

Prokinetik Ajanların Proksimal ve Distal Kolon Motilitesi Üzerine Etkileri

Effects of Prokinetic Agents on Motility of Proximal and Distal Colon

Mehmet Şerif Arslan¹, Ahmet Altun², Cengiz Güney³, Levent Cankorkmaz³,
İhsan Bağcıvan², Gökhan Köylüoğlu⁴

ÖZET

Amaç: Prokinetik ajanların mide ve ince barsaklarda motiliteyi artırdığı bilinmektedir. Bu ajanların kolon motilitesi üzerine bir çok çalışma olmasına rağmen, konu henüz tam anlamıyla açıklanamamıştır. Bu çalışmanın amacı, prokinetik ajanların proksimal ve distal kolon kaslarının aktivitesi üzerindeki etkilerini incelemektir.

Yöntemler: Çalışmada her grup için 8 toplam 40 adet Winstar Albino türü erkek rat kullanıldı. Ratlar; kontrol, eritromisin, ampisilin, domperidon ve metoklopramid olarak 5 gruba ayrıldı. Uygun dozlarda bu ilaçlar 3 gün boyunca orogavajla ilaçlar ratlara verildi. Kontrol grubuna sadece serum fizyolojik verildi. Ratlar sakrifiye edilerek proksimal ve distal kolonları eksize edildi. Kolonik segmentler 10 ml'lik organ banyosuna sirküler kas istikametinde asılarak, spontan kontraksiyonlar bir poligraf yardımı ile kaydedildi. Kontraksiyonların amplitüd (% KCl) ve frekansındaki (sayı/dk) değişiklikler ortama antagonistler eklenmeden önce ve sonra ayrı ayrı analiz edildi. Organ banyosuna L-NNA, indometazin, nimesulid, hexamethonium ve tetradotoxin, antagonistleri konularak antagonist cevap ilişkisi elde edildi.

Bulgular: Proksimal ve distal kolondan alınan doku örneklerine antagonistler ekleyerek oluşan değişikliklerin mekanizmasının incelemesinde hem proksimal kolon hem de distal kolon dokusunda, her dört grupta L-NNA, indometazin ve nimesulid, amplitüd değerlerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak artırırken, heksametonium ve tetradotoxin ile değişiklik saptanmadı. Frekans cevapları incelendiği zaman sadece Eritromisin grubunun frekanslarının kontrol grubundan istatistiksel olarak yüksek olduğu saptandı.

Sonuç: Sonuç olarak, GIS'de motilite artışı gerektiren durumlarda motiliteyi artırmak amacı ile eritromisin, ampisilin, domperidon ve metoklopramid kullanımı faydalı olabilir. Ayrıca bu ilaçları nitrik oksit sentetaz inhibitörleri ve prostaglandin sentez inhibitörleri ile birlikte vermenin etkilerinin artışına katkısı olabilir.

Anahtar kelimeler: Prokinetik ajanlar, kolon motilitesi, postoperatif ileus

ABSTRACT

Objective: It is known that prokinetic agents increase the motility of stomach and intestine. Although there are many studies on the motility of colon, its mechanism is not well clarified. The aim of this study to investigate the effects of prokinetic agents on proximal and distal colon tissues.

Methods: Forty male wistar albino rats were allocated into five groups. Rats divided five group as a control, erythromycin, ampicillin, domperidon and metoclopramide. Before taking the tissue samples, this four agents were given by oral gavage, three times a day. The proximal and distal colon tissues were taken after the sacrifice of rats, the colonic segments were mounted in 10 ml organ baths in the direction of circular muscles, and the contractions were recorded by a polygraph. The changes in the amplitude (% of KCl) and frequency (number/min) of contractions were analyzed before and after the addition of antagonists. The antagonist responses were taken by L-NNA, indomethacin, nimesulid, hexamethonium and tetradotoxin.

Results: While investigating the mechanism of the contraction changes, L-NNA, indomethacin, nimesulid significantly increased the amplitude of both proximal and distal colon spontaneous contractions compared with control group but hexamethonium and tetradotoxin did not. According to the frequency responses, the erythromycin group responses were significantly higher than control group.

Conclusions: Erythromycin, ampicillin, domperidon and metoclopramide may be useful to increase the motility of gastrointestinal system. On the other hand, the use of these agents in combination with nitric oxide synthase inhibitors and prostaglandin synthesis inhibitors may increase the effects of these agents.

Key words: Prokinetic agents, colon, motility, amplitude, frequency

¹ Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi AD. Diyarbakır, Türkiye

² Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji AD. Sivas, Türkiye

³ Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi AD. Sivas, Türkiye

⁴ Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi AD. İzmir, Türkiye

Yazışma Adresi /Correspondence: Mehmet Şerif Arslan,

Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahi Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye Email: mserif.arslan@dicle.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 07.02.2016, Kabul Tarihi / Accepted: 03.03.2016

Copyright © Dicle Tıp Dergisi 2016, Her hakkı saklıdır / All rights reserved

GİRİŞ

Pediyatrik yaş gruplarında prokinetik ajanların (PKA) kullanımı son 2 dekatta dramatik olarak artmıştır. Gastroözofajial reflü (GÖR), gastroparezi, kronik kabızlık (KK), postoperatif ileus (POİ), fonksiyonel dispepsi gibi barsak motilitesinin azaldığı hastalıklarda sıklıkla kullanılan ajanlardır [1].

PKA; düz kas kasılmasını artırarak mide boşalımını ve gastrointestinal geçişi hızlandırmak için kullanılan heterogenez bir ilaç grubudur [2]. PKA'lardan, motilin reseptörü agonisti olan eritromisin ile dopamin antagonistleri olan domperidon ve metoklopramid en çok kullanılan ilaçlardır [3]. Ampisilin ise geniş spektrumlu semi-sentetik bir penisilindir ve ince barsak motilitesinin desteklemektedir [4].

Litaratürde, kullanacağımız her dört ajanının kolon üzerine etkileriyle ilgili sınırlı ve az sayıda çalışmaya ulaşılabildi. Çalışmamızda; deneysel olarak eritromisin, ampisilin, domperidon ile metoklopramid uygun doz ve aralıklarda ratlara verilerek proksimal ve distal kolon motilitesi üzerine etkilerinin olup olmadığını saptamayı amaçladık. Böylece kolonu tutan kronik ve tedavi maliyetli hastalıklar olan KK, kısa barsak sendromu, POİ, inflamatuvar barsak hastalıkları gibi hastalıkların tedavisinde PKA'ların veya antagonistlerinin kullanılabilceğini düşündük.

YÖNTEMLER

Çalışmamızda Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı koşullarında bakımı yapılan, ağırlıkları 200-400 gr olan, 40 adet erişkin Winstar Albino türü erkek rat kullanıldı. Çalışmamızda 5 grup oluşturuldu. Kontrol grup ile beraber 4 adet ilaç grubu oluşturuldu.

Doku örnekleri alınmadan üç gün önce kontrol grubuna serum fizyolojik (SF), eritromisin grubuna; eritromisin süsp (Erythrocin ped. Süspansiyon, 100 mg/5ml, Abfar) 50 mg/kg/gün, ampisilin grubuna; ampisilin süsp (Ampisina süspansiyon 125 mg/5ml, Mustafa Nevzat) 50 mg/kg/gün, domperidon grubuna; domperidon süsp (Motilium süspansiyon 1mg/1ml, Janssen-Cilag) 30 mg/kg/gün, metoklopramid grubuna; metoklopramid süspansiyon (Metpamid oral solüsyon 1mg/1ml, Yeni) 30 mg/kg/gün, günde üç kez olacak şekilde orogastrik gavajla verildi.

Üçüncü günün sonunda ratlar servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Abdomen, midline insizyon ile açıldı. Proksimal ve distal kolon çıkarılıp içerisinde %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılan Krebs-bikarbonat solüsyonu (KBS) (mM içerisinde: NaCl 120; KCl 4.6; CaCl₂ 2.5; MgCl₂ 1.2; NaHCO₃ 22; NaH₂PO₄ ve glukoz 11.5)'un içine konuldu. Proksimal ve distal kolondan tam kat segmentler alındı ve 37°C de, gazlandırılmış KBS ile hazırlanan doku banyosuna sirküler kas istikametinden yerleştirildi. 10 ml'lik doku banyosunda her iki ucu izometrik transdüser (Grass FT 03, Quincy, MA, USA) asılarak 1-1,5 gr yük yüklendi. Dokular stabil bazal kasılma eğrileri elde edilene kadar 30 dakika bekletildi.

KCl kasılma yanıtları

Kontrol ve deney gruplarından alınan proksimal ve distal kolon dokusu antagonist ilaçlar verilmeden önce, 80mM potasyum klorür (KCl) ile doku banyosunda muamele edildi. Kasılma cevapları gram olarak ifade edildi. Bu sonuçlar referans değer olarak kabul edildi.

Amplitüd ve frekans yanıtları

KCl cevaplarını takiben kontrol, eritromisin, ampisilin, domperidon ve metoklopramid gruplarının spontan kasılmalarının amplitüdü kaydedildi ve 80 mM KCl cevaplarının yüzdesi olarak hesaplanarak, grafikleri çizildi. Daha sonra ortama NOS inhibitörü NG-nitro-L-arginin (L-NNA, 10-5M), non-selektif COX inhibitörü indometazin (10-6M), selektif COX-2 inhibitörü nimesulid (10-6 M), otonomik ganglion blokörü heksametonyum (10-4 M) ve Na kanal blokörü tetradotoksin (TTX, 10-7 M) eklenerek kas segmentleri 30 dakika bekletildi. İzometrik gerilme (Grass Model 79 E - USA) poligrafi ile kaydedildi. Tüm deneyler beş grup için de ayrı yapıldı.

Deney ve kontrol gruplarından alınan proksimal ve distal kolon dokularının, düz kas spontan kasılmalarının amplitüdü ortamda antagonist ilaçların olup olmasına göre, alınan cevaplar KCl cevabı ile karşılaştırılıp yüzde olarak hesaplandı.

Frekans Yanıtları

KCl cevaplarını takiben kontrol, eritromisin, ampisilin, domperidon ve metoklopramid gruplarının

spontan kasılmalarının amplitüdleri kaydedildi ve 80 mM KCl cevaplarının %'si olarak hesaplanarak, grafikleri çizildi. Daha sonra ortama NOS inhibitörü NG-nitro-L-arginin (L-NNA, 10-5M), non-selektif COX inhibitörü indometazin (10-6M), selektif COX-2 inhibitörü nimesulid (10-6 M), otonomik ganglion blokörü heksametyum (10-4 M) ve Na kanal blokörü tetradotoksin (10-7 M) eklenerek kas segmentleri 30 dakika bekletildi. İzometrik gerilme (Grass Model 79 E - USA) poligrafı ile kaydedildi. Tüm deneyler beş grup için de ayrı ayrı yapıldı.

Deney ve kontrol gruplarından alınan proksimal ve distal kolonun, düz kas spontan kasılmalarının frekansları (sayı/10 dakika) ortamda antagonist ilaçların olup olmamasına göre 10 dakika boyunca sayı olarak hesaplandı.

İstatistiksel analiz

Bütün veriler ortalama ve \pm standart hata olarak hesaplandı ve sunuldu. Gruplar t testi ve Newman Keuls testinin takip ettiği ANOVA'nın genel lineer

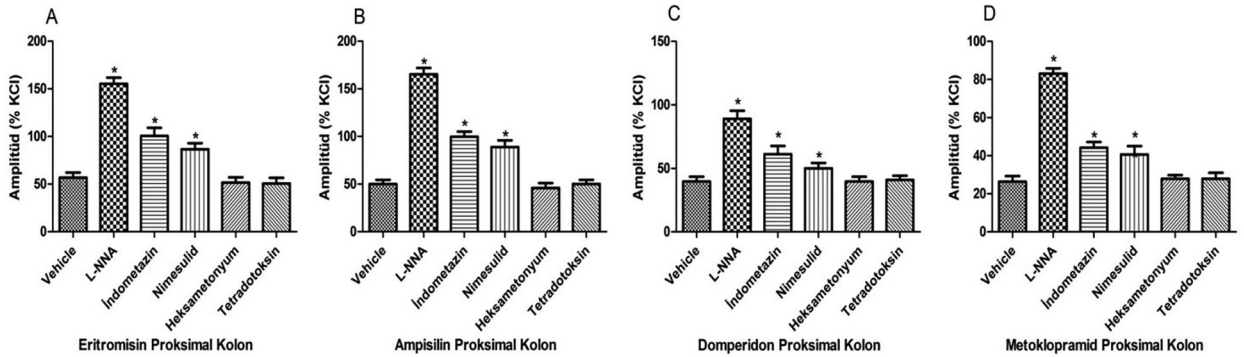
modeli kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı. $P < 0,05$ altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Kontrol, Eritromisin, Ampisilin, Domperidon ve Metoklopramid gruplarında rat proksimal ve distal kolon düz kaslarının 80 mM KCl ile kasılma cevapları arasında anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$).

Proksimal kolon amplitüd cevapları

Proksimal kolon dokusundaki amplitüd değerlerindeki değişiklikler ortamda L- NNA, (10-5 M), indometazin (10-6 M), nimesulid (10-6 M), heksametyum (10-4 M) ve tetradotoksin (10-7 M) varlığında araştırıldı. Her dört grupta da L-NNA, indometazin ve nimesulid amplitüd değerlerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak artırdı ($p < 0.05$). Ancak heksametyum ve tetradotoksin anlamlı bir değişiklik yapmadı. (Şekil 1-A, B,C,D).



Şekil 1. Ratlardaki bütün gruplardan alınan proksimal kolon kas spontan kasılmaları amplitüdü üzerine Krebs Bikarbonat Solusyonu (vehicle), L-NNA, indometazin, nimesulid, heksametyum ve tetradotoksin ile oluşan değişiklikler. A- Eritromisin, B- Ampisilin, C- Domperidon, D- Metoklopramid

Bulgular 8 deneyin ortalaması ve \pm standart sapması olarak sunuldu. * $p < 0.05$ Kontrol grubu ile arasındaki fark anlamlı.

Distal kolon amplitüd cevapları

Distal kolon dokusundaki amplitüd değerlerindeki değişiklikler L-NNA (10-5 M), indometazin (10-6 M), nimesulid (10-6 M), heksametyum (10-4 M) ve tetradotoksin (10-7 M) varlığında araştırıldı. Her beş grupta da L-NNA, indometazin ve nimesulid amplitüd değerlerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak artırdı ($p < 0.05$). Ancak heksametyum ve tetradotoksin anlamlı bir değişiklik yapmadı (Şekil 2- A,B,C,D).

Frekans cevapları

İn vivo olarak oral Eritromisin uygulanması hem proksimal hem de distal kolon dokularında frekans cevaplarını kontrol grubuna göre anlamlı olarak artırdı ($p < 0.05$), ancak Ampisilin, Domperidon ve Metoklopramid grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 3- A, B).

Proksimal kolon frekans cevapları

Proksimal Kolon dokusundaki frekans değerlerindeki değişiklikler ortamda L- NNA (10-5 M), indometazin (10-6 M), nimesulid (10-6 M), heksametonyum (10-4 M) ve tetradotoksin (10-7 M) varlığında araştırıldı. Her dört grupta da L-NNA, indometazin ve nimesulid frekans değerlerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak artırdı ($p < 0.05$).

Ancak heksametonyum ve tetradotoksin anlamlı bir değişiklik yapmadı (Şekil 4- A, B,C,D).

Distal kolon frekans cevapları

Distal kolon dokusundaki amplitüd değerlerindeki değişiklikler ortamda L-NNA (10-5 M), indometazin (10-6 M), nimesulid (10-6 M), heksametonyum (10-4 M) ve tetradotoksin (10-7 M) varlığında araştırıldı. Her dört grup da L-NNA frekans değerlerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak artırdı ($p < 0.05$). Ancak indometazin, nimesulid, heksametonyum ve tetradotoksin anlamlı bir değişiklik yapmadı (Şekil 5-A B,C,D).

TARTIŞMA

Kolon hareketlerinin fizyolojisi GİS'in diğer bölgelerine nazaran daha az bilinmektedir. Kolonun proksimali sadece sempatik sinirlerle innerve olurken, distalinde sakral sistemin de katıldığı çift innervasyon vardır. Bu nedenle proksimal kolonda oldukça yavaş olan peristaltik hareketler distale gelindiğinde daha güçlü bir hal alır. Kolon hareketlerini, en çok yeme işlevi uyarıldığı bilinmektedir [5].

Kolonun dismotiliteyle seyreden hastalıkları; KK, POİ, fonksiyonel intestinal obstrüksiyon (FİO) ile seyreden grup olarak sıralanabilir. FİO bozuklukları; Hipoganglionozis, nöronal intestinal displazi, ganglion hücrelerinin immatüritesi [6]. PKA, gastrik boşalmayı ve intestinal geçişi arttırmak için düz kas kasılmalarını stimüle eden geniş bir ilaç sınıfıdır. PKA'lar klinikte; özellikle mide boşalmasını artırmak amacıyla GÖR ve gastropareziste kullanılmaktadır [1]. Cerrahi sonrası gastroparezi, gastrik çıkış obstrüksiyonu olmaksızın postprandial bulantı, kusma ve gastrik atoni ile karakterize komplike bir bozukluktur. Hastalarda ciddi kilo kaybı olabilir ki bu durumda hospitalize edilip uzun dönem total parenteral nütrisyon tedavisine gerek duyulabilir [7].

PKA'nın, kolon üzerine etkilerinin olup olması ile ilgili yapılan çalışmalar kısıtlıdır. Sadece KK ve POİ ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. KK toplumunda oldukça sık görülen, sıklığı kullanılan tanımlara göre farklılık göstermekle birlikte %2-28 arasında değişen bir GİS problemi [8]. Yakın bir zamanda, organik motilite bozuklukları (yavaş geçişli kabızlık, obstrükte defekasyon) tedaviye dirençli çocukluk çağı kabızlıklarının bir nedeni olarak tanımlanmıştır ve bu bozuklukların tedavisinin komplike olduğu saptanmıştır. Klasik ilaç tedavisine yanıt vermeyen kronik kabızlığı olan çocuklarda altta yatan bir kolon nöromuskuler anormalliğinin araştırılması için, manometrik değerlendirme gereklidir [9].

Bizim çalışmamızda 5 grup oluşturulup, 4 farklı ajan kontrol grubuyla karşılaştırılıp proksimal ve distal kolon motilitesinde değişiklik yapıp yapmadıklarına bakıldı. Kolon düz kası spontan kasılmalarının değerlendirilmesinde kontrol grubunda, proksimal kolon amplitüdü, distal kolon ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha az bulundu. Bu durum distal kolon spontan kasılma amplitüdünün oluşmasında, tonik inhibitör kontrolün daha az etkin olduğunu veya tonik eksitator etkinin daha baskın olduğunu göstermektedir. Bu sonuç Takashi ve ark.'ın [10] ileri sürdüğü, distal kolonun proksimal kolondan daha az nitrik oksit sentaz (NOS) içeren sinirler içerdiği bulgusu ile uyumlu bir sonuçtur.

L-NNA, NO oluşumunda rol alan NOS enzimini inhibe eden bir kimyasal maddedir. Çalışmamızda hem proksimal kolon hem de distal kolon dokularında amplitüd kasılmaları dört grupta da L-NNA tarafından artırılmıştır. Bu sonuç proksimal kolon ve distal kolon dokularında amplitüd oluşumunda NO'nin azaltıcı bir fonksiyonu olduğunu gösterir. Prokinetik ajanların uygulanması durumunda amplitüde meydana gelen azalma, artan NO ile ilişkili olabilir. Çünkü L-NNA, proksimal kolonda da distal kolonda da amplitüd cevaplarını en fazla artıran antagonist olmuştur. Bu bulgular kullanılan ajanların etki mekanizmalarında en belirgin şekilde NO sistemini kullandıklarını, bu sisteme en az etki eden ajanın da metoklopramid olduğunu düşündürmektedir.

Prokinetik ajanlarla sıçanların in-vivo olarak beslendiği çalışmamızda; kolonda oluşan motilite değişiklikleri ve bu motilite değişikliklerinin mekanizmaları araştırıldı ve aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı.

Kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman Eritromisin, Ampisilin Domperidon ve Metoklopramid gruplarının amplitüd değerlerinin hem proksimal kolon hem de distal kolonda anlamlı şekilde daha düşük olduğu saptandı. Ampisilin, Domperidon ve Metoklopramid gruplarının frekans değerleri kontrol grubundan anlamlı şekilde daha düşük olmasına rağmen, Eritromisin grubunun frekans değerleri kontrol grubunun frekans değerlerinden anlamlı şekilde daha yüksekti. Hem Proksimal kolon, hem de distal kolonda her dört grupta da; LNNA, indometazin ve nimesulid amplitüd yanıtlarını anlamlı şekilde artırırken, heksametonyum ve tetradotoksin amplitüd yanıtlarını değiştirmedi. Proksimal kolonda LNNA, indometazin ve nimesulid frekans yanıtlarını anlamlı şekilde artırırken, heksametonyum ve tetradotoksin frekans yanıtlarını değiştirmedi. Distal kolonda ise sadece LNNA frekans yanıtlarını anlamlı şekilde artırırken indometazin, nimesulid, heksametonyum ve tetradotoksin frekans yanıtlarında herhangi bir değişikliğe neden olmadı.

Bu sonuçlar;

1. NO ve prostaglandinlerin proksimal ve distal kolonda amplitüd, proksimal kolonda frekans oluşumunda azaltıcı bir rolünün olduğunu, distal kolon frekanslarının oluşumunda ise muhtemelen sadece NO sisteminin etkili olabileceğini düşündürdü.

2. Yine bu sonuçlar uygulanan prokinetik ajanların amplitüd üzerindeki etkilerini direkt olarak kolon üzerinden değil, muhtemelen gastrointestinal sistemin daha üst kısımları üzerinden etki ederek gösteriyor olabileceğini, bu etkiye de baskın sistemler olan NO ve prostoglandin sistemlerinin aracılık ediyor olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, GİS’de motilite artışı gerektiren durumlarda motiliteyi artırmak amacı ile eritromisin, ampisilin, domperidon ve metoklopramid kullanımını faydalı olabilir. Ayrıca bu ilaçları NOS inhibi-

törleri ve PG sentez inhibitörleri ile birlikte vermenin etkilerinin artışına katkısı olabilir. Bu çalışma in vitro olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın benzerlerinin kontrollü klinik çalışmalarla desteklenmesine gerek vardır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri komisyonu tarafından T-392 numaralı Tıpta Uzmanlık Tez Projesi olarak desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Curry JJ, Lander TD, Stringer MD. Review article: Erythromycin as a prokinetic agent in infants and children. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:595-603.
2. Mt-Isa S, Tomlin S, Sutcliffe A, et al. Prokinetics prescribing in paediatrics: evidence on cisapride, domperidone, and metoclopramide. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015;60:508-514.
3. Acosta A, Camilleri M. Prokinetics in gastroparesis. *Gastroenterol Clin North Am* 2015;44:97-111.
4. Gomez R, Fernandez S, Aspirot A, et al. Effect of amoxicillin/ clavulanate on gastrointestinal motility in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;54:780-784
5. Dinning PG, Carrington EV, Scott SM. Colonic and anorectal motility testing in the high-resolution era. *Curr Opin Gastroenterol* 2016;32:44-48.
6. Başaklar AC. Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları. Palme Yayıncılık, 2006, Cilt 1;605-611.
7. Dong K, Li B, Guan QL, Huang T. Analysis of multiple factors of postsurgical gastroparesis syndrome after pancreaticoduodenectomy and cryotherapy for pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2004;10:2434-2438 .
8. Loening-Baucke V. Functional fecal retention in childhood. *Practical Gastroenterology* 2002;26:13-25.
9. Southwell BR, King SK, Hutson JM. Chronic constipation in children: organic disorders are a major cause. *J Paediatr Child Health* 2005;41:1-15.
10. Banner SE, Smith MI, Bywater D, et al. Increased defecation caused by 5-HT4 receptor activation in the mouse. *Eur J Pharmacol* 1996;308:181-186.