

T.C
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SİTİDİN 5' TRİFOSFAT'IN ÜROGENİTAL, GASTROİNTESTİNAL
SOLUNUM SİSTEM DÜZ KASLARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Özge GÜLDALİ DUTLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Kansu BÜYÜKAFŞAR

MERSİN-2011

T.C
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SİTİDİN 5' TRİFOSFAT'IN ÜROGENİTAL, GASTROİNTESTİNAL
SOLUNUM SİSTEM DÜZ KASLARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Özge GÜLDALİ DUTLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Kansu BÜYÜKAŞAR

Bu tez Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP-SBE- F
(ÖG) 2010-2 YL nolu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No: 179

MERSİN-2011

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “Sitidin 5’trifosfat’ın Ürogenital, Gastrointestinal Solunum Sistem Düz Kasları Üzerindeki Etkileri” adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24/01/2011

Prof. Dr. Kansu BÜYÜKAFŞAR
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı

Yrd. Doç Dr. İsmail ÜN
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. M. Ata SEÇİLMİŞ
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunu 10.02.2011 tarih ve 2011/52 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU

TEŞEKKÜR

Farmakoloji eğitimine başladığım günden bu yana, sahip olduğu bilgi ve tecrübelerini büyük bir sabırla benimle paylaşmaya çalışan, danışman hocam Sn. Prof. Dr. Kansu BÜYÜKAŞAR'a;

Her türlü destek ve katkıları için Anabilim Dalımız öğretim üyeleri Sn. Yrd. Doç. Dr. İsmail ÜN ve Sn. Yrd. Doç. Dr. R. Nalan TİFTİK'e;

Yüksek lisansa başladığım günden bu yana iyi ve kötü günlerimde bana destek olan birlikte çalıştığım, yardım ve desteklerini her zaman hissettiğim asistan arkadaşlarım Sn. Arş. Gör. A. Hakan KURT, Sn. Arş. Gör. Mehtap PEKTAŞ ve Sn. Arş. Gör. A. Sencer YURTSEVER'e;

Asistanlığım süresince benden manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen tüm enstitü yetkililerine,

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi lisansüstü eğitimim boyunca da her zaman yanımda ve bana destek olan Anneme, Babama, Kardeşlerim Bilge ve Sevim'e, ayrıca eşimin ailesine, şu anda anlamasa da çok sıkıntılı dönemlerimde dünyaya gelerek bana büyük destek olan sevgili yeğenim Çağan Uras'a, sonsuz sabır ve destekleri için eşim Çağdaş DUTLU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xv
ÖZET	xviii
ABSTRACT	xix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Nükleotidler.....	5
2.1.1.Nükleotidlerin Bileşenleri.....	5
2.1.1.1. Nükleotidlerdeki Azotlu Bazlar	6
2.1.1.2. Nükleotidlerdeki Pentozlar	7
2.1.1.3. Nükleotidlerdeki Fosfatlar	8
2.1.2. Nükleozidler	9
2.1.3. Nükleotid Metabolizması	10
2.1.3.1. De novo Pürin Nükleotid Sentezi.....	11
2.1.3.1.1. 5-Fosforibozil-1-Pirofosfat Sentezi.....	11
2.1.3.1.2. 5'-Fosforibozilamin Sentezi.....	11
2.1.3.1.3. İnozin Monofosfat Sentezi	12
2.1.3.1.4. İnozin Monofosfat'ın Adenozin Monofosfat ve Guanozin Monofosfat'a Dönüşmesi	12
2.1.3.1.5. Nükleozid Monofosfatların, Di ve Trifosfatlara Çevrilmesi	12
2.1.3.1.6. Pürin Nükleotidlerinin Yıkılımı.....	12
2.1.3.2. Pirimidin Sentezi	13
2.1.3.2.1. Karbamoil Fosfat Sentezi.....	13

2.1.3.2.2. Orotik asit sentezi	13
2.1.3.2.3. Pirimidin Nükleotidi Oluşumu	14
2.1.3.2.4. Üridin Trifosfat ve Citidin Trifosfat Sentezi	14
2.1.3.2.5. Pirimidinlerin Yıkılımı	14
2.1.4. Nükleotidlerin Fonksiyonları	14
2.1.4.1. Nükleik Asitlerin Alt Ünitesi Olarak Nükleotidler	15
2.1.4.2. Nükleotidler, Hücrede Kimyasal Enerjiyi Taşırlar.....	16
2.1.4.3. Enzim Kofaktörleri Olarak Nükleotidler.....	16
2.1.4.4. Hüresel Sinyal İleti Mekanizmasında Nükleotidlerin Rolü	17
2.1.4.5. Pürinler ve Onların Nükleotid ve Nükleozid Formları Hücre İçi ve Hücreler Arasındaki İletişime de Önemli Katkıları Sağlarlar	17
2.2. Pürin ve Pirimidin Reseptörleri	18
2.2.1. P1 (Adenozin) Reseptörleri	21
2.2.1.1. Adenozin	21
2.2.1.2. Adenozinin Sentezi, Salınması ve Yıkılımı	22
2.2.1.3. Adenozin Reseptör Alt Tipleri	24
2.2.2. P2 Reseptörleri	28
2.2.2.1. Adenozin Trifosfat ve Diğer Nükleotidlerin Salınımı, Depolanması, ve Ekstrasellüler Hidrolizi	28
2.2.2.2. P2X Reseptörleri	30
2.2.2.3. P2Y Reseptörleri	33
2.3. Pürinerjik Reseptörlerin Sitidin Trifosfata Duyarlılığı	36
2.4. Ürogenital, Gastrointestinal ve Solunum Sistemlerinde Pürinerjik Reseptörlerin Rollerini	36
2.4.1. Gastrointestinal Sistemde Pürinerjik Reseptörlerin Rollerini.....	37
2.4.2. Ürogenital Sistemde Pürinerjik Reseptörlerin Rollerini.....	37
2.4.3. Solunum Sisteminde Pürinerjik Reseptörlerin Rollerini.....	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	41
3.1. Deney Hayvanı.....	41
3.2. Deneyde Kullanılan Kimyasallar	41
3.3. Krebs Solüsyonunun ve Organ Banyosunun Hazırlanması	41
3.4. Trakeanın, Gastrik Fundusun ve Mesanenin Çıkarılması ve Hazırlanması.....	42

3.5. Organ Banyosu Deneyleri	42
3.5.1. Deney Planı.....	43
3.6. Verilerin Analizi	45
4. BULGULAR	46
4.1. CTP'nin İzole Sıçan Gastrik Fundusu Üzerine Etkileri.....	46
4.1.2. Non-selektif P2 Reseptör Antagonisti Suraminin CTP Kasılmalarına Etkili.....	47
4.1.3. P1 Reseptör Antagonisti 8-(sülfo) Fenil Teofilinin CTP Kasılmalarına Etkileri..	47
4.1.4. P2Y Reseptör Antagonisti Reactive Blue 2'nin CTP Kasılmalarına Etkileri.....	48
4.1.5. P2X ₁ Reseptör Antagonisti NF 449'un CTP Kasılmalarına Etkileri	49
4.1.6. P2X ₃ Reseptör Antagonisti NF 110'un CTP Kasılmalarına Etkileri	50
4.1.7. P2X ₇ Reseptör Antagonisti Brilliant Blue G'nin CTP Kasılmalarına Etkileri.....	51
4.1.8. Suramin'in, Karbakol ile Ön Kastırılmış Gastrik Fundus Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi.....	52
4.1.9. 8-(sülfo) Fenil Teofilin'in, Karbakol ile Ön Kastırılmış Gastrik Fundus Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi.....	53
4.1.10. Reaktif Blue 2'nin, Karbakol ile Ön Kastırılmış Gastrik Fundus Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi.....	54
4.1.11. NF 449'un Karbakol ile Ön Kastırılmış Gastrik Fundus Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi.....	55
4.1.12. NF 110'un Karbakol ile Ön Kastırılmış Gastrik Fundus Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi.....	56
4.1.13. Brilliant Blue G'nin Karbakol ile Ön Kastırılmış Gastrik Fundus Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi.....	56
4.2. Trakea Bulguları.....	57
4.2.1. CTP'nin İzole Sıçan Trakeası Üzerine Etkileri.....	57
4.2.2. Non-selektif P2 Reseptör Antagonisti Suraminin Trakeadaki CTP Kasılmalarına Etkileri.....	58
4.2.3. P1 Reseptör Antagonisti 8-(sülfo) Fenil Teofilinin Trakeadaki CTP Kasılmalarına Etkileri.....	59
4.2.4. P2Y Reseptör Antagonisti Reactive Blue 2'nin CTP'nin İzole Sıçan Trakeadaki CTP Kasılmalarına Etkileri	60

4.2.5. P2X ₁ Reseptör Antagonisti NF 449'un Trakeadaki CTP Kasılmalarına Etkileri..	61
4.2.6. P2X ₃ Reseptör Antagonisti NF 110'un Trakeadaki CTP Kasılmalarına Etkileri..	61
4.2.7. P2X ₇ Reseptör Antagonisti Brilliant Blue G'nin Trakeadaki CTP Kasılmalarına Etkileri	62
4.2.8. Suramin'in Karbakol ile Ön Kastırılmış Trakea Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi.....	63
4.2.9. 8-(sülfo) Fenil Teofilin'in Karbakol ile Ön Kastırılmış Trakea Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi.....	64
4.2.10. Reactive Blue 2'nin Karbakol ile Ön Kastırılmış Trakea Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi.....	65
4.2.11. NF 449'un Karbakol ile Ön Kastırılmış Trakea Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi.....	66
4.2.12. NF 110'un Karbakol ile Ön Kastırılmış Trakea Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi.....	67
4.2.13. Brilliant Blue G'nin Karbakol ile Ön Kastırılmış Trakea Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi.....	68
4.3. Mesane Bulguları.....	69
4.3.1. CTP'nin İzole Sıçan Mesanesi Üzerine Etkileri.....	69
4.3.2. Non-selektif P2 Reseptör Antagonisti Suramin'in Mesanedeki CTP Kasılmalarına Etkileri	70
4.3.3. P1 Reseptör Antagonisti 8-(sülfo) Fenil Teofilin'in P2X ₁ Mesanedeki CTP Kasılmalarına Etkileri.....	71
4.3.4. P2Y Reseptör Antagonisti Reactive Blue 2'nin Mesanedeki CTP Kasılmalarına Etkileri.....	72
4.3.5. P2X ₁ Reseptör Antagonisti NF 449'un Mesanedeki CTP Kasılmalarına Etkileri.	73
4.3.6. P2X ₃ Reseptör Antagonisti NF 110'un Mesanedeki CTP Kasılmalarına Etkileri	74
4.3.7. P2X ₇ Reseptör Antagonisti Brilliant Blue G'nin Mesanedeki CTP Kasılmalarına Etkileri	75
4.3.8. Suramin'in Karbakol ile Ön Kastırılmış Mesane Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Cevaplara Etkisi.....	76

4.3.9. 8-(sülfo) Fenil Teofilin'in Karbakol ile Ön Kastırılmış Mesane Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Cevaplara Etkisi.....	77
4.3.10. Reactive Blue 2'nin Karbakol ile Ön Kastırılmış Mesane Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Cevaplara Etkisi.....	78
4.3.11. NF 449'un Karbakol ile Ön Kastırılmış Mesane Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Cevaplara Etkisi.....	79
4.3.12. NF 110'un Karbakol ile Ön Kastırılmış Mesane Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Cevaplara Etkisi.....	80
4.3.13. Brilliant Blue G'nin Karbakol ile Ön Kastırılmış Mesane Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Cevaplara Etkisi.....	81
5. TARTIŞMA.....	83
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	88
7. KAYNAKLAR.....	89
ÖZGEÇMİŞ.....	96

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Adenozin monofosfat (AMP), Adenozin difosfat (ADP) ve Adenozin trifosfatın (ATP) yapıları.	5
Şekil 2.2. Pirimidin bazları.	6
Şekil 2.3. Adenin ve Guanin iki önemli pürin bazları ve pürin metabolizması ürünleri.	7
Şekil 2.4. Nükleotidlerdeki pentozlar.	8
Şekil 2.5. Adenozin trifosfat ve fosfat bağları.	9
Şekil 2.6. D-riboz ve 2-deoksi-D-riboz şekerlerinden oluşan nükleozitler.	9
Şekil 2.7. Pürin ve pirimidin bazlarının, DNA veya RNA moleküllerdeki dizilimi.	15
Şekil 2.8. Pürinerjik reseptörler ve pürinerlik reseptör alt tipleri.	18
Şekil 2.9. ATP, AMP ve Adenozinin döngüsel olarak birbirlerine çevrilmesi.	23
Şekil 2.10. Adenozin oluşumu ve kendine özgü taşıyıcı moleküller aracılığıyla hücre dışına taşınması.	23
Şekil 2.11. G proteinleri ile kenetli P1 reseptörlerinin yapısal şekli.	25
Şekil 2.12. P1 reseptörlerinin hücre içi COOH ve hücre dışı NH ₂ terminalleri ile agonist ve antagonist tanıma bölgeleri.	26
Şekil 2.13. P1 reseptör alt tipleri ve post reseptör olayları.	28
Şekil 2.14. ATP'nin veziküller içerisinde depolanması ve salınımı.	29
Şekil 2.15. ATP'nin kolinerjik veziküllerden salınımı.	30
Şekil 2.16. İyon kanalı bağımlı P2X reseptörleri.	31
Şekil 2.17. P2Y reseptörlerinin yapısı.	33
Şekil 2.18. P2Y reseptörü ve post reseptör olayları.	34
Şekil 3.1. Birinci. Deney protokolü.	44
Şekil 3.2. İkinci. Deney protokolü	45
Şekil 4.1. CTP'nin izole sıçan gastrik fundusu üzerine etkileri.	46
Şekil 4.2. CTP'nin suramin varlığında ve yokluğunda izole sıçan gastrik fundusu üzerine etkileri.	47
Şekil 4.3. CTP'nin 8-sPT'in varlığında ve yokluğunda izole sıçan gastrik fundusu üzerine etkileri.	48

Şekil 4.4. CTP'nin RB-2 varlığında ve yokluğunda izole sıçan gastrik fundusu üzerine etkileri.	49
Şekil 4.5. CTP'nin NF 449 varlığında ve yokluğunda izole sıçan gastrik fundusu üzerine etkileri.	50
Şekil 4.6. CTP'nin NF 110 varlığında ve yokluğunda izole sıçan gastrik fundusu üzerine etkileri.	51
Şekil 4.7. CTP'nin BBG varlığında ve yokluğunda izole sıçan gastrik fundusu üzerine etkileri.	52
Şekil 4.8. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış gastrik fundus dokusunda, suramin varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	53
Şekil 4.9. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış gastrik fundus dokusunda, 8-sPT varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	54
Şekil 4.10. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış gastrik fundus dokusunda, RB-2 varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	54
Şekil 4.11. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış gastrik fundus dokusunda, NF 449 varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	55
Şekil 4.12. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış gastrik fundus dokusunda, NF 110 varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	56
Şekil 4.13. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış gastrik fundus dokusunda, BBG varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	57
Şekil 4.14. CTP'nin izole sıçan trakeası üzerine etkileri.	58
Şekil 4.15. CTP'nin suramin varlığında ve yokluğunda izole sıçan trakeası üzerine etkileri.	59
Şekil 4.16. CTP'nin 8-sPT varlığında ve yokluğunda izole sıçan trakeası üzerine etkileri.	59
Şekil 4.17. CTP'nin RB-2 varlığında ve yokluğunda izole sıçan trakeası üzerine etkileri.	60
Şekil 4.18. CTP'nin NF-449 varlığında ve yokluğunda izole sıçan trakeası üzerine etkileri	61
Şekil 4.19. CTP'nin NF-110 varlığında ve yokluğunda izole sıçan trakeası üzerine etkileri.	62
Şekil 4.20. CTP'nin BBG varlığında ve yokluğunda izole	63

sıçan trakeası üzerine etkileri.	
Şekil 4.21. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış trakea dokusunda, suramin varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	64
Şekil 4.22. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış trakea dokusunda, 8-sPT varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	65
Şekil 4.23. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış trakea dokusunda, RB-2 varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri	66
Şekil 4.24. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış trakea dokusunda, NF 449 varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	67
Şekil 4.25. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış trakea dokusunda, NF 110 varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	68
Şekil 4.26. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış trakea dokusunda, BBG varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	69
Şekil 4.27. CTP'nin izole sıçan mesanesi üzerine etkileri.	70
Şekil 4.28. CTP'nin suramin varlığında ve yokluğunda izole sıçan mesanesi üzerine etkileri.	71
Şekil 4.29. CTP'nin 8-sPT varlığında ve yokluğunda izole sıçan mesanesi üzerine etkileri.	72
Şekil 4.30. CTP'nin RB-2 varlığında ve yokluğunda izole sıçan mesanesi üzerine etkileri.	73
Şekil 4.31. CTP'nin NF 449 varlığında ve yokluğunda izole sıçan mesanesi üzerine etkileri.	74
Şekil 4.32. CTP'nin NF 110 varlığında ve yokluğunda izole sıçan mesanesi üzerine etkileri.	75
Şekil 4.33. CTP'nin BBG varlığında ve yokluğunda izole sıçan mesanesi üzerine etkileri.	76
Şekil 4.34. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokusunda, suramin varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	77
Şekil 4.35. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokusunda, 8-sPT varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	78
Şekil 4.36. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokusunda, RB-2 varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	79

Şekil 4.37. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokusunda, NF 449 varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	80
Şekil 4.38. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokusunda, NF 110 varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	81
Şekil 4.39. CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokusunda, BBG varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri.	82

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Nükleotid bazlarının hem 5'riboz, hem de 2-deoksi 5'riboz şekerleri ile olan monofosfat, difosfat ve trifosfat yapıları.	10
Tablo 2.2. Pürinerjik reseptör alt tipleri, organ ve dokulardaki dağılımları, post reseptör olayları, agonist ve antagonistleri.	20
Tablo 2.2. devam. Pürinerjik reseptör alt tipleri, organ ve dokulardaki dağılımları, post reseptör olayları, agonist ve antagonistleri.	21
Tablo 2.3. P1 reseptör alt tipleri, sinyal iletim mekanizmaları ve beyindeki etkileri.	26

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

- CTP: Sitidin trifosfat
CTPS: Sitidin trifosfat sentaz
UTP: Urasil trifosfat
ATP: Adenozin trifosfat
ADP: Adenozin difosfat
UDP: Urasil difosfat
P2X: Pürinerjik 2X reseptörleri
P2Y: Pürinerjik 2Y reseptörleri
GTP: Guanin trifosfat
ITP: İnozin trifosfat
2-MeSADP: 2-metil tiyo adenozin difosfat
 β,γ -MeATP: beta gama metilen ATP
2-MeSATP: 2-metil tiyo adenozin trifosfat
TTP: Timidin trifosfat
AMP: Adenozin monofosfat
C: Sitozin
T: Timin
U: Urasil
A: Adenin
G: Guanin
DNA: Deoksi ribonükleik asit
RNA: Ribonükleik asit
 H_3PO_4 : Fosforik asit
CO₂: Karbon dioksit
P': Fosfat
PRPP: 5-Fosforibozil-1-Pirofosfat Sentezi
IMP: İnozin Monofosfat
NDP: Nükleozid difosfatlara
NMP: Nükleozid monofosfatlara
NTP: Nükleozid trifosfatlara

OMP: Orotidilat monofosfat
dTTP: Timidin deoksitriofosfat
CoA: Koenzim A
NAD, NADH: nikotinamid adenin dinükleotid
FAD, FADH₂: flavin adenin dinükleotid
cAMP: siklik AMP
cGMP: siklik GMP
Ach: Asetilkolin
NA: Noradrenalin
GABA: gama amino butirik asid
e5'-NT: ekto-5'-nükleotidaz
5'-NT: 5'-nükleotidaz
NTDPaz: ekto-nükleotid trifosfat difosfohidrolaz
SAH: S-adenozilhomosistein
ENT: Equilibrative nükleotid transporter
TM: Transmembranal
COOH: Karboksil
NH₂: Amonyum
VNUT: Veziküler nükleotid transporter
BzATP: benzoil-benzoil ATP
BBG: Brilliant blue G
8-sPT: 8-(p-Sülfenil) teofilin
RB-2: Reactive blue 2
IP3: İnozitol trifosfat
PLC: Fosfolipaz C
cysLTs: Sisteinil -lökotrienleri
CGRP: kalsitonin geniyle ilişkili peptid
VIP: Vazoaktif intestinal peptid
ENS: Enterik sinir sistemini
CFTR: Kistik fibrozis transmembranal konduktans regülatör
KCl: Potasyum klorür
NaCl: Sodyum klorür

CaCl_2 : Kalsiyum klorür

MgSO_4 : Magnezyum sülfat

NaHCO_3 : Sodyum bikarbonat

KH_2PO_4 : Potasyum bifosfat

ÖZET

Sitidin 5' Trifosfat'ın Ürogenital, Gastrointestinal, Solunum Sistem Düz Kasları Üzerindeki Etkileri

Bu çalışmada sitidin trifosfat (CTP)'in sıçan gastrik fundusu, mesanesi ve trakeasının reaktivitesi (kasılma/gevşeme gibi) üzerine etkilerinin ve bu etkilere aracılık eden pürinerjik reseptör alt tiplerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda doğal bir nükleotid olan CTP'nin gastrik fundus, mesane ve trakea dokuları üzerinde sadece kasılma etkilerinin değil aynı zamanda dokularda karbakol ile oluşturulmuş yüksek tonustaki gevşeme etkilerinin de hangi pürinerjik reseptör alt tipleri aracılığıyla gerçekleştirildiği araştırılmıştır. Bu amaçla CTP'nin gastrik fundus, mesane ve trakea dokuları üzerindeki bu etkileri, P1 reseptör antagonisti 8-(sülfo) fenil teofilin (8-sPT, 2×10^{-4} M), non-selektif P2 reseptör antagonisti suramin (2×10^{-4} M), P2Y reseptör antagonisti reactive blue 2 (RB-2, 3×10^{-5} M), P2X₁ reseptör antagonisti NF 449 (2×10^{-5} M), P2X₃ reseptör antagonisti NF 110 (2×10^{-5} M) ve P2X₇ reseptör antagonisti brilliant normal blue G (BBG, 2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğunda incelenmiştir. CTP normal tansiyonda bulunan gastrik fundus, mesane ve trakea dokularında konsantrasyon bağımlı kasılmalar oluşturmuştur. Ancak kullanılan hiçbir purinerjik reseptör antagonisti tarafından trakea kasılma cevapları değiştirilmemiştir. Gastrik fundusta kasılma cevapları suramin, 8-sPT, RB-2 ve NF449 tarafından baskılanırken, BBG ve NF110 değiştirmemiştir. Mesane kasılmaları ise suramin, RB-2 ve NF449 tarafından baskılanmış buna karşı 8-sPT, NF110 ve BBG cevaplarda anlamlı değişikliklere neden olmamıştır. Karbakol ile ön kastırılmış mesane, trakea ve gastrik fundus dokularında CTP ile oluşturulan gevşeme yanıtları, kullanılan antagonistler tarafından değiştirilmemiştir.

Sonuç olarak CTP söz konusu dokulardaki reaktivasyona aracılık eden bir mediatör olarak karşımıza çıkmaktadır. CTP ile oluşturulan kasılmalar sırasıyla en fazla mesane > gastrik fundus > trakea şeklinde ifade edilebilir. Bu kasılmaya aracılık eden reseptörler, gastrik fundusda; P1, P2X, P2Y ve P2X₁, mesanede; P2X, P2Y, P2X₁ reseptörleridir. Trakeada ise CTP'nin oluşturduğu reaktivasyona bu pürinerjik reseptörler dışında başka reseptörlerin aracılık edebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: CTP, gastrik fundus, trakea, mesane, 8-sPT, suramin, NF 110, NF 449, BBG, RB-2

ABSTRACT

Effects of Cytidine 5'triphosphate on Urogenital, Gastrointestinal, Respiratory System Smooth Muscles

This study aimed to investigate the effects of the cytidine triphosphate on the reactivity of the rat gastric fundus, bladder and trachea and to explore purinergic receptor subtypes mediating these effects. In our study not only contractile effects of CTP which is an endogenous nucleotide on the rat gastric fundus, bladder and trachea investigated, but also we examined which receptor subtypes involved in the relaxant effects of CTP on the tissues precontracted with carbachol. For that purpose, effects of the CTP on gastric fundus, urinary bladder and tracheal tissues in the absence or presence of the P1 receptor antagonist 8-(sulpho) phenyl theophylline (8-sPT, 2×10^{-4} M), non-selective P2 receptor antagonist suramin (2×10^{-4} M), P2Y receptor antagonist reactive blue 2 (RB-2, 3×10^{-5} M), P2X1 receptor antagonist NF 449 (2×10^{-5} M), P2X3 receptor antagonist NF 110 (2×10^{-5} M) and the normal P2X7 receptor antagonist Brilliant Blue G (BBG, 2×10^{-5} M) were examined. CTP produced concentration dependent contractions on the gastric fundus, bladder and tracheal tissues. However, any antagonists did not change the tracheal responses. In the gastric fundus tissue contractions suppressed by suramin, 8-sPT, RB-2 and NF449 while NF110 and BBG did not alter the answers. Contractions of the bladder were suppressed by suramin, RB-2 and NF449; whereas, 8-sPT, NF110 and BBG did not cause significant changes in responses. The CTP relaxation responses to carbachol precontracted bladder, trachea and gastric fundus tissues were not changed by the antagonists that were used.

In conclusion, CTP appears as a mediator which mediating the reactivation in these tissues. This power ranking among the tissues, gastric fundus > bladder > is the trachea. The receptors that mediate contraction of gastric fundus P1, P2X, P2Y and P2X1 and of bladder P2X, P2Y, P2X1 receptors. On the other hand, it has been suggested that another receptors apart from the purinergic receptors mediated to the reactivation produced by CTP in the trachea

Key Words: CTP, gastric fundus, trachea, bladder, 8-sPT, suramin, NF 110, NF 449, BBG, RB-2

1. GİRİŞ

Sitidin trifosfat (cytidine 5'-triphosphate, CTP), sitozolik sitidin trifosfat sentaz (CTPS) enzimi tarafından kataliz edilerek urasil trifosfattan (UTP) sentezlenen doğal bir nükleotiddir. CTPS, amin donörü olarak çalışan glutamini kullanarak UTP'den CTP oluşumunu kataliz eder. Adenozin trifosfat (ATP) bu reaksiyonda fosfat vericisi olarak rol alır. Doğal nükleotid trifosfatlar arasında bulunan sitidin trifosfat (CTP), RNA sentezi için gerekli olup bazı tepkimelerde rol alır ve içerdiği fosfat bağlarıyla da enerji açığa çıkartır. Diğer nükleotidler içinde hücresel konsantrasyonu en düşük nükleotid CTP'dir. CTP ve deoksisitidin trifosfatın düzeyleri, hücre siklusunun S fazı boyunca yüksek olup genellikle hızlı proliferasyona uğrayan hücrelerde bazal konsantrasyonları yüksek bulunmuştur. CTP hücre proliferasyonu, hücrenin büyümesi ve fosfolipid sentezi için gerekli olan bir nükleotittir (1, 2, 3).

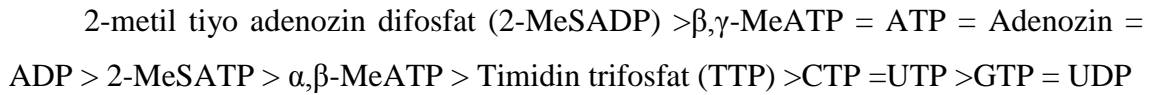
İlginç olarak, CTP'nin diğer bir nükleotid trifosfat olan ATP reseptörlerini aktive ettiği gösterilmiştir. ATP reseptörleri pürinerjik reseptörler olarak da bilinir ve iki alt sınıfa ayrılırlar. Adenozine duyarlı reseptör alt tipleri, P1 reseptörleri olarak isimlendirilirken, ATP, CTP, UTP, adenozin difosfat (ADP), urasil difosfat (UDP) gibi pürin ve pirimidin nükleotidler tarafından aktive edilen reseptörler, P2 reseptör alt tipleri olarak isimlendirilirler. P2 reseptörlerinin P2X ve P2Y alt tipleri mevcuttur. P2Y reseptörleri G proteini kenetli reseptörler olup 8 alt tipi mevcuttur. P2X reseptörleri ise ligand bağımlı iyon kanallarıdır ve 7 alt tipi vardır (4).

Pürinerjik reseptörler, 1960'ların başında barsak ve mesanede non-adrenerjik, non-kolinerjik nörotransmisyonun keşfi ile ortaya çıkmıştır. 1970'lerin başında ise bu sinirleri innerve eden transmitterin ATP olduğu "Geoffrey Burnstock" tarafından ortaya konulmuştur. Ekstrasellüler ATP'nin tanımlanmış ilk fonksiyonel rolünün, barsak düz kaslarını inerve eden non-adrenerjik, non-kolinerjik sinirlerdeki inhibitör nörotransmisyon olduğu belirlenmiştir. Yapılan daha sonraki çalışmalarda

gastrointestinal, ürogenital ve vasküler düz kas hücreleri, trakea ve böbrek epitel hücreleri, kalp ve iskelet kası, tükürük bezleri ile pankreas alfa hücreleri gibi endokrin-ekzokrin salgı hücrelerinde, mast hücreleri, makrofajlar ve lenfositler gibi bağışıklık sistemine ait hücrelerde, kohleadaki tüy hücrelerinde, çeşitli otonom ve santral nöroların gövdelerinde de ATP reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir. Buna ilaveten pürinerjik reseptör alt tiplerinin ATP, ADP, CTP, UTP gibi başka pürin ve pirimidin birleşiklerine afiniteleri de farklılıklar göstermektedir. Örneğin, P2 reseptörlerinin nükleozit trifosfatlar için seçicilikleri incelenmiş ve kobay mesanesinde reseptöre bağlanma afiniteleri,



olarak bulunmuştur. Buna karşın, hemstir üretrasında gevşemeye aracılık eden P2Y reseptörlerine karşı nükleotid trifosfatların ve diğer agonistlerin afinitelerinin



şeklinde olduğu saptanmıştır. UDP'nin diğer nükleotid trifosfatlarla karşılaştırıldığında daha zayıf bir agonist olarak görünmektedir (4, 5, 6, 7, 8).

Bu bilgiler ışığında, organizmada ATP'nin kardiyovasküler sistemden ürogenital sisteme kadar pek çok farklı organ ve dokuda transmitter olarak görev yapmakta olduğu ortaya konulmuştur.

Son zamanlarda, ürotelyumdan salıverilen ATP'nin, bir mesane distansiyon refleksinde aferent sinirleri aktive edebildiği artık bilinmektedir. Bununla birlikte mesanenin afferent sinirlerinin uyarılmasına P2X3 reseptörlerinin aracılık ettiği de

ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca mesanede mekanik gerilme ve elektriksel uyarıyla meydana gelen ATP salınımının detrusör kasılmasının ve idrar yapma eyleminin başlatılmasında önemli rol oynadığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Buna ilaveten, idiopatik hiperaktif mesanesi olanlarda anormal purinerjik iletinin olduğu da bildirilmektedir (6, 9, 10).

Pürinerjik reseptörlerin gastrik fundusta asit sekresyonunu modüle ettiğine dair bilgiler mevcuttur. Diğer taraftan pürinlerin bağırsakların immün fonksiyonlarına, gastrointestinal motilitenin, sekresyonun ve kan akımının kontrolüne katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, düzenli barsak hareketlerine aracılık eden enterik sinir sistemi sinyalizasyon mekanizmalarında pürinerjik sinyalizasyonun anahtar rolü olduğu kanıtlanmıştır. 2007'de sıçanlarda yapılan bir çalışmada ATP'nin gastrik fundusdaki inhibitör transmitterlerden biri olduğuna işaret edilmiştir. Gastrointestinal düz kas tabakaları ve mukozal tabakalarının P2X reseptörleri aracılığıyla, ATP tarafından aktive edildiği kanıtlanmış olmakla birlikte buna aracılık eden purinerjik reseptör alt tipleri henüz net olarak saptanamamıştır (6, 11, 12, 13).

Bunlarla birlikte solunum sisteminin trakea epiteli ve düz kas tabakasında da pürinerjik reseptörlerin çeşitli rolleri olduğu gösterilmiştir. Bronşiyal siliyer epitelyum hücreleri tarafından eksprese edilen P2X reseptörlerinin siliyaların titreşimini kontrol ettiği ve böylece havayollarından mukus atılımını sağladığı ortaya konmuştur. ATP'nin hem P2Y hem de P2X reseptörlerinin aktivasyonu aracılığıyla burun ve trakea gibi siliyel aktivitesi bulunan çeşitli dokuların siliyer epitelyum vurmalarını arttırdığı da gösterilmiştir. Söz konusu durumların kistik fibroz gibi akciğer hastalıklarında önemli olduğu bilinmektedir. Diğer taraftan bu sistemler üzerinde farklı pürinerjik reseptör alt sınıflarının varlığı kanıtlanmıştır. Yapılan bir çalışmada ATP'nin P2X₄ reseptörleri aracılığıyla hava yolu düz kaslarının kasılmasında önemli rolü olduğu ve P2X₄ reseptörlerinin öksürük refleksinde de rol aldığı ortaya koyulmuştur. Bununla birlikte P2 reseptörlerinin akciğer amfizeminde ve kronik obstrüktif akciğer hastalığında inflamasyon yolağının aktivasyonunda ve epitelyum hücreleri ile makrofajlar arasındaki

iletişimde rol aldığı gösterilmiştir. Hiperkapniye bağlı gelişen ventilatör cevaplarına P2X reseptörlerinin aracılık ettiğine dikkat çekilmiştir (6, 14, 15, 16, 17).

Yapılan çalışmalarla gastrointestinal, ürogenital ve solunum sistemlerinde pek çok aktivitenin düzenlenmesinde pürinerjik reseptör alt tiplerinin rol aldığı gösterilmiştir. Ancak farklı bölgelerde, farklı pürinerjik reseptör alt tipleri, farklı yoğunluklarda bulunabilir. Bu nedenle de farklı bölgelerde farklı güçlerde etki gösterirler. Buna ek olarak, çeşitli dokularda CTP'in pürinerjik reseptörler ile etkileşimi gösterilmiş olmasına rağmen ürogenital, gastrointestinal ve solunum sistemi düz kas hücrelerinde reaktivasyon gösterip göstermedikleri, eğer gösteriyorsa, bu etkilerine aracılık eden pürinerjik reseptör alt tipleri henüz aydınlatılamamıştır.

Bu nedenle biz bu çalışmada, izole sıçan trakea, gastrik fundus ve mesane gibi duyuşal ve purinerjik inervasyonun çok yoğun olduğu dokularda CTP'nin ne tür etkiler (kasılma ve/veya gevşeme anlamında) yaptığını ve bu etkilere hangi pürinerjik reseptörler alt tiplerinin aracılık ettiğini araştırmayı amaçladık. Aynı zamanda, bu purinerjik maddenin etkilerini söz konusu sistemlerde tanımlayarak olası terapötik potansiyelini de test ettik.

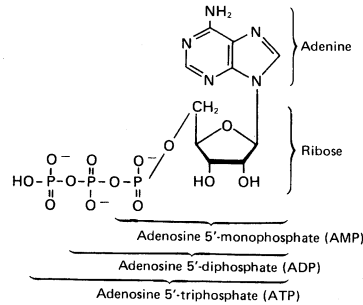
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nükleotidler

Nükleotidler, bütün hücrelerdeki metabolik süreçleri (temel olarak biyosentezleri) yürüten enerjileri zengin bileşiklerdir; hücre metabolizmasına önemli destekleyici rolleri ile bizzat katılan biyomoleküllerdir. Nükleotidler, aynı zamanda hormonlara ve diğer ekstrasellüler uyarılara cevap veren sellüler sistemlerde kimyasal sinyal olarak görev yaparlar; ayrıca bir grup enzim için kofaktör ve metabolik ara ürünlerin yapısal komponentleridirler (1).

2.1.1. Nükleotidlerin Bileşenleri

Nükleotidler, bir azotlu baz, bir pentoz ve bir fosfat olmak üzere üç karakteristik komponente sahiptirler. Azotlu baz ve pentozun birbirine β -N-glikozit bağıyla bağlanmasıyla nükleozid oluşur, nükleozide fosfatın bağlanmasıyla nükleotid (mononükleotid, nükleozid monofosfat) oluşur (1).

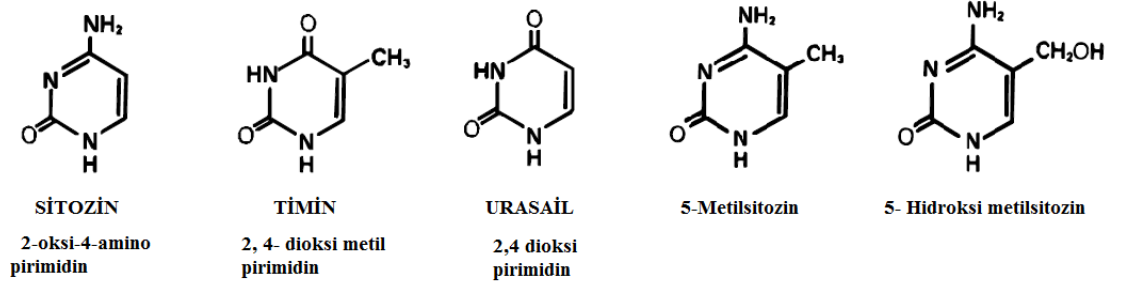


Şekil 2.1. Adenozin monofosfat (AMP), adenozin difosfat (ADP) ve adenozin trifosfatın yapısı (ATP) (4).

2.1.1.1. Nükleotidlerdeki Azotlu Bazlar

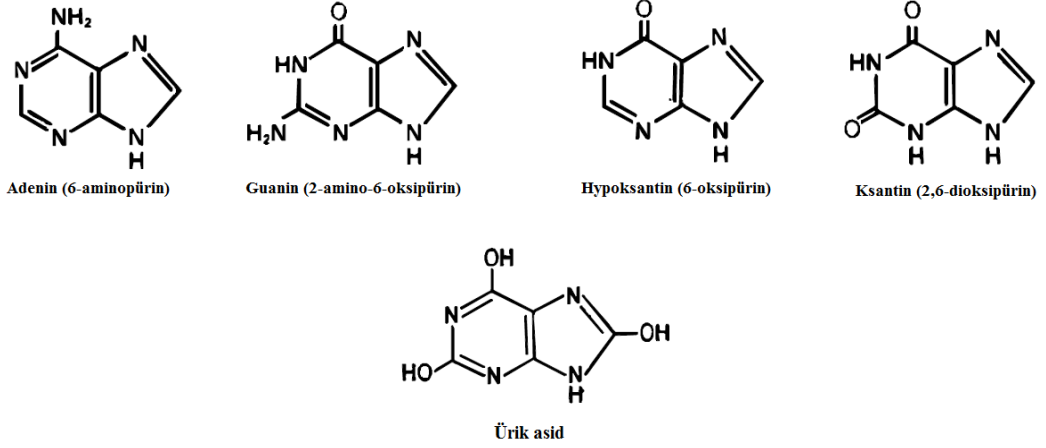
Nükleotidlerdeki azotlu bazlar, pirimidin bazları ve pürin bazlarıdır: Pürin ve pirimidinler heterosiklik bileşiklerdir. Benzen yapısındaki karbon atomlarından ikisinin yerine azot atomlarının geçmesiyle pirimidin halkası oluşmaktadır; pirimidin ve imidazol halkalarının kondanse olmalarıyla da pürin halka sistemi meydana gelmektedir (1).

Sitozin (C), timin (T) ve urasil (U), nükleotidlerde bulunan üç önemli pirimidin bazıdır; 5-metilsitozin ve 5-hidroksimetilsitozin ise doğada nadiren bulunan pirimidin bazlarıdır (1):



Şekil 2.2. Pirimidin bazları (1).

Adenin (A) ve guanin (G), nükleotidlerde bulunan iki önemli pürin bazıdır; hipoksantin ve ksantin ise adenin ve guanin metabolizmasında ara ürünlerdir; okside bir pürin olan ürik asid pürin katabolizmasının son ürünü olarak insanlarda atılıma uğrar (1).



Şekil 2.3. Adenin ve Guanin iki önemli pürin bazları ve pürin metabolizması ürünleri (1).

Serbest pirimidinler ve pürinler, zayıf olarak bazik bileşiklerdir, bu yüzden baz olarak tanımlanırlar (1).

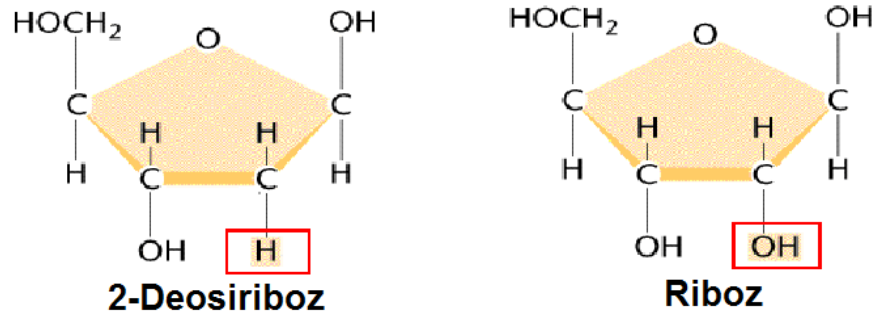
Pirimidin bazlarından sitozin, hem DNA’da hem RNA’da bulunduğu halde timin yalnızca DNA’da, urasil yalnızca RNA’da bulunur. Pürin bazlarından adenin ve guanin, hem DNA’da hem de RNA’da bulunurlar. DNA’nın yapısında adenin (A), guanin (G), sitozin (C) ve timin (T) yer almakta; RNA’nın yapısında ise adenin (A), guanin (G), sitozin (C) ve urasil (U) yer almaktadır (1).

DNA ve RNA yapısında yer alan pürin ve pirimidin bazları ileri derecede konjüge yapılar oldukları için nükleik asitlerin yapısını, elektron dağılımını ve ışık absorpsiyonunu etkilemektedir. Pirimidinler düzlemsel, pürinler ise düzlemsel yapıya yakın büzülmüş yapı göstermektedirler (1).

2.1.1.2. Nükleotidlerdeki Pentozlar

Nükleotidlerdeki pentozlar, D-riboz ve 2ⁱ-deoksi-D-Ribozdur ve her iki pentoz tipi nükleotidlerde β-furanoz formunda bulunurlar (1).

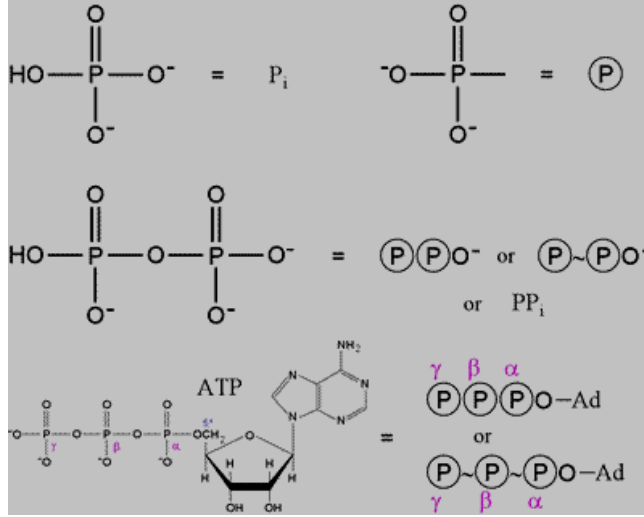
DNA'daki nükleotidler 2ⁱ-deoksi-D-riboz içerir, RNA'daki nükleotidler ise D-riboz içerirler (1).



Şekil 2.4. Nükleotidlerdeki pentozlar (18).

2.1.1.3. Nükleotidlerdeki Fosfat

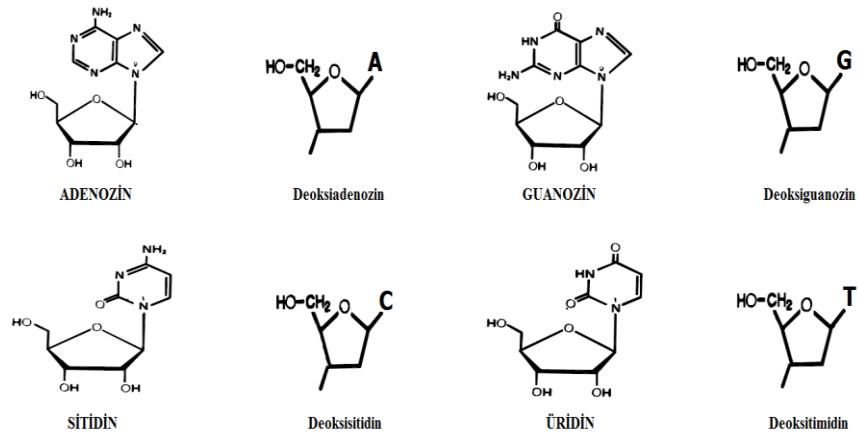
Nükleotidlerdeki fosfat, fosforik asittir (H_3PO_4); pentozun 5¹-C atomuna ester bağı ile bağlanır (1):



Şekil 2.5. Adenozin trifosfat ve fosfat bağları (19).

2.1.2. Nükleozidler

Nükleozidler, aside oldukça dayanıksız bir β -N-glikozit bağı ile pürin veya pirimidine bağlanan (pürinlerde N^9 konumunda pirimidinlerde N^1 konumunda) bir pentozdan (genelde D-riboz veya 2-deoksi-D-riboz) oluşmuşlardır; içerdikleri azotlu baza göre adlandırılırlar (1).



Şekil 2.6. D-riboz ve 2-deoksi-D-riboz şekerlerinden oluşan nükleozitler (1).

Nükleozidler, pürin ve pirimidin bazlarına bağlı bir pentoz içermektedirler. Bunlar RNA yapısında yer alan beş karbonlu bir monosakkarit olan D-riboz ve DNA yapısında yer alan 2-deoksi-D-ribozdur (1).

Nükleozidlerin fosfat esterleri olan nükleotidler, yapılarında bulunan nükleozide göre adlandırılırlar. Nükleotidler, bir azotlu baz, bir şeker ve şekerin 5'-hidroksil grubuna kovalent bağ ile bağlanmış bir veya daha çok sayıda fosfat grubu içerirler. Nükleotidlerdeki fosfat grupları, şekerden başlamak üzere sırasıyla α , β ve γ olarak adlandırılmaktadır. Nükleotidlerin biyosentez ve enerji dönüşümlerinde kullanılan aktif şekilleri, difosfat ve trifosfat şekilleridir (1).

Baz	Ribonükleozid 5'-		
	Monofosfat	Difosfat	Trifosfat
Adenin	AMP	ADP	ATP
Guanin	GMP	GDP	GTP
Sitozin	CMP	CDP	CTP
Urasil	UMP	UDP	UTP
Baz	2'-deoksiribonükleozid 5'-		
	Monofosfat	Difosfat	Trifosfat
Adenin	dAMP	dADP	dATP
Guanin	dGMP	dGDP	dGTP
Sitozin	dCMP	dCDP	dCTP
Timin	dTMP	dTDP	dTTP

Tablo 2.1. Nükleotid bazlarının hem 5'riboz, hem de 2-deoksi 5'riboz şekerleri ile olan monofosfat, difosfat ve trifosfat yapıları (1).

2.1.3. Nükleotid Metabolizması

2.1.3.1. Pürin Nükleotid Sentezi

Pürin halkasındaki atomlar aminoasitler (aspartik asit, glisin, glutamin), CO₂ ve 2 tane tetrahidrofolat türevi (N¹⁰-formil-tetrahidrofolat) gibi çeşitli bileşikler tarafından sağlanır. Pürin halkası, önceden varolan bir riboz-5-P'a, bu maddelerden verilen C ve N'ların bir dizi reaksiyonla eklenmesiyle oluşturulur (20).

2.1.3.1.1. 5-Fosforibozil-1-Pirofosfat Sentezi

PRPP, ATP ve riboz-5-P'tan riboz fosfat pirofosfokinaz (PRPP sentetaz) enzimi ile sentezlenir. PRPP'nin yapısındaki şeker ribozdur. Nükleotid sentezi sırasında önce ribonükleotidler oluşur, sonradan redüklenerek deoksiribonükleotidlere çevrilirler. PRPP, pirimidin sentezi ve pürin ve pirimidin kurtarma reaksiyonlarında, nükleotid koenzim sentezinde de kullanılır (20).

2.1.3.1.2. 5'-Fosforibozilamin Sentezi

5'-fosforibozilamin PRPP ve glutaminden sentezlenir. Glutaminin amid grubu, PRPP'nin 1. karbonuna bağlı pirofosfatın yerine geçer. Enzim, glutamin fosforibozil pirofosfat amidotransferazdır. Pürin 5'-nükleotidler AMP, GMP ve IMP (son ürün) ile inhibe edilir. Pürin nükleotid biosentezinde hız kısıtlayıcı basamak fosforibozilamin sentezidir. Reaksiyonun hızı, hücre içi substrat konsantrasyonlarıyla da kontrol edilir (glutamin ve daha etkilisi PRPP) (20).

2.1.3.1.3. İnozin Monofosfat Sentezi

İnozin Monofosfat (IMP), diğer pürin nükleotidlerin öncüsüdür. Arka arkaya 9 reaksiyonla IMP sentezlenir. Toplam 4 ATP (+ ilk 2 ATP=6) harcanır (20).

2.1.3.1.4. İnozin Monofosfat'ın Adenozin Monofosfat ve Guanozin Monofosfat'a Dönüşmesi

AMP sentezinde enerji kaynağı GTP, GMP sentezinde de ATP'dir. Her iki yolda da ilk reaksiyon son ürün tarafından inhibe edilir. Bu sayede IMP, daha az miktarlarda bulunan pürinlerin sentezine yönlendirilir. AMP ve GMP yeterli miktarlardaysa, de novo pürin sentezi, amidotransferaz basamağında inhibe edilir. AMP sentezinde 1, GMP sentezinde 2 yüksek enerjili fosfat harcanır (20).

2.1.3.1.5. Nükleozid Monofosfatların, Di ve Trifosfatlara Çevrilmesi

Nükleozid difosfatlara (NDP) karşılık gelen NMP'lardan, spesifik NMP kinazların kataliziyle sentezlenir. ATP, nakledilen fosfatın kaynağıdır çünkü diğer NTP'lardan daha çok bulunur (20).

2.1.3.1.6. Pürin Nükleotidlerinin Yıkılımlı

İnsanda pürin katabolizmasının son ürünü ürik asittir. Primatlar dışındaki memeliler ürik asiti allantoinine okside ederler. Bu da bazı hayvanlarda üre ve hatta amonyağa kadar yıkılabilir. Ekzo ve endonükleazlar nükleik asitleri nükleotidlere parçalar (20).

2.1.3.2. Pirimidin Sentezi

Pürin sentezinin aksine, önce pirimidin halkası sentezlenir, sonra riboz 5-P'a bağlanır. C ve N atomları glutamin, CO₂ ve aspartik asitten gelir (20).

2.1.3.2.1. Karbamoil Fosfat Sentezi

Bu yol pirimidinlerin sentezinin memelilerdeki hız kısıtlayıcı basamağıdır, glutamin ve CO₂'den karbamoil fosfat sentezlenir bu reaksiyonu karbamoil fosfat sentetaz II katalizler. Biotine gerek yoktur. Enzim UTP ile inhibe, ATP ve PRPP ile aktive olur. Enzim sitozoliktir. Üre sentezindeki karbamoil fosfat sentetaz I ise mitokondriyaldir. Karbamoil fosfat sentetaz II aktivatör olarak N-asetil glutamata gerek duymaz. Karbamoil fosfat sentetaz I, azot kaynağı olarak amonyak, II ise glutamin kullanır. Glutamin hem pürin hem pirimidin sentezinde kullanılır (20).

2.1.3.2.2. Orotik Asit Sentezi

İkinci basamak, karbamoilaspartat oluşumudur. Enzim aspartat transkarbamoilazdır. Prokaryotlarda (E.coli) hız kısıtlayıcı basamaktır (20).

Bundan sonra dihidroorotaz ile pirimidin halkası kapanır ve ilk pirimidin olan dihidroorotat oluşur. Okside olarak orotik asite (orotat) çevrilir. Bu yoldaki ilk 3 enzim aynı polipeptidin ana parçalarıdır. Dihidroorotat dehidrogenaz mitokondriyal, diğerleri sitozoliktir (20).

2.1.3.2.3. Pirimidin Nükleotidi Oluşumu

Riboz 5-P vericisi yine PRPP'tır. Orotat fosforibozil transferaz ile orotidin 5'-mono P oluşur (hem pürin hem pirimidin sentezinde glutamin ve PRPP kullanılır). Ana pirimidin nükleotid olan orotidilat monofosfat (OMP), orotidilat dekarboksilaz ile UMP'a çevrilir (2).

2.1.3.2.4. Üridin Trifosfat ve Sitidin Trifosfat Sentezi

UTP'den CTP sentetaz ile CTP oluşur. Azot, glutaminden gelir. C-4'deki karbonil oksijeni amino grubu ile yer değiştirir. Memelilerde amino grubu vericisi, glutaminin yan zinciridir. Bu aminasyon reaksiyonlarında bir molekül ATP harcanır. Riboz veya deoksiriboz nükleotidlerinin hidroliziyle ortaya çıkan serbest urasil, sitozin ve timin bazlarından UMP, CMP ve dTMP iki basamaklı reaksiyonla sentezlenebilir. Önce, nükleosit fosforilaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyonunun nükleosit ürünleri nükleosit kinaz enzimleri tarafından fosforillenerek (bu enzim iki yönlü çalışır), nükleotidler oluşturulur. Ayrıca, pirimidin fosforibozil transferaz enziminin katalizlediği reaksiyonuyla da serbest pirimidinlerden nükleotidler yapılabilir (20).

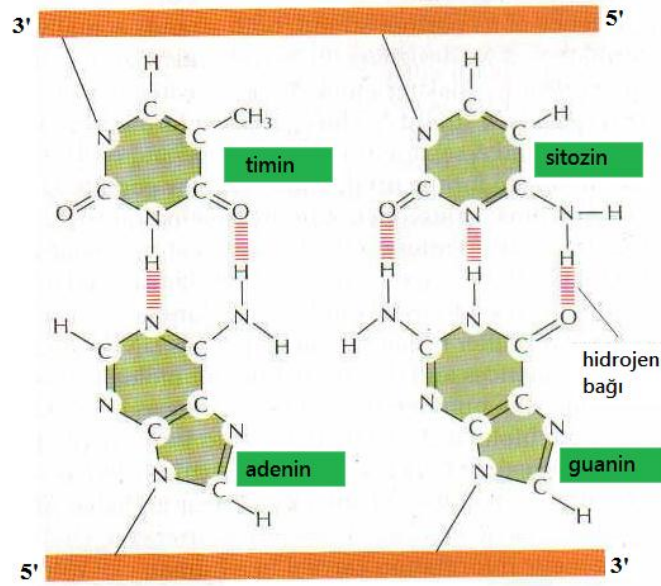
2.1.3.2.5. Pirimidinlerin Yıkılması

Pürinlerin aksine pirimidinler parçalanarak, çözünür yapılar olan b-alanin ve b-aminoizobütirata dönüşür. Bunlar da sırasıyla asetil koA ve süksinil koA'ya çevrilir. Pirimidinler de yeniden kullanılabilir, pirimidin fosforiboziltransferaz ile nükleotidlere çevrilebilir (20).

2.1.4. Nükleotidlerin Fonksiyonları

2.1.4.1. Nükleik Asitlerin Alt Ünitesi Olarak Nükleotidler

Pürin ve pirimidin nükleotidleri, DNA ve RNA moleküllerinin monomerik birimleri olarak görev yapmaktadırlar. Hem DNA’da hem RNA’da nükleotidler, fosfat köprüleri vasıtasıyla ard arda bağlanmışlardır. Özellikle bir nükleotidin 5'-hidroksil grubu sonraki nükleotidin 3'-hidroksil grubuna bir fosfodiester bağı vasıtasıyla bağlanır. Böylece, nükleik asitlerin kovalent iskeleti, birbiri ardına gelen fosfat ve pentoz kalıntılarından oluşur; karakteristik bazlar, iskelete düzenli aralıklarla eklenmiş yan gruplar durumundadırlar (1).



Şekil 2.7. Pürin ve pirimidin bazlarının, DNA veya RNA moleküllerdeki dizilimi (21).

Bir nükleotid dizisi, alışkanlık olarak, 5' ucu solda 3' ucu sağda yani 5' →3' yönünde gösterilir; 5' ucu, 5' pozisyonunda bir nükleotidden yoksundur ve 3' ucu, 3' pozisyonunda bir nükleotidden yoksundur (1).

2.1.4.2. Nükleotidler, Hücrede Kimyasal Enerjiyi Taşırlar

Asit anhidrid bağları tarafından mononükleotidin pentozuna bağlanan ilave fosfatlar, adenzin difosfat (ADP) ve adenzin trifosfat (ATP) gibi nükleozid di- ve trifosfatları oluştururlar (1).

Nükleozid trifosfatlar, biyokimyasal reaksiyonların geniş bir bölümünü yürütmek için kimyasal enerji kaynağı olarak kullanılırlar. ATP ve diğer nükleozid trifosfatların hidrolizi, trifosfat yapısının kimyası nedeniyle enerji veren bir reaksiyondur. Riboz ve α fosfat arasındaki bağ bir ester bağıdır, α - β ve β - γ bağları fosforik asit anhidridleridirler (1).

Uridin trifosfat (UTP), guanozin trifosfat (GTP) ve sitidin trifosfat (CTP) spesifik reaksiyonlarda rol alırlar (1).

Timidin deoksitriposfat (dTTP) da dahil olmak üzere nükleozid trifosfatlar, DNA ve RNA sentezinin aktiflenmiş prekürsörleri olarak da görev görürler (1).

2.1.4.3. Enzim Kofaktörleri Olarak Nükleotidler

Kimyasal fonksiyonların geniş bir bölümüne yardım eden enzim kofaktörlerinin bir grubu, yapılarının bir parçası olarak adenzin içerir. Bu faktörlerin hiçbirinde adenzin kısmı primer fonksiyona katılmaz; fakat yapıdan adenzinin çıkarılması genellikle aktiviterinde şiddetli bir azalmaya neden olur. Yapılarında adenzin içeren başlıca koenzimler, koenzim A (CoA), nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺ veya

NADH) ve flavin adenin dinükleotid (FAD veya FADH₂)'dir. Vitamin B₁₂'nin aktif formu 5ⁱ-deoksiadenozil kobalamin içerir (22).

2.1.4.4. Hücresel Sinyal İleti Mekanizmasında Nükleotidlerin Rolü

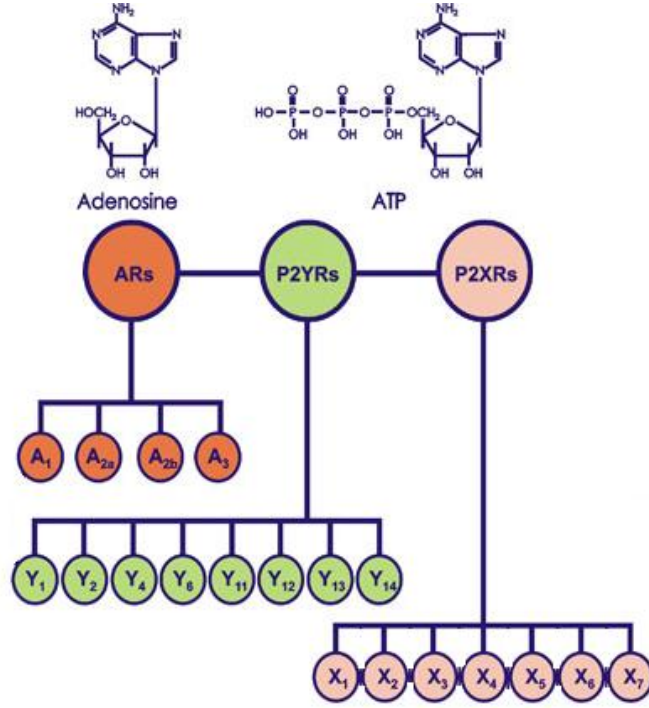
Hücreler, hormonlardan veya ortamdaki diğer kimyasal sinyallerden işaret olarak çevrelerine cevap verirler. Birinci haberci diye tanımlanan ekstrasellüler uyarıların hücre yüzeyindeki reseptörler ile karşılıklı etkileşimi, hücre içinde ikinci habercilerin üretimine yol açar; ikinci haberci, hücre içinde adaptif değişikliklere yol açar ve böylece hücrenin cevabı oluşur (22).

En yaygın ikinci habercilerden biri adenozin 3', 5'-siklik monofosfat (siklik AMP, cAMP)'tir. cAMP, plazma membranının iç yüzünde bulunan adenilat siklaz tarafından katalizlenen bir reaksiyonda ATP'den oluşturulur. Guanozin 3', 5'-siklik monofosfat (cGMP) da bir çok hücrede meydana gelir ve düzenleyici fonksiyonlara sahiptir (20).

2.1.4.5. Pürinler ve Onların Nükleotid ve Nükleozid Formları Hücre İçi ve Hücreler Arasındaki İletişime de Önemli Katkıları Sağlarlar

Pürinerjik sinyal ve pürinerjik nöromodülasyon ilk olarak 30 yıl önce ortaya atılmıştır. Pürin nükleotidleri ekstrasellüler haberciler olup P1 ve P2 reseptörleri üzerinden etki ederler. P1 reseptörleri G proteinleri ile etkileşip A₁, A_{2A} ve A_{2B} ve A₃ olmak üzere alt gruplara ayrılırken P2 reseptörleri P2X ve P2Y alt gruplarına ayrılmaktadır. P2Y reseptörleri G proteinleri ile etkileşirler, P2X reseptörleri ise ligand bağımlı iyon kanallarıdır. P1 ve P2 reseptörlerinin aktivasyonu, nörotransmisyon, hücre çoğalması ve hücre ölümü gibi pek çok hücresel fonksiyon ile ilişkilidir (23).

2.2. Pürin ve Pirimidin Reseptörleri



Şekil 2.8. Pürinerjik reseptörler ve pürinerlik reseptör alt tipleri (24).

1970'li yıllara kadar yapılan çalışmalar, otonom sinir sisteminin yapısında adrenerjik ve kolinerjik olmayan ikinci bir sistemin varlığını bildirmiştir. Bu sistemin sinir liflerinin ucundan salgılanan ana transmitter maddelerden pürin nükleotidleri olduğu anlaşılmıştır. Böylece bu sinirlere pürinerjik sinirler adı verilmiştir (11).

Pürin nükleotidleri adrenerjik sinirlerin ucunda noradrenalin (NA) ile ve kolinerjik sinirlerin ucunda asetilkolin (AK) ile birlikte kotransmitter olarak bulunur ve salgılanırlar. Otonom sinir sistemine ait aksonların ucunda NA (çapı: 250-600 Å) ve AK (çapı: 1000 Å) nin depolandığı veziküllerden farklı olarak çaplar 800-200 Å olan

büyük, opak veziküllerde pürinlerin bulunduğu bildirilmiştir. Veziküllerde adenin nükleotidlerin % 83'ü ATP, % 15'i adenozin di fosfat (ADP) ve % 2'si adenozin mono fosfat (AMP) dır (11).

Pürinerjik nöronlarda ATP sentezlemeye yarayan bir enzim sistemi mevcuttur. Pürinler, aktif olarak hücre içine alınırlar ve hızlı bir şekilde nükleotidlere dönüşürler. ATP, meydana gelip salıverildikten sonra süratle magnezyuma bağlı ATP az ve 5-nükleotidaz enzimleri tarafından hidroliz edilir, en son adenezine dönüşür. Adenezin, kısmen inaktif ürünlere dönüşürken kısmen de pürinerjik sinir ucu tarafından geri alınarak tekrar ATP sentezinde kullanılır. Sinaptik aralığa salınan ATP için böyle bir geri alım mekanizması gösterilmemiştir. Muhtemelen ATP, sinaptik aralığa salınıp etkisini gösterdikten sonra tamamen adenezin ve inozine yıkılmaktadır. Adenezinin sinaptik aralıktan geri emilimi dipiridamol tarafından engellenmektedir. 5-nükleotidaz enzimi gastrointestinal kanalda yüksek konsantrasyonda bulunur. Pürinerjik sinir liflerinin uçlarına yakın düz kas hücrelerinin membranında da magnezyum ATP az enzimi vardır. Pürinerjik sinirlerin uyarılması veya dışarıdan ATP uygulandığında meydana gelen benzer cevapların kısa sürede maksimuma ulaşip derhal kaybolması, ATP nin inaktivasyonunun hızlı olduğunun delilidir. Ayrıca mide damarlarını dolaşan bir perfüzyon sıvısına ATP verildiğinde, çıkışta çok az ATP bulunduğu, adenezin, inozin, ADP ve AMP miktarının gittikçe arttığı bildirilmiştir. Vücudun her tarafında pürinlere rastlamak mümkündür. Beyinde serbest adenezin miktarının 2 nmol/gr olduğu gösterilmiştir (11).

Adenezin presinaptik ve postsinaptik etkilere sahiptir. Presinaptik etkileri, diğer nörotransmitterlerin açığa çıkışı ile ilgili indirekt etkilere sahiptir. Bu modülatör etkisi ile adenezin NA, ACh, dopamin, serotonin, gama-aminobutirik asid (GABA), aspartat ve gultamat açığa çıkışını inhibe eder. Bu etki, teofilin tarafından antagonize edilir. Postsinaptik etkileri ise hücre uyarılması üzerine olan direkt etkilere sahiptir. Presinaptik etkinlik, postsinaptik etkinlikten fazladır ve adenezinin depresör etkilerinden sorumludur (11).

Pürin reseptörleri ilk kez "Marangoz" tarafından 1982'de P ve R diye ikiye ayrılmışlardır. P, pürin halkası, R, riboz için düşünülmüştür. İkinci bir adlandırma da Burnstock tarafından P1 ve P2 olarak bildirilmiştir (11).

Reseptör	Reseptör Dağılımları	Agonistler	Antagonistler	Transdüksiyon Mekanizmaları	
P1 (adenozin)	A ₁	Beyin, spinal kord, testis, kalp, otonomik sinir terminalleri	CCPA, CPA, S-ENBA, CVT-510	DPCPX, N-840, MRS1754, N-0840, WRC-0571	Gi/o ↓cAMP
	A _{2A}	Beyin, kalp, akciğer, dalak	CGS 21680, HE-NECA, CVT-3146	KF17837, SCH58261, ZM241385, KW 6002	Gs ↑cAMP
	A _{2B}	Kalın bağırsak, mesane,	NECA (non-selektif)	Enprofylline, MRE2029-F20, MRS17541, MRS 1706	Gs ↑cAMP
	A ₃	Akciğer, karaciğer, beyin, testis, kalp	IB-MECA, 2-CL-IB-MECA, DBXRM, VT160	MRS1220, L-268605, MRS1191, MRS1523, VUF8405	Gi/o Gq/11 ↓cAMP ↑IP ₃
P2X	P2X ₁	Düz kaslar, trombositler, serebellum, dorsal horn spinal nöronlar	α,β-meATP=ATP=2-MeSATP, β,γ-meATP (hızlı desensitizasyon)	TNP-ATP, IP ₅ I, NF023, NF449	İntrinsik katyon kanalları (Ca ²⁺ ve Na ⁺)
	P2X ₂	Düz kas, SSS, retina, kromofin hücreleri, otonomik ve duyuşal ganglia	ATP ≥ ATPγS ≥ 2-MeSATP >>α,β-me ATP (Ph + çinko duyarlı)	Suramin, izoPPADS, RB-2, NF770, NF279	İntrinsik iyon kanalı (özellikle Ca ²⁺)
	P2X ₃	Duyuşal nöronlar, bazı sempatik nöronlar	2-MeSATP ≥ ATP ≥ α,β meATP ≥ Ap ₄ A (hızlı desensitizasyon)	TNP-ATP, PPADS, A317491, NF110, Ip ₅ I, fenol kırmızısı	İntrinsik katyon kanalı
	P2X ₄	SSS, testis, kolon	ATP >>α,β-meATP, CTP,	TNP-ATP, BBG, fenolftalein	İntrinsik iyon kanalı (özellikle Ca ²⁺)
	P2X ₅	Ciltteki proliferasyon hücreleri, bağırsak, mesane, timus, spinal kord	ATP >>α,β-meATP, ATPγS	Suramin, PPADS, BBG	İntrinsik iyon kanalı
	P2X ₆	SSS, spinal korttaki motor nöronlar		–	İntrinsik iyon kanalı
	P2X ₇	İmmün hücreler, pankreas ve ciltteki apoptotik hücreler	BzATP > ATP ≥ 2-MeSATP >>α,β-meATP	KN62, KN04, MRS2427, O-ATP, brilliant blue G	İntrinsik iyon kanalı ve uzun süren aktivasyon ile geniş por
P2Y	P2Y ₁	Epitelyum ve endotel hücreler, trombositler, immün hücreler, okteoklastlar	2-MeSADP=ADPβS > 2-MeSATP=ADP > ATP, MRS2365	MRS2179, MRS2500, MRS2279, PIT	Gq/G ₁₁ ; PLC-β aktivasyon

P2Y ₂	İmmün, epitelyum ve endotel hücreler, böbrek tübülleri, osteoblastlar	UTP=ATP, UTP γ S, INS 37217, INS 365	suramin> RB-2, ARC126313	Gq/G ₁₁ ve G _i ; PLC- β aktivasyon
P2Y ₄	Endotelyum hücreleri	UTP \geq ATP, UTP γ S, INS 37217	RB-2> suramin	Gq/G ₁₁ ve G _i ; PLC- β aktivasyon
P2Y ₆	Bazı epitelyum hücreleri, plasenta, T hücreleri, timus	UDP>UTP>>ATP, UDP β S, IDP	MRS2578	Gq/G ₁₁ ; PLC- β aktivasyon
P2Y ₁₁	Dalak, bağırsak, granülositler	AR-C67085MX>BzATP \geq ATP γ S>ATP	suramin> RB-2, NF157, 5' AMPS	Gq/G ₁₁ ve G _s ; PLC- β aktivasyon
P2Y ₁₂	Trombositler, glia hücreleri	2-MeSADP \geq ADP>>ATP	CT50547, AR-C69931MX, INS49266, AZD6140, PSB0413, ARL66096, 2-MeSAMP	G _{v0} ;adenilil siklaz inhibisyonu
P2Y ₁₃	Dalak, beyin, lenf düğümü, kemik iliği	ADP=2-MeSADP>>ATP=2-MeSATP	MRS2211, 2-MeSAMP	G _{v0}
P2Y ₁₄	Plasenta, adipoz doku, karın, bağırsak, beyinin bağlantı bölgeleri	UDP glukoz = UDP galaktoz	–	Gq/G ₁₁

Tablo 2.2. Pürinerjik reseptör alt tipleri, organ ve dokulardaki dağılımları, post reseptör olayları, agonist ve antagonistleri (25).

2.2.1. P1 (Adenozin) Reseptörleri

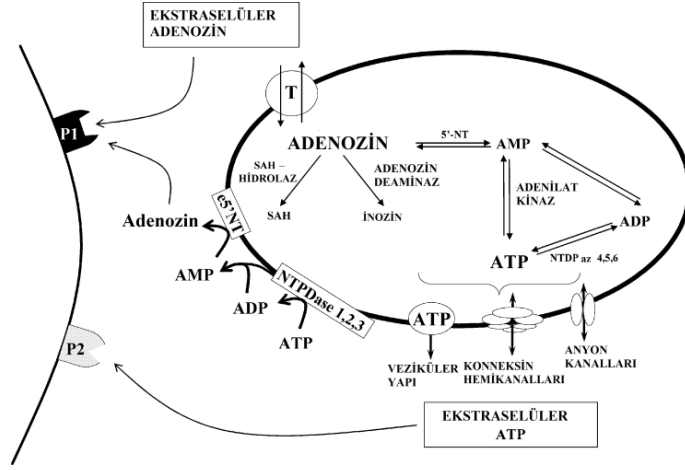
2.2.1.1. Adenozin

Bir pürin nükleozidi olan adenozin, çeşitli dokularda ATP'nin enzimatik yıkımı sonucu endojen olarak teşekkül eden biyoaktif bir üründür, beyinde düşük konsantrasyonlarda bulunur. Adenozin beyinde etkisini esas olarak nörotransmitterlerin salgılanmasını inhibe ederek gösterir. Bu sayede sedasyon, lokomotor aktivitede azalma, antikonvülsan ve anksiyolitik etkiler meydana gelir. Ayrıca adenozin analoglarının presinaptik reseptörleri stimüle ederek adrenerjik ve kolinerjik iletiyi azalttıkları bulunmuştur (1, 2, 3).

Adenozin birçok dokuda ve organda oluşur, fakat hızlı transport ve metabolize olduğu için plazma konsantrasyonu düşüktür. Adenozin etkilerini primer olarak hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak gösterir. Bu yüzden ekstraselüler konsantrasyonu etkilerinin büyüklüğü ile direkt ilişkilidir ve (birçok yollar vasıtasıyla) adenozin üretimi ve yıkımına bağlıdır. Adenozin devamlı olarak eritrositler, karaciğer, kalp, iskelet kasları ve endotel hücreleri tarafından oluşturulur ve salgılanır (26).

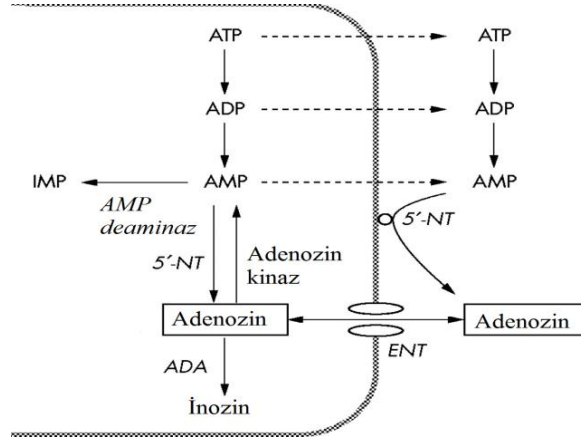
2.2.1.2. Adenozinin Sentezi, Salıverilmesi ve Yıkılımı

Hücre adenozini sentezlemek için çeşitli yollar kullanır. En önemli adenozin kaynağı hücre içinde devamlı kullanılan adenozin trifosfat (ATP) ve döngüsel (siklik:c) adenozin monofosfat (AMP)'dir. Bu iki nükleotid hücre içinde önce AMP'a yıkılır ve oluşan AMP hücresel 5'-nükleotidaz enziminin katalizlediği biyokimyasal reaksiyon ile adenozine çevrilir. Organizmada diğer önemli bir adenozin kaynağı da katekolaminlerin ve histaminin katabolizması sırasında ortaya çıkan ve adenozine hidrolize edilebilen S-adenozil homosisteindir. Hücre dışında üretilen adenozinin de en önemli kaynağı ATP'dir. ATP presinaptik sinir uçlarındaki veziküllerde dopamin, asetilkolin, serotonin ve norepinefrin gibi nörotransmitterler ile birlikte bulunur ve bu nörotransmitterler salıverilirken hücre dışına çıkar. Hücre dışında önce AMP'ye sonra da ekto-5'-nükleotidaz enzimi aracılığı ile adenozine çevrilir. Hücre içi ATP'nin adenozine çevriminde %1'lik bir artışın adenozin miktarında 100 kat artışa neden olabileceği ileri sürülmüştür (23).



Şekil 2.9. ATP, AMP ve Adenozinin döngüsel olarak birbirlerine çevrilmesi. e5'-NT ekto-5'-nükleotidaz, 5'-NT 5'-nükleotidaz, NTDPaz ekto-nükleotid trifosfat difosfohidrolaz, P1 adenozin reseptör, P2 ATP reseptör, SAH S-adenozilhomosistein (27).

Probeneside duyarlı taşıyıcılar aracılığı ile hücre dışına çıkan cAMP, önce AMP'ye sonra adenozine çevrilir. Yapılan çalışmalarda adenilat siklazın forskolin ya da reseptör aracılı uyarılmasının hücre dışı adenozin miktarını önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir (23).



Şekil 2.10. Adenozin oluşumu ve kendine özgü taşıyıcı moleküller aracılığıyla hücre dışına taşınması. ENT; equilibrative nükleotid transporter; 5'-NT, 5'- nükleotidaz (28).

Hücre içinde ve dışında üretilen adenozin hücre membranında bulunan kendine özgü taşıyıcı moleküller aracılığıyla (ENT1 ve ENT2) membranın içine ve dışına doğru iki yönlü olarak hareket edebilir. Akım yönü konsantrasyon farkına göre belirlenir. Sonuçta hücre içi ve dışı adenozin konsantrasyonu kolaylaştırılmış difüzyon ile dengelenmiş olur. Fizyolojik koşullarda net akım adenozin konsantrasyonunun nispeten daha az olduğu hücre içine doğrudur. Hücre içinde adenozin arttığında ise akım tersine döner. Dunwiddie ve Diao sıçan hipokampal kesitlerinde ısıyı düşürmek suretiyle taşıyıcı proteinleri çalışmaz hale getirmişler ve bu koşullarda hücre dışı adenozin miktarının arttığını göstermişlerdir. Böbrek fırçamsı epitel hücrelerinde ise hücre içi adenozeni konsantrasyon gradientine karşı hücre dışına taşıyan aktif transport sistemi mevcuttur (23).

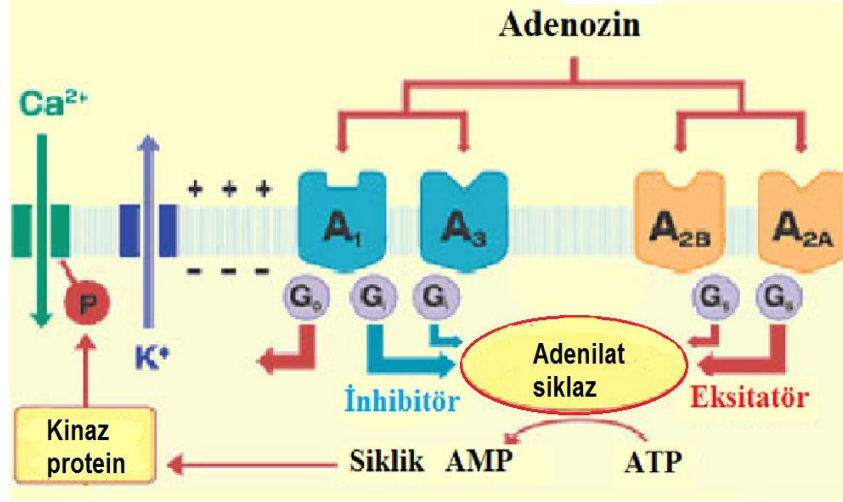
Sentezlenip ve salıverilen adenozinin katabolizmasında iki enzim rol oynar: Bunlar sadece hücre içinde bulunan “adenozin kinaz” ile hücrenin hem içinde ve hem de dışında bulunan “adenozin deaminaz”dır. Fizyolojik koşullar altında adenozin hücre içine geri alınır ve hücre içi adenozinle birlikte adenozin kinaz tarafından AMP'ye fosforillenir. Adenozin geri alımı inhibe edildiğinde hücre dışı adenozin miktarının önemli ölçüde artması, buna karşın adenozin deaminaz inhibisyonunun hücre dışı adenozin miktarını etkilememesi adenozinin uzaklaştırılmasında geri alımın (reuptake) daha önemli olduğu yönündeki görüşü desteklemektedir (23).

Hipoksi ve iskemi gibi patolojik koşullarda ise, muhtemelen adenozin taşıyıcılarının işlev görememesi ve adenozin kinaz aktivitesinin baskılanması nedeniyle, adenozin deaminaz aktivitesi önem kazanmaktadır. Santral sinir sisteminde adenozin salınımını arttıran koşullar vardır. Bu koşulların çoğunda hücrede ATP kullanımı dolayısıyla AMP ve adenozin oluşumu artmıştır (23).

2.2.1.3. Adenozin Reseptör Alt Tipleri

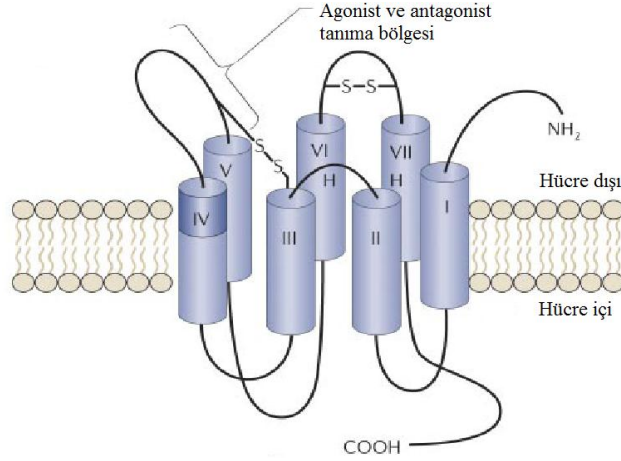
P1 reseptörlerinin, A₁, A_{2A}, A_{2B} ve A₃ olarak isimlendirilen dört alt tipi ortaya çıkarılmıştır. Bütün adenozin reseptörleri G protein kenetlidir. Herbiri 21-28 amino

asitli α -heliks yapısına sahip olduğuna inanılan hidrofobik amino asitlerin bulunduğu yedi transmembran segmentli yapıya sahiptir (25).



Şekil 2.11. G proteinleri ile kenetli P1 reseptörlerinin yapısal şekli (29).

Reseptörlerin ekstrasellüler bölgesine uzanan terminalleri NH₂ ve membranın sitoplazmik bölgesine uzanan terminali ise COOH yapısındadır. Genellikle ekstrasellüler loop 4. ve 5. transmembranal (TM) segmentler arasında, sitoplazmik loop ise 5. ve 6. TM arasında yayılmıştır. Reseptörlerin intrasellüler kısımları G proteinlerinin uygun bölgeleri ile etkileşirler ve sonrasında, hücre içi sinyal transdüksiyon mekanizmasını aktifleştirirler (25).



Şekil 2.12. P1 reseptörlerinin hücre içi COOH ve hücre dışı NH₂ terminalleri ile agonist ve antagonist tanıma bölgeleri (25).

Adenozin etkilerinin çoğunu kendine özgü reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirir. A₁, A₂ ve A₃ isimli üç farklı reseptörü vardır. A₂ reseptörlerinin A_{2A} ve A_{2B} olmak üzere iki alt tipi tanımlanmıştır (23).

Alt tipleri	Adenozin Afinitesi	Kenetlendiği G-proteinleri	Sinyal İletimi	Beyindeki etkileri
A ₁	~ 70 nM	G _{1/2/3} G _o	Adenilat siklazı inhibe ederek Ca ²⁺ kanallarını inhibe (N-, P-, Q- tipi) ederek GIRK'leri aktive ederek PLC'yi aktive ederek	Nöronların hiperpolarizasyonu Sinaptik ilefinin baskılanması Presinaptik inhibisyon İskemik önkoşullama
A _{2A}	~ 150 nM	G _s G _{olf} G _{15/16}	Adenilat siklazı aktive ederek Ca ²⁺ kanallarını inhibe ederek	Basal ganglionlarda duyuşal motor iletişimin düzenlenmesi Duyuşal sinir aktivasyonu İskemik hasara karşı koruyuculuk
A _{2B}	~ 5100 nM	G _s G _{q/11}	Adenilat siklazı aktive ederek PLC'yi aktive ederek	Beyin kesitlerinde cAMP'yi artırır Ca ²⁺ kanallarının modülasyonu
A ₃	~ 6500 nM	G _{1,2,3} G _{q/11}	Adenilat siklazı inhibe ederek PLC'yi aktive ederek	Önkoşullama (?)

* Bu tablo Fredholm ve ark., 2001 ve Dunwiddie ve Masino, 2001'den değiştirilerek alınmıştır.
GIRK: G-protein coupled inwardly rectifying K⁺ channel (G-protein kenetli içe doğrultucu potasyum kanalı)
PLC: Fosfolipaz C

Tablo 2.3. P1 reseptör alt tipleri, sinyal iletim mekanizmaları ve beyindeki etkileri (23).

Adenozin reseptörlerinin dağılımı özgül farmakolojik agonist ve antagonistlere sahip olunması nedeniyle daha çok A₁ ve A_{2A} alt reseptör tipleri açısından incelenmiştir.

Beyinde en yaygın bulunan adenosin reseptörü A₁ alt tipidir. Özellikle korteks, serebellum ve hipokampüste yoğun olarak bulunmaktadır. A_{2A} alt tipi ise daha çok striatum, nükleus akkübens, kaudat putamen ve bazal ganglionlarda yoğunlaşmıştır (22).

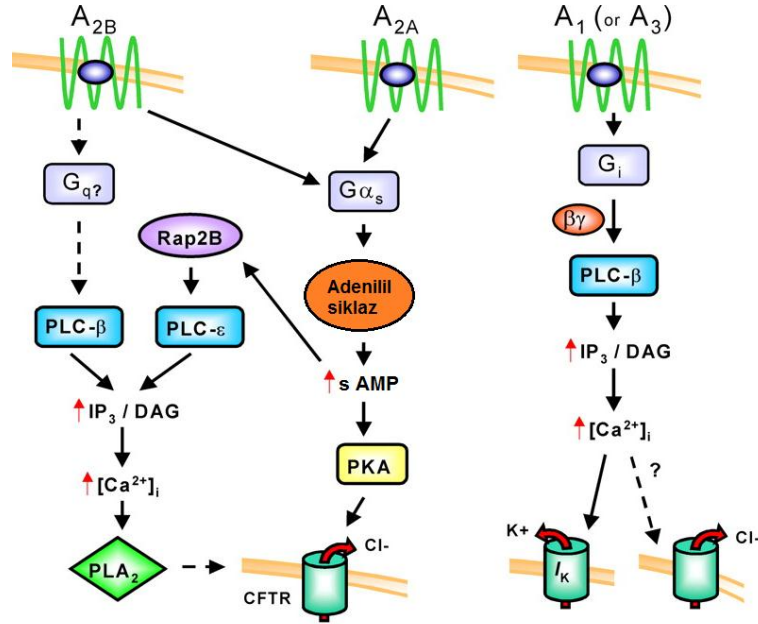
Adenosin reseptörlerinden A₁ ve A₃ reseptörleri G protein ailesinden G_{i/o} proteini aracılığıyla cAMP üretimini inhibe ederken, A_{2A} ve A_{2B} reseptörleri G_s üzerinden cAMP oluşumunu stimüle eder. Hücre tipine bağlı olarak, diğer G protein kombinasyonları ortaya çıkarılmıştır ve tüm adenosin reseptörlerinin mitojen-aktive protein kinazın alt tiplerinden en az birini aktifleştirdiği gösterilmiştir (30).

Adenosin, santral sinir sistemi içinde yer alan nöron gelişimi, nöron-glia sinyallerinde, glia ve nöronların modülasyonunu içeren fonksiyonlarda önemi giderek artmaktadır (31, 32).

Ayrıca, adenosin doğuştan gelen ve edinilmiş bağışıklık sisteminin kontrolünde yer alır. Ayrıca adenosin sisteminin düzensizliği, epilepsiden kaynaklı patolojik düzensizliklerde, nörodejeneratif hastalıklarda ve psikiyatrik durumlarda rol oynar (33).

Buna ilaveten adenosin; lokal kan akımı regülasyonunda yer alan önemli lokal vazodilatatörlerden olup, vazodilatasyon yoluyla dokuya enerji sağlanmasını arttırmak için doku tarafından stres altında oluşturulur ve aynı dokunun stres altındaki enerji gereksinimini de azaltır. Adenosinin doku korunmasına yönelik bu düzenleyici rolüne ek olarak aynı zamanda oluşmuş mevcut iskemiye bağlı gelişebilecek hücresel hasara karşı da koruyucu rol oynamaktadır. Adenosin, bu rollerini özellikle kalp, beyin, böbrek, sempatik sinir hücreleri, endotel hücreleri, lökositler ve trombositler gibi iskemik hasara aşırı duyarlılığı olan doku ve hücre gruplarında oluşturur. Özellikle iskemi sırasında miyokarddan bol miktarda salındığı saptanmıştır. Kalpte Adenosinin etkileri; kalp kası hücreleri, vasküler düz kas hücreleri ve endotelial hücreler üzerinde

direkt etki ile oluşurken, otonom sinir sistemi içindeki sinaptik ileti ve nötrofiller gibi iltihap hücreleri üzerinde indirekt biçimde gerçekleşir (34).



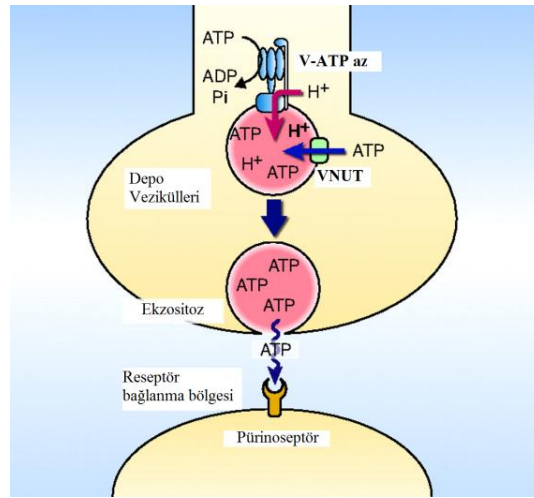
Şekil 2.13. P1 reseptör alt tipleri ve post reseptör olayları (35).

2.2.2. P2 Reseptörleri

ATP de, diğer pek çok nörotransmitter ya da hormon gibi, hücre içine girmeden, hücre zarında yerleşmiş bulunan protein yapıdaki reseptörler aracılığı ile etki gösterir. Bu reseptörler, pürinerjik reseptörler (pürinoseptörler) denilen daha büyük bir reseptör ailesine dahildir. ATP gibi nükleotidler ile aktive olan pürinoseptörlere P2 tipi denmiştir. P2 tipi reseptörler P2X ve P2Y olmak üzere ikiye ayrılmıştır (36).

2.2.2.1. Adenozin Trifosfat ve Diğer Nükleotidlerin Salınımı, Depolanması ve Ekstrasellüler Hidrolizi

ATP ve diğer nükleotidler depolandığı ve salındığı sinaptik veziküllerde yer alırlar. Son olarak ortaya çıkan, SCL17 iyon transporter ailesine ait olan ve veziküler glutamat transportunu da içeren bir Cl⁻ bağımlı veziküler nükleotid transporter (VNUT) kanalları ATP'nin veziküller içerisinde birikmesine, aracılık edebilir. VNUT tercihen ATP, GTP ve ADP'yi tanır (27, 37).

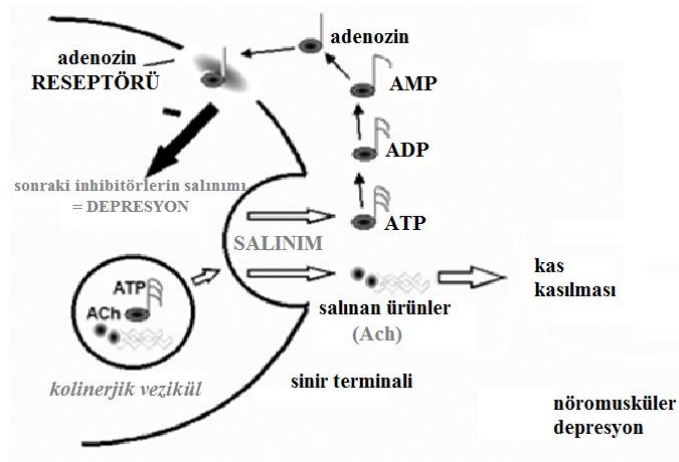


Şekil 2.14. ATP'nin veziküller içerisinde depolanması ve salınımı (38).

ATP, diğer nörotransmitterler (örneğin, gama-aminobütirik asid [GABA], noradrenalin ya da glutamat) ile birlikte salınıp birlikte depolanırlar ve her sinaptik veziküllerde farklı konsantrasyonlarda bulunurlar. Bazı nöronal terminaller ise (medial habenula ve cortex) sadece ATP veziküllerini içeren havuzları bulundururlar. Diğer nükleotid reseptör agonistleri de ortak mekanizmalar tarafından salınırlar (39, 40, 41).

Nükleotid salınım mekanizması ayrıca ATP bağımlı transporter mekanizmasını, konneksin ve panneksin hemi-kanallarını, plazmalemmal voltaj bağımlı iyon kanallarını içerir (40, 42, 43).

ATP ve diğer nükleotidler salınımdan sonra ektonükleotidazlar tarafından hızlı enzimatik yıkılıma maruz kalırlar, bunun fizyolojik önemi vardır çünkü ATP metabolitleri çeşitli pürinerjik reseptörler için fizyolojik ligant olarak görev alırlar (25).

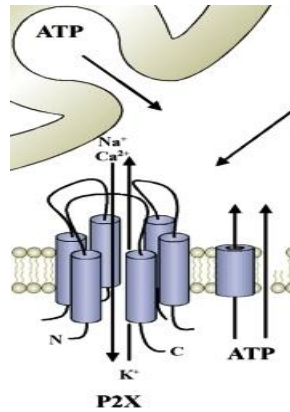


Şekil 2.15. ATP'nin kolinerjik veziküllerden salınımı (44).

2.2.2.2. P2X Reseptörleri

P2X reseptörlerinin iki farklı alt ünitesi ilk olarak 1994 yılında iki bağımsız grup tarafından klonlanmıştır. Daha sonra klonlanan P2X reseptörü sayısı toplam olarak yedi tipe yükselmiştir. Bu yeni P2X alt-tipleri P2X₁₋₇ olarak adlandırılmaktadır. Bu proteinlerin ksenopus oositlerinde, S49 veya HEK hücrelerinde heterolog ifadesi (heterolog expression) sonucu farmakolojik (agonist, antagonist duyarlılığı) ve elektrofizyolojik olarak (aktivasyon/inaktivasyon kinetiği) farklılıklar gösteren iyonik akımları elde edilmiştir. Heterolog olarak ifade ettirilen bu kanallar genelde katyonlara seçicilik gösterir ancak katyonlar arasında fazla ayırım yapmazlar. Bu yedi ana alt-tipin yanısıra bu tiplerin "splice-variant"ı olarak tanımlanan ve aynı gen tarafından

kodlanmasına rağmen mRNA kurgulanması değişiklik gösteren, pek çok protein daha klonlanmıştır. Klonlanan alt-ünite proteinlerinin amino asit dizilerinin incelenmesi sonucu, transmembran segmenti olduğu düşünülen, dört değil sadece iki adet hidrofobik bölgeye sahip oldukları görülmüştür. Bu özellikleri ile P2X reseptörleri diğer ligand bağımlı iyon kanallarına benzememektedir. Yapılan mutasyon çalışmalarından anlaşıldığı kadarı ile genel olarak P2X alt ünitelerinin C ve N uçları hücre içinde bulunurken iki hidrofobik bölgenin arasında yer alan aminoasitler hücre dışında yer almaktadır. P2X reseptörünün bir polimer olduğu bilinmektedir. Yapılan cross-linking çalışmaları, bir araya gelerek fonksiyonel bir kanal oluşturan altünite sayısının üç olduğunu düşündürmektedir. Aynı ya da farklı tipteki alt-ünitelerin bir araya gelerek fonksiyonel P2X kanalları oluşturabildiği gösterilmiştir, yani kanal hem homo hem de hetero-polimer olarak kurulabilmektedir. Birlikte-immünopresipitasyon (co-immunoprecipitation) çalışmalarından anlaşıldığı kadarı ile her alt-ünite tipi herhangi bir başka tip alt-ünite ile birleşmemekte, farklı alt ünitelerin bir araya gelmesinde belirli bir seçicilik görülmektedir. Örneğin P2X₄ sadece P2X₅, P2X₆ ve kendisi ile birleşip fonksiyonel bir iyon-kanalı oluşturabilmektedir, diğer alt-tiplerle ise birleşmemektedir. Buna karşın P2X₇ alt-tipi sadece kendisi ile bir araya gelebilmektedir (4).



Şekil 2.16. İyon kanalı bağımlı P2X reseptörleri (29).

P2X reseptör fenotiplerinin çeşitliliği bireysel alt tiplerin birleşmesiyle belirlenir. Şimdiye kadar altı homomerik (P2X₁-P2X₅ ve P2X₇; P2X₆ altbirimden görünüşte oligomerize değildir) ve altı heteromerik (P2X_{1/2}, P2X_{1/4}, P2X_{1/5}, P2X_{2/3}, P2X_{2/6} ve P2X_{4/6}) kanal tespit edilmiştir (45, 46).

Tüm P2X reseptör alt tipleri nöron hücrelerinde de eksprese edilir. Bu ekspresyon beynin farklı bölgelerinde ve hücrelerinde heterojendir. ATP'nin P2X tipi reseptörler aracılığı ile hem beyinde hem de sempatik gangliyonların sinaptik iletiminde rol aldığı da gösterilmiştir (47, 48, 49).

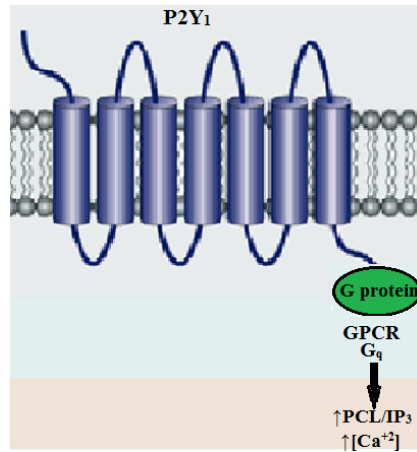
Hücre hasarı sonucu hücre dışına çıkan ATP'nin ağrı duyusunu başlatan mediyatör olabileceği ve aynı zamanda spinal kord arka kök de bu hücrelerin yaptığı sinapslarda nörotransmitter olarak rol alabileceği (P2X₁ ve P2X₂ aracılığı ile), dolayısı ile ağrı duyusunun iletiminde önemli rolü olduğu ileri sürülmüştür. Ayrıca P2X₇ tipi reseptörlerin varlığı, bağışıklık sistemi ile ilgili çeşitli hücrelerde gösterilmiştir. Bu nedenle mast hücrelerinde, lenfositlerde ve makrofajlarda ATP ye karşı görülen yanıtın P2X₇ aracılığı ile oluştuğu düşünülmektedir. P2X₇ reseptörlerinin bağışıklık hücrelerinde görülen apoptotik ve nekrotik değişimlerin oluşumunda önemli rolü olduğu bilinmekle birlikte hücre zarı permeabilizasyonunda sorumlu tek mekanizma olmadığı düşünülmektedir (50, 51, 52).

P2X reseptörlerinin düz kas hücrelerinde varlığı ilk olarak arterlerde gösterilmiştir. Daha sonra vas deferens, mesane, uterus ve mide düz kaslarında da bu reseptörlerin varlığı bildirilmiştir. Yakın zamanda insan safen veni düz kas hücrelerinde benzer özellikte bir P2X reseptörü gösterilmiştir, bu reseptörün aynı zamanda uzun süreli ATP uygulaması sonucu hücre zarı permeabilizasyonuna da neden olduğu öne sürülmüştür (53, 54, 55, 56).

P2X tipi reseptörler ATP nin yanı sıra çeşitli yapay ATP analogları ile de aktive olabilmektedir. Ancak alt tipler arasında bu analoglara duyarlılık açısından önemli farklar vardır. Bu analoglar arasında önemli olanlar benzoil-benzoil ATP (BzATP, P2X₇ alt tipi için spesifik bir agonist kabul edilmektedir), 2 metil-tiyo ATP (2 Me-S-ATP), alfa beta metilen ATP (α , β Me-ATP) olarak sayılabilir. PPADS ve suramin ise seçici olmayan P2X reseptör antagonistleri olarak tanımlanmıştır. Brilliant blue G nin de P2X₇ reseptörleri için seçici bir antagonist olduğu ileri sürülmüştür (4).

2.2.2.3. P2Y Reseptörleri

Metabotropik P2Y reseptörleri de protein kinazlara sahip ekstrasellüler NH₂ terminalleri ve hücre içi COOH terminalleri içerir. Yedi transmembran bağlanma bölgesi diğer bazı transmembran bölgeleri ile yüksek homoloji gösterirler. Diğer taraftan G_{q/11}, G_s, G_i ile G_{i/o} proteinleriyle kenetli olması P2Y reseptör alt tiplerinin önemli özellikleridir (25).

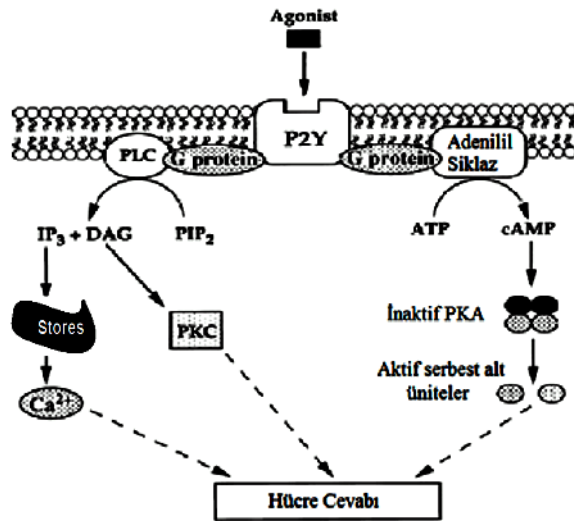


Şekil 2.17. P2Y reseptörlerinin yapısı (57).

Ligant bağlanmasında ve post reseptör bölgede G-protein bağlanmasının seçiciliğinde aminoasitlerin varlığı önemlidir. Seçiciliklerine göre P2Y reseptörleri P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆ ve P2Y₁₁ alt sınıfları ile P2Y₁₂, P2Y₁₃ ve P2Y₁₄ alt grupları olarak ikiye ayrılırlar. Her bir P2Y reseptörü tekli bir heteromerik G proteiniyle (P2Y_{1,2,4,6} reseptörleri için G_{q/11}) bağlı olmasına rağmen, P2Y₁₁ hem G_{q/11} hem de G_s proteinleriyle kaplı olabilir. Diğer taraftan P2Y₁₂ ve P2Y₁₃ G_i ile ve P2Y₁₄ ise G_{i/o} ile bağlıdır (58, 59, 60).

Birinci gruptaki reseptörler, fosfolipaz C/inozitol trifosfat (IP₃) ve endoplazmik retikulumdan Ca²⁺ salınım yolağını G_{q/11}'i kullanarak aktive ederken, ikinci gruptaki reseptörler adenilaz siklazın inhibisyonu ve iyon kanallarının modülasyonunda yalnızca G_{i/o}'ı kullanır (60, 61).

Farklı G proteinlerle kenetli aynı P2Y reseptörleri de olabilir. Varolan agonistin spesifik sinyalleri farklı aktif reseptör konfigürasyonlarını içerir. Örneğin, P2Y₁₁ reseptörlerinin ATP tarafından aktivasyonu cAMP, IP₃ ve sitozolik Ca²⁺'yi artırırken, UTP ürünleri tarafından aktivasyonu IP₃ ve cAMP olmaksızın Ca²⁺ mobilizasyonunu artırır (62).



Şekil 2.18. P2Y reseptörü ve post reseptör olayları (63).

Bazı P2Y reseptörleri hem pürin hem de pirimidin nükleotidleri (P2Y_{2,4,6}) tarafından, diğerleri (P2Y_{1,11,12}) ise yalnız pürin nükleotidleri tarafından aktive edilirler. Buna karşılık, rekombinant P2Y reseptörlerini nükleotitler, ya fosfolipaz C (PLC) aktivasyonu ve hücre içine Ca salınımıyla ya da adenilil siklazın etkisi ve cAMP düzeylerinin değişimi ile aktive ederler (25).

P2Y'nin urasil nükleotidlerine cevap veren reseptörlerinin sisteinil lökotrienleri (cysLTs) tarafından da aktive edildiği rapor edilmiştir. P2Y₁₂ de ADP ve sisteinil - lökotrienleri (cysLTs) tarafından aktive edilir, cysLTs ve nükleotidler gibi ikili nükleotid cevapları P2Y ve P2Y benzeri bazı reseptörlerle ortak olabilir (25).

2-Metiltiyo-ADP, memeli P2Y₁ reseptörleri için güçlü bir agonisttir ve N6-metil-2-deoksiadenosine 3,5-bisphosphate (MRS2179), MRS2269 ve MRS2286 selektif antagonist olarak belirlenmiştir. Sıçanlarda P2Y₂ ve P2Y₄ reseptörlerinde UTP ve ATP eşit güçte etki gösterir, fakat iki reseptörde antagonistler ile ayırt edilebilir. Suramin P2Y₂'yi bloklar iken, reaktif blue 2 P2Y₄ reseptörlerini bloke eder (64, 65, 66).

P2Y₆, UDP selektif iken P2Y₇ bir lökotriyen reseptörüne dönüşür. P2Y₈, kurbağa embriolarından klonlanmış bir reseptördür ve bu reseptör üzerinde bütün agonistler eşit güçtedir. Fakat memeli olmayan homologlarda farklılaşmamış HL60 hücrelerinde P2Y₈ mRNA'sına dair veri belirtilmemiştir (67, 68, 69).

P2Y reseptör alt tiplerinin bir temsili olarak görünen ve P2Y₁₃ ve P2Y₁₄'üde kapsayan reseptörlerin iletimi tamamen adenilat siklaz aracılığıyla gerçekleşir (70).

2.3. Pürinerjik Reseptörlerin Sitidin Trifosfata Duyarlılığı

Bugün birçok düz kaslı dokuda (damar, mide barsak sistemi, mesane vs.), epitel (trakea, böbrek vs.) ayrıca kalp ve iskelet kası ile endokrin-ekzokrin salgı (tükrük bezleri, pankreas alfa hücreleri) hücrelerinde ve bağışıklık sistemine ait hücrelerde (mast hücreleri, makrofajlar ve lenfositler), kohleadaki tüy hücrelerinde, çeşitli otonom ve santral nöronların gövdelerinde ve birçok hücre hattında (cell-line) ATP reseptörlerinin varlığı gösterilmiş durumdadır. Sonuç olarak, bugünkü bilgilerimizin ışığında, organizmada ATP nin kardiyovasküler sistemden ürogenital sisteme pek çok farklı yerde bir transmitter olarak görev yapmaktadır. Ayrıca ATP dışındaki, adenozin, adenozin difosfat (ADP), sitidin trifosfat (CTP), uridin trifosfat (UTP) gibi, başka pürin ve pirimidin birleşiklerinin de kendilerine özgü pürinerjik reseptörler aracılığı ile hücrel sinyal iletiminde rol oynamakta olduğu bilinmektedir (70).

P2Y reseptörlerinin adenin nükleotidleri için selektivitesi gösterilmiş ve güç sıraları 2-metiltiyo-ATP (2-MeSATP) >ATP = ADP iken diğer pirimidin nükleotidleri etkisiz bulunmuştur. Buna karşın pürinler P2Y reseptörlerinin alttipi olan P2U'lara tam bir spesifite göstermemiş ve güç sıraları; ATP = UTP > ITP >CTP şeklindedir. ADP ve UDP diğer nükleotid trifosfatlarla karşılaştırıldığında daha zayıf bir agonist olduğu gösterilmiştir. Diğer taraftan CTP'ın P2X₄ reseptörleri üzerinde de agonist etki gösterdiği bulunmuştur. P2X₆ ve P2X₇ reseptörleri düz kas dokusu katmanlarında belirlenmemiştir. P2X₇ reseptörlerinin yapılan bir çalışmada tercih edilen agonisti CTP olarak belirlenmiştir (4, 25, 71, 72).

2.4. Ürogenital, Gastrointestinal ve Solunum Sistemlerinde Pürinerjik Reseptörlerin Rollerini

2.4.1. Gastrointestinal Sistemde Pürinerjik Reseptörlerin Roller

Kobay barsaklarında adrenerjik ve kolinerjik sinir iletimi bloke edildikten sonra düz kas hücresi direkt olarak uyarıldığında veya dışarıdan ATP verildiğinde kasın gevşemesine neden olan bir hiperpolarizasyon meydana gelir. Bu gevşeme kısa sürede maksimuma erişip aniden kaybolur. Pürinerjik sinirlerin, sindirim kanalında uyarılması, inhibitör kavşak potansiyeli meydana getirir. Hücre membranının potasyum iyonuna geçirgenliği artar. Pürinlerin, mide-barsak sisteminin normal çalışmasına katkıda bulunabileceği bilinmektedir. Mide fundusunda gastrik asid sekresyonunu keza pankreatik sekresyonu modüle eden pürinerjik reseptörler mevcuttur (11). Dışarıdan idrar kesesine verilen ATP veya idrar kesesine ait pürinerjik sinirlerin uyarılması, çabuk sona eren hızlı bir kontraksiyona neden olur (11).

2.4.2. Ürogenital Sistemde Pürinerjik Reseptörlerin Roller

Pürinler, diğer damar yataklarının aksine böbrek damarlarında vazokonstrüktör etkiye sahiptirler (11).

Mesane ve idrar kanalı, fizyolojik olarak intramural, spinal ve supraspinal düzeylerden gelen kompleks bir sinirsel kontrol altındadır. Sempatik sinir sistemi, mesanenin dolumu sırasında, gelişen eksitatör transmisyonu inhibe etmektedir, ayrıca, mesane boynu ve idrar kanallarının kapalı tutulmasında etkinlik göstermektedir. Oysa parasempatik sistem, mesane düz kasının kontraksiyonunda ve çıkış yapılarının gevşetilmesinde etkinlik göstermektedir. Asetilkolin ve ATP, mesanede, eksitatör postgangliyonik parasempatik nöromusküler transmisyona aracılık etmektedirler. Mesane boynu ve üretranın uyarılması postgangliyonik sempatik sinirler aracılığı ile olmaktadır ve adrenerjik özellik göstermektedir (73, 74).

Adenozinin renin salgılanması üzerine bifazik etkileri bildirilmiştir. Adenozin, düşük konsantrasyonlarda A_1 reseptör aktivasyonu ile renin salgılanmasını inhibe ederken, yüksek konsantrasyonlarda A_2 reseptör aktivasyonu ile renin salgılanmasını stimüle eder. Afferent arteriollerde her iki reseptör tipi, efferent arteriollerde ise sadece A_2 reseptör mevcudiyeti bildirilmiştir (11).

Adenozin, böbreklerden sodyum atılımını artırır, glomerül filtrasyon hızını azaltır. Sodyum birikiminde makula densa hücrelerinden salgılanan adenozin renin salgılanmasını modüle eder. Ayrıca adenozin, $P1$ reseptör aktivasyonu ile surrenal korteksde steroidojenizin aktivasyonuna neden olur (11).

Pankreas da dahil olmak üzere gastrointestinal sistemde kan akımı mide sinirleri ile hormonal ve parakrin sinyal molekülleri tarafından kontrol edilir. Barsak otonom sinir sisteminin parçası olan parasempatik ve sempatik bölümler ile enterik sinir sistemini (ENS) içerir. ENS gastrointestinal sistemde yer alır ve otonom sinir sisteminin bölümüdür. Gastrointestinal sistemde uyarı vagal afferent duyuşal ve spinal duyuşal afferent sinirler tarafından sağlanır. Sindirim sisteminde otonom sinirlerden salınan birçok nörotransmitter vardır ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda pürinlerin de barsaklarda gastrointestinal motilite, sekresyon, kan akımı, duyuşal kontrolü gibi işlevlere katkıda bulunan ve bağışıklık işlevi olan önemli nörotransmitterler olduğunu göstermektedir. ATP, enterik gangliyonlarda bulunan $P2X$ ve $P2Y$ reseptörleri için önemli bir eksitator nörotransmitterdir; enterik gangliyon ve düz kaslarda bulunan pürinerjik nörotransmisyon motilite kontrollerini ve itici motilite paternlerini denetleyen önemli bir bileşenidir. Pürinerjik iletim kas tabakalarının kasılma ve gevşemesi arasındaki koordinasyonu kolaylaştırır (75).

Myenterik pleksusta ve kas tabakalarında pürinerjik transmisyon, gastrointestinal kanalın normal itici parerni için önemlidir, buna ilaveten önemli bir sekretomotor komponentidir. Ayrıca, ATP ve diğer pürinler enterokromafin hücreleri de dahil olmak üzere non-nöronal hücrelerin türlerinden parakrin sinyal mekanizmaları yoluyla sekretomotor kontrole katkıda bulunabilir (75).

Kobay barsaklarında adrenerjik ve kolinerjik sinir iletimi bloke edildikten sonra düz kas hücresi direkt olarak uyarıldığında veya dışarıdan ATP verildiğinde kasın gevşemesine neden olan bir hiperpolarizasyon meydana gelir. Bu gevşeme kısa sürede maksimuma erişip aniden kaybolur. Pürinerjik sinirlerin, sindirim kanalında uyarılması, inhibitör kavşak potansiyeli meydana getirir. Hücre membranının potasyum iyonuna geçirgenliği artar. Noradrenalin ve sempatik sinirlerin uyarılması da barsaklarda gevşeme meydana getirir. Fakat bu gevşeme, çok yavaş maksimum değere ulaşır ve bu seviyede uzun süre kalır. Burada ATP ve noradrenalin, farklı reseptörler fakat aynı iyon kanallarını etkilerler. Pürinler, mide-barsak sisteminin normal çalışmasına katkıda bulunabilirler. Mide fundusunda asid sekresyonunu keza pankreatik sekresyonu modüle eden pürinerjik reseptörler mevcuttur (11).

2.4.3. Solunum Sisteminde Pürinerjik Reseptörlerin Rollerini

Trakea, ventilasyonu ve aynı zamanda bronşiyal sekresyonun drenajını sağlayan fonksiyonlarına sahip bir yoldur. Hastalıklarda pürülan materyal ve kanın atıldığı yoldur. Basit bir tüp olarak görüldüğünde trakea, cerrahi rekonstrüksiyon ve hastalıklı segmentin çıkarılıp replasman yapılabilecek bir yapı gibidir. Ancak, bu rekonstrüksiyon ve replasman, trakeanın anatomik özelliklerinden dolayı bazı zorluklar içermektedir. Bunlar: Benzersiz yapısı, tek olan lateral yarı rijid yapısı, fakat longitudinal elastikliği, majör vasküler yapılarla yakınlığı ve geniş segmental beslenmesidir (76).

Trakea üzerinde yapılan bir çalışmada kistik fibrozis hücrelerinde ATPaz'ın substrat spesifitesine bakıldığında CTP'ın, ATP, ITP, GTP ve UTP'ye göre spesifitesinin daha az olduğu bulunmuştur. Ayrıca, fosforile edilmiş kistik fibrozis transmembranal konduktans regülatör (CFTR) klorür kanallarının açılmasında nükleotidlerin etki güçlerinin ATP=GTP>ITP>CTP olduğu da gösterilmiştir (77).

Benzer bir şekilde, epitelyum silyal hücrelerinde, ATPaz'ın enzimatik hidrolizinin karakterizasyonunda Mg^{2+} içeren CTP solüsyonun da katkı sağladığı görülmüştür (78).

Ek olarak, bronşiyal siliyer epitelyum hücreleri tarafından eksprese edilen P2X reseptörleri silyaların titreşimini kontrol ettiği ve böylece havayollarından mukus atılımını gerçekleştirdiği ortaya çıkarılmıştır. Bu konunun kistik fibrozisi içeren akciğer hastalıklarındaki önemi açıktır. Havayollarının mukozal sekresyondan temizlenmesinde siliyer epitelyumun kritik rol oynadığı bilinmektedir. P2Y₂ ve β 2-adrenerjik reseptör agonistleri gibi siliyer titreşimi arttıran ajanlar bazı kronik ve akut solunum hastalıklarının tedavisinde önemli rol oynamaktadır. Bununla birlikte ATP hem P2Y hem de P2X reseptörlerinin aktivasyonu aracılığıyla, burun, trakea ve çeşitli epitelyum dokularının siliyer epitelyum hareketlerini arttırdığı da gösterilmiştir (79, 80).

Gastrointestinal sistemde, ürogenital sistemde ve solunum sistemlerinde pek çok aktivitenin düzenlenmesinde pürinerjik reseptörlerin rol aldığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Diğer taraftan CTP'nin pürinerjik reseptörler üzerinde agonist etki gösterdiği bilinmektedir. Ancak bu reseptörlerin farklı alt tipleri, her bölgede bölgede farklı yoğunlukta olduğundan henüz bilinmeyen farklı yollar ve/veya reseptörler kullanmış olabileceğinden yapılan çalışmalarda etki güçleri çeşitli bölgelere göre değişiklik göstermiştir. CTP'nin sistemler üzerindeki etkilerine dair çok fazla bir çalışma olmamakla beraber P2X ve P2Y reseptörleri üzerinde etkiler gösterdiğine dair bazı çalışmalar yapılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanı

Deneylerde Mersin Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinden sağlanan 8 haftalık 200-300 g ağırlığında erkek Wistar albino türü sıçanlar kullanıldı. Çalışmalara başlamadan önce Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulundan onay alındı. Deney hayvanları 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda, % 40-60 nem oranı 22 ± 1 °C sabit oda ısısı sağlanan Mersin Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında barındırıldı. Sıçanlar planlanan deney gününden bir gece önce Anabilim Dalına getirilerek, su kısıtlaması yapılmadan yemleri alınarak bir gece aç bırakıldı.

3.2. Deneyde Kullanılan Kimyasallar

Potasyum klorür (KCl; Merck 1.04936.1000)
Karbamilkolin klorür (Karbakol; Sigma C4382)
Sitidin 5'trifosfat (CTP; Sigma C 1506)
Suramin (Sigma S 2671)
8-(p-Sülfenil) teofilin (8-sPT; Sigma A013)
Brilliant Blue G (BBG; Sigma 27815)
NF 110 (Tocris 2548)
NF 449 (Tocris 1391)
Procion Blue HB (Reactive Blue; Acros Organics 191430250)

3.3. Krebs Solüsyonunun Hazırlanması

Krebs solüsyonu, NaCl 118 mM, KCl 4.8 mM, CaCl₂ 2.5 mM, MgSO₄ 1.2 mM, NaHCO₃ 25 mM, KH₂PO₄ 1.2 mM ve glukoz 11mM konsantrasyonda hazırlandı.

3.4. Trakeanın, Gastrik Fundusun ve Mesanenin İzolasyonu ve Hazırlanması

Sıçanlar servikal dislokasyonla öldürüldü ve hemen batin ve göğüs boşluğu açıldı trakea, mesane ve gastrik fundusları hızla izole edildi. Dokular buz üzerinde, içerisinde Krebs solüsyonu bulunan bir petri kabına alındı ve çevre dokulardan temizlendi. Mesane içerisindeki idrar boşaltıldıktan sonra sirküler kesi ile bir mesaneden iki şerit hazırlandı. Aynı şekilde gastrik fundus içeriği temizlendikten sonra 2 sirküler şerit elde edildi. Trakeadan ise her biri 2 mm olacak şekilde yaklaşık 8 halka elde edildi ve daha sonra bu halkalar birbirlerine ipler yardımıyla zincir misali bağlanarak hazırlandı. Bir trakeadan iki zincir preparat elde edildi.

3.5. Organ Banyosu Deneyleri

Elde edilen trakea halkaları, mesane ve gastrik fundus şeritleri organ banyosunun metal kancalarından bir ip aracılığıyla izometrik transdüsera bağlandı. İki ayrı set-up kullanılarak biri kontrol diğeri deney gurubu olmak üzere iki trakea, iki mesane ve iki gastrik fundus dokusu çalışıldı. Asılı olan trakea ve mesane halkalarına 1 gr, gastrik fundus şeritlerine 1,5 gr ön gerilim verildi. Dokular 37 °C'ye kadar ısıtılmış % 95 O₂ ve %5 CO₂ ile devamlı gazlandırılan Krebs solüsyonu içerisinde 1 saat kadar dengelenmeye bırakıldı. Bu süre boyunca preparatların içinde bulunduğu krebs solüsyonu her 20 dk'da bir değiştirildi.

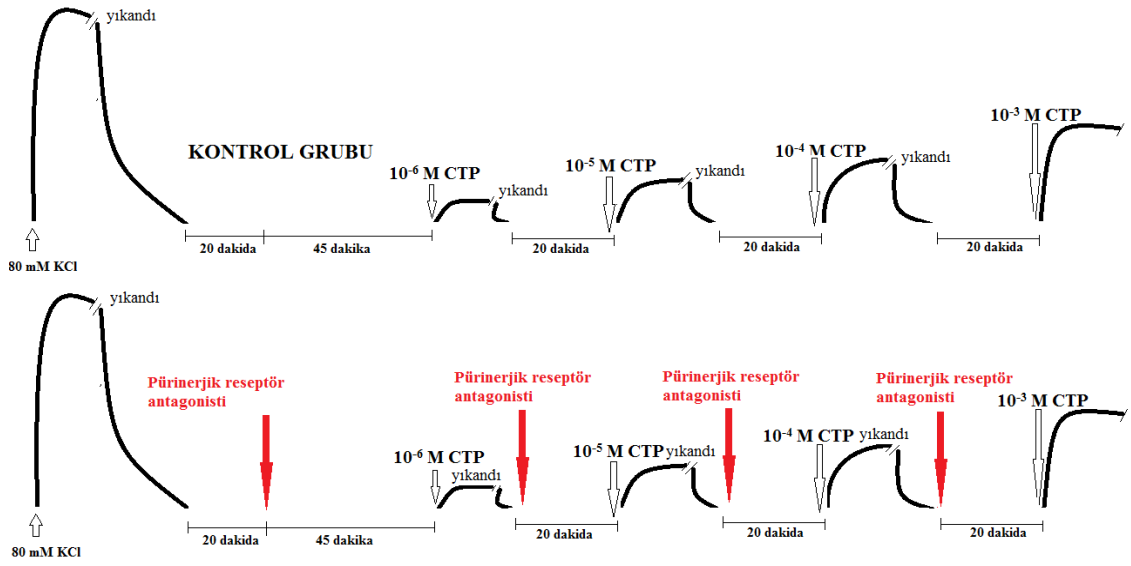
Dokuların tonusundaki değişiklikler “force displacement transducer” (COMMAT, Ankara, Türkiye) aracılığı ile izometrik olarak ölçüldü ve Biopac kayıt sistemi (Biopac systems Inc., CA, USA) ile veriler bilgisayar ortamında kaydedildi.

3.5.1. Deney Planı

Dokular, dengelenme sonrası 80 mM KCl ile kastırılarak maksimum kasılma verileri (yaklaşık 5-6 dakika) elde edildi. Banyo ortamı KCl'dan arındırılacak şekilde 3-4 kez yıkandı ve 20 dakika kadar dokular dinlendirildi. Gastrik fundus, mesane ve trakea preparatlarından biri kontrol diğeri deney grubu olarak değerlendirildi.

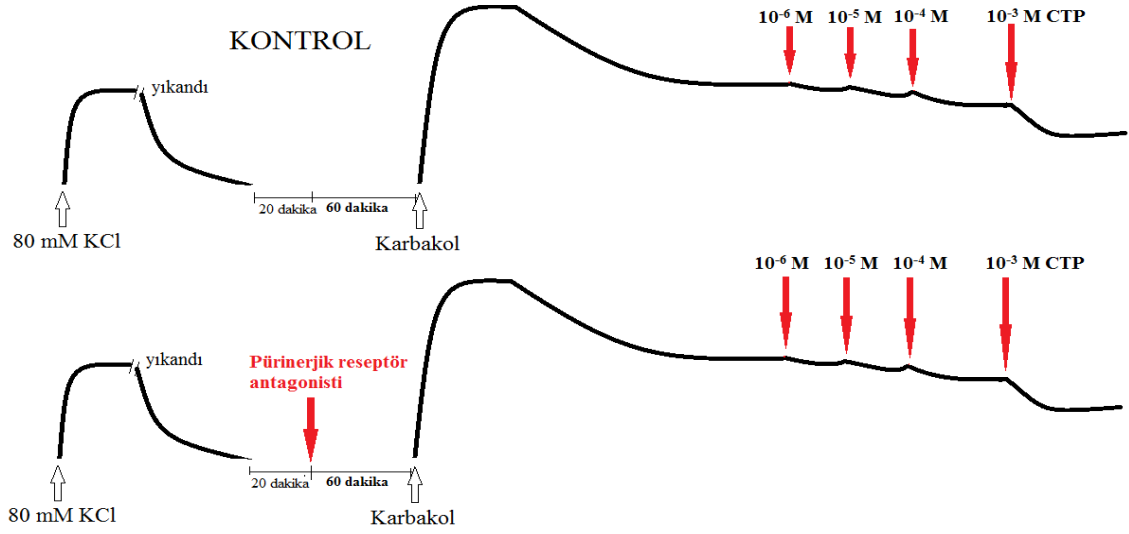
İlk protokolde, CTP'nin söz konusu dokulardaki kastırıcı etkileri incelendi. Aynı organdan elde edilen iki şeritten biri kontrol grubu olarak belirlenirken ve diğeri doku ise pürinerjik reseptör antagonisti kullanılan grup olarak belirlendi. Pürinerjik reseptör antagonistleri, KCl kasılmasını takiben dokular yıkandıktan 20 dakika sonra verildi ve 45 dakika inkübe edildi. Kontrol gruplarına ise herhangi bir uygulanma yapılmadı. Daha sonra, her bir dokuya CTP (10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M ve 10^{-3} M konsantrasyonlarında) uygulandı. Her bir uygulamadan sonra preparatlar dörder kez taze Krebs solüsyonu ile yıkılarak 20 dakika dinlendirildi ve diğeri konsantrasyon uygulaması yapıldı. Antagonistlerin test edildiği preparatlarda her yıkamadan sonra antagonist uygulaması yenilendi. Test edilen pürinerjik reseptör antagonistleri ve uygulanan konsantrasyonları aşağıda belirtilmiştir:

1. Suramin (Selektif olmayan P2 reseptör antagonisti): 2×10^{-4} M (n=8)
2. 8-sPT (P1 reseptör antagonisti): 2×10^{-4} M (n=8).
3. NF449 (P2X₁ reseptör antagonisti): 2×10^{-5} M (n=8).
4. NF110 (P2X₃ reseptör antagonisti): 2×10^{-5} M (n=8).
5. Brilliant Blue G (P2X₇ reseptör antagonisti): 2×10^{-5} M (n=8).
6. Reactive Blue (P2Y reseptör antagonisti): 3×10^{-5} M (n=8).



Şekil 3.1. Birinci deney protokolü.

İkinci protokolde ise, karbakol ile ön kastırılmış dokular üzerinde, CTP'nin (10^{-6} - 10^{-3} M, kümülatif) etkileri pürinerjik reseptör antagonistleri varlığında ve yokluğunda test edildi. Her bir organdan elde edilen doku şeritlerinden biri kontrol grubu olarak seçildi. Diğer grup ise pürinerjik reseptör antagonistine maruz bırakıldı. KCl ile kasılma oluşturulduktan sonra dokular 20 dakika dinlendirildi ve antagonist grubu 60 dakika pürinerjik reseptör antagonisti ile inkübe edildi. İnkübasyondan sonra gastrik fundus 5×10^{-7} M, mesane ve trakea dokuları ise 10^{-6} M karbakol ile kastırıldı. Ölçülebilir bir tonus oluşturulan dokular üzerinde CTP 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M ve 10^{-3} M konsantrasyonlarında kümülatif olarak uygulandı. CTP ile oluşturulan gevşeme yanıtları, yukarıda bahsedilen antagonistlerin varlığında ve yokluğunda test edildi.



Şekil 3.2. İkinci deney protokolü.

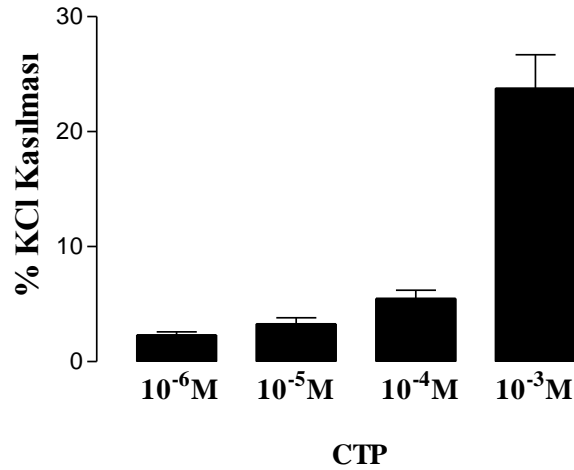
3.6. Verilerin Analizi

Deney gruplarında trakea, mesane ve gastrik fundusun antagonist varlığında ve yokluğunda CTP'ye verilen kasılma yanıtları, 80 mM KCl indüklenen kasılma cevaplarının yüzdesi olarak hesaplandı. CTP'ye verilen gevşeme cevapları ise karbakol kasılmalarının yüzdesi olarak ifade edildi. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve post hoc test olarak Dunnett's veya Bonferroni kullanıldı. Tüm değerlendirmeler, GraphPad Prism programı ile bilgisayar ortamında yapıldı. $P < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. CTP'nin İzole Sıçan Gastrik Fundusu Üzerine Etkileri

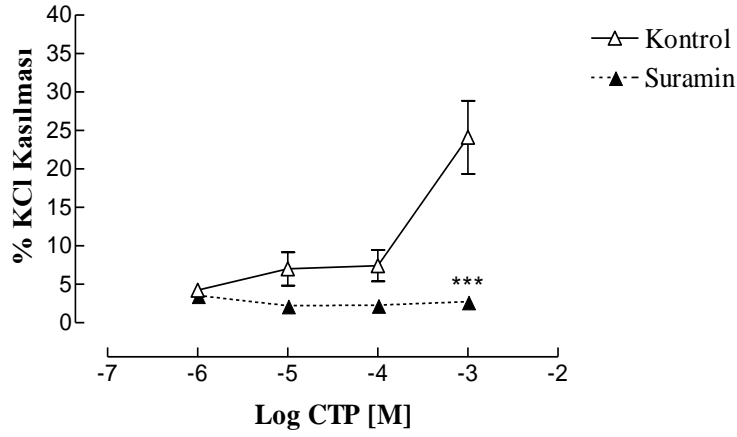
CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M) sıçan gastrik fundus dokularında, konsantrasyon bağımlı, kasılmalar oluşturdu. CTP, en yüksek konsantrasyonda (10^{-3} M), KCl kasılmasının yaklaşık % 25'i kadar kasılma oluşturdu (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. İzole sıçan gastrik fundusu sirküler şeritlerinde CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin etkileri. CTP artan konsantrasyonlarda uygulandı. Dokular her bir konsantrasyonda maksimum kasılma elde edilinceye kadar ilaca maruz bırakıldı. Bu süre yaklaşık 5-10 dakika idi. Kararlı kasılmalar elde edildikten sonra dokular taze Krebs solüsyonu ile yıkandı ve bir sonraki konsantrasyon uygulanıncaya kadar 20 dakika inkübe edildi. 10^{-3} M CTP KCl kasılmasının %25'i kadar kasılma oluşturdu. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Dunnett's Multiple Comparison testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (n=50).

4.1.2. Non-selektif P2 Reseptör Antagonisti Suraminin CTP Kasılmalarına Etkileri

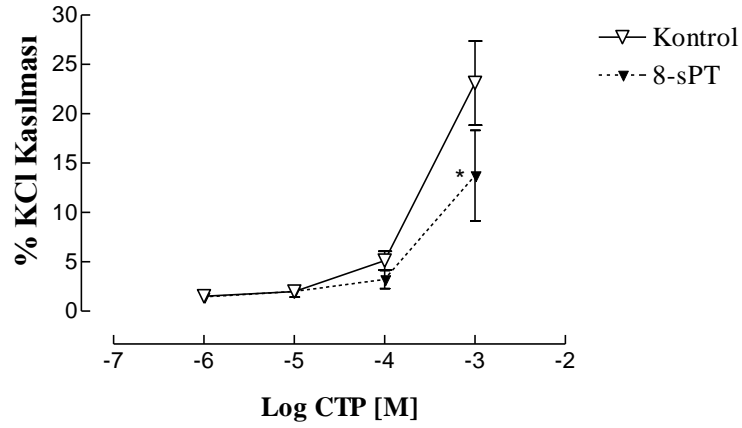
CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin sıçan gastrik fundus dokularında oluşturduğu konsantrasyon bağımlı kasılma cevapları, P2 reseptör antagonisti suramin (2×10^{-4} M) varlığında ve yokluğunda test edildi. Suramin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CTP'nin oluşturduğu kasılma cevaplarını tamamen inhibe etti (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin suramin varlığında ve yokluğunda izole sıçan gastrik fundusu üzerine etkileri. Suramin, CTP'nin kasıtırıcı etkisini anlamlı şekilde inhibe etti. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (2×10^{-4} M n=10). ***: $P < 0.001$.

4.1.3. P1 Reseptör Antagonisti 8-(sülfo) Fenil Teofilinin CTP Kasılmalarına Etkileri

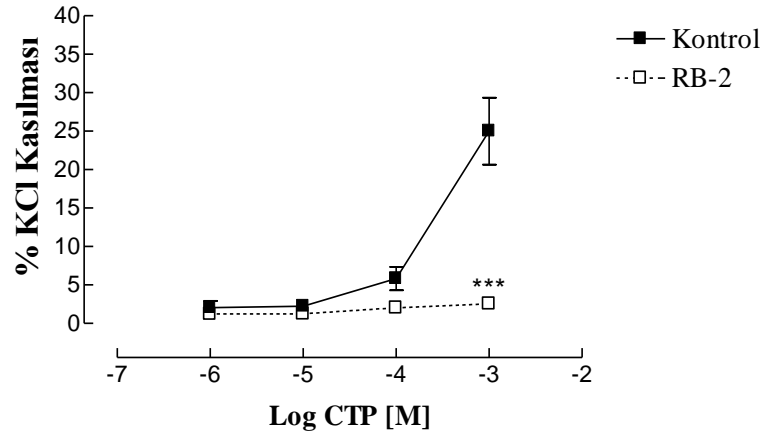
CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin sıçan gastrik fundus dokularında oluşturduğu konsantrasyon bağımlı kasılma cevapları, P1 reseptör antagonisti olan 8-sPT (2×10^{-4} M) varlığında ve yokluğunda tekrarlandı. CTP'nin oluşturduğu kasılma cevapları 8-sPT tarafından anlamlı bir şekilde inhibe edildi.



Şekil 4.3. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin suramin varlığında ve yokluğunda izole sıçan gastrik fundusu üzerine etkileri. Suramin, CTP'nin kasılma etkisini anlamlı şekilde inhibe etti. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (2×10^{-4} M n=8). *: $P < 0.05$.

4.1.4. P2Y Reseptör Antagonisti Reactive Blue 2'nin CTP Kasılmalarına Etkileri

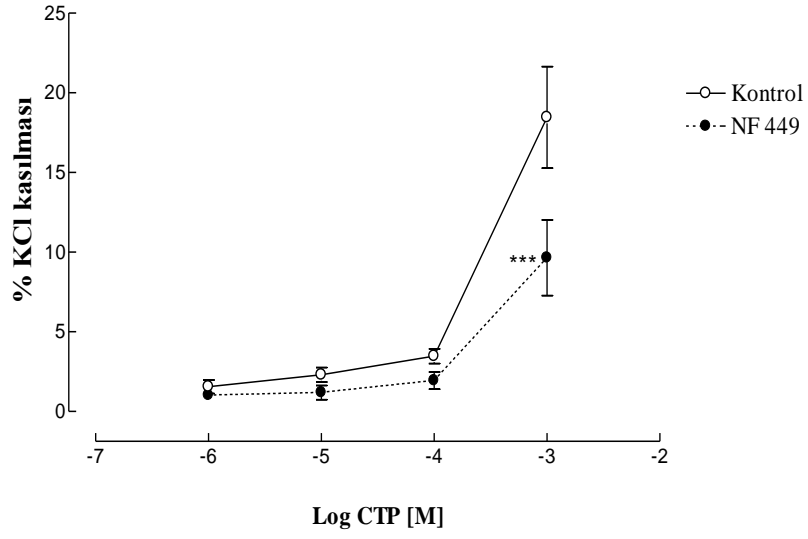
CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin sıçan gastrik fundus dokularında oluşturduğu konsantrasyon bağımlı kasılma cevapları, P2Y reseptör antagonisti Reactive Blue 2 (RB-2) (3×10^{-5} M) varlığında ve yokluğunda tekrarlandı. RB-2, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CTP'nin oluşturduğu kasılma cevaplarından yalnızca 10^{-3} M konsantrasyondaki cevabı inhibe etti.



Şekil 4.4. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin RB-2 varlığında ve yokluğunda izole sıçan gastrik fundusu üzerine etkileri. RB-2, CTP'nin kasılma etkisini anlamlı şekilde inhibe etti. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (3×10^{-5} M n=10). ***: $P < 0.001$.

4.1.5. P2X₁ Reseptör Antagonisti NF 449'un CTP Kasılmalarına Etkileri

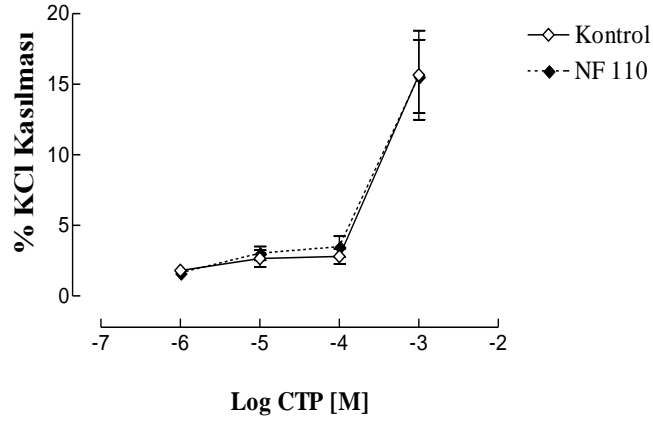
CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin sıçan gastrik fundus dokularında oluşturduğu konsantrasyon bağımlı kasılma cevapları, P2X₁ Reseptör Antagonisti NF 449 (2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğunda tekrarlandı. NF 449, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CTP'nin oluşturduğu kasılma cevaplarından yalnızca 10^{-3} M konsantrasyondaki cevabı istatistiksel bakımdan anlamlı olarak inhibe etti.



Şekil 4.5. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin NF 449 varlığında ve yokluğunda izole sıçan gastrik fundusu üzerine etkileri. NF 449, CTP'nin kasılma etkisini anlamlı şekilde inhibe etti. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (2×10^{-4} M n=10). ***: $P < 0.001$.

4.1.6. P2X₃ Reseptör Antagonisti NF 110'un CTP Kasılmalarına Etkileri

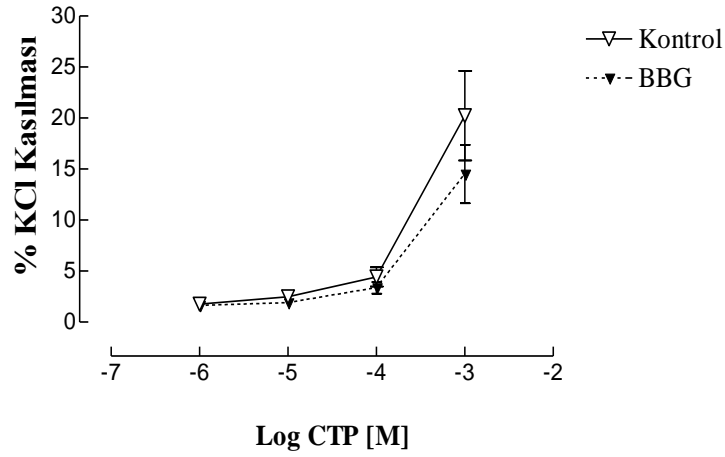
CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin sıçan gastrik fundus dokularında oluşturduğu konsantrasyon bağımlı kasılma cevapları, P2X₃ reseptör antagonisti NF 110 (2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğunda tekrarlandı. NF 110, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CTP'nin oluşturduğu kasılma cevaplarını değiştirmedii.



Şekil 4.6. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin NF 110 varlığında ve yokluğunda izole sıçan gastrik fundusu üzerine etkileri. NF 110, CTP'nin gastrik fundus üzerindeki kasılma etkisi üzerinde bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (2×10^{-4} M n=8).

4.1.7. P2X₇ Reseptör Antagonisti Brilliant Blue G'nin CTP Kasılmalarına Etkileri

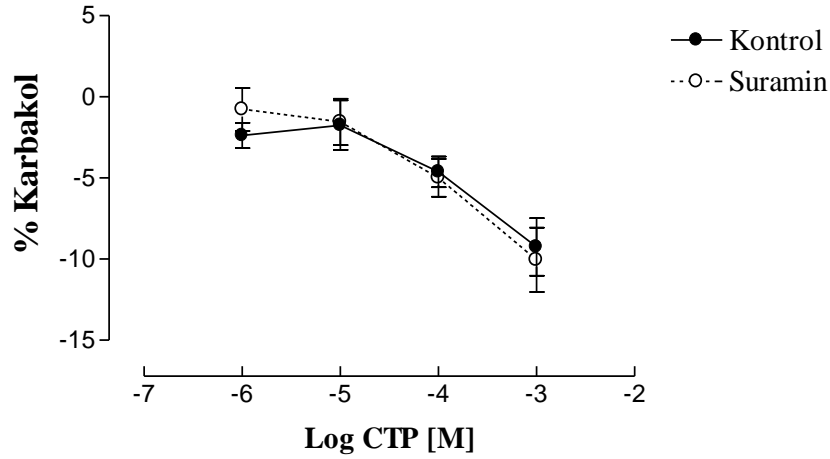
CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin sıçan gastrik fundus dokularında oluşturduğu konsantrasyon bağımlı kasılma cevapları, P2X₇ reseptör antagonisti Brilliant Blue G (BBG) (2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğunda tekrarlandı. BBG, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CTP'nin oluşturduğu kasılma cevaplarını değiştirmedir.



Şekil 4.7. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin BBG varlığında ve yokluğunda izole sıçan gastrik fundusu üzerine etkileri. BBG, CTP'nin gastrik fundus üzerindeki kasılma etkisi üzerinde bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (2×10^{-4} M n=8).

4.1.8. Suramin'in, Karbakol ile Ön Kastırılmış Gastrik Fundus Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi

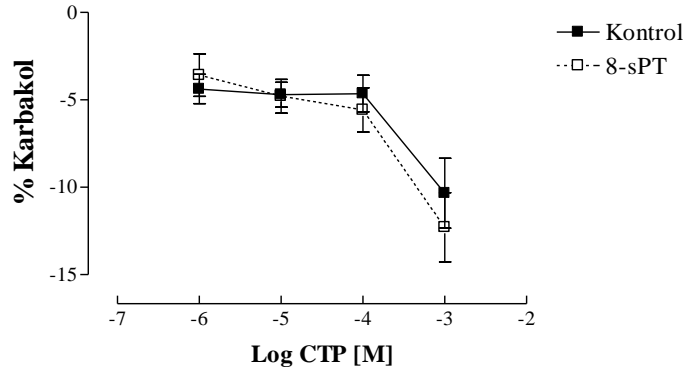
Sıçan gastrik fundus şeritleri suramin (2×10^{-4} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (5×10^{-7} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Kasılma stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. CTP, gastrik fundus dokularında konsantrasyon bağımlı olarak minyatür gevşemeler oluşturdu; bu gevşemeler CTP'nin kullanılan maksimum konsantrasyonunda bile karbakol kasılmasının %10-15'ini geçmedi. Suramin, CTP'nin ön kastırılmış gastrik fundus dokularında oluşturduğu gevşeme cevaplarında hiçbir değişiklik oluşturmadı.



Şekil 4.8. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (5×10^{-7} M) ile ön kastırılmış dokuda, suramin (2×10^{-4} M) varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri. Suramin, CTP'nin gastrik fundus üzerindeki gevşetici etkisine bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (2×10^{-4} M n=8)

4.1.9. 8-(sülfo) Fenil Teofilin'in, Karbakol ile Ön Kastırılmış Gastrik Fundus Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi

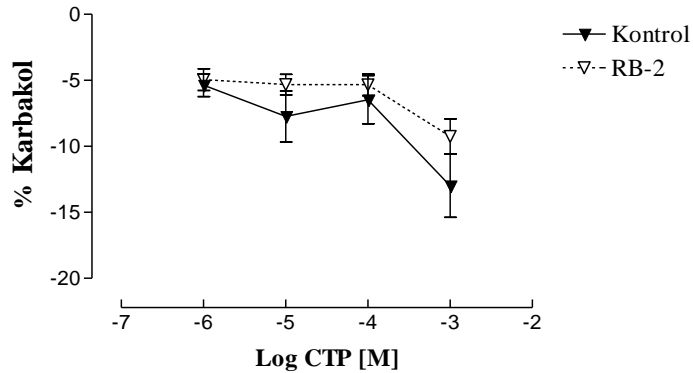
Sıçan gastrik fundus şeritleri 8-sPT (2×10^{-4} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (5×10^{-7} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Kasılma stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. 8-sPT, CTP'nin ön kastırılmış gastrik fundus dokularında oluşturduğu gevşeme cevaplarında hiçbir değişiklik oluşturmadı.



Şekil 4.9. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (5×10^{-7} M) ile ön kastırılmış dokuda, 8-sPT (2×10^{-4} M) varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri. 8-sPT, CTP'nin gastrik fundus üzerindeki gevşetici etkisine bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (n=8)

4.1.10. Reaktif Blue 2'nin, Karbakol ile Ön Kastırılmış Gastrik Fundus Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi

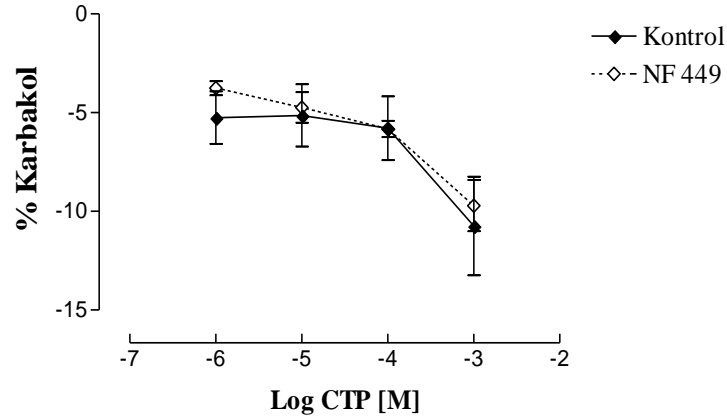
Sıçan gastrik fundus şeritleri RB-2 (3×10^{-5} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (5×10^{-7} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Kasılma stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. RB-2, CTP'nin ön kastırılmış gastrik fundus dokularında oluşturduğu gevşeme cevaplarında hiçbir değişiklik oluşturmadı.



Şekil 4.10. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (5×10^{-7} M) ile ön kastırılmış dokuda, RB-2 (3×10^{-5} M) varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri. RB-2, CTP'nin gastrik fundus üzerindeki gevşetici etkisine bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (n=8).

4.1.11. NF 449'un Karbakol ile Ön Kastırılmış Gastrik Fundus Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi

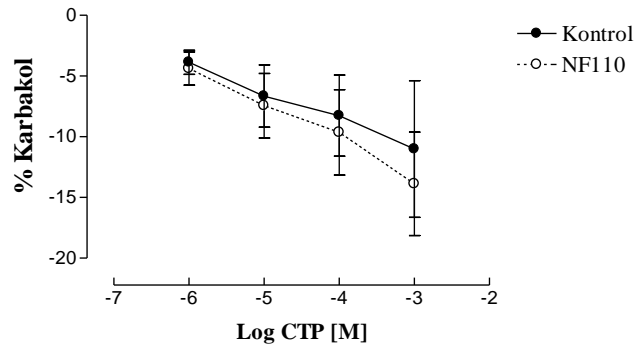
Sıçan gastrik fundus şeritleri NF 449 (2×10^{-5} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (5×10^{-7} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Kasılma stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. NF 449, CTP'nin ön kastırılmış gastrik fundus dokularında oluşturduğu gevşeme cevaplarında hiçbir değişiklik oluşturmadı.



Şekil 4.11. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (5×10^{-7} M) ile ön kastırılmış dokuda, NF 449 (2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri. NF 449, CTP'nin gastrik fundus üzerindeki gevşetici etkisine bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (n=8).

4.1.12. NF 110'un Karbakol ile Ön Kastırılmış Gastrik Fundus Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi

Sıçan gastrik fundus şeritleri NF 110 (2×10^{-5} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (5×10^{-7} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Kasılma stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. NF 110, CTP'nin ön kastırılmış gastrik fundus dokularında oluşturduğu gevşeme cevaplarında hiçbir değişiklik oluşturmadı.

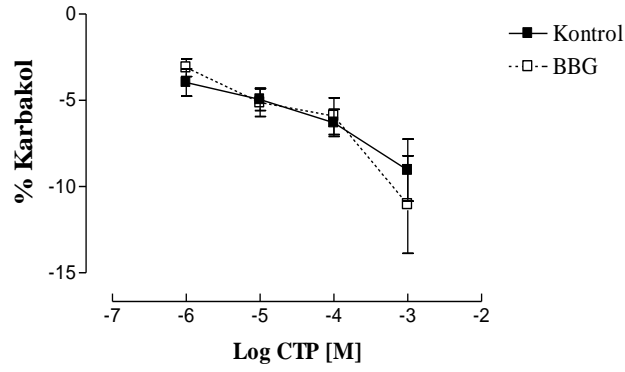


Şekil 4.12. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (5×10^{-7} M) ile ön kastırılmış dokuda, NF 110 (2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri. NF 110, CTP'nin gastrik fundus üzerindeki gevşetici etkisine bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (n=8).

4.1.13. Brilliant Blue G'nin Karbakol ile Ön Kastırılmış Gastrik Fundus Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi

Sıçan gastrik fundus şeritleri BBG (2×10^{-5} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (5×10^{-7} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Kasılma stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak

uygulandı. BBG, CTP'nin ön kastırılmış gastrik fundus dokularında oluşturduğu gevşeme cevaplarında hiçbir değişiklik oluşturmadı.

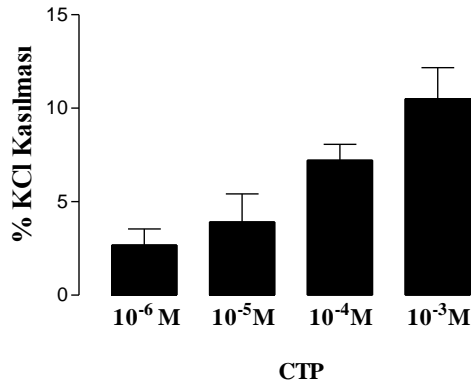


Şekil 4.13. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (5×10^{-7} M) ile ön kastırılmış dokuda, BBG (2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri. BBG, CTP'nin gastrik fundus üzerindeki gevşetici etkisine bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (n=8).

4.2. Trakea Bulguları

4.2.1. CTP'nin İzole Sıçan Trakeası Üzerine Etkileri

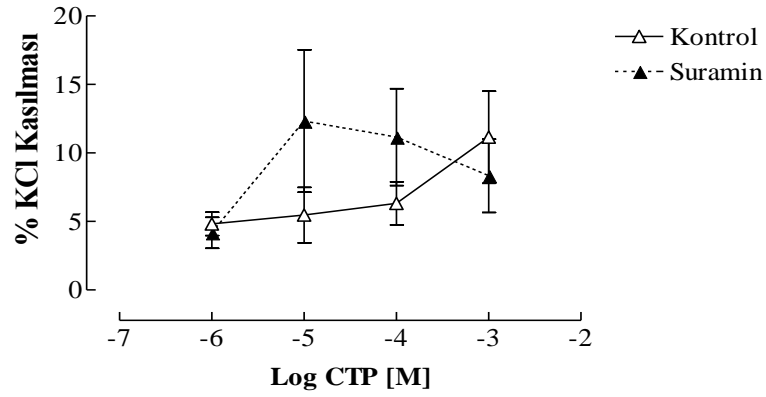
İzole sıçan trakea halkaları üzerinde maksimum kasılma cevapları oluşturmak için 80 mM konsantrasyonunda KCl uygulandıktan sonra dokular dinlendirildi ve sırasıyla 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M konsantrasyonlarında CTP uygulandı. CTP, sıçan trakea halkaları üzerinde konsantrasyon bağımlı olarak minyatür kasılma cevapları oluşturdu. Kasılma değerleri 80 mM KCl cevabının yüzdesi olarak ifade edildi.



Şekil 4.14. İzole sıçan trakeası üzerinde CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin etkileri. CTP artan konsantrasyonlarda uygulandı. Her bir konsantrasyonda maksimum doku kasılması elde edinceye kadar ilaca maruz bırakıldı. Bu süre yaklaşık 5-10 dakika idi. Kararlı kasılmalar elde edildikten sonra dokular taze Krebs solüsyonu ile yıkandı ve bir sonraki konsantrasyon uygulayınca kadar 20 dakika inkübe edildi. 10^{-3} M CTP KCl kasılmasının %12'si kadar kasılma oluşturdu. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Dunnett's Multiple Comparison testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (n=50).

4.2.2. Non-selektif P2 Reseptör Antagonisti Suraminin Trakeadaki CTP Kasılmalarına Etkileri

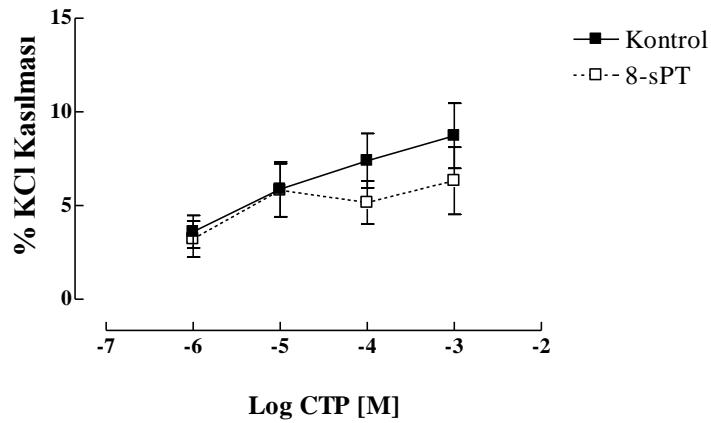
CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin sıçan trakea preparatlarında oluşturduğu konsantrasyon bağımlı bireysel kasılma cevapları, P2 reseptör antagonisti suramin (2×10^{-4} M) varlığında ve yokluğunda tekrarlandı. Suramin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CTP'nin oluşturduğu kasılma cevaplarını değiştirmedii.



Şekil 4.15. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin suramin (2×10^{-4} M) varlığında ve yokluğunda izole sıçan trakeası üzerine etkileri. Suramin, CTP'nin trakea üzerindeki kasılma etkisi üzerinde bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (n=10).

4.2.3. P1 Reseptör Antagonisti 8-(sülfo) Fenil Teofilinin Trakeadaki CTP Kasılmalarına Etkileri

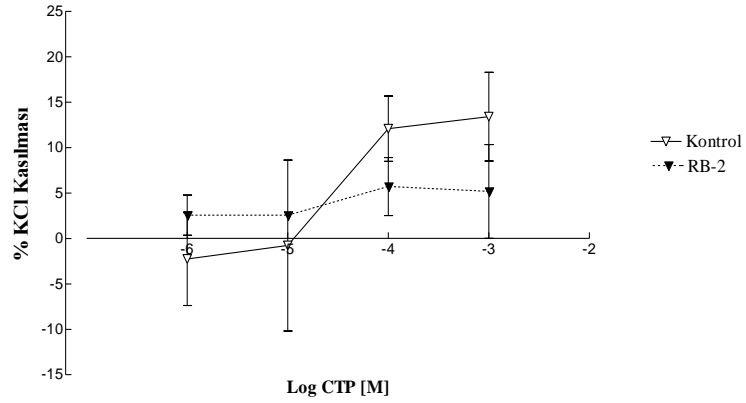
CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin sıçan trakea preparatlarında oluşturduğu konsantrasyon bağımlı bireysel kasılma cevapları, P1 reseptör antagonisti 8-sPT (2×10^{-4} M) varlığında ve yokluğunda tekrarlandı. 8-sPT, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CTP'nin oluşturduğu kasılma cevaplarını değiştirmede.



Şekil 4.16. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin 8-sPT (2×10^{-4} M) varlığında ve yokluğunda izole sıçan trakeası üzerine etkileri. 8-sPT, CTP'nin trakea üzerindeki kasılma etkisi üzerinde bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (n=8).

4.2.4. P2Y Reseptör Antagonisti Reactive Blue 2'nin CTP'nin İzole Sıçan Trakeadaki CTP Kasılmalarına Etkileri

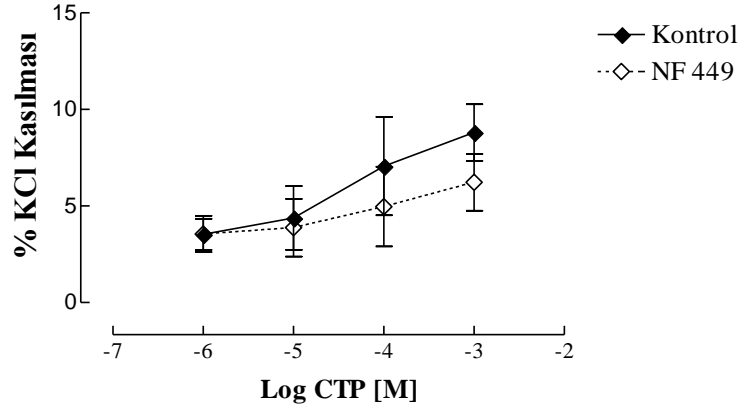
CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin sıçan trakea preparatlarında oluşturduğu konsantrasyon bağımlı bireysel kasılma cevapları, P2Y reseptör antagonisti Reactive Blue 2 (3×10^{-5} M) varlığında ve yokluğunda tekrarlandı. RB-2, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CTP'nin oluşturduğu kasılma cevaplarını değiştirmedir.



Şekil 4.17. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin RB-2 (3×10^{-5} M) varlığında ve yokluğunda izole sıçan trakeası üzerine etkileri. RB-2, CTP'nin trakea üzerindeki kasılma etkisi üzerinde bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (n=8).

4.2.5. P2X₁ Reseptör Antagonisti NF 449'un Trakeadaki CTP Kasılmalarına Etkileri

CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin sıçan trakea preparatlarında oluşturduğu konsantrasyon bağımlı bireysel kasılma cevapları, P2X₁ reseptör antagonisti NF 449 (2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğunda tekrarlandı. NF 449, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CTP'nin oluşturduğu kasılma cevaplarını değiştirmemi.

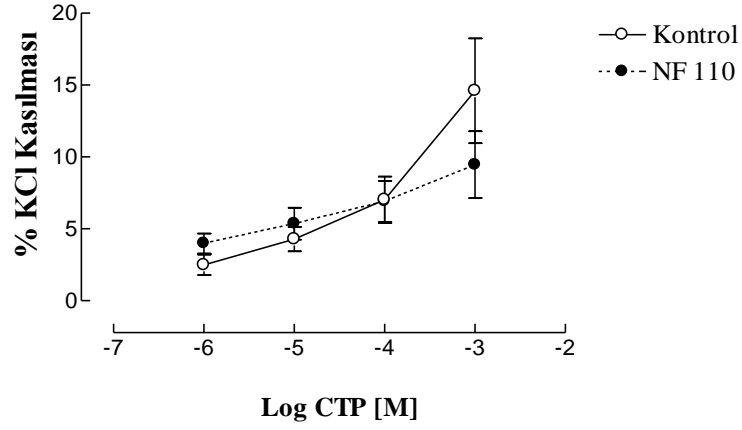


şekil 4.18. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin NF-449 varlığında ve yokluğında izole sıçan trakeası üzerine etkileri. NF-449, CTP'nin trakea üzerindeki kasılma etkisine bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. Veriler ortalama \pm Standart Hata olarak ifade edildi (2×10^{-5} M n=9).

4.2.6. P2X₃ Reseptör Antagonisti NF 110'un Trakeadaki CTP Kasılmalarına Etkileri

CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin sıçan trakea preparatlarında oluşturduğu konsantrasyon bağımlı bireysel kasılma cevapları, P2X₃ reseptör antagonisti NF 110

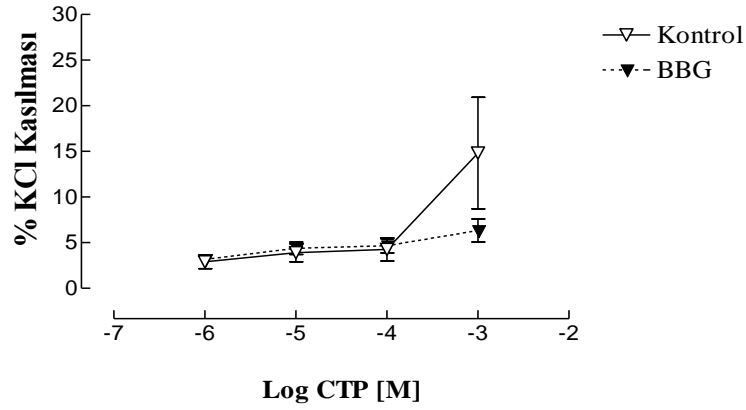
(2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğunda tekrarlandı. NF 110, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CTP'nin oluşturduğu kasılma cevaplarını değiştirmedir.



Şekil 4.19. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin NF 110 (2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğunda izole sıçan trakeası üzerine etkileri. NF 110, CTP'nin trakea üzerindeki kasılma etkisi üzerinde bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (n=8).

4.2.7. P2X₇ Reseptör Antagonisti Brilliant Blue G'nin Trakeadaki CTP Kasılmalarına Etkileri

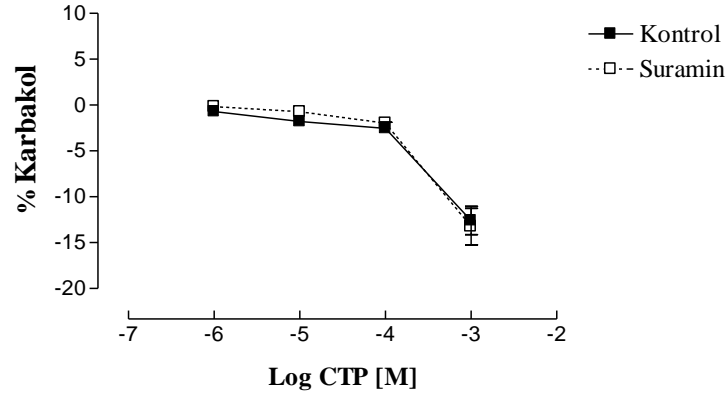
CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin sıçan trakea preparatlarında oluşturduğu konsantrasyon bağımlı bireysel kasılma cevapları, P2X₇ reseptör antagonisti Brilliant Blue G (2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğunda tekrarlandı. BBG, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CTP'nin oluşturduğu kasılma cevaplarını değiştirmedir.



Şekil 4.20. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin BBG varlığında ve yokluğunda izole sıçan trakeası üzerine etkileri. BBG, CTP'nin trakea üzerindeki kasılma etkisine bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. Veriler ortalama \pm Standart Hata olarak ifade edildi (2×10^{-5} M n=8).

4.2.8. Suramin'in Karbakol ile Ön Kastırılmış Trakea Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi

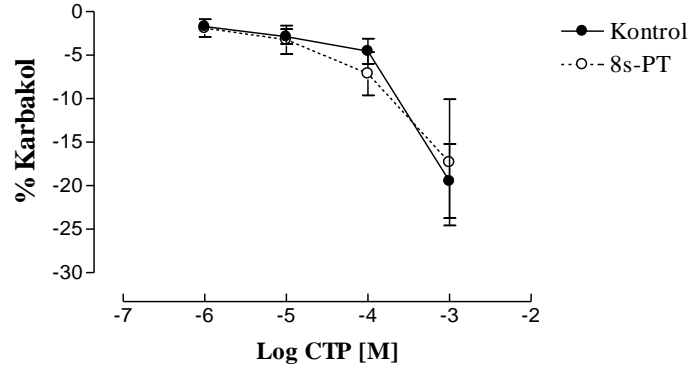
Sıçan trakea halkaları suramin (2×10^{-4} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Kasılma stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. CTP trakea dokularında konsantrasyon bağımlı olarak minyatür gevşemeler oluşturdu, ancak bu gevşemeler CTP'nin kullanılan maksimum konsantrasyonunda dahi karbakol kasılmasının %15-20'si arasında gevşemeler oluşturdu. Suramin, CTP'nin ön kastırılmış trakea dokularında oluşturduğu gevşeme cevaplarında hiçbir değişiklik oluşturmadı.



Şekil 4.21. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırılmış dokuda, suramin (2×10^{-4} M) varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri. Suramin, CTP'nin trakea dokuları üzerindeki gevşetici etkisine bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. Veriler ortalama \pm Standart Hata olarak ifade edildi (n=8).

4.2.9. 8-(sülfo) Fenil Teofilin'in Karbakol ile Ön Kastırılmış Trakea Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi

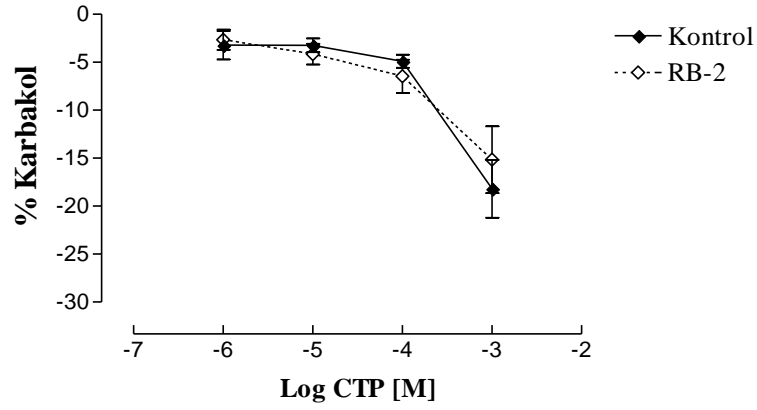
Sıçan trakea halkaları 8 sPT (2×10^{-4} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Kasılma stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. 8-sPT, CTP'nin ön kastırılmış trakea dokularında oluşturduğu gevşeme cevaplarında hiçbir değişiklik oluşturmadı.



Şekil 4.22. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırılmış dokuda, 8-sPT (2×10^{-4} M) varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri. 8-sPT, CTP'nin trakea dokuları üzerindeki gevşetici etkisine bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. Veriler ortalama \pm Standart Hata olarak ifade edildi (n=8).

4.2.10. Reactive Blue 2'nin Karbakol ile Ön Kastırılmış Trakea Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi

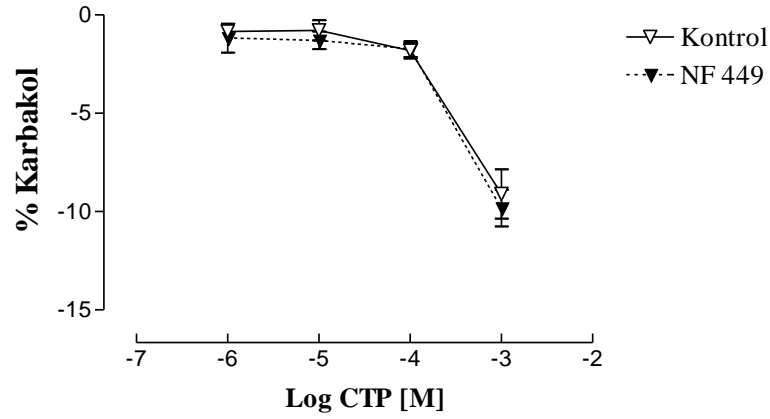
Sıçan trakea halkaları RB-2 (3×10^{-5} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Kasılma stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. RB-2, CTP'nin ön kastırılmış trakea dokularında oluşturduğu gevşeme cevaplarında hiçbir değişiklik oluşturmadı.



Şekil 4.23. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırılmış dokuda, RB-2 (3×10^{-5} M) varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri. RB-2, CTP'nin trakea dokuları üzerindeki gevşetici etkisine bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. Veriler ortalama \pm Standart Hata olarak ifade edildi (n=8).

4.2.11. NF 449'un Karbakol ile Ön Kastırılmış Trakea Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi

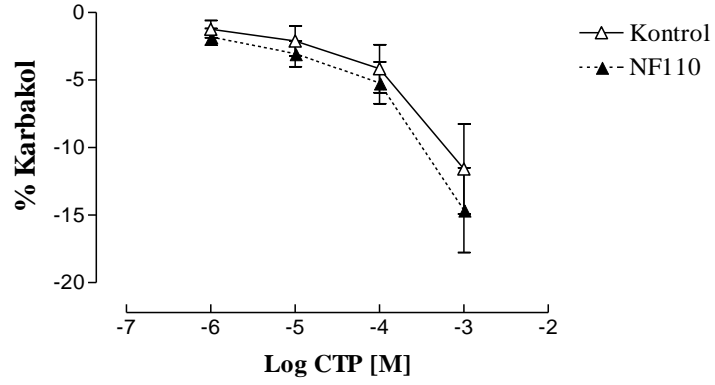
Sıçan trakea halkaları NF 449 (2×10^{-5} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Kasılma stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. RB-2, CTP'nin ön kastırılmış trakea dokularında oluşturduğu gevşeme cevaplarında hiçbir değişiklik oluşturmadı.



Şekil 4.24. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırılmış dokuda, NF 449 (2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri. NF 449, CTP'nin trakea dokuları üzerindeki gevşetici etkisine bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. Veriler ortalama \pm Standart Hata olarak ifade edildi (n=8).

4.2.12. NF 110'un Karbakol ile Ön Kastırılmış Trakea Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi

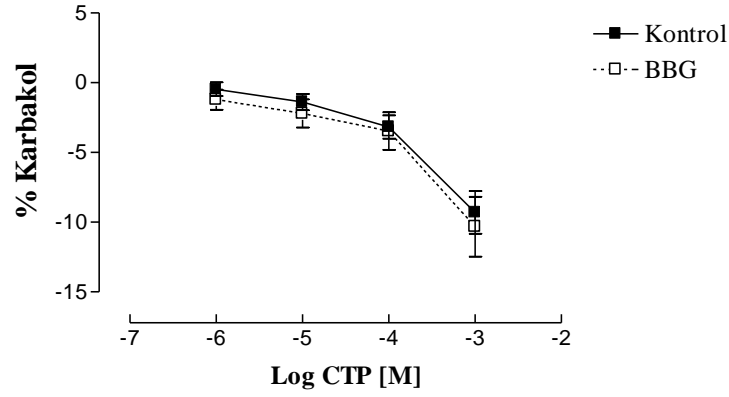
Sıçan trakea halkaları NF 110 (2×10^{-5} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Kasılma stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. NF 110, CTP'nin ön kastırılmış trakea dokularında oluşturduğu gevşeme cevaplarında hiçbir değişiklik oluşturmadı.



Şekil 4.25. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırılmış dokuda, NF 110 (2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri. NF 110, CTP'nin trakea dokuları üzerindeki gevşetici etkisine bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. Veriler ortalama \pm Standart Hata olarak ifade edildi (n=8).

4.2.13. Brilliant Blue G'nin Karbakol ile Ön Kastırılmış Trakea Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Gevşeme Cevaplarına Etkisi

Sıçan trakea halkaları BBG (2×10^{-5} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Kasılma stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. BBG, CTP'nin ön kastırılmış trakea dokularında oluşturduğu gevşeme cevaplarında hiçbir değişiklik oluşturmadı.

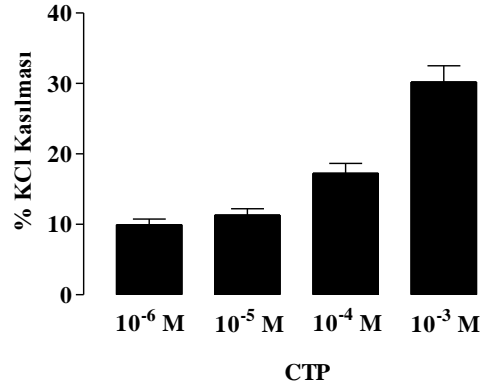


Şekil 4.26. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırılmış dokuda, BBG (2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğundaki kümülatif etkileri. BBG, CTP'nin trakea dokuları üzerindeki gevşetici etkisine bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. Veriler ortalama \pm Standart Hata olarak ifade edildi (n=8).

4.3. Mesane Bulguları

4.3.1. CTP'nin İzole Sıçan Mesanesi Üzerine Etkileri

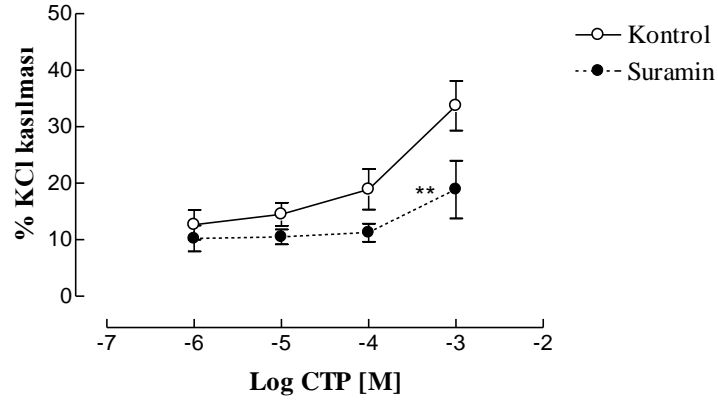
İzole sıçan mesane şeritleri sırasıyla 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M konsantrasyonlarında CTP uygulandı. Sıçan mesane dokularının CTP'ye verdikleri kasılma cevabı mide fundus ve trakea cevaplarından daha farklı olduğu gözlemlendi. Mesane dokularının kendine özgü spontan cevapları vardı ve CTP'in her uygulamasında kısa süreli cevaplar oluştuğu gözlemlendi. CTP, izole sıçan mesane şeritleri üzerinde konsantrasyon bağımlı olarak kasılma cevapları oluşturdu.



Şekil 4.27. İzole sıçan mesanesi sirküler şeritlerinde CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin etkileri. CTP artan konsantrasyonlarda uygulandı. Her bir konsantrasyonda maksimum doku kasılması elde edinceye kadar ilaca maruz bırakıldı. Bu süre yaklaşık 5-10 dakika idi. Kararlı kasılmalar elde edildikten sonra dokular taze Krebs solüsyonu ile yıkandı ve bir sonraki konsantrasyon uygulayıcaya kadar 20 dakika inkübe edildi. 10^{-3} M CTP KCl kasılmasının %30'u kadar kasılma oluşturdu. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Dunnett's Multiple Comparison testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (n=51).

4.3.2. Non-selektif P2 Reseptör Antagonisti Suramin'in Mesanedeki CTP Kasılmalarına Etkileri

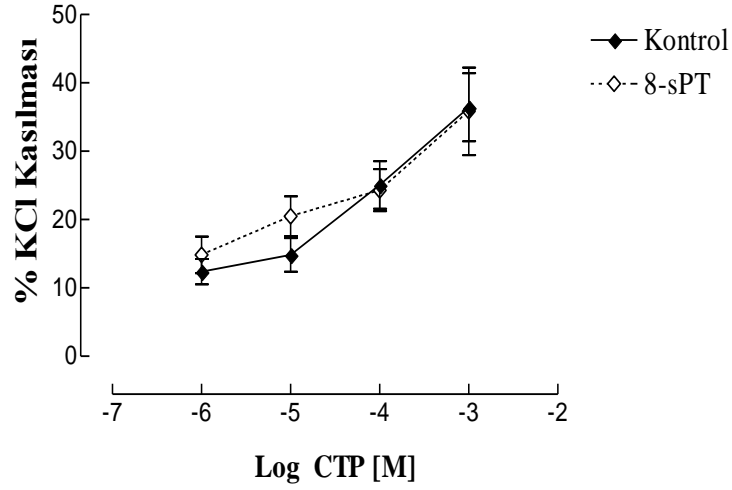
İzole sıçan mesane dokularında CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M) ile oluşturulan konsantrasyon bağımlı kasılma cevapları P2 reseptör antagonisti suramin (2×10^{-4} M) varlığında tekrar edildi. 10^{-3} M CTP'in oluşturduğu kasılmayı suramin istatistiksel bakımdan anlamlı olarak inhibe etti.



Şekil 4.28. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin suramin varlığında ve yokluğunda izole sıçan mesanesi üzerine etkileri. Suramin, CTP'nin kasılma etkisini anlamlı şekilde inhibe etti. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (2×10^{-4} M n=10). **: $P < 0.01$.

4.3.3. P1 Reseptör Antagonisti 8-(sülfo) Fenil Teofilin'in P2X₁ Mesanedeki CTP Kasılmalarına Etkileri

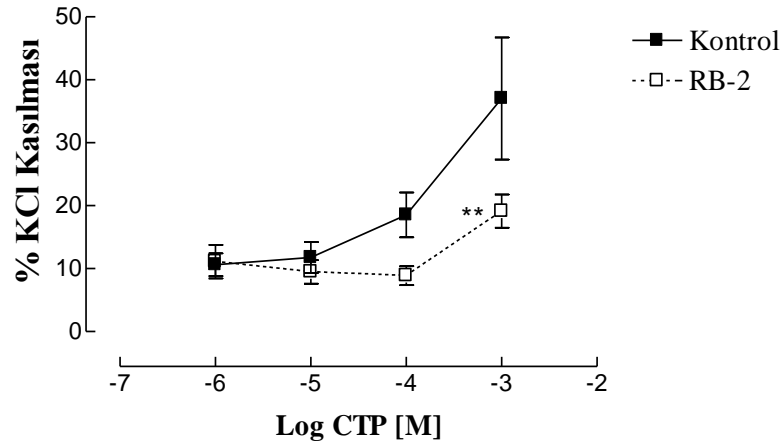
İzole sıçan mesane dokularında CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M) ile oluşturulan konsantrasyon bağımlı kasılma cevapları P1 reseptör antagonisti olan 8-sPT (2×10^{-4} M) varlığında tekrar edildi. CTP'nin oluşturduğu kasılma cevapları üzerinde 8-sPT istatistiksel bakımdan anlamlı bir değişiklik yapmadı.



Şekil 4.29. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin 8-sPT varlığında ve yokluğunda izole sıçan mesanesi üzerine etkileri. 8-sPT, CTP'nin mesane üzerindeki kasılma etkisi üzerinde bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (2×10^{-4} M n=8).

4.3.4. P2Y Reseptör Antagonisti Reactive Blue 2'nin Mesanedeki CTP Kasılmalarına Etkileri

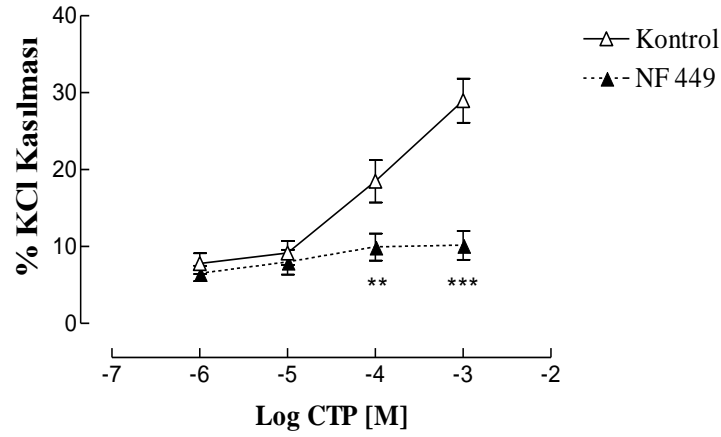
İzole sıçan mesane dokularında CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M) ile oluşturulan konsantrasyon bağımlı bireysel kasılma cevapları P2Y reseptör antagonisti olan Reactive Blue 2 (3×10^{-5} M) varlığında tekrar edildi. 10^{-3} M CTP'in oluşturduğu kasılma cevaplarının Reactive Blue 2 tarafından anlamlı şekilde inhibe edildiği gözlemlendi.



Şekil 4.30. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin RB-2 varlığında ve yokluğunda izole sıçan mesanesi üzerine etkileri. RB-2, CTP'nin kasılma etkisini anlamlı şekilde inhibe etti. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (3×10^{-5} M n=8). ***: $P < 0.01$.

4.3.5. P2X₁ Reseptör Antagonisti NF 449'un Mesanedeki CTP Kasılmalarına Etkileri

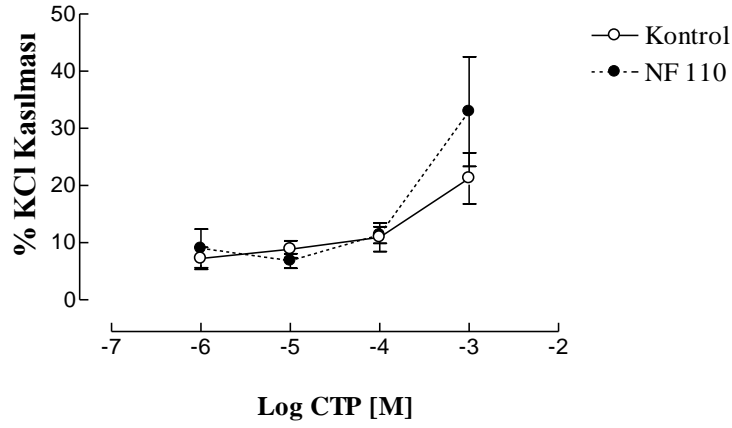
İzole sıçan mesane dokularında CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M) ile oluşturulan konsantrasyon bağımlı bireysel kasılma cevapları P2X₁ reseptör antagonisti olan NF 449 (2×10^{-5} M) varlığında tekrar edildi. 10^{-3} ve 10^{-4} M CTP'nin oluşturduğu kasılma cevapları NF 449 tarafından anlamlı şekilde inhibe edildiği gözlemlendi.



Şekil 4.31. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin NF 449 varlığında ve yokluğunda izole sıçan mesanesi üzerine etkileri. NF 449, CTP'nin kasılma etkisini anlamlı şekilde inhibe etti. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (2×10^{-5} M n=8). **: $P > 0.01$, ***: $P < 0.001$.

4.3.6. P2X₃ Reseptör Antagonisti NF 110'un Mesanedeki CTP Kasılmalarına Etkileri

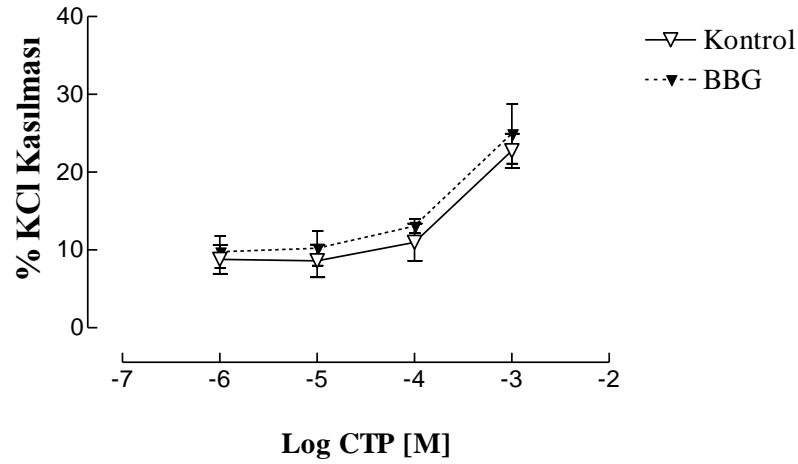
İzole sıçan mesane dokularında CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M) ile oluşturulan konsantrasyon bağımlı bireysel kasılma cevapları P2X₃ reseptör antagonisti NF 110 (2×10^{-5} M) varlığında tekrar edildi. CTP'in oluşturduğu kasılma cevapları üzerinde P2X₃ reseptör antagonisti NF 110 istatistiksel bakımdan anlamlı bir değişiklik yapmadı.



Şekil 4.32. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin NF 110 varlığında ve yokluğunda izole sıçan mesanesi üzerine etkileri. NF 110, CTP'nin mesane üzerindeki kasılma etkisi üzerinde bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (2×10^{-5} M n=8).

4.3.7. P2X₇ Reseptör Antagonisti Brilliant Blue G'nin Mesanedeki CTP Kasılmalarına Etkileri

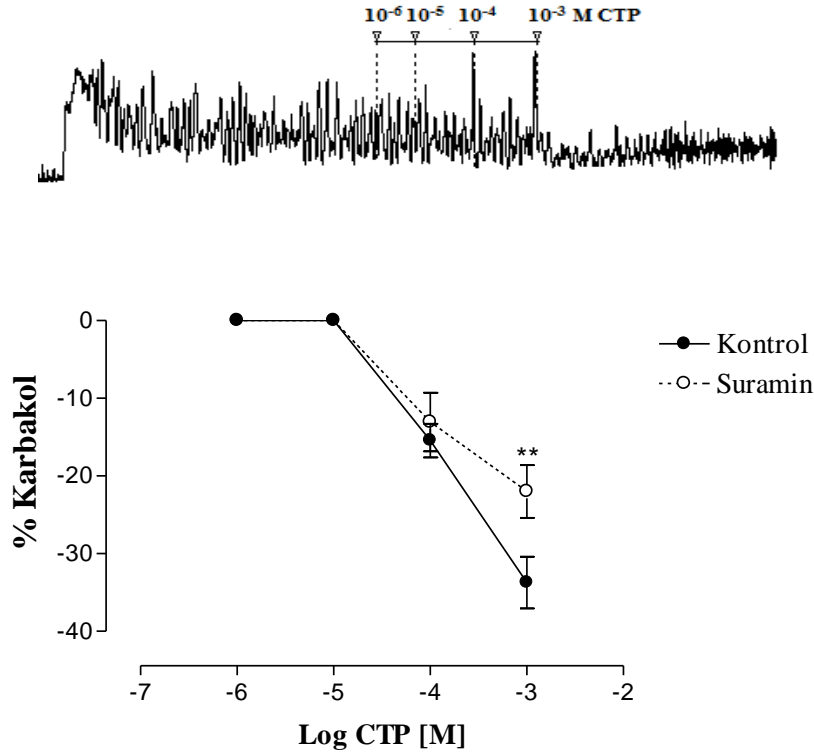
İzole sıçan mesane dokularında CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M) ile oluşturulan konsantrasyon bağımlı bireysel kasılma cevapları P2X₇ reseptör antagonisti Brilliant Blue G (2×10^{-5} M) varlığında tekrar edildi. CTP'nin oluşturduğu kasılma cevapları üzerinde P2X₇ reseptör antagonisti GBB istatistiksel bakımdan anlamlı bir değişiklik yapmadı.



Şekil 4.33. CTP (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin BBG varlığında ve yokluğunda izole sıçan mesanesi üzerine etkileri. BBG, CTP'nin mesane üzerindeki kasılma etkisi üzerinde bir değişiklik yapmamıştır. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test olarak Bonferoni testi kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi (2×10^{-5} M n=8).

4.3.8. Suramin'in Karbakol ile Ön Kastırılmış Mesane Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Cevaplara Etkisi

Sıçan mesane şeritleri suramin (2×10^{-4} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Karbakol kasılması ile birlikte spontan aktivitelerde de artış görüldü. Spontan aktiviteler stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. İlginç olarak CTP, bifazik cevap paterni oluşturdu; şöyleki, karbakol ön kastırılmasına rağmen CTP, önce ilave bir fazik kasılma, bunu takiben nisbeten daha yavaş gelişen ve düşük amplitüdü bir gevşeme cevabı meydana getirdi. Suramin, CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokularında oluşturduğu gevşetici cevapları anlamlı olarak baskıladı.

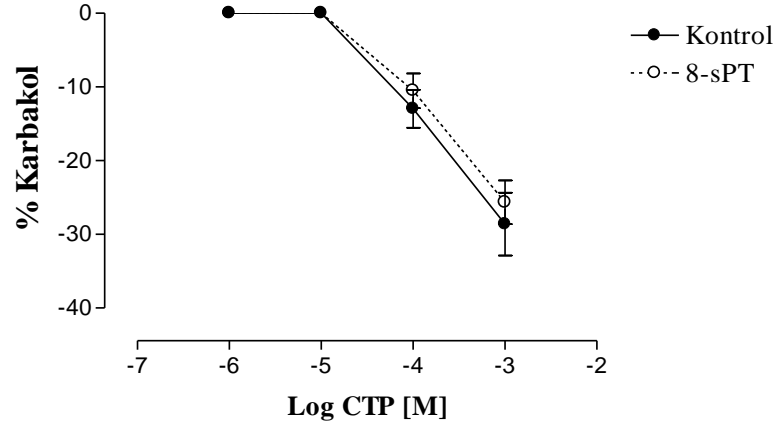


Şekil 4.34. CTP (kümülatif, 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırılmış mesane sirküler şeritlerinde, suramin (2×10^{-4} M) varlığında ve yokluğundaki etkileri. CTP, bifazik cevap paterni oluşturdu; önce karbakol kasılmasına ilaveten fazik bir kasılma ve bunu takiben nisbeten daha yavaş gelişen ve düşük amplitüdlü bir gevşeme cevabı meydana getirdi. Suramin, CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokularında oluşturduğu gevşetici cevapları anlamlı olarak baskıladı. CTP uygulamasından sonra gelişen cevap paterni, orijinal kontrol grubu trasesi ile gösterilmiştir. İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. Veriler ortalama \pm Standart Hata olarak ifade edildi (n=8).

4.3.9. 8-(sülfo) Fenil Teofilin'in Karbakol ile Ön Kastırılmış Mesane Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Cevaplara Etkisi

Sıçan mesane şeritleri 8-sPT (2×10^{-4} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Karbakol kasılması ile birlikte spontan aktivitelerde de artış görüldü. Spontan aktiviteler stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. İlginç olarak CTP, bifazik cevap paterni oluşturdu; şöyleki, karbakol ön kastırılmasına rağmen

CTP, önce ilave bir fazik kasılma, bunu takiben nisbeten daha yavaş gelişen ve düşük amplitüdümlü bir gevşeme cevabı meydana getirdi. 8-sPT, CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokularında oluşturduğu gevşetici cevapları etkilemedi.

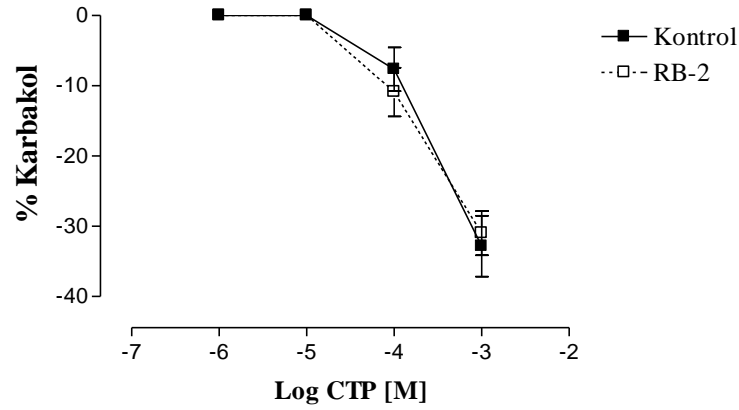


Şekil 4.35. CTP (kümülatif, 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırılmış mesane sirküler şeritlerinde, 8-sPT (2×10^{-4} M) varlığında ve yokluğundaki etkileri. CTP, bifazik cevap paterni oluşturdu; önce karbakol kasılmasına ilaveten fazik bir kasılma ve bunu takiben nisbeten daha yavaş gelişen ve düşük amplitüdümlü bir gevşeme cevabı meydana getirdi. 8-sPT, CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokularında oluşturduğu gevşetici cevapları etkilemedi. İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. Veriler ortalama \pm Standart Hata olarak ifade edildi (n=8).

4.3.10. Reactive Blue 2'nin Karbakol ile Ön Kastırılmış Mesane Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Cevaplara Etkisi

Sıçan mesane şeritleri RB-2 (3×10^{-5} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Karbakol kasılması ile birlikte spontan aktivitelerde de artış görüldü. Spontan aktiviteler stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. İlginç olarak CTP, bifazik cevap paterni oluşturdu; şöyleki, karbakol ön kastırılmasına rağmen CTP, önce ilave bir fazik kasılma, bunu takiben nisbeten daha yavaş gelişen ve düşük

amplitüdü bir gevşeme cevabı meydana getirdi. RB-2, CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokularında oluşturduğu gevşetici cevapları etkilemedi.

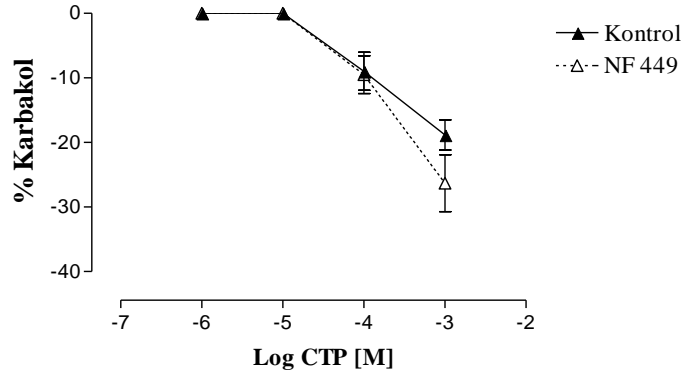


Şekil 4.36. CTP (kümülatif, 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırılmış mesane sirküler şeritlerinde, RB-2 (3×10^{-5} M) varlığında ve yokluğundaki etkileri. CTP, bifazik cevap paterni oluşturdu; önce karbakol kasılmasına ilaveten fazik bir kasılma ve bunu takiben nisbeten daha yavaş gelişen ve düşük amplitüdü bir gevşeme cevabı meydana getirdi. RB-2, CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokularında oluşturduğu gevşetici cevapları etkilemedi. İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. Veriler ortalama \pm Standart Hata olarak ifade edildi (n=8).

4.3.11. NF 449'un Karbakol ile Ön Kastırılmış Mesane Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Cevaplara Etkisi

Sıçan mesane şeritleri NF 449 (2×10^{-5} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Karbakol kasılması ile birlikte spontan aktivitelerde de artış görüldü. Spontan aktiviteler stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. İlginç olarak CTP, bifazik cevap paterni oluşturdu; şöyleki, karbakol ön kastırılmasına rağmen CTP, önce ilave bir fazik kasılma, bunu takiben nisbeten daha yavaş gelişen ve düşük

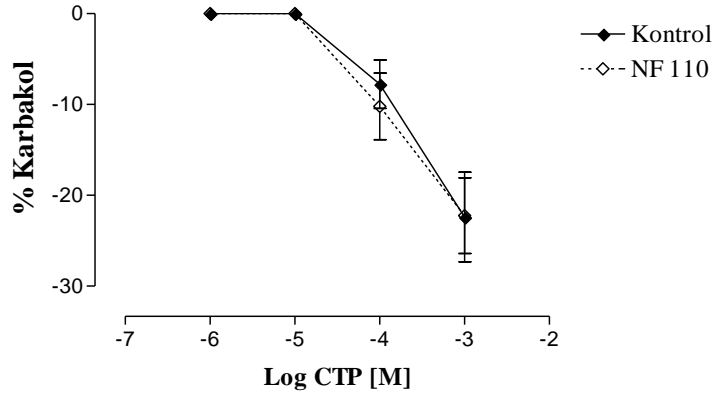
amplitüdü bir gevşeme cevabı meydana getirdi. NF 449, CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokularında oluşturduğu gevşetici cevapları etkilemedi.



Şekil 4.37. CTP (kümülatif, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³ M)'nin karbakol (10⁻⁶ M) ile ön kastırılmış mesane sirküler şeritlerinde, NF 449 (2x10⁻⁵ M) varlığında ve yokluğundaki etkileri. CTP, bifazik cevap paterni oluşturdu; önce karbakol kasılmasına ilaveten fazik bir kasılma ve bunu takiben nisbeten daha yavaş gelişen ve düşük amplitüdü bir gevşeme cevabı meydana getirdi. NF 449, CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokularında oluşturduğu gevşetici cevapları etkilemedi. İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. Veriler ortalama ± Standart Hata olarak ifade edildi (n=8).

4.3.12. NF 110'un Karbakol ile Ön Kastırılmış Mesane Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Cevaplara Etkisi

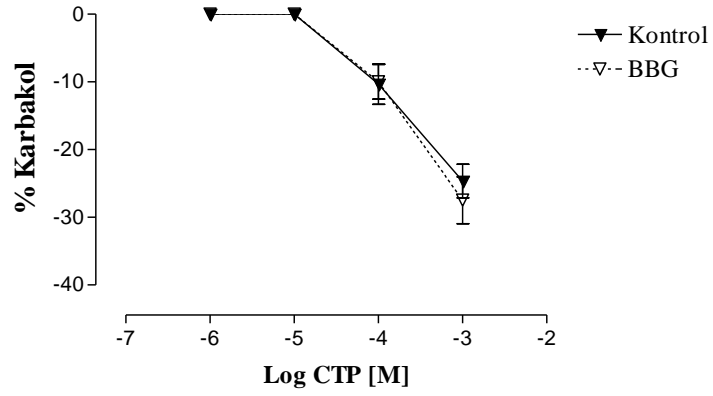
Sıçan mesane şeritleri NF 110 (2x10⁻⁵ M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (10⁻⁶ M) ile ön kastırma oluşturuldu. Karbakol kasılması ile birlikte spontan aktivitelerde de artış görüldü. Spontan aktiviteler stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10⁻⁶ M 'dan 10⁻³ M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. İlginç olarak CTP, bifazik cevap paterni oluşturdu; şöyleki, karbakol ön kastırılmasına rağmen CTP, önce ilave bir fazik kasılma, bunu takiben nisbeten daha yavaş gelişen ve düşük amplitüdü bir gevşeme cevabı meydana getirdi. NF 110, CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokularında oluşturduğu gevşetici cevapları etkilemedi.



Şekil 4.38. CTP (kümülatif, 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırılmış mesane sirküler şeritlerinde, NF 110 (2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğundaki etkileri. CTP, bifazik cevap paterni oluşturdu; önce karbakol kasılmasına ilaveten fazik bir kasılma ve bunu takiben nisbeten daha yavaş gelişen ve düşük amplitüdümlü bir gevşeme cevabı meydana getirdi. NF 110, CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokularında oluşturduğu gevşetici cevapları etkilemedi. İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. Veriler ortalama \pm Standart Hata olarak ifade edildi (n=8).

4.3.13. Brilliant Blue G'nin Karbakol ile Ön Kastırılmış Mesane Dokusunda CTP'nin Oluşturduğu Cevaplara Etkisi

Sıçan mesane şeritleri BBG (2×10^{-5} M) ile bir saat inkübe edildikten sonra karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırma oluşturuldu. Karbakol kasılması ile birlikte spontan aktivitelerde de artış görüldü. Spontan aktiviteler stabil oluncaya kadar beklendikten sonra CTP 10^{-6} M 'dan 10^{-3} M konsantrasyona kadar kümülatif olarak uygulandı. İlginç olarak CTP, bifazik cevap paterni oluşturdu; şöyleki, karbakol ön kastırılmasına rağmen CTP, önce ilave bir fazik kasılma, bunu takiben nisbeten daha yavaş gelişen ve düşük amplitüdümlü bir gevşeme cevabı meydana getirdi. BBG, CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokularında oluşturduğu gevşetici cevapları etkilemedi.



Şekil 4.39. CTP (kümülatif, 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)'nin karbakol (10^{-6} M) ile ön kastırılmış mesane sirküler şeritlerinde, BBG (2×10^{-5} M) varlığında ve yokluğundaki etkileri. CTP, bifazik cevap paterni oluşturdu; önce karbakol kasılmasına ilaveten fazik bir kasılma ve bunu takiben nisbeten daha yavaş gelişen ve düşük amplitüdü bir gevşeme cevabı meydana getirdi. BBG, CTP'nin karbakol ile ön kastırılmış mesane dokularında oluşturduğu gevşetici cevapları etkilemedi. İstatistiksel analiz: One-way analysis of variance (One-way ANOVA); post hoc: Bonferroni. Veriler ortalama \pm Standart Hata olarak ifade edildi (n=8).

5. TARTIŞMA

Bir nükleotid trifosfat yapısında olan CTP'nin, çeşitli nükleotidler tarafından aktive edilen pürinerjik reseptörler üzerinden etki gösterdiği bilinmektedir. Pürinerjik sistemin gastrointestinal, ürogenital ve solunum sisteminde oldukça yoğun olduğu bilinmektedir. Bu sistemlere ait düz kaslarında da pürinerjik reseptörlerin yoğun olarak bulunduğu gösterilmiştir (8). Ancak bir nükleotid trifosfat olan CTP'nin sıçan gastrik fundusu, mesanesi ve trakea düz kasları üzerindeki etkileri henüz incelenmemiştir. Bundan dolayı, bu çalışmada CTP'nin söz konusu sistemlere ait düz kaslarda nasıl bir etki oluşturduğu ve bu etkilere hangi tür pürinerjik reseptörlerin (ve alt tiplerinin) aracılık ettiğini araştırdık.

Gastrik fundus longitudinal düz kasları üzerinde yapılan çalışmalarda ATP'nin P2X reseptörleri aracılığıyla gevşeme cevapları oluşturduğu ortaya konulmuştur. Bu bulguya zıt olarak sıçan sirküler düz kasları üzerinde yapılan çalışmalarda ATP, ADP, UTP, 2-MeSATP gibi pürinerjik agonistlerin kasılma cevapları oluşturduğuna işaret edilmiştir ki (81, 82); bu bulgular bizim çalışmamızı destekler niteliktedir çünkü bizim çalışmada CTP, izole sıçan gastrik fundus sirküler kaslarında konsantrasyon-bağımlı kasılmalar oluşturdu. Buna ilaveten, CTP'nin gastrik fundus dokusu üzerindeki pürinerjik reseptörlerin hangi alt tipini aktive ederek etki oluşturduğunu araştırmak amacıyla bazı pürinerjik reseptör alt tiplerinin antagonistleri varlığında CTP'nin etkilerini (kasılma/gevşeme) araştırdık. CTP'nin 10^{-3} M konsantrasyonda gastrik fundus sirküler düz kas üzerindeki kasılma cevapları, non-spesifik P2 reseptör antagonisti suramin tarafından inhibe edildi. Bu bulgu gastrik fundus sirküler düz kas dokusunda P2 reseptörlerinin varlığına işaret etmektedir. Bununla birlikte ön kastırılmış gastrik fundus dokusunda ATP'nin oluşturduğu gevşeme yanıtları suramin tarafından inhibe edilmiş (83) olmasına rağmen, bizim çalışmamızda karbakol ön kasılmasını takiben uygulanan CTP'nin oluşturduğu gevşeme cevapları, test edilen hiç bir pürinerjik reseptör antagonisti (suramin, RB-2, 8-sPT, NF 449, NF 110 ve BBG) tarafından etkilenmedi.

Diğer taraftan P2 reseptörlerinin G proteini kenetli reseptör alt tipi olan P2Y reseptör antagonisti RB-2 varlığında, CTP'nin gastrik fundus sirküler düz kasları

üzerindeki kasılma cevapları araştırıldı ve RB-2'nin, CTP'nin 10^{-3} M konsantrasyondaki kasılma cevaplarını inhibe ettiği gözlemlendi. Bu sonuç, CTP'nin gastrik fundus sirküler düz kasları üzerindeki etkilerine P2Y reseptörlerinin aracılık ettiğinin göstermektedir. Bu bulgularla uyumlu olarak yapılan diğer bir çalışmada CTP'nin sıçan P2Y4 pürinoseptörleri ATP, UTP, GTP ve ITP tarafından eşit güçte aktive edilirken P2Y2 pürinoseptörlerinde ise diğer nükleotidlerin, ATP'den daha düşük afinite ile etki gösterdiği ortaya koyulmuştur (84, 85).

CTP'nin sıçan gastrik fundusu üzerindeki kasılma cevaplarını baskılayan başka bir antagonist ise P2X1 pürinerjik reseptör antagonisti NF 449 olmuştur. Bu bulgu, CTP'nin P2X1 reseptör alt tipini de aktive ettiğini gösterebilir. Daha önce gastrik fundus dokularında NF 449 ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır fakat Burnstock sindirim sistemi kan damarlarının ATP ile kasılmasına P2X1 reseptör alt tiplerinin aracılık ettiğine işaret etmiştir (86).

Bu çalışmamızda P2X3 reseptör antagonisti NF 110 ve P2X7 reseptör antagonisti BBG de kullanılmış ve bu antagonistler sıçan gastrik fundus sirküler kasları üzerinde CTP'nin kasılma cevaplarını değiştirmemişlerdir. Bu bulgu, sıçan gastrik fundus düz kasında P2X3 ve P2X7 reseptörlerinin bulunmadığına işaret edebilir.

Çalışmada kullanılan diğer bir antagonist 8-sPT'dir. İlginç olarak adenozeine duyarlı P1 reseptör antagonisti 8-sPT, izole sıçan gastrik fundusunda CTP'nin kasılma cevaplarını anlamlı bir şekilde azaltmıştır. Bunun sebebi tam olarak bilinmemekle birlikte, P1 reseptörlerinin, CTP tarafından değil fakat sitidin nükleoziti tarafından aktive edilebileceğini akla getirmektedir çünkü CTP'yi sitidin nükleozitine dönüştüren enzim 5'-nükleotidaz'dır ve 5'-nükleotidaz enziminin gastrointestinal kanalda yüksek konsantrasyonda bulunduğu bilinmektedir. P1 reseptör alt tipleri olan A_1 ve A_{2A} reseptörlerinin sitidinin etkilerine aracılık ettiği yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (11, 87, 88). Ancak biz bu çalışmada oluşan kasılma cevaplarına hangi P1 alt tipinin aracılık ettiğini, elimizde P1 reseptör alt tiplerini antagonize eden ajanlar bulunmadığından gösteremedik. Her bir P1 reseptör alt tipinin ilgili reseptörlere spesifik antikörlerin

kullanıldığı Western blot yöntemi ile varlığı ve CTP'den olası sitidin oluşumu, kimyasal yöntemlerle gösterilebilir.

Çalışmamızda CTP'nin izole sıçan trakeası üzerindeki etkileri de araştırıldı. Bu nükleotid, maksimum olarak, karbakol kasılmasının yaklaşık % 15-20'si kadar gevşeme meydana getirdi. Ancak CTP'nin oluşturduğu gevşemeleri, çalışmada test edilen hiç bir pürinerjik reseptör antagonisti (suramin, RB-2, 8-sPT, NF 449, NF 110 ve BBG) etkilemedi.

Diğer taraftan bazal tonus üzerine uygulanan CTP, sıçan trakeasında konsantrasyon-bağımlı kasılma cevapları oluşturdu. Ancak CTP'nin oluşturduğu bu kasılma cevabı, potasyum klorür ile oluşturulan maksimum kasılma cevaplarının yaklaşık % 10'u kadardı. Nara ve arkadaşları ATP'nin trakea düz kasları üzerinde az da olsa bir kasılma cevabı oluşturduğunu gözlemlemişlerdir ki bu, bizim bulgularımızı destekler niteliktedir. Çünkü ATP ile CTP pürinerjik reseptörleri kullanan nükleotidlerdir. Buna karşılık CTP'nin değil fakat ATP'nin hava yolu düz kas hücrelerinde Ca^{2+} girişini arttırarak kasılma meydana getirdiği ve buna $P2X_4$ reseptörlerin aracılık ettiği gösterilmiştir (14). CTP'nin trakea üzerindeki kasılma cevabına aracılık eden pürinoseptör alt tiplerinin ortaya konulması için P1 reseptör antagonisti 8-sPT, non-spesifik P2 reseptör antagonisti suramin, P2 reseptörlerinin G proteini kenetli reseptör alt tipi olan P2Y reseptör antagonisti RB-2, $P2X_1$ pürinerjik reseptör antagonisti NF 449, $P2X_3$ reseptör antagonisti NF 110 ve $P2X_7$ reseptör antagonisti BBG kullanıldı. Test edilen hiç bir antagonist CTP'nin trakea düz kasları üzerindeki kasılma cevaplarını değiştirmedir. Bu da sıçan trakeasında P1 reseptörlerinin $P2X$ reseptörlerinin ve $P2X_1$, $P2X_3$, $P2X_7$ gibi alt tiplerinin ve P2Y reseptörlerinin aracılık etmediğini göstermektedir.

Bu çalışmada CTP'nin etkisinin test edildiği bir diğer doku, mesane sirküler şeritleridir. İlk seride ön kastırılmış dokuya CTP uygulanırken ikinci seride bazal şartlar altındaki dokuya CTP uygulandı. Test edilen tüm mesane dokularında spontan ritmik aktiviteler mevcuttu ve bu ritmik aktivitelerinin amplitüdüleri karbakol uygulamasını

takiben belirgin olarak arttı. Bu şartlar altında bile CTP, belirgin fazik kasılmalar meydana getirdi ve bu fazik cevapları nisbeten daha yavaş gelişen ve düşük amplitüdü bir gevşeme cevabı takip etti. 10^{-6} ve 10^{-5} M konsantrasyonlarda gevşeme cevapları oluşmazken 10^{-4} ve 10^{-3} M konsantrasyonlarda gevşeme cevapları oluştu. Non-spesifik P2 reseptör antagonisti suramin oluşan gevşeme cevaplarını anlamlı şekilde baskıladı. Bu bulgu, mesanenin gevşeme yanıtlarında P2 pürinoseptörlerin rol aldığını göstermiştir. Ancak gevşeme yanıtlarına G protein kenetli P2Y reseptör alt tiplerinin aracılık ettiğinin bilinmesine rağmen, P2Y reseptör blokörü RB-2 bu cevapları etkilemedi. Buna ilaveten RB-2 ile birlikte test edilen hiç bir pürinoseptör antagonisti gevşeme cevaplarını anlamlı olarak değiştirmede.

CTP, normal tonusdaki sıçan mesanesi sirküler düz kasları üzerinde de, trakea ve gastrik fundus dokularında olduğu gibi, konsantrasyon bağımlı kasılma etkileri oluşturdu. Ancak mesane sirküler kaslarının CTP'ye verdiği kasılma yanıtlarının karakterizasyonu diğer doku düz kaslarının kasılma yanıtlarından oldukça farklıydı; gastrik fundus ve trakeada tonik kasılmalar oluştururken mesanede fazik kasılma oluşturdu. Bu cevap paterni bize CTP'nin hızlı aktive ve deaktive olan iyonotropik reseptörleri kullanabileceğini düşündürmektedir. Yapılan diğer çalışmalarda da, mesanenin pürinerjik cevaplarına ilişkin belirgin farklılıklar olduğu gösterilmiştir (74).

Suramin ile inkübe edilmiş mesane sirküler düz kasları üzerinde CTP'nin oluşturduğu kasılmaların suramin tarafından baskılandığı gözlemlendi. Bu bulgu bize sıçan mesane dokusunda da P2X pürinoseptörlerinin varlığını göstermektedir. Bizim çalışmamızla uyumlu olarak kobay mesanesi kullanılarak yapılan bir çalışmada CTP'nin indüklediği kasılma cevaplarının suramin tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (7).

Kullanılan diğer ajan P2Y reseptör antagonisti RB-2'dir. Selektif non-kompetitif bir antagonist olan RB-2'nin P2X reseptörlerine etkisiz olduğu bilinmektedir. Buna ek olarak yayınlanan bir çalışmada ATP'nin mesanede P2X reseptörleri aracılığıyla kasılmaya aracılık ettiği, P2Y reseptörleri aracılığıyla ise gevşeme oluşturduğu gösterilmiştir (74). Ayrıca başka bir çalışmada da RB-2'nin sıçan mesanesindeki pürinerjik kasılmayı antagonize etmediği bilgisi mesanede oluşan kasılmaya sadece

P2X reseptörlerinin aracılık ettiği görüşünü destekler niteliktedir (89). Fakat bizim çalışmamızda yukarıdaki bilgilerin aksine CTP sıçan mesane düz kasları üzerinde kasılma etkileri oluşturmuştur ve oluşan kasılma cevapları kasılmaya tek başına aracılık ettiği düşünülen P2X reseptör antagonisti tarafından baskılanmakla birlikte P2Y reseptör antagonisti RB-2 tarafından da baskılanmıştır. Sonuç olarak bizim çalışmamızda CTP'nin izole sıçan mesane dokuları üzerinde oluşturduğu kasılmalara yalnız P2X reseptörlerinin değil aynı zamanda P2Y reseptörlerinin de aracılık ettiği anlamına gelmektedir. Bulgularımızın daha önce yapılan çalışmalarla uyumsuz olduğu görülmekle beraber deney gruplarının sayısı artırılarak bulgular net olarak ortaya konulmalıdır.

Buna ek olarak CTP'nin mesane düz kasları üzerinde oluşturduğu kasılma cevapları P2X₁ reseptör antagonisti NF 449 tarafından da anlamlı olarak inhibe edilmiştir. Bu veri CTP'nin P2X₁ reseptörleri üzerinden etki gösterdiğini ortaya koymakla birlikte mesane dokularında P2X₁ purinoseptör alt tipinin varlığının da bir ispatı niteliğindedir ve kobay mesanesinde ATP tarafından oluşturulan kasılmanın NF 449 tarafından baskılanması bizim çalışmamızla uyum göstermektedir (90).

Sıçan mesane sirküler düz kasları üzerinde kullanılan diğer antagonistler P1 reseptör antagonisti olan 8-sPT, P2X₃ reseptör antagonisti NF 110 ve P2X₇ reseptör antagonisti Brilliant Blue G'dir, ancak sıçan mesane sirküler düz kasları üzerinde CTP'nin kasılma etkilerini değiştirmedikleri gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada sıçan gastrik fundus, mesane ve trakea sirküler düz kas dokularında CTP'nin konsantrasyon bağımlı olarak kasılma etkileri ve karbakol ile ön kastırılmış dokularda da gevşeme cevapları oluşturduğu ortaya konulmuştur. Bu dokuların kasılmasına ve gevşemesine aracılık eden purinerjik reseptör alt tiplerinin araştırılması için bazı antagonistler kullanılmıştır. Ancak imkanlarımız kısıtlı olduğundan purinerjik reseptör alt tipleri antagonistlerinin tamamı kullanılamamıştır. CTP'nin oluşturduğu kasılma etkilerine aracılık eden tüm purinerjik reseptör alt tiplerinin tam olarak ortaya konulabilmesi için ileride daha kapsamlı bir çalışma planlanabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma 2 ana seri halinde ve üç ayrı doku üzerinde yapılmıştır. Bunlar, CTP'nin sıçan gastrik fundus, mesane ve trakea sirküler düz kasları üzerinde bazı antagonistler varlığında ve yokluğundaki etkileri ile karbakol ile ön kastırılmış sıçan gastrik fundus, mesane ve trakea sirküler düz kasları üzerinde yine bazı antagonistler varlığında ve yokluğundaki etkileri araştırılmıştır. Bu tezin çıktıları şu şekilde özetlenebilir:

Kullanılan her üç dokuda da CTP, kastırıcı etki yapan bir agonisttir. Buna ilaveten karbakol ile ön kastırılmış gastrik fundus, mesane ve trakea dokularında gevşeme yanıtları da oluşturmuştur. Mesane ve gastrik fundusta bu kasılmalara P2 reseptör alt tiplerinden birisi olan P2X1 reseptörlerinin aracılık ettiği gösterilmiştir. Buna ek olarak CTP kasılması mesane ve gastrik fundusta da P2Y reseptör antagonisti tarafından da inhibe edilmiştir. P1 reseptör antagonisti CTP'nin sadece gastrik fundus üzerindeki kasılmalarını inhibe ederken, mesane ve trakeada oluşturduğu kasılmalarda bir değişiklik oluşturmamıştır.

Bu çalışmada elimizde hem P2Y reseptörlerinin hem de P1 reseptör alt tiplerinin spesifik antagonistleri bulunmadığından dokularda oluşan kasılmalara hangi P1 ve P2Y reseptör alt tiplerinin aracılık ettiği gösterilememiştir. Buna ilaveten P2X reseptörlerinin mevcut olan yedi alt tipinden ancak P2X1, P2X3 ve P2X7 alt tiplerinin spesifik antagonistleri kullanılmıştır ve sadece P2X1 reseptör antagonisti her iki dokuda da kasılmaya aracılık etmiştir. Fakat diğer P2X reseptör alt tiplerinin bu kasılmaya aracılık edip etmediği araştırılamamıştır.

Elimizde mevcut olan hiçbir reseptör antagonisti CTP'nin izole sıçan trakea düz kasları üzerinde oluşturduğu kasılma etkilerini değiştirmemiştir.

7. KAYNAKLAR

1. **Altınışık M.** Nükleotidler ve nükleik asitler. Yayımlanmamış.
2. **Higgins MJ, Graves PR, Graves LM.** Regulation of human cytidine triphosphate synthetase 1 by glycogen synthase kinase 3. *J Bio. Chem*, **2007**; 40:29493-503.
3. **Choi MG, Carman GM.** Phosphorylation of human CTP synthetase 1 by protein kinase A: identification of Thr455 as a major site of phosphorylation. *The Journal of Biological Chemistry*, **2007**; 282(8):5367-5377.
4. **Uğur M.** P2X Purinoseptörler: moleküler, biyolojik, farmakolojik ve elektrofizyolojik özellikleri. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası Cilt 54, Sayı 2, **2001**.
5. **Burnstock G.** Purinergic signalling: past, present and future. *Braz J Med Biol Res*. **2009**; 42(1):3-8.
6. **Surprenant A, North RA.** Signaling at Purinergic P2X₂ Receptors. *Annu. Rev. Physiol.*, **2009**; 71: 333-59.
7. **Bailey SJ, Hourani SM.** Differential effects of suramin on P2-purinoceptors mediating contraction of the guinea-pig vas deferens and urinary bladder. *Br J Pharmacol*. **1994**; 112(1):219-25.
8. **Pinna C, Glass R, Knight GE, Bolego C, Puglisi L, Burnstock G.** Purine- and pyrimidine-induced responses and P2Y receptor characterization in the hamster proximal urethra. *Br J Pharmacol*. **2005**;144(4):510-8.
9. **Nazif O, Teichman JM, Gebhart GF.** Neural upregulation in interstitial cystitis. *Urology*, **2007**; 69:24–33.
10. **Demirci AD, Canda AE.** Aşırı Aktif Mesanenin Patofizyolojisi. *Turk Urol Sem*, **2010**; 1:23-6.
11. **Kesim Y.** Pürinerjik sistemin farmakolojisi. *Atatürk Üniversitesi Tıp Bülteni*, **1989**; 21(2):449-458.
12. **Galligan JJ.** Purinergic signaling in the gastrointestinal tract. *Purinergic Signalling*, **2008**; 4:195–196.
13. **Vetri T, Bonvissuto F, Marino A, Postorino A.** Nitroergic and purinergic interplay in inhibitory transmission in rat gastric fundus. *Auton Autacoid Pharmacol*. **2007**;27(3):151-7.

14. **Nagaoka M, Nara M, Tamada T, Kume H, Oguma T, Kikuchi T, Zaini J, Moriya T, Ichinose M, Tamura G, Hattori T.** Regulation of adenosine 5'-triphosphate (ATP)-gated P2X₄ receptors on tracheal smooth muscle cells. *Respir Physiol Neurobiol*, **2009**;166(1):61-7.
15. **Kamei J, Takahashi Y, Yoshikawa Y, Saitoh A.** Involvement of P2X receptor subtypes in ATP-induced enhancement of the cough reflex sensitivity. *Eur. J. Pharmacol.*, **2005**; 528:158–161.
16. **Mortaz E, Folkerts G, Nijkamp FP, Henricks PA.** ATP and the pathogenesis of COPD. *Eur J Pharmacol*, **2010**; 638(1-3):1-4.
17. **Gourine AV.** On the peripheral and central chemoreception and control of breathing: an emerging role of ATP. *J Physiol*, **2005**; 568(3)715–724.
18. Klug ve Cummings. All text material 2008 by Steven M. Carr. Erişim:http://www.mun.ca/biology/scarr/Ribose_sugar.html.
19. şen H. Canlıların temel bileşenleri. Erişim: biyolojisesitesi.net
20. **Altınışık M.** Nükleotid metabolizması. Yayımlanmamış.
21. Aydos K. DNA'nın yapısı. Erişim: <http://www.androloji.info/dna.php>
22. Nükleotid ve porfirin metabolizması. Erişim: <http://www.doktortr.net/forum/tip-ders-notlari/porfirin-ve-nukleotid-metabolizmasi/>
23. **Kayır H, Uzbay İT.** Santral Adenozinerjik Sistem ve Klinik Önemi. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, **2004**;14:159-167.
24. King B. Cell signalling by extracellular nucleotides and derivatives. UCL Neuroscience, Physiology & Pharmacology, Erişim: www.uni-leipzig.de/.../research/ntpdase.html
www.ucl.ac.uk/npp/bking.html
25. **Burnstock G.** Physiology and Pathophysiology of Purinergic Neurotransmission. *Physiol. Rev*, **2007**; 87:659-797
26. **Turgut G.** Adenozin ve solunumsal etkileri. *Genel Tip Derg*, **1997**; 7(3):157-60.
27. **Pedata F, Melani A, Pugliese M, Coppi E, Cipriani S, Traini C.** The role of ATP and adenosine in the brain under normoxic and ischemic conditions. *Purinergic Signalling*, **2007**; 3:299–310.
28. **Riksen NP, Barrera P, Broek PHH, Riel PLCM, Smits P, Rongen GA.** Methotrexate modulates the kinetics of adenosine in humans in vivo. *Ann Rheum Dis*, **2006**;65:465-470.

29. Molecules That Built up and Make You Sleep. Erişim: thebrain.mcgill.ca.
30. **Olah ME, Stiles GL.** The role of receptor structure in determining adenosine receptor activity. *Pharmacol Ther*, **2000**; 85: 55–75.
31. **Fellin T.** Astrocytes coordinate synaptic networks: balanced excitation and inhibition. *Physiology Bethesda*, **2006**; 21:208–215
32. **Dare E.** Modulation of glial cell functions by adenosine receptors. *Physiol Behav*, **2007**; 92:15–20.
33. **Boison D.** Adenosine as a neuromodulator in neurological diseases. *Curr Opin Pharmacol*, **2008**; 8:2–7.
34. **Ekerbiçer N, Kutlu N.** Adenozin ve Kardiyak Korunum. *T Klin J Med Sci*, **2004**; 24:357-371.
35. **Bucheimer RE, Linden J.** Purinergic regulation of epithelial transport. *The Journal of Physiology*, **2004**; 555:311-321.
36. **Nicke A.** P2X1 and P2X3 receptors form stable trimers: a novel structural motif of ligand-gated ion channels. *EMBO J*, **1998**;17:3016-3028.
37. **Sawada K.** Identification of a vesicular nucleotide transporter. *Proc Natl Acad Sci*, **2008**; 105:5683–5686.
38. **Sawada K, Echigo N, Juge N, Miyaji T, Otsuka M, Omote H, Yamamoto A, Moriyama Y.** Identification of a vesicular nucleotide transporter. *PNAS*, **2008**; 105(15)**5683–5686**.
39. **Zhang Z.** Regulated ATP release from astrocytes through lysosome exocytosis. *Nat Cell Biol*, **2007**;9, 945-953.
40. **Dubyak GR.** ATP Release Mechanisms. Burnstock G, Arnett TR. eds, Taylor, Francis Group, **2006**
41. **Pankratov Y.** Quantal release of ATP in mouse cortex. *J. Gen. Physiol*, **2007**;129:257–265.
42. **Pankratov Y.** Vesicular release of ATP at central synapses. *Pflugers Arch*, **2006**; 452:589–597.

43. **Scemes E.** Connexin and pannexin mediated cell-cell communication. *Neuron Glia Biol*, **2007**; 3:199–208.

44. **Pedata F, Melani A, Pugliese AM, Coppi E, Cipriani S, Traini C.** The role of ATP and adenosine in the brain under normoxic and ischemic conditions. *Purinergic Signalling*, **2007**; 3:299–310.

45. **Roberts JA.** Molecular properties of P2X receptors. *Pflugers Arch*, **2006**;452:486–500.

46. **Guo C.** Evidence for functional P2X4/P2X7 heteromeric receptors. *Mol Pharmacol*, **2007**; 72:1447-1456.

47. **Pankratov Y.** P2X receptor-mediated excitatory synaptic currents in somatosensory cortex. *Mol Cell Neurosci*, **2003**; 24:842–849.

48. **Burnstock G.** Purinergic Mechanisms. *Annals of N.Y. Academy of Sciences*, **1990**; 603:1-7.

49. **Evans RJ, Derkach V.** Surprenant A. *Nature* **1992**; 357: 503-505.

50. **Chen CC, Akopian AN, Sivilotti L.** A P2X purinoceptor expressed by a subset of sensory neurons. *Nature*, **1995**; 377: 428-431.

51. **Kennedy C, Leff P.** Painful connection for ATP. *Nature*, **1995**; 337:385.

52. **Ferrari D, Los M, Bauer MK A.** P2Z purinoceptor ligation induces activation of caspases with distinct roles in apoptotic and necrotic alterations of cell death. *FEBS Letters*, **1999**; 447: 71-75.

53. **Benham CD, Tsien RW.** A novel receptor-operated Ca²⁺ permeable channel activated by ATP in smooth muscle. *Nature*, **1987**; 328:275-278.

54. **Honore E, Martin C, Mironneau C.** An ATPsensitive conductance in cultured smooth muscle cells from pregnant rat myometrium. *American Journal of Physiology*, **1989**; 257: C297-305.

55. **Uğur M, Drummond RM, Zou H.** An ATP gated cation channel with some P2Z-like characteristics in gastric smooth muscle cells of toad. *Journal of Physiology*, **1997**; 498: 427-442.

56. **Cario-Toumaniantz C, Loirand G, Ladoux A.** P2X7 Receptor Activation-induced contraction and lysis in human saphenous vein smooth muscle. *Circulation research*, **1998**; 83:196-203.

57. **Bhatt DL, Topol EJ.** Scientific and therapeutic advances in antiplatelet therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, **2003**; 2: 15-28.
58. **Abbracchio MP.** International Union of Pharmacology. Update and subclassification of the P2Y G protein-coupled nucleotide receptors: from molecular mechanisms and pathophysiology to therapy. *Pharmacol Rev*, **2006**; 58:281–341.
59. **Abbracchio MP, Burnstock G, Boeynaems JM, Barnard EA, Boyer JL, Kennedy C, Knight GE, Fumagalli M, Gachet C, Jacobson KA, Weisman GA.** International Union of Pharmacology. Update and subclassification of the P2Y G protein-coupled nucleotide receptors: from molecular mechanisms and pathophysiology to therapy. *Pharmacol Rev*, **2006**; 58:281-341.
60. **Volonte' C, Amadio S, D'Ambrosi N, Colpi M, Burnstock G.** P2 receptor web: complexity and fine-tuning. *Pharmacol Ther*, **2006**; 112:264–280.
61. **Verkhatsky A.** Physiology and pathophysiology of the calcium store in the endoplasmicreticulumofneurons. *Physiol Rev*, **2005**; 85:201–279.
62. **White PJ.** Characterization of a Ca²⁺ response to both UTP and ATP at human P2Y₁₁ receptors: evidence for agonist-specific signaling. *Mol Pharmacol*, **2003**; 63:1356-1363.
63. **Weyden LVD, Conigrave AD, Morris MB.** Signal transduction and white cell maturation via extracellular ATP and the P2Y₁₁ receptor. *Immunology and Cell Biology*, **2000**; 78:369–374.
64. **Brown SG, King BF, Kim YC, Jang SY, Burnstock G, Jacobson KA.** Activity of novel adenine nucleotide derivatives as agonists and antagonists at recombinant rat P2X receptors. *Drug Dev Res* **2000**; 49: 253–259.
65. **Bogdanov Y, Rubino A, Burnstock G.** Characterisation of subtypes of the P2X and P2Y families of receptors in the foetal human heart. *Life Sci*, **1998**; 62: 697–703.
66. **Wildman SS, King BF, Burnstock G.** Modulation of ATP-responses at recombinant rP2X₄ receptors by extracellular pH and zinc. *Br J Pharmacol*, **1999**; 126: 762–768.
67. **Yokomizo T, Izumi T, Chang K, Takuwa Y, Shimizu T.** A G-protein-coupled receptor for leukotriene B₄ that mediates chemotaxis. *Nature*, **1997**; 387: 620–624.(s 50)
68. **Bogdanov Y, Dale L, King B, Whittock N, Burnstock G.** Early expression of a novel nucleotide receptor in the neural plate of *Xenopus embryos*. *J Biol Chem*, **1997**; 272:12583–12590.(s 51)
69. **Adrian K, Bernhard MK, Breitingner HG, Ogilvie A.** Expression of purinergic receptors (ionotropic P2X_{1–7} and metabotropic P2Y_{1–11}) during myeloid differentiatio of HL60 cells. *Biochim Biophys Acta*, **2000**; 1492:127–138.(s 52)

- 70. Abbracchio MP, Boeynaems JM, Barnard EA, Boyer JL, Kennedy C, Miras-Portugal MT, King BF, Gachet C, Jacobson KA, Weisman GA, Burnstock G.** Characterization of the UDP-glucose receptor (re-named here the P2Y14 receptor) adds diversity to the P2Y receptor family. *Trends Pharmacol Sci*, **2003**; 24:52-55. (s 53)
- 71. DUBYAK G, El-Moatassim C.** Signal transduction via P2-purinergic receptors for extracellular ATP and other nucleotides. *Am J Physiol*, **1993**; 34:C577-C606. (p 4)
- 72. Motte S, Swillens S, Boeynaems JM.** Evidence that most high-affinity ATP binding sites on aortic endothelial cells and membranes do not correspond to P2 receptors. *Eur J Pharmacol*, **1996**; 307:201-209. (p 5)
- 73. Lewis CJ, Evans RJ.** Lack of run-down of smooth muscle P2X receptor currents recorded with the amphotericin permeabilized patch technique, physiological and pharmacological characterization of the properties of mesenteric artery P2X receptor ion channels. *Br J Pharmacol*, **2000**; 131:1659-1666. (p 27)
- 74. Gür S.** Mesanenin non-adrenerjik non-kolinergik kontrolü. *Ankara Ecz Fak Derg*, **1998**; 27(1):51-60.
- 75. Galligan JJ.** Purinergic signaling in the gastrointestinal tract. *Purinergic Signalling*, **2008**; 4:195-196.
- 76. Hacıbrahimoğlu G.** Trakeanın Anatomi ve Fizyolojisi. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci*, **2006**; 2(29):1-10.
- 77. Villette H, Lelievre LG.** Biochemical evidence for ATPase activity in CFTR-enriched apical membrane vesicles from tracheal epithelium. *Biochim et Biophys Acta*, **2000**; 1467:7-17.(p 34)
- 78. Farrell PM, Fox GN, Spicer SS.** Determination and characterization of ciliary ATPase in the presence of serum from cystic fibrosis patients. *Pediatr. Res*, **1976**; 10(2):127-35.(p 35)
- 79. Leipziger J.** Control of epithelial transport via luminal P2 receptors. *Am. J. Physiol.*, **2003**; 284: F419-32. (p 11)
- 80. Schwiebert EM, Zsembery A.** ExtracellularATPas a signalling molecule for epithelial cells. *Biochim Biophys. Acta*, **2003**; 1615: 7-32. (p 12)
- 81. Grider R, Cable MB, Said SI, Makhlof GM.** Vasoactive intestinal peptide as a neural mediator of gastric relaxation. *Am J Physiol*, **1985**; 248:73-78.
- 82. Wang M, Ren LM.** Pharmacological characteristics of contractile responses regulated by P2Y receptors in circular smooth muscle of the rat gastric body. *Yao Xue Xue Bao*, **2009**; 44(5):473-9.

- 83. Matharu MS, Hollingsworth M.** Purinoceptors mediating relaxation and spasm in the rat gastric Fundus. *Br J Pharmacol*, **1992**; 106:395-403.
- 84. Lazarowski ER, Rochelle LG, O'neal WK, Ribeiro CMP, Gbubb BR, Zhang V, Harden TK, Boucher RC.** Cloning and Functional Characterization of Two Murine Uridine Nucleotide Receptors Reveal a Potential Target for Correcting Ion Transport Deficiency in Cystic Fibrosis Gallbladder. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2001; 297:43–49.
- 85. Wildman SS, Unwin RJ, King BF.** Extended pharmacological profiles of rat P2Y2 and rat P2Y4 receptors and their sensitivity to extracellular H and Zn²⁺ ions. *British Journal of Pharmacology*, **2003**; 140, 1177–1186.
- 86. Burnstock G.** Purinergic receptors as future targets for treatment of functional GI disorders. *Gut*, **2008**; 57: 1193-1194.
- 87. Doç. Dr. Mustafa ALTINIŞIK.** Nükleotid sentez ve yıkılımı. ADÜTF Biyokimya AD, **2009**.
- 88. Yilmaz MS, Coskun C, Suzer Ö, Yalcin M, Mutlu D, Savci V.** Hypotensive effects of intravenously administered uridine and cytidine in conscious rats: Involvement of adenosine receptors. *European Journal of Pharmacology*, **2008**; 584:125–136.
- 89. Burnstock G, Warland JJI.** P2-purinoceptors of two subtypes in the rabbit mesenteric artery: reactive blue 2 selectively inhibits responses mediated via the P2Y- but not the P2X purinoceptor. *Br J Pharmacol*, **1987**; 90:383-391.
- 90. Kennedy C, Tasker PN, Gallacher G, Westfall TD.** Identification of Atropine- and P2X1 Receptor Antagonist-Resistant, Neurogenic Contractions of the Urinary Bladder. *The Journal of Neuroscience*, **2007**; 27(4):845–851.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Konya/Ereğli'de doğdum. İlkokul, orta ve lise öğrenimimi Ereğli'de'de tamamladım. 2004 yılında Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde lisans eğitimime başladım ve 2008 yılında mezun oldum. 2008 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Farmakoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimime başladım. 2009 yılından itibaren Sağlık Bilimleri Enstitüsünde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Yabancı dilim İngilizcedir. Nisan 2010'dan itibaren evliyim.