmiştir.

Ayrıca, NO-bağımlı ve NO-bağımsız gruplarda, enzim inhibitörleri PAG (DL-propargilglisin-CSE enzim inhibitörü) (3×10^{-3} M) ve AOAA (Aminooksiasetik asit-CBS enzim inhibitörü) (3×10^{-3} M) varlığında, EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine L-sistein'in (10^{-5} – 3×10^{-3} M) etkisi değerlendirilmiştir.

3.3.3. Presinaptik EAU aracılı NO-bağımlı ve NO-bağımsız kasılma yanıtları üzerine PAG ve AOAA'nın etkisinin araştırılması

EAU aracılı NO-bağımlı kasılma yanıtları üzerine artan konsantrasyonlarda PAG (DL-propargilglisin-CSE enzim inhibitörü) (10^{-5} – 3×10^{-3} M) ve AOAA (Aminooksiasetik asit-CBS enzim inhibitörü) (10^{-5} – 3×10^{-3} M) ortama eklenmiş ve etkisi incelenmiştir. EAU ile indüklenen yanıtlar, uygulamayı takiben kaydedildi. Ardından, ilaçların yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Ayrı bir seri deneyde, L-NAME (10^{-4} M) varlığında, EAU aracılı NO-bağımsız kasılma yanıtları üzerine artan konsantrasyonlarda PAG (10^{-5} – 3×10^{-3} M) ve AOAA (10^{-5} – 3×10^{-3} M) ortama eklenmiş ve etkisi incelenmiştir. PAG ve AOAA'nın etkileri NO-bağımlı ve NO-bağımsız gruplarda ayrı olarak değerlendirilmiştir.

3.3.4. Postsinaptik yanıtların üzerine hidrojen sülfürün etkisinin araştırılması

Distal kolon şeritleri, 80 mM potasyum klorür (KCl) ve kalsiyum klorür 5 mM (CaCl_2) ile kasılmıştır. Kasılma yanıtları stabilize olduktan sonra H_2S donörü NaHS (10^{-6} – 3×10^{-3} M), endojen H_2S prekürsörü L-sistein (10^{-5} – 3×10^{-3} M), endojen H_2S sentez inhibitörleri PAG (10^{-5} – 3×10^{-3} M) veya AOAA (10^{-5} – 3×10^{-3} M) eklenerek kasılma üzerine etkileri araştırılmıştır.

3.3.5. NO-bağımlı ve NO-bağımsız kasılma yanıtları üzerine NaHS ve L-sistein'in etkisine potasyum kanallarının katkısının araştırılması

ATP bağımlı (K_{ATP}) kanal blokörü glibenklamid (10^{-6} M), kalsiyumla aktive edilen potasyum (K_{Ca}) kanal blokörü iberiotoksin (10^{-8} M) ve voltaj bağımlı potasyum (K_v) kanal blokörü 4-AP (10^{-4} M) varlığında EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine NaHS ve L-sistein'in etkisi incelenmiştir.

Ayrı bir seri deneyde, L-NAME (10^{-4} M) varlığında, NaHS ve L-sistein'in EAU aracılı NO-bağımsız kasılma yanıtları üzerindeki etkisine potasyum kanallarının katkısı araştırılmıştır. Her bir potasyum kanal blokörünün etkisi farklı dokularda değerlendirilmiştir.

3.3.6. NO-bağımlı ve NO-bağımsız kasılma yanıtları üzerine PAG ve AOAA'nın etkisine potasyum kanallarının katkısının araştırılması

ATP bağımlı (K_{ATP}) kanal blokörü glibenklamid (10^{-6} M), kalsiyumla aktive edilen potasyum (K_{Ca}) kanal blokörü iberiotoksin (10^{-8} M) ve voltaj bağımlı potasyum (K_v) kanal blokörü 4-AP (10^{-4} M) varlığında PAG (10^{-5} – 3×10^{-3} M) ve AOAA (10^{-5} – 3×10^{-3} M)'nin etkisi incelenmiştir.

Ayrı bir seri deneyde, L-NAME (10^{-4} M) varlığında, H_2S sentez inhibitörlerinin EAU aracılı NO-bağımsız kasılma yanıtları üzerindeki etkisine potasyum kanallarının katkısı araştırılmıştır. Her bir potasyum kanal blokörünün etkisi farklı dokularda değerlendirilmiştir.

3.4. Western Blot Yöntemi

Sentez enzimleri CBS ve CSE enzim proteinlerinin distal kolon dokusundaki varlığının gösterilmesinde western blot yöntemi kullanılmıştır.

3.4.1. Sıçan distal kolon doku örneklerinden total protein izolasyonu

Sıçan distal kolon örnekleri serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra protein izolasyonunun yapılacağı güne kadar $-80^{\circ}C$ derin dondurucuda saklanmıştır. 100 mg doku örneği alınarak, buz üzerinde steril bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrıldıktan sonra proteaz ve fosfataz inhibitörleri ile desteklenmiş RIPA tamponu kullanılarak mekanik parçalayıcı (IKA T10 basic ultra turrax, Germany) yardımıyla parçalanmış hücrelerden protein izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen total protein miktarı BCA Protein Assay kiti kullanılarak belirlenmiştir. Kit protokolüne uygun olarak 25 μg ile 2000 μg konsantrasyon arasında değişen 7 adet Bovine Serum Albumin (BSA) standardının dilüsyonları oluşturulmuştur. Kit içerisinde bulunan A ve B çözeltileri 50:1 oranında karıştırılarak elde edilen karışım standart protein dilüsyonlarına eklenmiş ve 30 dk $37^{\circ}C$ 'de inkübe edilmiştir. Süre sonunda proteinlerin konsantrasyonları SpectraMax M3 (Molecular Devices, ABD) cihazında 562 nm dalga boyunda ölçülerek standart eğri hazırlanmış ve bu eğri yardımıyla protein miktarları belirlenmiştir.

3.4.2. Western blot analizi

CBS ve CSE protein ifade düzeyleri Western Blot yöntemi ile belirlenmiştir. Bu amaçla, total protein konsantrasyonları belirlenmiş olan protein lizatlarından, eşit miktarda (20 μg) olacak şekilde protein karışımı alınarak, 4X Laemmli yükleme tamponu (%10 SDS, 20% Gliserol, %0.01 Bromofenol mavisi, 0.3125M Tris HCl pH:6.8) 3:1 oranında karıştırılmıştır. Ardından kuru ısıtıcı blokta proteinleri denatüre etmek amacıyla karışım 5 dakika süre ile $95^{\circ}C$ 'de bekletilmiş ve ardından $+4^{\circ}C$ derecede 5 dk soğuması beklenmiştir. Sodyum dodesil

sülfat-poliakrilamid jel (SDS-PAGE) elektroforez sistemiyle (Biorad), %4'lük yükleme jeli ve %10 luk SDS-PAGE ayırma jeli kullanılarak dikey elektroforez uygulanmıştır. İlk kuyucuğa boyalı peroksidaz işaretli protein moleküler ağırlık belirteci ve diğer kuyucuklara sırasıya denatüre edilmiş protein örnekleri yüklenerek elektroforez işlemi 100 V'da 1.5-2 saat +4 °C'de yürütme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu şekilde proteinlerin yürütme tamponu aracılığıyla moleküler ağırlıklarına göre ayrılması sağlanmıştır.

Elektroforez işleminin tamamlanmasının ardından, metanol ile aktive edilmiş 0.2 µm poliviniliden florur (PVDF) membrana proteinlerin transferinin gerçekleştirilmesi amacıyla PAGE jel ile membran yüzeyleri arasında boşluk kalmayacak şekilde karşı karşıya getirilerek transfer düzeneği oluşturulmuştur. 30 dakika süreyle 45°C'de Bio-Rad Mini Trans-Blot sistemi kullanılarak transfer işlemi tamamlanmıştır. Transfer sonunda membranlar, %3 BSA içeren 1X TBST içerisinde oda sıcaklığında düşük hızda çalkalanarak 1 saat süre boyunca bloklanmıştır. Bloklamanın ardından membranlar %3 BSA içeren 1X TBST içerisinde seyreltilmiş anti-CBS (1:1000) ile anti-CSE (1:1000) antikoru ve housekeeping protein olarak anti-β-actin (1:1000) antikoru ile +4 °C'de bir gece inkübe edilmiştir. Ertesi gün membranlar, 15'er dakikalık aralıklarla 1X TBST çözeltisi ile üç kez yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonunda membranlar, %3 BSA içeren 1X TBST içerisinde seyreltilmiş anti-tavşan IgG, HRP konjuge sekonder antikoru (1:2000) ile oda sıcaklığında 2 saat boyunca inkübe edilmiştir. Sekonder antikor ile inkübasyonun ardından membranlar, 5 dakika boyunca 3'er defa 1X TBST çözeltisinde yıkandıktan sonra kemilüminesan ışıma veren kromojen substrat (Luminata Forte Western HRP Substrate, Millipore, Almanya) ile muamele edilmiştir. Elde edilen kemiluminesans ışıma Kodak Gel Logic 2200 Carestream (ABD) görüntüleme sisteminde fotoğrafı çekilerek bant görüntüleri kaydedilmiştir. Western blot analizi her bir antikor için en az 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.5. Deneylerde Kullanılan Solüsyon ve Maddeler

Deneylerde fizyolojik solüsyon olarak kullanılan Krebs-Henseleit çözeltisi bileşimi (mM), NaCl 118; KCl 4.7; NaHCO₃ 25; NaH₂PO₄-2H₂O 0.9; CaCl₂-2H₂O 1.26; MgCl₂-6H₂O 0.5 ve glukoz monohidrat 11 olarak distile suda çözünmesiyle hazırlanmıştır.

Deneylerde kasılma yanıtlarını almak üzere kullanılan 80 mM KCl'lik Krebs-Henseleit çözeltisi ise NaCl (42.7 mM), KCl (80.0 mM), NaHCO₃ (25 mM), NaH₂PO₄-2H₂O

(0.9 mM), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1.26 mM), $\text{MgCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.5 mM) ve Glukoz monohidratın (11 mM) distile suda çözünmesiyle hazırlanmıştır.

NaHS, L-NAME hidroklorid, L-sistein hidroklorid monohidrat, PAG, AOAA, iberiotoxin, 4-AP, glibenklamid, neostigmin, indometasin, Merck/Sigma-Aldrich Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, ABD)'den temin edilmiştir. Atropin sülfat, neostigmin, guanetidin monosülfat, L-NAME hidroklorid, NaHS, L-sistein, PAG, AOAA, iberiotoxin, 4-AP distile suda, indometasin ve glibenklamid DMSO'da çözünmüştür.

3.6. Bulguların Sunuluşu ve İstatistiksel Analiz

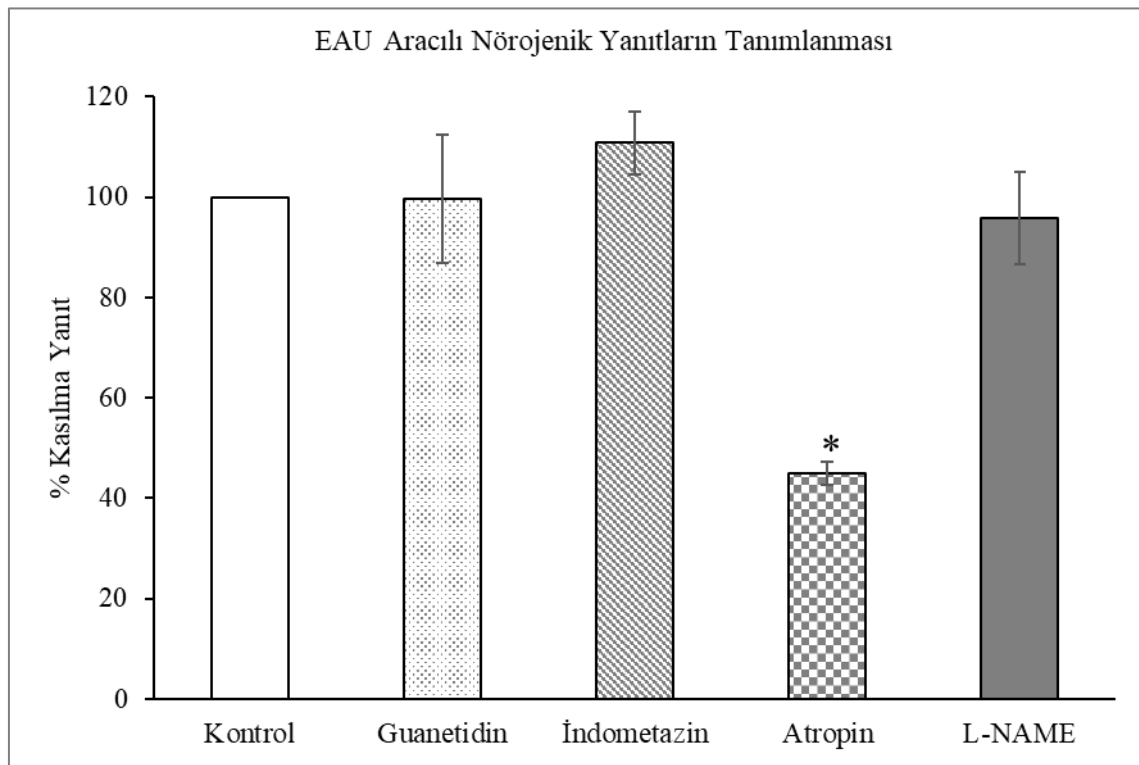
NaHS, L-sistein, PAG ve AOAA'nın kontrol yanıtları üzerindeki etkisi ifade edilirken, EAU aracılı kasılma yanıtları kontrol yanıtlarının yüzdesi olarak hesaplanmıştır. Kontrol olarak, ilk NaHS uygulamasından önceki son kasılma değeri kullanılmıştır. Deneysel sonuçlar, ortalama değer $\pm$ ortalamanın standart hatası (SEM) ile ifade edilmiştir. Verilerin istatistiksel analizi, SPSS 25.0 programı (SPSS Inc., Chicago, Illinois, ABD) ile yapılmıştır.

Deney gruplarından elde edilen veriler normal dağılıma uymadığı için, non parametrik testler kullanılmıştır. Bağımsız değişkenlerdeki farklılıklar Mann Whitney U, bağımlı değişkenlerdeki farklılıklar Wilcoxon testi ile değerlendirilmiştir. $p < 0.05$ ise ortalamalar arası fark anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. EAU Aracılı Nörojenik Kasılma Yanıtlarının Tanımlanması:

Guanetidin (10^{-6} M), indometazin (10^{-5} M) ve L-NAME (10^{-4} M), EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmamıştır. Atropin (10^{-6} M), EAU aracılı kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda azaltmıştır ($55 \pm 2,35$; $p < 0,05$). (Şekil 4.1)



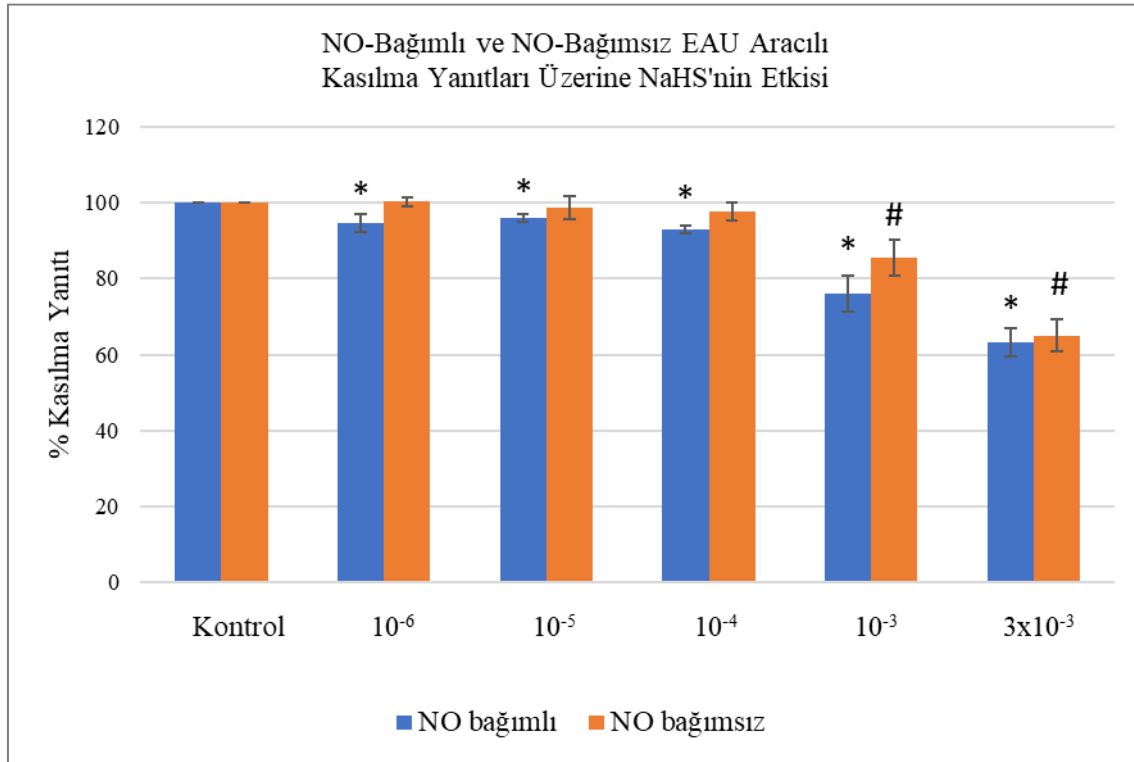
Şekil 4.1. EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarının tanımlanması. EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine Guanetidin (10^{-6} M), İndometazin (10^{-5} M), Atropin (10^{-6} M), ve L-NAME (10^{-4} M)'in etkisi. Kasılma yanıtları kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edilmektedir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0,05$). (Tüm gruplar $n=4$).

4.2. Presinaptik NO-Bağımlı ve NO-Bağımsız EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine NaHS ve L-sistein'in Etkisi

NO-bağımlı grupta, NaHS tüm konsantrasyonlarda (10^{-6} - 3×10^{-3} M) EAU aracılı kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı azaltmıştır (3×10^{-3} M, $36,77 \pm 3,83$; $p < 0,05$).

NO-bağımsız grupta, NaHS (10^{-6} - 3×10^{-3} M) konsantrasyona bağlı olarak EAU aracılı kasılma yanıtlarını azaltmıştır. Bu azalma 10^{-3} ve 3×10^{-3} M konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (3×10^{-3} M, $\%34,96 \pm 4,18$; $p < 0,05$).

NO-bağımsız gruplar ile NO-bağımlı gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). (Şekil 4.2)

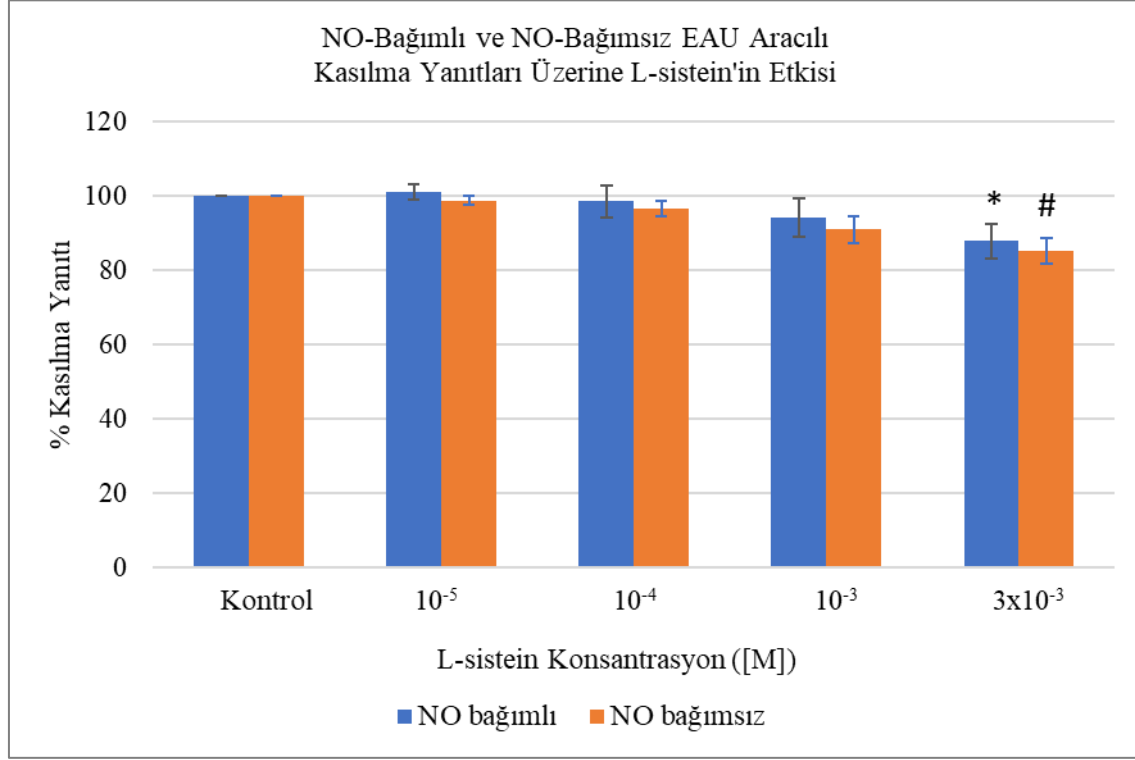


Şekil 4.2. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine NaHS'nin etkisi. * NO-bağımlı grupta kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0,05$) # NO-bağımsız grupta kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0,05$) (NO-bağımlı grup $n=8$, NO-bağımsız grup $n=6$).

NO-bağımlı grupta, L-sistein (10^{-5} - 3×10^{-3} M) konsantrasyona bağlı olarak EAU aracılı kasılma yanıtlarını azaltmıştır. Bu azalma 3×10^{-3} M'de konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (3×10^{-3} M $\%12,13 \pm 4,71$, $p < 0,05$).

NO-bağımsız grupta, L-sistein konsantrasyona bağlı olarak EAU aracılı kasılma yanıtlarını azaltmıştır. Bu azalma 3×10^{-3} M konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (3×10^{-3} M $\%14,81 \pm 3,51$, $p < 0,05$).

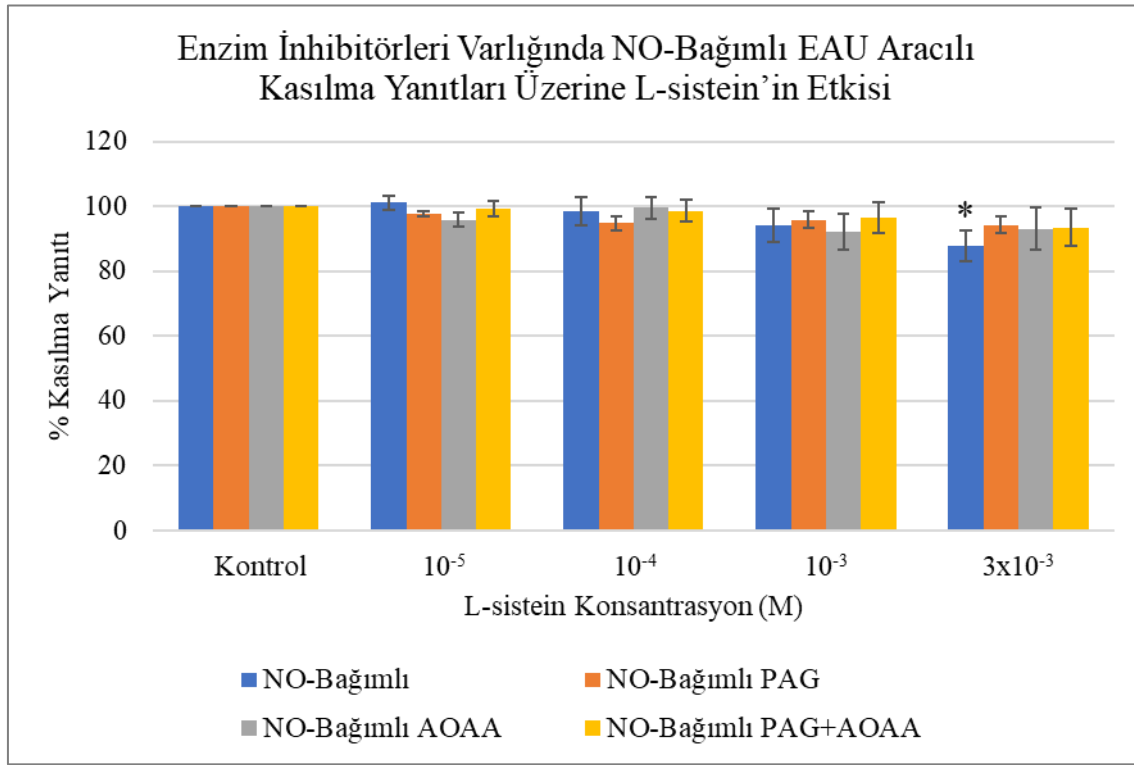
NO-bağımsız gruplar ile NO-bağımlı gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). (Şekil 4.3)



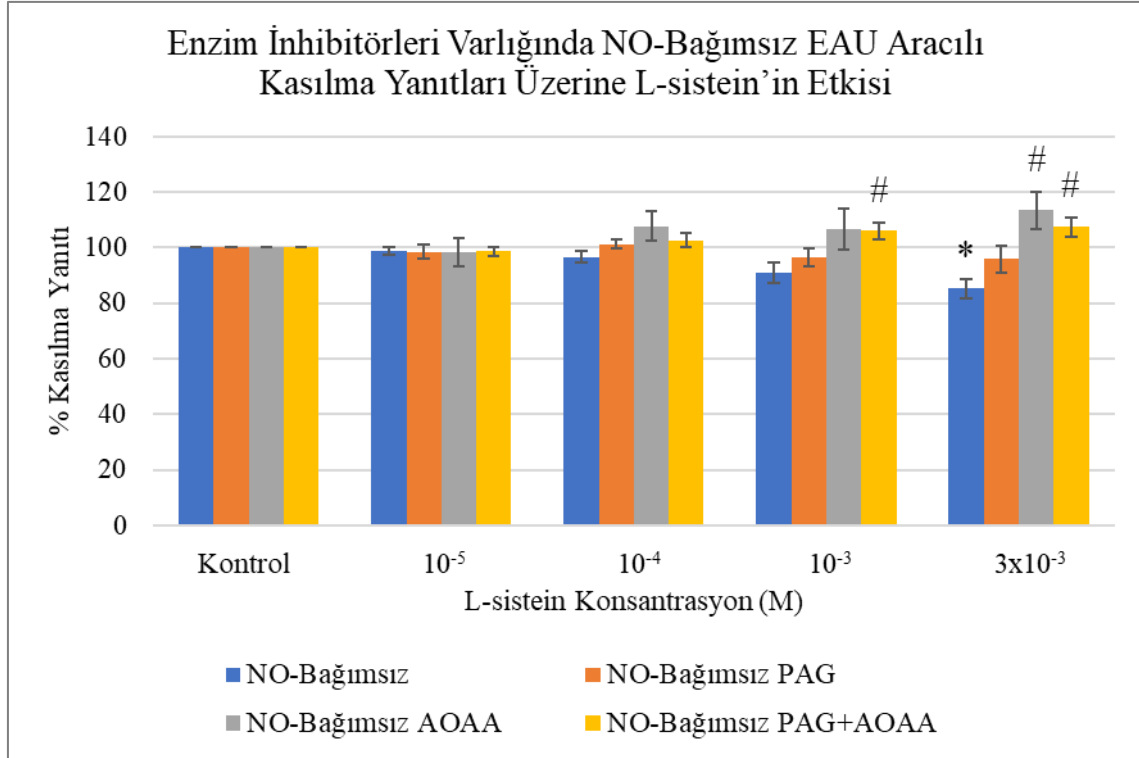
Şekil 4.3. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine L-sistein'in etkisi. * NO-bağımlı grupta kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p<0,05$). # NO-bağımsız grupta kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p<0,05$) (Tüm gruplar için $n=6$).

NO-bağımlı grupta EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine L-sistein'in 3×10^{-3} M konsantrasyonunda oluşturduğu istatistiksel olarak anlamlı azalma enzim inhibitörleri varlığında ortadan kalkmıştır.

NO-bağımsız grupta EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine L-sistein'in 3×10^{-3} M konsantrasyonunda oluşturduğu istatistiksel olarak anlamlı azalma enzim inhibitörleri varlığında ortadan kalkmıştır.



Şekil 4.4. Enzim inhibitörlerinin varlığında NO-bağımlı EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine L-sistein'in etkisi. * NO-bağımlı grupta kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir (NO-bağımlı grup n=6, NO-bağımlı AOAA n=5, NO-bağımlı PAG n=5, NO-bağımlı PAG+AOAA n=6).



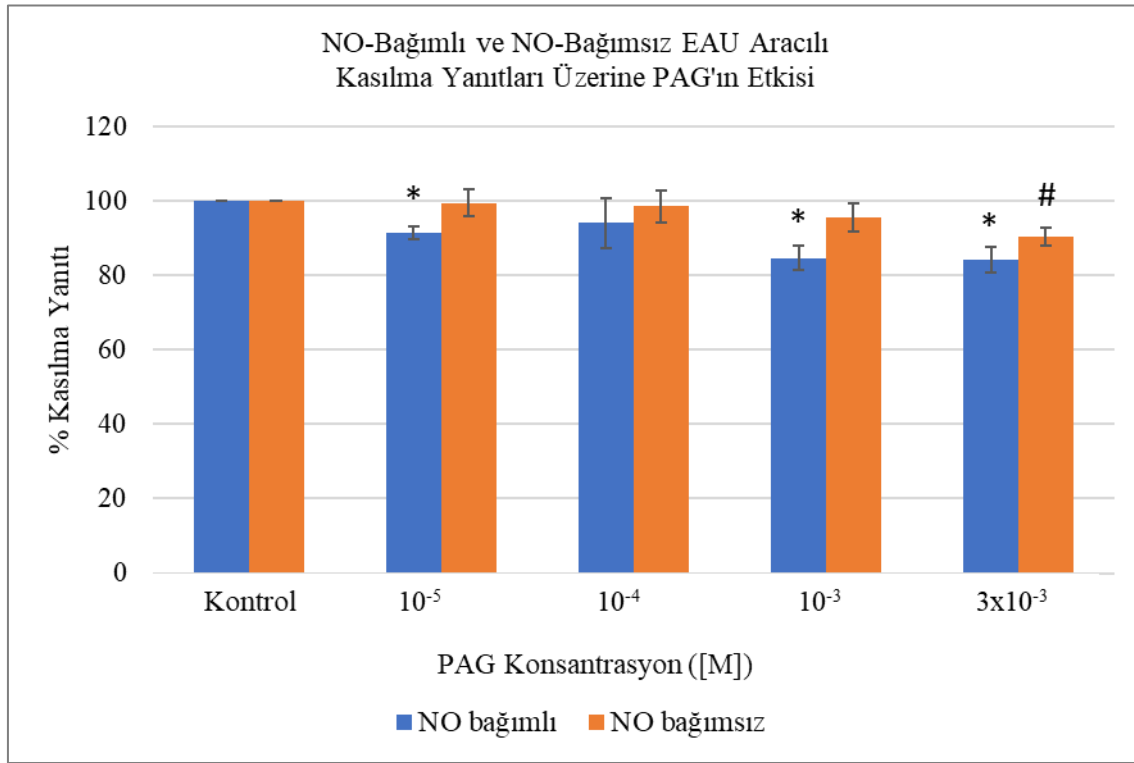
Şekil 4.5. Enzim inhibitörleri varlığında NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine L-sistein'in etkisi. * NO-bağımsız grupta kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir # Enzim inhibitörü uygulanmayan gruba göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$). (NO-bağımsız grup $n=6$, NO-bağımsız AOAA $n=5$, NO-bağımsız PAG $n=5$, NO-bağımsız PAG+AOAA $n=6$)

4.3. Presinaptik NO-Bağımlı ve NO-Bağımsız EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine PAG ve AOAA'nın Etkisi

NO-bağımlı grupta, PAG (10^{-5} - 3×10^{-3} M) konsantrasyona bağlı olarak EAU aracılı kasılma yanıtlarını azaltmıştır. Bu azalma 10^{-5} , 10^{-3} ve 3×10^{-3} M konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (3×10^{-3} M $15,72 \pm 3,51$; $p < 0,05$; $n=6$).

NO-bağımsız grupta, PAG (10^{-5} - 3×10^{-3} M) konsantrasyona bağlı olarak EAU aracılı kasılma yanıtlarını azaltmıştır. Bu azalma 3×10^{-3} M konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (3×10^{-3} M $9,67 \pm 2,38$; $p < 0.05$; $n=8$).

NO-bağımsız gruplar ile NO-bağımlı gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). (Şekil 4.6)

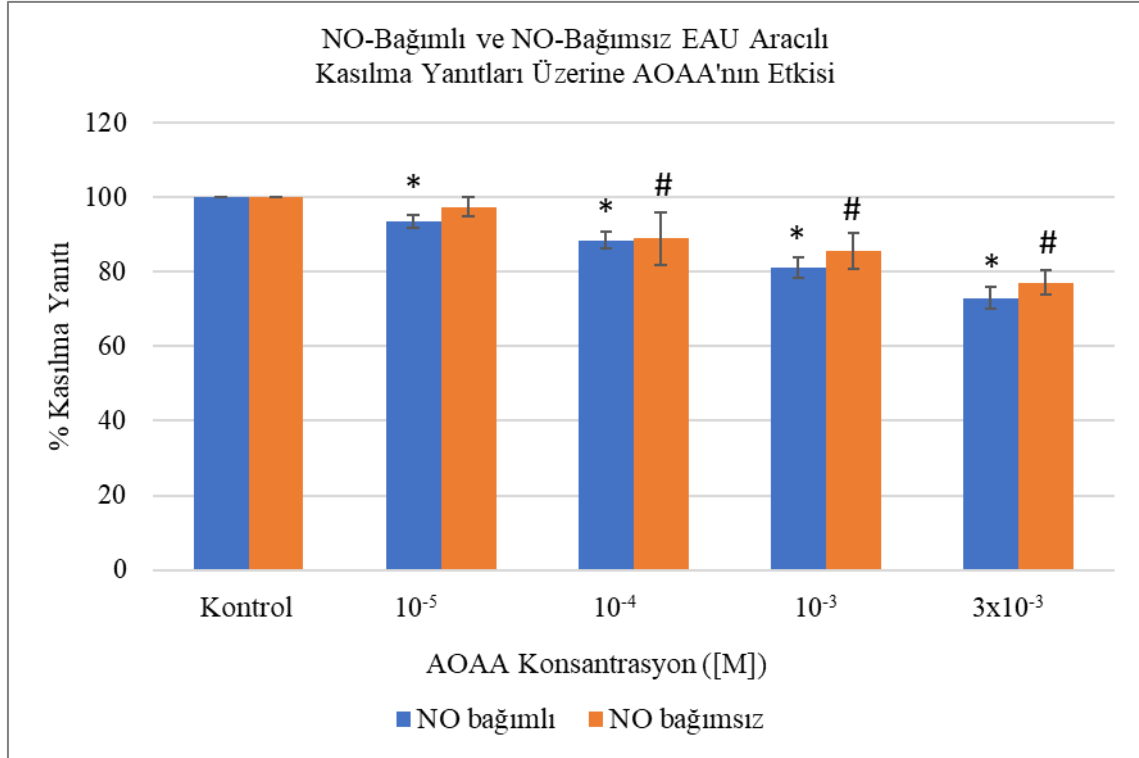


Şekil 4.6. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine PAG'ın etkisi.
 * NO-bağımlı grupta kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$). # NO-bağımsız grupta kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$). (NO-bağımlı grup için $n=6$; NO-bağımsız grup için $n=8$)

NO-bağımlı grupta, AOAA tüm konsantrasyonlarda (10^{-5} - 3×10^{-3} M) EAU aracılı kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı azaltmıştır (3×10^{-3} M $26,97 \pm 2,8$; $p < 0,05$; $n=6$).

NO-bağımsız grupta, AOAA (10^{-5} - 3×10^{-3} M) konsantrasyona bağlı olarak EAU aracılı kasılma yanıtlarını azaltmıştır. Bu azalma 10^{-4} , 10^{-3} ve 3×10^{-3} M konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (3×10^{-3} M $22,81 \pm 3,37$; $p < 0.05$; $n=7$).

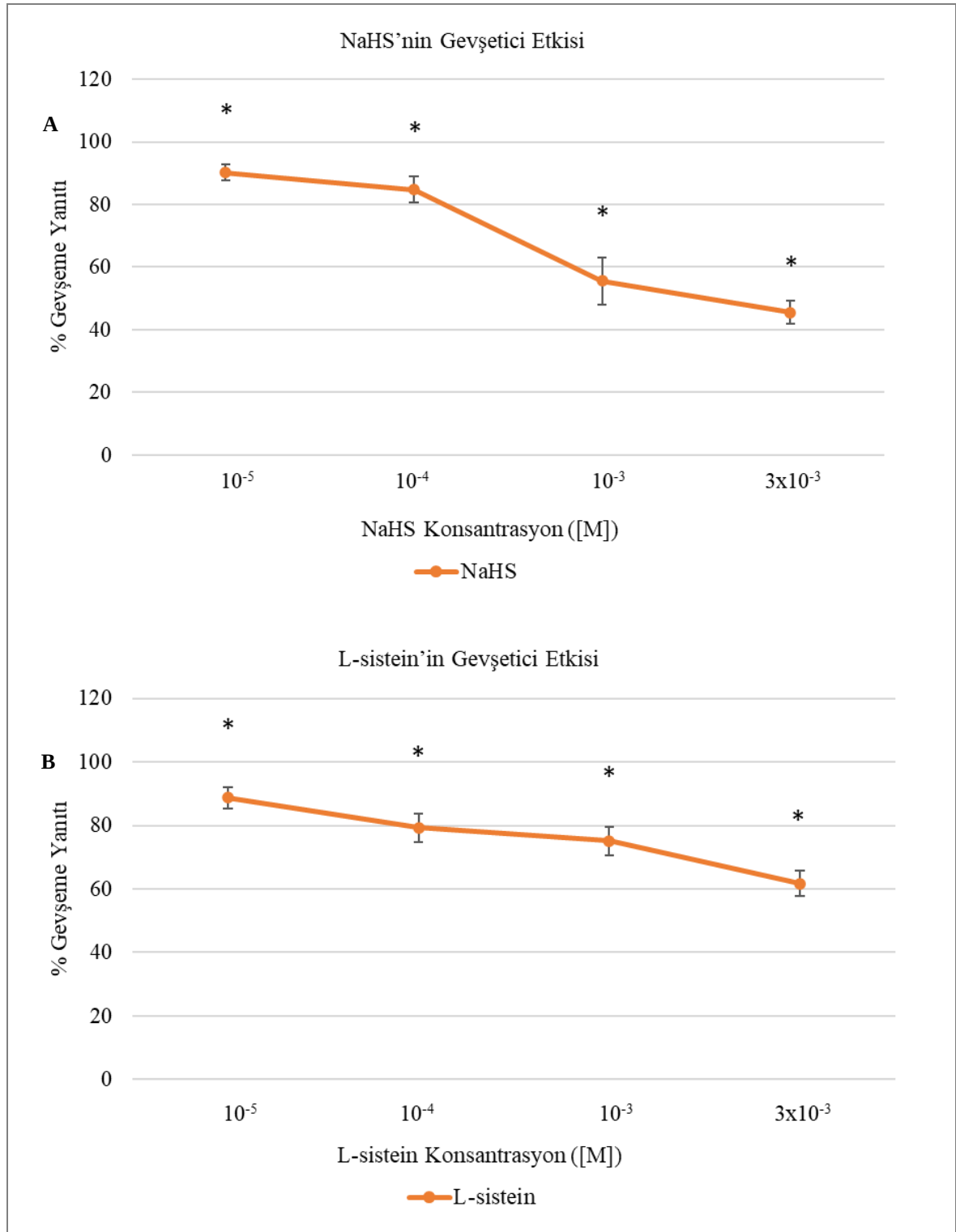
NO-bağımsız gruplar ile NO-bağımlı gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). (Şekil 4.7)



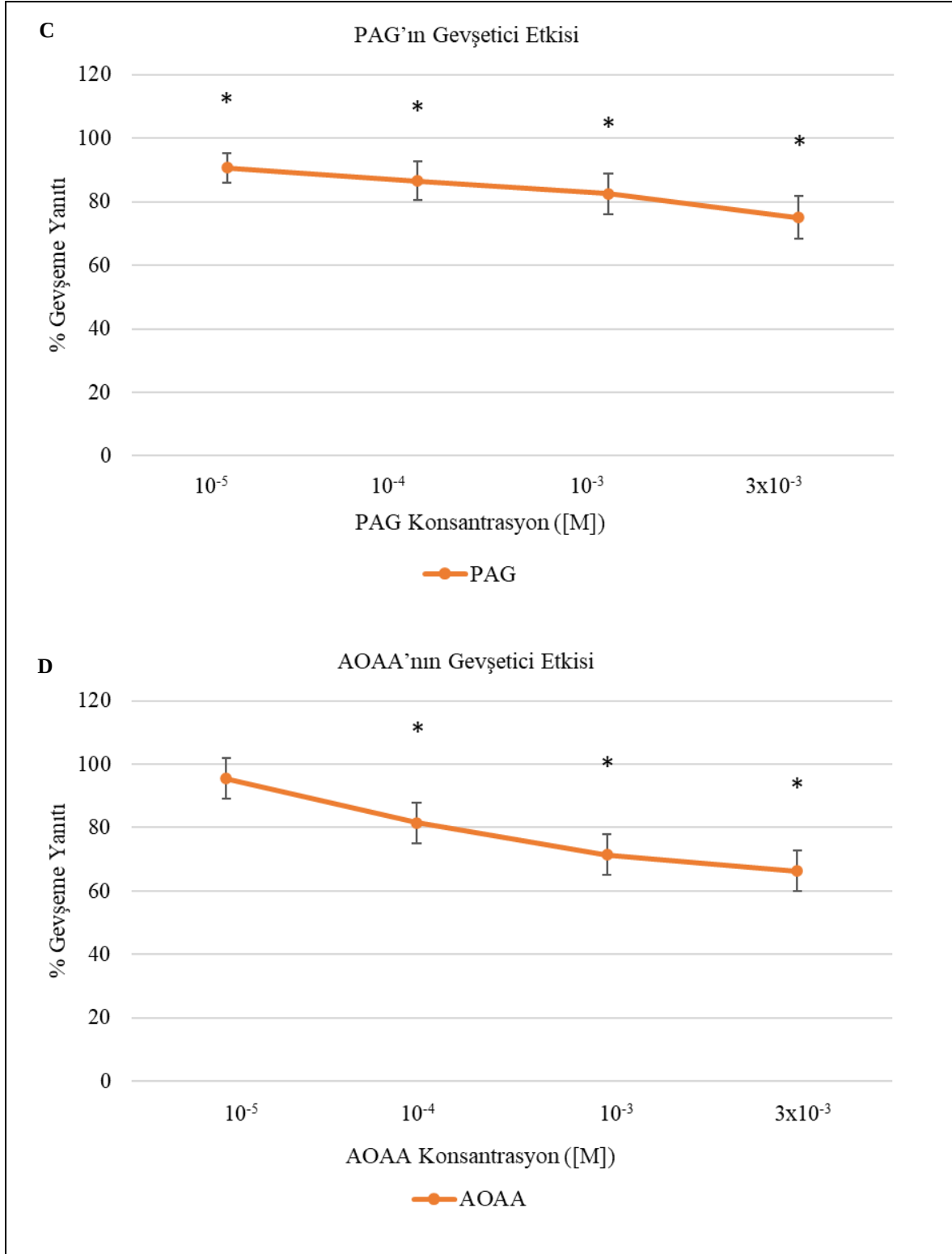
Şekil 4.7. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine AOAA'nın etkisi. * NO-bağımlı grupta kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p<0.05$). # NO-bağımsız grupta kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p<0.05$). (NO-bağımlı grup için $n=6$; NO-bağımsız grup için $n=7$)

4.4. Postsinaptik Kasılma Yanıtları Üzerine Hidrojen Sülfürün Etkisi:

NaHS, L-sistein ve PAG tüm konsantrasyonlarda (10^{-5} - 3×10^{-3} M), 80 mM KCl ve 5 mM CaCl_2 ile kasılmış distal kolon şeritlerinde istatistiksel olarak anlamlı gevşemeye neden olmuştur (NaHS: 3×10^{-3} M; 54.53 ± 3.67 ; $p<0.05$; L-sistein: 3×10^{-3} M; 38.26 ± 4.15 ; $p<0.05$; PAG: 3×10^{-3} M; 24.95 ± 6.6 ; $p<0.05$). AOAA, 80 mM potasyum klorür (KCl) ve 5 mM CaCl_2 ile kasılmış distal kolon şeritlerinde 10^{-4} , 10^{-3} ve 3×10^{-3} M konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı gevşemeye neden olmuştur (3×10^{-3} M; 33.68 ± 4.93 ; $p<0.05$). (Şekil 4.8)



Şekil 4.8. Postsinaptik kasılma yanıtları üzerine NaHS, L-sistein, PAG ve AOAA'nın etkisi. A. NaHS'nin (10^{-5} - 3×10^{-3} M) gevşetici etkisi. B. L-sistein'in (10^{-5} - 3×10^{-3} M) gevşetici etkisi. C. PAG'ın (10^{-5} - 3×10^{-3} M) gevşetici etkisi. D. AOAA'nın (10^{-5} - 3×10^{-3} M) gevşetici etkisi. *Kontrolle göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$). 80 mM KCl ve 5 mM CaCl_2 ile kasılan dokularda maddeler uygulanmadan önce stabil kasılma yanıtları kontrol olarak alınmıştır. (NaHS grubu için $n=8$, L-sistein grubu için $n=7$, PAG ve AOAA grupları için $n=9$)

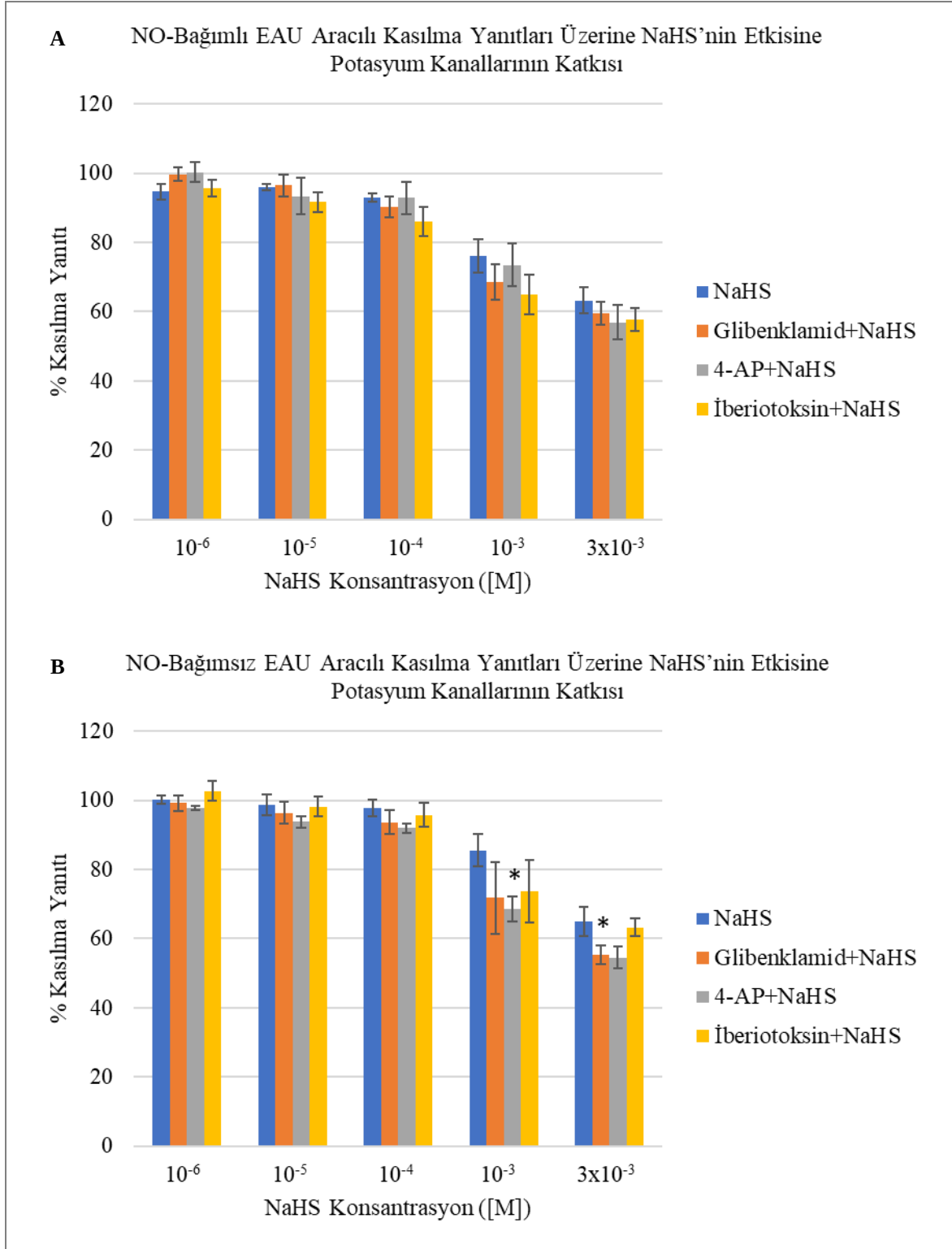


Şekil 4.8. (devam) Postsinaptik kasılma yanıtları üzerine NaHS, L-sistein, PAG ve AOAA'nın etkisi. A. NaHS'nin (10^{-5} - 3×10^{-3} M) gevşetici etkisi. B. L-sistein'in (10^{-5} - 3×10^{-3} M) gevşetici etkisi. C. PAG'ın (10^{-5} - 3×10^{-3} M) gevşetici etkisi. D. AOAA'nın (10^{-5} - 3×10^{-3} M) gevşetici etkisi. *Kontrole göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$). 80 mM KCl ve 5 mM CaCl_2 ile kasılan dokularda maddeler uygulanmadan önce stabil kasılma yanıtları kontrol olarak alınmıştır. (NaHS grubu için $n=8$, L-sistein grubu için $n=7$, PAG ve AOAA grupları için $n=9$)

4.5. NO-Bağımlı ve NO-Bağımsız EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine NaHS'nin Etkisine Potasyum Kanallarının Katkısı

NO-bağımlı grupta, K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid (10^{-6} M), K_V kanal blokörü 4-AP (10^{-4} M) ve K_{Ca} kanal blokörü iberoiotoksin (10^{-8} M) varlığında, EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine artan konsantrasyonlardaki NaHS'in (10^{-6} - 3×10^{-3} M) inhibe edici etkisi değişmemiştir.

NO-bağımsız grupta, K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid (10^{-6} M) varlığında NaHS'in 3×10^{-3} M konsantrasyonunda; K_V kanal blokörü 4-AP (10^{-4} M) varlığında NaHS'in 10^{-3} M konsantrasyonunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine inhibe edici etkisinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0,05$). K_{Ca} kanal blokörü iberoiotoksin (10^{-8} M) varlığında, EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine artan konsantrasyonlardaki NaHS'in (10^{-6} - 3×10^{-3} M) inhibe edici etkisi değişmemiştir. (Şekil 4.9)

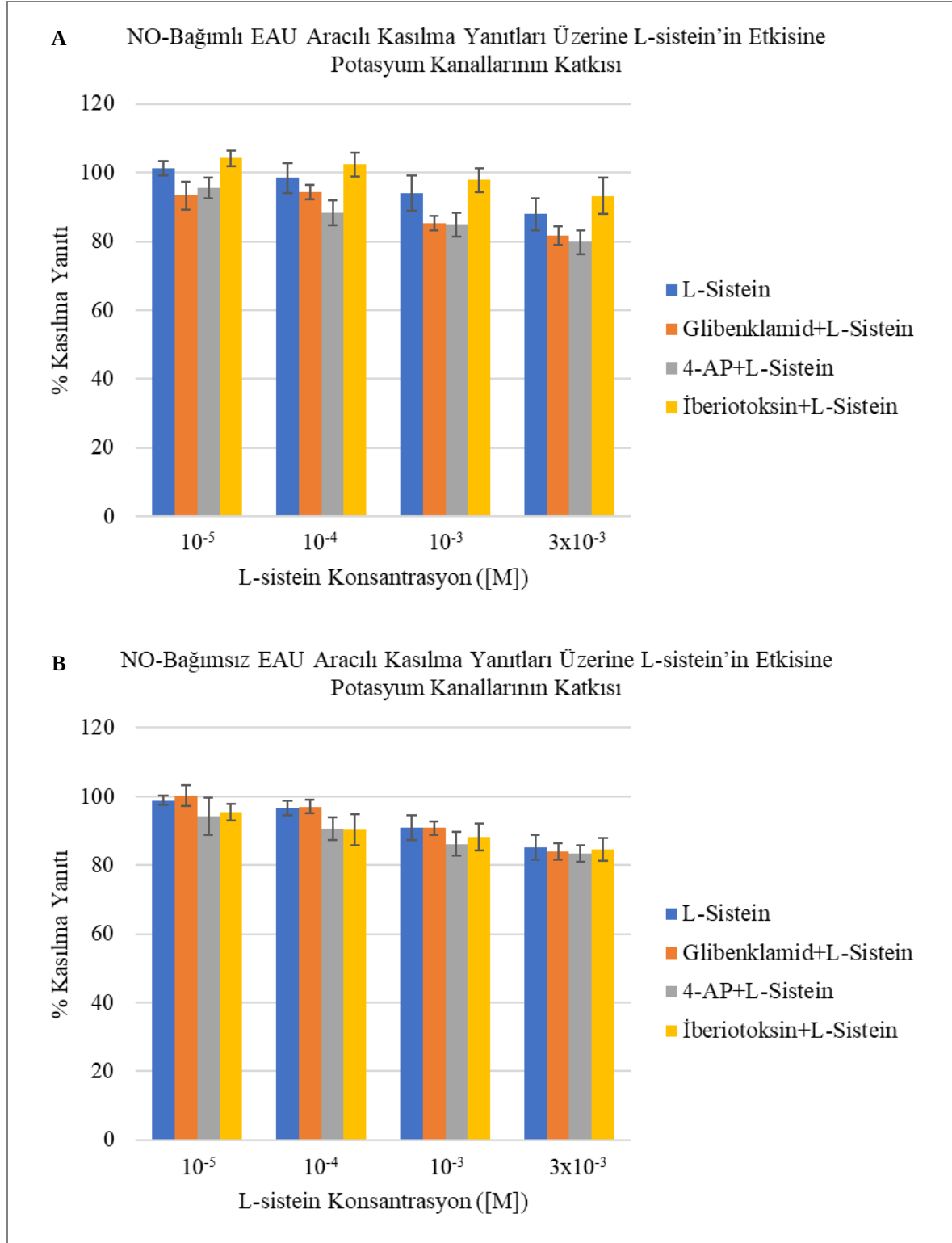


Şekil 4.9. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine NaHS'nin etkisine potasyum kanallarının katkısı. A. NO-bağımlı grupta NaHS'nin (10^{-6} – 3×10^{-3} M) etkisi. B. NO-bağımsız grupta NaHS'nin (10^{-6} – 3×10^{-3} M) etkisi. *Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$). Potasyum kanal blokörü uygulanmayan grup kontrol grubu olarak alınmıştır. (Kontrol grubu için $n=8$, diğer gruplar için $n=6$)

4.6. NO-Bağımlı ve NO-Bağımsız EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine L-sistein'in Etkisine Potasyum Kanallarının Katkısı

NO-bağımlı gruplarda, K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid (10^{-6} M), K_V kanal blokörü 4-AP (10^{-4} M) ve K_{Ca} kanal blokörü iberiotoksin (10^{-8} M) varlığında; EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine artan konsantrasyonlardaki L-sistein'in (10^{-5} - 3×10^{-3} M) inhibe edici etkisi değişmemiştir.

NO-bağımsız gruplarda, K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid (10^{-6} M), K_V kanal blokörü 4-AP (10^{-4} M) ve K_{Ca} kanal blokörü iberiotoksin (10^{-8} M) varlığında; EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine artan konsantrasyonlardaki L-sistein'in (10^{-5} - 3×10^{-3} M) inhibe edici etkisi değişmemiştir. (Şekil 4.10)

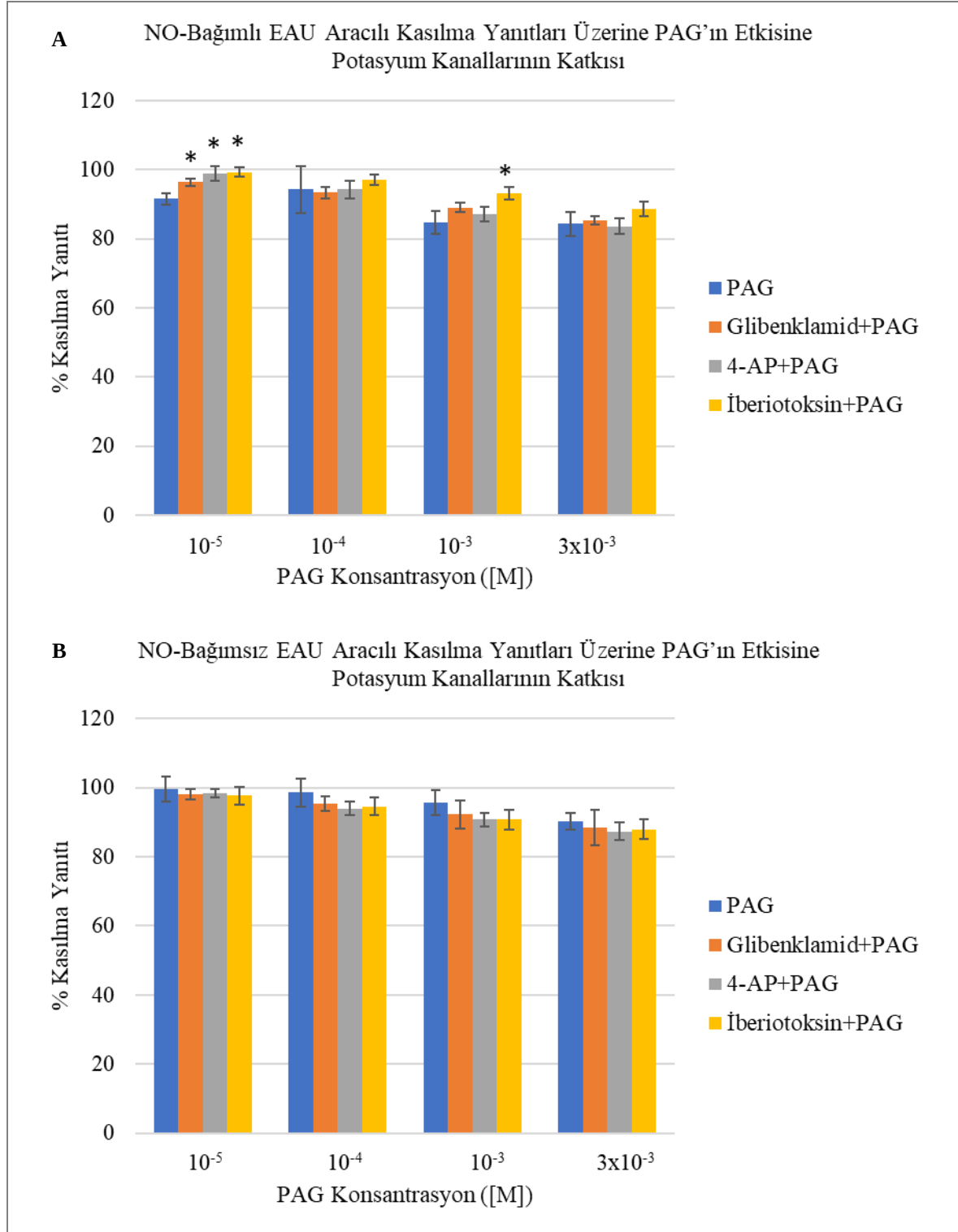


Şekil 4.10. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine L-sistein'in etkisine potasyum kanallarının katkısı. A. NO-bağımlı grupta L-sistein'in (10^{-5} - 3×10^{-3} M) etkisi B. NO-bağımsız grupta L-sistein'in (10^{-5} - 3×10^{-3} M) etkisi. (NO-bağımlı 4-AP grubu için n=7, iberiotoksin grubu için n=8, diğer gruplar için n=6)

4.7. NO-Bağımlı ve NO-Bağımsız EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine PAG ve AOAA'nın Etkisine Potasyum Kanallarının Katkısı

NO-bağımlı gruplarda, K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid (10^{-6} M) varlığında PAG'ın 10^{-5} M konsantrasyonunda, K_V kanal blokörü 4-AP (10^{-4} M) varlığında PAG'ın 10^{-5} M konsantrasyonunda, K_{Ca} kanal blokörü iberoiotoksin (10^{-8} M) varlığında PAG'ın 10^{-5} M ve 10^{-3} M konsantrasyonlarında EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine inhibe edici etkisinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,05$).

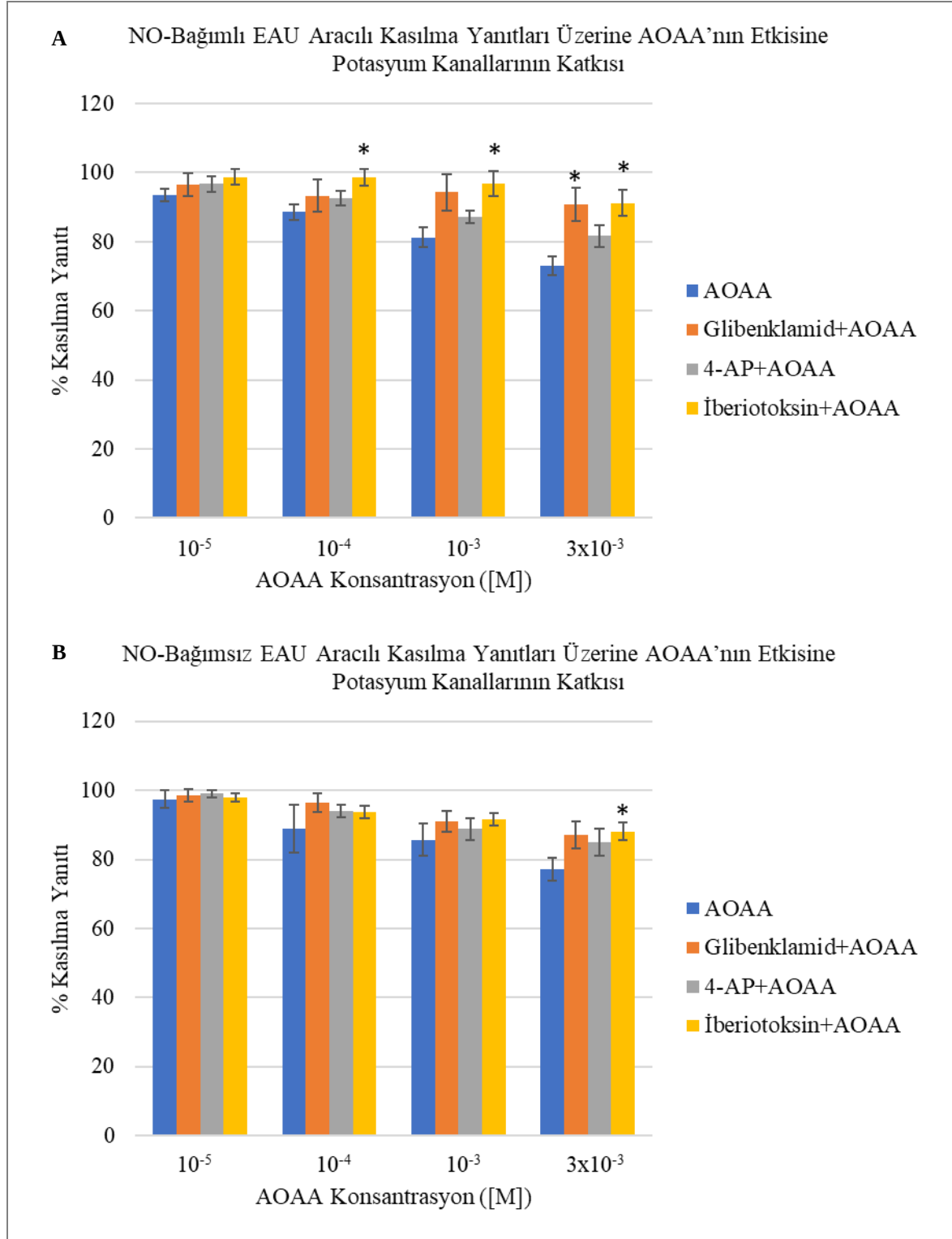
NO-bağımsız grupta, K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid (10^{-6} M), K_V kanal blokörü 4-AP (10^{-4} M) ve K_{Ca} kanal blokörü iberoiotoksin (10^{-8} M) varlığında, EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine artan konsantrasyonlardaki PAG'ın (10^{-5} - 3×10^{-3} M) inhibe edici etkisi değişmemiştir. (Şekil 4.11)



Şekil 4.11. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine PAG'ın etkisine potasyum kanallarının katkısı. A. NO-bağımlı grupta PAG'ın (10^{-5} - 3×10^{-3} M) etkisi. B. NO-bağımsız grupta PAG'ın (10^{-5} - 3×10^{-3} M) etkisi. *Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$). Potasyum kanal blokörü uygulanmayan grup kontrol grubu olarak alınmıştır. (NO-bağımlı kontrol grubu için $n=6$, glibenklamid grubu için $n=7$, 4-AP grubu için $n=6$, iberiotoksin grubu için $n=7$; NO-bağımsız kontrol grubu için $n=8$, glibenklamid grubu için $n=7$, 4-AP grubu için $n=7$, iberiotoksin grubu için $n=6$)

NO-bağımlı grupta, K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid (10^{-6} M) AOAA'nın 3×10^{-3} M konsantrasyonunda; K_{Ca} kanal blokörü iberiotoksin (10^{-8} M) varlığında, AOAA'nın 10^{-4} M, 10^{-3} M ve 3×10^{-3} M konsantrasyonlarında, EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine inhibe edici etkisi istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır ($p < 0,05$). K_V kanal blokörü 4-AP (10^{-4} M) varlığında, EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine artan konsantrasyonlardaki AOAA'nın (10^{-5} - 3×10^{-3} M) inhibe edici etkisi değişmemiştir.

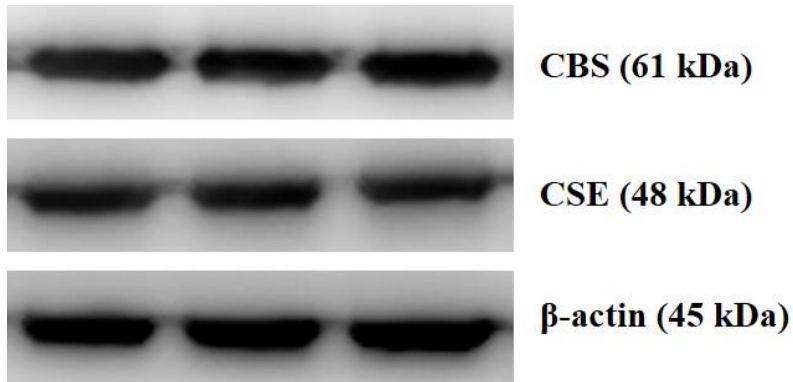
NO-bağımsız grupta, K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid (10^{-6} M) ve K_V kanal blokörü 4-AP (10^{-4} M) varlığında, EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine artan konsantrasyonlardaki AOAA'nın (10^{-5} - 3×10^{-3} M) inhibe edici etkisi değişmemiştir. K_{Ca} kanal blokörü iberiotoksin (10^{-8} M) varlığında, AOAA'nın 3×10^{-3} M konsantrasyonunda, EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine inhibe edici etkisi istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır ($p < 0,05$). (Şekil 4.12)



Şekil 4.12. NO-bağımlı ve NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine AOAA'nın etkisine potasyum kanallarının katkısı. A. NO-bağımlı grupta AOAA'nın (10^{-5} - 3×10^{-3} M) etkisi. B. NO-bağımsız grupta AOAA'nın (10^{-5} - 3×10^{-3} M) etkisi. *Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$). Potasyum kanal blokörü uygulanmayan grup kontrol grubu olarak alınmıştır. (NO-bağımlı glibenklamid grubu için $n=9$, diğer gruplar için $n=6$; NO-bağımsız kontrol grubu için $n=7$, glibenklamid grubu için $n=9$, 4-AP grubu için $n=7$, İberiotoksin grubu için $n=6$)

4.8. Western Blot Bulguları

Sıçanların distal kolonundan elde edilen protein örneklerinde CBS ve CSE proteinlerinin western blot analizi sonuçlarına göre her iki proteinin ifade düzeylerinin var olduğu sonucuna varılmıştır. Housekeeping protein olarak kullanılan β -aktinin farklılık göstermediği görülmüştür. (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Dokularından izole edilen protein örneklerinden CBS ve CSE protein bantları.

5. TARTIŞMA

Son yıllarda yapılan araştırmalar, H₂S'nin düz kas fonksiyonlarını düzenleyen birçok biyokimyasal ve fizyolojik yolakla etkileşim içinde olduğunu ortaya koymuştur. Bu mekanizmalar, H₂S'nin nörotransmitter salınımını düzenleme, iyon kanallarını modüle etme ve hücrel ikincil haberci sistemlerle etkileşme gibi etkilerini içermektedir. H₂S'nin GİS düz kas fonksiyonlarını düzenleyici etkisi ve barsak motilitesine katkısı, bu etkilerin klinik öneminin ve ilgili mekanizmaların daha iyi anlaşılması için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Sunulan çalışmada, H₂S'nin distal kolonda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerindeki etkisi ve bu etkilere NO ve K⁺ kanallarının katkısının araştırılması amaçlanmıştır.

GİS motilitesi, nörotransmitterler (asetilkolin, biyojenik aminler, nöropeptitler ve nitrik oksit) ve hormonlar (serotonin) tarafından düzenlenmekte, bununla birlikte iyonların transmembran hareketlerinden kaynaklanan elektriksel değişiklikler sonucu oluşmaktadır (Camilleri, 2021). Tavşan kolon düz kas dokusunda, atropin varlığında 16 Hz'de oluşan kasılma yanıtlarının inhibe olduğu, bu etkinin kolinerjik sistemin EAU ile oluşan kasılma yanıtlarına olan katkısını desteklediği bildirilmiştir (Snape ve diğerleri, 1989). Tavşan alt özofagus sfinkter düz kas dokusunda, guanetidin ve indometazinin kasılma yanıtlarını değiştirmediği, ancak atropin ve L-NAME'nin EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını azalttığı tespit edilmiştir (Koc ve diğerleri, 2024). Fare ileum düz kas dokusunda atropinin düz kas bazal tonusunu değiştirmediği, ancak EAU aracılı kasılma yanıtlarını %40 azalttığı saptanmıştır. Aynı çalışmada siklooksijenaz inhibitörü diklofenak ve L-NAME'nin nörojenik kasılma yanıtlarını değiştirmediği gösterilmiştir (Yamane ve diğerleri, 2014). Sıçan kolon düz kas dokusunda, L-NAME'nin düz kas hücrelerini depolarize ettiği ve spontan aktiviteyi arttırdığı bildirilmiştir (Gil ve diğerleri, 2012). Sıçan kolon düz kas dokusunda yapılan bir başka çalışmada ise, L-NAME'nin spontan kavşak potansiyelini değiştirmeden düz kas hücrelerinde depolarizasyon oluşturduğu ve spontan kasılma yanıtlarını arttırdığı bildirilmiştir (Gil ve diğerleri, 2010). Sunulan çalışmada, kolonda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerinde sempatik sinir sonlanmalarından noradrenalin salıverilmesini inhibe eden guanetidin, siklooksijenaz inhibitörü indometazin ve NOS inhibitörü L-NAME istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmamıştır. Muskarinik reseptör antagonisti atropin, EAU aracılı kasılma yanıtlarını %55 azaltmıştır. Yapılan önceki çalışmalar ile benzer şekilde, distal kolonda motilite üzerinde kolinerjik sistemin katkısı

olduğu gösterilmiştir. H_2S 'nin kolinerjik sistem üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla, EAU aracılı kasılma yanıtları guanetidin ve indometazin varlığında alınmıştır.

Sunulan çalışmada, NaHS tüm kolon dokularında, NO-bağımlı EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını konsantrasyona bağlı olarak azaltmıştır. L-NAME ile inkübe edilen dokularda, NaHS'nin EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını konsantrasyona bağlı olarak azalttığı saptanmıştır. NaHS'nin, nörojenik kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisinin NO ile ilişkili olmadığı tespit edilmiştir. Sıçan aortasında KCl ile kasılan dokularda H_2S 'nin gevşetici etkisinin L-NAME ile azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca, H_2S 'nin gevşetici etkisinin endoteli çıkarılan dokularda da benzer şekilde azaldığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada NO donörü varlığında, H_2S düzeyinde ve CSE ekspresyonunda anlamlı bir artış saptanmıştır. Bulgular damar düz kasında NO'nun, H_2S 'nin endojen sentezinin düzenlenmesinde rolü olduğunu ve NO'nun H_2S 'nin gevşetici etkisinde katkısı olduğunu desteklemektedir (Zhao ve diğerleri, 2001). Hosoki ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, NaHS'nin damar düz kasında norepinefrin ile oluşan kasılma yanıtı üzerine gevşetici etkisinin, NO donörlerinin varlığında arttığı saptanmıştır. Bu sonuçlar, H_2S 'nin gevşetici etkisine NO'nun katkısı olduğunu desteklemektedir (Hosoki, Matsuki ve Kimura, 1997). Sıçan aorta düz kasında yapılan bir başka çalışmada, NaHS'nin NO donörlerinin gevşetici etkisini azalttığı, ancak bu etkinin NO donörlerinden NO salınımından farklı olarak H_2S ve NO'nun doğrudan kimyasal bir etkileşiminden kaynaklandığı bildirilmiştir (Ali ve diğerleri, 2006). Endoteli hasarlanmış fenilefrin ile kasılan sıçan damar düz kasında NaHS'nin gevşetici etkisinin devam ettiği ancak endoteli sağlam dokulara kıyasla azaldığı saptanmıştır (Zhao ve Wang, 2002). Gallego ve arkadaşları, sıçan orta jejunum, sıçan distal kolon, fare kolon, fare jejunum ve insan kolon dokusunda (kolon kanseri nedeni ile kolon rezeksiyonu yapılan) H_2S 'nin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, NaHS varlığında spontan kasılma yanıtlarının azaldığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, fare kolon ve jejunumunda, NaHS ile spontan motor kasılmaların tamamen inhibe olduğu saptanmıştır (Gallego ve diğerleri, 2008). Sıçan proksimal kolon dokusunda, NaHS'nin spontan kasılmaları konsantrasyona bağlı olarak inhibe ettiği saptanmıştır (Quan ve diğerleri, 2015). Tavşan alt özofagus sfinkterinde NaHS'nin EAU aracılı kasılma yanıtlarını azalttığı, ancak bu azalmanın zamanla geri döndüğü bildirilmiştir. NO-bağımsız grupta NaHS'nin EAU aracılı kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisinin daha düşük saptanmış ve bu durum NaHS'nin gevşetici etkisine NO'nun katkısı olduğunu desteklenmektedir (Kara ve diğerleri, 2016). Kobay ileum dokusunda yapılan bir çalışmada, NaHS'nin EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını konsantrasyona

bağlı olarak azalttığı, bu azalma yanıtının indometazin, L-NAME ve naloksan varlığında değişmediği saptanmıştır. Aynı çalışmada sıçan ileum ve vas deferensinde NaHS'nin EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını konsantrasyon bağımlı olarak azalttığı tespit edilmiştir (Teague, Asiedu ve Moore, 2002). İnsan kolon düz kasında yapılan bir çalışmada NaHS'nin nitretrjik sistem ile ilişkisi araştırılmış ve NaHS'nin spontan kasılmaları inhibe edici etkisinin NO-bağımlı olduğu tespit edilmiştir (Martinez-Cutillas ve diğerleri, 2015). Kobay ileum düz kasında, NaHS'nin EAU aracılı kasılma yanıtlarını inhibe edici etkisinin NO bağımsız olduğu gösterilmiştir (Teague, Asiedu ve Moore, 2002). Sıçan kolon düz kas dokusunda yapılan bir çalışmada, EAU aracılı düşük ve yüksek frekanslı kasılma yanıtlarının olduğu, bu yanıtların sodyum kanal inhibitörü tetrodotoksin (TTX) varlığında devam ettiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada, NaHS'nin EAU aracılı düşük frekanslı nörojenik kasılma yanıtlarını azalttığı, ancak yüksek frekanslı kasılma yanıtlarını değiştirmediği; L-NAME gruplarında ise NaHS'nin EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisinin NO'dan bağımsız olduğu saptanmıştır (Gil ve diğerleri, 2013). Tavşan kolon düz kas dokusunda, NaHS'nin, NO donörüne bağlı oluşan gevşeme yanıtlarını arttırdığı, bu etkinin NaHS ile, cGMP'yi yıkan enzim PDE5'in aktivitesindeki inhibisyon sonucu NO ile oluşan cGMP seviyesindeki artışa bağlı olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (Nalli ve diğerleri, 2017). Mevcut çalışmada, literatürle benzer şekilde, H₂S'nin distal kolon düz kasında EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını azalttığı ve bu etkinin konsantrasyona bağlı olarak olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda düşük ve yüksek konsantrasyonlarda NaHS'nin çift yönlü etki gösterdiği bildirilmiştir (Ali ve diğerleri, 2006; Zhao ve diğerleri, 2009). H₂S ile NO farklı dokularda birçok mekanizma aracılığıyla birbirlerinin etkilerini olumlu veya olumsuz etkileyebildikleri, oldukça karmaşık bir ilişki içerisinde. Sunulan çalışmada ilgili konsantrasyonlarda H₂S'nin çift yönlü etki göstermediği saptanmıştır. NaHS'nin L-NAME varlığında EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını inhibe edici etkisinin değişmediği tespit edilmiştir. Bu bulgular, H₂S'nin EAU aracılı yanıtlar üzerindeki etkisine NO'nun katkısının olmadığı göstermiş ve bu bulgu literatürdeki bazı çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Araştırmalarda saptanan farklı yanıtlar tür ve doku farklılığına bağlı olabilir.

Sunulan çalışmada, L-sistein tüm dokularda, NO-bağımlı EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını konsantrasyona bağlı olarak azaltmıştır. L-NAME ile inkübe edilen NO-bağımsız dokularda, L-sistein'in azaltıcı etkisinin benzer olduğu saptanmıştır. Bulgular, L-sistein'in EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisinin NO ile ilişkili olmadığını göstermektedir. L-sistein, endojen H₂S sentezi için temel substrattır. NaHS ve L-sistein'in

düz kas fonksiyonları üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Ancak, bu etkilerinin mekanizmaları ve karşılaştırılabilir etkileri hala araştırılmaktadır. Fare gastrik fundusunda yapılan bir çalışmada, L-sistein ile inkübasyon sonrası H_2S miktarının üç kat arttığı, spontan kasılma yanıtlarının inhibe olduğu ve EAU aracılı nörojenik gevşeme yanıtlarının arttığı saptanmış; bu etkilerin NO ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (Xiao ve diğerleri, 2015). Nagao ve arkadaşları, L-sistein'in, sıçan jejunum sirküler kas dokusunda konsantrasyona bağlı olarak spontan kasılma yanıtlarını azalttığını tespit etmişlerdir (Nagao ve diğerleri, 2012). Grubun başka bir çalışmasında ise sıçan ileum longitudinal düz kas dokusunda endojen H_2S ile oluşan spontan kasılmalarındaki inhibisyon yanıtı, L-sistein varlığında saptanmamıştır (Nagao ve diğerleri, 2011). Tavşan alt özofagus sfinkterinde, L-sistein'in EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını azalttığı ve bu inhibisyonun NO ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Koc ve diğerleri, 2024). Fare ileum düz kas dokusunda, L-sistein'in EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını ve bazal tonusu azalttığı saptanmıştır (Yamane ve diğerleri, 2014). Tavşan kolon düz kasında, L-sistein'in, NO donörüne bağlı oluşan gevşeme yanıtlarını arttırdığı saptanmıştır ve bu durum H_2S 'nin NO'nun gevşetici etkisine katkıda bulunduğunu desteklemektedir (Nalli ve diğerleri, 2017). Sıçan kolon düz kas dokusunda yapılan başka bir çalışmada ise, L-sistein'in spontan kasılma yanıtlarını azalttığı ve PAG, AOAA ve L-NAME varlığında spontan kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisinin zayıfladığı tespit edilmiştir. Enzim inhibitörleri varlığında L-sistein'in etkisinin tamamen ortadan kalkmaması, L-sistein'in etkilerinin sadece H_2S 'ye bağlı olmayabileceğini, reseptör ve kanallar üzerinde direkt etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Aynı çalışmada L-sistein'in etkisinin TTX varlığında azaldığı saptanmış, bu da nöronal mekanizmaların L-sistein'in etkisine katkısı sağladığını göstermektedir (Quan ve diğerleri, 2024). Diğer çalışma sonuçlarından farklı olarak, sıçan kolon düz kasında yapılan bir çalışmada L-sisteinin spontan kasılmaları düz kas depolarizasyonu sonucu arttırdığı, bu artışın NMDA antagonisti ve TTX varlığında değişmediği bildirilmiştir. Bu bulgu, L-sistein'in spontan kasılmaları arttırıcı etkisinin doğrudan kas dokusu üzerinden gerçekleşmiş olabileceğini desteklemektedir (Gil, Gallego ve Jimenez, 2011). L-sistein'in etkisinin, NAHS ile benzer olması beklenirken, farklı olduğunu destekleyen pek çok çalışma bulunmaktadır. Sunulan çalışmada, L-sistein'in, EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine olan etkisinin L-NAME varlığında değişmediği saptanmıştır. L-sistein varlığında, EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarındaki azalmanın, NaHS'ye kıyasla daha az olduğu tespit edilmiştir. Literatürde benzer sonuçlar ortaya koyan çalışmalar mevcuttur. Bu veriler, L-sistein'in

endojen H₂S sentezi ve NO-bağımsız mekanizmalar aracılığı ile gevşetici etki gösterdiğini desteklemektedir. Söz konusu etki mekanizmaları arasında L-sistein'in farklı reseptör ve kanalları modüle edici etkisinin rol oynuyor olabileceği düşünülmektedir (Quan ve diğerleri, 2024).

Sunulan çalışmada, kolonda AOAA ve PAG ile EAU aracılı kasılma yanıtlarının azaldığı gösterilmiştir. AOAA ve PAG ile EAU aracılı kasılma yanıtlarındaki oluşan bu azalma, L-NAME varlığında değişmemiştir. PAG, CSE enziminin, AOAA ise CBS inhibitörüdür. Sıçan kolon düz kas dokusunda PAG ve AOAA varlığında, kalorimetrik ölçümlerle H₂S miktarında azalma olduğu gösterilmiştir (Gil, Gallego ve Jimenez, 2011). Kolon kanseri tanısı ile kolon rezeksiyonu yapılan hastalardan alınan sağlam kolon dokularında, PAG ve AOAA ile depolarizasyon ve kasılma yanıtı olduğu bildirilmiştir (Martinez-Cutillas ve diğerleri, 2015). Sıçan kolonunda yapılan bir diğer çalışmada, PAG'ın düz kas depolarizasyonu sonucu spontan kasılma yanıtlarını arttırdığı, TTX ve L-NAME varlığında da yanıtların benzer olduğu bildirilmiştir. AOAA'nın membran depolarizasyonu ve EAU aracılı gevşeme yanıtı oluşturmadığı, spontan kasılma yanıtlarında geçici bir artış sağladığı bildirilmiştir. AOAA'nın, TTX veya L-NAME varlığında şaşırtıcı bir şekilde, spontan motiliteyi inhibe ettiği saptanmıştır. Bu bulgular H₂S'nin GİS'te inhibitör bir sinyal molekülü olarak rol oynadığını göstermektedir. PAG'ın NO varlığında etkisinin devam etmesi, motiliteyi arttırıcı etkisinin NO'dan bağımsız olduğunu ortaya koymaktadır. PAG ile AOAA'ya göre daha net sonuçlar alınmasının, dokuda CSE varlığının CBS'den baskın olmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Gil, Gallego ve Jimenez, 2011). Tavşan alt özofagus sfinkter düz kas dokusunda yapılan bir çalışmada, PAG ve AOAA'nın EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını azalttığı saptanmıştır. Aynı çalışmada, PAG ve AOAA ile oluşan gevşeme yanıtının L-NAME varlığında azaldığının saptanması, NO'nun H₂S sentez üzerinde direkt veya indirekt katkısı olduğunu desteklemektedir (Koc ve diğerleri, 2024). Fare mide fundus düz kas dilatasyonunda, L-sistein (1 mM) uygulanması ile artış olduğu ve bu etkinin AOAA ile geri çevrildiği gözlenmiştir. Aynı çalışmada EAU aracılı nörojenik gevşeme yanıtlarının azaldığı tespit edilmiştir (Xiao ve diğerleri, 2015). Kobay ileum düz kasında, PAG varlığında EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarında artış olduğu saptanmıştır (Teague, Asiedu ve Moore, 2002). Sunulan çalışmada PAG ve AOAA, tüm dokularda EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını konsantrasyona bağlı olarak azaltmıştır. PAG ve AOAA'nın H₂S sentezini azalttığı göz önünde bulundurulduğunda, EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarında beklenen artış gözlemlenmemiştir. PAG ve AOAA çalışmada

ayrı inkübasyonlar şeklinde uygulanmıştır. Dolayısı ile, inhibisyon etkisi uygulanan enzim dışında diğer enzim aracılığıyla sentezlenen H_2S 'nin etkisinden kaynaklanıyor olabilir. Öte yandan, PAG ve AOAA'nın CSE ve CBS enzimlerinin inhibisyonundan bağımsız farklı bir etki mekanizması ile kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisi bulunuyor olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada ayrıca, AOAA'nın kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisinin, L-sistein ve PAG'dan daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu bulgu, AOAA'nın H_2S oluşumunun dışında, doğrudan gevşetici etki mekanizmaları ile etkileşiminden kaynaklanıyor olabilir. Her iki molekülün farmakolojilerinde henüz netleşmemiş olası etki mekanizmaları, farklı sonuçların ortaya çıkmasına neden oluyor olabilir. PAG ve AOAA'nın enzim inhibisyonu dışında hangi mekanizmalarla nörojenik kasılma yanıtlarını azalttığının anlaşılması için ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Sunulan çalışmada H_2S , PAG ve AOAA'nın, KCl ve $CaCl_2$ ile kasılan dokularda gevşeme yanıtı oluşturduğu saptanmıştır. Sıçan aortasında NaHS'nin KCl ile oluşan kasılma yanıtları üzerine gevşetici etkisi olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada iki farklı konsantrasyonda KCl (20 mM ve 100 mM) uygulanmış ve NaHS'nin kasılma yanıtlarındaki gevşetici etkisinin düşük konsantrasyondaki KCl ile daha fazla olduğu bildirilmiştir. Bulgular H_2S 'nin gevşetici etkisinde potasyum geçirgenliğinin rol oynadığını desteklemektedir (Zhao ve diğerleri, 2001). Sıçan torasik aortasında yapılan başka bir çalışmada, H_2S 'nin epinefrin ile kasılma yanıtlarını 320 μM konsantrasyonunda tama yakın gevşettiği, bu etkinin atropin, indometazin, l-NAME ve glibenklamid ile değişmediği saptanmıştır (Kiss, Deitch ve Szabo, 2008). $PGF2\alpha$ ile kasılan fare kolon sirküler düz kas dokusunda, H_2S 'nin konsantrasyon ilişkili gevşeme yanıtı oluşturduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, H_2S 'nin 80 mM KCl ile oluşturulan kasılma yanıtları üzerinde de gevşetici etkisi olduğu gösterilmiştir (Dhaese, Van Colen ve Lefebvre, 2010). İnsan kolon düz kas dokusunda ise, NaHS'nin TTX varlığında, düz kas spontan kasılmalarını konsantrasyona bağlı olarak azalttığı saptanmış; bu da H_2S 'nin gevşetici etkisinin doğrudan düz kas etkili postsinaptik mekanizmalar aracılığıyla gerçekleştiğini desteklemektedir (Martinez-Cutillas ve diğerleri, 2015). Tavşan alt özofagusun sfinkter düz kas dokusunda, 80 mM KCl ve 2,5 mM $CaCl^{+2}$ ile kasılan dokularda NaHS'nin gevşetici etkisi olduğu; buna karşın L-sistein ve PAG'ın kasılma yanıtlarını değiştirmediği tespit edilmiştir (Kara ve diğerleri, 2016). Başka bir tavşan alt özofagusun sfinkter düz kas çalışmasında da benzer sonuçlar elde edilmiş, 80 mM KCl ve 2,5 mM $CaCl^{+2}$ ile kasılan dokularda NaHS'nin gevşetici etkisi olduğu, ancak L-sistein, PAG ve AOAA'nın gevşemeye neden olmadığı saptanmıştır (Koc ve diğerleri, 2024). Kobay

ileum düz kas dokusunda, EAU aracılı kasılma yanıtlarında %90'dan fazla azalma oluşturan NaHS'nin, düşük ve yüksek konsantrasyonlarında KCl ile kasılan dokularda yanıtları değiştirmedeği saptanmıştır (Teague, Asiedu ve Moore, 2002). AOAA'nın KCl ile kasılan domuz karotid arter düz kasında gevşetici etki gösterdiği bildirilmiştir (Barron, Gu ve Parrillo 1998). Sunulan çalışmada, kolonda NaHS ve L-sistein'in EAU aracılı kasılma yanıtları üzerindeki azaltıcı etkileri sırasıyla %36 ve %12 iken, KCl ve CaCl_2 uygulanarak postsinaptik etkileri araştırıldığında, kasılma yanıtları üzerindeki gevşetici etkilerinin sırasıyla %59 ve %31 olarak tespit edilmiştir. Presinaptik ve postsinaptik etkileri değerlendirildiğinde, NaHS'nin postsinaptik etkisinin daha belirgin, yani kasılma yanıtlarını daha fazla azalttığı saptanmıştır. Bu durum, H_2S 'nin presinaptik bir modülatör olarak kasılma yanıtı oluşturmamasından kaynaklanıyor olabileceği düşündürmektedir. Eğer H_2S etkisini sadece postsinaptik alanda yapıyor olsaydı, her iki sistemde de benzer gevşetici etkinin oluşması beklenirdi. Ancak, sunulan çalışmada presinaptik ve postsinaptik etki arasında %20 oranında bir fark olduğu tespit edilmiştir. Bu fark, H_2S 'nin presinaptik bir kasıcı mekanizmanın modülasyonunda rol oynadığına dair bir kanıt olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir. Öte yandan, postsinaptik alanda iyon kanalları üzerinde maddenin direkt modülasyon etkisi ve olası çoklu yolların etkilenmesi etkinin daha belirgin olmasına sebep olmuş olabilir.

Sunulan çalışmada NaHS'nin NO-bağımlı ve NO-bağımsız kasılma yanıtları üzerinde inhibe edici etkisine K_{ATP} , K_V ve BK_{Ca} kanallarının rolünü araştırmak amacıyla sırasıyla glibenklamid, 4-AP ve iberiotoksin uygulanmıştır. NaHS'nin yüksek konsantrasyonlarında, glibenklamid ve 4-AP varlığında, NO-bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine inhibe edici etkisinde anlamlı azalma saptanmıştır. Bununla birlikte, NO varlığında K^+ kanallarının inhibisyonunun NaHS'nin etkisinde rol oynamadığı tespit edilmiştir. Sıçan aorta düz kas dokusunda NaHS'nin, K^+ kanallarını modüle ederek gevşetici etki gösterdiği bildirilmiştir (Zhao ve diğerleri, 2001). Kobay mide düz kas dokusunda yapılan bir çalışmada, NaHS'nin çift yönlü etkisi saptanmamış, NaHS'nin düşük konsantrasyonunda oluşan spontan kasılmalarındaki inhibisyonun non-selektif K^+ kanal inhibitörü tetraetilamonyum (TEA) ve glibenklamid ile, yüksek konsantrasyonunda tonik kasılmaları arttırıcı etkisinin ise TEA ve 4-AP varlığında azaldığı saptanmıştır (Zhao ve diğerleri, 2009). Sıçan ve insan kolon düz kas dokusunda, NaHS'nin spontan kasılmaları azaltıcı etkisinin, glibenklamid ve SK_{Ca} kanal inhibitörü apamin ile inhibe olduğu saptanmıştır. Bu bulgu, K_{ATP} ve SK_{Ca} kanallarının NaHS'nin inhibisyon etkisine katkısı olduğunu desteklemektedir (Gallego ve diğerleri,

2008). Sıçan kolon düz kas dokusunda NaHS'nin spontan kasılmaları inhibe ettiği, bu etkinin L-tipi kalsiyum kanal ve BK_{Ca} kanal inhibisyonu ile oluştuğu bildirilmiştir (Quan ve diğerleri, 2015). Kobay ileum düz kas dokusunda, NaHS'nin EAU aracılı nörojenik kasılma azalttığı, bu etkinin glibenklamid ile inhibe olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgu, NaHS'nin damar düz kas gevşetici etkisini K_{ATP} kanallarının modülasyon aracılığı ile gerçekleştirdiğini desteklemektedir (Teague, Asiedu ve Moore, 2002). Fare kolon düz kas dokusunda PGF2 α aracılı kasılma yanıtı üzerine NaHS'nin gevşetici etkisinin, K⁺ kanal inhibitörleri (glibenklamid, apamin, karbidotoksin, baryum klorür, 4-AP) ile değişmediği, sonuç olarak, NaHS'nin gevşetici etkisinde K⁺ kanallarının rol oynamadığı saptanmıştır (Dhaese, Van Colen ve Lefebvre, 2010). Fare mide fundus düz kas dokusunda, NaHS'nin, mide fundus tonusunu arttırdığı, bu etkisine K_V kanallarının katkısı olduğu tespit edilmiştir (Meng ve diğerleri, 2015). Sıçan jejunum düz kas dokusunda yapılan bir çalışmada, NaHS'nin spontan kasılma yanıtını azaltıcı etkisinin glibenklamid varlığında azaldığı bildirilmiştir. Bu bulgular, NaHS'nin gevşetici etkisinin K_{ATP} kanal modülasyonu aracılığı gerçekleştiği desteklemektedir (Nagao ve diğerleri, 2012). Yapılan çalışmalar, NaHS'nin farklı düz kas dokuları üzerinde gevşetici etkisi olduğu, bu etkinin oluşmasında direkt ve/veya indirekt olarak çeşitli yolakların ve iyon kanallarının katkısı olduğunu desteklenmektedir. Sunulan çalışmada, distal kolon düz kas dokusunda, yüksek konsantrasyondaki NaHS'nin EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisinin glibenklamid ve 4-AP varlığında, beklenenin aksine daha fazla oluştuğu saptanmıştır. Bu etkinin NO varlığında oluşmadığı tespit edilmiştir. NaHS'nin inhibitör etkisine K⁺ kanallarının katkısını araştırdığımızda H₂S ve NO arasındaki karmaşık ilişkiyle yeniden karşılaştık. NaHS ve NO, genellikle potasyum kanallarını aktive ederek hücreyi gevşetici yönde etkilemektedir. Ancak, bu çalışmada NO varlığında potasyum kanal inhibisyonu ile oluşan kasılma yanıtlarındaki azalmanın görülmemesi, NO'nun etkilerinin NaHS ile birleşerek antagonistik bir etki yaratması olasılığını düşündürmektedir. Mevcut ilişkilerin ve etki mekanizmalarının aydınlatılması için ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Sunulan çalışmada L-sistein'in inhibe edici etkisinde K_{ATP}, K_V ve BK_{Ca} kanallarının rolünü araştırmak amacıyla sırasıyla glibenklamid, 4-AP ve iberiotoksin uygulanmıştır. L-sistein'in EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerindeki inhibisyon etkisinde, K_{ATP}, K_V ve K_{Ca} kanallarının rol oynamadığı saptanmıştır. Fare ileum düz kas dokusunda, glibenklamid (5 μ M) varlığında, L-sistein'in (1 mM) EAU aracılı kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisinin kaybolduğu saptanmıştır (Yamane ve diğerleri, 2014). Öte yandan tavşan alt özofagus düz

kas dokusunda, glibenklamid, TEA ve iberiotoxin varlığında, L-sistein'in EAU aracılı NO-bağımlı ve NO-bağımsız kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisinin değişmediği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, 4-AP varlığında L-sistein'in EAU aracılı NO-bağımlı kasılma yanıtları üzerindeki etkisinin azaldığı, NO-bağımsız kasılma yanıtları üzerindeki etkisinin değişmediği saptanmıştır (Koc ve diğerleri, 2024). Sıçan korpus kavernozumunda, fenilefrin ile kasılan düz kas dokularında L-sistein ile oluşan gevşeme yanıtlarının, TEA ve 4-AP varlığında azaldığı tespit edilmiştir (Abd Elmoneim ve diğerleri, 2017). İnsan gebe myometrium düz kas dokusunda, glibenklamid varlığında L-sistein'in spontan kasılma yanıtları üzerinde inhibisyon oluşturmadığı bildirilmiştir (You ve diğerleri, 2011). Sunulan çalışmada L-sistein'in EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine gevşetici etkisine K_{ATP} , K_v ve BK_{Ca} kanallarının katkısı saptanmamıştır. Kolon düz kasında L-sistein'in EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine olan gevşetici etkisinin oluşmasında, K^+ kanalları dışında farklı mekanizmaların rol oynadığı düşünülmektedir.

Sunulan çalışmada, sıçan distal kolonunda PAG ve AOAA'nın EAU aracılı NO-bağımlı ve NO-bağımsız kasılma yanıtlarının oluşumunda K^+ kanal blokörlerinin rolü araştırılmıştır. Glibenklamid, 4-AP, iberiotoxin ile PAG'ın 10^{-5} M konsantrasyonunda ve buna ek olarak iberiotoxin ile PAG 10^{-3} M konsantrasyonunda, EAU aracılı oluşan kasılma yanıtlarındaki azalmanın geri döndüğü tespit edilmiştir. Bu etki L-NAME varlığında saptanmamıştır. Bu bulgular, PAG'ın düşük konsantrasyonda, nörojenik kasılma yanıtları üzerindeki inhibitör etkisinde, K^+ kanallarının rol oynadığını desteklemektedir.

Glibenklamid ve iberiotoxin varlığında, AOAA'nın yüksek konsantrasyonunda EAU ile oluşan kasılma yanıtlarındaki azalmanın arttığı saptanmıştır. Bu etkinin, iberiotoxin ile L-NAME uygulanan NO-bağımsız grupta devam ettiği gözlenmiştir. Tavşan alt özofagus düz kasında, PAG'ın EAU aracılı NO-bağımlı ve NO-bağımsız kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisinin, glibenklamid, iberiotoxin ve 4-AP varlığında değişmediği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, TEA varlığında PAG'ın EAU aracılı NO-bağımlı kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisinin azaldığı, ayrıca L-NAME varlığında bu etkinin oluşmadığı saptanmıştır. Buna ek olarak, AOAA'nın EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisinin, NO-bağımlı ve NO-bağımsız gruplarda glibenklamid, iberiotoxin, TEA ve 4-AP varlığında değiştirmedikleri saptanmıştır (Koc ve diğerleri, 2024). Sunulan çalışmada ise, AOAA'nın kasılma yanıtları üzerindeki inhibisyona K_{ATP} ve BK_{Ca} kanallarının katkısını ve NO bağımlı gerçekleştiğini göstermektedir.

Sunulan çalışmada H₂S'nin sıçan kolonunda endojen enzimatik sentezini tespit etmek için CSE ve CBS antikorları ile enzimlerin varlığı araştırılmıştır. CBS ve CSE'nin sıçan kolonunda eksprese edildiği saptanmıştır. Sıçan sirküler ve longitudinal düz kas dokusunda, mukoza ve submukozada CSE saptanmış, enterik nöronlarda eksprese edildiği gösterilmiştir. CBS'nin esas olarak kolon endotelinde, ayrıca kas tabakada yaygın paternde eksprese edildiği, nöronlarda ekspresyonunun saptanmadığı bildirilmiştir (Gil, Gallego ve Jimenez, 2011). Sıçan kolon düz kas hücrelerinde hem CBS hem de CSE endojen H₂S sentezi üretimine katıldığı bildirilmiştir (Quan ve diğerleri, 2015). Kobay ve insan kolon submukoza ve kobay myenterik pleksusunda CSE antikorlarının varlığı saptanmıştır (Schicho ve diğerleri, 2006). Sıçan kolon sirküler ve longitudinal düz kas dokularında ve myenterik pleksus nöronlarında CSE'nin güçlü eksprese edildiği, CBS'nin tamamen farklı patern göstererek myenterik pleksus nöronlarının sitoplazmalarında ve zayıf olarak epitel hücrelerde bulunduğunu saptanmış, mukoza ve submukozası çıkarılan dokularda yapılan Western blot analizde CBS ve CSE ekspresyonunun *down* regüle olduğu bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 2013). Sunulan çalışmada literatür ile uyumlu olarak sıçan distal kolon düz kas dokusunda CSE ve CBS enzimlerinin varlığı saptanmıştır.

6. SONUÇ

- 1- Elektriksel alan uyarısı aracılı nörojenik kasılma yanıtlarının, guanetidin ve indometasin ve L-NAME varlığında değişmediği, atropin varlığında istatistiksel olarak anlamlı azaldığı tespit edilmiştir.
- 2- Endojen ve eksojen H_2S 'nin EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını inhibe ettiği ve bu etkinin L-NAME varlığında değişmediği dolayısı ile NO-bağımsız olduğu saptanmıştır.
- 3- Sodyum hidrojen sülfür'ün yüksek konsantrasyonlarında, glibenklamid ve 4-AP varlığında, NO-bağımsız EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisi üzerinde anlamlı azalma saptanmış, iberiotoksin varlığında EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları değişmemiştir. NO varlığında K^+ kanallarının inhibisyonunun NaHS'nin etkisine katkısı olmadığı tespit edilmiştir. H_2S 'nin EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisinin K^+ kanallarıyla ilişkili olduğunun belirlenmesi ve bu ilişkinin H_2S 'nin sadece yüksek konsantrasyonunda ve L-NAME varlığında saptanması, H_2S 'nin konsantrasyona bağlı olarak çoklu mekanizmalar ve farklı yollarla etkileşimde bulunduğunu desteklemektedir.
- 4- Sodyum hidrojen sülfür'ün postsinaptik gevşetici etkisinin daha belirgin olduğu saptanmıştır. Bu etkinin gözlenmesi, H_2S 'nin presinaptik kasıcı mekanizmalar üzerinde modülasyon etkisi gösterebileceğini düşündürmektedir.
- 5- Endojen H_2S 'nin EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisinde K^+ kanallarının katkısı saptanmamıştır.
- 6- Hidrojen sülfür sentez enzim inhibitörleri PAG ve AOAA'nın EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını azalttığı ve bu etkinin NO-bağımsız olduğu tespit edilmiştir.
- 7- Potasyum kanallarının PAG ve AOAA'nın EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını azaltıcı etkisi üzerinde katkısı olduğu ve bu etkinin sentez enzim inhibitörlerinin konsantrasyonuna bağlı olarak ortaya çıktığı gözlemlenmiştir.

- 8- H₂S'nin kolon düz kas dokusunda kasılma yanıtlarını modüle etme potansiyelini ve bu etkilerin altında yatan çoklu mekanizmaları ortaya koymakta olup, gelecekte yapılacak çalışmaların bu mekanizmaların daha ayrıntılı bir şekilde incelenmesine ve klinik uygulamalarda H₂S'nin terapötik potansiyelinin değerlendirilmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abd Elmoneim, H., Sharabi, F., El Din, M. M., Louedec, L., Norel, X., and Senbel, A. (2017). Potassium channels modulate the action but not the synthesis of hydrogen sulfide in rat corpus cavernosum. *Life Sciences*, 189, 39-43.
- Abe, K., and Kimura, H. (1996). The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *Journal of Neuroscience*, 16(3), 1066-1071.
- Alexander, S. P., Benson, H. E., Faccenda, E., Pawson, A. J., Sharman, J. L., Catterall, W. A., Spedding, M., Peters, J. A., Harmar, A. J., and CGTP Collaborators. (2013). The Concise Guide to PHARMACOLOGY 2013/14: ion channels. *British Journal of Pharmacology*, 170(8), 1607-1651.
- Ali, M. Y., Ping, C. Y., Mok, Y. Y., Ling, L., Whiteman, M., Bhatia, M., and Moore, P. K. (2006). Regulation of vascular nitric oxide in vitro and in vivo; a new role for endogenous hydrogen sulphide? *British Journal of Pharmacology*, 149(6), 625-634.
- Amato, A., Baldassano, S., Liotta, R., Serio, R., and Mule, F. (2014). Exogenous glucagon-like peptide 1 reduces contractions in human colon circular muscle. *Journal of Endocrinology*, 221(1), 29-37.
- Amberg, G. C., Baker, S. A., Koh, S. D., Hatton, W. J., Murray, K. J., Horowitz, B., and Sanders, K. M. (2002a). Characterization of the A-type potassium current in murine gastric antrum. *The Journal of Physiology*, 544(2), 417-428.
- Amberg, G. C., Koh, S. D., Hatton, W. J., Murray, K. J., Monaghan, K., Horowitz, B., and Sanders, K. M. (2002b). Contribution of Kv4 channels toward the A-type potassium current in murine colonic myocytes. *The Journal of Physiology*, 544(2), 403-415.
- Anuar, F., Whiteman, M., Siau, J. L., Kwong, S. E., Bhatia, M., and Moore, P. K. (2006). Nitric oxide-releasing flurbiprofen reduces formation of proinflammatory hydrogen sulfide in lipopolysaccharide-treated rat. *British Journal of Pharmacology*, 147(8), 966-974.
- Avramopoulos, D., Cox, T., Kraus, J. P., Chakravarti, A., and Antonarakis, S. E. (1993). Linkage mapping of the cystathionine β -synthase (CBS) gene on human chromosome 21 using a DNA polymorphism in the 3' untranslated region. *Human Genetics*, 90(5), 566-568.
- Balligand, J. L., Kobzik, L., Han, X., Kaye, D. M., Belhassen, L., O'Hara, D. S., Kelly, R. A., Smith T. W., and Michel, T. (1995). Nitric Oxide-dependent Parasympathetic Signaling Is Due to Activation of Constitutive Endothelial (Type III) Nitric Oxide Synthase in Cardiac Myocytes*. *Journal of Biological Chemistry*, 270(24), 14582-14586.

- Balligand, J. L., Ungureanu-Longrois, D., Simmons, W. W., Pimental, D., Malinski, T. A., Kapturczak, M., Taha, Z., Lowenstein, C. J., Davidoff, A. J., Kelly, R. A. (1994). Cytokine-inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in cardiac myocytes. Characterization and regulation of iNOS expression and detection of iNOS activity in single cardiac myocytes in vitro. *Journal of Biological Chemistry*, 269(44), 27580-27588.
- Bao, L., Vlček, Č., Pačes, V., and Kraus, J. P. (1998). Identification and tissue distribution of human cystathionine β -synthase mRNA isoforms. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 350(1), 95-103.
- Barron, J. T., Gu, L., and Parrillo, J. E. (1998). Malate-aspartate shuttle, cytoplasmic NADH redox potential, and energetics in vascular smooth muscle. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 30(8), 1571-1579.
- Beauchamp, R. O., Bus, J. S., Popp, J. A., Boreiko, C. J., Andjelkovich, D. A., and Leber, P. (1984). A critical review of the literature on hydrogen sulfide toxicity. *Critical Reviews in Toxicology*, 13(1), 25-97.
- Braunstein, A. E., Goryachenkova, E. V., and Lac, N. D. (1969). Reactions catalysed by serine sulphydrase from chicken liver. *Biochimica et Biophysica Acta -Enzymology*, 171(2), 366-368.
- Bucci, M., Papapetropoulos, A., Vellecco, V., Zhou, Z., Pyriochou, A., Roussos, C., Roviezzo, F., Brancaleone, V., and Cirino, G. (2010). Hydrogen sulfide is an endogenous inhibitor of phosphodiesterase activity. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 30(10), 1998-2004.
- Camilleri, M. (2021). Gastrointestinal motility disorders in neurologic disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 131(4), e143771.
- Carl, A., Bayguinov, O., Shuttleworth, C. W., Ward, S. M., and Sanders, K. M. (1995). Role of Ca (2+)-activated K⁺ channels in electrical activity of longitudinal and circular muscle layers of canine colon. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 268(3), 619-627.
- Chen, M. X., Gorman, S. A., Benson, B., Singh, K., Hieble, J. P., Michel, M. C., Tate, S. N. and Trezise, D. J. (2004a). Small and intermediate conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels confer distinctive patterns of distribution in human tissues and differential cellular localisation in the colon and corpus cavernosum. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 369, 602-615.
- Cheng, Y., Ndisang, J. F., Tang, G., Cao, K., and Wang, R. (2004). Hydrogen sulfide-induced relaxation of resistance mesenteric artery beds of rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 287(5), 2316-2323.
- Cirino, G., Szabo, C., and Papapetropoulos, A. (2023). Physiological roles of hydrogen sulfide in mammalian cells, tissues, and organs. *Physiological Reviews*, 103(1), 31-276.

- Coletta, C., Papapetropoulos, A., Erdelyi, K., Olah, G., Módis, K., Panopoulos, P., Asimakopoulou, A., Gero, D., Sharina, I., Martin, E., and Szabo, C. (2012). Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(23), 9161-9166.
- Curro, D. (2016). The modulation of potassium channels in the smooth muscle as a therapeutic strategy for disorders of the gastrointestinal tract. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 104, 263-305.
- d'Emmanuele di Villa Bianca, R., Sorrentino, R., Maffia, P., Mirone, V., Imbimbo, C., Fusco, F., De Palma, R., Ignarro, L. J., and Cirino, G. (2009). Hydrogen sulfide as a mediator of human corpus cavernosum smooth-muscle relaxation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(11), 4513-4518.
- Dhaese, I., Van Colen, I., and Lefebvre, R. A. (2010). Mechanisms of action of hydrogen sulfide in relaxation of mouse distal colonic smooth muscle. *European Journal of Pharmacology*, 628(1-3), 179-186.
- Dhaese, I., Vanneste, G., Sips, P., Buys, E. S., Brouckaert, P., and Lefebvre, R. A. (2009). Small intestinal motility in soluble guanylate cyclase α 1 knockout mice: (Jejunal phenotyping of sGC α 1 knockout mice). *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 379(5), 473-487.
- Distrutti, E., Sediari, L., Mencarelli, A., Renga, B., Orlandi, S., Antonelli, E., Roviezzo, F., Morelli, A., Cirino, G., Wallace, J. L., and Fiorucci, S. (2006). Evidence that hydrogen sulfide exerts antinociceptive effects in the gastrointestinal tract by activating KATP channels. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 316(1), 325-335.
- Dunn, W. R., Alexander, S. P., Ralevic, V., and Roberts, R. E. (2016). Effects of hydrogen sulphide in smooth muscle. *Pharmacology & Therapeutics*, 158, 101-113.
- Elrod, J. W., Calvert, J. W., Morrison, J., Doeller, J. E., Kraus, D. W., Tao, L., Jiao, X., Scalia, R., Kiss, L., Szabo, C., Kimura, H., Chow, C. W., and Lefer, D. J. (2007). Hydrogen sulfide attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by preservation of mitochondrial function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(39), 15560-15565.
- Enokido, Y., Suzuki, E., Iwasawa, K., Namekata, K., Okazawa, H., and Kimura, H. (2005). Cystathionine β -synthase, a key enzyme for homocysteine metabolism, is preferentially expressed in the radial glia/astrocyte lineage of developing mouse CNS. *The FASEB Journal*, 19(13), 1854-1856.
- Erdogan, A., and Lee, Y. Y. (2020). *Clinical and basic neurogastroenterology and motility*. Amsterdam: Elsevier Publication, 113-124.
- Fernandes, V. S., Ribeiro, A. S., Barahona, M. V., Orensanz, L. M., Martínez-Sáenz, A., Recio, P., Martinez, A. C., Bustamante, S., Carballido, J., Garcia-Sacristan, A., Prieto, D., and Hernández, M. (2013). Hydrogen sulfide mediated inhibitory neurotransmission to the pig bladder neck: role of KATP channels, sensory nerves and calcium signaling. *The Journal of Urology*, 190(2), 746-756.

- Finkelstein, J. D., Kyle, W. E., Martin, J. J., and Pick, A. M. (1975). Activation of cystathionine synthase by adenosylmethionine and adenosylethionine. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 66(1), 81-87.
- Fiorucci, S., Antonelli, E., Distrutti, E., Rizzo, G., Mencarelli, A., Orlandi, S., Zanardo, R., Renga, B., Di Sante, M., Morelli, A., Cirino, G., and Wallace, J. L. (2005). Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs. *Gastroenterology*, 129(4), 1210-1224.
- Fiorucci, S., Distrutti, E., Cirino, G., and Wallace, J. L. (2006). The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver. *Gastroenterology*, 131(1), 259-271.
- Foster, C. D., Speakman, M. J., Fujii, K., and Brading, A. F. (1989). The effects of cromakalim on the detrusor muscle of human and pig urinary bladder. *British Journal of Urology*, 63(3), 284-294.
- Francis, S. H., Busch, J. L., and Corbin, J. D. (2010). cGMP-dependent protein kinases and cGMP phosphodiesterases in nitric oxide and cGMP action. *Pharmacological Reviews*, 62(3), 525-563.
- Furchgott, R. F., and Zawadzki, J. V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288(5789), 373-376.
- Gai, J. W., Wahafu, W., Guo, H., Liu, M., Wang, X. C., Xiao, Y. X., Zhang, L., Xin, Z. C., and Jin, J. (2013). Further evidence of endogenous hydrogen sulphide as a mediator of relaxation in human and rat bladder. *Asian Journal of Andrology*, 15(5), 692.
- Gallego, D., Clave, P., Donovan, J., Rahmati, R., Grundy, D., Jimenez, M., and Beyak, M. J. (2008). The gaseous mediator, hydrogen sulphide, inhibits in vitro motor patterns in the human, rat and mouse colon and jejunum. *Neurogastroenterology & Motility*, 20(12), 1306-1316.
- Gil, V., Gallego, D., and Jiménez, M. (2011). Effects of inhibitors of hydrogen sulphide synthesis on rat colonic motility. *British Journal of Pharmacology*, 164(2b), 485-498.
- Gil, V., Gallego, D., Grasa, L., Martín, M. T., and Jiménez, M. (2010). Purinergic and nitrergic neuromuscular transmission mediates spontaneous neuronal activity in the rat colon. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 299(1), 158-169.
- Gil, V., Gallego, D., Moha Ou Maati, H., Peyronnet, R., Martinez-Cutillas, M., Heurteaux, C., Borsotto, M., and Jimenez, M. (2012). Relative contribution of SKCa and TREK1 channels in purinergic and nitrergic neuromuscular transmission in the rat colon. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 303(3), 412-423.
- Gil, V., Parsons, S. P., Gallego, D., Huizinga, J. D., and Jimenez, M. (2013). Effects of hydrogen sulphide on motility patterns in the rat colon. *British Journal of Pharmacology*, 169(1), 34-50.

- Gross, G. J., and Fryer, R. M. (1999). Sarcolemmal versus mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels and myocardial preconditioning. *Circulation Research*, 84(9), 973-979.
- Gu, Q., Wang, B., Zhang, X. F., Ma, Y. P., Liu, J. D., and Wang, X. Z. (2013). Contribution of hydrogen sulfide and nitric oxide to exercise-induced attenuation of aortic remodeling and improvement of endothelial function in spontaneously hypertensive rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 375(1-2), 199-206.
- Guyton, A. C. (1998). *Textbook of medical physiology (Tıbbi fizyoloji)*. (Çev. H. A. Çavuşoğlu) (İkinci Cilt, Sekizinci Baskı). İstanbul: Nobel Yayınevi, 981-1108.
- Hatakeyama, N., Wang, Q., Goyal, R. K., and Akbarali, H. I. (1995). Muscarinic suppression of ATP-sensitive K⁺ channel in rabbit esophageal smooth muscle. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 268(4), 877-885.
- Hennig, B., and Diener, M. (2009). Actions of hydrogen sulphide on ion transport across rat distal colon. *British Journal of Pharmacology*, 158(5), 1263-1275.
- Hille, B. (1986). Ionic channels: molecular pores of excitable membranes. *Harvey Lectures*, 82, 47-69.
- Hong, S. J., Roan, Y. F., and Chang, C. C. (1997). Spontaneous activity of guinea pig ileum longitudinal muscle regulated by Ca (2⁺)-activated K⁺ channel. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 272(5), 962-971.
- Hosoki, R., Matsuki, N., and Kimura, H. (1997). The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 237(3), 527-531.
- Hu, L. F., Wong, P. T. H., Moore, P. K., and Bian, J. S. (2007). Hydrogen sulfide attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation by inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase in microglia. *Journal of Neurochemistry*, 100(4), 1121-1128.
- Hui, Y., Du, J., Tang, C., Bin, G., and Jiang, H. (2003). Changes in arterial hydrogen sulfide (H₂S) content during septic shock and endotoxin shock in rats. *Journal of Infection*, 47(2), 155-160.
- Idrizaj, E., Traini, C., Vannucchi, M. G., and Baccari, M. C. (2021). Nitric oxide: from gastric motility to gastric dysmotility. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 9990.
- Ito, K., Kanno, T., Suzuki, K., Masuzawa-Ito, K., Takewaki, T., Ohashi, H., Asano, M., and Suzuki, H. (1992). Effects of cromakalim on the contraction and the membrane potential of the circular smooth muscle of guinea-pig stomach. *British Journal of Pharmacology*, 105(2), 335.
- Jenkinson, D. H. (2006). Potassium channels—multiplicity and challenges. *British Journal of Pharmacology*, 147(S1), 63-71.
- Jimenez, M., Gil, V., Martinez-Cutillas, M., Mañé, N., and Gallego, D. (2017). Hydrogen sulphide as a signalling molecule regulating physiopathological processes in gastrointestinal motility. *British Journal of Pharmacology*, 174(17), 2805-2817.

- Kabil, O., and Banerjee, R. (2014). Enzymology of H₂S biogenesis, decay and signaling. *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(5), 770-782.
- Kabil, O., Vitvitsky, V., Xie, P., and Banerjee, R. (2011). The quantitative significance of the transsulfuration enzymes for H₂S production in murine tissues. *Antioxidants and Redox Signaling*, 15(2), 363-372.
- Kara, H., Isli, F., Ozturk Fincan, G. S., Yildirim, S., Ercan, S., and Sarioglu, Y. (2016). The effects of hydrogen sulfide on electrical field stimulation-induced neurogenic contractile responses in isolated rabbit lower esophageal sphincter: Contribution of nitrenergic and non-adrenergic non-cholinergic transmission. *Pharmacological Reports*, 68(6), 1350-1357.
- Kierszenbaum, A. L. (2006). *Histoloji ve hücre biyolojisi*. Ankara: Palme Yayıncılık, 365-390.
- Kimura, H. (2000). Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 267(1), 129-133.
- Kimura, H. (2002). Hydrogen sulfide as a neuromodulator. *Molecular Neurobiology*, 26, 13-19.
- Kimura, H. (2010). Hydrogen sulfide: from brain to gut. *Antioxidants and Redox Signaling*, 12(9), 1111-1123.
- Kimura, Y., and Kimura, H. (2004). Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. *The Faseb journal*, 18(10), 1165-1167.
- Kimura, Y., Goto, Y. I., and Kimura, H. (2010). Hydrogen sulfide increases glutathione production and suppresses oxidative stress in mitochondria. *Antioxidants and Redox Signaling*, 12(1), 1-13.
- Kiss, L., Deitch, E. A., and Szabo, C. (2008). Hydrogen sulfide decreases adenosine triphosphate levels in aortic rings and leads to vasorelaxation via metabolic inhibition. *Life Sciences*, 83(17-18), 589-594.
- Koc, A., Koc, D. S., Askin, C. I., Kara, H., Ozturk Fincan, G. S., Ozger Ilhan, S., and Sarioglu, Y. (2024). Effects of hydrogen sulfide on relaxation responses in the lower esophageal sphincter in rabbits: the potential role of potassium channels. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 397(3), 1537-1550.
- Koh, S. D., Bradley, K. K., Rae, M. G., Keef, K. D., Horowitz, B., and Sanders, K. M. (1998). Basal activation of ATP-sensitive potassium channels in murine colonic smooth muscle cell. *Biophysical Journal*, 75(4), 1793-1800.
- Kolluru, G. K., Shen, X., and Kevil, C. G. (2013). A tale of two gases: NO and H₂S, foes or friends for life? *Redox Biology*, 1(1), 313-318.
- Kolluru, G. K., Shen, X., Bir, S. C., and Kevil, C. G. (2013). Hydrogen sulfide chemical biology: pathophysiological roles and detection. *Nitric Oxide*, 35, 5-20.

- Kondo, K., Bhushan, S., King, A. L., Prabhu, S. D., Hamid, T., Koenig, S., Murohara, T., Predmore, B. L., Gojon, Sr., G., Gojon, Jr., G., Wang, R., Karusula, N., Nicholson, C. K., Calvert, J. W., and Lefer, D. J. (2013). H₂S protects against pressure overload–induced heart failure via upregulation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*, 127(10), 1116-1127.
- Kubo, S., Kurokawa, Y., Doe, I., Masuko, T., Sekiguchi, F., and Kawabata, A. (2007). Hydrogen sulfide inhibits activity of three isoforms of recombinant nitric oxide synthase. *Toxicology*, 241(1-2), 92-97.
- Lee, S. W., Hu, Y. S., Hu, L. F., Lu, Q., Dawe, G. S., Moore, P. K., Wong, P. T., and Bian, J. S. (2006). Hydrogen sulphide regulates calcium homeostasis in microglial cells. *Glia*, 54(2), 116-124.
- Lei, J., Vodovotz, Y., Tzeng, E., and Billiar, T. R. (2013). Nitric oxide, a protective molecule in the cardiovascular system. *Nitric Oxide*, 35, 175-185.
- Li, J., Liu, X. J., and Furchgott, R. F. (1997). Blockade of nitric oxide-induced relaxation of rabbit aorta by cysteine and homocysteine. *Zhongguo yao li xue bao= Acta Pharmacologica Sinica*, 18(1), 11-20.
- Li, L., Bhatia, M., Zhu, Y. Z., Zhu, Y. C., Ramnath, R. D., Wang, Z. J., Moore, P. K. (2005). Hydrogen sulfide is a novel mediator of lipopolysaccharide-induced inflammation in the mouse. *The FASEB Journal*, 19(9), 1196-1198.
- Li, M., Johnson, C. P., Adams, M. B., and Sarna, S. K. (2002). Cholinergic and nitrergic regulation of in vivo giant migrating contractions in rat colon. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 283(3), 544-552.
- Linden, D. R. (2014). Hydrogen sulfide signaling in the gastrointestinal tract. *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(5), 818-830.
- Linden, D. R., Sha, L., Mazzone, A., Stoltz, G. J., Bernard, C. E., Furne, J. K., Levitt, M. D., Farrugia, G., and Szurszewski, J. H. (2008). Production of the gaseous signal molecule hydrogen sulfide in mouse tissues. *Journal of Neurochemistry*, 106(4), 1577-1585.
- Liu, Y. H., Lu, M., Xie, Z. Z., Hua, F., Xie, L., Gao, J. H., Koh, Y. H., and Bian, J. S. (2014). Hydrogen sulfide prevents heart failure development via inhibition of renin release from mast cells in isoproterenol-treated rats. *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(5), 759-769.
- Liu, Y., Kalogeris, T., Wang, M., Zuidema, M., Wang, Q., Dai, H., Davis, M. J., Hill, M. A., and Korthuis, R. J. (2012). Hydrogen sulfide preconditioning or neutrophil depletion attenuates ischemia-reperfusion-induced mitochondrial dysfunction in rat small intestine. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 302(1), 44-54.
- Liu, Y., Luo, H., Liang, C., Xia, H., Xu, W., Chen, J., and Chen, M. (2013). Actions of hydrogen sulfide and ATP-sensitive potassium channels on colonic hypermotility in a rat model of chronic stress. *PLoS One*, 8(2), 55853.

- Lowenstein, C. J., Dinerman, J. L., and Snyder, S. H. (1994). Nitric oxide: a physiologic messenger. *Annals of Internal Medicine*, 120(3), 227-237.
- Lu, M., Choo, C. H., Hu, L. F., Tan, B. H., Hu, G., and Bian, J. S. (2010). Hydrogen sulfide regulates intracellular pH in rat primary cultured glia cells. *Neuroscience Research*, 66(1), 92-98.
- Lundberg, J. O., Weitzberg, E., and Gladwin, M. T. (2008). The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(2), 156-167.
- Lynch, M. A. (2004). Long-term potentiation and memory. *Physiological Reviews*, 84(1), 87-136.
- Marcotte, P., and Walsh, C. (1975). Active site-directed inactivation of cystathionine γ -synthetase and glutamic pyruvic transaminase by propargylglycine. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 62(3), 677-682.
- Mard, S. A., Neisi, N., Solgi, G., Hassanpour, M., Darbor, M., and Maleki, M. (2012). Gastroprotective effect of NaHS against mucosal lesions induced by ischemia–reperfusion injury in rat. *Digestive Diseases and Sciences*, 57, 1496-1503.
- Martin, G. R., McKnight, G. W., Dickey, M. S., Coffin, C. S., Ferraz, J. G., and Wallace, J. L. (2010). Hydrogen sulphide synthesis in the rat and mouse gastrointestinal tract. *Digestive and Liver Disease*, 42(2), 103-109.
- Martinez-Cutillas, M., Gil, V., Mañé, N., Clavé, P., Gallego, D., Martin, M. T., and Jimenez, M. (2015). Potential role of the gaseous mediator hydrogen sulphide (H₂S) in inhibition of human colonic contractility. *Pharmacological Research*, 93, 52-63.
- Matsunami, M., Miki, T., Nishiura, K., Hayashi, Y., Okawa, Y., Nishikawa, H., Sekiguchi, F., Kubo, L., Ozaki, T., Tsujiuchi, T., and Kawabata, A. (2012). Involvement of the endogenous hydrogen sulfide/Cav3. 2 T-type Ca²⁺ channel pathway in cystitis-related bladder pain in mice. *British Journal of Pharmacology*, 167(4), 917-928.
- Medeiros, J. V. R., Bezerra, V. H., Lucetti, L. T., Lima-Júnior, R. C. P., Barbosa, A. L. R., Tavares, B. M., Magalhaes, P. J., Santos, A. A., Cunha, F. Q., Soares, P. M., and Souza, M. H. (2012). Role of KATP channels and TRPV1 receptors in hydrogen sulfide-enhanced gastric emptying of liquid in awake mice. *European Journal of Pharmacology*, 693(1-3), 57-63.
- Meng, J., Ganesan Adaikan, P., and Srilatha, B. (2013). Hydrogen sulfide promotes nitric oxide production in corpus cavernosum by enhancing expression of endothelial nitric oxide synthase. *International Journal of Impotence Research*, 25(3), 86-90.
- Meng, X. M., Huang, X., Zhang, C. M., Liu, D. H., Lu, H. L., Kim, Y. C., and Xu, W. X. (2015). Hydrogen sulfide-induced enhancement of gastric fundus smooth muscle tone is mediated by voltage-dependent potassium and calcium channels in mice. *World Journal of Gastroenterology*, 21(16), 4840-4851.

- Mikami, Y., Shibuya, N., Ogasawara, Y., and Kimura, H. (2013). Hydrogen sulfide is produced by cystathionine γ -lyase at the steady-state low intracellular Ca^{2+} concentrations. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 431(2), 131-135.
- Mungrue, I. N., Bredt, D. S., Stewart, D. J., and Husain, M. (2003). From molecules to mammals: What's NOS got to do with it? *Acta Physiologica Scandinavica*, 179(2), 123-135.
- Munke, M., Kraus, J. P., Ohura, T., and Francke, U. (1988). The gene for cystathionine beta-synthase (CBS) maps to the subtelomeric region on human chromosome 21q and to proximal mouse chromosome 17. *American Journal of Human Genetics*, 42(4), 550.
- Nagao, M., Duenes, J. A., and Sarr, M. G. (2012). Role of hydrogen sulfide as a gasotransmitter in modulating contractile activity of circular muscle of rat jejunum. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 16(2), 334-343.
- Nagao, M., Linden, D. R., Duenes, J. A., and Sarr, M. G. (2011). Mechanisms of action of the gasotransmitter hydrogen sulfide in modulating contractile activity of longitudinal muscle of rat ileum. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 15(1), 12-22.
- Nagpure, B. V., and Bian, J. S. (2016). Interaction of hydrogen sulfide with nitric oxide in the cardiovascular system. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016(1), 6904327.
- Nalli, A. D., Bhattacharya, S., Wang, H., Kendig, D. M., Grider, J. R., and Murthy, K. S. (2017). Augmentation of cGMP/PKG pathway and colonic motility by hydrogen sulfide. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 313(4), 330-341.
- Nicholson, C. K., Lambert, J. P., Molkentin, J. D., Sadoshima, J., and Calvert, J. W. (2013). Thioredoxin 1 is essential for sodium sulfide-mediated cardioprotection in the setting of heart failure. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 33(4), 744-751.
- Noma, A. (1983). ATP-regulated K^{+} channels in cardiac muscle. *Nature*, 305(5930), 147-148.
- Nowaczyk, A., Kowalska, M., Nowaczyk, J., and Grześk, G. (2021). Carbon monoxide and nitric oxide as examples of the youngest class of transmitters. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 6029.
- Pan, T. T., Feng, Z. N., Lee, S. W., Moore, P. K., and Bian, J. S. (2006). Endogenous hydrogen sulfide contributes to the cardioprotection by metabolic inhibition preconditioning in the rat ventricular myocytes. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 40(1), 119-130.
- Pfeifer, A., Klatt, P., Massberg, S., Ny, L., Sausbier, M., Hirneiss, C., Wang, G. X., Korth, M., Aszodi, A., Andersson, K. E., Krombach, F., Mayerhofer, A., Ruth, P., Fassler, R., and Hofmann, F. (1998). Defective smooth muscle regulation in cGMP kinase I-deficient mice. *The Embo Journal*, 17(11), 3045-3051.

- Qu, K., Lee, S. W., Bian, J. S., Low, C. M., and Wong, P. H. (2008). Hydrogen sulfide: neurochemistry and neurobiology. *Neurochemistry International*, 52(1-2), 155-165.
- Quan, X., Luo, H., Liu, Y., Xia, H., Chen, W., and Tang, Q. (2015). Hydrogen sulfide regulates the colonic motility by inhibiting both L-type calcium channels and BKCa channels in smooth muscle cells of rat colon. *PLoS One*, 10(3), 0121331.
- Quan, X., Zhang, M., Qiao, Z., Kou, X., Xue, Q., Wang, J., and Li, L. (2024). Nitric oxide and ion channels mediate l-cysteine-induced inhibition of colonic smooth muscle contraction. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 45(1), 11-20.
- Raoof, J. B., Ojani, R., and Beitollahi, H. (2007). L-Cysteine voltammetry at a carbon paste electrode bulk-modified with ferrocenedicarboxylic acid. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 19(17), 1822-1830.
- Reiffenstein, R. J., Hulbert, W. C., and Roth, S. H. (1992). Toxicology of hydrogen sulfide. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 32, 109-134.
- Russo, A., Fraser, R., Adachi, K., Horowitz, M., and Boeckxstaens, G. (1999). Evidence that nitric oxide mechanisms regulate small intestinal motility in humans. *Gut*, 44(1), 72-76.
- Sancak, B. ve Cumhur, M. (1999). *Fonksiyonel anatomi kitabı* (Birinci Baskı). Ankara: METU Press, 241-252.
- Sanders, K. M., and Ward, S. M. (2019). Nitric oxide and its role as a non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory neurotransmitter in the gastrointestinal tract. *British Journal of Pharmacology*, 176(2), 212-227.
- Schicho, R., Krueger, D., Zeller, F., Von Weyhern, C. W. H., Frieling, T., Kimura, H., Ishii, I., De Giorgio, R., Campi, B., and Schemann, M. (2006). Hydrogen sulfide is a novel prosecretory neuromodulator in the Guinea-pig and human colon. *Gastroenterology*, 131(5), 1542-1552.
- Schwarz, P. M., Kleinert, H., and Förstermann, U. (1999). Potential functional significance of brain-type and muscle-type nitric oxide synthase I expressed in adventitia and media of rat aorta. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 19(11), 2584-2590.
- Serio, R., Zizzo, M. G., and Mulè, F. (2003). Nitric oxide induces muscular relaxation via cyclic GMP-dependent and-independent mechanisms in the longitudinal muscle of the mouse duodenum. *Nitric Oxide*, 8(1), 48-52.
- Shafigullin, M. Y., Zefirov, R. A., Sabirullina, G. I., Zefirov, A. L., and Sitdikova, G. F. (2014). Effects of a hydrogen sulfide donor on spontaneous contractile activity of rat stomach and jejunum. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 157(3), 302-306.
- Sharp, P. E., and LaRegina, M. C. (1998). *The laboratory rat*. Amsterdam: CRC Press, 101-105.

- Sim, J. H., Yang, D. K., Kim, Y. C., Park, S. J., Kang, T. M., So, I., and Kim, K. W. (2002). ATP-sensitive K⁺ channels composed of Kir6. 1 and SUR2B subunits in guinea pig gastric myocytes. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 282(1), 137-144.
- Smirnov, S. V., Zholos, A. V., and Shuba, M. F. (1992). A potential-dependent fast outward current in single smooth muscle cells isolated from the newborn rat ileum. *The Journal of Physiology*, 454(1), 573-589.
- Snape Jr, W. J., Kim, B. H., Willenbacher, R., Koelbel, C. B., Mayer Jr, E. A., and Walsh, J. H. (1989). Differences in the response of proximal and distal rabbit colonic muscle after electrical field stimulation. *Gastroenterology*, 96(2), 321-326.
- Sojitra, B., Bulani, Y., Putcha, U. K., Kanwal, A., Gupta, P., Kuncha, M., and Banerjee, S. K. (2012). Nitric oxide synthase inhibition abrogates hydrogen sulfide-induced cardioprotection in mice. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 360(1-2), 61-69.
- Spencer, N. J., and Hu, H. (2020). Enteric nervous system: sensory transduction, neural circuits and gastrointestinal motility. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 17(6), 338-351.
- Srilatha, B., Adaikan, P. G., and Moore, P. K. (2006). Possible role for the novel gasotransmitter hydrogen sulphide in erectile dysfunction—A pilot study. *European Journal of Pharmacology*, 535(1-3), 280-282.
- Stipanuk, M. H., and Beck, P. W. (1982). Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat. *Biochemical Journal*, 206(2), 267-277.
- Suzuki, K., Ito, K. M., Minayoshi, Y., Suzuki, H., Asano, M., and Ito, K. (1993). Modification by charybdotoxin and apamin of spontaneous electrical and mechanical activity of the circular smooth muscle of the guinea-pig stomach. *British Journal of Pharmacology*, 109(3), 661-666.
- Szabo, C. (2007). Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6(11), 917-935.
- Tamizhselvi, R., Moore, P. K., and Bhatia, M. (2007). Hydrogen sulfide acts as a mediator of inflammation in acute pancreatitis: in vitro studies using isolated mouse pancreatic acinar cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 11(2), 315-326.
- Taniguchi, T., and Kimura, T. (1974). Role of 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase in the formation of the iron-sulfur chromophore of adrenal ferredoxin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Enzymology*, 364(2), 284-295.
- Teague, B., Asiedu, S., and Moore, P. K. (2002). The smooth muscle relaxant effect of hydrogen sulphide in vitro: evidence for a physiological role to control intestinal contractility. *British Journal of Pharmacology*, 137(2), 139-145.
- Teramoto, N. (2006). Physiological roles of ATP-sensitive K⁺ channels in smooth muscle. *The Journal of physiology*, 572(3), 617-624.

- Thorneloe, K. S., and Nelson, M. T. (2005). Ion channels in smooth muscle: regulators of intracellular calcium and contractility. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 83(3), 215-242.
- Tocchetti, C. G., Stanley, B. A., Murray, C. I., Sivakumaran, V., Donzelli, S., Mancardi, D., Pagliaro, P., Gao, W. D., van Eyk, J., Kass, D. A., Wink, D. A., and Paolocci, N. (2011). Playing with cardiac “redox switches”: the “HNO way” to modulate cardiac function. *Antioxidants and Redox Signaling*, 14(9), 1687-1698.
- Vitvitsky, V., Yadav, P. K., Kurthen, A., and Banerjee, R. (2015). Sulfide oxidation by a noncanonical pathway in red blood cells generates thiosulfate and polysulfides. *Journal of Biological Chemistry*, 290(13), 8310-8320.
- Vogalis, F., and Lang, R. J. (1994). Identification of single transiently opening (“A-type”) K channels in guinea-pig colonic myocytes. *Pflügers Archiv*, 429(2), 160-164.
- Wade, G. R., Laurier, L. G., Preiksaitis, H. G., and Sims, S. M. (1999). Delayed rectifier and Ca²⁺-dependent K⁺ currents in human esophagus: roles in regulating muscle contraction. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 277(4), 885-895.
- Wallace, J. L., Ferraz, J. G., and Muscara, M. N. (2012). Hydrogen sulfide: an endogenous mediator of resolution of inflammation and injury. *Antioxidants and Redox Signaling*, 17(1), 58-67.
- Wallerath, T., Gath, I., Aulitzky, W. E., Pollock, J. S., Kleinert, H., and Förstermann, U. (1997). Identification of the NO synthase isoforms expressed in human neutrophil granulocytes, megakaryocytes and platelets. *Thrombosis and Haemostasis*, 77(01), 163-167.
- Wang, R. (2002). Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? *The FASEB Journal*, 16(13), 1792-1798.
- Wang, R. (2012). Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. *Physiological Reviews*, 92(2), 791-896.
- Wang, Y. F., Mainali, P., Tang, C. S., Shi, L., Zhang, C. Y., Yan, H., Liu, X. Q., and Du, J. B. (2008). Effects of nitric oxide and hydrogen sulfide on the relaxation of pulmonary arteries in rats. *Chinese Medical Journal*, 121(5), 420-423.
- Wang, Y., Zhao, X., Jin, H., Wei, H., Li, W., Bu, D., Tang, X., Ren, Y., Tang, C., and Du, J. (2009). Role of hydrogen sulfide in the development of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 29(2), 173-179.
- Warenycia, M. W., Goodwin, L. R., Benishin, C. G., Reiffenstein, R. J., Francom, D. M., Taylor, J. D., and Dieken, F. P. (1989). Acute hydrogen sulfide poisoning: demonstration of selective uptake of sulfide by the brainstem by measurement of brain sulfide levels. *Biochemical pharmacology*, 38(6), 973-981.

- Wilcox, J. N., Subramanian, R. R., Sundell, C. L., Tracey, W. R., Pollock, J. S., Harrison, D. G., and Marsden, P. A. (1997). Expression of multiple isoforms of nitric oxide synthase in normal and atherosclerotic vessels. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 17(11), 2479-2488.
- Wiskur, B., & Greenwood-Van Meerveld, B. (2010). The aging colon: the role of enteric neurodegeneration in constipation. *Current Gastroenterology Reports*, 12(6), 507-512.
- Wu, D., Hu, Q., and Zhu, D. (2018). An update on hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in the cardiovascular system. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2018(1), 4579140.
- Wu, D., Hu, Q., Liu, X., Pan, L., Xiong, Q., and Zhu, Y. Z. (2015). Hydrogen sulfide protects against apoptosis under oxidative stress through SIRT1 pathway in H9c2 cardiomyocytes. *Nitric Oxide*, 46, 204-212.
- Xiao, A., Wang, H., Lu, X., Zhu, J., Huang, D., Xu, T., Guo, J., Liu, C., and Li, J. (2015). H₂S, a novel gasotransmitter, involves in gastric accommodation. *Scientific Reports*, 5(1), 16086.
- Xu, K. Y., Huso, D. L., Dawson, T. M., Bredt, D. S., and Becker, L. C. (1999). Nitric oxide synthase in cardiac sarcoplasmic reticulum. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(2), 657-662.
- Yamane, S., Kanno, T., Nakamura, H., Fujino, H., and Murayama, T. (2014). Hydrogen sulfide-mediated regulation of contractility in the mouse ileum with electrical stimulation: roles of l-cysteine, cystathionine β -synthase, and K⁺ channels. *European Journal of Pharmacology*, 740, 112-120.
- Yan, H., Du, J., and Tang, C. (2004). The possible role of hydrogen sulfide on the pathogenesis of spontaneous hypertension in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 313(1), 22-27.
- Yang, G., Wu, L., Jiang, B., Yang, W., Qi, J., Cao, K., Meng, Q., Mustafa, A. K., Mu, W., Zhang, S., Snyder, S. H., and Wang, R. (2008). H₂S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine γ -lyase. *Science*, 322(5901), 587-590.
- Yong, Q. C., Hu, L. F., Wang, S., Huang, D., and Bian, J. S. (2010). Hydrogen sulfide interacts with nitric oxide in the heart: possible involvement of nitroxyl. *Cardiovascular Research*, 88(3), 482-491.
- Yong, Q. C., Lee, S. W., Foo, C. S., Neo, K. L., Chen, X., and Bian, J. S. (2008). Endogenous hydrogen sulphide mediates the cardioprotection induced by ischemic postconditioning. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 295(3), 1330-1340.
- Yoon, P. J., Parajuli, S. P., Zuo, D. C., Shahi, P. K., Oh, H. J., Shin, H. R., Lee, M. J., Yeum, C. H., Choi, S., and Jun, J. Y. (2011). Interplay of hydrogen sulfide and nitric oxide on the pacemaker activity of interstitial cells of cajal from mouse small intestine. *Chonnam Medical Journal*, 47(2), 72-79.

- You, X. J., Xu, C., Lu, J. Q., Zhu, X. Y., Gao, L., Cui, X. R., Li, Y., Gu, H., and Ni, X. (2011). Expression of cystathionine β -synthase and cystathionine γ -lyase in human pregnant myometrium and their roles in the control of uterine contractility. *PloS One*, 6(8), 23788.
- Yunoki, T., Teramoto, N., and Ito, Y. (2003). Functional involvement of sulphonylurea receptor (SUR) type 1 and 2B in the activity of pig urethral ATP-sensitive K⁺ channels. *British Journal of Pharmacology*, 139(3), 652-660.
- Zanardo, R. C., Brancalone, V., Distrutti, E., Fiorucci, S., Cirino, G., and Wallace, J. L. (2006). Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. *The FASEB Journal*, 20(12), 2118-2120.
- Zaorska, E., Tomasova, L., Koszelewski, D., Ostaszewski, R., and Ufnal, M. (2020). Hydrogen sulfide in pharmacotherapy, beyond the hydrogen sulfide-donors. *Biomolecules*, 10(2), 323.
- Zetler, G. (1951). The effect of hydrogen sulfide on the oxygen requirements of the isolated mouse uterus, with special reference to the sexual cycle. *Naunyn-schmiedeberg's Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, 213(3-4), 189-198.
- Zhang, H., Mookhala, S. M., and Bhatia, M. (2008). Endogenous hydrogen sulfide regulates inflammatory response by activating the ERK pathway in polymicrobial sepsis. *The Journal of Immunology*, 181(6), 4320-4331.
- Zhang, H., Zhi, L., Moore, P. K., and Bhatia, M. (2006). Role of hydrogen sulfide in cecal ligation and puncture-induced sepsis in the mouse. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 290(6), 1193-1201.
- Zhang, L., Bonev, A. D., Nelson, M. T., and Mawe, G. M. (1994). Activation of ATP-sensitive potassium currents in guinea-pig gall-bladder smooth muscle by the neuropeptide CGRP. *The Journal of Physiology*, 478(3), 483-491.
- Zhang, X., and Bian, J. S. (2014). Hydrogen sulfide: a neuromodulator and neuroprotectant in the central nervous system. *American Chemical Society Chemical Neuroscience*, 5(10), 876-883.
- Zhao, P., Huang, X., Wang, Z. Y., Qiu, Z. X., Han, Y. F., Lu, H. L., Kim, Y. C., and Xu, W. X. (2009). Dual effect of exogenous hydrogen sulfide on the spontaneous contraction of gastric smooth muscle in guinea-pig. *European Journal of Pharmacology*, 616(1-3), 223-228.
- Zhao, W., and Wang, R. (2002). H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 283(2), 474-480.
- Zhao, W., Zhang, J., Lu, Y., and Wang, R. (2001). The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener. *The Embo Journal*, 20(21), 6008-6016.

EKLER

EK-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onam Formu

Evrak Tarih ve Sayısı: 29.05.2024-E.960144



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : E-66332047-604.01-960144
Konu : Değerlendirme ve Onay

29.05.2024

Sayın Doç. Dr. Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Daha önce 03.08.2022 tarih ve E.421651 sayılı yazımız ile onay alan, araştırmacı grubu Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN, Atiye Seda YAR SAĞLAM, Melis DÜLGEROĞLU, Derya Sebile KOÇ, Celil İlker AŞKIN, Ayşe Kübra KİBAR, Aynur ARSLAN SABANCI ve Tilbenur AKYEL'den oluşan, G.Ü.ET-22.082 kod numaralı ve "Hidrojen Sülfürün Sıçan İzole Kolon Düz Kasında Elektriksel Alan Uyarısı (EAU) Aracılı Yanıtlar Üzerindeki Etkisinin ve Etki Mekanizmasının Araştırılması" başlıklı araştırma önerisi ile ilgili alınan 20.05.2024 tarihli dilekçeniz Kurulumuzun 24.05.2024 tarih ve 05 sayılı toplantısında incelenmiş olup,

Dilekçede ; deneylerin yürütülmesi, çalışmaların sonuçlarının yorumlanması, istatistiksel analiz ve makale yazımına katkıda bulunacak olması nedeniyle, araştırmacı grubuna Duygu Deniz USTA SALIMI'nin dahil edilmesi ile ilgili talebin uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiş ve karara ilişkin imza listesi ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Mustafa ARSLAN
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

Belge Doğrulama Kodu :BS4RSCFMNZ

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Takip Adresi : <https://www.turkiye.gov.tr/gazi-universitesi-ebys>

Emniyet Mahallesi Bandırma Caddesi No :6/1 06560 Yenimahalle/ANKARA
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/
Kep Adresi: gaziuniversitesi@hs01.kep.tr

Bilgi için :Nursel Güner
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:202 20 57



Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-1. (devam) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onam Form

Evrak Tarih ve Sayısı: 29.05.2024 E.960144

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 24/05/2024		TOPLANTI SAYISI : 05	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Mustafa ARSLAN (Başkan)			
Prof.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK			
Prof.Dr.İpek SÜNTAR			
Prof.Dr.Serkan YAVUZ			
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER			
Prof.Dr.Fatma Gökçe APAYDIN			
Prof.Dr.Elvan ANADOL			
Doç.Dr.Yeliz KILINÇ			
Doç.Dr.Zeliha Aycan ÖZDEMİRKAN			
Doç.Dr. Duygu AĞAGÜNDÜZ			
Doç.Dr. Abdullah ÖZER			
Doç.Dr. Sühan GÜRBÜZ			
Dr.Öğr.Üyesi Şevki Mustafa DEMİRÖZ			
Dr.Öğr.Üyesi Zeynep YIGMAN			
Dr.Öğr.Üyesi Nur Banu BAL			
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM			
Öğr.Gör.Dr. Beyza AYDOĞAN			
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ			

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DÜLGEROĞLU, Melis
Uyruğu : T.C.

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi / Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Tıpta Uzmanlık	Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı	2014
Lisans	Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi	2009
Lise	Mehmet Emin Resulade Anadolu Lisesi	2003

İş Deneyimi/Yıl	Çalıştığı yer	Görev
2024-devam ediyor	Özel Muayenehane	Anestezi Uzmanı
2019-2023	Ankara Eğitim Araştırma Hastanesi	Anestezi Uzmanı
2017-2019	Özel Güven Hastanesi	Anestezi Uzmanı
2016-2017	Özel Medikalpark Hastanesi	Anestezi Uzmanı
2014-2016	Çankırı Devlet Hastanesi	Anestezi Uzmanı
2010-2014	Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon ABD	Asistan Hekim

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

- Camkiran Firat, A., Komurcu, O., Zeyneloglu, P., Turker, M., Sezgin, A., and Pirat, A. (2015, May). Early postoperative pulmonary complications after heart transplantation. *Transplantation Proceedings*, 47(4), 1214-1216. DOI: 10.1016/j.transproceed.2014.11.058
- Dulgeroglu M. ve Cekmen N. (2019). Ortotopik karaciğer transplantasyonu hastalarında perioperatif yönetim. *Turkish Journal of Intensive Care*, 17, 176-189. DOI: 10.4274/tybd.galenos.2019.28291.

- Dulgeroglu, M., Camkiran Firat, A. Araz, C., and Candan, S. (2020). The effect of anesthesia technique on tumor recurrence rate after mastectomy. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 8(5), 1692-1695. DOI: org/10.18203/2320-6012.ijrms20201911.
- Turker, M., Pirat, A., Camkiran Firat, A., Pirat, B., Sezgin, A., and Arslan, G. (2017). Speckle tracking imaging for evaluation of effects of positive end expiratory pressure level on right ventricular function. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*, 25(1), 16-21. DOI: 10.1186/cc14218.
- Türker, M., Zeyneloğlu, P., Sezgin, A., Pirat, A., and Arslan, G. (2013, December). RIFLE criteria for acute kidney dysfunction following heart transplantation: incidence and risk factors. *Transplantation Proceedings*, 45(10), 3534-3537. DOI: 10.1016/j.transproceed.2013.08.100.
- Türker, M., Zeyneloğlu, P., Pirat, A., Araz, C., Dönmez, F., Can, U., ve Kayhan, Z. (2011). Yoğun bakım ünitesinde izlenen posterior reversible ensefalopati sendromu (PRES): Olgu sunumu. *Journal of the Turkish Society of Intensive Care/Türk Yogun Bakim Dernegi Dergisi*, 103. DOI:10.4274/tybdd.09.19.
- Vural, E. H., Dülgeroglu, M., Akyel, T., and Öztürk Fıncan, G. S. (2025). Evaluation of the effect of inhibition of prostaglandinergic and nitric pathways on hydrogen sulfide responses in rat bladder smooth muscles. *International Journal of Morphology*, 43(1), 116-122.

Hobiler

Seyahat etmek, Müzik dinlemek, Film izlemek, Yürüyüş yapmak



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..