

**İZOLE SIÇAN DUODENUM DÜZ KASLARI ÜZERİNDE KARVAKROLÜN TRP
KANALLARINA ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

Mohamad ALYOUSEF

Eskişehir 2020

**İZOLE SIÇAN DUODENUM DÜZ KASLARI ÜZERİNDE KARVAKROLÜN TRP
KANALLARINA ETKİSİ**

Mohamad ALYOUSEF

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Süleyman AYDIN

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ocak 2020

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Mohamad ALYOUSEF'nın "İZOLE SIÇAN DUODENUM DÜZ KASLARI ÜZERİNDE KARVAKROLUN TRP KANALLARINA ETKİSİ" başlıklı tezi 7.1.2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakolji Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof.Dr. Süleyman AYDIN	
Üye	: Prof.Dr. Yusuf ÖZTÜRK	
Üye	: Prof.Dr. Kubilay UZUNER	...
Üye	:	
Üye	:	



Prof. Dr. Nalan GUNDOĞDU-KARABURUN
Enstitü Müdürü
Müdür

ÖZET

İZOLE SIÇAN DUODENUM DÜZ KASLARI ÜZERİNDE KARVAKROLÜN TRP KANALLARINA ETKİSİ

Mohamad ALYOUSEF

Farmakoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak 2020

Danışman: Prof.Dr. Süleyman AYDIN

Karvakrol, sentez ile elde edilebilen aynı zamanda Lamiaceae ailesi gibi birçok bitki tarafından sentezlenen bir moleküldür. Karvakrol bazı bitkilerin uçucu yağlarında ana bileşendir ve karvakrol içeren bitkilerin antik çağlardan bu yana etnomedikal olarak ağrı kesici, öksürük için ve özellikle gastrointestinal rahatsızlıklarda kullanıldığı bilinmektedir. Karvakrolün deneysel olarak antiviral, antibakteryel, antifungal, antioksidan, antikanser, analjezik, hipotansif, antiepileptik ve düz kas gevşetici etkileri ve geçici reseptör potansiyel (TRP) iyon kanallarından TRPV3, TRPA1 aktivasyonu, TRPC1 ve TRPM7 inhibisyonu yaptığı gösterilmiştir. Karvakrolün düz kas gevşetici mekanizmasına ilişkin bilgiler yeterince araştırılmamış olması nedeniyle, TRPA1, TRPV3 ve TRPM7 gibi TRP kanallarının karvakrolün düz kas gevşemeleri üzerinde farklı etkileri olacağı hipotezi kurulmuş, bu hipotezi test etmek amacıyla izole sıçan duodenumu kullanılmıştır. Karvakrolün 10^{-4} M dozlarda asetilkolin ile oluşturulan kasılmaları nonkompetitif olarak inhibe ettiği, pasif gerim altındaki duodenum düz kaslarında 10^{-7} ve 10^{-6} M dozlarda kasılma yaptığı, 10^{-5} ve üzerindeki dozlarda ise gevşeme yaptığı bulunmuştur. Karvakrolün kastırıcı etkisinin rutenyum red tarafından, gevşetici etkisinin ise tetraetilamonyum tarafından bloke olduğu, nitrik oksit sentaz inhibitörü nitro-L-arjininden etkilenmediği bulunmuştur. Mide fundus düz kaslarında karvakrolün kastırıcı etkisi gözlenmemiş ve gevşetici etkisinin duodenuma oranla çok az olduğu, düşük dozlarda TRP kanallarına, yüksek dozda potasyum kanalları üzerine etkili olduğu ve mide fundus ile duodenum üzerinde farklı etki gösterdiği bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: Karvakrol, İyon kanalı, TRP, Potasyum, Duodenum, Düz kas.

ABSTRACT

THE EFFECTS OF CARVACROL ON THE TRP CHANNELS OF THE SMOOTH MUSCLES OF THE ISOLATED RAT DUODENUM

Mohamad ALYOUSEF

Department of Pharmacology

Anadolu University Graduate School of Health Sciences, January 2020

Supervisor: Prof.Dr. Süleyman AYDIN

Carvacrol is synthesized and also a natural compound found in the essential oils of Lamiaceae family. Carvacrol is major compound of some of the essential oils of these plants which are ethnomedically used as analgesic, and against gastrointestinal disorders since antiquity. Carvacrol was shown to possess antiviral, antibacterial, antifungal, antioxidant, anticancer, analgesic, antiepileptic, hypotensive and smooth muscle relaxing activities. It was shown to activate TRPA1, TRPV3, to inhibit TRPC1, TRPM7 of the transient receptor potential (TRP) ion channels and to block voltage-gated sodium, potassium channels and nicotinic receptors. Due to the lack of sufficient information on the mechanism of action of relaxing effects of carvacrol on the smooth muscles, it was hypothesized that the actions of TRP ion channels like TRPA1, TRPV3, TRPM7 will have differential actions of carvacrol on smooth muscles and thus duodenum was selected as the test organ. Carvacrol was observed to inhibit acetylcholine-induced contractions at 10^{-4} and 10^{-3} M, and relaxed the duodenum at 10^{-5} but at the 10^{-7} and 10^{-6} M doses contractions were observed on the duodenum under passive tension. Contractile actions were blocked by ruthenium red and inhibitory actions were blocked by tetraethylammonium, whereas nitro-L-arginine was inactive. No contractile actions of carvacrol were observed on the smooth muscles of gastric fundus and relaxing actions were small compared to the duodenum smooth muscles. Carvacrol exhibited contractile actions mediated by TRP channels at lower doses but relaxed the smooth muscles of duodenum via potassium channels at higher doses.

Keywords: Carvacrol, Ion channel, TRP, Potassium, Duodenum, Smooth muscle.

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde, yürütülmesinde, laboratuvar uygulamalarında, yazımında, istatistiksel hesaplamalarında ve sonuçların analizinde bilgi ve yardımını esirgemeyen, çok değer verdiğim ve saygı duyduğum, ondan bilimsel çalışma alanında bildiğim her şeyi öğrendiğim danışmanım Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi hocam Sayın: Prof.Dr. Süleyman AYDIN'a

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi birikiminden yararlandığım, yardımını esirgemeyen, her zaman bana rehber olabileceğini düşündüğüm, çok değer verdiğim ve saygı duyduğum Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı ve Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi hocam Sayın: Prof. Dr. Yusuf Öztürk'e

Deney hayvanları kullanım kursunda bilgi birikiminden yararlandığım, çok değer verdiğim ve saygı duyduğum, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim öğretim üyesi hocam Sayın: Prof. Dr. Kubilay UZUNER'e

Deneyler süresince deneysel sorunların giderilmesinde verdiği katkılar ve ürettiği çözümler ile destek olan Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. Ayça ÇAKMAK'a,

En içten ve sonsuz şükranlarımı sunarım.

1./2/20.20

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmamın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Mohamad Alyousef

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Karvakrol	2
1.1.1. Karvakrolün kimyasal ve fiziksel özellikleri	2
1.1.2. Karvakrol içeren bitkiler ve etnomedikal kullanımı	3
1.1.2.1. Kekik kullanımı	5
1.1.2.2. Farmakopelerde tanımlanan kullanımı	5
1.1.2.3. Halk tıbbında kullanımı	5
1.1.2.4. Fertilite, gebelik ve emzirmede kullanımı	5
1.1.2.5. Diğer tıbbi ürünler ile etkileşimleri	6
1.1.2.6. Dozu	6
1.1.3. Karvakrolün farmakolojik etkileri	6

	<u>Sayfa</u>
1.1.3.1. <i>Serbest radikal temizleyici ve antioksidan etkiler</i>	6
1.1.3.2. <i>Hepatoprotektif etki</i>	7
1.1.3.3. <i>Nöroprotektif etki</i>	8
1.1.3.4. <i>Antiinflamatuvar, antinosiseptif ve lokal anetezik etkiler</i>	8
1.1.3.5. <i>Hipotansif, düz kas gevşetici ve antiplatelet etkiler</i>	9
1.1.3.6. <i>Sitotoksik ve antiproliferatif etkiler</i>	10
1.1.3.7. <i>Antiobezite etkiler</i>	10
1.1.3.8. <i>Gastroprotektif etki</i>	11
1.1.3.9. <i>Antiviral etki</i>	11
1.1.3.10. <i>Antifungal etki</i>	12
1.1.3.11. <i>Antibakteriyel etki</i>	12
1.2. Düz Kaslar	12
1.2.1. Düz kasların tipleri	13
1.2.1.1. <i>Çok üniteli düz kaslar</i>	13
1.2.1.2. <i>Tek üniteli düz kaslar</i>	13
1.2.2. Düz kas kasılmasının kimyasal esasları	14
1.2.3. Düz kasların kasılması	15
1.2.4. Düz kaslarda aktin ve miyozinin etkileşmesi	18
1.2.5. Düz kas kasılmasında rol oynayan kalsiyum kaynakları	19
1.2.6. Düz kaslar kasılmasının sinirsel ve hormonal kontrolü	20
1.2.6.1. <i>Düz kas nöromüsküler kavşaklarının anatomisi</i>	20
1.2.6.2. <i>Düz kaslarda membran potansiyelleri</i>	21
1.2.6.2.1. <i>Dikensi aksiyon potansiyeli</i>	22
1.2.6.2.2. <i>Platolu aksiyon potansiyeli</i>	22

	<u>Sayfa</u>
1.2.6.3. <i>Düz kas nöromüsküler kavşağında salgılanan uyarıcı ve inhibitör transmitterler</i>	23
1.3. Bağırsak Fiziyojisi	24
1.3.1. Gastrointestinal duvarın fizyolojik anatomisi	24
1.3.2. Gastrointestinal düz kasın elektriksel aktivitesi	25
1.3.2.1. <i>Yavaş dalgalar</i>	26
1.3.2.2. <i>Dikensi potansiyeller</i>	27
1.3.3. Gastrointestinal düz kasların ritmik ve tonik kasılmalar	28
1.3.4. Gastrointestinal işlevin sinirsel kontrolü	28
1.3.4.1. <i>Enterik sinir sistemi</i>	28
1.3.4.2. <i>Ekstrinsik sinir sistemi</i>	29
1.3.5. Gastrointestinal motilitenin hormonal kontrolü	31
1.3.6. Gastrointestinal kanaldaki hareketlerin tipleri	32
1.3.6.1. <i>İlerletici hareketler (Peristaltik hareketler)</i>	32
1.3.6.2. <i>Karıştırıcı hareketler (Segmenter hareketler)</i>	36
1.4. Gastrointestinal Motilitede Rol Oynayan Reseptörler, İyon kanalları ve Diğer Etkenler	37
1.4.1. Adrenerjik ve kolinerjik reseptörler	37
1.4.1.1. <i>Muskarinik reseptörler</i>	38
1.4.1.2. <i>Adrenerjik reseptörler</i>	39
1.4.2. Nonadrenerjik nonkolinerjik sinir sistemi	40
1.4.2.1. <i>Peptiderjik sinir sistemi</i>	40
1.4.2.2. <i>Nitrerjik sinir sistemi</i>	40
1.4.3. Opioid reseptörleri	41
1.4.4. İyon kanalları	42
1.4.4.1. <i>Voltaj kapılı kalsiyum kanalları</i>	42
1.4.4.2. <i>Voltaj kapılı sodyum kanalları</i>	43
1.4.4.3. <i>Voltaj kapılı potasyum kanalları</i>	44

	<u>Sayfa</u>
1.4.4.4. <i>TRP kanalları</i>	45
2. MATERYAL VE YÖNTEM	48
2.1. Araştırmada Kullanılan Deney Hayvanları	48
2.2. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	48
2.3. Araştırmada Kullanılan Cihaz Ve Malzemeler	49
2.4. İzole Sıçan Duodenum Ve Mide Fundus Deneyleri	50
2.5. İstatistiksel Hesaplamalar Ve Verilerin Analizi	50
3. BULGULAR	51
4. TARTIşMA	69
5. KAYNAKÇA	80
EKLER	
ÖZGEÇMİş	

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1.1. Karvakrol içeren bitkiler ve içindeki karvakrol yüzdesi	4
Tablo 1.2. Karvakrolün sitotoksik ve antiproliferatif etkileri	10
Tablo 3.1. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde ACh oluşturulan kasılmalar üzerinde karvakrolün etkisinin nonlineer regresyon sonucu bulunan IC ₅₀ değerlerinin karşılaştırılması	66
Tablo 3.2. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde ACh oluşturulan kasılmalar üzerinde tetraetilamonyum (TEA) (10 ⁻³ M) + karvakrolün etkisinin nonlineer regresyon sonucu bulunan IC ₅₀ değerlerinin karşılaştırılması	67
Tablo 3.3. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde ACh oluşturulan kasılmalar üzerinde rutenyum red (RRed) (10 ⁻⁵ M) + karvakrolün etkisinin nonlineer regresyon sonucu bulunan IC ₅₀ değerlerinin karşılaştırılması	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Karvakrolün kimyasal formülü	3
Şekil 1.2. Çok üniteli ve Tek üniteli düz kaslar	14
Şekil 1.3. Düz kasların kasılma işleminin kalsiyum iyonları tarafından kontrol edilmesi	17
Şekil 1.4. Düz kas nöromusküler kavşaklarının anatomisi	21
Şekil 1.5. Düz Kaslarda membran potansiyelleri	23
Şekil 1.6. İnce bağırsak duvarının enine kesiti	25
Şekil 1.7. İntestinal düz kastaki membran potansiyelleri	26
Şekil 1.8. Bağırsak duvarının sinirsel kontrolü.	29
Şekil 1.9. Bağırsağın peristaltik hareketleri	34
Şekil 1.10. TRP Kanalların alt tipleri	46
Şekil 3.1. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki gevşetici etkisi ve tetraetilamonyum (TEA) varlığında karvakrolün gevşetici etkisinin ortadan kalktığını gösteren örnek.....	52
Şekil 3.2. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki karvakrolün kastırıcı etkisini gösteren örnek trase	52
Şekil 3.3. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki peristaltik hareketleri artırıcı etkisini gösteren örnek trase	53

Şekil 3.4. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki rutenyum red (RRed) varlığında karvakrolün kastırıcı etkisinin olmadığını gösteren örnek trase	53
Şekil 3.5. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki etkisi	54
Şekil 3.6. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki etkisi	55
Şekil 3.7. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki kastırıcı etkisi	56
Şekil 3.8. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki gevşetici etkisi	57
Şekil 3.9. Karvakrolün izole sıçan mide fundus pasif gerimi üzerindeki gevşetici etkisi	58
Şekil 3.10. Karvakrolün izole sıçan mide fundus pasif gerimi üzerindeki gevşetici etkisi	59
Şekil 3.11. Karvakrolün izole sıçan mide fundus pasif gerimi üzerindeki gevşetici etkisi	60
Şekil 3.12. Karvakrolün izole sıçan mide fundus ve duodenum pasif gerimi üzerindeki gevşetici etkisinin karşılaştırmalı olarak gösterilmesi	61
Şekil 3.13. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde ACh oluşturulan kasılmalar üzerinde karvakrolün etkisi	62

Şekil 3.14. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde ACh oluşturulan kasılmalar üzerinde tetraetilamonyum (TEA) varlığında karvakrolün etkisi	63
Şekil 3.15. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde ACh oluşturulan kasılmalar üzerinde rutenyum red (RRed) varlığında karvakrolün etkisi	64
Şekil 3.16. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde ACh oluşturulan kasılmalar üzerinde karvakrol, tetraetilamonyum ve rutenyum red 'e ait 10^{-4} M dozlarının karşılaştırmalı gösterilmesi	65
Şekil 4.1. Karvakrol ile yapılmış yayınların yıllara göre dağılımı	70
Şekil 4.2. Muskarinik reseptörler ile oluşan kasılmalarda, muskarinik reseptörler, TRPC ve voltaja bağlı kalsiyum kanallarıyla etkileşimi	73
Şekil 4.3. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde karvakrolün kasılma ve gevşeme etkilerinden sorumlu mekanizmalar, TRP ve potasyum kanalları ile olan ilişki	76

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

5-HT	: 5-Hidroksitriptamin (Serotonin)
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
ADP	: Adenozin Difosfat
ANOVA	: Analysis Of Variance (Tek Yönlü Varyans Analizi)
ATP	: Adenozin Trifosfat
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
Cav	: Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalı
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
COX	: Siklooksijenaz Enzimleri
DAG	: Diasilgliserol
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ES COP	: European Scientific Cooperative On Phytotherapy
ESS	: Enterik Sinir Sistemi
Gal R1	: Galanin Reseptörü 1
Gal R2	: Galanin Reseptörü 2
GDP	: Guanozin Difosfat

Gi	: G alfa i
Go	: G alfa o
GPCR	: G Proteini İle Kenetli Reseptör
Gq	: G alfa q
Gs	: G alfa s
GTP	: Guanozin Trifosfat
H1N1	: Pandemik İnfluenza A Virüsü
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL) Kolesterolü
HEPATİK I/R	: Hepatik İskemi-Reperfüzyon
HHV-1	: Herpes Simpleks Virüs Tip 1
HSCR	: Hirschprung Hastalığı
I/R	: İskemi Reperfüzyon
IL-1	: İnterlökin 1
IL-6	: İnterlökin 6
IP ₃	: İnositol 1, 4, 5 Trifosfat
İ.P.	: İntraperitoneal
KaM	: Kalmodulin
K _{ATP}	: ATP'ye Duyarlı Potasyum Kanalları
KCNG3	: Voltaj Kapılı Potasyum Kanalının G3 Alt Tipi

KCNG4	: Voltaj Kapılı Potasyum Kanalı
Kv	: Voltaj Kapılı Potasyum Kanalı
L-tip	: L-tip Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalı
MLC	: Myosin Light Chain (Miyozin Hafif Zincir)
MLCK	: Myosin Light Chain Kinase (Miyozin Hafif Zincir Kinaz)
mRNA	: Haberci Ribonükleik Asit
N/OFQ	: Nosiseptin/Orfanin FQ
NANK	: Nonadrenerjik Nonkolinerjik (adrenerjik ve kolinerjik olmayan)
Nav	: Voltaj Kapılı Sodyum Kanalı
NO	: Nitrik Oksit
NoARG	: Nw-Nitro-L-Arjinin
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
PIP ₂	: Fosfatidilinizitol 4,5-Bifosfat
PKC	: Protein Kinaz C
PLC	: Fosfolipaz C
RENAL I/R	: Renal İskemi-Reperfüzyon
ROS	: Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
RRed	: Rutenyum Red
RSV	: Respiratuvar Sinsitiyal Virüsü

RV	: Rota Virüsü
SOD	: Süperoksid Dismütaz
SR	: Sarkoplazmik Retikulum
TEA	: Tetraetilamonyum
TLR	: Toll-like Receptors (Toll Benzeri Reseptörleri)
TNF- α	: Tümör Nekrozu Faktörü Alfa
TRP	: Transient Receptor Potential (Geçici Reseptör Potansiyeli)
TRPA	: Transient Receptor Potential (Geçici Reseptör Potansiyeli) Ankyrin
TRPC	: Transient Receptor Potential (Geçici Reseptör Potansiyeli) Canonical
TRPM	: Transient Receptor Potential (Geçici Reseptör Potansiyeli) Mucolipin
TRPML	: Transient Receptor Potential (Geçici Reseptör Potansiyeli) Mucolipin
TRPP	: Transient Receptor Potential (Geçici Reseptör Potansiyeli) Polycystin
TRPV	: Transient Receptor Potential (Geçici Reseptör Potansiyeli) Vanilloid
T-tip	: T-tip Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalı
VIP	: Vazoaktif İntestinal Peptid
α	: Alfa
β	: Beta
κ	: Kappa
μ	: Mü

1. GİRİŞ

Karvakrol, sentez ile elde edilen aynı zamanda doğal olarak çeşitli aromatik bitkilerde bulunan kimyasal bileşiktir. Karvakrol içeren bitkilerin eski zamanlardan beri etnomedikal olarak, başta gastrointestinal rahatsızlıkları, soğuk algınlığı ile ilişkili öksürükler, enflamasyon ve ağrı üzere çeşitli amaçlarla kullanıldığı (Uğurlu ve Üstü, 2018; Aydın vd., 1993; Honda vd., 1996), deney hayvanlarında ve izole hücreler üzerinde antikanser ve apoptotik etkili (Zeytinoglu vd., 1998; He vd., 1997), hipotansif (Aydın vd., 2007), ve ağrıya karşı etkili olduğu gösterilmiştir (Aydın vd., 1996). Bileşiminde karvakrol bulunan ekstrelerin sindirim sisteminde bulunan düz kas kasılmalarında gevşetici etkisi bulunduğu daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Aydın ve Seker, 2005). Karvakrol etki mekanizmasında kalsiyum (Aydın vd., 2007), ve özellikle geçici reseptör potansiyeli (TRP) iyon kanallarının rol oynadığı bildirilmiştir (Xu vd., 2006). TRP iyon kanallarının insan ve memeli hayvanlarda en az 28 alt tipinin bulunduğu ve bunların bazılarının kalsiyum diğer bir kısmının ise sodyum iyonlarının hücre içine geçmesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Veldhuis vd., 2015). Karvakrolün ise bu iyon kanallarından hangisine spesifik olarak etkili olduğu henüz kesinlik kazanmış değildir, kalsiyum kanalına ek olarak sodyum kanallarının ve nikotinic kolinerjik reseptörlerin karvakrol tarafından etkilendiğinin bildirilmiş olması ile etki mekanizmalarına ilişkin bilgiler son yıllarda daha da karmaşık ve tartışmalı duruma gelmiş bulunmaktadır (Parnas vd., 2009; Xu vd., 2006; Joca vd., 2015; Trailovic vd., 2015).

Bugüne kadar yayınlanmış olan araştırma sonuçların ışığında, tek bir adet izopropil ve bir adet metil ve hidroksil grubunun bir adet benzen halkasına bağlı olduğu karvakrol'ün oldukça basit molekül yapısına sahip olmasına karşın, tek bir adet etki mekanizmasına sahip olmadığı hipotezi kurulmuş ve bu nedenle öncelikle çok sayıda üye sayısına sahip olan TRP iyon kanalları üzerinde çalışılması hedeflenmiştir. Bu hipotezin test edilmesi amacıyla bu çalışmada peristaltik kasılma aktivitesi yüksek olan ince barsak kısmı olan izole sıçan duodenum düz kasları üzerinde karvakrolün etki mekanizmasını aydınlatılması amacıyla çalışmalar yapılmıştır.

1.1. Karvakrol

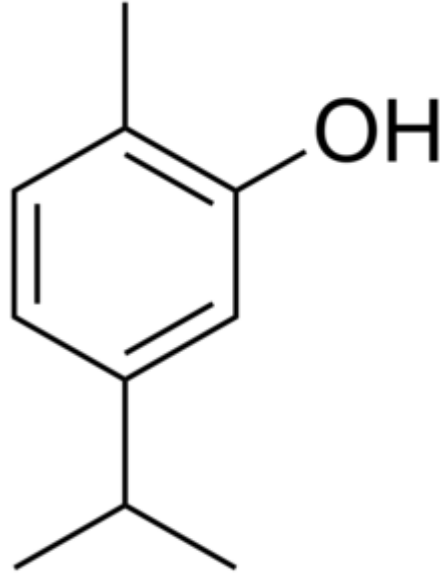
Karvakrol (2-metil-5-(1-metiletil)-fenol), çeşitli aromatik bitki türlerinin (*Origanum*, *Satureja*, *Tyhmra*, *Thymus* ve *Corydothymus*) uçucu yağlarında bulunan ve aynı zamanda sentezle elde edilebilen fenolik ve bir oksijenli monoterpendir (Baser, 2008; Yadav vd., 2009).

Karvakrol, doğada kekik adıyla bilinen çeşitli aromatik bitkilerde bulunmaktadır. Karvakrol, kekik olarak adlandırılan bitki türlerinde çiçeklenme döneminin sonunda en yüksek miktarda bulunur (Baydar, 2005). Bu bitkilerin ortak özelliği, karvakrol gibi karakteristik tat ve koku veren bileşenlere sahip olmasıdır. (Soycan Önenç vd., 2005).

Kekikten elde edilen uçucu yağda bulunan karvakrolün kekiğin biyolojik aktivitesinden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Aydın vd., 1996).

1.1.1. Karvakrol'ün kimyasal ve fiziksel özellikleri

Karvakrol, (C₁₀H₁₄O) kimyasal yapısında (Şekil 1.1), 150.21 g/mol molekül ağırlığında, soluk sarı renkte uçucu bir yağ özelliğindedir. Suda çözünmez, alkol ve eterde çözünebilmektedir. Kaynama noktası 237-238°C, erime noktası 1.0°C, pH'ı 3.9'dur. Karvakrol, oldukça küçük ve lipofilik yapıdadır. Bu özelliğinden dolayı hücre membranının kolaylıkla geçmektedir (Yadav vd., 2009; Yu vd., 2012).



Şekil 1.1. Karvakrolün kimyasal formülü (Yadav vd., 2009).

1.1.2. Karvakrol içeren bitkiler ve etnomedikal kullanımı

Türkiyede, halk arasında kekik adıyla bilinen *Lamiaceae* familyasına ait çok sayıda bitki bulunmaktadır (Tablo 1.1). Bu bitkilerin ortak özelliklerinin başında timol ve karvakrol içeren uçucu yağ içermeleridir ve bu kimyasal bileşikleri içeren türler arasında *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra*, *Thymus*, ve *Coridothymus* vardır. Bu türlerin aynı zamanda ekonomik açıdan önemli olduğu rapor edilmiştir (Başer, 1994; Kırimer vd., 1995).

Tablo 1.1. Karvakrol içeren bitkiler ve içindeki karvakrol yüzdesi (Kırimer vd., 1995).

Bitki adı (Cins)	Lokasyon	Karvakrol yüzdesi
<i>Coridothymus capitatus</i>	Muğla	69
	Çanakkale	78
	Balikesir	71
<i>Melissa officinalis subsp. Altissima</i>	Balikesir	60
	Antalya	50-82
<i>Origanum onites</i>	Izmir	55-80
	Içel	78
	Balikesir	73-77
	Yozgat	74
	Manisa	71
	Antalya	66
	Antalya	38-88
<i>Origanum bilgeri</i>	Içel	75
	Isparta	42-84
<i>Origanum munzurense</i>	Tunceli	51
	Içel	21
<i>Satureja cilicica</i>	Kahramanmaraş	38
	Içel	26
	Eskişehir	19-38
<i>Satureja cuneifolia</i>	Balikesir	47-53
	Izmir	58-69
	Muğla	72
	Adana	47-57
	Edirne	47-48
	Eskişehir	50
	Balikesir	52-55
Konya	63	
<i>Satureja Montana</i>	Adana	53-63
	Trabzon	26
<i>Satureja spicigera</i>	Trabzon	26
<i>Thymbra sintenisii subsp isaurica</i>	Antalya	39
<i>Thymus eigii</i>	Adana	39
<i>Thymus kotschyanus var eriophorus</i>	Ağrı	39
<i>Thymus kotschyanus var glabrescens</i>	K.maraş	39
<i>Thymus kotschyanus var kostchyanus</i>	Malatya	39
<i>Thymus leucostomus var argillacells</i>	Eskişehir	39
<i>Thymus leucostomus var leucostomus</i>	Eskişehir	39
<i>Thymus longicaulis subsp Chaubardii</i>	Bursa	39

1.1.2.1. Kekik kullanımı

Kekik adıyla bilinen ve karvakrolce zengin olan bitkilerin kullanılan kısımları şunlardır: toprak üstü kısımları, çiçekli tepeleri ile kurutulmuş yaprakları (*Herba thymi*). Bu bitkilerin uçucu yağlarının (*Aetheroleum thymi*) çeşitli hastalıklarda kullanıldığı bildirilmiştir (Uğurlu ve Üstü, 2018).

1.1.2.2. Farmakopelerde tanımlanan kullanımı

Gastrit ve dispepsi gibi mide barsak hastalıkları kekik ekstreleri oral yoldan, ve soğuk algınlığı ve ilgili öksürükler için kullanılmaktadır. Üst solunum yolu, alt solunum yolu enfeksiyonu ve ilişkili öksürüklerde oral ve gargara olarak, halitosis, ağız dış rahatsızlıklarında solunum yolları enfeksiyonlarında inhalasyon yoluyla kullanıldığı bildirilmiştir (Uğurlu ve Üstü, 2018). Bileşiminde karvakrol bulunan *Thymus* ve *Origanum* ekstrelerinin, esas olarak solunum sisteminde kullanımı Komisyon E tarafından, oral ve dermal yollardan kullanımı onaylanmıştır (http-1 ve http-2)

1.1.2.3. Halk tıbbında kullanımı

Bileşiminde karvakrol bulunduğu bugün bilinmekte olan bitkilerin etnomedikal olarak çok eski devirlerden bu yana kullanılmış ve halen ağrı, romatizma ve mide barsak gibi abdominal rahatsızlıklara karşı, hem herba olarak hem de uçucu yağı ve yağ altı suyu şeklinde kullanılmaya devam edilmekte olduğu bildirilmiştir (Honda vd., 1996; Aydın vd., 1993). Kekik kullanımının genellikle baharat şeklinde olduğu, spazmolitik olarak, astım, soğuk algınlığı ve ağrıya karşı kullanıma ek olarak çeşitli böcek sokmaları vakalarında, kan dolaşımı uyarıcısı olarak, diüretik, stimulan, ve antihelmintik olarak olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Baytop, 1999; Cinbilgel ve Kurt, 2019).

1.1.2.4. Fertilite, gebelik ve emzirmede kullanımı

Bileşiminde karvakrol olduğu bilinen *Herba thymi* preparatlarının gebelerde kullanıldığı bilinmekte ancak güvenliğine ilişkin yeterli bilgi bulunmamaktadır (Uğurlu ve

Üstü, 2018), ancak *Herba thymi* uçucu yağı ile deney hayvanları ile yapılan bir çalışmada herhangi bir etkisinin olmadığı rapor edilmiştir (Domaracky vd., 2007).

1.1.2.5. Diğer tıbbi ürünler ile etkileşimleri

Bileşiminde karvakrol bulunan ve etnomedikal kullanımı olan bitkilerin kullanımı ile ilişkili olarak ciddi bir ilaç etkileşimi bildirilmemiş (Uğurlu ve Üstü, 2018) ancak antifungal amaçla kullanılan ilaçların antifungal etkisini artırdığı rapor edilmiştir (Saad vd., 2010).

1.1.2.6. Dozu

Kekik olarak bilinen bitkilerin taze olarak ya da kurutulmuş şekillerinin yetişkinlerde 1 – 2 g demleme (infuzyon) şeklinde alınarak günde 3-4 defa içilebildiği bildirilmiş ve doz aşımı konusunda herhangi bir bilgi bulunmamaktadır (Uğurlu ve Üstü, 2018).

1.1.3. Karvakrolün farmakolojik etkileri

1.1.3.1. Serbest radikal temizleyici ve antioksidan etkiler

Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri üretilir. Süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi serbest radikaller aşırı biriktiğinde, dokuda hasara yol açmakta ve birçok hücresel fonksiyonun kayıp olmasına neden olmaktadır. Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri (ROS), antioksidanlar tarafından kontrol altında tutulurlardır. Antioksidanlar, hücreleri ROS'ye karşı korumanın yanı sıra, ilaç metabolize edici enzimlerin indüklenmesi, prostaglandin sentezinin inhibisyonu, vb dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Antioksidan kapasitesi üzerinde reaktif oksijen türlerinin artmasıyla dengede bir değişiklik meydana gelir, bu değişiklik oksidatif stres olarak tanımlanır. Oksidatif stres, makromoleküllerin (proteinler, nükleik asitler ve lipitler) oksidatif hasarına yol açmaktadır (Kohen vd., 2002; Amiri, 2012).

Karvakrol, hidroksil radikalleri, süperoksit radikalleri, hidrojen peroksit ve nitrik oksit dahil olmak üzere serbest radikalleri temizlemektedir (Kohen vd., 2002; Aristatile vd., 2015). Karvakrolun *in vitro* ve *in vivo* olarak antioksidan etkiye sahip olduğu, bu etkide aromatik halkaya bağlı hidroksil grubunun (OH) önemli olduğu bildirilmiştir (Guimaraes vd., 2010; Aeschbach vd., 1994).

1.1.3.2. Hepatoprotektif etki

Karvakrol, sıçanlarda bir hepatotoksin olan D-galaktosamin ile indüklenen karaciğer yetmezliğinde hepatoprotektif etki göstermiştir. Sıçanlarda, 80 mg/kg dozunda karvakrolün kullanılması, lipid peroksidasyon ürünlerinin, böbrek ve karaciğerdeki lipid içeriğinin, karaciğer enzimlerin ve kan plazması konsantrasyonlarının normal değerlerine geri getirilmesine yardımcı olduğu bildirilmiştir. Ek olarak, D-galaktosamin tarafından indüklenen enzimik ve enzimik olmayan antioksidanlar da karvakrol ile normale döndürülmüştür. Ayrıca mitokondriyal enzimlerde D-galaktosamin ile indüklenen azalmalar ve DNA hasarı karvakrol ile onarılmıştır ve kontrol edilmiştir. Karvakrolün mitokondriyal ve hepatosellüler membranlar üzerindeki antioksidan etkisinin ve bunun genoprotektif yapısının, karvakrolün hepatoprotektif özelliğine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Aristatile vd., 2009; Guimaraes vd., 2010; Aeschbach vd., 1994).

Bir organa kan akışının yetersizliği veya durdurulması, hücrel metabolizma için gerekli olan oksijen ve glukoz kıtlığına neden olur ve iskemi ile sonuçlanır. İskemiye neden olan faktörü ortadan kaldırarak dokuya kan akışının restorasyonuna reperfüzyon denir. Karaciğer nakli, karaciğer cerrahisi ve böbrek iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarı sırasında hepatik iskemi sıkça karşılaşılan bir problemdir. Lipit peroksidasyon ürünlerini düşürerek ve karaciğer antioksidan savunmasını geliştirerek, karvakrol hepatik I/R hasarı ve böbrek I/R hasarı sırasında karaciğeri koruduğu bildirilmiştir (Canbek vd., 2008; Uyanoglu vd., 2011).

1.1.3.3. Nöroprotektif etki

Alzheimer hastalığı, hafıza kaybı ve birçok bilişsel fonksiyonların kaybı ile karakterize, karmaşık, geç başlayan bir hastalıktır. Karvakrol, asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi üzerindeki inhibitör etkisinden dolayı Alzheimer hastalığı için potansiyel bir ilaç olarak dikkate alınmıştır. Santral sinir sisteminde, karvakrolün fenolik hidroksil grubu AChE'ye bağlanır ve böylece AChE'nin fonksiyon kaybına yol açmaktadır. Son zamanlarda farelerde karvakrolün antidepresan benzeri ve anksiyolitik benzeri etkilerinin, GABAerjik iletimi ve dopaminerjik sistemin modülasyonu yoluyla gerçekleştiği rapor edilmiştir. Ayrıca düşük moleküler ağırlığı ve lipofilik yapısı nedeniyle kan beyin bariyerini geçtiği ve nöroprotektif etkilerini gösterdiği bildirilmiştir (Kaufmann vd., 2011; Savelev vd., 2004; Jukic vd., 2007; Orhan vd., 2008; Melo vd., 2011).

1.1.3.4. Antiinflamatuvar, antinosiseptif ve lokal anestezik etkiler

Hipernosisepsiyon olarak adlandırılan inflamatuvar hiperaljezi, nosiseptif yolların aşırı duyarlılığından kaynaklanır. Enflamasyon sırasında, mediatörler (sitokinler, interlökinler, tümör nekroz faktörü- α dahil), bağışıklık sisteminin hücreleri tarafından salınır. Bu, nosiseptif girdinin iletilmesinde rol oynayan hem birincil nosiseptörlerin hem de yüksek dereceli nöronların sürekli aktivasyonunu ve hassaslaşmasını sağlamaktadır (Guimaraes vd., 2012).

Karvakrol'ün TNF- α ve nitrik oksit dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin üretilmesinde yer alan nötrofillerin ve mononükleer hücrelerin göçünü inhibe ederek hipernosisepsiyonu inhibe ettiği ve sonuçta prostaglandinlerde düşüslere neden olduğu bildirilmiştir. Ancak karvakrol, plevral lavajda TNF- α seviyelerini düşürmesi dışında hücrelerin morfolojisini etkilememiştir (Marchand vd., 2005). Hotta ve akr., (2010), Guimaraes vd., (2012), karvakrolün nitrik oksit sentazın indüklenmesinden sorumlu olan enzim seviyelerini azaltarak ve buna bağlı olarak nitrik oksidin makrofaj içeriğini azaltarak, antihipernosiseptif etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Kaufmann vd., (2011) ve Uyanoglu vd., (2011), karvakrolün nitrik oksit üretimini ve hipernosisepsiyon sırasında lipit

peroksidasyonunu kontrol etmedeki antioksidan etkisinin dahil edilmesine ilişkin çelişkili raporlara sahiptir.

Karvakrol, siyatik sinir ve dorsal kök ganglion nöronlarında, nöronal uyarılma kabiliyetini azaltarak ve voltaj kapılı sodyum kanallarını inhibe ederek lokal anestezi ve analjezik etki göstermiştir (Silva vd., 2018; Joca vd., 2015).

1.1.3.5. Hipotansif, düz kas gevşetici ve antiplatelet etkiler

Karvakrol, arteriyel endotelindeki TRPV3 kanallarına agonist olarak hareket ederek, geçici reseptör potansiyeli vanilloid 3 (TRPV3) kanallarından Ca^{2+} akışını arttırmıştır. Bu da düz kasın endotel hücrelerinin plazma zarının hiperpolarizasyonuna neden olarak serebral arterlerin vazodilatasyonuna yol açmıştır. Ek olarak, karvakrolün kardiyak L tipi kalsiyum kanalını bloke etmedeki rolü de hipotansif etkisine katkıda bulunmaktadır (Earley vd., 2010; Aydın vd., 2007).

Bileşiminde yüksek oranda karvakrol bulunan ekstrelerin, izole edilen kobay trakeasının düz kaslarında voltaja bağlı ve Ca^{2+} ile aktive edilen K^+ kanallarını aktive ederek gevşetici etki gösterdiği bildirilmiştir (Menezes vd., 2018).

Karvakrol antiplatelet etki göstermiştir ve trombositlerdeki thromboxane A2 üretimini azaltarak trombosit agregasyonunu inhibe etmiştir (Zeytinoglu vd., 1998).

1.1.3.6. Sitotoksik ve antiproliferatif etkiler

Tablo 1.2. Karvakrol'ün sitotoksik ve antiproliferatif etkileri.

Kullanılan hücre hatları	IC50	Etki	Referans
Murin B16 (F10) melanom hücreler. İnsan küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) hücre hattı, A549.	250 µM	Sitotoksik etki Sitotoksik ve antikanser etki (Hücre morfolojisinin dejenerasyonu ve apoptozis indüksiyonu)	(He vd., 1997) (Kobral vd., 1997)
H-RAS ile dönüştürülmüş 5RP7 hücreleri.	0.04 mg/ml	Sitotoksik etki-apoptotik morfolojik değişiklikler	(Akalin ve incesu,2011)
N-RAS ile dönüştürülmüş CO25 hücre hattı . İnsan metastatik meme kanseri hücre dizisi, MDA MB 231.	0.1 mg/ml 100 µM	Sitotoksik etki-apoptotik morfolojik değişiklikler Apoptozis indüksiyonu ile antikanser etkisi	(Zeytinoglu vd., 2003). (Arunasree, 2007)
İnsan rahim ağzı kanseri HeLa ve SiHa hücreleri .	50mg/L	Apoptoziste artış	(Chan vd., 2005)

1.1.3.7. Antiobezite etkiler

Obezite, diyabet, koroner kalp hastalığı, hiperlipidemi ve kanserler gibi kronik hastalıklar için risk faktörlerinden biridir. Bu nedenle, antiobezite ilaçlar çok önemlidir. İnsanlarda ve hayvan modellerinde, yüksek düzeyde yağlı yemeklerin tüketilmesi, obezitenin ve ilişkili metabolik hastalıkların teşvik edilmesinde önemli bir faktör olarak kabul edilir. Karvakrol, fare embriyosu 3T3-L1 hücrelerinde hücre içi yağ birikimini ve adiposit farklılaşmasını inhibe etmiştir. Karvakrol'un obezite üzerindeki muhtemel etkisi üzerine yapılan son çalışmalar ilginç sonuçlara işaret etmiştir. Fareleri normal bir diyet, yüksek yağlı diyet veya karvakrollu yüksek yağlı diyet ile 10 hafta boyunca beslenmiştir. Yüksek vücut ağırlığı, vücut ağırlığı artışı, karaciğer ağırlığı, plazma ve karaciğer toplam kolesterolü, HDL-kolesterol, trigliserit ve serbest yağ asitleri, yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde gösterilmiş ve tüm bunlar karvakrol ile azaltılmıştır. Visseral yağ dokularında, karvakrol adipogenezle ilişkili genlerin fibroblast büyüme faktörü reseptörünün

ekspresyonunu azaltmıştır. Ayrıca karvakrol, Gal R1 ve Gal R2 gibi yağ yönünden zengin diyet alımını uyaran reseptörlerin ekspresyonunu azaltmıştır. Obez hayvanlarda, yüksek seviyelerde serbest yağ asitlerin seviyeleri rapor edilmiştir ve bunun nedeni yağ dokularından veya yüksek yağ diyetinden salgılanmalarıdır. Bu serbest yağ asitleri, TNF-a, IL-1 ve IL-6 gibi bazı proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu artırır. Yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde serbest yağ asit seviyelerinin, mRNA'nın, TLR protein seviyelerinin ve proinflamatuvar sitokinlerin karvakrol ile azaldığı bildirilmiştir (Cho vd., 2012; Widberg vd., 2009).

1.1.3.8. *Gastroprotektif etki*

Karvakrol, farelerde ve sıçanlarda mutlak etanol, asitlenmiş etanol, iskemi ve reperfüzyon ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar ile indüklenen gastrik lezyon modellerinde gastroprotektif etki göstermiştir. Karvakrolün gastroprotektif etkisinin endojen prostaglandinler, mukus üretiminin artması, K_{ATP} kanallarının açılması, nitrik oksit sentaz enzim (NOS) aktivasyonu ve antioksidan özelliklerinin aracılık ettiği bildirilmiştir (Oliveira vd., 2012).

1.1.3.9. *Antiviral etki*

Karvakrol, insan rota virüsü (RV) karşı antiviral etki göstermektedir. Ayrıca, Meksikalı kekik (*Lippia graveolens*) özütü, yağı ve ayrıca karvakrol bileşeni, hayvan ve insandaki viral hastalıkları azaltabilir veya inhibe edebilir. Spesifik olarak, kekik ve fenolik bileşenlerinin (karvakrol) asiklovire dirençli herpes simpleks virüs tip 1 (HHV-1) ve insan respiratuvar sinsitiyal virüsü (RSV) üzerindeki antiviral etkinliği belgelenmiştir (Bernstein vd., 2009; Pilau vd., 2011).

Karvakrol bileşiği içeren kekik yağları, pandemik influenza A virüsü (H1N1) gibi birçok viral hastalığa karşı etkili doğal antiviral faktörler olduğu bildirilmiştir (Vimalanathan ve Hudson, 2012). Aksine, Sokmen vd., (2004), antigrip virüsü aktivitesi, kekikten elde edilen yağların veya özlerin takviyesinden etkilenmediğini belirtmişlerdir. Gilling vd.,

(2014), doğal bir gıda olarak karvakrol'ün, direkt olarak viral kapsid üzerine etki ederek, bir saat içinde insan norovirüsünü inhibe etmede çok etkili olduğunu bildirmişlerdir.

1.1.3.10. Antifungal etki

Karvakrol, membran hasarı, sitoplazmik içeriğin sızması ve ergosterolün azalmasına neden olduğu için doğal maya florasına ve bozucu mayalarına karşı iyi antifungal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Karvakrol'ün *Debaryomyces hansenii* üzerindeki etki mekanizmasının araştırılmasında, hücre zarının hasarını doğrulanmıştır. Karvakrolün zarın geçirgenliğinin artması, potasyum iyonlarının ve diğer sitoplazmik içeriklerin sızmasına neden olmuştur (Chavan ve Tupe, 2014).

1.1.3.11. Antibakteriyel etki

Karvakrol, çeşitli patojenlerin büyümesini inhibe etmektedir. *Salmonella typhimurium*'a karşı etkili bakteri yok edici aktivite göstermiştir (Kim vd., 1995). Karvakrol'ün antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılmasında, bu bileşiğin hidroksil grubunun antimikrobiyal aktivite için önemli olduğu bildirilmiştir (Ultee vd., 2002). *Campylobacter* sayılarının yüzde bir karvakrol ile veya her ikisi timol ve karvakrol kombinasyonu ile binde bir oranında azaldığı gösterilmiştir (Arsi vd., 2014). Friedman vd., (2002), Sokovic vd., (2002), Nastro vd., (2004) ve Baser, (2008), karvakrol'ün *Pseudomonas*, *Aspergillus*, *Salmonella*, *Streptococci*, *Listeria*, *Bacillus* ve *Fusarium* gibi birçok mikrop türüne karşı antimikrobiyal etkilerini bulmuşlardır. Burt vd., (2005 ve 2007), karvakrol'ün, tavuklarda *Escherichia coli* ve *Salmonella* sayıları dahil zararlı bakteriler üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

1.2. Düz Kaslar

Bağırsak, mesane, hava yolu, rahim, kan damarları ve mide dahil olmak üzere vücuttaki çeşitli organların ve boru yapılarının duvarlarını kaplayan düz kaslar bulunmaktadır (Ivana ve Barbara, 2015).

1.2.1. Düz kasların tipleri

Düz kaslar iki ana gruba ayrılırlar:

1.2.1.1. Çok üniteli düz kaslar

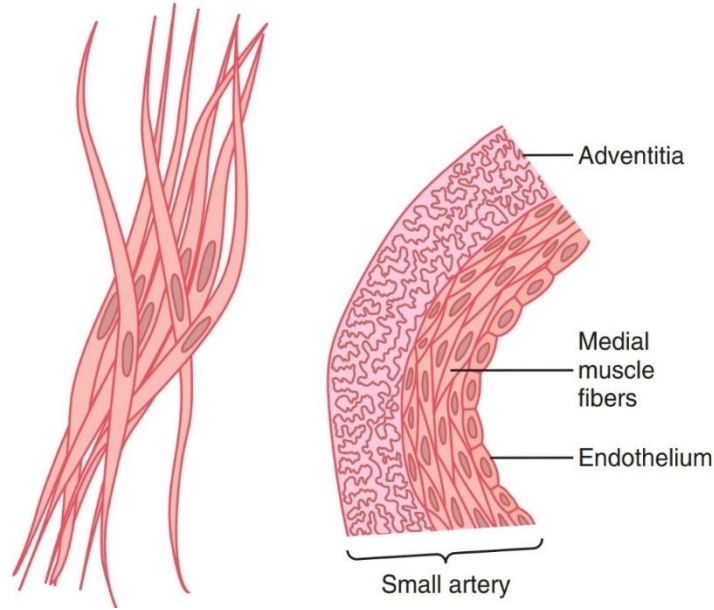
Farklı ve ayrı düz kas liflerinden oluşurlar (Şekil 1.2.A). Hücreler arasında doğrudan yakın temas yerleri bulunmaz. Her bir düz kas hücresi bağımsız olarak kasılır, kasılmaların eşgüdümü parasempatik ya da sempatik sinirler tarafından sağlanır. Çok birimli düz kaslarda spontan kasılmalar görülmez, sinirlerin elektriksel uyarılması bütün düz kasların anlık şekilde toplu olarak kasılmasına ve kuvvet uygulamasına neden olur. Bu kaslara örnek olarak şunlar verilebilir: büyük damarlar, bronş çeperlerindeki düz kaslar, trakeada bulunan düz kaslar, gözde iris konstriktör ve dilatör düz kasları, bazı hayvanların göz küresi önünde bulunan niktitan zar ve ciltteki pilomotor düz kaslar (Guyton ve Hall, 2016).

1.2.1.2. Tek üniteli düz kaslar

Tek birimli kaslara sinsitial ya da viseral düz kaslar da denilir. Bu kasların hücreleri kalp dokusunda olduğu gibi fonksiyonel bir sinsisyum oluştururlar. Hücreler arasında 'gap junction' adı verilen sıkı temas yerleri bulunur. Buralarda metabolit ve iyonlar bir hücreden diğerine serbestçe geçebilirler, bu da aksiyon potansiyelinin gap junctionun bir tarafındaki hücre zarından diğer tarafına, elektriksel kenetlenme nedeniyle hümoral nitelikte bir aracıya ihtiyaç duymaksızın geçmesini sağlar. Sinsisyum içinde bazı hücrelerin pacemaker özelliğine sahip olduğu bu hücreler arasında interstisyel Cajal hücreleri bulunduğu bilinmektedir. Bu hücrelerde başlayan spontan depolarizasyonların bütün iletim ve kasılma ağındaki hücrelere yayılması ve peristaltik kasılmalara neden olduğu görülür. Tek birimli düz kaslı yapıların şu bölgelerde bulunduğu bilinmektedir: viserlerin çeperlerinde gastrointestinal, ureter, uterus ve safra yolları gibi iç organlarda. Tek birimli düz kaslar (Şekil 1.2.B) iç organlarda buldukları için viseral düz kaslar olarak da adlandırılmaktadır (Guyton ve Hall, 2016).

1.2.2. Düz kas kasılmasının kimyasal esasları

Düz kaslar, hem aktin hem de miyozin filamentlerini içerirler. İskelet kasında bulunan aktin ve miyozin filamentlerine benzer özelliklere sahiptir. İskelet kası kasılmasının kontrolünde gerekli olan troponin kompleksini içermez ve bu nedenle kasılmanın kontrol mekanizması farklıdır. Düz kasta türetilen aktin ve miyozin filamentleri, iskelet kasında olduğu gibi birbirleriyle etkileşime girmektedir. Ayrıca, kasılma işlemi kalsiyum iyonları tarafından aktive edilir ve adenosin trifosfat (ATP), enerji sağlamak üzere adenosin difosfata (ADP) hidroliz edilmektedir. Bununla birlikte, düz kas ve iskelet kasının fiziksel organizasyonu ile kasılma işleminin kalsiyum iyonları tarafından kontrol edilmesi, kasılma süresi ve kasılma için gereken enerji miktarı arasında büyük farklılıklar vardır (Guyton ve Hall, 2016).



A. Çok üniteli düz kas.

B. Tek üniteli düz kas.

Şekil 1.2. Çok üniteli (multi unit) (A) ve Tek üniteli (single unit) (B) düz kaslar
(Guyton ve Hall, 2016).

1.2.3. Düz kasların kasılması

Bütün kas türlerinde eksitasyon-kontraksiyon kenetinde Ca^{2+} iyonu önemli rol oynamaktadır. Çizgili (iskelet) kasın kasılabilmesi için kasın hücre zarının depolarize olması, depolarizasyonun aksiyon potansiyeli şeklinde olması gerekir. Zardaki depolarizasyon sonucunda kasılmanın oluşmasına 'elektromekanik kenetlenme' denir. Bir çizgili kasta fizyolojik faktörler tarafından tetiklenen depolarizasyon olmaksızın kasın kasılması olası değildir. Bunlara ek olarak iskelet kaslarında, depolarizasyonda rol oynayan iyon, kalsiyum değil sodyum tarafından sağlanır. İskelet kasında L-tipi kalsiyum kanalları vardır. Bu kanallar düşük frekanslı stimülasyon ile açılmaz, sadece yüksek frekanslı stimülasyonla açılır ve bunun sonucunda sarkoplazmadaki Ca^{2+} düzeyinin yükselmesine ikincil derece katkıda bulunurlar. İskelet kas zarında oluşan gelen sodyum iyonunun rol oynadığı depolarizasyon, sarkoplazmik retikulum (SR) dan çok hızlı bir şekilde kalsiyum iyonlarının deşarj olmasını tetikler ve hücre membranındaki transvers tübüllerinin sarkoplazmik retikulumla sıkı - kavşak oluşturan kısımlarında, diğer ifade ile 'triad noktalarında' toplanmış voltaj sensörü şeklindeki kalsiyum reseptörlerinin depolarizasyonu olur. Bunun sonucunda sarkoplazmik retikulumda Ca^{2+} kanallarının açmasına bağlı olarak hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunda artış ve bunu takiben hücrede depolarizasyon olur. İşte bu depolarizasyon, hücre kasılmasına neden olur (Kayaalp, 1993).

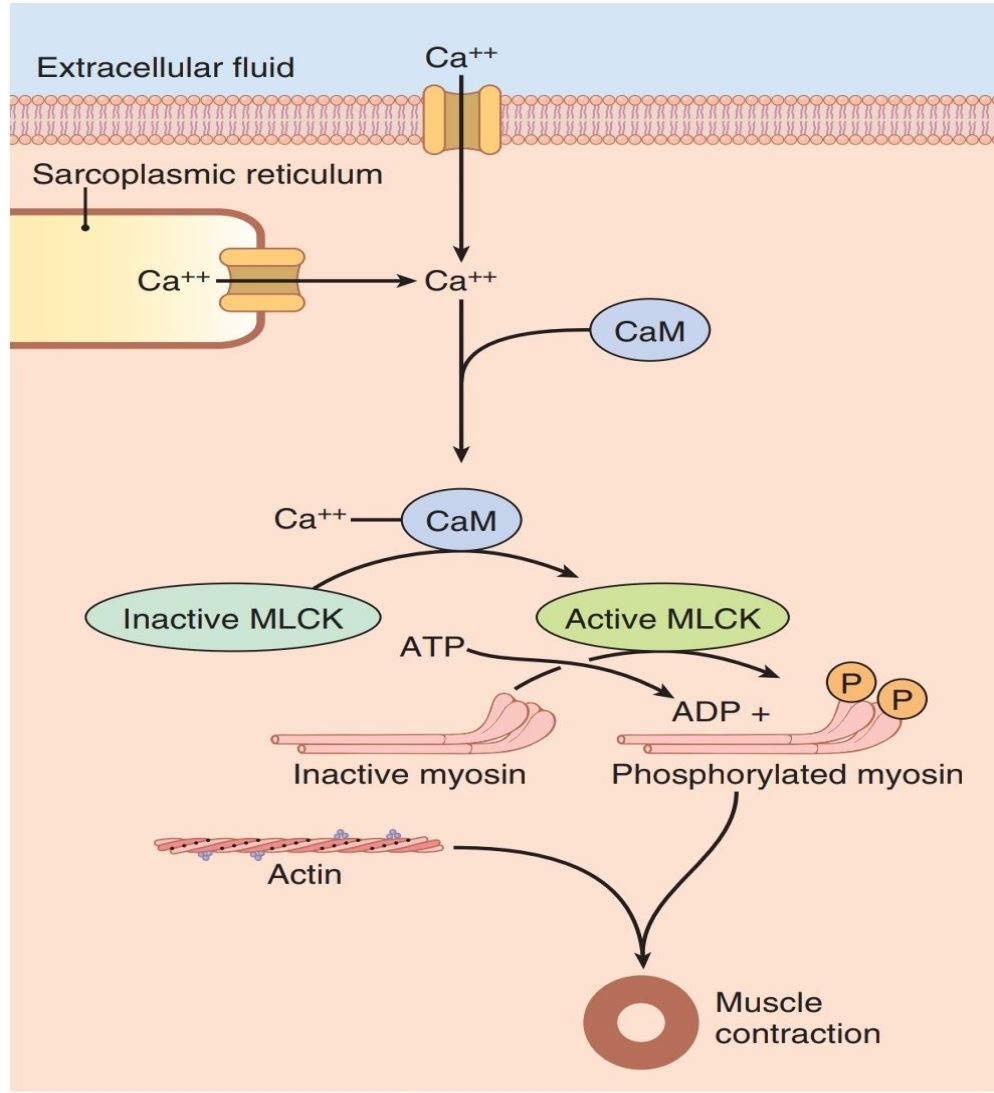
Düz kaslar, iskelet kası kasılmasının kontrolünde gerekli olan troponin kompleksini içermemektedir. Troponin yerine, düz kas hücreleri, kalmodulin adı verilen büyük miktarda başka bir düzenleyici protein içerir (Şekil 1.3). Bu protein troponine benzer olmasına rağmen, kasılmayı başlattığı şekilde farklıdır. Kalmodulin, miyozin çapraz köprülerini aktive ederek kasılmayı başlatır. Bu aktivasyon aşağıdaki sırayla meydana gelir:

1. Düz kasın sitozolik sıvısındaki kalsiyum konsantrasyonu, hücre dışı sıvıdan kalsiyumun kalsiyum kanalları yoluyla akması ve/veya sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salınmasının bir sonucu olarak artar.
2. Kalsiyum iyonları, kalmodulin ile reversible bağlanır.

3. Kalmodulin-kalsiyum kompleksi daha sonra bir fosforilasyon enzimi olan miyozin hafif zincir kinazı ile birleşir ve aktive eder.
4. Miyozin çapraz köprülerinin baş (kafa) kısmında bulunan regülatör hafif zincir, miyozin hafif zincir kinazı tarafından fosforile edilir, çapraz köprüler ile aktin üzerinde bulunan aktif noktaların etkileşmesini başlatır. Böylece kasılma oluşur (Guyton ve Hall, 2016).

Düz kaslarda, sarkoplazmik Ca^{2+} düzeyinin belli bir eşik değeri üzerine yükseldiği zaman kasılmaktadır.

Düz kaslarda kasılmanın olabilmesi için, iskelet kasındaki görüldüğü gibi sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salıverilmesinin olması ve hücre içi kalsiyum düzeyinin belli bir eşik değeri üzerine yükselebilmesi gereklidir ancak bu olayın gerçekleşmesi için her zaman depolarizasyon olması zorunlu değildir. Düz kaslar hiç depolarizasyon olmaksızın, hormonlar, otakoidler ve nöromediyatörler gibi fizyolojik etkenlerin etkisi ile de kasılabilirler. Bu şekilde düz kaslarda fizyolojik etkenlerin ya da bu etkenlerin etkisini taklit eden ilaçlar ile etki sonucunda kasılmalarına ‘farmakomekanik kenetlenme’ denir. Düz kas kasılmasında iskelet kasından farklı özellikleri vardır. Düz kaslarda aksiyon potansiyeli yapmayacak kadar zayıf depolarizasyon dalgalanmaları da yavaş bir şekilde kasılmayı sağlayabilir ve ayrıca düz kasların depolarizasyonu, iskelet kaslarından farklı olarak, sodyum akımına değil kalsiyum akımına bağlıdır (Kayaalp, 1993).



Şekil 1.3. Hücre içi kalsiyum iyonu (Ca^{2+}) konsantrasyonu, Ca^{2+} hücreye hücre zarındaki kalsiyum kanallarından girdiğinde veya sarkoplazmik retikulumdan salındığında artmaktadır. Ca^{2+} , Ca^{2+} -CaM kompleksi oluşturmak için kalmodulin'e (CaM) bağlanır ve sonra miyozin hafif zincir kinazını (MLCK) aktive eder. Miyozin çapraz köprülerinin kafa kısmında bulunan regülatör hafif zincir, miyozin hafif zincir kinazı tarafından fosforile edilir, çapraz köprüler ile aktin etkileşmesini başlatır ve kasılmayı oluşturur (Guyton ve Hall, 2016).

Düz kaslarda farmakomekanik kenetlenme sonucu görülen kasılmalarda en yaygın görülen mekanizma, fosfoinozimid hidrolizine bağı transdükleme olayıdır. Düz kas hücre membranında bazı agonistlerin reseptörleri, hücre membranında bulunan fosfolipaz C (PLC) ile G protein aracılığıyla kenetlenmişlerdir. PLC enzim aktivasyonu ile hücre membranındaki fosfolipidlerden olan fosfatidilinositol-4, 5-bifosfat (PIP₂) hidrolize uğrar ve bu olay sonucunda inositol-1, 4, 5-trifosfat (IP₃) ve diasilgliserol (DAG) oluşur. IP₃'un yanısıra çeşitli inositol tetrafosfat izomerleri de oluşur ancak IP₃ ve diğer inositol fosfatlar sarkoplazmik retikulum üzerinde bulunan IP₃ reseptörlerini etkileyerek sitoplazma içine Ca²⁺ akışına neden olur. IP₃, PLC ile fosfoinozimid hidrolizine dayalı gelişen farmakomekanik kenetlenme sonucunda görülen düz kaslardaki kasılmanın başlamasından sorumludur ve bu olayda SR aracılığı ile salıverilen Ca²⁺ önemli rol oynar. DAG'un kasılmadaki katkısı, gecikmiş olarak ortaya çıkan tonik faz üzerine etki ederek hücre zarındaki protein kinaz C (PKC) yi aktive etmesi ile ilişkilidir ve PKC aktivasyonunun düz kaslarda Ca²⁺ 'dan bağımsız olarak kasılma oluşabileğini gösteren bilgiler vardır. Bu olayda PKC bir kinaz kaskadını tetikleyebilir. PKC aktivasyonu ile damar düz kas hücre zarında Ca²⁺ kanallarının fosforile olması ile stimule olduğu, bu kalsiyum kanalların açık kalma olasılığını arttırdığına ilişkin bulgular ve ayrıca bazı agonistlerin Ca²⁺ kanalı üzerinde adenilat siklaz ya da guanilat siklazı aktive ederek cAMP ye ya da cGMP ye bağımlı protein kinazlar aracılığı ile fosforile etmek yolu ile yavaş kalsiyum kanallarının bloke olabileceğini gösteren bulgular da vardır (Kayaalp, 1993).

1.2.4. Düz kaslarda aktin ve miyozinin etkileşmesi

Düz kaslarda kasılmanın düzenlenmesinde ana mekanizma, miyozin hafif zincirinin (MLC) fosforilasyonu ve/veya miyozin hafif zincir defosforilasyonudur. MLC, Ca²⁺-kalmomodulin bağımlı miyozin hafif zincir kinaz (MLCK) tarafından fosforile edilir, öte yandan Ca²⁺ dan bağımsız çalışan 'miyozin hafif zincir fosfataz' tarafından defosforile edilir. Böylece, MLCK aktivasyonu ile hücre içi Ca²⁺ konsantrasyonunun artması ile düz kas kasılması olur (Özdemir ve Bağcıvan, 2011).

Aktin ve miyozin polimerize olma yeteneklerine sahip olan büyük proteinlerdir. Aktin ve miyozinin düz ve iskelet kaslarında bulunan şekilleri, kimyasal yapı açısından tamamen aynı değildir ancak birbirine çok benzerler. Bu iki molekül, kasılmayı sağlamak için birbirleri ile etkileşmeleri hem düz kasta hem çizgili kaslarda çok benzerdir (Kayaalp, 1993).

Düz kas hücrelerinde miyozin çapraz köprülerindeki baş kısmında bulunan regülatör hafif zincirin, MLCK tarafından fosforile edilmesi ile çapraz köprülerin aktin üzerindeki aktif noktaların etkileşmesini başlatır. Bu etkileşme sırasında köprülerdeki başların aktif noktara ardışık olarak bağlanmaları, baş ve kolun menteşelerden bir yönde bükülmesi ile aktin moleküllerini miyozinin merkezi yönünde yürütmesini sağlar. Başın kola doğru bükülmesi de aktif noktayı ve bu aktif noktaya bağlı aktin filamentini hareket ettirir. Bu hareket, iki aktif nokta arası kadardır. Bu olaya verilen ad; güç darbesi (power stroke) dir. Bunun için gerekli enerji ATP hidroliz edilerek elde edilir. Bükülmüş olan başın bağlandığı aktif noktadan ayrılıp geriye kayması ile arkadaki diğer aktif nokta hizasına gelir ve bağlanma olur. Hücre aktivasyonu devam ettiği sürece baş kısmın aktif noktaya bağlanması bükülmesi ve ayrılıp kayması olayı devam ederek her bir güç darbesi miyozin merkezinin iki tarafındaki aktin moleküllerini birbirine doğru kademeli bir şekilde yaklaştırır. Böylece kasılma meydana gelir ve devam eder. Aktin aktif noktaları ile bağlanan çapraz köprü sayısı (“cycling“, hızı) ile birim zamandaki kasılmanın gücü orantılıdır (Kayaalp, 1993).

1.2.5. Düz kas kasılmasında rol oynayan kalsiyum kaynakları

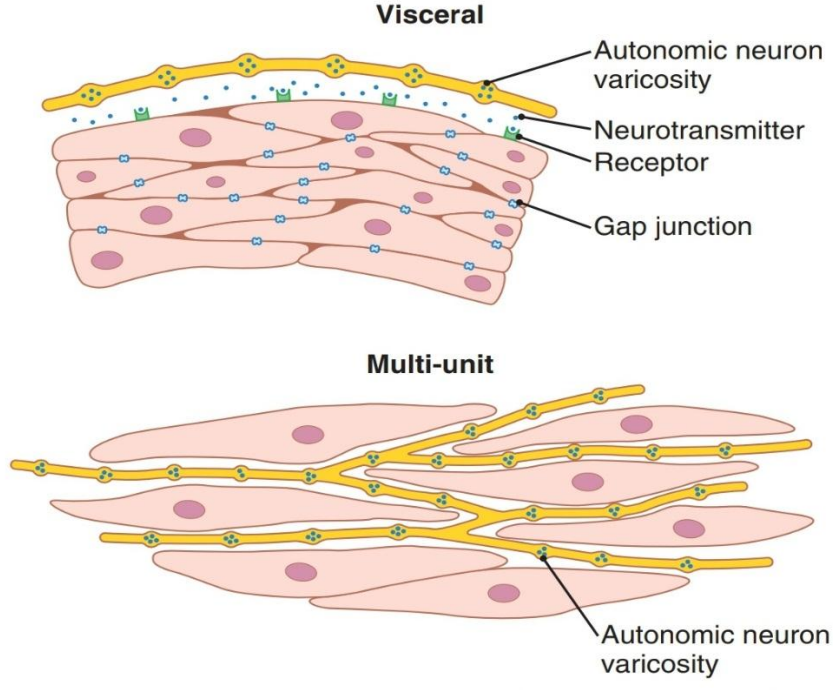
Düz kastaki kasılma süreci, iskelet kasındaki gibi, kalsiyum iyonları tarafından aktive edilmesine rağmen, kalsiyum iyonlarının kaynağı farklıdır. İskelet kasının kasılması için, hemen hemen tüm kalsiyum iyonlarını sağlayan sarkoplazmik retikulumun çoğu düz kasta gelişmemiş olmasıdır. Bunun yerine, kasılmaya sebep olan kalsiyum iyonlarının birçoğu, aksiyon potansiyeli ya da diğer uyaranlar sırasında hücre dışı sıvıdan kas hücresine girer. Hücre dışı sıvı içindeki kalsiyum iyonlarının konsantrasyonu 10^{-3} molardan daha büyük, hücre içindeki 10^{-7} molardan daha düşüktür. Bu durum kalsiyum kanalları açıldığında hücre dışı sıvıdan kalsiyum iyonlarının hücreye hızlı bir şekilde diffüzyonuna neden olur. Bu diffüzyonun gerçekleşmesi için gereken süre ortalama 200 ila 300 milisaniyedir ve kasılma

başlamadan önceki gizli süre olarak adlandırılır. Bu gizli dönem, düz kas kasılması için gereken süre, iskelet kası kasılması için gereken süreden yaklaşık 50 kat daha büyüktür (Guyton ve Hall, 2016).

1.2.6. Düz kaslar kasılmasının sinirsel ve hormonal kontrolü

1.2.6.1. *Düz kas nöromüsküler kavşaklarının anatomisi*

İskelet kası liflerinde bulunan nöromüsküler kavşaklar, düz kasta bulunmamaktadır. Bunun yerine, düz kası sinir sistemine bağlayan otonom sinir lifleri, şekil 1.4'da gösterildiği gibi, genellikle bir kas lifi tabakasının üzerine dağılırlar. Bu lifler düz kas lifinin hücre membranlarıyla doğrudan temas etmemektedir. Fakat bunun yerine, transmitterlerini düz kasın matriks içine salgılayan dağınık kavşaklar oluşturur. Daha sonra, bu transmitterler hücrelere yayılmaktadır (Guyton ve Hall, 2016).



Şekil 1.4. Diffüz bir şekilde dallanan ve nörotransmitteri çoklu varislerden salgılayan otonomik sinir lifleri ile düz kasın innervasyonu. Tek üniteli (visseral) düz kas hücreleri, haberleşme bağlantılarıyla (Gap junction) bağlanır, böylece depolarizasyon, bir hücreden diğerine hızla yayılabilir ve kas hücrelerinin tek bir birim olarak kasılmasına izin verir. Çok üniteli düz kasta, her bir hücre bağımsız olarak yakından ilişkili otonomik sinir varislerinden salınan bir nörotransmitter tarafından uyarılmaktadır (Guyton ve Hall, 2016).

1.2.6.2. Düz kaslarda membran potansiyelleri

Normal dinlenme durumunda, hücre içi potansiyel genellikle yaklaşık -50 ile -60 millivolt'dur, bu da iskelet kasındakiden yaklaşık 30 milivolt daha az negatiftir.

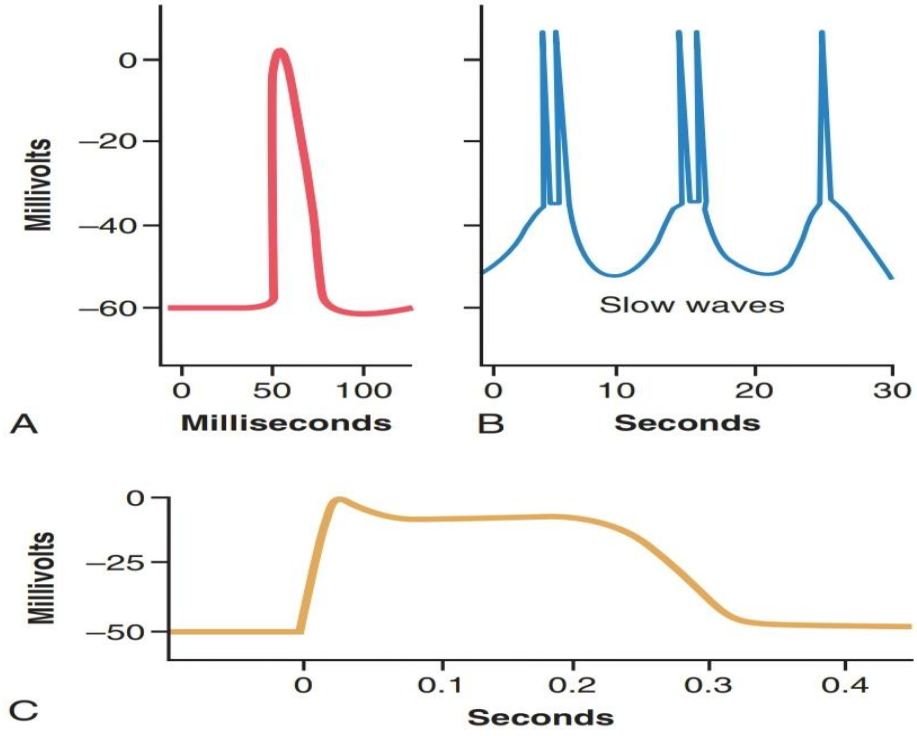
Tek üniteli düz kaslarda spontan aksiyon potansiyeli oluşması sıradan görülen bir durumdur. Düz kaslarda görülen aksiyon potansiyeli iki türdür. Bunlar: dikensi (sivri) ve platolu aksiyon potansiyelleridir.

1.2.6.2.1. *Dikensi aksiyon potansiyeli*

İskelet kası içinde görülenler gibi tipik dikensi potansiyelleri, çoğu tek üniteli düz kasta görülür. Bu tip aksiyon potansiyelinin süresi, şekil 1.5.A'da gösterildiği gibi 10 ila 50 milisaniyedir. Bu aksiyon potansiyelleri birçok yoldan ortaya çıkarılabilir, örneğin, elektriksel uyarımla, hormonların düz kas üzerindeki etkisiyle, sinir liflerinden transmitterlerin etkisiyle, gerilerek veya kas lifinin kendisinde kendiliğinden oluşması sonucudur (Guyton ve Hall, 2016).

1.2.6.2.2. *Platolu aksiyon potansiyeli*

Platolu düz kas aksiyon potansiyeli (Şekil 1.5.C) 'nin başlangıcı tipik dikensi potansiyelininkine benzer. Ama, kas lifi zarının hızlı repolarizasyonu yerine, repolarizasyon birkaç yüz ila 1000 milisaniye (1 saniye) kadar gecikmektedir. Platonun önemi, ureter, bazı şartlar altında uterus ve bazı vasküler düz kas tipleri gibi bazı düz kas tiplerinde oluşan uzun süreli kasılmayı hesaba katabilmesidir (Guyton ve Hall, 2016).



Şekil 1.5. Bir dış uyarı ile ortaya çıkan. A. tipik düz kas aksiyon potansiyeli (dikensi, sivri potansiyeli). B. Bağırsak duvarının düz kasında kendiliğinden oluşan yavaş ritmik elektriksel dalgalar tarafından ortaya çıkan tekrarlayan dikensi potansiyelleri. C. uterusun düz kas lifinden kaydedilmiş platolu aksiyon potansiyeli (Guyton ve Hall, 2016).

1.2.6.3. Düz kas nöromusküler kavşağında salgılanan uyarıcı ve inhibitör transmitterler

Sinir sistemine düz kasları bağlayan otonom sinirlerin lifleri tarafından salgılanan en önemli transmitterler, asetilkolin ve norepinefrindir. Ama bu transmitterler aynı sinir lifleri tarafından asla salgılanmazlar. Asetilkolin, bazı organlardaki düz kas lifleri için uyarıcı bir transmitter, ancak diğer organlardaki düz kas için inhibe edici bir transmitter. Asetilkolin bir kas lifi uyardığında norepinefrin normal olarak onu inhibe eder, bunun aksine asetilkolin bir lifi inhibe ettiğinde ise norepinefrin genellikle onu uyarır. Bu olayın nedeni, reseptör proteinlerinin bazılarının uyarıcı diğerlerinin ise inhibitör özellikte reseptörler olmasıdır.

Böylece, reseptör tipi, düz kasın inhibe edilip edilmediğini veya uyarıldığını ve ayrıca iki transmitterden hangisinin asetilkolin veya norepinefrinin, uyarma veya inhibisyona neden olmada etkili olduğunu belirler (Guyton ve Hall, 2016).

1.3. Bağırsak Fizyolojisi

Sindirim kanalı aktivasyonu çeşitli maddelerin dolaşım sistemine aktarılması sağlanır. Bunlar: elektrolitler, su ve gıdalardır. Sindirim sisteminin bu olayları gerçekleştirebilmek için aşağıdakilerin olur:

Sindirim sisteminde salgılarının olması ve besinlerin sindirimi, Besinlerin sindirim kanalında hareket etmesi ve parçalanabilmesi. Vitaminler, sindirim ürünler, su ve diğer çeşitli elektrolitlerin emilmesi. Emilen maddeleri uzaklaştırması için gastrointestinal organlarda kanın dolaşımı.

Bu işlevlerin sinirsel ve hormonal mekanizmalar aracılığı ile kontrolü sindirim ve sinir sisteminde olur (Guyton ve Hall, 2016).

1.3.1. Gastrointestinal duvarın fizyolojik anatomisi

İnce barsak duvarının enine kesiti (Şekil 1.6) de gösterilmiştir. Barsak duvarının yapısına bakıldığı zaman, dıştan iç tarafa doğru tabakalar şöyledir.

1. Seroza (*serosa*). 2. Longitudinal_düz_kas_tabakası. 3. Sirküler_düz_kas_tabakası. 4. Submukoza. 5. Mukoza.

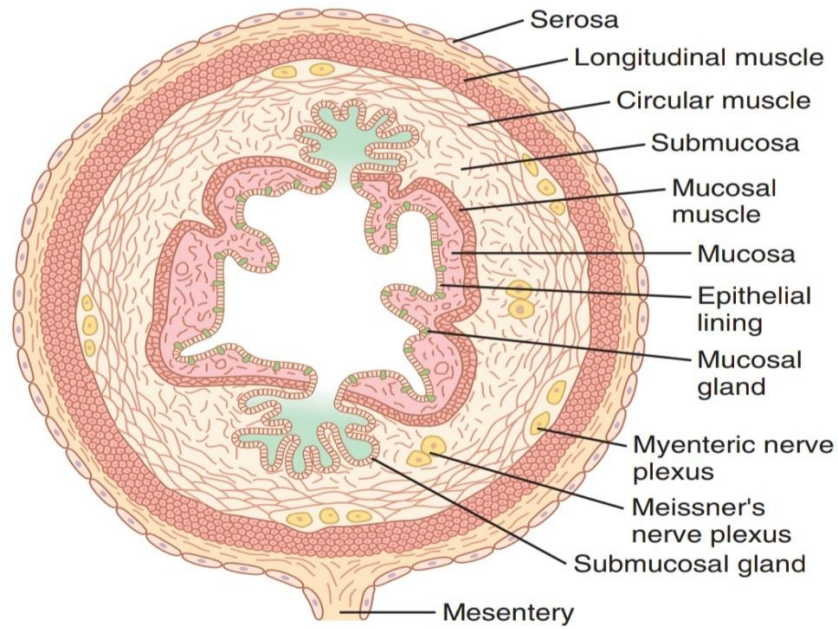
Muskularis mukoza tabakası, seyrek düz kaslardan oluşmuştur ve mukozanın daha derin tabakalarında uzanır.

Gastrointestinal kanaldaki düz kas liflerine bakıldığında, bu liflerin paralel uzanan demetler şeklinde olduğu görülür. Bağırsakların kasılma ve gevşeme gibi motor fonksiyonlarının oluşmasında düz kaslar önemli rol oynar. Longitudinal kaslar barsak kanalı boyunca uzunlamasına olarak aşağı ve yukarı uzanırlar. Sirküler kas tabakasındaki düz kas

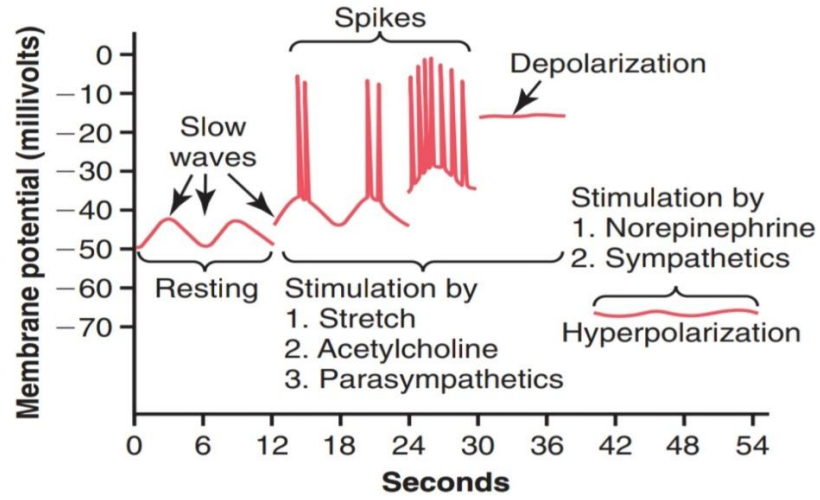
kaslar ise barsağın çevresinde, çepeçevre dolanırlar. Düz kas lifleri birbirleri arasında, gap junction olarak da bilinen çok sayıda sıkı bağlantılara sahiptirler. Bu bağlantılar sayesinde iyonların hücreden hücreye geçişi ve elektrik sinyallerinin geçişi olur. Her bir kas demetinin içindeki elektrik sinyalleri böylece bir liften öteki kas lifine kolaylıkla ulaşabilir. Longitudinal kas demetleri ile sirküler kas demetleri arasında bağlantılar vardır ve bu bağlantılar sayesinde tabakalar arasında uyarı geçişleri olur (Guyton ve Hall, 2016).

1.3.2. Gastrointestinal düz kasın elektriksel aktivitesi

Gastrointestinal düz kaslarında sürekli olarak yavaş da olsa içsel (intrinsik) elektriksel aktivite ve dalgalar görülür. Oluşan bu dalgalar iki tiptedir: yavaş dalgalar ve dikensi dalgalar (Şekil 1.7) (Guyton ve Hall, 2016).



Şekil 1.6. İnce bağırsak duvarının enine kesiti (Guyton ve Hall, 2016).



Şekil 1.7. İntestinal düz kastaki membran potansiyelleri (Guyton ve Hall, 2016).

1.3.2.1. Yavaş dalgalar

Sindirim sisteminde görülen kasılmaların bir çoğu ritmik olarak ortaya çıkar. Bu ritmik kasılma olayında belirleyici etken düz kas membran potansiyelinde gelişen yavaş dalgaların sıklığıdır ve bunlar düzenli şekilde ortaya çıkarlar.

Yavaş dalgalar sinir sisteminden gelen uyarılara bağlı değildir. Yavaş dalgalar sadece tek başlarına yeterince kasılma oluşturmazlar.

Sindirim sistemindeki yavaş dalgalar membran dinlenme potansiyellerinin dalga akımlarıdır, bunlar yakın kas bölümlerine yayılır ve yavaş dalgalar oluşur, depolarizasyonlar sindirim sistemi boyunca uzun mesafelere erişebilecek şekilde yayılırlar.

Sindirim sisteminin farklı yörelerine göre yavaş dalga sıklığında farklılık olduğu görülür. Bunlar ince bağırsakta dakikada 10 - 20, kalın bağırsak ve midede ise 3 – 8'dir.

Nedenleri tam olarak bilinmemekle beraber, yavaş dalgaların sodyum potasyum pompasındaki etkinliğin önemli rolü bulunduğu düşünülmektedir (Guyton ve Hall, 2016).

1.3.2.2. *Dikensi potansiyeller*

Kasılma oluşmasında asıl etken dikensi aksiyon potansiyelleridir. Gastrointestinal düz kasların membran dinlenme potansiyelleri yaklaşık -50 ile -60 milivolt (mV) arasındadır. Membran dinlenme potansiyelinin eksi 40 mV olduğu zamanlarda olarak dikensi potansiyeller görülür.

Na⁺ iyonlarının hızlı bir şekilde Na⁺ kanallarından hücre içerisine girmesi ile sinir liflerinde aksiyon potansiyellerini oluşturan mekanizma, tetiklenmiş olur.

Mide bağırsak sisteminde bulunan düz kaslarındaki ise aksiyon potansiyelini oluşturan kanallar sinir sisteminde bulunanlara göre farklılıklara sahiptir. Çok fazla sayıda Ca²⁺ iyonunu ile az miktarda Na⁺ iyonu birlikte girmesi nedeni ile bu kanallara kalsiyum-sodyum kanalları adı verilir. Kalsiyum-sodyum kanalları Na⁺ kanallarına göre çok daha yavaş açılan ve daha yavaş kapanan iyon kanallarıdır. Bu kanalların etkisi ile mide bağırsak sistemi kaslarında meydana gelen aksiyon potansiyelleri daha uzun sürerler. Mide bağırsak sistemi kaslarındaki dikensi potansiyeller, sinir liflerinde görülen 10 - 20 milisaniyeden daha uzundurlar ve sinir liflerine göre 10 - 40 kat daha fazla kadar sürer.

Gastrointestinal düz kaslarında kasılmaya sağlayanlar kas hücresi içine giren Ca²⁺ iyonlarıdır bu nedenle kalsiyum iyonları önemlidir.

Yavaş dalgalar Ca²⁺ iyonlarının kas lifine girebilmesi için yeterli değildir ve sağlayamazlar, bu dalgalar ile sadece kas hücre içine Na⁺ iyonlarının girmesi mümkün olabilir, bu nedene bağlı olarak yavaş dalgalar tek başına kasta kasılma için yeterli değildirler. Yavaş dalgaların tepelerinde sivri potansiyellerin oluşması sırasında çok miktarda Ca²⁺ iyonunun kas hücresi ve düz kas liflerinin içine geçtiği ve kasılmaya neden olduğu görülür (Guyton ve Hall, 2016).

1.3.3. Gastrointestinal düz kasların ritmik ve tonik kasılmalar

Gastrointestinal sistemdeki bazı düz kasların hem ritmik hem tonik kasılmalarda rol oynadığı görülür. Tonik kasılmalar bazal elektriksel ritimler ile ilişkili olmayıp sürekli olan kasılmalardır ve bunların yoğunluklarında artış ve azalma şeklinde değişimler görülse de süreklidirler. Tonik kasılmaların oluşmasında, düz kas membranı üzerine etki ederek depolarizasyona neden olan hormonlar gibi etkenler rol oynayabilmektedir.

Tonik kasılmaların bazen sivri potansiyellere neden oldukları ve bu sivri potansiyellerin artışına bağlı olarak kasılma derecesinde artışa neden oldukları görülür. Tonik kasılmaların nedenleri arasında, hücre membranındaki elektriksel potansiyel değişikliklerine bağlı olmayan başka yollar ile hücreye içine doğru Ca^{2+} 'un girişidir. (Guyton ve Hall, 2016).

1.3.4. Gastrointestinal işlevin sinirsel kontrolü

Bağırsak hareketleri üzerinde sinir sisteminin önemli rolü vardır.

1.3.4.1. Enterik sinir sistemi

Gastrointestinal sistemi, tamamen bağırsak duvarında yerleşmiş olan ve yemek borusundan başlayıp anüse kadar süreklilik gösteren kendisine ait bir mekanizmaya sahiptir. Bu mekanizmaya 'enterik sinir sistemi' de denilmektedir ve gastrointestinal sistemdeki hareket ve salgı üzerinde önemli rollere sahiptir.

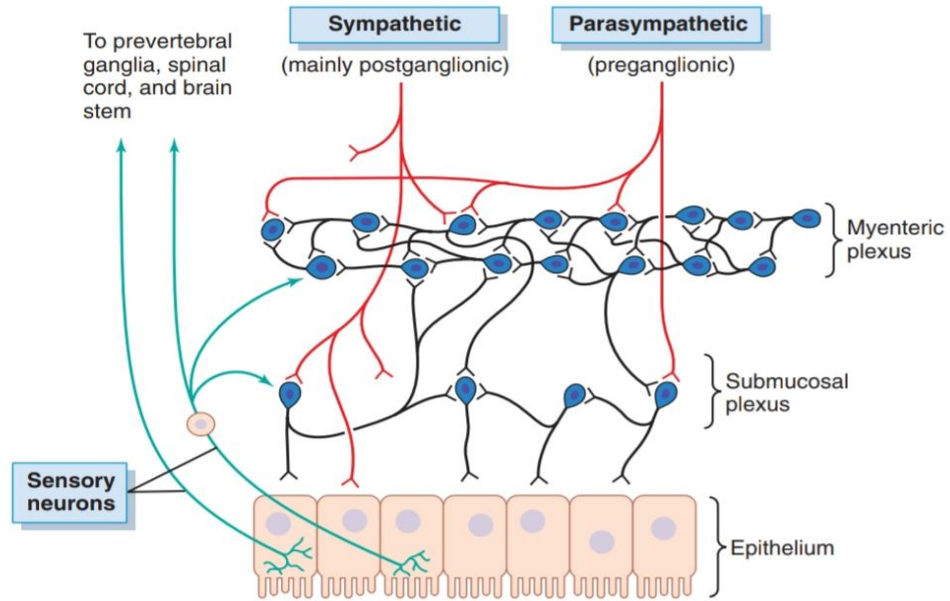
Bu enterik sistemdeki nöronların sayısı yaklaşık 100 milyondur ve neredeyse omurluktaki nöronların sayısına da eşittir. Bu kadar çok nöronun bulunduğu yer olan enterik sinir sistemine "ikinci beyin" adı da verilmiştir (Schneider vd., 2019). Bu sistem, sindirim sisteminde hareket ve salgı başta olmak üzere fonksiyonların çoğunu düzenler.

Enterik sinir sistemi iki ana kısımdan oluşur (Şekil 1.8). Bunlardan birisi kas tabakasının longitudinal ve sirküler kasları arasında yer alan plexus myentericus denilen ağdır ve sindirim sistemi boyunca mevcuttur. Bunların ikinci ise submukoza tabakası

içerisine gömülü olarak bulunan plexus submucosus'dur. Plexus myentericus esas olarak gastrointestinal hareketleri kontrol eder, uyarılması durumunda tonik ve peristaltik hareketlerin artmasına neden olur. Plexus submucosus ise gastrointestinal sekresyonun ve lokal kan akışının kontrolünde daha ön plana çıkmıştır (Guyton ve Hall, 2016).

1.3.4.2. Ekstrinsik sinir sistemi (Otonom kontrol)

Sindirim işlevlerinin normal ve sağlıklı bir şekilde sürekli olabilmesi için hem santral sinir sistemine bağlı olan hem de gastrointestinal sistemin içinde yer alan intrinsik sistemin birbirlerine bağlı olarak ve uyum içinde çalışmaları zorunludur. Bu nedenle de sempatik (adrenerjik) etkinlik gastrointestinal peristaltik hareketlerde azalmaya parasempatik (kolinerjik) etkinlik kasılma ve peristaltik hareketlerde artışa yol açar.



Şekil 1.8. Bağırsak duvarında sinirsel kontrol. (1) Miyenterik ve submukozal pleksuslar (2) Bu pleksuslarla bağlantılı sempatik ve parasempatik sinirler tarafından ekstrinsik kontrol (3) Bağırsak duvarından enterik pleksuslara, oradan omuriliğin prevertebral ganglionlarına ve doğrudan omurilik ve beyin sapına geçen duyuşal lifler (Guyton ve Hall, 2016).

Adrenerjik ve kolinjerjik nörotransmitterlerin rol oynadığı ekstrinsik nöral kontrol sistemleri besinlerin sindirim yoluna irademiz ile olarak alınmasını ve feçesin atılmasında rol oynar bu nedenle de istemli kas hareketleriyle otonom barsak motilitesini bir araya getirir. Gastrointestinal kanaldaki ekstrinsik sinirsel kontrolün altında olan yegane bölgeler özogafus ve anüstür. Bunun dışında kalan sindirim sistemi bölgeleri istemsiz şekilde otonom sinirlerin uyarıları yoluyla düzenlenerek devam eder (Guyton ve Hall, 2016).

Gastrointestinal sistem üzerinde kontrol edici olan otomon sinirlerin geldikleri yerler, santral sinirleri çıktığı yerlere göre değişir. Bunlar: kranial ve sakral olarak sınıflandırılır.

Sindirim sistemine parasempatik uyarıyı götüren neredeyse tek başına vagus siniridir. Sadece ağız ve farink bölgesine vagustan ek olarak glossopharyngeus siniri de innerve eder, bu sinirin daha aşağıya vagus gibi inmesi sözkonusu değildir. Vagusun lifleri yemek borusu, mide, pankreas ve kalın barsağın sigmoid, rektum ve anal bölümlerinde zengin bir innervasyon sağlar. Kalın barsakların son kısımlarının parasempatik uyarıları sakral bölgeden gelir (Guyton ve Hall, 2016).

Medulla spinalisin sakral kısmından çıkan parasempati sinirler, pelvis sinirleri (nervus pelvici) içinde kalın barsağın distal kısımlarının innervasyonunu yapar. Hem vagus hem sakral parasempatik sinirlerden gelen uyarılar myenterik ve submukoza pleksuslarında ulaşır. (Guyton ve Hall, 2016).

Medulla spinalisin göğüs-bel kısmına ait bölgesinde (thoraco-lumbal bölgeden) çıkan sempatik sinir lifleri, esas olarak medulla spinalisin T-8 ile L-2 arasındaki segmentlerinden çıkarlar ve hemen sempatik zincir gangliyonlarına girerler. Bu gangliyonlardan geçen sinir lifleri, gastrointestinal sistemin duvarında bulunan gangliyonlarda sonlanırlar ve sinaptik bağlantı yaparlar.

Sempatik uyarının genellikle bağırsak hareketlerinde bir inhibisyona neden olduğu, bağırsak kan damarlarını daralttığı görülür. Sempatik sinirlerin zarar görmeleri ya da kesilmeleri durumunda kanın karında toplanması görülür ve kan basıncında düşme

görülebılır. Bunun sonucunda beyine yeterince kan gidemeyecek kadar kan basıncaında düşme görülebılır (Guyton ve Hall, 2016).

1.3.5. Gastrointestinal motilitenin hormonal kontrolü

Gastrointestinal sistemdeki salgıların kontrolü üzerinde çeşitli hormonların önemleri vardır. Gastrointestinal sistemden salıverilen bu hormonlar kendileri için spesifik reseptörlere bağlanarak etkilerini gösterirler. Bu hormonlar şunlardır: 1. *Asetilkolin*, 2. *Norepinefrin (noradrenalin)*, 3. *Adenozin trifosfat (ATP)*, 4. *Serotonin (5-HT)*, 5. *Dopamin*, 6. *Kolesistokinin*, 7. *P maddesi*, 8. *Vazoaktif intestinal peptid (VIP)*, 9. *Somatostatin*, 10. *Enkefalinler (Leu-enkefalin ve Met-enkefalin)*, 11. *Bombesin* (Guyton ve Hall, 2016).

Gastrin: Mide, duodenum ve jejunumun G hücrelerinden salıverilir. Gastrinin iki ana etkisi vardır: 1. Mide asit salgısını arttırır. 2. Mide-bağırsak epitelinin gelişmesinde rol oynar.

Kolesistokinin: Duodenum ve jejunum mukozasında bulunan I hücrelerinden salıverilir. Salıverilmesinde bağırsak içindeki yağ ve yağ asitlerinin yıkım ürünleri ile monogliseritlerin varlığı rol oynar. Kolesistokinin etkisi ile safra kesesinin kasılmasında artış ve safranin duodenuma boşalmasında kolaylaştırıcı etki olur. Dolayısıyla safranin duodenumda bulunan yağlı besinlerin emülsifiye olması, sindirilmesi ve emilmeleri mümkün olur. Mide hareketleri üzerinde kolesistokinin az da olsa azalma yapabilir. Mide üzerindeki yavaşlatıcı etki ile de mide içinde bulunan besinlerin duodenuma geçişini yavaşlatır, yağların sindirilmeleri için yeterince zaman oluşmasında önemli rol oynar.

Sekretin: Asidik özellikte olan mide özsuyu etkisi ile duodenumda bulunan S hücrelerinden salıverilen bir hormondur.

Gastrointestinal sistem hareketleri üzerinde inhibitor etkisi vardır ve bu etki gastrointestinal sistem boyunca görülür.

Gastrik inhibitör peptit: Gastrointestinal sistemin üst kısımlarından salgılanır ve salgılanmasında yağların, amino asitlerin ve az da olsa karbohidratların rolü bulunur. Besinler geldiğinde midenin motor aktivitesini inhibe ederek mide içeriğinin duodenuma geçişini yavaşlatıcı etki gösterir.

Motilin: gastrointestinal sistemde motiliteyi artırıcı bir etkisi olan hormondur. Duodenumun ilk kısımlarından ve açlık durumlarında daha belirgin olarak salgılanır. Açlık durumunda her birbuçuk saatte bir olmak üzere miyolektrik kompleksler adı verilen gastrointestinal motilite şeklinde dalgalarını uyarır. Besin alınması sonrasında motilin salgısı baskılanmaktadır (Guyton ve Hall, 2016).

Serotonin (5-HT): Sinir uçlarında ve enterokromafin hücrelerde bulunur ve aynı zamanda kısaca 5-HT (5-hidroksitriptamin) olarak bilinir. Hem yerel hormon (otakoit) hem de nörotransmitterdir. 5-HT, gastrointestinal sistemin bölgeleine göre değişik etkilere sahiptir. İnce barsakta önce bir spazm hemen ardından motilite artışına neden olur. Serotonin insanda mide ve kalın barsağı gevşetir ve motilitesini azaltır. Enterokromaffin hücrelerin stimülasyonu, sempatik sınır lifleri ve vagus siniri tarafından kontrol edilmektedir (Kayaalp, 2012).

1.3.6. Gastrointestinal kanaldaki hareketlerin tipleri

Gastrointestinal kanal içinde iki ana tipte hareket meydana gelir. Bunlar, öncelikle emilim ve sindirim için gerekli olan ve besinleri uygun şekilde ve hızda ileri doğru hareket ettiren kısaca ilerletici hareketlerdir (peristaltik hareketler) (Şekil 1.9). İkinci tipte hareketler ise bağırsak içeriklerinin her zaman birbirleriyle karışık olarak kalmasını sağlayan karıştırıcı hareketlerdir (Guyton ve Hall, 2016).

1.3.6.1. İlerletici hareketler (Peristaltik hareketler)

Gastrointestinal kanal sürekli olarak bir kasılma, emilme ve sekresyon durumunda hareketli bir yapıdır. Bu durumun kontrolü karmaşıktır ve bu durum üzerinde kasın kendisinin, lokal sinirlerinin (yani enterik sinir sisteminin), santral sinir sisteminin, ve

humoral sistemin katkısı vardır. Ek olarak gastrointestinal sisteminin motilitesinde önemli rol oynayan hücreler vardır, bunlar bağırsağın değişik bölgelerinde bağırsak duvarının içerisinde dağılan ve elektriksel (yavaş dalgalar) ritmin oturtulmasından sorumlu olan ve bundan dolayı kasılmaların düzenlenmesine sebep olan interstisyel Cajal hücrelerdir. Bu hücreler ayrıca kas hücresiyle uyarıcı ve inhibe edici nöronlar arasındaki haberleşmenin çevirisini ve modülasyonunu da halen üzerinde çalışılıp aydınlatılması gereken birden fazla mekanizmalar aracılığı ile yapabilirler (Brunton vd., 2017).

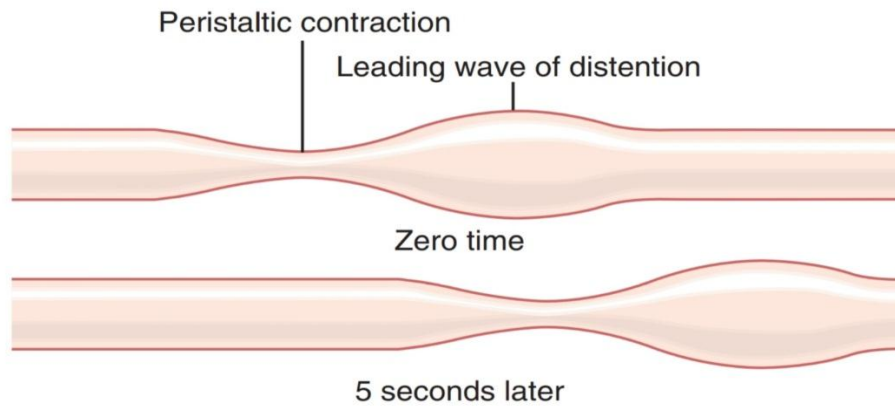
İlk kez Bayliss ve Starling (1899) tarafından köpeklerde gösterilmi olan peristaltik hareketler, bağırsaklar boyunca proksimalden distal yöne doğru yani anal yönde ilerleyici hareketlerdir. Bu hareketler üzerinde hem longitudinal hem de sirküler kasların birlikte ve ritmik şekilde kasılmasıyla önemli rol oynar. Gastrointestinal sistem içine gelen besinler bu sistem boyunca iletilmek zorundadır. Peristaltik hareketler, bağırsak içeriğinin anal yöne doğru iletilmesi için önemli ve aynı zamanda esas mekanizmayı oluştururlar (Bölükbaşı, 1989).

Sindirim sistemindeki besin içeriğinin ileriye doğru gidebilmesini fizik yasalarına uygunluk gösterir. Sistemin lumeni içerisinde oluşturulan basınç farkları ile besin maddeleri oral taraftan anal yöne doğru ilerler. Halka şeklinde olan bir kas kasılması kimusun oral tarafında oluşur ve kimus anüse doğru ilerler, ve kimus ileri doğru itilmiş olur. Kasılma ile oluşan halka ilerler, ön tarafta bulunan kas tabakası gevşer ve kimusun kolayca ilerlemesine yardım eder. Böylece basınç farkını değerlendirerek, kontraksiyon dalgasının besini kaudaldeki gevşemiş alana itmesi sağlanır. Bu olaya “bağırsak yasası” denir ve bu bölgesel olaya miyenterik refleks de adı verilir (Bölükbaşı, 1989).

Peristaltik dalgalar hızlı ve yavaş ilerleyen olarak iki tiptedir. Bu hareketlere aynı zamanda Tip 2 kontraksiyonlar da denir ve her kasılma 0.5 ile 1.5 dakika devam eder. Hızlı olan saniyede 2-25 cm arasındadır. Daha uzun yol boyunca devam edebilen dalgalar da görülür, bunlar aynı zamanda daha hızlı olur ve bunlara ‘peristaltik püskürme’ denir. Deney hayvanlarında bariz olarak tavşanlarda görülebilir (Bölükbaşı, 1989).

Peristaltik dalgaların normal gidiş yönü bağırsağın oral (kranial) tarafından kaudale (anüs) tarafına doğrudur. Yeterince uzunlukta bir bağırsak parçası kesilir ve kesildiği aynı yere ancak ters olarak dikilecek olursa, dikiş yerinin kranial kısmında katı içerik toplanması görülecektir. Bu olayın nedeni sadece kesilen ve ters dikilen dokunun değil, aynı zamanda hareketlerin de tersine dönmüş olmasıdır (Bölükbaşı, 1989).

Besinleri ileri sürükleyen hareketlerin esas olarak, mukozal reseptörler, düz kaslar ve intrinsik sinir ağları ile bir bütünsellik özelliği gösteren bir reflex olduğu görülür. Hareket barsağın herhangi bir bölgesinde olan bağırsak duvar gerilmesine bağlı olarak başlayabilir. Normal ve en etkili uyaran bağırsak duvarının gerilmesidir. Sindirim kanalının duvarı normal koşullarda miyenterik ağdan sürekli gelen impulslarla tam olmasa bile bir tetanik kasılma hali içindedir. Bu nedenle de intraluminal basınç artışı olmadan bağırsak genişleyebilmekte ve besin kitlesinin önünde ve arkasında bir boşluk oluşmasına izin vermemektedir. Bağırsak duvarında belirli bir tonus olmasa, maddelerin bağırsakta rastgele biriktiği görülür. Bağırsak duvarındaki gerilme ile bağırsak hareketlerinin başlatılması için etkili uyarımlar oluşması sağlanır ve maddelerin rastgele bağırsak içerisinde birikmesini engellenmiş de olur (Bölükbaşı, 1989).



Şekil 1.9. Bağırsağın peristaltik hareketleri (Guyton ve Hall, 2016).

Barsaktaki ilerletici dalganın bir yerden geçişini takiben barsağın bu bölümü 10 - 25 saniye aralığında kasılı kalabilir. Bu süre zarfında besin kitlesi sürekli olarak yol almaya devam eder. Peristaltik dalgaların ileum son kısmında durduğu, kalın bağırsağa geçmediği görülür. Dalgaların ileumda sonlanması aynı zamanda ishal olayına karşı bir engel ve bir önlem şeklindedir (Bölükbaşı, 1989).

Peristaltik dalgalar sayesinde kimusun sadece ileosekal kapakçığa doğru yürümekle kalmaz aynı zamanda kimusun bağırsak mukozasında yayılmasını sözkonusu olur. Kimus mideden ince barsağa yürüdükçe, proksimal barsak parçası geriler, peristaltik dalgaları hemen başlatır, bu da kimusun bağırsak mukozasında yayılmasını sağlar ve daha fazla kimusun bağırsak lümenine geçebilir. Kimusun ileosekal kapakçığa geldikten sonra hemen ileri geçmez, bazen saatlerce burada kalır. Yeniden beslenme durumunda kimusun geçişi bazen burada saatlerce engellenir. Ancak canlı yeni bir gıda aldığı zaman, gastroileal reflex ile ileumda peristaltik hareket kuvvetlenir ve bunun sonucunda kimusun ileosekal kapaktan sekuma geçmesi mümkün olur (Noyan, 2004).

Kimus ilerlemesi sırasında ince bağırsaklarda aralıklı olarak daraltıcı kasılmalar görülmesine bağlı olarak ince bağırsak bölümlenmeleri görülebilir (Guyton ve Hall, 2016). Bu şekilde ince bağırsağın bölümlere ayrılması barsağa bir sosis zinciri görünümü de kazandırır. Bu bölümlenme kasılmaları kimusu dakikada 2 ya da 3 defa parçalara bölebilir ve bu yol ile katı besin kısımlarının ince bağırsaktan salgılanan salgılar ile karışması da sağlanır (Guyton ve Hall, 2016).

Yavaş dalgaların frekansları, ince bağırsaktaki bölümlenme kasılmalarının en yüksek frekansını da belirler. Bu frekans proksimal jejunumda ve duodenumda yaklaşık 12/dakika olduğu zaman, bu alanlardaki bölümlenme kasılmalarındaki frekans da yaklaşık 12/dakika olur. Bu durum her zaman olmayıp sadece aşırı uyarılma durumlarında görülür. Terminal ileumda bu daha azdır en yüksek kasılma frekansı genellikle 8-9/dakikadır (Guyton ve Hall, 2016).

Bölümlenme kasılmaları üzerinde enterik sinirlerin etkisi var dır ve bu enterik sinir sistemi'nin uyarıcı aktivitesi durduğunda, bölümlenme kasılmalarının zayıfladığı görülür. Bundan nedenle, myenterik sinirler ve myenterik ağ tarafından enterik sinirler uyarılmazlar ise bu olayların yeterince etkili olmadıkları görülecektir (Guyton ve Hall, 2016).

1.3.6.2. Karıştırıcı hareketler (Segmenter hareketler)

Boğumlanma hareketleri bağırsakların sirküler kaslarındaki kasılmalar ile olur ve ilk kez kedilerde gözlenmiştir. Bu hareketler ile bağırsaktaki besin kitlesi düzgün aralıklarla boğumlanır ve birçok küçük oval parçaya ayrılır. Bu parçalar tekrar yeniden yeni parçalara bölünür ve bu arada bir önceki parçaların komşu yarımaları birleştirilir, böylece oval parçaların konumu da farklılaşmış olur. Bu olaylar devam ederek segmentasyon dönemi boyunca tekrarlanır ve bir segmentasyon periyodunun genellikle 30 dakikadan fazla sürdüğü görülür (Bölükbaşı, 1989).

Segmentasyon hareketleri ritmik özellik gösterir ve ince bağırsağın değişik yerlerinde aynı anda olabilir ya da bir bölgede azalır sönerken diğer başka bir yörede başladığı görülür (Bölükbaşı, 1989).

Bu hareketlerin ana hedefi besin maddelerinin yoğurulması, sindirim salgılarıyla karıştırılması ve aynı zamanda emilim için bağırsak mukozası ile temas içinde olmasını sağlamaktır. Sirküler düz kasların kasılmaları ile oluşan bütün bu hareketlerin güç ve dakika sayısı bağırsak kısımlarına göre farklı olabilir ve besin alma durumu etkilidir. Besin alınması sonrasında boğumlanma kasılmalarının dakikadaki sayısı, ince bağırsağın sonuna gidildikçe azalarak dakikada 12-18 kadar olur (Bölükbaşı, 1989).

Gastrointestinal sisteme parasempatik uyarıları getiren ana yol olan nervus vagusun uyarılması ile bu hareketlerin arttığı, sempatik sinirleri getiren nervus splanchnicus dallarının uyarılması ise bu hareketleri azaltabilmektedir (adrenerjik uyarı ile azalma). Bu hareketlere bağlı olarak aynı zamanda bağırsak duvarında hem kan hem de lenf akışında bir artış olduğu görülebilir (Bölükbaşı, 1989).

1.4. Gastrointestinal Motilitede Rol Oynayan Reseptörler, İyon Kanalları ve Diğer Etkenler

1.4.1. Adrenerjik ve kolinerjik reseptörler

Adrenerjik ve kolinerjik reseptörler birden fazladır ve bunların alt tipleri arasında iyon kanalı özelliğinde olan nikotik reseptörler de vardır. Nikotik reseptörler dışında, bu reseptörler, guanozin trifosfat bağlayan düzenleyici protein, yani G proteini ile kenetli, hücre membranını 7 defa geçen reseptörlerdir (Kayaalp, 2012).

Otonom sinir uçlarından salıverilerin asetilkolin ve noradrenalin bu reseptörlerin vücuttaki doğal agonistleridir yani bu reseptörlerle etkileştiklerinde reseptör aktivasyonuna neden olurlar. G proteinleri ile kenetli reseptör (GPCR) tipleri olan adrenerjik reseptörlerin ve muskarinik tipteki kolinerjik reseptörlerin, agonistlerle aktivasyonları sonucu membrandaki efektör makromolekülleri (enzimleri ve iyon kanallarını) etkileme şekilleri G proteinleri aracılığı ile olmaktadır (Kayaalp, 2012).

G proteinerinin birden fazla alt tipi vardır. G proteinleri 3 alt birimden oluşur. Bu alt birimler şunlardır: Galfa, Gbeta ve Ggama. Aktivasyon durumunda bile genellikle Gbeta ve Ggama birliktedirler. Reseptörün kolinerjik veya adrenerjik agonist molekül tarafından aktivasyonu ile, agonist tarafından etkilenen reseptör G proteini ile kısa bir süre içinde birleşir, böylece ilaç molekülü, reseptör molekülü ve G proteininden oluşan üçlü kompleks oluşur ve G proteininin aktivasyonuna neden olur (Kayaalp, 2012).

Inaktif durumda bulunan G proteinine ait α alt birimi GDP (guanozindifosfat) ile bağlanmış ve üç birimin hepsi birleşmiş durumda bulunur. Reseptör tarafından aktivasyon GDP'nin ayrılmasına, onun yerini GTP (guanozintrifosfat)'nin almasına ve alfa altbirimi ile beta ve gama altbirimlerinin ayrılmasına neden olur. GTP ile bağlanmış alfa altbirimi, G-proteinlerin aktif şeklini temsil eder. Efektör makromolekülle (adinil siklaz, fosfolipaz C) kenetlenir ve onları aktive ya da inhibe eder. GTP ile bağlanan alfa altbirimi, membrandaki fosfolipaz C'yi aktive eder. Aktive olmuş fosfolipaz C membran fosfolipidlerinden,

fosfatidilinositol 4, 5 bifosfat (PIP₂)'in hidrolizine neden olur. Bu olayların sonucunda iki kimyasal ulak oluşur: bunlar inositol 1, 4, 5 trifosfat (IP₃) ve diasilgliserol (DAG). IP₃ sarkoplazmik retikulumdaki reseptörlere bağlanarak sitoplazmaya Ca²⁺ salıverilmesini artırarak onun aracılığı ile etki yapar (kasılma). DAG ise membrandaki protein kinaz C yi aktive ederek bir dizi fosforilasyon reaksiyonu başlatır ve kasılmanın geç oluşan tonik fazına katkıda bulunur (Kayaalp, 2012).

GTP'nin bağlanması, üçlü kompleksi destabilize ederek G proteinin, reseptörden ayrılmasına ve reseptörün agoniste afinitesinin azalmasına yani reseptör deaktivasyonuna yol açar. GTP, GTP fosfataz tarafından hidrolize edilir ve GDP ye dönüşür ve alfa alt birimi ile gama ile beta alt birimi kompleksi birleşerek inaktif duruma geçer (Kayaalp, 2012).

1.4.1.1. Muskarinik reseptörler

Muskarinik reseptörlerin beş alt-tipi vardır, bunlar M₁, M₂, M₃, M₄, M₅ reseptörlerdir. bu reseptörlerin temel işlevleri, G proteinleriyle etkileşmeleriyle oluşur. M₁, M₃, M₅ reseptör alt tipleri, fosfolipaz C'nin uyarılmasından sorumlu olan, G_{q/11} proteiniyle kenetlidir. Bu kenetlenmenin sonucu, IP₃ ve DAG oluşturulması ve endoplazmik retikulumdan sitoplazmaya Ca²⁺ salıverilmesidir. Ca²⁺ aktivasyonu ise düz kas kasılması ve salgılama gibi olayların ortaya çıkışına yol açar. M₂, M₄ reseptörlerin uyarılması diğer G proteinleri (Gi ve Go) ile etkileşmeye girerek adenilat siklaz inhibisyonu ve bunun sonucu siklik AMP azalmasına yol açar. Buna bağlı olarak hücre içine doğru işleyen K⁺ kanalanının aktivasyonu ve voltaj kapılı Ca²⁺ kanallarının inhibisyonu görülür. Bu etkilerin işlevsel sonucu ise hiperpolarizasyon ve uyarılabilir membranların inhibisyonu ve düz kas gevşemesidir. Bağırsak motelitesinde, M₃ ve M₂ kolinerjik kontrolü aracılık etmekten sorumludur (Brunton vd., 2017).

M₃ reseptörler aktive olduğu zaman düz kaslarda fosfoinozitid hidrolizine ve bu şekilde oluşmuş olan İP₃ ile DAG aracılığı ile düz kasların kasılmalarına neden olurlar. M₂ reseptörlerin aktivasyonu , düz kaslarda hücre içine doğru işleyen K⁺ kanalanının aktivasyonu ve voltaj kapılı Ca²⁺ kanallarını inhibe ederek gevşemeye neden olur (Kayaalp, 2012).

1.4.1.2. Adrenerjik reseptörler

Adrenerjik reseptörler, muskarinik reseptörlerde olduğu gibi hücre zarını yedi kez geçen ve G-proteini ile kenetlenen reseptörlerdir. Adrenerjik reseptörlerin iki ana alttipi vardır: α ve β adrenerjik reseptörler. Alfa reseptörler ikiye ayrılır: α_1 ve α_2 . α_1 reseptörlerin ise üç alttipi vardır: α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} . α_2 adrenerjik reseptörlerin üç alt-tipi vardır: α_{2A} , α_{2B} , α_{2C} . Beta adrenerjik reseptörlerin üç alt-tipi vardır: β_1 , β_2 ve β_3 (Brunton vd., 2017; Kayaalp, 2012). Adrenerjik reseptörlerin tümü G-proteini ile kenetlenen reseptörler ve her ana reseptör tipi kendine özel bir G protein sınıfıyla bağlantı yapar, α_1 reseptörü G_q , α_2 reseptörü G_i , β reseptörler G_s proteinleri tercih ederler (Brunton vd., 2017).

Alfa₁ adrenerjik reseptörlerinin uyarılmasıyla pek çok organ ve sistemler düzenlenir. α_1 reseptörler, damarlarda ve genitoüriner kanalda, fosfolipaz C enzimini aktive ederek voltaja bağlı Ca^{2+} kanallarını aktive ederek hücre içinde Ca^{2+} düzeyinin artmasına ve düz kasların kasılmasına neden olurlar. Buna karşılık, gastrointestinal düz kaslardaki α_1 reseptörlerin uyarılmasıyla ortaya çıkan hücre içi Ca^{2+} yoğunluğu artışı, Ca^{2+} bağımlı K^+ kanallarını aktive ederek kaslarda hiperpolarizasyon ve gevşemeye yol açmaktadır (Brunton vd., 2017; Kayaalp, 2012).

α_2 adrenerjik reseptörler, damarlarda düz kasların voltaja bağlı Ca^{2+} kanallarını aktive ederek hücre içinde Ca^{2+} düzeyinin artmasına ve düz kasların kasılmasına neden olurlar. Mide-barsak çeperinde kolinerjik (Parasempatik) intrinsik sinir uçlarındaki α_2 reseptörleri aktive edip oradan asetilkolin salgılanmasını inhibe ederek düz kasları gevşetirler, bu Ca^{2+} bağımlı olabilir (Brunton vd., 2017; Kayaalp, 2012). β_2 adrenerjik reseptörler, mide-barsak sistemi düz kaslarında, adenilil siklaz aktivasyonu, sAMP oluşması ve protein kinaz A aktivasyonuna neden olarak düz kaslarda gevşemeye neden olurlar (Brunton vd., 2017; Kayaalp, 2012).

1.4.2. Nonadrenerjik nonkolinerjik sinir sistemi

Adrenerjik ve kolinerjik (parasempatik) uyarılar ile gastrointestinal sistemin verdiği yanıtların farmakolojik olarak bloke edilmesine rağmen bazı yanıtların ortadan kalkması ya da yanıtlarda farklılık gözlenmesine bağlı olarak adrenerjik ve kolinerjik olmayan sinirlerin ve bu sinirlerin işlevlerinin var olduğu anlaşılmıştır. Bu tür adrenerjik olmayan ve kolinerjik olmayan işlevleri yapan nöronların ve sinir liflerinin otonom sinir sisteminde ayrıca bir yeri vardır. Bu mekanizmayı oluşturan yapılar adrenerjik olmayan kolinerjik olmayan (nonadrenerjik nonkolinerjik (NANK)) olarak adlandırılmıştır. Bu sistemde, aminojerjik (dopaminojerjik), purinjojerjik, petidjojerjik ve nitrojojerjik mekanizmalar bulunmaktadır (Kayaalp, 2012).

1.4.2.1. Peptidjojerjik sinir sistemi

Peptidjojerjik sentezleyen nöronların akson uçlarından VIP (vazoaktif intestinal peptid), P-maddesi, nöropeptid Y, enkefalinler gibi peptid nöromodülatörlerin salıverildiği gösterilmiştir. VIP'jojerjik aksonlar, gastrointestinal kanalın içinde (özofagus, mide, duodenum, ince ve kalın barsaklar, rektum, safra kesesi) bol miktarda bulunmaktadır (Kayaalp, 1998).

Barsak kanalındaki VIP'jojerjik sinirler genelde motiliteyi inhibe ederlerdir. Gastrointestinal kanalda VIP içeren sinir uçları, düz kas hücreleri, ufak damarlar ve epitel hücrelerin gevşemesine neden olurlar. VIP bu yerlerde çeper, sfinkter ve damar düz kaslarında gevşeme yapan bir nöromediyatördür ve kendine özel reseptörleri vardır. Vagus sinirinin elektriksel stimülasyonu ile mide barsak kanalındaki sinir uçlarından VIP salıverildiği gösterilmiştir (Kayaalp, 1998).

1.4.2.2. Nitrojojerjik sinir sistemi

Nitrik oksit (NO), basit bir endojen moleküldür ve hem lokal hormon hemde sinir sisteminde nöromodülatör işlevi yapar. NO, otonom sinir sistemi ile ilişkili şekilde ince barsak myenterik pleksus nöron ve sinir liflerinde ve ayrıca adrenal medulla ganglion hücre pleksusunda ve bu hücrelerin kromafin hücrelerle sinaps yapan liflerinde NO sentazın (NOS)

yoğun bir şekilde bulunduğu saptanmıştır. Myenterik pleksustaki nöronlarının uyarılmasına bağlı ince barsaktaki fizyolojik gevşemenin ve bazı arterlerin elektriksel alan stimülasyonuna bağlı olarak gevşemesinin NO sentaz inhibitörü N^G-nitro-L-arjinin gibi ajanlarla bloke edildiği gösterilmiştir (Kayaalp, 2012).

Düz kaslarda G proteinlere kenetli reseptörlerin aktivasyonu NO üretimine yol açabilir. Ortaya çıkan NO altındaki düz kaslara kolaylıkla yayılır, soluble guanil siklazı aktive edip hücrelerde siklik GMP konsantrasyonu artırarak kaslarda gevşemeye sebep olur (Brunton vd., 2017).

1.4.3. Opioid reseptörleri

Opioid reseptörlerin insanlarda 3 tipi vardır, delta (δ), kappa (κ), mü (μ), ve yakın zamanda bulunan Nosisepin/OrfaninFQ reseptörleridir. Dört opioid reseptörü de G-proteiniyle kenetli reseptörler ve dizilimleri büyük oranda benzerdir. N/OFQ reseptörünün yapısal homolojisi klasik opioidlerle çok yüksek oranda benzer ancak konvansiyonil opioid ligandlarına bağlanma afiniteleri yoktur veya çok azdır. Opioid reseptörler, pertussis toksinine hassas olan G_i/G_o G-proteinleri aracılığı ile hücre içine sinyal iletimini sağlarlar. G proteinleri yolu ile potasyum kanallarının aktivasyonu, voltaja bağlı kalsiyum kanal inhibisyonu, adenil siklaz inhibisyonu ve protein kinaz ve fofolipaz-C aktivasyonu yaparlar (Brunton vd., 2017). İnce bağırsakta, morfin ve diğer μ agonistler, besinin sindirimini geciktirir, istirahat tonusu artar ve periyodik spazmalar görülür. Propulsif olmayan ritmik, segmental kontraksiyonların amplitüdü sıklıkla artar fakat propulsif kontraksiyonları belirgin olarak azalır. İnce bağırsakların üst bölümü özellikle duodenum, ileumdan daha çok etkilenir. Kalın bağırsakta, kolonda peristaltik dalgalar morfin alımından sonar azalır ve durur ve spazım alanına kadar tonus artar (Brunton vd., 2017).

Morfin benzeri etki eden endojen peptidler, endojen opioid peptidler adlandırılır. Klasik opioid peptidlerin belirgin üç ailesi tanımlanmıştır, bunlar; enkefalinler, endorfinler ve dinorfinler. Opioid peptidler, enterik nöronlardan salındıktan sonra, motilite ve

salgılanmayı kontrol eden enterik devrelerdeki opioid reseptörleri ile etkileşime girerek GI fonksiyonunu değiştirirler (Holzer, 2009; Brunton vd., 2017).

İnsan bağırsağından izole dokularla yapılan çalışmalar, δ -, κ - ve μ -opioid reseptörlerinin opioid kaynaklı kas aktivitesinin inhibisyonuna katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Holzer, 2007; Kurz ve Sessler, 2003). Fare bağırsağındaki peristaltik hareketler, δ - ve μ - opioid reseptörü agonistleri tarafından engellendiği bildirilmiştir (De Luca ve Coupar, 1996), ama kobay bağırsağındaki peristaltik hareketler κ - ve μ - aktivasyonu ile baskılandığı, ve kobay bağırsağında opioid kaynaklı kolinerjik iletimin inhibisyonuna μ - ve κ -opioid reseptörleri aracılık etmektedir (Waterman vd., 1992; Shahbazian vd., 2002).

1.4.4. İyon kanalları

Normal gastrointestinal motilite için, Cajal ve düz kasın hücrelerinde eksprese edilen iyon kanallarının düzenli çalışması önemlidir (Lyford ve Farrugia, 2003).

Eksitabl hücrelerde (nöronlar ve kas hücreleri gibi) eksitasyon olayı hücre içine belirli bir düzene göre Na^+ ve Ca^{2+} iyonlarının girişi ile ve ikincil olarak K^+ iyonlarının hareketi ile sağlanır. İki lipid tabakalı hücre membranı lipofilik oluşu nedeniyle elektriksel yükü olan iyonların doğrudan geçişine elverişli de ğildir. Bu nedenle söz konusu iyonlar eğer özel taşıyıcıları yoksa membranda bulunan ve onun iç yüzünden dış yüzüne kadar uzanan, içi su dolu olan iyon kanallarından geçmek suretiyle hücreye girerler ve oradan dışarı çıkarlar. Eksitabl hücre membranında yerleşmiş iyon kanallarının iki tipi vardır, ligand kapılı iyon kanalları ve elektriksel uyarılar (membran depolarizasyonu) tarafından doğrudan etkilenmek suretiyle açılıp kapatılan voltaj kapılı iyon kanallarıdır (Kayaalp, 2012).

1.4.4.1. Voltaj kapılı kalsiyum kanalları

Kalsiyum, canlı hücrelerin fonksiyon ve yapılarını sürdürebilmeleri için gerekli bir iyondur. İskelet ve düz kaslarının kasılması ve gevşemesi gibi süreçlerde kalsiyumun işlevsel açıdan önemli bir modülatör olduğu bilinmektedir. Voltaj-kapılı Ca^{2+} kanalları, iki

ana sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar, 1. Düşük voltajla aktive edilen (kısa süreli) kanallar. 2. Yüksek voltajla aktive edilen (uzun süreli) kanallarıdır (Furukawa, 2013; Dolphin, 2016).

Cajal ve düz kas hücrelerinde, voltaj kapılı kalsiyum kanallarının (Cav) eksprese edildiği bildirilmiştir (Beyder ve Farrugia, 2012). Düz kaslarda iki türlü aksiyon potansiyeli görülür, ve her ikisinin oluşmasında da düz kas zarındaki bulunan (L-tip) voltaj kapılı kalsiyum kanallarının açılması sonucu içe yönelik yavaş Ca^{2+} akımı rol oynamaktadır (Kayaalp, 1993). Cajal ve düz kasın hücrelerinde, voltaj kapılı kalsiyum kanalların L-tipi ($Cav1.2$) yoğun olarak bulunmaktadır. Bunlar genellikle yavaş açılıp kapanan kanallarıdır ve kalsiyum kanal bloker ilaçlar (dihidropiridinler, verapamil ve diltiazem) tarafından bloke edilirler, ve bu ilaçlar yan etki olarak konstipasyon yaparlar. (Beyder ve Farrugia, 2012; Dolphin, 2016; Kayaalp, 1993). Voltaj kapılı kalsiyum kanalların T-tipi, çabuk açılıp kapanan kanallardır. T-tipi kanal blokleri olan mibefradil tarafından, yavaş dalgaların amplitüd ve dalga genliğini azaltılmıştır. Ayrıca, voltaj kapılı kalsiyum kanalların T-tipi ve L-tipi alt üniteleri yeni bir antispazmodik olan otilonyum bromür tarafından bloke edildiği bildirilmiştir (Beyder ve Farrugia, 2012).

1.4.4.2. Voltaj kapılı sodyum kanalları

Voltaj kapılı sodyum kanalları, nöronlar, kalp hücreleri ve uyarılabilir birçok hücrelerde aksiyon potansiyellerini oluşturabilmek için hücrelerin içine Na^+ iyon akımına aracılık etmektedir (Catterall, 2014).

Insanlarda, 9 tane voltaj kapılı farklı α -alt birimi (Nav 1.1- Nav 1.2- Nav 1.3- Nav 1.4- Nav 1.5- Nav 1.6- Nav 1.7- Nav 1.8- Nav 1.9 ve voltaj kapılı olmayan Nav_x alt-birimi), $SCN1A$ - $SCN11A$ genleri tarafından kodlanırlar, ayrıca sodyum kanallarının 4 tane β -alt birimi tanımlanmıştır. $Nav\beta_1$ - $Nav\beta_4$ (Catterall vd., 2003).

Yeni bir dizi makale voltaj kapılı sodyum kanallarının insan gastrointestinal Cajal ve düz kas hücrelerinde ifade edildiğini ve membran potansiyelini ve kasılma aktivitesini düzenleyebileceğini öne sürmektedir (Lyford ve Farrugia, 2003). Voltaj kapılı sodyum

kanalları, insan jejunumun Cajal ve sirküler düz kasın hücrelerinde ve sıçan ileum, gastrik fundusun ayrıca sıçan ve insan kolonlarının düz kasın hücrelerinde bulunur. Nav kanallarının lidokain ve QX-314 ile bloke edilmesi, yavaş dalgaların yükselme oranını düşürüp süresini arttırdı; sonuç olarak yavaş dalgalar frekansının azalmasına neden olmuştur (Beyder ve Farrugia, 2012).

Kalp kasında ekspresse edilen ve kardiyak sodyum kanalı olarak sınıflandırılan olan Nav1.5 kanalı, insan jejunumun sirküler düz kas hücrelerinde TTX'e dirençli akım, Nav1.5 akımı olarak belirlenmiştir (Beyder ve Farrugia, 2012). Nav 1.5 'i kodlayan SCN5A geninde mutasyonu olan hastaların, kontrollerden daha fazla abdominal semptomları olduğu bulunmuştur. Ayrıca, SCN5A mutasyonları, irritable barsak sendromunda da yaygındır. Bir irritable barsak sendromlu hastasında, bir SCN5A mutasyonu, daha küçük Nav1.5 akımlara ve azalmış mekanik duyarlılığa neden olmuştur (Beyder ve Farrugia, 2012).

1.4.4.3. Voltaj kapılı potasyum kanalları

Potasyum kanallarının dört ana sınıfı vardır. Bunlar, kalsiyum ve sodyum ile aktive edilen potasyum kanalları, içe doğrultucu potasyum kanalları, iki P bölgesi (iki gözenek) içeren potasyum kanalları, voltaj kapılı potasyum kanallarıdır. Kv kanalları, sinir sistemi ve diğer dokularda geniş dağılım gösterirler. Nöronlar, kardiyomiyositler ve kaslar gibi uyarılabilir hücreler için Kv kanalları temel olarak aksiyon potansiyelinin süresini, şeklini ve ateşleme frekansını kontrol ederler. Ayrıca, zar dinlenim potansiyelini düzenleyen ve aksiyon potansiyelinin sonlanması aşamasında zar potansiyelinin dinlenim durumuna geri dönmesinden sorumlu olan kanallardır. Voltaj kapılı potasyum kanalları, büyük ve farklı bir aile oluşturur, insanda saptanmış olan 40 gen tarafından kodlanan, kendi içlerinde, 12 alt aileye sahiptir. Bunlar, Kv1, Kv2, Kv3, Kv4, Kv5, Kv6, Kv7, Kv8, Kv9, Kv10, Kv11, Kv12, ve her alt-ailenin alt-tipleri vardır (Grizel vd., 2014; Sandhiya ve Aibor Dkhar, 2009).

Gastrointestinal kanalda, voltaj kapılı potasyum kanallarının konumları ve izoformları değişkendir, Kv1.2, Kv1.5 ve Kv4.1 midede, Kv6.3, Kv6.4, Kv7.2 ve Kv11.1 inci barsakta,

Kv1.5, Kv1.6, Kv4.1, Kv6.4, Kv7.3, Kv8.2, Kv9.3 ve Kv12.1 kolonda bulunmaktadır (Petkov, 2009).

Voltaj kapılı potasyum iyonu kanalları mide-bağırsak hareketliliğinde rol oynamaktadır. Yakın zamandaki çalışmalar, fare kolonunun interstisyel Cajal hücrelerinin ve trombosit kökenli büyüme faktörü reseptörü α -pozitif hücrelerinin elektriksel fonksiyonunda voltaj kapılı kanal alt ailesi G üyesi (KCNG3) ve (KCNG4) genlerinin rolünü vurgulamıştır. Hirschsprung hastalığı (HSCR) distal kolonda gangliyon olmaması ile karakterize edilen ve Megakolona yol açan, konjenital bir durumdur. Yapılan bir çalışmada, Kv6.3 ve Kv6.4 kanallarını kodlayan KCNG3 ve KCNG4 gen ekspresyonu, HSCR kolonunda belirgin bir şekilde azaltılmış olup, bu genlerin kolon motilitesinde bir rol oynadığını düşündürülmüştür. Ganglionik örnekler içinde KCNG3 ve KCNG4 gen ekspresyonu azalması, HSCR hastalarında bu segmentin fizyolojik olarak anormal doğasını vurgulamıştır (O'Donnell vd., 2019).

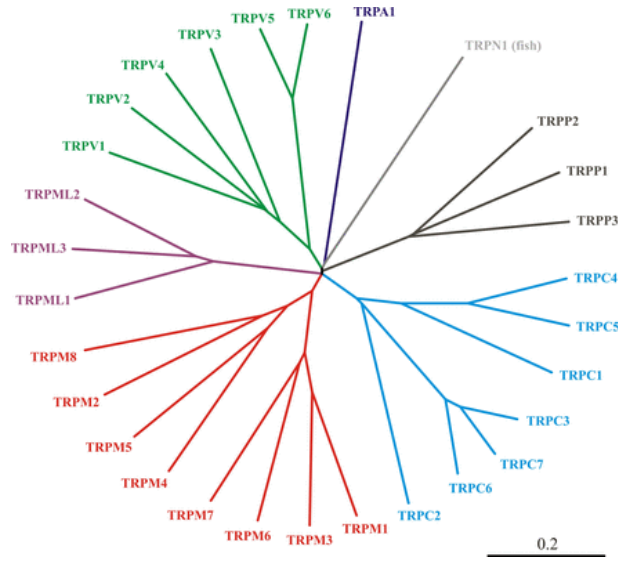
1.4.4.4. TRP Kanalları

Geçici reseptör potansiyel kanalları, plazma zarında bulunan, seçici olmayan katyon kanallarıdır (Nilius ve Szallasi, 2014). TRP kanallarının memelilerde ve insanlarda 6 ana grubu vardır (Şekil.1.11), bunlar TRPA (ankyrin), TRPC (canonical), TRPM (melastatin), TRPML (mucolipin), TRPP (polycystin) ve TRPV (vanilloid). Bu gurubların içinde 28 üye vardır, TRPA (ankyrin) grubunun bir üyesi vardır, TRPAI. TRPC (canonical) grubuna ait 7 üye (TRPC1-7), TRPM (melastatin) grubuna ait 8 üye (TRPM1-8), TRPML (mukolipin) grubuna ait 3 üye (TRPML1-3), TRPP (polycystin) grubuna ait 3 üye (TRPP2-TRPP3-TRPP5) ve TRPV (vanilloid) grubuna ait 6 üye (TRPV1-6) bulunmaktadır (Nilius ve Szallasi, 2014; Benemei vd., 2015).

TRP kanalları, polymodal kanallardır, yani birden fazla farklı uyarıya cevap verirler; fiziksel (voltaj, sıcaklık, kuvvet, basınç ve gerginlik) ve kimyasal (hem endojen hem de eksojen) bir uyarı ile aktive edilebilirler (Nilius ve Szallasi, 2014). TRP kanalları, farklı hücre tiplerinde, bir Ca^{2+} akış yolu sağlayarak veya voltaj kapılı Ca^{2+} kanallarının

aktivasyonunu tetikleyen zar potansiyelini depolarize ederek hücre içi Ca^{2+} sinyallerinin çok önemli düzenleyicileridir (Alonso-Carbajo vd., 2017).

Gastrointestinal kanalda, özofagus, mide, bağırsak ve kolonu sinir sistemine bağlayan ekstrinsik primer afferent nöronlarda çeşitli TRP kanalları bulunmaktadır. TRP kanalları, tat alma, kemosensasyon ve mekanosensasyon, termoregülasyon, ağrı ve hiperaljezi, mukozal fonksiyonu ve homeostazide, ayrıca nöronlar, Cajal ve düz kas hücreleri tarafından mide-



Şekil.1.10. TRP Kanallarının alt tipleri (Nilius ve Szallasi, 2014).

bağırsak hareketliliğinin kontrolünde önemli rol oynamaktadır. TRP kanalları, gastrointestinal kanalda, iyon taşıma kanalları, kimyasal ve fiziksel uyarıcıların moleküler sensörler (Detektörler veya birincil transdüserler) olarak, G protein-bağlı reseptörler veya diğer iyon kanalları tarafından indüklenen hücre aktivasyonunun sekonder transdüserleri (veya efektörleri) olarak çalışabilmektedir. TRPA1, TRPM5, TRPV1 ve TRPV4, sindirim ve emilim işlevi birçok kimyasal ve fiziksel uyarının gözetimine ve entegrasyonuna dayanan beslenme kanalıyla özellikle ilgilidir. TRPV5 ve TRPV6'nın yanı sıra TRPM6 ve TRPM7,

Ca²⁺ ve Mg²⁺ 'nın emilimi için gerekli görünmektedir. TRPC4, TRPC5 ve TRPC6, gastrointestinal muskarinik asetilkolin reseptörlerinin akış aşağı efektörleri olarak çalışırlar. TRPC5 ve TRPC6, fare bağırsak ve midesinde, Cajal ve düz kasların kolinerjik uyarımı ile aktive edilir (Holzer, 2011; Yu vd., 2016). Ayrıca farelerde TRPM7, Cajal hücreleri aktivitesinin ayarlamasında ve yavaş dalgalar oluşmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Kim vd., 2005). Ayrıca TRPA1, sıçan ve insanlar gastrointestinal sistemin enterokromafin hücrelerinde yoğun şekilde bulunduğu ve TRPA1 agonistleri olan allyl isothiocyanate ve cinnamaldehyde bu hücrelerde intrasellüler Ca²⁺ düzeyleri artmasına ve serotonin salıverilmesine neden olduğu bildirilmiştir. Ek olarak, TRPA1 agonistlerinin, 5-HT3 reseptörü yoluyla izole edilen kobay bağırsak şeritlerinin kasılmasını teşvik ettiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar, TRPV1'in, gastrointestinal fonksiyonların düzenlenmesi için enterokromafin hücrelerinde bir sensör molekülü olarak hareket ettiğini göstermektedir (Nozawa vd., 2009).

TRPV1, TRPV4 ve TRPA1, inflamatuvar ve fonksiyonel karın ağrısı sendromlarının tedavisi için hedef alınabilecektir, ayrıca TRPA1 ve TRPV1'in birçok bloke edici ilaçlar geliştirilmiştir, ancak GI bozukluklarında terapötik etkinlikleri ve güvenilirlikleri henüz belirlenmemiştir (Wong ve Gavva, 2009; Holzer, 2011). TRPM4 kanalları, detrusördeki kolinerjik sinyalleşmede önemli bir rol oynadığı ve ileumde öyle bir rolü olmadığı bildirilmiştir (Alom vd., 2019).

Karvakrol arterlerde, TRPV3 kanallarına agonist olarak hareket ederek, geçici reseptör potansiyeli vanilloid 3 (TRPV3) kanallarından Ca²⁺ akışını arttırmıştır. Bu da düz kasın endotel hücrelerinin plazma zarının hiperpolarizasyonuna neden olarak serebral arterlerin vazodilatasyonuna yol açmıştır (Earley vd., 2010). Ayrıca, dil ve burunda TRPV3 ve TRPA1 kanallarını aktive ettiği bildirilmiştir (Xu vd., 2006). Ayrıca TRPC1 kanalının karvakrol ile inhibe edilmesinin, travmatik beyin yaralanmasının ardından santral sinir sistemi nöronlarının ölümünün önlediği bulunmuştur (Peters vd., 2012).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Araştırmada Kullanılan Deney Hayvanları

Bu alışmada, Anadolu Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Birimi'nden temin edilen deney hayvanı olarak Sprague-Dawley 220-250 g ağırlığında erkek sıçan kullanılmıştır. Tüm hayvanlar deney hayvanları ünitesinde 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda, yüzde 55-60 nem oranı ve 22 C oda sıcaklığında tutuldu. Beslenmeleri standart pelet yem ile yapıldı. Su ihtiyaçları sürekli sağlandı. Bu çalışmanın tüm deneysel uygulamaları ve aşamaları Anadolu Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Birimi ile Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakolji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Bu alışma, Anadolu Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 24.09.2019 tarihli yazısında belirtilen Etik Kurul Raporunun 2019-32 nolu kararı ile onaylanmıştır.

2.2. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler Ve zeltiler

Dimetil Sülfoksit (DMSO)

Karvakrol

Asetilkolin Klorür (ACh)

KCl

Ketamin Hidroklorür

Rutenyum Red

Tetraethylammonium Klorür

Nw-Nitro-L-Arjinin

Sodyum Klorür (NaCl)

Sodyum Bikarbonat (NaHCO_3)

D- Glukoz

Potasyum Dihidrojen Fosfat (KH_2PO_4)

Potasyum Klorür (KCl)

Magnezyum Sülfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

Kalsiyum Klorür ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

Kimyasal maddeler, SigmaAldrich (Almanya) firmasından tedarik edilmiştir.

2.3. Araştırmada Kullanılan Cihaz Ve Malzemeler

1. Organ banyosu (Ugo Basile, cat.4050, İtalya)
2. İzotonik transdüser (Ugo Basile, cat.7006, İtalya)
3. Kaydedici (Ugo Basile, cat.7070, İtalya)
4. %95 O_2 %5 CO_2 içeren gaz karışım tüpü
5. Hassas terazi (Ohaus DV215CD, NewJersey, Amerika)
6. Isıtmalı manyetik karıştırıcı (Isotex SH-4, Hindistan)
7. Çeşitli cerrahi malzemeler
8. Enjektörler
9. Mikropipetler

2.4. İzole Sıçan Duodenum Ve Mide Fundus DeneYleri

DeneKlere ketamin uygulanması sonrasında (100 mg/kg, i.p) (Freo ve Ori, 2004) servikal dislokasyon ile öldürüldükten sonra, organlar canlılığını kaybetmeden sıçanların abdomeni açılarak 1-1.5 cm uzunluğunda mide fundus ve duodenum segmentleri alınmıştır. Alınan segmentler, Krebs-Henseleit fizyolojik çözeltisi (NaCl 118 mM; KCl 4.7 mM; CaCl₂ 2.5 mM; KH₂PO₄ 1.2 mM; NaHCO₃ 25 mM; MgSO₄ 1.2 mM; glukoz 11 mM; pH 7.4) (Docherty, 2014; Swabe vd., 2019) içine alınarak canlılıklarının devamı sağlanmıştır. Duodenum segmentlerin çevresinde bulunan bağ doku ve kan damarları temizlenmiştir. Hazırlanan duodenum ve mide fundus segmentleri pH'sı 7.4 ve sıcaklığı 37 °C olan, % 95 O₂ ve % 5 CO₂ ile gazlandırılan Krebs-Henseleit çözeltisi içeren 20 ml'lik organ banyosuna yerleştirilerek, 1 gram gerim altında, izotonik transdüserle bağlanmış olarak, izole organ banyosu içinde en az 1 saat dinlendirilmiştir, dinlenme sırasında her 15 dakikada bir organların içinde buldukları fizyolojik çözelti yenilmiştir, bu dinlenme süresi sonunda kontrol ve test maddeleri organlara uygulanmıştır.

DeneYlerde, standard kastırıcı olarak asetilkolin (10^{-9} - 10^{-4} M), test maddesi olarak kullanılan karvakrol DMSO:su (1:1) içinde çözülerek (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M) (Aydın ve Seker, 2005; Aydın vd., 2007), çözülerek TRP iyon kanal antagonisti olan Rutenyum red (10^{-5} M) (Nozawa vd., 2009), potasyum kanalları inhibitörü olan tetraethylammonium klorür (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} M) (Hohnsbein ve Golenhofen 1985), NO sentaz inhibitörü olan Nw-nitro-L-arjinin (10^{-4} M) (Yuan vd., 1997) organlara uygulanmıştır.

2.5. İstatistiksel Hesaplamalar ve Verilerin Analizi

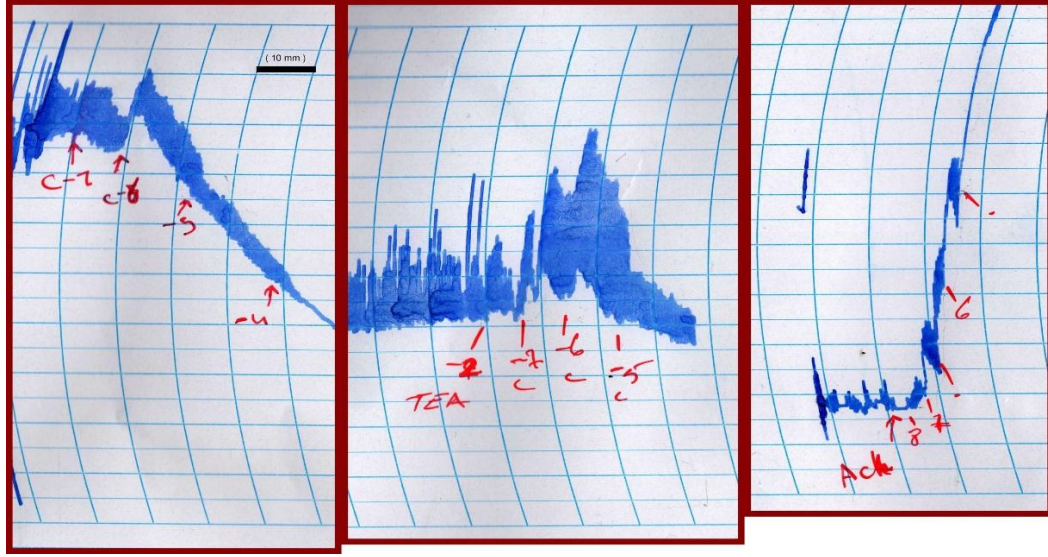
DeneYlerde, denek sayısı en az 6 olacak şekilde gruplar oluşturulmuş ve en az 6 denekten gelen veriler istatistiksel hesaplarda kullanılmıştır. DeneYlerden alınan veriler, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve çoklu karşılaştırma için Tukey HSD testi ile değerlendirilmiştir. Deneysel verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi, nonlineer regresyon ve grafiklerin çizilmesinde R programlama dili ve ilgili paketleri kullanılmıştır (R core team, 2019).

3. BULGULAR

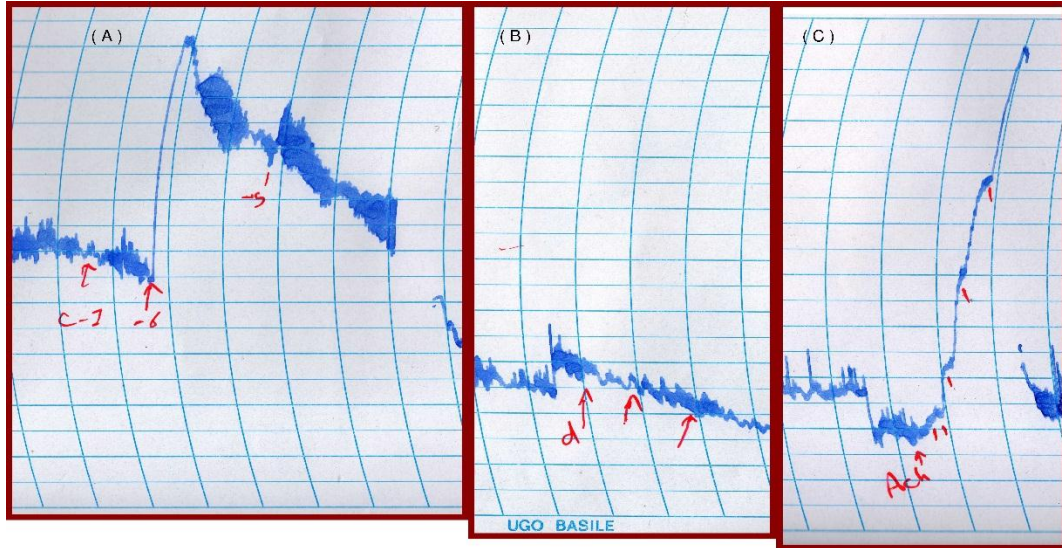
Deneilerimizde karvakrolün izole sıçan duodenumu pasif gerim altındaki düz kaslar üzerinde hem kastırıcı hem de gevşetici etkilerinin olduğu bulunmuştur. Karvakrolün kastırıcı etkisinin düşük dozlarda (10^{-7} ve 10^{-6} M) olduğu, daha yüksek dozlarda (10^{-5} ve üzerinde) ise gevşeme yaptığı gözlenmiştir (Şekil 3.1-3.8). Karvakrolün tetraetilamonyum (TEA) varlığında kastırıcı etkisi daha belirgin olmakta ve gevşetici etkisi ortadan kalktığı gözlenmiştir (Şekil 3.1, 3.3, 3.5-3.8). TEA etkisinin doza bağlı olduğu bulunmuştur (Şekil 3.8). Rutenyum red (RRed) etkisi ile karvakrolün kastırıcı etkisinin ortadan kalktığı (Şekil 3.4-3.8). Nw-Nitro-L-arjinin (NoARG) varlığında ise karvakrolün gevşetici etkisinde herhangi bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.8).

Duodenum düz kaslarında karvakrole karşı fazla bir değişken yanıt olduğu gözlenmiş (Şekil 3.6-3.8), bu değişkenlik üzerinde duodenumun mideye yakın olan kısımlarında daha fazla olması nedeniyle mide düz kasları üzerinde karvakrol etkisi araştırılmıştır. Karvakrolün izole sıçan mide fundus düz kasları üzerinde duodenum düz kaslarından farklı olarak kastırıcı etki göstermediği, gevşetici etkisinin duodenuma göre az olduğu, bu iki organ arasında karvakrol etkisinin farklı olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.9-3.12).

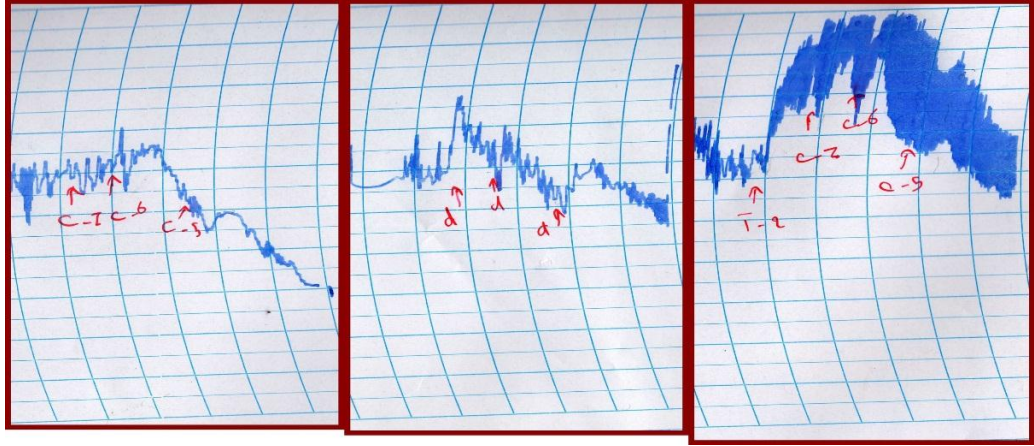
Izole sıçan duodenum düz kasları üzerinde asetilkolin (ACh) ile oluşturulan kasılmalar üzerinde karvakrolün 10^{-6} ve 10^{-5} M dozlarında herhangi bir değişiklik yapmadığı, ancak 10^{-4} M dozunda nonkompetitif bir inhibisyon yaptığı gözlenmiştir. 10^{-3} M dozunda ise, duodenum düz kaslarında kasılma yanıtlarının tamamen kayıp olduğu ve bu özelliğin tekrar geriye dönmediği bulunmuştur. TEA ve RRed varlığında karvakrolün ACh yanıtlarında herhangi bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.13-3.16).



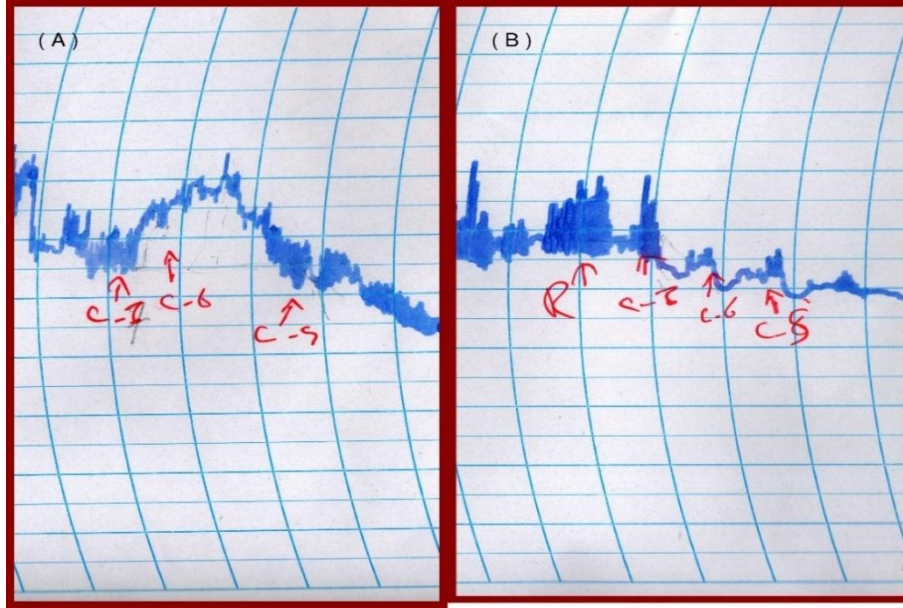
Şekil 3.1. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki gevşetici etkisi ve tetraetilamonyum (TEA) varlığında karvakrolün gevşetici etkisinin ortadan kalktığını gösteren örnek trase. Soldaki örnek trase, karvakrolün, tek başına etkisini göstermek, Ortadaki örnek trase TEA varlığında karvakrolün ve sağdaki trase ACh ile alınan doz-yanıtları göstermektedir. Karvakrolün tek başına ve TEA (10^{-2} M) sonrasında 10^{-7} , 10^{-6} ve 10^{-5} M dozlarında kullanılmıştır. [*] Kayıt hızı: 10mm/dk.



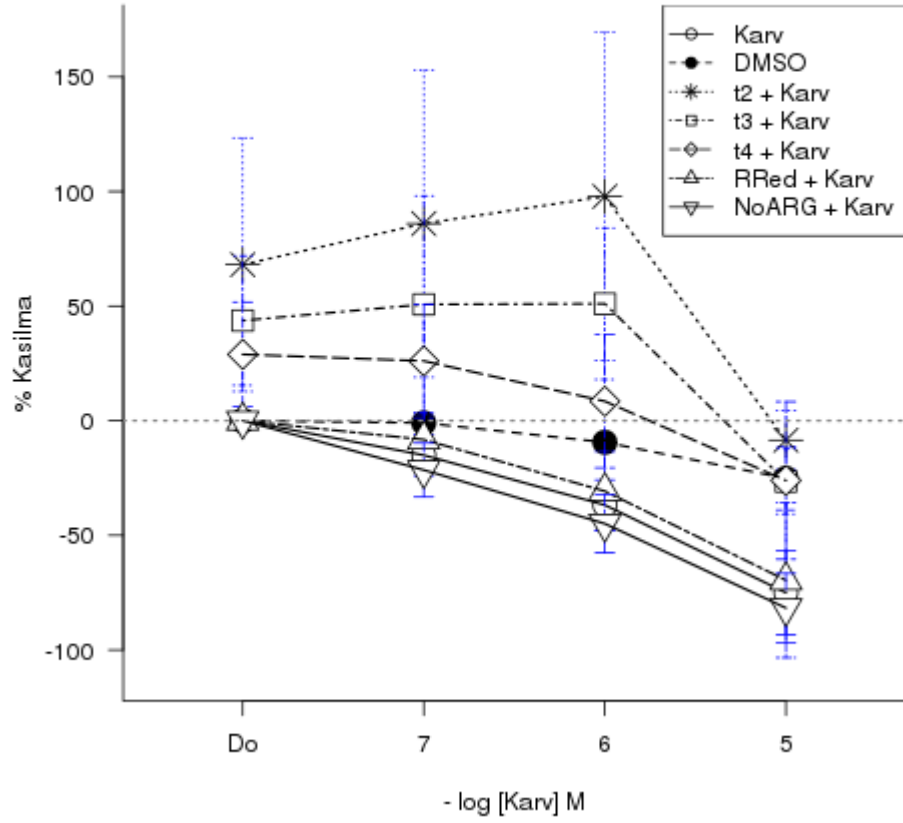
Şekil 3.2. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki karvakrolün kastırıcı etkisini gösteren örnek trase. (A) Karvakrolün kastırıcı etkisi. (B) Dimetil sülfoksit (Çözücü) etkisi. (C) Asetilkolin (ACh) etkisi. ACh dozları, 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 5×10^{-7} , 10^{-6} ve 5×10^{-6} . Kayıt hızı, Şekil 3.1 ile aynıdır.



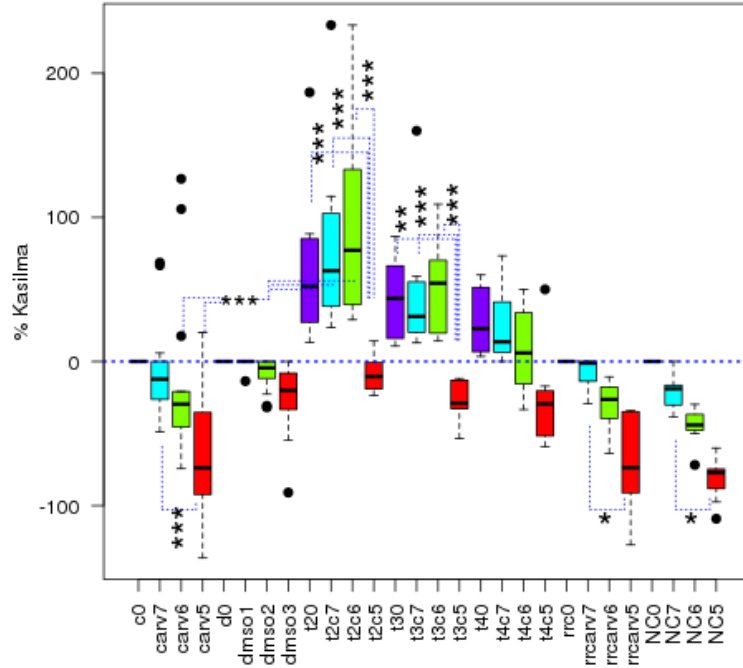
Şekil 3.3. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki peristaltik hareketleri artırıcı etkisini gösteren örnek trase. Soldaki örnek trase, karvakroun, tek başına etkisini göstermekte, ortadaki örnek trase çözücü etkisini ve sağdaki örnek trase TEA (10^{-2} M) varlığında karvakrol etkisini göstermektedir. Karvakrol 10^{-7} , 10^{-6} ve 10^{-5} M dozlarında kullanılmıştır. Kayıt hızı, Şekil 3.1 ile aynıdır.



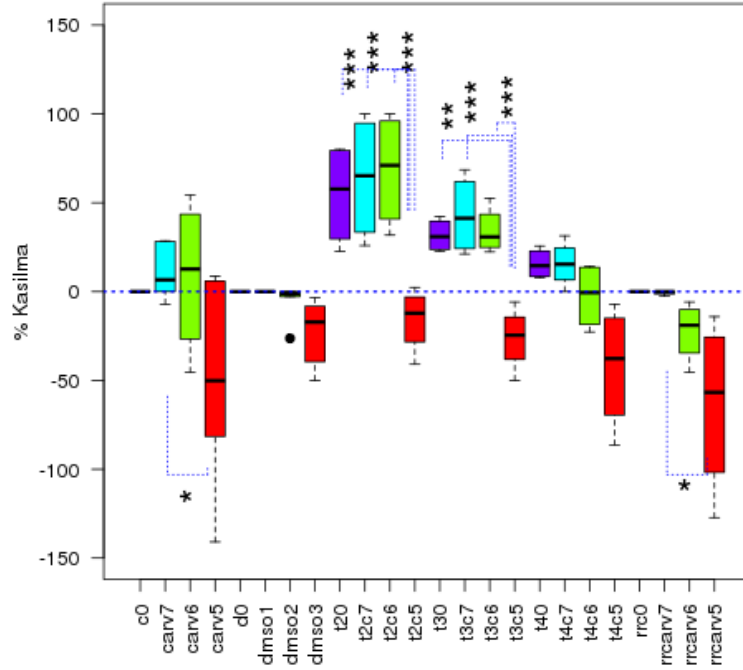
Şekil 3.4. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki rutenyum red (RRed) varlığında karvakrolün kastırıcı etkisinin olmadığını gösteren örnek trase. Karvakrol, RRed (10^{-5} M) uygulamasından sonra 10^{-7} , 10^{-6} ve 10^{-5} M dozlarında kullanılmıştır. (A) Karvakrol tek başına, (B) Rutenyum red (RRed) + Karvakrol. Kayıt hızı, Şekil 3.1 ile aynıdır.



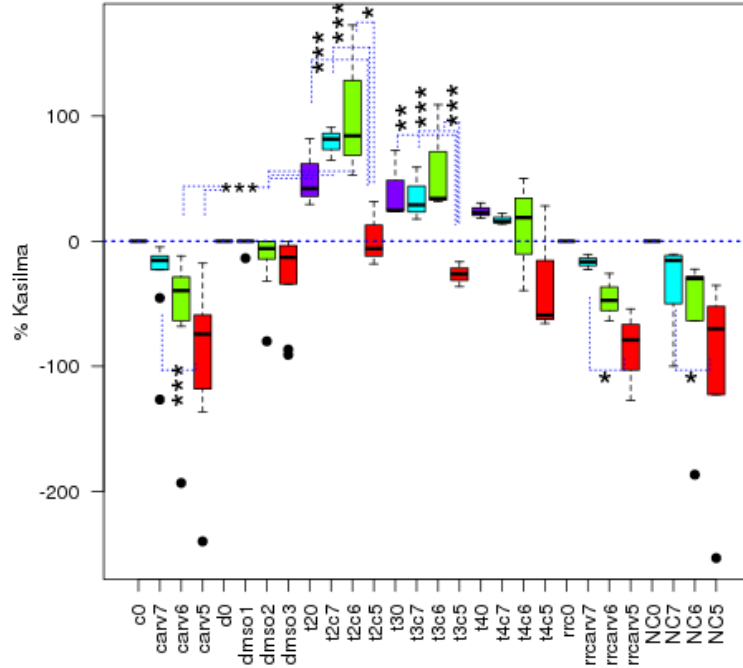
Şekil 3.5. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki etkisi. Verilerin yüzde hesaplanmasında 5.10^{-7} ACh (Asetilkolin) kasılma değeri 100 olarak alınmıştır. Karv=karvakrol, DMSO=dimetil sulfoksit, t2= TEA (10^{-2} M), t3= TEA (10^{-3} M), t4= TEA (10^{-4} M), RRed= Rutenyum red, NoARG= Nw-L-nitro arjinin Do=Karvakrol uygulanma öncesi ilk kasılma değerleridir. Değerler, ortanca (median) \pm güven aralığı (%95) olarak gösterilmiştir (n=14). $p < 0.05$. (*).



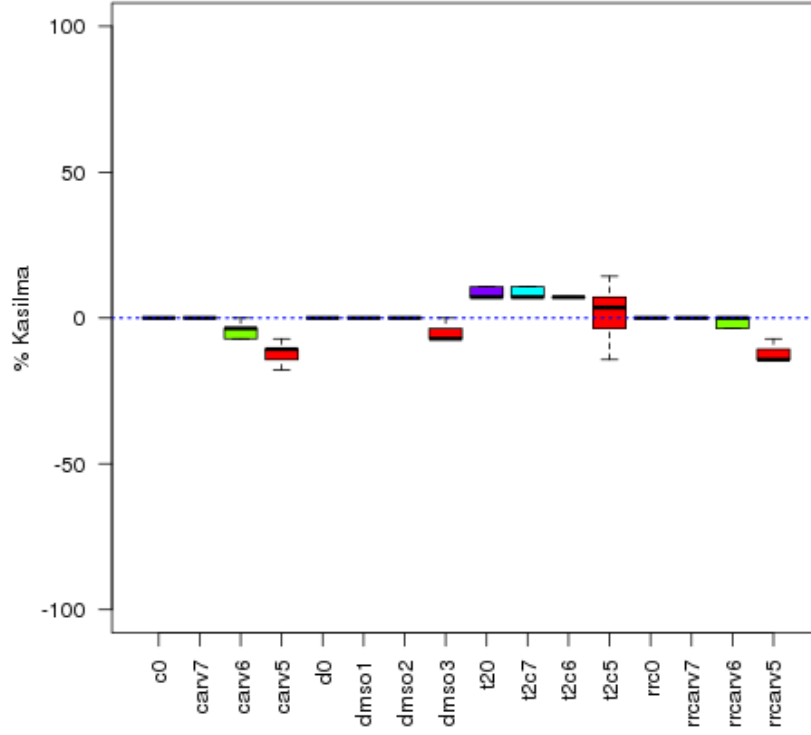
Şekil 3.6. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki etkisi. Verilerin yüzde hesaplanmasında 5.10^{-7} ACh (Asetilkolin) kasılma değeri 100 olarak alınmıştır. c0= karvakrol uygulama öncesi kasılma, carv7=karvakrol (10^{-7} M), carv6=karvakrol (10^{-6} M), carv5=karvakrol (10^{-5} M), d0= DMSO uygulama öncesi kasılma, dms01=DMSO birinci doz, dms02=DMSO ikinci doz, dms03=DMSO üçüncü doz, t20= TEA (10^{-2} M) uygulama öncesi kasılma, t2c7=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-7} M), t2c6=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-6} M), t2c5=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-5} M), t30= TEA (10^{-3} M) uygulama öncesi kasılma, t3c7=TEA (10^{-3} M) + karvakrol (10^{-7} M), t3c6=TEA (10^{-3} M) + karvakrol (10^{-6} M), t3c5=TEA (10^{-3} M) + karvakrol (10^{-5} M), t40= TEA (10^{-4} M) uygulama öncesi kasılma, t4c7=TEA (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-7} M), t4c6=TEA (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-6} M), t4c5=TEA (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-5} M), rrc0=Rutenyum red (10^{-5} M) uygulama öncesi kasılma, rrcarv7= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-7} M), rrcarv6= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-6} M), rrcarv5= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-5} M), NC0= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) uygulama öncesi kasılma, NC7= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-7} M), NC6= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-6} M), NC5= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-5} M). Değerler, ortanca (median) \pm güven aralığı (%95) olarak gösterilmiştir (n=14). $p < 0.05$. (*) 0.05, (**) 0.01 (***) 0.001.



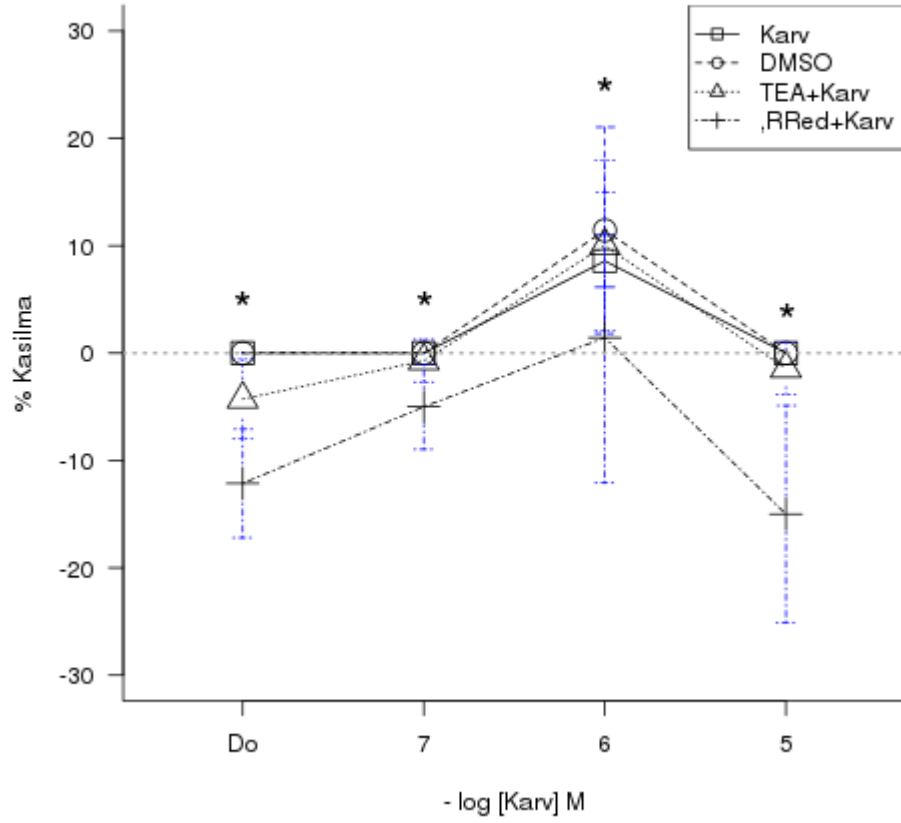
Şekil 3.7. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki kastırıcı etkisi. Verilerin yüzde hesaplanmasında 5.10^{-7} ACh (Asetilkolin) kasılma değeri 100 olarak alınmıştır. c0= karvakrol uygulama öncesi kasılma, carv7=karvakrol (10^{-7} M), carv6=karvakrol (10^{-6} M), carv5=karvakrol (10^{-5} M), d0= DMSO uygulama öncesi kasılma, dms01=DMSO birinci doz, dms02=DMSO ikinci doz, dms03=DMSO üçüncü doz, t20= TEA (10^{-2} M) uygulama öncesi kasılma, t2c7=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-7} M), t2c6=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-6} M), t2c5=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-5} M), t30= TEA (10^{-3} M) uygulama öncesi kasılma, t3c7=TEA (10^{-3} M) + karvakrol (10^{-7} M), t3c6=TEA (10^{-3} M) + karvakrol (10^{-6} M), t3c5=TEA (10^{-3} M) + karvakrol (10^{-5} M), t40= TEA (10^{-4} M) uygulama öncesi kasılma, t4c7=TEA (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-7} M), t4c6=TEA (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-6} M), t4c5=TEA (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-5} M), rrc0=Rutenyum red (10^{-5} M) uygulama öncesi kasılma, rrcarv7= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-7} M), rrcarv6= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-6} M), rrcarv5= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-5} M), NC0= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) uygulama öncesi kasılma, NC7= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-7} M), NC6= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-6} M), NC5= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-5} M). Değerler, ortanca (median) \pm güven aralığı (%95) olarak gösterilmiştir (n=06). $p < 0.05$. (*) 0.05, (**) 0.01 (***) 0.001.



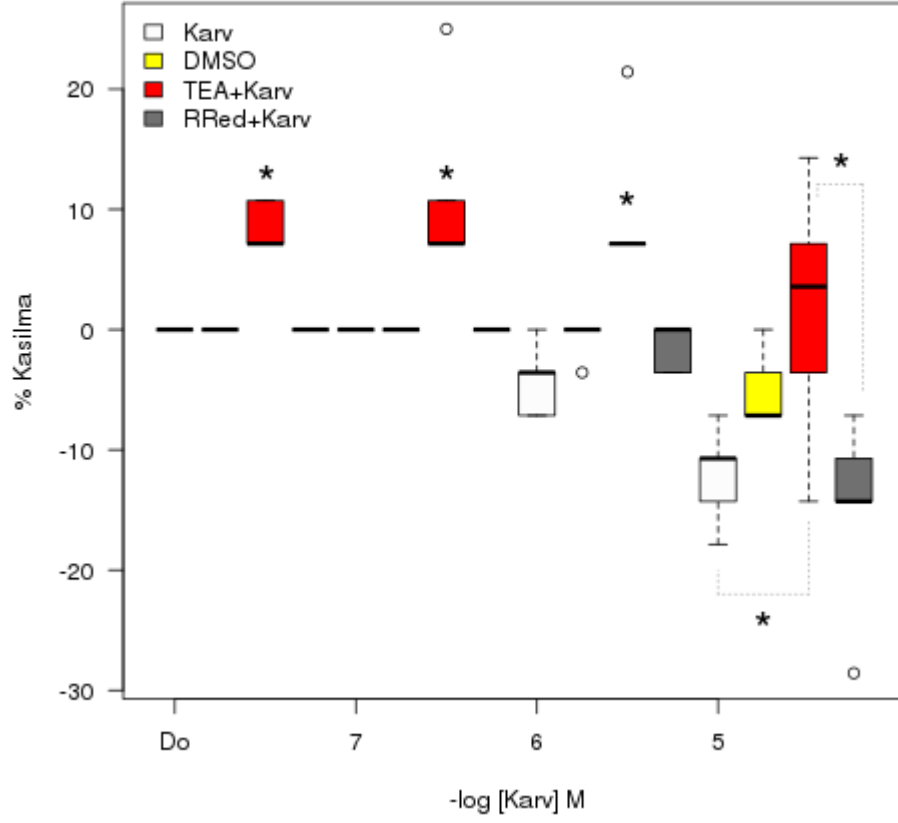
Şekil 3.8. Karvakrolün izole sıçan duodenum pasif gerimi üzerindeki gevşetici etkisi. Verilerin yüzde hesaplanmasında 5.10^{-7} ACh (Asetilkolin) kasılma değeri 100 olarak alınmıştır. c0= karvakrol uygulama öncesi kasılma, carv7=karvakrol (10^{-7} M), carv6=karvakrol (10^{-6} M), carv5=karvakrol (10^{-5} M), d0= DMSO uygulama öncesi kasılma, dms01=DMSO birinci doz, dms02=DMSO ikinci doz, dms03=DMSO üçüncü doz, t20= TEA (10^{-2} M) uygulama öncesi kasılma, t2c7=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-7} M), t2c6=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-6} M), t2c5=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-5} M), t30= TEA (10^{-3} M) uygulama öncesi kasılma, t3c7=TEA (10^{-3} M) + karvakrol (10^{-7} M), t3c6=TEA (10^{-3} M) + karvakrol (10^{-6} M), t3c5=TEA (10^{-3} M) + karvakrol (10^{-5} M), t40= TEA (10^{-4} M) uygulama öncesi kasılma, t4c7=TEA (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-7} M), t4c6=TEA (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-6} M), t4c5=TEA (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-5} M), rrc0=Rutenyum red (10^{-5} M) uygulama öncesi kasılma, rrcarv7= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-7} M), rrcarv6= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-6} M), rrcarv5= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-5} M), NC0= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) uygulama öncesi kasılma, NC7= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-7} M), NC6= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-6} M), NC5= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-5} M). Değerler, ortanca (median) \pm güven aralığı (%95) olarak gösterilmiştir (n=08). $p < 0.05$. (*) 0.05, (**) 0.01 (***) 0.001.



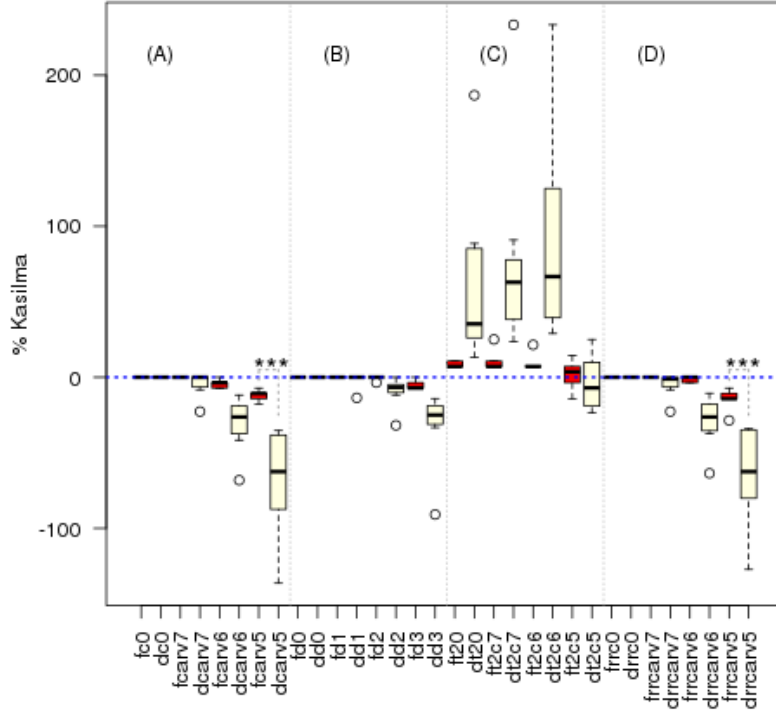
Şekil 3.9. Karvakrolün izole sıçan mide fundus pasif gerimi üzerindeki gevşetici etkisi. Verilerin yüzde hesaplanmasında $5 \cdot 10^{-7}$ ACh (Asetilkolin) kasılma değeri 100 olarak alınmıştır. c0= karvakrol uygulama öncesi kasılma, carv7=karvakrol (10^{-7} M), carv6=karvakrol (10^{-6} M), carv5=karvakrol (10^{-5} M), d0= DMSO uygulama öncesi kasılma, dms01=DMSO birinci doz, dms02=DMSO ikinci doz, dms03=DMSO üçüncü doz, t20= TEA (10^{-2} M) uygulama öncesi kasılma, t2c7=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-7} M), t2c6=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-6} M), t2c5=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-5} M), rrc0=Rutenyum red (10^{-5} M) uygulama öncesi kasılma, rrcarv7= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-7} M), rrcarv6= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-6} M), rrcarv5= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-5} M), NC0= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) uygulama öncesi kasılma, NC7= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-7} M), NC6= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-6} M), NC5= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-5} M). Değerler, ortanca (median) \pm güven aralığı (%95) olarak gösterilmiştir (n=07).



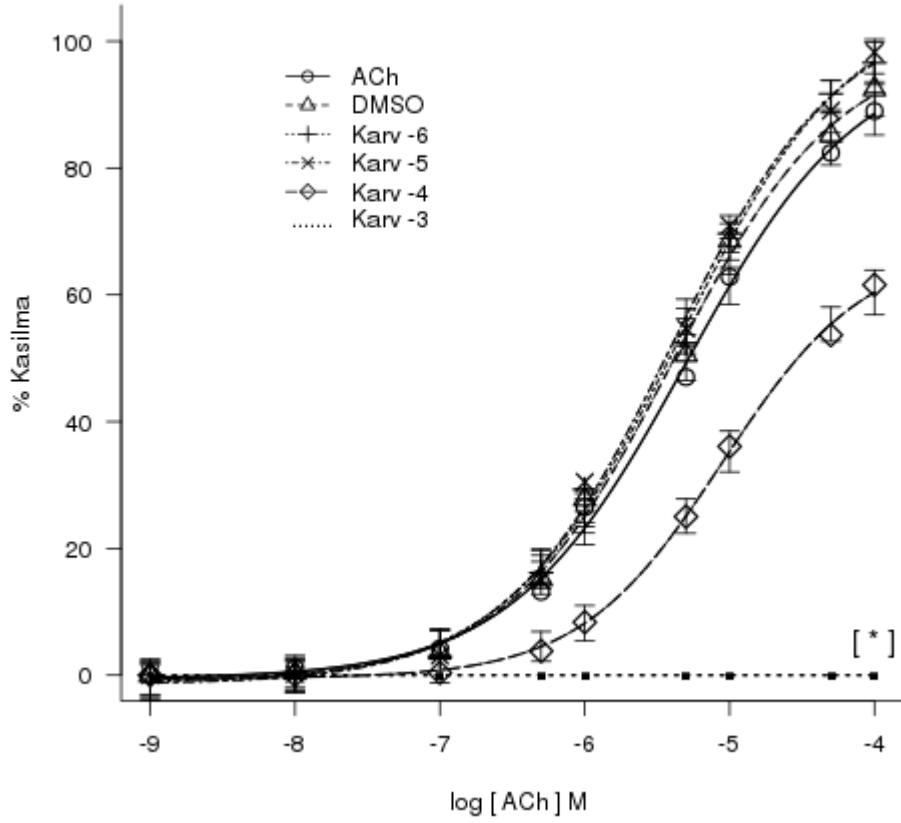
Şekil 3.10. Karvakrolün izole sıçan mide fundus pasif gerimi üzerindeki gevşetici etkisi. Verilerin yüzde hesaplanmasında 5.10^{-7} ACh (Asetilkolin) kasılma değeri 100 olarak alınmıştır. Karv=karvakrol, DMSO=dimetil sulfoksit, t2= TEA (10^{-2} M), RRed= Rutenyum red, Do=Karvakrol uygulanma öncesi ilk kasılma değerleridir. Değerler, ortanca (median) \pm güven aralığı (%95) olarak gösterilmiştir (n=07). $p < 0.05$. (*) 0.05.



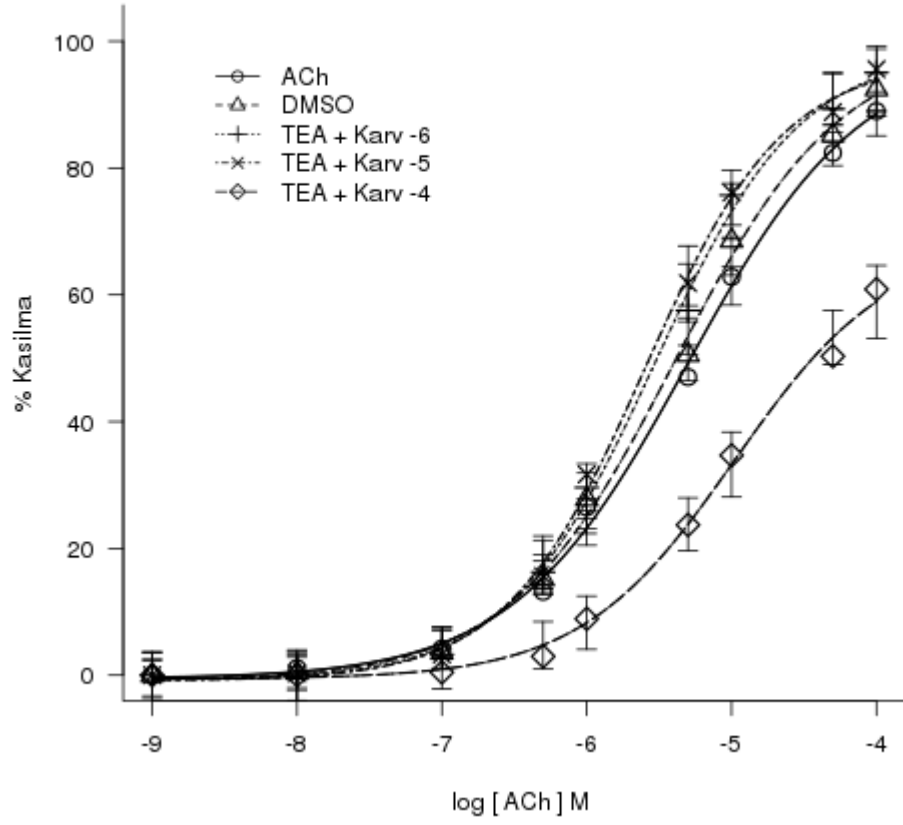
Şekil 3.11. Karvakrolun izole sıçan mide fundus pasif gerimi üzerindeki gevşetici etkisinin gruplar arasındaki karşılaştırılması. Verilerin yüzde hesaplanmasında $5 \cdot 10^{-7}$ ACh (Asetilkolin) kasılma değeri 100 olarak alınmıştır. Karv=karvakrol, DMSO=dimetil sulfoksit, t2=TEA (10^{-2} M), RRed= Rutenyum red, Do=Karvakrol uygulanma öncesi ilk kasılma değerleridir. Değerler, ortanca (median) \pm güven aralığı (%95) olarak gösterilmiştir (n=07). $p < 0.05$. (*) 0.05.



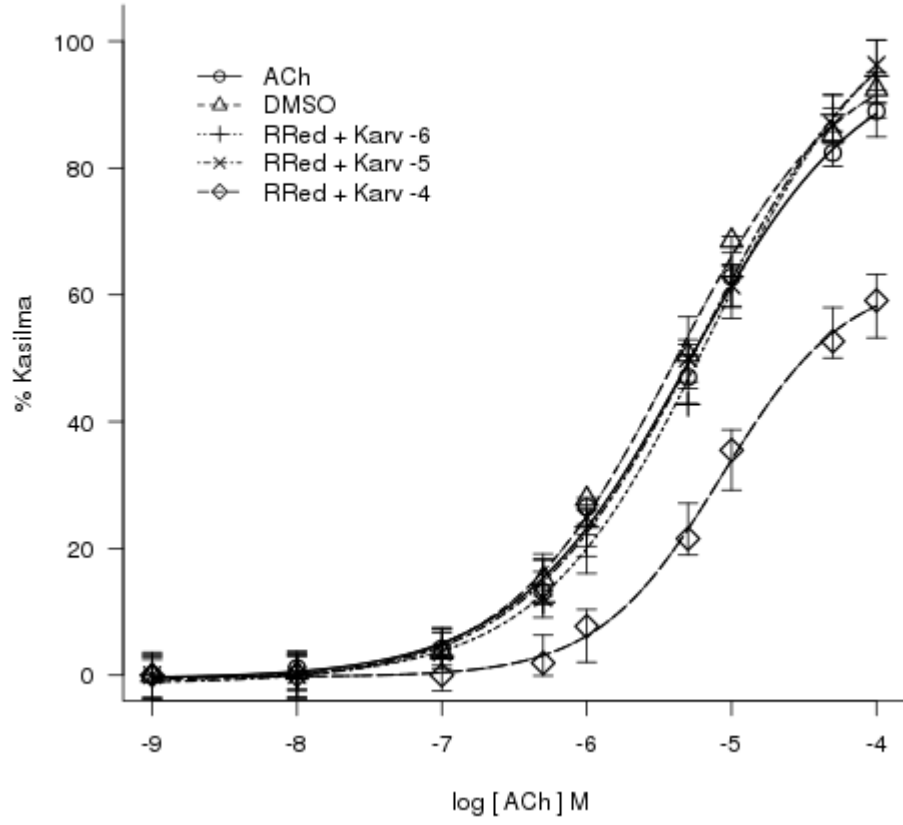
Şekil 3.12. Karvakrolün izole sıçan mide fundus ve duodenum pasif gerimi üzerindeki gevşetici etkisinin karşılaştırmalı olarak gösterilmesi. Verilerin yüzde hesaplanmasında $5 \cdot 10^{-7}$ ACh (Asetilkolin) kasılma değeri 100 olarak alınmıştır. c0= karvakrol uygulama öncesi kasılma, carv7=karvakrol (10^{-7} M), carv6=karvakrol (10^{-6} M), carv5=karvakrol (10^{-5} M), d0= DMSO uygulama öncesi kasılma, dmsol=DMSO birinci doz, dmso2=DMSO ikinci doz, dmso3=DMSO üçüncü doz, t20= TEA (10^{-2} M) uygulama öncesi kasılma, t2c7=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-7} M), t2c6=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-6} M), t2c5=TEA (10^{-2} M) + karvakrol (10^{-5} M), rrc0=Rutenyum red (10^{-5} M) uygulama öncesi kasılma, rrcarv7= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-7} M), rrcarv6= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-6} M), rrcarv5= Rutenyum red (10^{-5} M) + karvakrol (10^{-5} M), NC0= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) uygulama öncesi kasılma, NC7= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-7} M), NC6= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-6} M), NC5= Nw-Nitro-L-arjinin (10^{-4} M) + karvakrol (10^{-5} M). Öniinde f harfi olanlar mide fundus, d harfi olanlar duodenum grubunu ifade etmektedir. Örneğin, fcarv7=fundus düz kaslarına ait karvakrol 10^{-7} M grubunu, dcarv7= fundus düz kaslarına ait karvakrol 10^{-7} M grubunu ifade etmektedir. Değerler, ortanca (median) \pm güven aralığı (%95) olarak gösterilmiştir (n=07). $p < 0.05$. (***) 0.001.



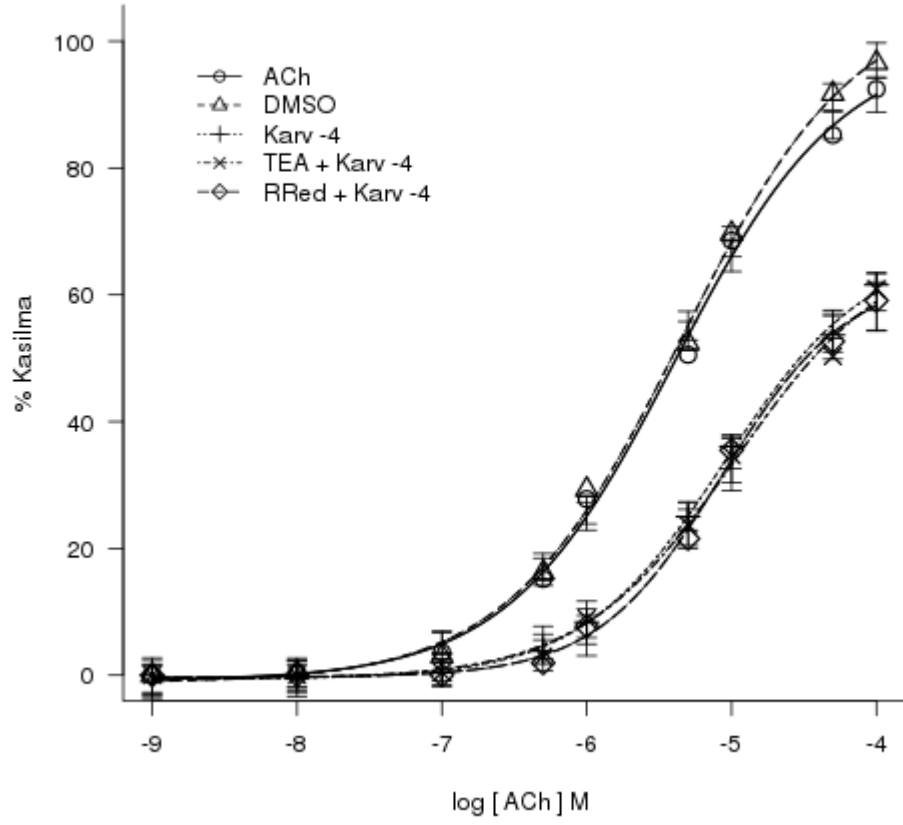
Şekil 3.13. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde ACh oluşturulan kasılmalar üzerinde karvakrolün etkisi. ACh=Asetilkolin, DMSO=dimetil sulfoksit, Karv-6=Karvakrol 10^{-6} M, Karv-5=Karvakrol 10^{-5} M, Karv-4=Karvakrol 10^{-4} M, Karv-3=Karvakrol 10^{-3} M. Değerler, nonlineer regresyon ile elde edilen tahmin (estimate) \pm güven aralığı (%95) olarak gösterilmiştir (n=07). [*] 10^{-3} M karvakrol için çizilmiştir. Değerlerinin hepsi 0 olması nedeniyle düz çizgi şeklinde gösterilmiştir. Karvakrolün bu dozundan sonra organdan hiç bir yanıt alınma olanağının var olmadığı görülmüştür.



Şekil 3.14. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde ACh oluşturulan kasılmalar üzerinde tetraetilamonyum (TEA) varlığında karvakrolün etkisi. ACh=Asetilkolin, DMSO=dimetil sulfoksit, TEA=tetraetilamonyum (10^{-3} M), Karv-6=Karvakrol 10^{-6} M, Karv-5=Karvakrol 10^{-5} M, Karv-4=Karvakrol 10^{-4} M. Değerler, nonlineer regresyon ile elde edilen tahmin (estimate) \pm güven aralığı (%95) olarak gösterilmiştir (n=07).



Şekil 3.15. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde ACh oluşturulan kasılmalar üzerinde rutenyum red (RRed) varlığında karvakrolün etkisi. ACh=Asetilkolin, DMSO=dimetil sulfoksit, RRed=rutenyum red (10^{-5} M), Karv-6=Karvakrol 10^{-6} M, Karv-5=Karvakrol 10^{-5} M, Karv-4=Karvakrol 10^{-4} M. Değerler, nonlinear regresyon ile elde edilen tahmin (estimate) \pm güven aralığı (%95) olarak gösterilmiştir (n=07).



Şekil 3.16. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde ACh oluşturulan kasılmalar üzerinde karvakrol, tetraetilamonyum ve rutenyum red 'e ait 10^{-4} M dozlarının karşılaştırmalı gösterilmesi. ACh=Asetilkolin, DMSO=dimetil sulfoksit, RRed=rutenyum red (10^{-5} M), TEA=tetraetilamonyum (10^{-3} M), Karv-4=Karvakrol 10^{-4} M. Değerler, nonlinear regresyon ile elde edilen tahmin (estimate) \pm güven aralığı (%95) olarak gösterilmiştir (n=07).

Tablo 3.1. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde ACh oluşturulan kasılmalar üzerinde karvakrolün etkisinin nonlineer regresyon sonucu bulunan IC50 değerlerinin karşılaştırılması. Grup 1: Asetilkolin (ACh) kontrol grubu, grup 2: DMSO kontrol grubu, grup 3: Karv (10^{-6} M) + ACh grubu, grup 4: Karv (10^{-5} M) + ACh grubu, grup 5: Karv (10^{-4} M) + ACh grubu, degerleri '0' olan Karv (10^{-3} M) + ACh grubu için non-lineer regresyon yapılmamıştır.

Grup	Tahmin	Standard hata	t-degeri	p-degeri		
Eğim:	1	-7.2274e ⁻⁰¹	6.9776e ⁻⁰²	-10.3580	< 2.2e-16	***
Eğim:	2	-7.5747e ⁻⁰¹	6.6436e ⁻⁰²	-11.4015	< 2.2e-16	***
Eğim:	3	-7.2739e ⁻⁰¹	6.1006e ⁻⁰²	-11.9232	< 2.2e-16	***
Eğim:	4	-7.4659e ⁻⁰¹	6.1751e ⁻⁰²	-12.0903	< 2.2e-16	***
Eğim:	5	-8.7890e ⁻⁰¹	1.4322e ⁻⁰¹	-6.1367	1.517e-09	***
Alt Sınır:	1	-5.0934e ⁻⁰¹	1.5454e ⁺⁰⁰	-0.3296	0.7418	
Alt Sınır:	2	-8.4433e ⁻⁰¹	1.5196e ⁺⁰⁰	-0.5556	0.5787	
Alt Sınır:	3	-1.1775e ⁺⁰⁰	1.5396e ⁺⁰⁰	-0.7648	0.4447	
Alt Sınır:	4	-1.3937e ⁺⁰⁰	1.5181e ⁺⁰⁰	-0.9181	0.3589	
Alt Sınır:	5	-4.8846e ⁻⁰¹	1.3296e ⁺⁰⁰	-0.3674	0.7135	
Üst Sınır:	1	9.8754e ⁺⁰¹	4.4583e ⁺⁰⁰	22.1507	< 2.2e-16	***
Üst Sınır:	2	9.9680e ⁺⁰¹	3.6962e ⁺⁰⁰	26.9682	< 2.2e-16	***
Üst Sınır:	3	1.0724e ⁺⁰²	4.1026e ⁺⁰⁰	26.1403	< 2.2e-16	***
Üst Sınır:	4	1.0529e ⁺⁰²	3.7938e ⁺⁰⁰	27.7542	< 2.2e-16	***
Üst Sınır:	5	6.7659e ⁺⁰¹	5.1928e ⁺⁰⁰	13.0294	< 2.2e-16	***
Ed50:	1	4.9726e ⁻⁰⁶	8.4296e ⁻⁰⁷	5.8989	6.066e ⁻⁰⁹	***
Ed50:	2	4.0333e ⁻⁰⁶	5.7156e ⁻⁰⁷	7.0567	4.649e ⁻¹²	***
Ed50:	3	4.4946e ⁻⁰⁶	6.5591e ⁻⁰⁷	6.8524	1.780e ⁻¹¹	***
Ed50:	4	3.9752e ⁻⁰⁶	5.5219e ⁻⁰⁷	7.1990	1.791e ⁻¹²	***
Ed50:	5	8.9270e ⁻⁰⁶	2.1361e ⁻⁰⁶	4.1791	3.354e ⁻⁰⁵	***
IC50 değerlerinin karşılaştırılması.						
1/2	1.23287	0.27241	0.8549	0.3929528		
1/3	1.10635	0.24747	0.4297	0.6675451		
1/4	1.25090	0.27416	0.9152	0.3604533		
1/5	0.55703	0.16335	-2.7119	0.0068794	**	
2/3	0.89737	0.18254	-0.5622	0.5741696		
2/4	1.01462	0.20134	0.0726	0.9421183		
2/5	0.45181	0.12565	-4.3629	1.507e ⁻⁰⁵	***	
3/4	1.13066	0.22780	0.5736	0.5664606		
3/5	0.50348	0.14111	-3.5186	0.0004662	***	
4/5	0.44530	0.12321	-4.5022	8.057e ⁻⁰⁶	***	

Anlamlılık kodları: '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1.

Tablo 3.2. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde ACh oluşturulan kasılmalar üzerinde tetraetilamonyum (TEA) (10^{-3} M) + karvakrolün etkisinin nonlineer regresyon sonucu bulunan IC50 değerlerinin karşılaştırılması. Grup 1: Asetilkolin (ACh) kontrol grubu, grup 2: DMSO kontrol grubu, grup 3: TEA + Karv (10^{-6} M) + ACh grubu, grup 4: TEA + Karv (10^{-5} M) + ACh grubu, grup 5: TEA + Karv (10^{-4} M) + ACh grubu.

Grup	Tahmin	Standard hata	t-değeri	p-değeri	
Eğim: 1	-7.2207e ⁻⁰¹	7.1757e ⁻⁰²	-10.0627	< 2.2e ⁻¹⁶	***
Eğim: 2	-7.5788e ⁻⁰¹	6.8322e ⁻⁰²	-11.0928	< 2.2e ⁻¹⁶	***
Eğim: 3	-8.6226e ⁻⁰¹	1.0374e ⁻⁰¹	-8.3117	1.550e ⁻¹⁵	***
Eğim: 4	-9.0130e ⁻⁰¹	1.0609e ⁻⁰¹	-8.4958	4.262e ⁻¹⁶	***
Eğim: 5	-8.1473e ⁻⁰¹	2.2037e ⁻⁰¹	-3.6970	0.0002491	***
Alt Sınır: 1	-5.3452e ⁻⁰¹	1.5908e ⁺⁰⁰	-0.3360	0.7370427	
Alt Sınır: 2	-8.2832e ⁻⁰¹	1.5619e ⁺⁰⁰	-0.5303	0.5961868	
Alt Sınır: 3	-7.4610e ⁻⁰¹	2.2727e ⁺⁰⁰	-0.3283	0.7428664	
Alt Sınır: 4	-8.8899e ⁻⁰¹	2.2341e ⁺⁰⁰	-0.3979	0.6909055	
Alt Sınır: 5	-5.8789e ⁻⁰¹	2.1156e ⁺⁰⁰	-0.2779	0.7812412	
Üst Sınır: 1	9.8782e ⁺⁰¹	4.5943e ⁺⁰⁰	21.5007	< 2.2e ⁻¹⁶	***
Üst Sınır: 2	9.9666e ⁺⁰¹	3.7969e ⁺⁰⁰	26.2494	< 2.2e ⁻¹⁶	***
Üst Sınır: 3	9.8717e ⁺⁰¹	4.1539e ⁺⁰⁰	23.7646	< 2.2e ⁻¹⁶	***
Üst Sınır: 4	9.7125e ⁺⁰¹	3.7897e ⁺⁰⁰	25.6287	< 2.2e ⁻¹⁶	***
Üst Sınır: 5	6.8354e ⁺⁰¹	1.0461e ⁺⁰¹	6.5341	1.981e ⁻¹⁰	***
Ed50: 1	4.9730e ⁻⁰⁶	8.6836e ⁻⁰⁷	5.7269	2.032e ⁻⁰⁸	***
Ed50: 2	4.0335e ⁻⁰⁶	5.8735e ⁻⁰⁷	6.8673	2.560e ⁻¹¹	***
Ed50: 3	2.9193e ⁻⁰⁶	4.9423e ⁻⁰⁷	5.9067	7.548e ⁻⁰⁹	***
Ed50: 4	2.4934e ⁻⁰⁶	4.0250e ⁻⁰⁷	6.1948	1.470e ⁻⁰⁹	***
Ed50: 5	1.0477e ⁻⁰⁵	5.1846e ⁻⁰⁶	2.0207	0.0439826	*
IC50 değerlerinin karşılaştırılması.					
1/2	1.23292	0.28033	0.8309	0.406534	
1/3	1.70351	0.41432	1.6980	0.090295	.
1/4	1.99445	0.47428	2.0968	0.036652	*
1/5	0.47467	0.24909	-2.1090	0.035576	*
2/3	1.38169	0.30854	1.2371	0.216798	
2/4	1.61766	0.35168	1.7563	0.079812	.
2/5	0.38499	0.19860	-3.0967	0.002097	**
3/4	1.17079	0.27388	0.6236	0.533253	
3/5	0.27864	0.14574	-4.9498	1.103e ⁻⁰⁶	***
4/5	0.23799	0.12388	-6.1510	1.892e ⁻⁰⁹	***
Anlamlılık kodları: '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1.					

Tablo 3.3. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde ACh oluşturulan kasılmalar üzerinde rutenyum red (RRed) (10^{-5} M) + karvakrolün etkisinin nonlinear regresyon sonucu bulunan IC50 değerlerinin karşılaştırılması. Grup 1: Asetilkolin (ACh) kontrol grubu, grup 2: DMSO kontrol grubu, grup 3: RRed + Karv (10^{-6} M) + ACh grubu, grup 4: RRed + Karv (10^{-5} M) + ACh grubu, grup 5: RRed + Karv (10^{-4} M) + ACh grubu.

Grup	Tahmin	Standard hata	t-degeri	p-degeri	
Eğim: 1	-7.2276e ⁻⁰¹	7.5762e ⁻⁰²	-9.5399	< 2.2e ⁻¹⁶	***
Eğim: 2	-7.5781e ⁻⁰¹	7.2119e ⁻⁰²	-10.5078	< 2.2e ⁻¹⁶	***
Eğim: 3	-7.3710e ⁻⁰¹	1.0208e ⁻⁰¹	-7.2205	2.237e ⁻¹²	***
Eğim: 4	-6.9188e ⁻⁰¹	9.4892e ⁻⁰²	-7.2913	1.401e ⁻¹²	***
Eğim: 5	-1.0147e ⁺⁰⁰	2.5841e ⁻⁰¹	-3.9270	9.958e ⁻⁰⁵	***
Alt Sınır: 1	-5.1736e ⁻⁰¹	1.6790e ⁺⁰⁰	-0.3081	0.7581156	
Alt Sınır: 2	-8.3972e ⁻⁰¹	1.6498e ⁺⁰⁰	-0.5090	0.6110238	
Alt Sınır: 3	-6.3524e ⁻⁰¹	2.1681e ⁺⁰⁰	-0.2930	0.7696598	
Alt Sınır: 4	-1.2970e ⁺⁰⁰	2.2260e ⁺⁰⁰	-0.5827	0.5604164	
Alt Sınır: 5	-2.5974e ⁻⁰¹	1.8254e ⁺⁰⁰	-0.1423	0.8869105	
Üst Sınır: 1	9.8747e ⁺⁰¹	4.8374e ⁺⁰⁰	20.4130	< 2.2e ⁻¹⁶	***
Üst Sınır: 2	9.9655e ⁺⁰¹	4.0074e ⁺⁰⁰	24.8677	< 2.2e ⁻¹⁶	***
Üst Sınır: 3	1.0912e ⁺⁰²	7.7399e ⁺⁰⁰	14.0987	< 2.2e ⁻¹⁶	***
Üst Sınır: 4	1.0990e ⁺⁰²	8.2138e ⁺⁰⁰	13.3794	< 2.2e ⁻¹⁶	***
Üst Sınır: 5	6.3029e ⁺⁰¹	6.0051e ⁺⁰⁰	10.4960	< 2.2e ⁻¹⁶	***
Ed50: 1	4.9684e ⁻⁰⁶	9.1366e ⁻⁰⁷	5.4379	8.882e ⁻⁰⁸	***
Ed50: 2	4.0304e ⁻⁰⁶	6.1961e ⁻⁰⁷	6.5048	2.083e ⁻¹⁰	***
Ed50: 3	7.3066e-06	1.8102e-06	4.0362	6.387e-05	***
Ed50: 4	6.5711e-06	1.8127e-06	3.6251	0.0003221	***
Ed50: 5	8.5182e-06	2.3245e-06	3.6645	0.0002775	***
IC50 değerlerinin karşılaştırılması.					
1/2	1.23271	0.29547	0.7876	0.4313540	
1/3	0.67998	0.20981	-1.5253	0.1278919	
1/4	0.75609	0.25067	-0.9730	0.3310616	
1/5	0.58327	0.19193	-2.1712	0.0304386	*
2/3	0.55162	0.16084	-2.7878	0.0055330	**
2/4	0.61336	0.19370	-1.9961	0.0465284	*
2/5	0.47316	0.14820	-3.5550	0.0004182	***
3/4	1.11192	0.41228	0.2715	0.7861542	
3/5	0.85777	0.31615	-0.4499	0.6530137	
4/5	0.77143	0.29933	-0.7636	0.4455068	

Anlamlılık kodları: '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1.

4. TARTIŞMA

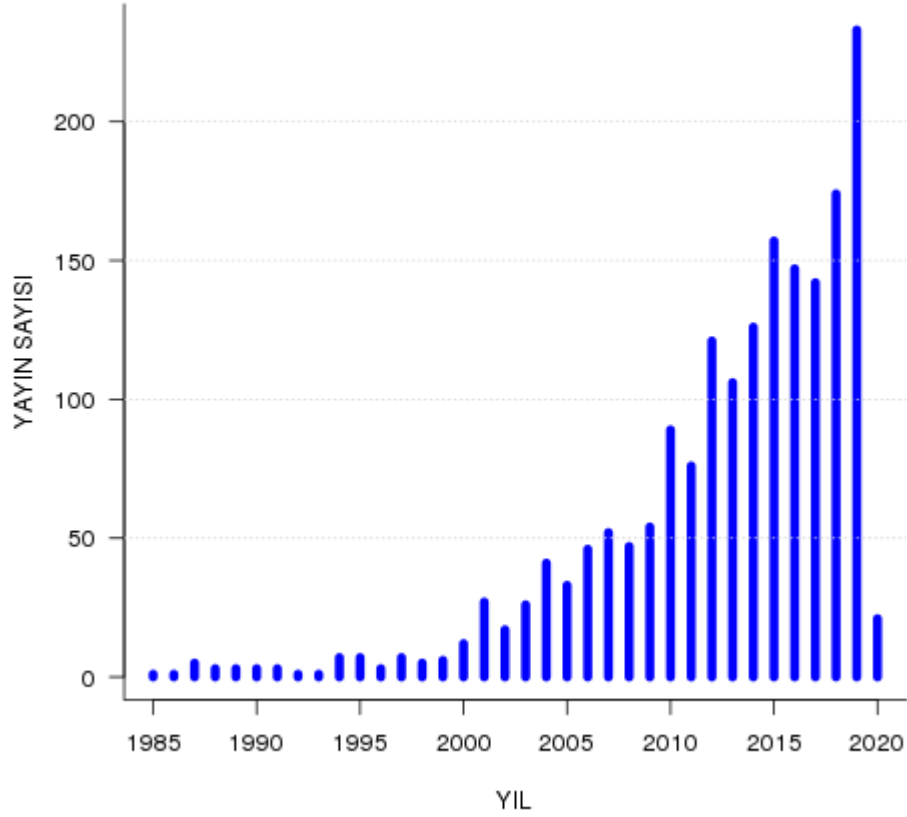
Karvakrol, sentez ile elde edilen aynı zamanda da doğada özellikle Lamiaceae (Labiatae) ailesine ait bitkilerin uçucu yağlarında bulunan oksijenli monoterpendir. *Origanum onites* başta olmak üzere bazı bitkilerin uçucu yağlarında ana bileşen olarak bulunduğu için, bu bitkilerin farmakolojik etkilerinin karvakrolden ileri geldiği de sürülmüştür (Aydın vd., 1996). Ancak bazı çalışmalarda karvakrol ile ana bileşen olarak karvakrolün bulunduğu uçucu yağ etkisinin farklı olduğu ve farmakolojik etkilerin karvakrolden farklı olduğu bildirilmiştir (Aydın ve Seker, 2005).

Son yıllarda karvakrol ile yapılan çalışmalarda bir artış olduğu görülmektedir (Şekil 4.1). Karvakrole olan bu ilginin temelinde, çok sayıda üyesi ve çok çeşitli etkileri bulunan TRP iyon kanalları (Nilius ve Szallasi, 2014; Benemei vd., 2015) ile karvakrolün etkileşmesi (Xu vd., 2006) olduğunu söylemek olasıdır.

Karvakrolün düz kaslar üzerinde etkili olduğu, trakea düz kaslarında ACh ile oluşturulan kasılmaları inhibe ettiği, antimuskarinik etkisi olduğu ve beta adrenerjik reseptör agonistik etkili olabileceği bildirilmiştir (Boskabady vd., 2011), hipotansif etkili olmakla birlikte aorta düz kasları üzerinde etkisi olmadığı (Aydın vd., 2007), aorta düz kasları üzerinde inhibitör etkili olduğu (Earley vd., 2010), bu inhibitör etkide karvakrolün TRPV3 üzerinden etki ettiği (Earley vd., 2010), başka çalışmada ise potasyum kanalları üzerinden etkili olduğu bildirilmiştir (Testai vd., 2016).

Karvakrolün etki mekanizmasında TRP kanallarının rol oynadığı bilinmektedir. Karvakrol tarafından aktive edilenler arasında TRPV3 ve TRPA1 iyon kanalları vardır (Xu vd., 2006). Bu TRP kanallarından başka reseptör ve birçok iyon kanalının inhibisyonun karvakrolün etki mekanizmasından rol oynadığı bildirilmiştir. Bunlar arasında bulunanlar şunlardır: TRPM7 (Parnas vd., 2009), potasyum kanalları (Testai vd., 2016), kolinerjik nikotinik (Trailovic vd., 2015), GABAerjik (Melo vd., 2010), voltaja bağlı sodyum kanalları (Joca vd., 2015), protein-kinaz C aktivasyonu üzerinden endoplazmik retikulumdan

sitoplazmaya kalsiyum çıkışı (Horng vd., 2017; Liang ve Lu, 2012) ile serotonerjik ve adrenerjik reseptörler (Polli vd., 2019).



Şekil 4.1. Karvakrol ile yapılmış yayınların yıllara göre dağılımı. Şekilin oluşturulması için kullanılan veriler, (<http:3>) adresinden 'carvacrol' anahtar kelimesi verilerek yapılan sorgulama sonucunda 1982-2020 yılları için elde edilen sayılardır.

Karvakrolün L-tip voltaja bağı kalsiyum kanalları üzerindeki etkisinin bulunmadığı bildiren çalışma (Aydın vd., 2007) ile birlikte, bugüne kadar yapılan çalışmalar ele alınacak olursa, karvakrolün düz kaslar üzerindeki etkisinin yeterince araştırılmadığı ve aydınlığa kavuşturulmadığı görülmüştür. Bu nedenle karvakrolün düz kaslar üzerindeki etkisinin aydınlatılmasına yönelik olarak bu çalışma yapılmıştır.

Bugüne kadar bildirilen çalışmaların hepsinde karvakrolün düz kasları gevşetici etkilerinden söz edilmiş olması nedeniyle, bu çalışmada kurulan hipotez, karvakrolün düz kasları gevşetici etkisinde rol oynayan mekanizmalarda TRP kanallarının araştırılması şeklinde olmuştur. Peristaltik aktivitesinin diğer düz kaslı organlara göre daha yüksek olması nedeniyle bu çalışmada materyal olarak duodenum tercih edilmiştir.

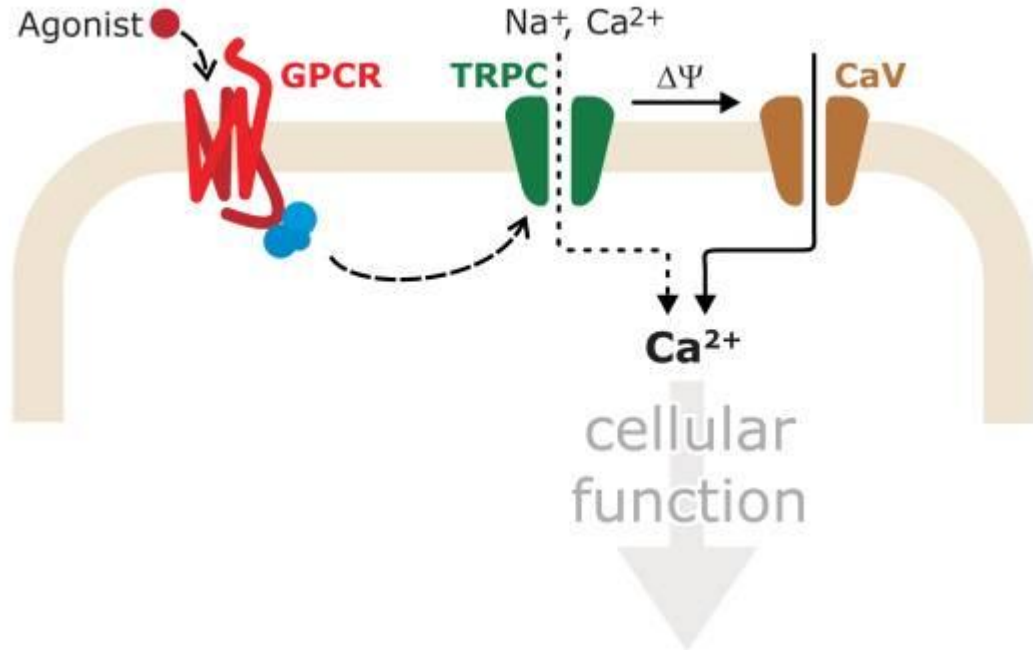
İzole sıçan duodenumunda ACh ile oluşturulan kasılmalar üzerinde karvakrolün 10^{-5} ve 10^{-6} M dozlarında kontrole göre herhangi bir etkisinin olmadığı fakat 10^{-4} M dozunda non-kompetitif inhibisyon yaptığı, 10^{-3} M dozunda ise organın tekrar cevap veremeyecek şekilde inhibe ettiği görülmüştür (Şekil 3.13), karvakrolün duodenum düz kaslarında bu şekilde inhibisyon yapmasının mekanizması henüz aydınlığa kavuşmuş değildir. Karvakrolün 10^{-3} M ve üzerinde kullanılması durumunda, henüz açıklığa kavuşmamış olan mekanizmalar üzerinden izole organ ve hücrelerde çok kuvvetli inhibisyon yapması beklenmelidir. Karvakrolün kolinesteraz inhibisyonu yaptığına ilişkin bilgiler yayınlanmıştır (Jukic vd., 2007; Azizi vd., 2012; Kurt vd., 2017), öte yandan karvakrolün bellek üzerinde yaptığı iyileştirici etkinin kolinesteraz inhibisyonu üzerinden olmayıp karvakrolün antienflamatuvar etkisi ile olduğu ileri sürülmüştür (Lee ve ark, 2020), ancak bulgularımıza göre kolinesteraz enzim inhibisyonu sözkonusu değildir (Şekil 3.13). Kolinesteraz enzim inhibisyonu var olsaydı, düz kaslar üzerinde karvakrol varlığında düşük doz (10^{-9} , 10^{-8} M gibi) ACh uygulanması ile yüksek oranda (%70, %80 gibi) düz kas kasılmalarının gözlenmiş olması gerekirdi. Karvakrol varlığında bu şekilde kasılmalar gözlenmemiş, tam aksine 10^{-4} M karvakrol ile ACh ile oluşturulan kasılmalarda önemli oranda inhibisyon görülmüştür (Şekil 3.13). Karvakrolün AChE inhibisyonu yapan IC50 dozu olarak bildirilmiş olan 288 mikromol, deneylerimizde inhibitor etki yapmış olan 10^{-4} den daha yüksek bir dozdur ve bu

yüksek dozlarda duodenum düz kaslarının ileri derecede inhibe olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.13). Deneylemizden elde edilen bulgular ışığında, karvakrolün duodenum düz kaslarındaki muskarinik reseptörler üzerinde doğrudan ya da kolinesteraz inhibisyonu yaparak dolaylı da olsa agonistik etkisinin olmadığı söylenebilir.

ACh ile oluşturulan kasılmalarda TRPM4 (Alom vd., 2019) ve TRPC4/6 iyon kanallarının rolü olduğu (Ambudkar, 2009), muskarinik reseptörlerin düz kaslarda TRPC4 aktivasyonu üzerinden kasılma yaptığı gösterilmiştir (Griffin vd., 2016). TRPC4 ve TRPC6 eksikliğinde muskarinik reseptör ile oluşan kasılmalarda azalma olduğu, TRPC4 ve C6 iyon kanalları ile, muskarinik reseptörler ve voltaja bağlı kalsiyum kanallarının birlikte ve etkileşerek çalıştıkları gösterilmiştir (Şekil 4.2) (Tsvilovskyy vd., 2009). Gyrus dentatus'ta (beyinde) ise bu etkileşime KCNQ2/3 potasyum kanalları da dahil olmaktadır (Carver ve Shapiro, 2019).

Karvakrolün, ACh ile oluşturulan muskarinik kasılmalar üzerindeki inhibitor etkisinde RRed ve TEA 'un herhangi bir etkisi olmadığı deneylemizde gösterilmiştir (Şekil 3.15-3.16). Karvakrolün muskarinik reseptör etkisini inhibe ettiği, ayrıca beta adrenerjik reseptör etkisinin de karvakrol etkisinde rol oynayabileceği ifade edilmiştir ancak TRP ya da potasyum gibi iyon kanallarının rolünden bahsedilmemiştir (Boskabady vd., 2011). Karvakrolün TRPC1 iyon kanalları üzerinde etkili olduğu bilinmektedir (Peters vd., 2012). Bu bulgu ve bilgilere dayanarak karvakrolün izole duodenum düz kaslarında ACh ile oluşturulan kasılmaları inhibe etmesinde TRPC1 ve yanısıra TRPC4, TRPC5, TRPC6 ve TRPM4 iyon kanallarının rol oynaması büyük olasılıktır. Bu konuda yeterli çalışmanın bulunmadığı görülmüştür. Bu mekanizmaların ortaya konulabilmesi için, karvakrol ile TRP iyon kanalları arasındaki etkileşimin uygun ligandlar ile izole organ ve hücreler kullanılarak araştırılmasında yarar vardır. Deneylemizde elde edilen bulgular, karvakrolün muskarinik reseptör kasılmasını inhibe etmesindeki mekanizma üzerinde TRPC4 ya da TRPM4 iyon kanallarının hangisinin rol oynadığını açıklayabilecek düzeyde değildir. Bu alanda yeni çalışmalara gerek vardır. Bu çalışmalara ek olarak, daha önce gösterilmiş olduğu gibi (Tsvilovskyy vd., 2009), karvakrolün G proteini ile çalışan reseptörler (GPCR) ile TRP ve

voltaja bağılı iyon kanalları arasındaki etkileşimin de araştırılmasında fayda vardır. Bugün elimizde bulunan deneysel sonuçlar, karvakrolün bu alanda nasıl etkili olduğunu açıklayabilmekten uzaktır. Bu konular, farmakoloji alanında reseptör ve iyon kanal etkileşmesi açısından da yeni ve ilgi çeken konular arasındadır. Örnek olarak karvakrolün etkilediği bir TRP kanalı olan TRPV1 ile opioid reseptör etkileşmesi (crosstalk) verilebilir (Rowan vd., 2014), bu nedenle karvakrol bu alanda çalışmak için iyi bir ligand olarak önümüzde durmaktadır.



Şekil 4.2. Muskarinik reseptörler ile oluşan kasılmalarda, muskarinik reseptörler, TRPC ve voltaja bağlı kalsiyum kanallarıyla etkileşimi (Tsvilovskyy vd., 2009).

Karvakrolün sadece kasılmaları inhibe edeceği üzerine kurulmuş olan hipotezimizin aksine, karvakrolün 10^{-7} ve 10^{-6} M dozlarında, duodenum düz kaslarında kasılmaya neden olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.2 - 3.4). Bu kasılmaların düz kas örneğinin alındığı duodenum segmentine ve nedenini henüz bilmediğimiz deney hayvanlarındaki özelliklere göre

farklılıklar olduğu görülmüştür. Bu farklılıklar iki ayrı grafik şeklinde gösterilmiştir (Şekil 3.7 ve 3.8).

Pasif gerim altındaki düz kaslarda, karvakrol ile oluşan kasılmaların RRed ile bloke olduğu (Şekil 3.4 ve 3.7), 10^{-5} M ve üzerindeki dozlarda ise karvakrolun yaptığı düz kas gevşemelerinin ise TEA tarafından bloke olduğu bulunmuştur (Şekil 3.8). Dolayısıyla 10^{-7} ve 10^{-6} gibi düşük dozlarda TRP kanalları üzerinden karvakrolün kasılma yaptığı, daha yüksek dozlarda bu kasılmanın görülmeyip gevşeme görüldüğü, bu gevşemenin ise TEA'a duyarlı olan potasyum kanalları üzerinden olduğu bulunmuştur (Şekil 3.8 ve 4.3). Bildiğimiz kadarıyla, karvakrolün doza bağlı bir şekilde bir organda kasılma ve gevşeme yaptığı, kasılma için TRP, gevşeme için potasyum kanalları üzerinden etkili olduğu ilk kez bu çalışmada gösterilmiş bulunmaktadır (Şekil 3.1 - 3.8, 4.3).

Kasılma yapabilen TRP iyon kanalları arasında TRPA1, TRPV1 ve TRPC4, TRPC6 ve TRPM4 vardır (Alonso-Carbajo vd., 2017). Karvakrolün TRPC1 ile etkileştiği bildirilmiş olması nedeniyle (Peters vd., 2012), 10^{-7} ve 10^{-6} M dozlarda karvakrolün TRP iyon kanallarının bu alt tipleri üzerinden kasılma yapması büyük olasılıktır ancak bu olasılık bugüne kadar test edilmemiştir.

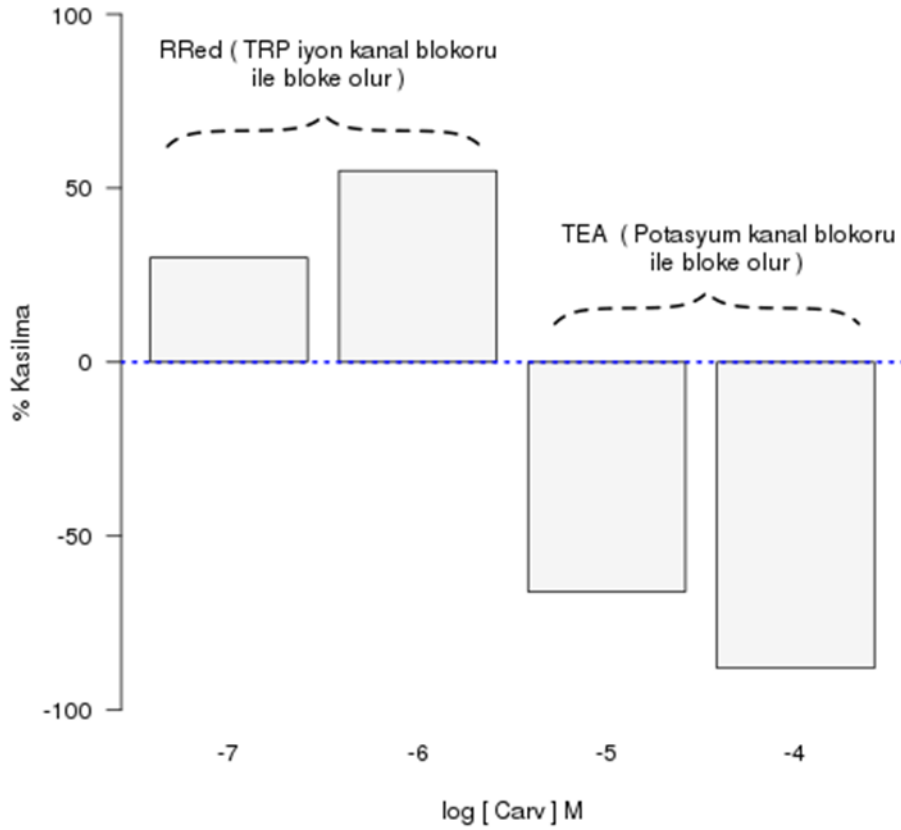
Hücre içine kalsiyum geçişine izin veren TRPA1 üzerine etki ederek karvakrolün hücre içi kalsiyum düzeylerini artırabildiği bildirilmiş (Stuber vd., 2017), ancak TRPA1 üzerinde etkili olabilmesi için karvakrolün 5 mM (5×10^{-3} M) gibi yüksek dozda uygulanması gerektiği görülmektedir (Meents vd., 2016) ancak deneylerimizde karvakrol bu yüksek dozda kullanılmamıştır. TRPA1 sadece hücre membranında bulunmaz, aynı zamanda endoplazmik retikulum üzerinde de TRPA1 iyon kanalının bulunduğu bildirilmiştir (Stuber vd., 2017). Karvakrolün endoplazmik retikulum üzerinde bulunan TRPA1 iyon kanalı üzerinde etkili olabilmesi için hangi dozda uygulanmasının yeterli etki gösterdiğine ilişkin herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Deneylerimizde 10^{-6} M karvakrol ile oluşan kasılmanın, endoplazmik retikulum gibi hücre içi mekanizmalardan kaynaklandığını düşündüren bir kasılma profili gözlenmiştir (Şekil 3.2). Daha yüksek dozlarda bu kasılma yanıtı yerine sadece karvakrol ile oluşan gevşeme görülmektedir (Şekil 3.8). Bazı

preparatlarda bu kasılma yanıtlarının gözlenebilmesi için bir sürenin geçmesi gerektiği dikkatimizi çekmiş, ancak bu süre ölçülmemiştir. Dolayısıyla karvakrolün kasıcı etkilerinde TRPC1 'e ek olarak hücre membranında ve / veya hücre organellerinde bulunan TRPA1 üzerindeki etkiler rol oynayabilme olasılığı vardır. Buna ek olarak, TRPA1 ile TRPV1 kompleksinin oluştuğu bildirilmiştir (Weng vd., 2015). TRPA1 üzerinde etkili olduğu gösterilmiş olan karvakrolün (Saito vd., 2012) TRPA1-TRPV1 kompleksini etkileyerek etki gösterme olasılığı da bulunmaktadır. Karvakrolün bir organel olan mitokondri membran potansiyelleri üzerinde etkili olduğu dolayısıyla hücre içi organellere etki ettiği bildirilmiştir (Lim vd., 2019). Karvakrolün hücre içi organelleri üzerinden etkisinin hangi ölçüde olduğunun gösterilmesi için yeni deneylere ihtiyaç vardır.

Karvakrolün antikanser etkisi (Zeytinoglu vd., 1998; Khan vd., 2018) ve karvakrolün TRPM7 inhibisyonu ile antikanser ve metastazı inhibe ettiği (Chen vd., 2015; Luo vd., 2016) ve TRPM7 inhibisyonu üzerinden santral sinir sisteminde antiepileptik etki gösterdiği bildirilmiştir (Khalil vd., 2017). Gastrointestinal sistem düz kaslarının kasılması ve peristaltik hareketlerin oluşmasında interstisyel Cajal hücrelerinin rolünün önemli olduğu, bu hücrelerde pacemaker etkinliğin oluşmasında TRPM7 kanallarının önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Kim vd., 2005; Kim vd., 2006; Kim vd., 2011). Deneylerimizde pasif gerim altındaki duodenum düz kaslarında peristaltik hareketlerin karvakrolün 10^{-5} ve üzerindeki dozlarda belirgin olarak azaldığı gözlenmiştir (Şekil 3.1). Karvakrolün peristaltik hareketleri inhibe edici etkisinde, TRPM7 üzerinde inhibe edici etkinliği üzerinden interstisyel Cajal hücreleri üzerindeki etkisinin ayrıca rol oynaması büyük bir olasılıktır. Karvakrolün TRPM7 üzerinde inhibe edici etkisi üzerinden Cajal hücreleri üzerinde etkili olabileceği ilk kez gene bu çalışmamızda ileri sürülmektedir. Bu çalışmalarda karvakrol etkisinin 10^{-9} gibi düşük dozlarda bile görülebileceğini ve bu düşük dozlarda da karvakrolün test edilmesi gerekmektedir.

TRPM7 iyon kanalı olmasının yanısıra enzim etkinliğine sahip bir iyon kanalıdır, aynı zamanda G proteinleri ile etkileşmektedir (Suzuki vd., 2018). Karvakrolün TRPC iyon kanallarına ek olarak TRPM7 üzerinden G proteini ile çalışan reseptörler ile etkileşmesi

beklenmelidir, ancak karvakrolün G proteinleri ve G proteinleri ile çalışan reseptörler üzerindeki etkisine ilişkin hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılacak yeni çalışmalar ile karvakrolün TRPM7 üzerinden G proteinlerini etkileyip etkilemediği, ve böyle bir etkileşmenin ne ölçüde ve hangi yönde bir etkiye neden olduğunun ortaya konulması gerekmektedir.



Şekil 4.3. İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde karvakrolün kasılma ve gevşeme etkilerinden sorumlu mekanizmalar, TRP ve potasyum kanalları ile olan ilişkisi.

Nonadrenerjik nonkolinerjik (NANK) mekanizmaların mide barsak gevşemelerinde önemli olduğu bilinmektedir. NANK mekanizmaların başında nitrik oksit sentezi üzerinden düz kas gevşemesi vardır (Kanada vd., 1992). Bu nedenle deneylerimizde nitrik oksitin karvakrolün gevşetici etkisindeki rolü, nitrik oksit sentaz inhibitörü olan Nw-Nitro-L-arjinin kullanılarak test edilmiştir. Karvakrolün duodenum düz kaslarındaki gevşetici etkisi üzerinde nitrik oksitin herhangi bir rolünün bulunmadığı anlaşılmıştır (Şekil 3.8). Karvakrol ile yapılan bazı çalışmalarda Wistar sıçanlarda karvakrolün gastroprotektif etkisinin ATPye duyarlı potasyum kanallarının açılması ve nitrik oksit sentaz enzim aktivasyonu ile olduğu bildirilmiştir (Oliveira vd., 2012). Deneylerimizde NOS etkisinin olmadığını bulunması, deneysel model farklılığından ileri gelebilir.

Karvakrolün etkisi altında gevşeme yanıtları TEA varlığında azalmış, ancak peristaltik hareketlerin TEA varlığında azalmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.1, 3.3). Bu bulgularımız, peristaltik hareketler üzerinde sadece TRPM7 iyon kanalının tek başına yeterli bir etken olmadığı, potasyum kanallarının da rolü bulunduğunu göstermektedir (Şekil 3.1 ve 3.3). Son yıllarda reseptörler ve iyon kanalları arasındaki etkileşimlerin (cross talk) varlığına ilişkin yapılan çalışmalara dayanarak, deneylerimizde gözlenmiş olan karvakrolün peristaltik hareketler üzerindeki etkisinde, büyük olasılıkla da potasyum kanalları ile TRP kanallarının etkileşim içinde olduklarını düşünmek olasıdır, çünkü reseptörler ile iyon kanalları arasında etkileşim vardır (Bao vd., 2015; Carver ve Shapiro, 2019), ayrıca TRP kanalları arasında da etkileşim (cross talk) sözkonusudur (Fischer vd., 2014).

Karvakrolün kullanılan düşük dozlarda (10^{-7} ve 10^{-6} M) TRP kanalları üzerinden kasılma yapıcı etkisinin deneklerde çok fazla bir değişkenlik göstermiş olması dikkati çekmiştir (Şekil 3.6). Bu değişkenlikte, kasılmanın hiç olmadığı duodenum segmentlerinin mideye yakın yerlere ait olması dikkati çekmiştir. Duodenum ilk kısmı ile mide fundus düz kasları arasındaki cevabın benzerlik taşıyabileceği ve dolayısıyla kasılma yapan duodenum segmentleri (duodenum orta kısımdaki segmentleri) ile mide düz kasları arasında karvakrole karşı farklı yanıtlar olabileceği düşünülmüş ve bu düşünceyi test etmek için duodenum organı alınan aynı deneklerden mide fundus düz kasları alınarak çalışılmıştır. Karvakrolün

izole sıçan mide fundus düz kaslarında duodenum düz kaslarına göre çok az etkili olduğu bulunmuştur (Şekil 3.9, 3.12). Karvakrolün mide fundus düz kaslarında asetilkolin ile oluşturulan kasılmalar üzerinde yeterince inhibisyon yapmadığı da daha önce bildirilmiştir (Aydın ve Seker, 2005). Daha önce bildirilen bu sonuç ile bizim deneysel sonuçlarımız aynı noktaya işaret etmektedir.

Karvakrolün mide fundus düz kaslarındaki inhibitör etkisi duodenum düz kaslarına göre çok azdır. Bugün için bu farklılığın nedenlerinin karvakrolün etkilediği TRP ve potasyum kanal dağılımı ve çeşitliliğindeki farklılık olabileceği düşünülmelidir. Bunlara ek olarak, Cajal hücrelerinin ICC-MY alt tipinin duodenumda bulunduğu ancak mide fundusta bulunmadığı bildirilmiştir (Sanders vd., 2014). Cajal hücrelerinin bugün için bilinen 6 alt-tipinin var olduğu bildirilmiştir (Sanders vd., 2014). Duodenum ile mide fundus arasındaki Cajal hücre farklılığının da karvakrolün gözlenen farklı etkileri üzerinde etkili olduğu düşünülmelidir.

Birden fazla TRP kanalı üzerinde etkili olduğu bilinen karvakrolün, TRP kanallarına ek olarak, kullanılan doz ile ilişkili bir şekilde potasyum kanallarına etkili olduğu, bu etkiler üzerinden düz kaslarda kastırıcı ve gevşetici etki gösterdiği deneylerimiz gösterilmiştir. Bu etkilerine ek olarak, karvakrolün farklı organlarda farklı şekilde etki gösterdiği anlaşılmıştır. Bu nedenle, karvakrolün bir organdaki etkisinin diğer başka organlarda da aynı şekilde olacağını söylemek zordur. Karvakrolün hangi organda nasıl etki göstereceği, etkinin hangi iyon kanalı üzerinden nasıl olacağı ancak deneyler ile anlaşılabilir. Gözlenmiş olan organlar arasındaki bu farklılık nedeniyle, karvakrolün farklı organ ve sistemlerde farklı derecelerde etkili olması beklenmelidir. Karvakrolün farklı organlardaki etkilerinin çeşitliliğinin temelinde, hem TRP hem de potasyum iyon kanalları üzerinde farklı dozlarda farklı şekilde etkili olması bulunduğu düşünülmektedir.

Mide ve duodenum arasında karvakrolün farklı etkiler göstermiş olması nedeni ile, organ ve dokularda karvakrolün etkilediği iyon kanal çeşitliliği ve dağılımına göre karvakrolün etkisi az ya da çok olarak, kastırıcı (aktive edici) ya da gevşetici (inhibe edici) şekilde görülebilecektir.

Pasif gerim altındaki duodenum düz kasları üzerinde karvakrolun kastırıcı etkisinin rutenyum red ile bloke olması, ancak asetilkolin ile oluşturulan kasılmanın karvakrol ile inhibisyonunun rutenyum red tarafından bloke edilememiş olması ile, başlangıçta kurulmuş olan hipotezin, karvakrolun sadece gevşetici etkisi olacağına ilişkin kısmının yanlış olduğu anlaşılmış ancak hipotezin karvakrol etkisinde farklı TRP kanallarının rol oynadığına ilişkin kısmı da doğrulanmış olmaktadır. Karvakrolun etkisinde rol oynayan bu farklı iyon kanallarının hangi TRP alt tipleri olduğu bugün için bilinmemektedir.

Dolayısıyla, karvakrolün TRPV3, TRPM7, TRPC1, TRPA1 ve TEA'a duyarlı potasyum kanalları gibi hücre membranında bulunan iyon kanallarına ek olarak endoplazmik retikulum ve mitokondri gibi organeller üzerinden de etki gösterdiği anlaşılmaktadır. Karvakrolün hangi mekanizmalar ile hangi etkisinin hücre membranı aracılığı ile ve diğer hangi etkilerinin hangi mekanizmalar aracılığı ile olduğu bugün için açıklığa kavuşmuş değildir. Karvakrolün TRP iyon kanal çeşitleri ve alt tipleri üzerinde etkilerinin bu anlamda ayrıca araştırılması gereklidir

Karvakrol etkisinde rol oynadığını göstermiş olduğumuz potasyum kanallarının bugün için bilinen 40 ayrı alt tipi ve TRP kanallarının 28 alt tipinin varlığı düşünülecek olursa, karvakrolün etkilerinin organ ve dokulara göre etkisinin açıklığa kavuşması için, 10^{-9} ile 10^{-3} M gibi geniş bir doz aralığında olmak üzere yeni çalışmalara gerek vardır.

5. KAYNAKÇA

- Aeschbach, R., Loliger, J. and Scott, B.C. (1994). Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6- gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food. Chem. Toxicol.*, 32, 31-36.
- Akalin, G. and Incesu, Z. (2011). The effects of carvacrol on apoptosis of H-RAS and N-RAS transformed cell lines. *Turk. J. Pharm. Sci.*, 8, 105-116.
- Alom, F., Matsuyama, H., Nagano, H., Fujikawa, S., Tanahashi, Y., Unno, T. (2019). Involvement of transient receptor potential melastatin 4 channels in the resting membrane potential setting and cholinergic contractile responses in mouse detrusor and ileal smooth muscles. *J. Vet. Med. Sci.*, 81, 217-228.
- Alonso-Carbajo, L., Kecskes, M., Jacobs, G., Pironet, A., Syam, N., Talavera, K., Vennekens, R. (2017). Muscling in on TRP channels in vascular smooth muscle cells and cardiomyocytes. *Cell Calcium*, 66, 48-61.
- Ambudkar, I.S. (2009). Unraveling Smooth Muscle Contraction: The TRP Link. *Gastroenterology*, 137, 1211-1214.
- Amiri, H. (2012). Essential oils composition and antixodiant properties of three thymus species. *Evid. Based .Comp. Alt. Med.*, 728065.
- Aristatile, B., Numair, A.K.S., Assaf, A.H.A., Pugalendi, K.V. (2011). Pharmacological effect of carvacrol on D-galactosamine-induced mitochondrial enzymes and DNA damage by single-cell gel electrophoresis. *J. Nat. Med.*, 65, 568-577.
- Aristatile, B., Numair, A.K.S., Assaf, A.H.A., Veeramani, C., Pugalendi, K.V. (2015). Protective Effect of Carvacrol on Oxidative Stress and Cellular DNA Damage Induced by UVB Irradiation in Human Peripheral Lymphocytes. *J. Biochem. Mol. Toxic.*, 29, 497-507.

- Aristatile, B., Numair, A.K.S., Veeramani, C., Pugalendi, K.V. (2009). Antihyperlipidemic effect of carvacrol on D-galactosamine induced hepatotoxic rats. *J. Basic. Clin. Physiol. Pharmacol.*, 20, 15-27.
- Arsi, K., Donoghue, A.M., Venkitanarayanan, K., Kollanoor, J.A., Fanatico, A.C., Blore, P.J., Donoghue, D.J. (2014). The Efficacy of the Natural Plant Extracts, Thymol and Carvacrol against *Campylobacter* Colonization in Broiler Chickens. *J. Food. Saf.*, 34, 321-325.
- Arunasree, K.M. (2007). Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breastcancer cell line, MDA-MB 231. *Phytomedicine*, 17, 581-588.
- Aydın, S. and Seker, E. (2005). Effect of an aqueous distillate of *Origanum onites* L. on isolated rat fundus, duodenum and ileum: evidence for the role of oxygenated monoterpenes. *Pharmazie*, 60, 147-150.
- Aydın, S., Öztürk, Y. and Başer, K.H.C. (1993). Ethnopharmacological Studies on *Origanum onites* L. growing in the Aegean region. *10th Symposium on Plants Drugs*, 20-22, İzmir, Türkiye.
- Aydın, S., Öztürk, Y. and Başer, K.H.C. (1996). Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* essential oils for analgesic activity. *Phytother. Res.*, 10, 342-344.
- Aydın, Y., Kutlay, O., Ari, S., Duman, S., Uzuner, K., Aydın, S. (2007). Hypotensive effects of carvacrol on the blood pressure of normotensive rats. *Planta. Med.*, 73, 1365-1371.
- Azizi, Z., Ebrahimi, S., Saadatfar, E., Kamalinejad, M., Majlessi, N. (2012). Cognitive-enhancing activity of thymol and carvacrol in two rat models of dementia. *Behav. Pharmacol.*, 23, 241-249.

- Bao, Y., Gao, Y., Yang, L., Kong, X., Yu, J., Hou, W., Hua, B. (2015). The mechanism of μ -opioid receptor (MOR)-TRPV1 crosstalk in TRPV1 activation involves morphine anti-nociception, tolerance and dependence. *Channels*, 9, 235-243.
- Baser, K.H.C. (2008). Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Curr. Pharm. Des.*, 14, 3106-3120.
- Başer, K.H.C., Özek, T., Kürkçüoğlu, M., Tümen, G. (1994). The Essential Oil of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* of Turkish Origin, *J. Essent. Oil. Res.*, 6, 31-36.
- Baydar, H. (2005). Yayla kekiği (*Origanum minutiflorum*)' nde farklı toplama zamanlarının uçucu yağ içeriği ve uçucu yağ bileşenleri üzerine etkisi. *Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 18, 175-178.
- Baytop, T. (1999). *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi*, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 253-255, Nobel Yayınları, Türkiye, İstanbul.
- Benemei, S., Patacchini, R., Trevisani, M., Geppetti, P. (2015). TRP channels. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 22, 18-23.
- Bernstein, D.I. (2009). The changing epidemiology of rotavirus gastroenteritis. Introduction. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 28, 49.
- Berridge, M. J. (2008). Smooth muscle cell calcium activation mechanisms. *J. Physiol.*, 586, 5047-5061.
- Beyder, A. and Farrugia, G. (2012). Targeting ion channels for the treatment of gastrointestinal motility disorders. *Therap. Adv. Gastroenterol.*, 5, 5-21.
- Boskabady, M.H., Jafari, Z., Pouraboli, I. (2011). The effect of carvacrol on muscarinic receptors of guinea-pig tracheal chains. *Phytother. Res.*, 25, 530-535.

- Bölükbaşı, M.F. (1989). *Fizyoloji ders kitabı (Vücut ısı ve sindirim)*. Ankara Üniversitesi basımevi, Ankara.
- Brunton, L., Knollman, B., Hilal-Dandan, R. (2017). *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics.*, 13 edition. McGraw-Hill. USA. New York.
- Burt, S.A., Fledderman, M.J., Haagsman, H.P., van Knapen, F., Veldhuizen, E.J. (2007). Inhibition of Salmonella enterica serotype Enteritidis on agar and raw chicken by carvacrol vapour. *Int. J. Food. Microbiol.*, 119, 346-350.
- Burt, S.A., Vlieland, R., Haagsman, H.P., Veldhuizen, E.J. (2005). Increase in activity of essential oil components carvacrol and thymol against *Escherichia coli* O157:H7 by addition of food stabilizers. *J. Food Prot.*, 68, 919-926.
- Canbek, M., Uyanoglu, M., Bayramoglu, G., Senturk, H., Erkasap, N., Koken, T., Uslu, S., Demirustu, C., Aral, E., Husnu, C.B.K. (2008). Effects of carvacrol on defects of ischemia reperfusion in the rat liver. *Phytomedicine*, 15, 447-452.
- Capasso, R., Aviello, G., Romano, B., Borrelli, F., de Petrocellis, L., di Marzo, V., Izzo, A.A. (2012). Modulation of mouse gastrointestinal motility by allyl isothiocyanate, a constituent of cruciferous vegetables (Brassicaceae): evidence for TRPA1-independent effects. *Br. J. Pharmacol.*, 165, 1966-1977.
- Carver, C.M., Shapiro, M.S. (2019). Gq-Coupled Muscarinic Receptor Enhancement of KCNQ2/3 Channels and Activation of TRPC Channels in Multimodal Control of Excitability in Dentate Gyrus Granule Cells. *J. Neurosci.*, 39, 1566-1587.
- Catterall, W.A., Goldin, A.L., Waxman, S.G. (2003). International Union of Pharmacology. XXXIX. Compendium of Voltage-Gated Ion Channels: Sodium Channels. *Pharmacol. Rev.*, 55, 575-578.
- Catterall, W. A. (2014). Structure and Function of Voltage-Gated Sodium Channels at Atomic Resolution. *Exp. Physiol.*, 99, 35-51.

- Chan, A.S.L., Pang, H., Yip, E.C.H., Tam, Y.K., Wong, Y.H. (2005). Carvacrol and eugenol differentially stimulate intracellular Ca^{2+} mobilization and mitogen-activated protein kinases in jurkat T-Cells and monocytic THP-1 Cells. *Planta Med.*, 71, 634-639.
- Chavan, P.S. and Tupe, S.G. (2014). Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeasts. *Food Control*, 46, 115-120.
- Chen, W.L., Barszcyk, A., Turlova, E., Deurloo, M., Liu, B., Yang, B.B., Rutka, J.T., Feng, Z.P., Sun, H.S. (2015). Inhibition of TRPM7 by carvacrol suppresses glioblastoma cell proliferation migration and invasion. *Oncotarget*, 30, 16321-16340.
- Cho, S., Choi, Y., Park, S., Park, T. (2012). Carvacrol prevents diet-induced obesity by modulating gene expressions involved in adipogenesis and inflammation in mice fed with high-fat diet. *J. Nutr. Biochem.*, 23, 192-201.
- Cinbilgel, I., Kurt, Y. (2019). Oregano and/or marjoram: Traditional oil production and ethnomedical utilization of Origanum species in southern Turkey. *J. Herbal Med.*, 16, 100257.
- De Luca, A. and Coupar, I.M. (1996). Insights into opioid action in the intestinal tract. *Pharmacol. Ther.*, 69, 103-115.
- Dolphin, A.C., (2016). Voltage-gated calcium channels and their auxiliary subunits: physiology and pathophysiology and pharmacology. *J. Physiol.*, 594, 5369-5390.
- Domaracky, M., Rehak, P., Juhas, S., Koppel, J. (2007). Effects of selected plant essential oils on the growth and development of mouse preimplantation embryos in vivo. *Physiol. Res.*, 56, 97-104.
- Earley, S., Gonzales, A.L. and Garcia, Z.I. (2010). A Dietary Agonist of Transient Receptor Potential Cation Channel V3 Elicits Endothelium-Dependent Vasodilation. *Mol. Pharmacol.*, 77, 612-620.

- Fischer, M.J., Balasuriya, D., Jeggle, P., Goetze, T.A., McNaughton, P.A., Reeh, P.W., Edwardson, J.M. (2014). Direct evidence for functional TRPV1/TRPA1 heteromers. *Pflugers Arch.*, 466, 2229-2241.
- Freo, U. and Ori, C. (2004). Effects of anesthesia and recovery from ketamine racemate and enantiomers on regional cerebral glucose metabolism in rats. *Anesthesiology*, 100, 1172-1178.
- Friedman, M., Henika, P.R., Mandrell, R.E. (2002). Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *C. jejuni*, *E. coli*, *L. monocytogenes* and *S. enteritica*. *J. Food Prot.*, 65, 1545-1560.
- Fujimoto, S., Mori, M., Tsushima, H., Kunimatsu, M. (2006). Capsaicin-induced, capsazepine-insensitive relaxation of the guinea-pig ileum. *Eur. J. Pharmacol.*, 530, 144-151.
- Furukawa, T. (2013). Types of voltage-gated calcium channels: molecular and electrophysiological views. *Curr. Hypertens. Rev.*, 9, 170-181.
- Gilling, D.H., Kitajima, M., Torrey, J.R., Bright, K.R. (2014). Antiviral efficacy and mechanisms of action of oregano essential oil and its primary component carvacrol against murine norovirus. *J. Appl. Microbiol.*, 116, 1149-1163.
- Griffin, C.S., Bradley, E., Dudem, S., Hollywood, M.A., McHale, N.G., Thornbury, K.D., Sergeant G.P. (2016). Muscarinic Receptor Induced Contractions of the Detrusor are Mediated by Activation of TRPC4 Channels. *J. Urol.*, 196, 1796-1808.
- Grizel, A.V., Glukhov, G.S. and Sokolova, O. S. (2014). Mechanisms of Activation of Voltage-Gated Potassium Channels. *Acta Naturae.*, 6, 10-26.
- Guimaraes, A.G., Oliveira, G.F. and Melo, M.S. (2010). Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 107, 949-957.

- Guimaraes, A.G., Xavier, M.A., Santana, M.T. (2012). Carvacrol attenuates mechanical hypernociception and inflammatory response. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, 385, 253-263.
- Guyton, A.C. and Hall, J.E. (2016). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology.*, 13th ed., W.B. Saunders. USA. New York.
- He, L., Mo, H. and Hadisusilo, S. (1997). Isoprenoids Suppress the Growth of Murine B16 Melanomas In Vitro and In Vivo. *J. Nutr.*, 127, 668-674.
- Hohnsbein, J. And Golenhofen, K. (1985). Differentiation of the action potential in the smooth muscle of canine gastric antrum using calcium-inhibitory drugs. *J. Auton. Pharmacol.*, 5, 1-12.
- Holzer, P. (2007). Treatment of opioid-induced gut dysfunction. *Expert .Opin. Investig. Drugs*, 16, 181-94.
- Holzer, P. (2009). Opioid receptors in the gastrointestinal tract. *Regul. Pept.*, 155, 11-17.
- Holzer, P. (2011). TRP channels in the digestive system. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 12, 24-34.
- Honda, G., Yeşilada, E., Tabata, M., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., Takaishi, Y., Tanaka, T. (1996). Traditional medicine in Turkey. VI. Folk medicine in west Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. *J. Ethnopharmacol.*, 53, 75-87.
- Hornig, C.T, Chou, C.T, Sun, T.K, Liang, W.Z, Kuo, C.C, Wang, J.L, Shieh, P., Jan, C.R. (2017). Effect of Carvacrol on Ca²⁺ Movement and Viability in PC3 Human Prostate Cancer Cells. *Chin. J. Physiol.*, 60, 275-283.
- Hotta, M., Nakata, R., Katsukawa, M., Hori, K., Takahashi, S., Inoue, H. (2010). Carvacrol, a component of thyme oil, activates PPAR alpha and gamma, and suppresses COX-2 expression. *J. Lipid. Res.*, 51,132-139.

- Ivana, Y.K. and Barbara, E.E. (2015). Signaling in muscle contraction. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2,7-12.
- Joca, H.C., Vieira, D.C., Vasconcelos, A.P., Araújo, D.A., Cruz, J.S. (2015). Carvacrol modulates voltage-gated sodium channels kinetics in dorsal root ganglia., *Eur. J. Pharmacol.*, 756, 22-29.
- Jukic, M., Politeo, O., Maksimovic, M., Milos, M. (2007). In vitro acetylcholinesterase inhibitory properties of thymol, carvacrol and their derivatives thymoquinone and thymohydroquinone. *Phytother. Res.*, 21, 259-261.
- Kanada, A., Hata, F., Suthamnatpong, N., Maehara, T., Ishii, T., Takeuchi, T., Yagasaki, O. (1992). Key roles of nitric oxide and cyclic GMP in nonadrenergic and noncholinergic inhibition in rat ileum. *Eur. J. Pharmacol.*, 216, 287-292.
- Kaufmann, D., Dogra, A.K. and Wink, M. (2011). Myrtenal inhibits acetylcholinesterase, a known Alzheimer target. *J. Pharm. Pharmacol.*, 63, 1368-1371.
- Kayaalp, S.O. (1993). *Düz Kas Fizyolojisi ve Farmakolojide Kullanılan Ölçüm Yöntemleri*. Türk Farmakoloji Derneği, Eğitim Sempozyumları Dizisi II. Türk Farmakoloji Derneği Yayınları, Ankara.
- Kayaalp, S.O. (1998). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Hacettepe-Taş., Ankara.
- Kayaalp, S.O. (2012). *Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 13 baskı, Pelikan Yayıncılık, Ankara.
- Khalil, A., Kovac, G., Walker, M.C. (2017). Carvacrol after status epilepticus (SE) prevents recurrent SE, early seizures, cell death, and cognitive decline. *Epilepsia*, 58: 263-273.

- Khan, I., Bahuguna, A., Kumar, P., Bajpai, V.K., Kang, S.C. (2018). In vitro and in vivo antitumor potential of carvacrol nanoemulsion against human lung adenocarcinoma A549 cells via mitochondrial mediated apoptosis. *Sci. Rep.*, 8: 144.
- Kırimer, N.A., Tümen, G. and Baser, K.H.C. (1995). Carvacrol-rich plants in Turkey, *Chem. Nat. Compd.*, 31, 37-41.
- Kim, B.J., Lim, H.H., Yang, D.K., Jun, J.Y., Chang, I. Y., Park, S.G., So, I., Stanfield, P.R., Kim, K.W. (2005). Melastatin-type transient receptor potential channel 7 is required for intestinal pacemaking activity. *Gastroenterology*, 129, 1504-1517.
- Kim, B.J., Nam, J.H., Kim, S.J. (2011). Effects of transient receptor potential channel blockers on pacemaker activity in interstitial cells of Cajal from mouse small intestine. *Mol. Cells.*, 32, 153-160.
- Kim, B.J., So, I., Kim, K.W. (2006). The relationship of TRP channels to the pacemaker activity of interstitial cells of Cajal in the gastrointestinal tract. *J. Smooth Muscle. Res.*, 42, 1-7.
- Kim, J.M., Marshall, M.R., Cornell, J.A., Preston, J.F., Wei, C.I. (1995). Antibacterial Activity of Carvacrol, Citral, and Geraniol against *Salmonella typhimurium* in Culture Medium and on Fish Cubes. *J. Food Sci.*, 60, 1364-1368.
- Kohen, R. and Nyska, A. (2002). Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Pathol.*, 30, 620-650.
- Koparal, A.T. and Zeytinoglu, M. (2003). Effects of carvacrol on a human non-small cell lung cancer (NSCLC) cell line. *Cytotechnology*, 43, 149-154.
- Kurt, B.Z., Gazioglu, I., Dag, A., Salmas, R.E., Kayık, G., Durdagi, S., Sonmez, F. (2017). Synthesis, anticholinesterase activity and molecular modeling study of novel

- carbamate-substituted thymol/carvacrol derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, 25, 1352-1363.
- Kurz, A. and Sessler, D.I. (2003). Opioid-induced bowel dysfunction: pathophysiology and potential new therapies. *Drugs*, 63, 649-671.
- Lee, B., Yeom, M., Shim, I., Lee, H., Hahm, D.H. (2020). Inhibitory effect of carvacrol on lipopolysaccharide-induced memory impairment in rats. *Korean J. Physiol. Pharmacol.*, 24, 27-37.
- Liang, W.Z, Lu, C.H. (2012). Carvacrol-induced Ca²⁺ rise and apoptosis in human glioblastoma cells. *Life Sci.*, 90, 703-711.
- Lim, W., Ham, J., Bazer, F.W., Song, G. (2019). Carvacrol induces mitochondria-mediated apoptosis via disruption of calcium homeostasis in human choriocarcinoma cells. *J. Cell. Physiol.*, 234, 1803-1815.
- Luo, Y., Wu, J.Y., Lu, M.H., Shi, Z., Na, N., Di, J.M. (2016). Carvacrol alleviates prostate cancer cell proliferation migration and invasion through regulation of PI3K/Akt and MAPK signaling pathways. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 1469693.
- Lyford, G.L. and Farrugia, G. (2003). Ion channels in gastrointestinal smooth muscle and interstitial cells of Cajal. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 3, 583-587.
- Marchand, F., Perretti, M. and Mahon, S.B. (2005). Role of the immune system in chronic pain. *Nat. Rev. Neurosci.*, 6, 521-532.
- Melo, F.H., Moura, B.A., Sousa, D.P., Vasconcelos, S.M., Macedo, D.S., Fonteles, M.M., Viana, G.S., de Sousa, F.C. (2011). Antidepressant-like effect of carvacrol (5-Isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement of dopaminergic system. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 25, 362-367.

- Melo, F.H., Venâncio, E.T., de Sousa, D.P., de França Fonteles, M.M., de Vasconcelos, S.M., Viana, G.S., de Sousa, F.C. (2010). Anxiolytic-like effect of Carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement with GABAergic transmission. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 2010, 24, 437-443.
- Meents, J.E., Fischer, MJ. and McNaughton, P.A. (2016). Agonist-induced sensitisation of the irritant receptor ion channel. TRPA1. *J. Physiol.*, 594, 6643-6660.
- Menezes, P.M.N., Brito, M.C., de Paiva, G.O., Dos Santos, C.O., de Oliveira, L.M., de Araújo Ribeiro, L.A., de Lima, J.T., Lucchese, A.M., Silva, F.S. (2018). Relaxant effect of Lippia origanoides essential oil in guinea-pig trachea smooth muscle involves potassium channels and soluble guanylyl cyclase. *J. Ethnopharmacol.*, 220, 16-25.
- Nastro, A., Blanco, A.R., Cannatelli, M.A., Enea, V., Flamini, G., Morelki, J., Sudano Roccano, A., Alonzo, V. (2004). Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *FEBS. Lett.*, 230, 191-195.
- Nilius, B. and Szallasi, A. (2014). Transient receptor potential channels as drug targets: from the science of basic research to the art of medicine. *Pharmacol. Rev.*, 66, 676-814.
- Noyan, A. (2004). *Yaşamda ve hekimlikte Fizyoloji*. 15 edition. Metaksan yayıncılık, Ankara.
- Nozawa, K., Kawabata-Shoda, E., Doihara, H., Kojima, R., Okada, H., Mochizuki, S., Sano, Y., Inamura, K., Matsushime, H., Koizumi, T., Yokoyama, T., Ito, H. (2009). TRPA1 regulates gastrointestinal motility through serotonin release from enterochromaffin cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 106, 3408-3413.
- O'Donnell, A.M., Nakamura, H., Tomuschat, C., Marayati, N.F., Puri, P. (2019). Altered expression of KCNG3 and KCNG4 in Hirschsprung's disease. *Pediatr. Surg. Int.*, 35, 193-197.

- Oliveira, I.S., Silva, F.V., Viana, A.F.S.C. (2012). Gastroprotective activity of carvacrol on experimentally induced gastric lesions in rodents. *Naunyn .Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.*, 385, 899-908.
- Orhan, I., Kartal, M., Kan, Y., Sener, B. (2008). Activity of essential oils and individual components against acetyl- and butyrylcholinesterase. *Z. Naturforsch. C.*, 63, 547-553.
- Özdemir, E. ve Bağcivan, İ. (2011). Rho-kinaz enzim sisteminin vasküler kas tonusu üzerine fizyopatolojik etkileri. *Genel Tıp Derg.*, 21, 35-42.
- Parnas, M., Peters, M., Dadon, D., Lev, S., Vertkin, I., Slutsky, I., Minke, B. (2009). Carvacrol is a novel inhibitor of Drosophila TRPL and mammalian TRPM7 channels. *Cell Calcium*, 45, 300-309.
- Peters, M., Trembovler, V., Alexandrovich, A., Parnas, M., Birnbaumer, L., Minke, B., Shohami, E. (2012). Carvacrol together with TRPC1 elimination improve functional recovery after traumatic brain injury in mice. *J. Neurotrauma*, 29, 2831-2834.
- Petkov, G.V. (2009). Ion Channels. In: Pharmacology principles and practice. M. Hacker, Bachmann, K., Messer, W. (Eds.), *Pharmacology principles and practice* içinde (s.387-427). London, Academic press.
- Pilau, M.R., Alves, S.H., Weiblen, R., Arenhart, S., Cueto, A.P., Lovato, L.T. (2011). Antiviral activity of the lippie graveolens (Mexican oregano) essential oil and its main compound carvacrol against human and animal viruses. *Br. J. Microbiol.*, 42, 1616-1624.
- Polli, F.S., Gomes, J.N., Ferreira, H.S., Santana, R.C., Fregoneze, J.B. (2019). Inhibition of salt appetite in sodium-depleted rats by carvacrol: Involvement of noradrenergic and serotonergic pathways. *Eur. J. Pharmacol.*, 5, 119-127.
- R core team (2019). A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

- Rowan, M.P., Bierbower, S.M., Eskander, M.A., Szteyn, K., Por, E.D., Gomez, R., Veldhuis, N., Bunnett, N.W., Jeske, N.A. (2014). Activation of mu opioid receptors sensitizes transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) via β -arrestin-2-mediated cross-talk. *PLoS One*, 9, 93688.
- Saad, A., Fadli, M., Bouaziz, M., Benharref, A., Mezrioui, N.E., Hassani, L. (2010). Anticandidal activity of the essential oils of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* and their synergism with amphotericin B and fluconazol. *Phytomedicine*, 17, 1057-1060.
- Saito, S., Nakatsuka, K., Takahashi, K., Fukuta, N., Imagawa, T., Ohta, T., Tominaga, M. (2012). Analysis of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) in frogs and lizards illuminates both nociceptive heat and chemical sensitivities and coexpression with TRP vanilloid 1 (TRPV1) in ancestral vertebrates. *J. Biol. Chem.*, 287, 30743-30754.
- Sanders, K.M., Ward, S.M. and Koh, S.D. (2014). Interstitial cells: regulators of smooth muscle function. *Physiol. Rev.*, 94, 859-907.
- Sandhiya, S. and Aibor Dkhar, S. (2009). Potassium channels in health, disease & development of channel modulators. *Indian. J. Med. Res.*, 129, 223-232.
- Savelev, S.U., Okello, E.J. and Perry, E.K. (2004). Butyryl- and acetyl-cholinesterase inhibitory activities in essential oils of *Salvia* species and their constituents. *Phytother. Res.*, 18, 315-24.
- Sawabe, T., Chiba, T., Kobayashi, A., Nagasaka, K., Aihara, K., Takaya, A. (2019). A novel soluble guanylate cyclase activator with reduced risk of hypotension by short-acting vasodilation. *Pharmacol. Res. Perspect.*, 7, e00463.
- Schneider, S., Wright, C.M., Heuckeroth, R.O. (2019). Unexpected Roles for the Second Brain: Enteric Nervous System as Master Regulator of Bowel Function. *Annu. Rev. Physiol.*, 81, 235-259.

- Shahbazian, A., Heinemann, A., Schmidhammer, H., Beubler, E., Holzer-Petsche, U., Holzer, P. (2002). Involvement of μ - and κ -, but not δ -, opioid receptors in the peristaltic motor depression caused by endogenous and exogenous opioids in the guinea-pig intestine. *Br. J. Pharmacol.*, 135, 741-750.
- Silva, E.R., de Carvalho, F.O., Teixeira, L.G.B., Santos, N.G.L., Felipe, F.A., Santana, H.S.R., Shanmugam, S., Quintans Júnior, L.J, de Souza Araújo, A.A., Nunes, P.S. (2018). Pharmacological Effects of Carvacrol in In vitro Studies: A Review. *Curr. Pharm. Des.*, 24, 3454-3465.
- Sokmen, M., Serkedjieva, J., Daferera, D., Gulluce, M., Polissiou, M., Tepe, B., Akpulat, H.A., Sahin, F., Sokmen, A. (2004). In vitro antioxidant, antimicrobial and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 3309-3312.
- Sokovic, M., Tzakou, O, Pitarokili, D., Couladis, M. (2002). Antifungal activities of selected aromatic plants growing wild in Greece. *Nahrung*, 46, 312-320.
- Soycan Önenç, S .ve Açıkğöz, Z. (2005). Aromatik Bitkilerin Hayvansal Ürünlerde Antioksidan Etkileri. *Hayvansal Üretim*, 46, 51-55.
- Squecco, R., Garella, R., Luciani, G., Francini, F., Baccari, M.C. (2011). Muscular effects of orexin A on the mouse duodenum: mechanical and electrophysiological studies. *J. Physiol.*, 589, 5231-5246.
- Stuber, T., Eberhardt, M.J., Caspi, Y., Lev, S., Binshtok, A., Leffler, A. (2017). Karvakrolun Differential cytotoxicity and intracellular calcium-signalling following activation of the calcium-permeable ion channels TRPV1 and TRPA1. *Cell. Calcium*. 68, 34-44.
- Suzuki, S., Lis A., Schmitz, C., Penner,R., Fleig, A. (2018). The TRPM7 kinase limits receptor-induced calcium release by regulating heterotrimeric G proteins. *Cell. Mol. Life. Sci.*, 75, 3069-3078.

- Testai, L., Chericoni, S., Martelli, A., Flamini, G., Breschi, M.C., Calderone, V. (2016). Voltage-operated potassium (Kv) channels contribute to endothelium-dependent vasorelaxation of carvacrol on rat aorta. *J. Pharm. Pharmacol.*, 68, 1177-1183.
- Trailovic, S.M., Marjanovic, D.S., Nedeljkovic Trailovic, J., Robertson, A.P., Martin, R.J. (2015). Interaction of carvacrol with the *Ascaris suum* nicotinic acetylcholine receptors and gamma-aminobutyric acid receptors, potential mechanism of antinematodal action. *Parasitol. Res.*, 114, 3059-3068.
- Tsvilovskyy, V.V., Zholos, A.V., Aberle, T., Philipp, S.E., Dietrich, A., Zhu, M.X., Birnbaumer, L., Freichel, M., Flockerzi, V. (2009). Deletion of TRPC4 and TRPC6 in mice impairs smooth muscle contraction and intestinal motility in vivo. *Gastroenterology*, 137, 1415-1424.
- Uğurlu, M. ve Üstü, Y. (2018). Kekiğin Tibbi Kullanımı., *Ankara. Med. J.*, 2, 242-245.
- Ultee, A., Bennik, M.H.J. and Moezelaar, R. (2002). The Phenolic Hydroxyl Group of Carvacrol Is Essential for Action against the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 1561-1568.
- Uyanoglu, M., Canbek, M., Ceyhan, E., Senturk, H. (2011). Preventing organ injury with carvacrol after renal ischemia/reperfusion. *J. Med. Plants. Res.*, 5, 72-80.
- Veldhuis, N.A., Poole, D.P., Grace, M., McIntyre, P, Bunnett, N.W. (2015). The G protein-coupled receptor-transient receptor potential channel axis: molecular insights for targeting disorders of sensation and inflammation. *Pharmacol. Rev.*, 67, 36-73.
- Vimalanathan, S. and Hudson, J. (2012). Anti-Influenza virus activities of commercial oregano oils and their carriers. *J. Appl. Pharmaceut. Sci.*, 2, 214-218.
- Waterman, S.A., Costa, M., Tonini, M. (1992). Modulation of peristalsis in the guinea-pig isolated small intestine by exogenous and endogenous opioids. *Br. J. Pharmacol.*, 106, 1004-1010.

- Weng, H.J., Patel, K.N., Jeske, N.A., Bierbower, S.M., Zou, W., Tiwari, V., Zheng, Q., Tang, Z., Mo, G.C., Wang, Y., Geng, Y., Zhang, J., Guan, Y., Akopian, A.N., Dong, X. (2015). Tmem100 Is a Regulator of TRPA1-TRPV1 Complex and Contributes to Persistent Pain. *Neuron*, 85, 833-846.
- Widberg, C.H., Newell, F.S. and Bachmann, A.W. (2009). Fibroblast growth factor receptor 1 is a key regulator of early adipogenic events in human preadipocytes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 296, 121-131.
- Wong, G.Y. and Gavva, N.R. (2009). Therapeutic potential of vanilloid receptor TRPV1 agonists and antagonists as analgesics: Recent advances and setbacks. *Brain Res. Rev.*, 60, 267-277.
- Wong, R., Turlova, E., Feng, Z.P., Rutka, J.T., Sun, H.S. (2017). Activation of TRPM7 by naltriben enhances migration and invasion of glioblastoma cells. *Oncotarget*, 8, 11239-11248.
- Xu, H., Delling, M., Jun, J.C., Clapham, D.E. (2006). Oregano, thyme and clove-derived flavors and skin sensitizers activate specific TRP channels. *Nat. Neurosci.*, 9, 628-635.
- Yadav, G.D. and Kamble, S.B. (2009). Synthesis of carvacrol by Friedel-Crafts alkylation of o-cresol with isopropanol using superacidic catalyst UDCaT-5. *J. Chem. Technol. Biot.*, 84, 1499-1508.
- Yu, H., Zhang, Z.L., Chen, J., Pei, A., Hua, F., Qian, X., He, J., Liu, C.F., Xu, X. (2012). Carvacrol, a food-additive, provides neuroprotection on focal cerebral ischemia/reperfusion injury in mice. *PLoS One.*, 7, 33584.
- Yu, X., Yu, M., Liu, Y., Yu, S. (2016). TRP channel functions in the gastrointestinal tract. *Semin. Immunopathol.*, 38, 385-396.

- Yuan, S.Y., Brookes, S.J. and Costa, M. (1997). Distension-evoked ascending and descending reflexes in the isolated guinea-pig stomach. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 62, 94-102.
- Zeytinoglu, H., Incesu, Z. and Baser KHC. (2003). Inhibition of DNA synthesis by carvacrol in mouse myoblast cells bearing a human N-RAS oncogene. *Phytomedicine*, 10, 292-299.
- Zeytinoglu, M., Aydın, S., Öztürk, Y., Baser, K.H.C. (1998). Inhibitory effects of carvacrol on DMBA induced pulmonary tumorigenesis in rats. *Acta Pharm. Turcica*, 40, 93-98.
- Zhou, W., Guo, S., Xiong, Z., Liu, M. (2014). Oncogenic role and therapeutic target of transient receptor potential melastatin 7 channel in malignancy. *Expert Opin. Ther. Targets*, 18, 1177-1196.
- http-1. https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-thymus-vulgaris-l-thymus-zygis-loefl-ex-l-aetheroleum_en.pdf (Erişim Tarihi: 22.01. 2020).
- http-2. https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-origanum-majorana-l-herba_en.pdf (Erişim Tarihi: 22.01. 2020).
- http-3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> (Erişim Tarihi: 20.01. 2020).

Ek1. Etik kurul izni



T. C.
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU

Toplantı No: 7 Dosya Kayıt No: 19-32 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde karvakrolun TRP kanallarına etkisi
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI / ADI KURUMU	Prof. Dr. Süleyman AYDIN Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Ecz. Mohamad ALYOUSEF
	Hayvan Türü ve Sayısı	Sprague Dawley / (Dişi/ erkek) 72

DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	Var
-----------------------	----------------------------------	-----

KARAR BİLGİLERİ	Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üy. Prof. Dr. Süleyman AYDIN'ın araştırma yürütücüsü olduğu 07.05.2019 tarih ve 19-19 karar no ile düzeltmesi istenen "İzole sıçan duodenum düz kasları üzerinde karvakrolun TRP kanallarına etkisi " başlıklı etik kurul başvurusu Anadolu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne uygun bulunarak onaylanmasına karar verilmiştir.	
	KARAR NO: 2019-32	KARAR TARİHİ: 24.09.2019

ETİK KURUL ÜYELERİ			
ÜNVANI / ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA
Doç. Dr. Bülent ERĞÜN BAŞKAN	Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Özgür Devrim CAN ÜYE	Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Sinem ILGIN ÜYE	Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Harun BÖCÜK ÜYE	Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Gökhan KUŞ ÜYE	Açıköğretim Fakültesi Sağlık Programları Bölümü	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ ÜYE	Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Yrd. Doç. Dr. Vet. Hek. Mustafa ESER ÜYE	Deney Hayvanları Arş. Ve Uyg. Birimi	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Dr. Kürşat KARTAL ÜYE	Laboratuvar Hayvanları Bilimi Derneği Üyesi	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Vet. Hek. Mustafa SAYIN ÜYE	Serbest	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	