

24359

T. C.  
EĞE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTAMİN TAYİNİ  
ve  
BAZI HİSTAMİN - Zn KOMPLEKSLERİNİN  
ANALİTİK İNCELENMESİ

ANALİTİK KİMYA PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖZLEM SÖĞÜT

Danışman Öğretim Üyesi :  
Prof. Dr. Aysel KAYALI

İZMİR 1992

Bu çalışmayı gerçekleştirebilmem için gerekli tüm olanakları sağlayan, yakın ilgi ve desteğini benden esirgemeyen sayın hocam Prof.Dr. Aycıl KAYALI 'ya,

tüm gayretiyle bana destek olan, birlikte çalışmaktan zevk duyduğum sayın hocam Yard. Doç. Dr. Cengiz YALÇINKAYA 'ya,

bana huzurlu bir ortam sağlayarak ve tezimin hazırlanması sırasında emeği geçen tüm kürsüdeki ve diğer krslerdeki arkadaşlarıma,

hem bu çalışmamda, hem de tüm yaşamım boyunca beni daima destekleyen ve bana yardımcı olan aileme,

SONSUZ TEŐEKKÜR EDERİM.

Özlem SöğüT

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<u>GİRİŞ</u>	1
<u>1-HİSTAMİNİN YAPISI ve ÖZELLİKLERİ</u>	3
1.1-Tarihsel Hatırlatmalar	3
1.2-Yapısı	4
1.3-Fiziksel Özellikler	9
1.4-Kimyasal Özellikler	9
1.4.1-İn-vivoda histamin sentezi	9
1.4.2-Histaminin katabolizması	11
<u>2-HİSTAMİNİN BİYOLOJİK ROLÜ</u>	16
2.1-Histamin Depoları	16
2.1.1-Mast hücreleri	16
2.1.2-PolinÜkleer bazofiller	19
2.1.3-Mide bölgesi mast hücre kökenli olmayan histamini	21
2.1.4-İndüklenmiş ve doğum halindeki histamin	21
2.2-Histamin Salınımı	22
2.2.1-Salınım mekanizması	22
2.2.2-Metal iyonlarının histaminle in-vivoda girişimleri	28
2.3-Histaminin Farmakodinamik Etkisi	30
2.3.1-Enflamatuvar reaksiyonlar	30
2.3.2-Mikrosirkulatuvar etkiler	34

2.3.3.-Dokuların büyümesi ve yaralarının iyileşmesi	35
2.3.4-Histamin ve sinir sistemi	36
2.3.5-Bazı hastalıklarda histaminin rolü	37
2.3.6-Histaminin gastrik etkisi	38
2.4-Histamin Reseptörleri	41
2.4.1-H <sub>1</sub> reseptörleri	42
2.4.2-H <sub>2</sub> reseptörleri	46
2.4.3-H <sub>3</sub> reseptörleri	51
2.5-Kan Plazmasında Histamin-Metal İyonları Girişimlerinin Simulasyonu	53
<b>3-DENEYSEL ÇALIŞMA</b>	56
3.1-Histamin Miktar Tayini	56
3.2-Histaminin Stabilitesi	65
3.3-Kullanılan Cihazlar	67
3.4-Kullanılan Kimyasal Madde ve Hazırlanan Çözeltiler	67
3.4.1-Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler	67
3.4.2-Hazırlanan çözeltiler	67
3.5-Çalışma Yöntemi	68
3.5.1-Ekstraksiyon safhası	68
3.5.2-Fluorimetrik ölçüm	68
3.5.3-Körün hazırlanması	69
3.6-Deneysel Bulgular	71
3.6.1-Fluoresans şiddetinin kararlılığının sağlanması	71

3.6.2-Kalibrasyon eğrisinin çizilmesi	72
3.7-Zn-Histamin Glutamik Asit Kompleksinin İncelenmesi	77
3.7.1-Spektrofluorimetrik çalışma	78
3.7.2-Atomik absorpsiyon spektrofotometrik çalışma	79
<u>TARTIŞMA</u>	86
<u>ÖZET</u>	87
<u>REFERERANSLAR</u>	89



## GİRİŞ

Doku histamininin tahmini için çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Bunların çoğu izole edilen organlarda histaminin biyolojik aktivitesine dayanır. Örneğin: Kobay ileumu.

Genellikle in-vitroda kullanılan bu teknikler; bu çok sayıda olsa da, çok az emek isteyen ve spesifik olanlarını kanıtlamak çok güçtür. Bu yüzden doku histaminin kantitatif tayini için hassas ve spesifik fakat basit bir tekniğe ihtiyaç vardır.

Histamin tayini için 3 yöntem kullanılmaktadır. Radyoenzimatik, radyoimmun ölçüm ve fluorimetrik yöntemdir. Radyoimmun ve radyoenzimatik yöntem, fluorimetrik yöntemle göre daha pratik ve daha duyarlı olmasına karşın oldukça pahalıdır. Bu yüzden çoğunlukla tayin yöntemi olarak spektrofluorimetrik yöntem tercih edilir.

Spektrofluorimetrik yöntem yüksek alkali pH'da o-phtalaldehyde ile histaminin kondansasyonu sonucu fluoresans veren ürünler ortaya çıkmasına dayanır. o-htalaldehyde-histamin kompleksinin fluoresansı asit pH'da hem stabil hem de daha kuvvetli olduğu için ölçüm yüksek asit pH'da yapılır (214) .

Bu çalışmanın amacı terapatik öneme sahip histamin katabolizmasını hızlandırıcı sistemlerin hazırlanıp daha sonra farmakolojik etkilerini incelemek üzere izole edilmesidir. Bu amaca araç olarak kompleks oluşumu temel parametrelerinden ya histamin ya da merkez metal iyonunun tayini esas olduğundan, burada ilk bir adım olarak bir histamin tayin yön-

temin geliştirilmesi ve içinde bulunduğumuz olanaklar da göze alınarak spektrofotometre ile çalışılması öngörülmüştür. Böylece spektrofotometrik yöntem üzerine çalışılırken buna paralel olarak laboratuvar dışı bazı olanakların zorlanmasıyla atomik absorpsiyon spektrofotometresinde taşıyıcı metal tayinleri üzerinde ilk ön çalışmalar gerçekleştirilmiştir.



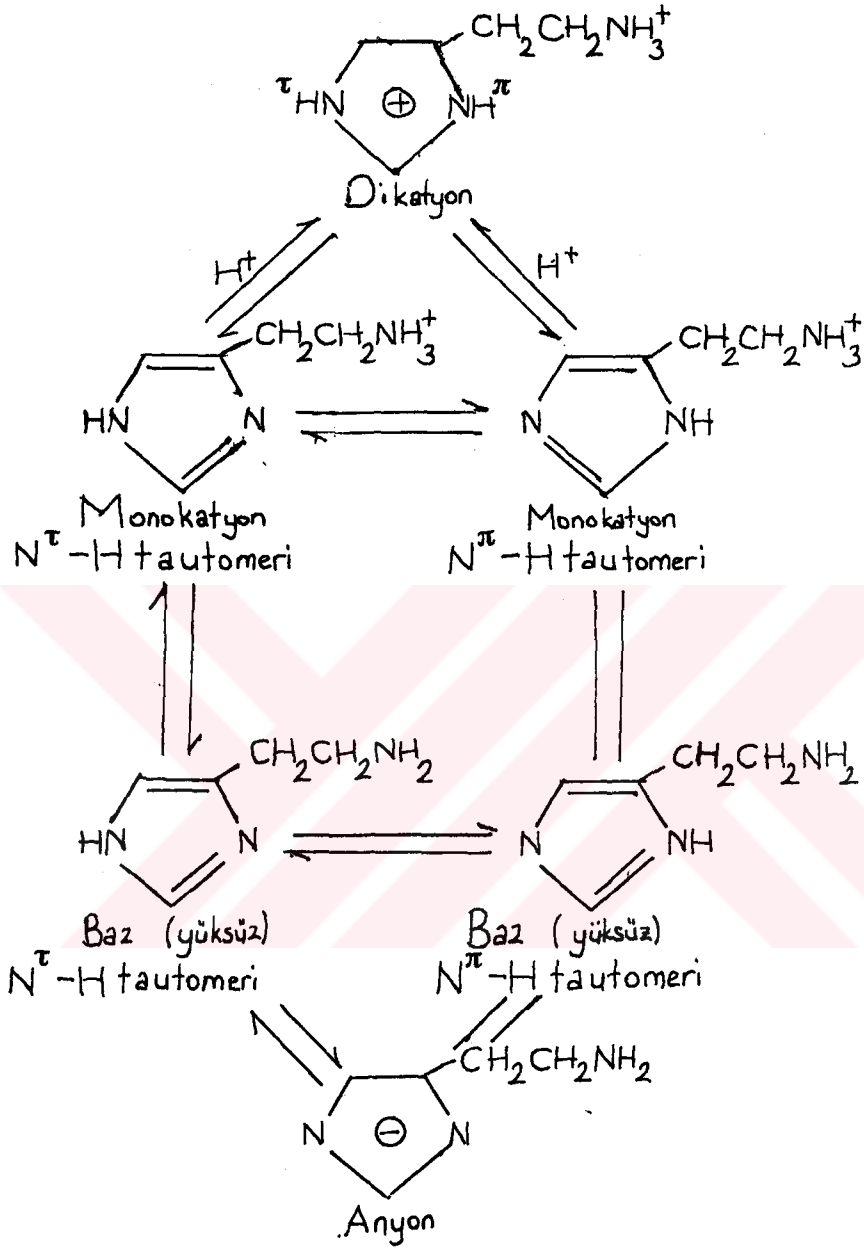
## HİSTAMİN'İN YAPISI ve ÖZELLİKLERİ

### 1.1 Tarihsel Hatırlatmalar

Histamin, dokudaki varlığının bilinmesinden çok önce 1907 yılında WINDOUS ve VOGT tarafından (1) kimyasal olarak sentezlendi. 3 yıl sonra, BARGER ve DALE (2) Ergo'dan izole etmişler ve 1910'da ACKERMANN'ın (3) histidinin bakteriyal dekarboksilasyonu ile hazırladığı (4 veya 5)- (2-aminoetil)-imidazol örneği ile aynı olduğunu ispatlamışlardır.

20 yıl boyunca DALE ve Arkadaşları histaminin birçok fizyolojik etkisini belirleyen bir seri araştırma gerçekleştirilmişlerdir (4-5). Bu bileşiğin doğada çok yaygın olduğu gösterilmiştir. Örneğin çavdar ergosu ve diğer bitkilerde (6) ve insan vücudunun bütün doku ve organlarında küçük miktarlarda (7) rastlanır. Örneğin: Barsak mukozasındaki histamin varlığı BARGER ve DALE tarafından ispatlanmıştır (8). Bu olay daha sonra MELLANBY ve TWORT (9), tarafından doğrulanmış; ancak bu sırada barsak içeriğindeki histidin üzerine bakteriyal etki ile oluştuğu önerilmiştir. Daha sonra ABEL ve KUBOTA birçok dokuda mevcut olan histaminin, histidinin yalnız dekarboksilasyonu sonucu oluşmadığını ispatlamışlar (10) ve onu adaleler, karaciğer, pitueterden izole etmişlerdir; BEST ve arkadaşları histamini karaciğer ve pulmoner dokularda teşhis ederken (7) ACKERMANN ve MOHR karaciğerden hareket ederek izolasyonunu betimlemişlerdir (11).



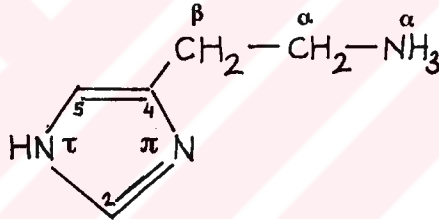


## 1.2 Yapısı

Histamin veya (4 veya 5)-(2'-aminoetil imidazol veya β-imidazolil etilamin) sulu çözeltilerde çeşitli iyonik ve tautomerik türlerin

bir karışımı şeklinde mevcuttur (12).

İmidazol halkasını numaralandırmak için kabul edilen yöntem N taşıyan imino halkasına 1 numarayı verip daha sonra, halkada diğer N atomuna en küçük sayıyı verecek şekilde halkayı izlemektir. Diğer N atomunun sayısı 3 olur. Bir tautomeri mevcut olduğundan imidazol halkasının imino H'ı hareketli olup bir N atomu içinde ise bu  $N^{\pi}\text{-H}$  tautomer; eğer uzaktaki N atomundaysa bu  $N^{\tau}\text{-H}$  tautomeridir. Burada histamin adlandırılmasında IUPAC IUB'ının önerdiği adlandırma kullanılmaktadır (13). Daha sonra yan zincirde amino azotuna bağlı C'a  $\alpha$  adı verilirken halkaya bağlı C'a  $\beta$  adı verilir.  $\tau$  ve  $\pi$  azotlarında, ayırt edebilmek için yan zincirin amino grubunun azotuna N- $\alpha$  adı verilebilir.



Fizyolojik nötrölitede (pH=7,4) hakim tür monokatyon olup bu imidazol halkasının iki tautomerik şekli altında varolabilir. (14).

Histamin ve N-metil türevlerinin (histidinle olduğu gibi(15)) pK ölçümlerine dayanarak GANELIN monokatyon histamin durumundan  $N^{\tau}\text{-H}$  tautomerinin sulu çözeltide yaklaşık %80 oranında bulunduğu sonucuna varmıştır (16). "Hammett denklemine " dayanan benzer sonuçlar tautomerik tercihin yan zincir tarafından şekillendiğini gösterir ve bu yan zincir, elektronik etkisi aracılığıyla protonun asitliği Uzerinden etkir (17). Son zamanlarda NMR incemeleriyle (pH'ın fonksiyonu olarak) ve histamin için

<sup>13</sup>C'un kullanımı ile (histidinle olduğu gibi(18)) bu konuda ek bir kanıt getirilmiş ve imidazol çekirdeğinin N<sup>τ</sup>-H tautomerinin 4:1 bağıl istatistik ağırlıkta bulunduğu gösterilmiştir (19).

Sulu çözeltilerdeki bu sonuçlar kristal yapı belirlemeleriyle çelişir. Böyle bir durumda monokasyon durumundaki histaminin N<sup>τ</sup>-H şeklinde kristallendiği görülür.(20). Aynı tautomer şekil kristal histamin bromhidrat şeklinde de bulunmuştur (20). Ancak nötr histamin kristal şekli incelendiğinde nötr bileşiğin katı halde N<sup>π</sup>-H tautomer şeklinde mevcut olduğu görülmüştür (21).

Kristal yapılar donmuş bir hal (frozen) temsil ederler ve çeşitli şekillerin denge koşulları altında bağıl şartları hakkında bilgi vermezler. Bununla birlikte, WEINSTEIN ve arkadaşlarının izole molekül içine "ab initio "molekül orbitalleri hesabıyla ilgili bir yayında katı haldeki neticelere uyar şekilde monokasyonun N<sup>π</sup>-H tautomer şekline seçtiğini belirtilir. Ancak burada monokasyon ve nötr şekli yapılarından türeyen geometrilerin kullanıldığını da belirtelim. Öte yandan KANG ve CHOU ön görülen tautomerinin kararlılığının halkanın geometrisini izleyerek değişikliğe uğradığını ispatlamışlar ve geometri ve hesap yöntemiyle değişen farklı sonuçları ortaya koymuşlardır (22). N<sup>τ</sup>-H tautomeri monokasyon tarafından tercih edilir. Ancak nötr şeklin tautomerleri arasında çok küçük bir enerji farkı vardır. Bütün bu sonuçlar bizi baz şeklindeki histaminin tautomeri tercihi olmadığını söylemeye yöneltir. Sulu çözeltiyle karşılaştırma sonucu suyun yüklü olmayan baza oranla mono kasyonun tauto-

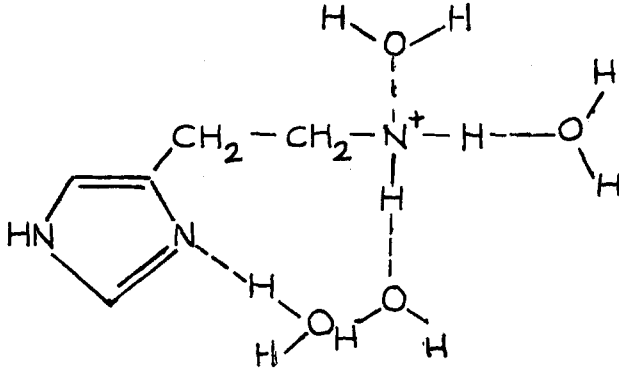
tomerek kararlılığı Uzerinde daha büyük etkisi olduğunu gösterir (14). Bu yapısal aktivitelerin araştırılmasında çok önemlidir. Çünkü histamin reseptörleri sulu olmayan bir ortamda yer alabilirler.

Katı halde de ve çözeltideki nötral histaminin enferaruj spektrumları özellikle farklıdır (23). Bunun sonucunda histaminin kristal yapısının belirlenmesi maalesef çözeltideki konformasyonu Uzerinde bize bilgi veremez.

Nötral histamin çözeltisinin NMR spektrumları etilenik grup için AA', BB' kompleks multipleri vermişlerdir. Bunun sonucunda; iki araştırmacı grubu histaminin çözeltide yaklaşık birbirine eşit bir oranda (gauche) ve trans konformerleri şeklinde olduğunu (24,25), halbuki katı halde trans konformer (21) şeklinde var olduğu sonucuna varmışlardır.

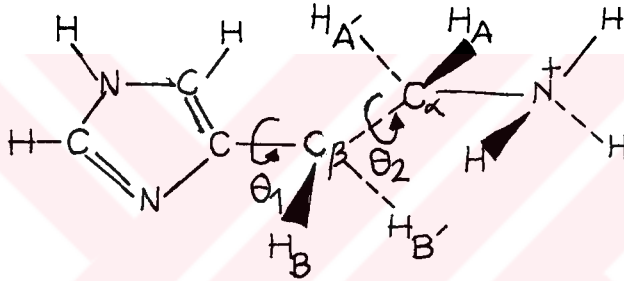
Monokatyon histaminin konformasyonu sudan çok etkilenir. Solvate olmayan kation için RICHARDS hesapları sonucunda kararlı şeklin bir gauche konformer olup yan zincirdeki N atomunun imidazol halkası azotuna hidrojen bağı ile bağı olduğunu önerir. Buna karşılık güçlü bağı su molekulu varlığında trans şekil baskın tür haline geçer. (26).

En nihayet belirtelim ki; UV absorpsiyon spektrofotometresi histamin için analitik bir yöntem değildir. Çünkü LEWIS ve arkadaşlarının da gözlediği gibi 210-700 nm bölgesinde bu bileşik absorpsiyonu maksimumu göstermez (30).

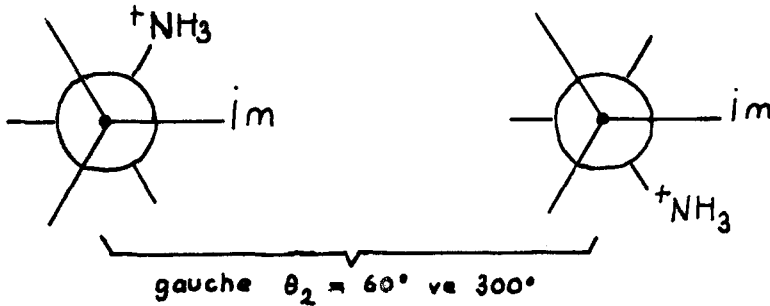
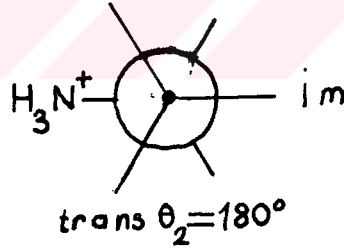


Su molekülleri ile bağlanmış histamin monokatyonu

Aşağıdaki şekilde görüldüğü gibi ( $\beta$ ) C ile imidazol C' u arasındaki açıya  $\theta_1$  ; ( $\beta$ ) C ile C' u arasındaki açıya  $\theta_2$  dersek trans ve



gauche konfigürasyonu şu şekilde gösterilebilirler (27).



Monokatyon ve nötral yapıdaki histamin yük dağılım incelemeleri

leri kristal halindeki değerlerinden yararlanılarak (20) yapılmışlardır (28,29).

### 1.3 Fiziksel Özellikler

Serbest histamin renksiz plakalar halinde görülür ve 83-84 C ler arasında erir. (18 mm Hg) Basınç altında 209-210 C de distile edilebilir. Nötr şekli su ve alkolde kuvvetle çözünür, ancak eter veya benzende çözünmez. Sudaki histaminin viskozitesi HATEM tarafından incelenmiş olup (31) bileşiğin hidrojen bağı ile kuvvetli bağlanmalar yaptığı belirlenmiştir.

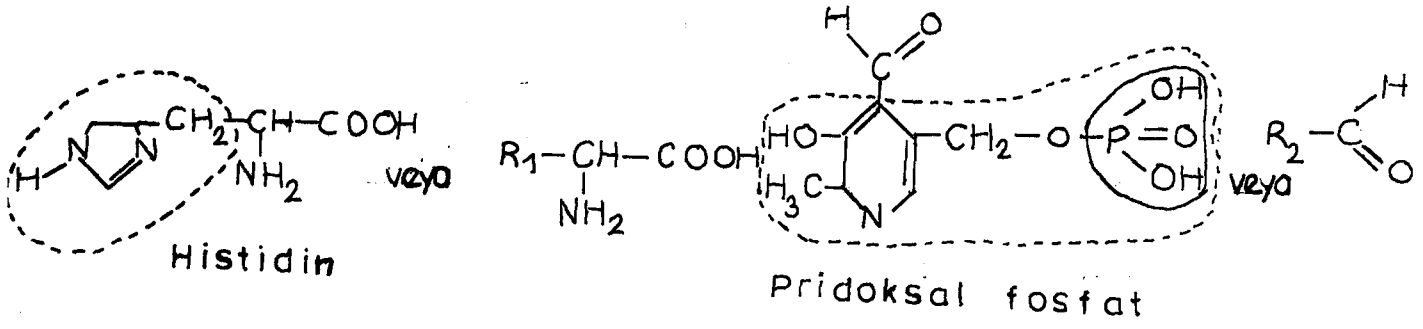
### 1.4 Kimyasal Özellikler

Kimyasal olarak histamin ; histidinden, imidazol propiyonik asitten ,  $\alpha$  -amino ketonlardan,  $\alpha$  -amino aldehitlerden ,  $\alpha$  -hidroksi ketonlardan vb.den hareket ederek sentez edilebilir, ve primer aminler ile imidazol bileşiklerinin belirtici reaksiyonlarını verir (32). Ancak memeliler ve özellikle insan göz önüne alındığında histamin sentezi ve katabolizması özel görünüm arz eder.

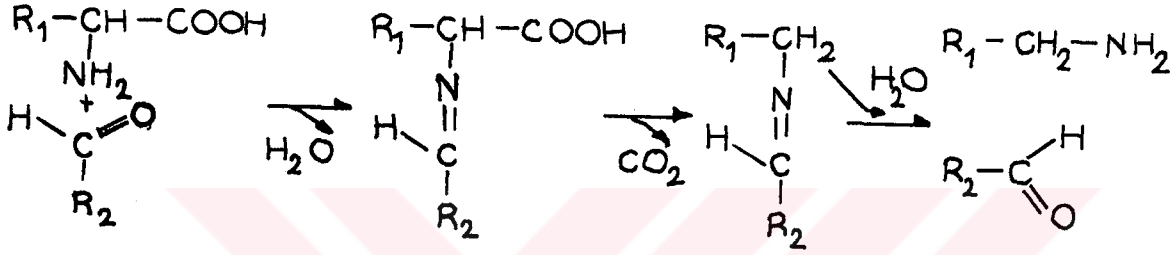
#### 1.4.1 .In-vivoda histamin sentezi

Memelilerde histamin oluşumu tek bir süreçtir. 1907'den beri histamin veditişer aminlerin, amino asitlerin bakteriyal dekarboksilasyonu sonucu oluşabildikleri bilinir. Memeli kökenli bir enzim tarafından histidin histamine ilk defa dönüştürülmesi 1936'da WERLE tarafından gösterilmiştir (33). Histidinden histamin oluşum oranı diğer biyogenik aminlerde görüldüğü gibi ekstranerol histamin ile kontrol edilir (34). Bugün reaksiyonun histidin dekarboksilaz tarafından analizlendiğini biliriz. Bu enzim hayvanların iç ve dış çevre değişimlerine adaptasyonunun fonksi-

yonu olarak aktivitesinde değişiklere uğrayabilir. Genellikle incelenen türlerin bütün dokularında histidin dekarboksilazın indiklenebilen tipi tesbit edilmiştir ve aynı tipe diğer türlerin test dokularında da rastlanmıştır (35). Kısmen saflaştırılmış preparatların incelenmesi sonucu çok büyük sayıdaki dokularda spesifik bir histidin dekarboksilazın mevcut olduğu açıkça görülür. Kinetik parametrelerin birbirine benzemesi sebebiyle (36,37) enzimin aynı veya yapı olarak incelenen preparatlarda benzer olduğu olasıdır. Daha elektroforezle hiç bir inceleme gerçekleştirilmediği için enzimin farklı şekillerinin var olup olmadığı bilinmemektedir. Her ne kadar izoelektrik çökeltme (38) ve agarozdan alkili türevlerin kromatografisi (39) gibi ek saflaştırma evreleri son zamanlarda gerçekleştirilmişse de , enzimin kararsızlığı ile ilgili sorunlar üst bir derecede saflaştırılmasına izin vermemiştir. Dekarboksilasyon mekanizması olarak HAKANSON, histidinin anyonik şeklinin hakim türü oluşturduğunu ve dekarboksilasyonunun bir Schiff bazı oluşumu üzerinden (pridoksal fosfatla gerçekleşen) yürüdüğünü ; ve karbondioksit eliminasyonunu kolaylaştırmak için apoenzimin protonlanmamış bir amino grubu ile girişim oluşturduğu sonucuna varmıştır. Pridoksal fosfatın , enzime, fosfat esteri ve piridin azotu aracılığıyla bağlı olduğu varsayılmıştır (38,40). Invitroda pridoksal fosfat koenziminin, histidin dekarboksilaz apoenziminin sentezinde, gerekliliği, GARBARG ve HALPERN tarafından açığa çıkarılmıştır (41,42).



### Mekanizma



Özet olarak, doğal bir aminoasit olan histidin, L-histidin dekarboksilaz adı verilen spesifik bir enzim ile kofaktör (pridoksalfosfat) varlığında histamine yol açacak şekilde doku mast hücrelerinde ve kan polü nükleer bazofillerinde dekarboksile edilebilir (43).

#### 1.4.2 Histaminin Katabolizması

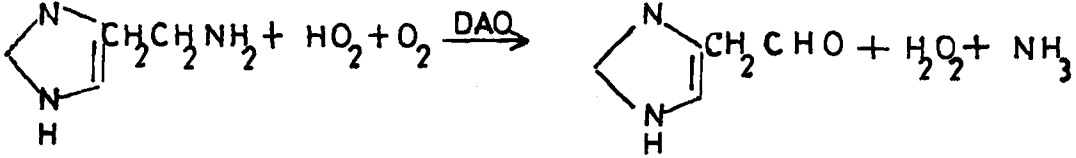
Histaminin etkisizleştirilmesiyle ilgili temel süreçler iyi bilinmemektedir. 1950'li yıllarda SCHAYER ve arkadaşları birçok hayvan türünde radyoaktif histidin veya histaminden faydalanarak metabolik süreçleri betimlemişlerdir (44,45).

Histamin başlıca aşağıdaki süreçlerle etkisizleştirilebilir.

(Bk. Tab:1)



a) Oksidatif deaminasyon: bu önce imidazol asetik asite yol açar.(4,(5)-imidazol asetik asit) Daha sonra da tekabül eden riboziti verir. Buradaki diamin oksidaz (yada histaminaz) etkisindeki reaksiyonu yazarsak ,



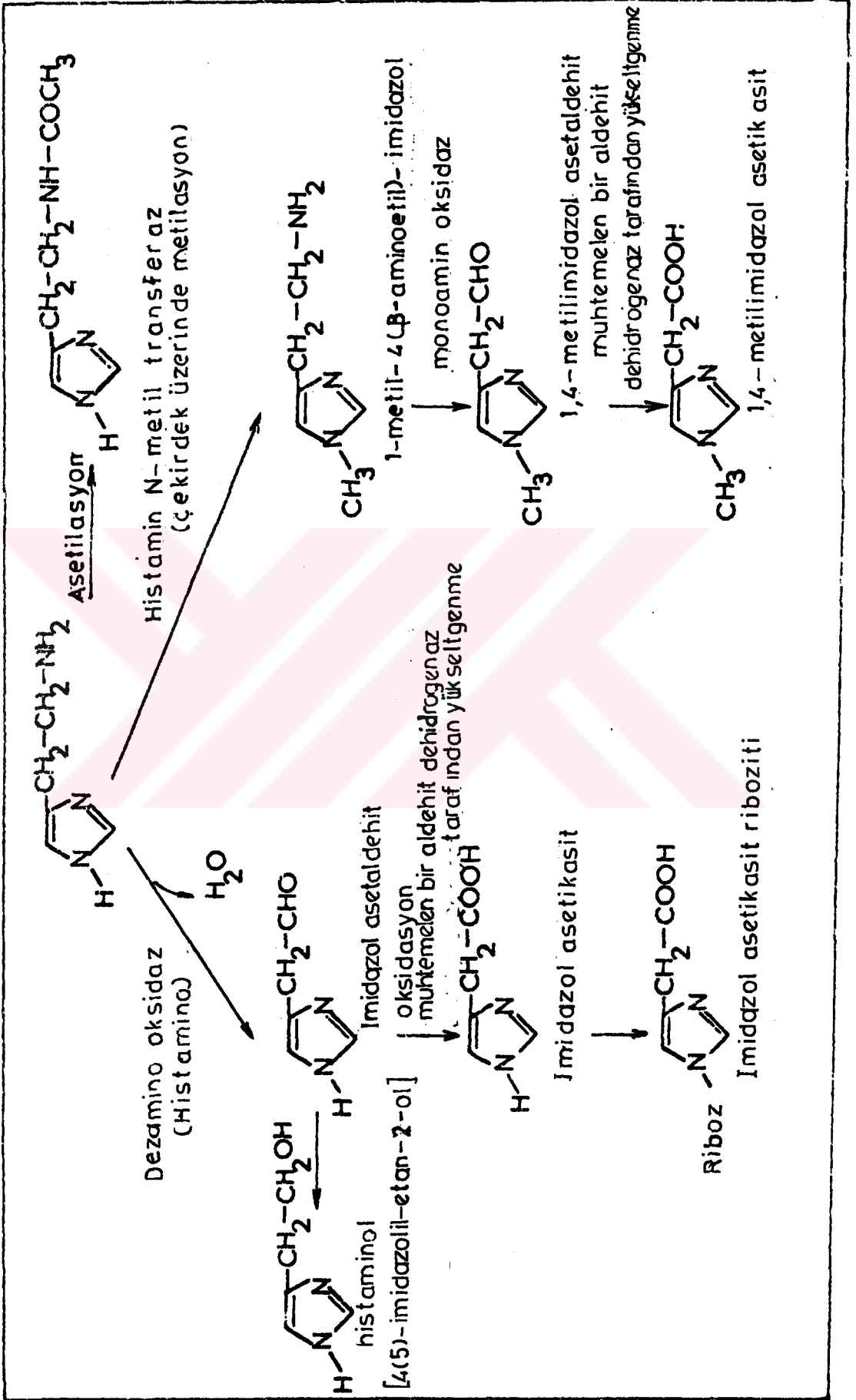
bu reaksiyonun bir oksijen elektrodu yardımıyla izlenebileceği gibi (46) amonyak ve peroksit üzerinde izlenebilir (47). Bu konuda bitki kökenli histaminaz elektrokimyasal sensörleri düşünülmüştür (48).

b)Önce metil histamine metillenme (1-metil-4-(β-aminoetil) imidazol )daha sonra da bu sonuncunun metil imidazol asetik asite oksidasyonu (1-metil-4- imidazol asetik asit)

c)Küçük niceliklerin asetil histamin ve histaminol (4,(5)-imidazolil etan 2- ol)(49)

Tabiatıyla diğer olanaklarında her zaman olabileceği kabul edilir.Örn: İn-vitroda yan zincir üzerinde bir metillenme varolup bu önce N-metil histamine sonra da N-dimetil histamine yol açar (50). N-dimetil histaminin varlığı memeli dokularında ispatlanmamışsa da insan idrarında eser halde mevcuttur (51). Büyük histamin miktarları varlığında 1-metil 5(β-aminoetil)-imidazol oluşumunda kaydedilebilir (52) .

Histaminin katabolizması



Birkaç istisna dışında dokuların çoğunda var olan histidin dekarboksilazın zayıf dağılımının aksine bütün incelenen dokularda histamin katabolizmasından sorumlu iki enzimin en az birisi (deaminooksidaz ve histamin N-metil transferaz) mevcuttur (51). İşaretlenmiş histamin ile yapılan incelemeler sonucunda intravenöz yoldan enjekte edilen histaminin birkaç dakikada plazmadan kaybolduğu ve hemen hemen bütün dokularda işaretli metabolitler şeklinde ortaya çıktığı görülmüştür. İşaretli histaminin yalnız küçük bir yüzdesi değişmemiş şekil altında idrarla atılır. (%1-3)(51) SCHAYER ve arkadaşları dokuların çoğunda invivoda histamini degrade olduğunu göstermiştir (53,54).

Histaminin önce deaminasyonu ve ardından imidazol asetik asit ribozitine dönüşmesi, insanda (55), farede (56), kedi ve köpekte (44) minör bir süreç olduğu halde, sıçanda majördür (44). Tavşanda (44) ve kobayda (55) her iki süreçte her iki düzeyde önemli gözükmektedir.

Metilasyon inaktivasyon mekanizmasıdır (57). İnvivoda histamin katabolizmasında halkanın metillenmesinin major süreç olduğu bulunduktan sonra birbirinden bağımsız iki laboratuvar histamin-N-metil transferazı bu süreçten sorumlu enzim olarak betimlemişlerdir (58,59) Bu enzimde metil verici olarak bir S-adenozil metionin grubu vardır. Histaminazın aksine seçiciliği iyice açığa konan histamin N-metil transferazın, geniş bir çeşitlilik gösteren dokularda, dağıldığı görülmüştür. Bugün, birçok çalışmadan sonra iyice bilinmektedir ki şiringalanan <sup>14</sup>C lu histamin (izotopu) başlıca önce metilasyonla sonra oksidasyon ile etkisizleştirilir.

şıçanların dışında) . Histaminin radyoaktif olmayan metabolitleri için uygun analiz yöntemlerinin geliştirilmesi ile de bu buluşlar, onaylanmıştır (60). İdrarla atılan imidazol asetik asit histamin ara evresinden geçmeksizin doğrudan histidinden türeyebilir ve bu sebeple histamin metabolizması konusunda kesin bilgiler vermeyebilir.

Minör bir öneme sahip olan histaminin asetilasyonu konjuge histamin kullanılarak birkaç yazar tarafından ölçülmüştür (49). İnsan idrarında küçük histaminol(4,(5)-imidazolil etan-2-ol) miktarlarına rastlanmıştır (61). İyon değiştirici kromatografi kullanımı ile insana <sup>14</sup>C lu histamin enjeksiyonunun ardında histaminol oluşumu da gösterilmiştir (62). <sup>14</sup>C lu histamin enjeksiyonundan sonra histamin yan zincirinin metilli türevlerine daha insanda radyoaktif metabolit olarak rastlanmamıştır.

## HİSTAMİN'İN BİYOLOJİK ROLÜ

### 2.1 Histamin Depoları

#### 2.1.1 Mast Hücreleri

1877'de Paul ERLİCH'in betimlediği doku mast hücreleri en önemli vücut histamin deposunu oluşturur. Bu hücreler boyanabilen yapıları ile tanınır,yani intrastoplazmik olarak büyük metakromatik granüllere sahiptir. Bu metakromazi ilk defa anilin boyar maddelerinde gözlenmiştir.Bugün ise toluidin mavisi,metilen mavisi veya tiyonin mavisi gibi diğer bazı boyar maddelerin etkisi altında da gözlenebilir ve granüllerde asit yapılı mukopolisakkaritlerin varlığından kaynaklanır.Bunlar klasik olarak heparin diye kabul edilsede bazı yazarlara göre "kondroitin sülfat" dır (63).

Mast hücresi çok sayıda granül içerir ve bu granüller başlıca histaminden oluşan biyojenik aminlerle,bazı türlerde seratonin (5-hidroksi triptamin veya dopamin) depolarlar. Örneğin seratonin sıçanda peritoneal mast hücrelerinde veya farelerde transplatasyonla aktarılan mastositomalarda teşhis edilmiştir. Dopaminde sığır mast hücrelerinde belirlenmiştir (51).

Çeşitli fiziksel veya kimyasal uyarılar altında mast hücreleri morfolojik değişiklikler ile belirlenen bir cevap verir. Bu değişimler öncelikle kısmi degranülasyon,ardından da amin içeren degranüllerin hücre dışına atılmasıyla oluşan ekzositozudur. Bu süreç ,histamin ve hücrede depolanan diğer biyolojik aminlerin salınımına yol açar. Mast hücreleri granül-

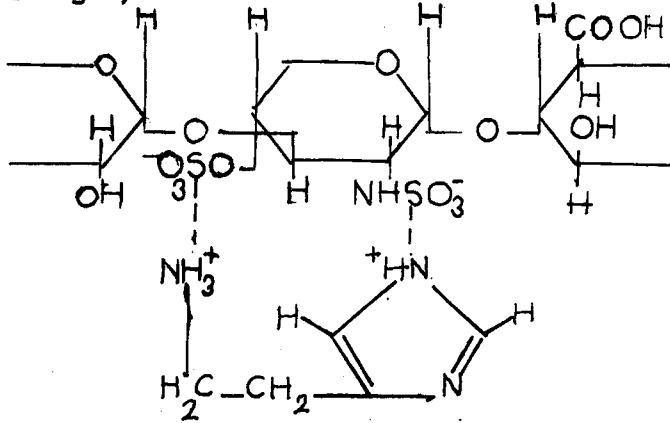
lerinin başlıca bileşenleri heparin antikoagulanı ile bir proteindir. Yalnız sıçan mast hücrelerinin granüllerinin proteini incelenmiştir. Kuvvetle bazik düşük moleküller kütleli bir polipeptit olduğu bulunmuştur. Bazofil granülleri, proteazlar, glukronidaz vb(64), Enzimler, ve de kemotripsin N-asetil- $\beta$ -glukozaminidaz ve diğer kemotaktik faktörleri içerirler. ATP ve lipit içerikleri zayıftır. Tablo 2-1'de UVNAS'a göre sıçan mast hücresi granüllerinin hesaplanan bileşimi görülür (65).

Tablo 2-1-Kurutulmuş sıçan mast hücrelerinin hesaplanan bileşimi

Proteinler	60 %
Heparin	30 %
Histamin	10 %
5-HT	0.3 %
Fosfolipitler	1-2 %
ATP	0.2 %

Kasyonların varlığında histamin granüllerden salınabilir. Bu sırada heparin içeren granül bakiyesi erimez (66). Histamin ve heparin in vitroda çok kararlı bir kompleks oluşturabilirler. Bunun sonucunda in vivo da bütün histaminin granüller içinde bu kompleks şekilde var olduğu düşünülür. Bununla beraber bu kompleksin oluşumu pH 2-3 arası bir asidik ortam ister ve histaminin başlıca tek protonlu olduğu pH 7.4 de histaminin heparin tarafından bağlanması çok azdır. Bu sebeple heparin histaminin

çok az kısmını bağlayabilmektedir.

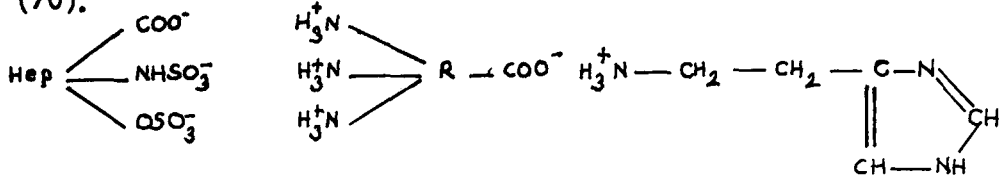


in-vitroda UVNAS'ın histamin-heparin kompleksi (67)

Bunun sonucu çinko-heparin-histaminden oluşan üç kompleks varlığı düşünülmüştür. Çünkü in-vitroda çinko varlığı heparine bağlı histamin varlığını iki kat artırır (68). O zaman herşey mast hücresi içindeki çinko miktarına bağlıdır. UVNAS iki farklı teknik kullanarak (nötron aktivasyonu ve atomik absorpsiyon spektrometresi) sıçan mast hücrelerinde çinko miktarını belirlemiş ve böylece granüller içinde yer alan bütün çinkonun kompleksleşmesi durumunda bile histaminin mast hücresinde heparin tarafından depolanmasının artışında önemli bir rol oynamaya yetmeyeceğini ortaya koymuştur (69).

Bununla beraber granül gangının (kitlesinin) başlıca bileşenin protein olduğubilinir ve bu protein, heparinin sülfat gruplarını meşgul ederek kendisinin histamine bağlanma özelliğini artırabilir. Bu protein bazik bir polipeptit olup, izoelektrik noktası  $\sim 9$  ve ultrasantrifüj sonucu bulunan nokta  $\sim 5600$  dür. Bu polipeptidin kuvvetli bazik yapısı heparinin sülfat gruplarını maskeliyerek onunla bir kompleks oluşturma eğilimini açıklar. Böylece protein karboksil grubu histamin için başlıca bağ-

lanma merkezi olarak etki edebilir. Depolanma mekanizması pH'a çok bağılı olduğundan (bu yetenek pratikçe pH 4-5 de bile kaybolur )bunun sonucunda iyonlaşmış karboksil grubunun histamini bağlamak için gerekli olduğu düşünülür (70).



UVNAS'a göre heparin-protein-histamin kompleksi (67)

Öte yandan LAGUNOFF proteinin karboksil grubuna ilaveten heparinin bir kaç karboksil grubunda bağlanma merkezi görevi görebileceğini önermiştir (71).

### 2.1.2 PolinÜkleer Bazofiller

İlk defa 1879'da ERLICH tarafından betimlenmiş olup dokularda ki mast hücrelerinin dolaşan kandaki eş değerleridir. Bazik boyar maddelere karşı aynı özellikleri gösterip doku mast hücresi ile aynı morfolojik özelliklere sahiptirler. Bununla birlikte kökenleri farklıdır.(Kemikiliği) İnsan ve büyük omurgalılarda doku mast hücreleri,kan damarları veya deri kıl folikülleri gibi özellenmiş yapılar civarında çok sayıda bulunurken, polinÜkleer bazofiller kanda yer alır. Bazı yazarlar bunlara kan mast hücreleri adını da verir.

CODE,kanda bütün histaminin tamponlu şekilde bulunduğunu göstermiştir (72).Eritrositler,monositler,lenfositler ve plaketlerde bu amin bulunmaz. 1950'den beri histaminin lokosit granül serilerinde var olduğu bilinmektedir. GRAHAM ve arkadaşları normal kandaki lokositlerin çeşitli fraksiyonlarını izole ettikten sonra bazofillerde histamin konsantrasyo-



nunun kanın diğeri elemanlarından çok daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (73). Bazofillerin sayısı çeşitli türlere göre değişir. Büyük omurgalıların çoğunda kan bazofilleri, toplam lokositlerin 1 % den azını oluşturur. Kan bazofilleri sayısı ile doku mast hücreleri sayısı arasında da karşılıklı bir ilişki olduğu öne sürülmüştür. Şöyle ki: Yüksek sayıda kan bazofili olan türlerin doku mast hücresi sayısı çok düşüktür; ya da bunun tam tersi geçerlidir. (74).

İnsanda bazofil sayısı bağı olarak sabit olup  $40 \text{ bazofil/mm}^3$  tür ( $20-50 \text{ hücre/mm}^3$  arasında). Allerjiler ve kronik enfeksiyon durumunda bu miktar artar ve  $50 \text{ hücre/mm}^3$  ün üstüne çıkar. Bunlara örnek olarak besin yada ilaç allerjisinin kronik evresi, Ülser-kolit durumları, kronik tüberküloz ve bronşiyal astım verilebilir. Myeloproliferatif bozukluklar durumunda  $1000$  ila  $100.000 \text{ hücre/mm}^3$  sayıları bile gözlenmiştir. Bazofillerde mevcut histamin miktar tayinleri  $1.2 \text{ pg/hücre}$  komşuluğunda yer alır (75,76). Bu yaklaşık olarak doku mast hücresi histamin içeriğinin  $1/8$  ine karşı gelir (77).

Mast hücresi için olduğu gibi, bazofil granülleri de, kolayca kırılabilen zayıf bir bağ aracılığıyla aminli radikali üzerinde histaminin bağlandığı bir protein tabakasından oluşurlar. Proteinin diğeri ucu kuvvetli bir şekilde mukopolisakkarite bağlıdır (78).

### 2.1.3 Mide bölgesi mast hücre kökenli olmayan histamini

RILEY gastrik ve barsak mukozasındaki yüksek bir histamin düzeyinin düşük bir mast hücre sayısıyla beraber ortaya çıktığını gözlemlemişti .Bu sebeple söz konusu histamine mast hücresi kökenli olmayan histamin adını vermiştir (63).Mast hücresi yer almayan bu mide bölgesi histamini (79),difüzlenmiş şekilde mukozada ve özellikle klorür asidi salan hücrelerin yoğunlaştığı bölgelerde yer alır (80). Bu histaminin menşei tam olarak bilinmesede mast hücresi kökenli histaminlerin yavaş tüketimi ile karşılaştırıldığında mast hücresi kökenli olmayan histaminin tüketim hızı bağıl olarak yüksektir. Mide dışında mast hücresi kökenli olmayan histamin içeren diğer organ ise beyindir (51).

### 2.1.4 İndüklenmiş vedoğum halindeki histamin

Bazı yazarlar doku histidin dekarboksilaz aktivitesinin artışı sonucu histamin oluşumunun idrarla atılan histaminin ölçülmesiyle anlaşıldığı olgusunu dikkate almak,ancak bunun dokulardaki histamin düzeyinde artışa yol açmadığını vurgulamak için ek bir histamin türü daha önermişlerdir.Önların bakış açısına göre histamin oluştuğu gibi oluşum merkezinden hareketle özgür bir şekilde difüzlenir,ve enzim aktivite düzeyi,histamin için önerilen ayarlayıcı işlevin önemli bir ögesidir. Mast hücresinin dışında yer alan fizyolojik olarak önemli bu kompartmanlara SCHAYER (52);indüklenmiş histamin adını verirken,KAHLSON ve ROSENGREN (81); doğum halindeki histamin adı verilir.(nascent)

## 2.2 Histamin Salınımı

### 2.2.1 Salınım mekanizması

Belirli bir uyarı ardından mast hücreleri veya bazofillerden histamin salınımının aktif bir salınım süreci olduğu bilinir ve genellikle burada üç temel evre ayırt edilebilir:

- 1) Özgül bir stimüle ile hücrelerin stimülasyonu (aktivasyonu)
- 2) Hücre dışı bölgeye ekzositoz ve granül materyalinin atılımı
- 3) Yeni bir stimülasyon için hazır hale geçen hücrenin morfolojik ve fonksiyonel özelliklerinin geri kazanımı(82)

Mast hücreleri veya bazofilleri histaminin salınımının iki kökeni olabilir. Bunlardan biri immunolojik tipli olup (klinik reaksiyonları anaflaksiyi ilgilendirir) Diğeri direk tiplidir. (Klinik etkileri anaflaktoit tiplidir)

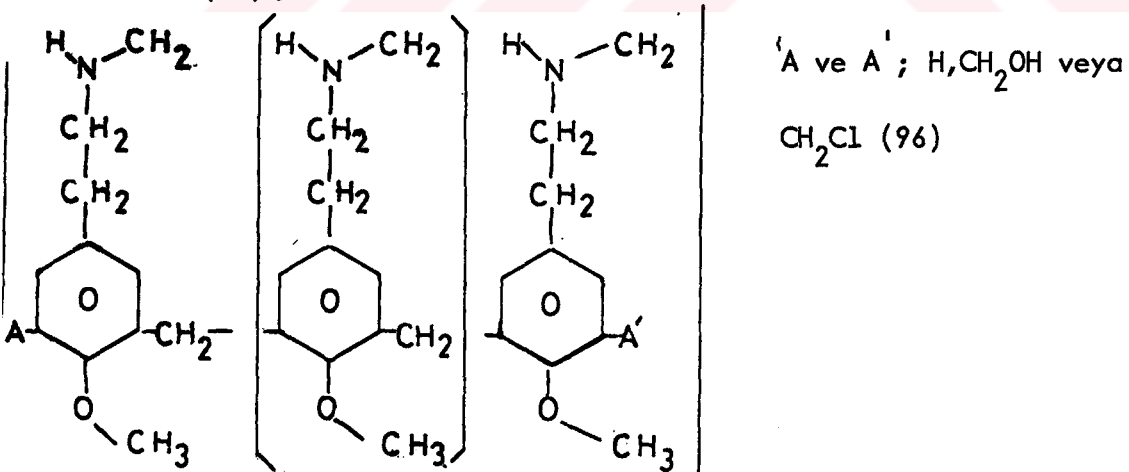
Birinci durumda IgE lerin antijene bağlanması ve mast hücrelerine bir köprü oluşturması membran gözeneklerinin açılmasına (dilatasyon) yol açar. Bunun sonucunda hücre dışı katyonların hücrenin içine girmesi mümkünleşip, böylece kalsiyum hücrenin degranülasyonuna yol açar (83).

İkinci durumda IgE ler işe karışmaz. Hücre zarı gözeneklerinin dilatasyonu belli sayıda bazı maddelerin doğrudan girişimi ile sağlanır. (Bunlara histamin salgılanmasına sebep olan maddeler denir. 48/80<sup>A</sup>, 23187 gibi) Bunlar başlıca anestezikler propanidit (eponol<sup>R</sup>) vb. ve plazma sübstuentleridir. Jelatin (Haemaccal<sup>R</sup>) vb (84,85).

İlacın plazma oranı o zaman temel bir unsur olarak gözükür

(43). Ancak anaflaktik kazalar için bu böyle değildir. Böyle bir durumda gözlenen klinik etkilerle bir ilişki kurulmasında histaminin plazma konsantrasyonunun kendisinde seçkin bir göstergedir. İki salınım şeklinin ayırt edilmesi bugün bile zordur (85). Çünkü bir tipte diğeri arasında hiç bir morfolojik farka rastlanmaz (86). Öte yandan antijen ile histamin salınan maddenin histaminin salınmasının başlangıçta ortak bir merkez üzerine etkidikleri düşünülmektedir (87).

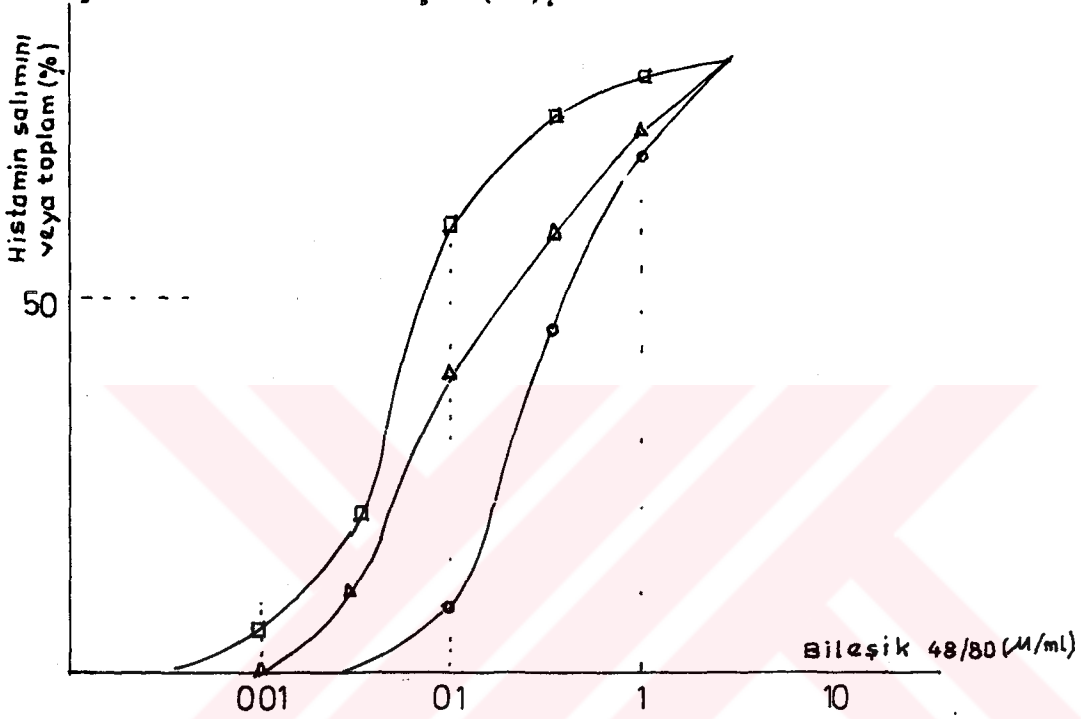
\*48/80: Bu formaldehitin p-metoksi -fenetilmetil amin ile kondansasyon ürünüdür ve oligomerlerin karışımıdır (94). Dializ ve de poliakrilamin jel elektroforezinden yararlanan sistematik inceleme sonucunda 48/80 moleküler kütlesi 700-1400 arasında değişen birçok polimerin karışımından oluştuğunu göstermiştir. Burada aktif bileşenler tetra ve oktamer şeklinde bulunur (95).



Düşük konsantrasyonlarda 48/80 maddesi kullanıldığı zaman

(genel 20-50 mg/ml) kalsiyum (1 mm) sekresyonunu inhibe eder, inhibisyon pH 6.5 tan 8.5'a artıkça daha belirginleşir (97).

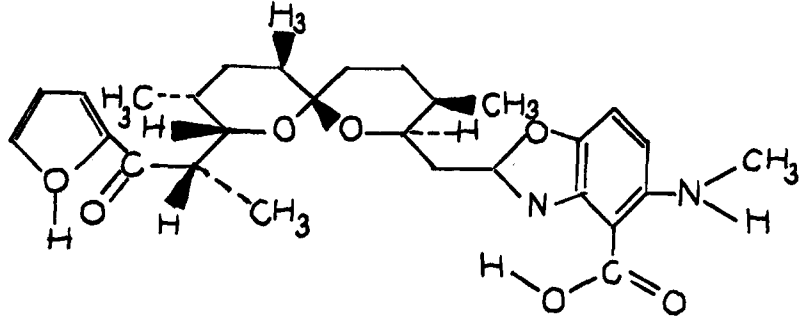
48/80 maddesinin türlü fraksiyonlarının mast hücrelerinde histaminin salımının güçlü teşvikçileridir (94,97). 48/80 maddesinin ilavesinden sonra fluoresans şiddeti hızlı olarak artar ve 5 dakika sonra fluoresans şiddeti maksimuma ulaşır (94).



Şekil:2-1 48/80 maddesiyle histamin salınımı (94).

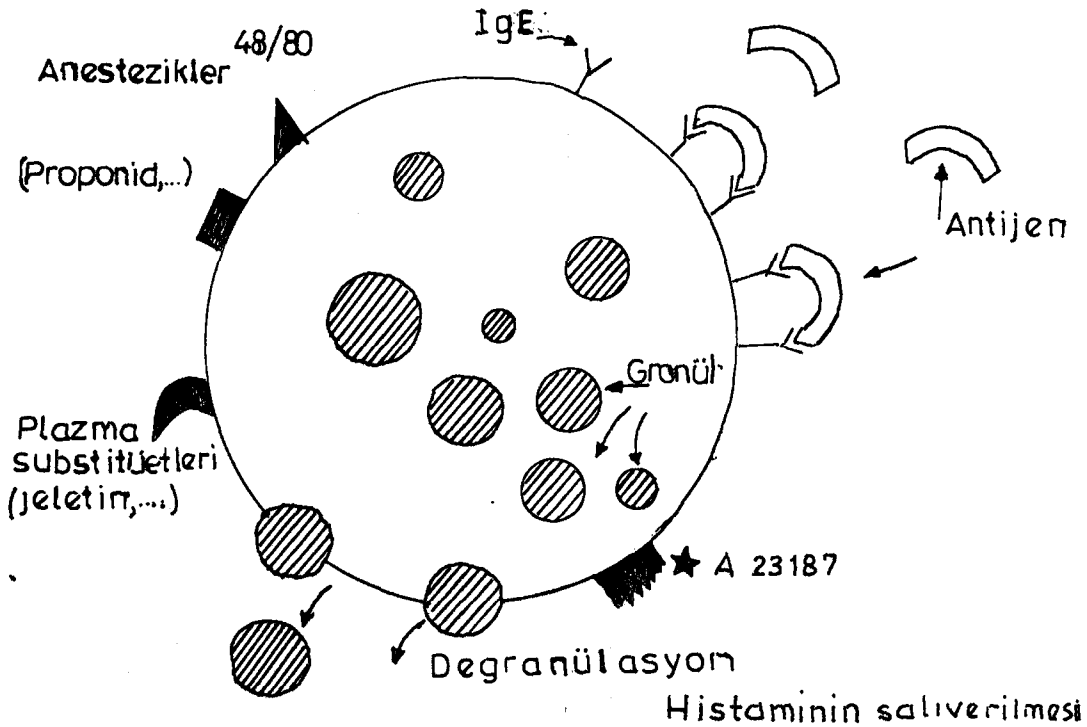
Mast hücrelerinde histamin salımının teşvik kabiliyetinin fraksiyonları test edildiği zaman değişik konsantrasyonlarda 48/80 fraksiyonlarıyla 5 dakika enkübasyona bırakılır. Her nokta çift tanımlayla üç bağımsız deneyi gösterir. (● → fraksiyon 1; □ → fraksiyon 2; ▲ → fraksiyon 3 Şekil 2-1 )

A23187: Bu bir monokarboksilik antibiyotik sınıfındandır. Genelde A23187' ye plazma membranından geçen ekstraselüler kalsiyumu taşımayan  $Ca^{2+}$  iyonu olarak bakılır (99). Kalsiyum varlığında insan bazofillerinde histamin salınmasına yol açar (100,101).



A23187 iyonoforunun serbest asit şeklindeki yapısal formülü(102)

A23187 belirgin olarak PGD<sub>2</sub> oluşumunu ve LDH salınımı olmadan histamin salınımını artırır. Histamin salınımı A23187 ile en az iki ürünle stimule olur: Ca<sup>2+</sup> kavrayışına bağlı olmayan ve Ca<sup>2+</sup> kavrayışına bağlı olan. Düşük konsantrasyonlarda A23187 ile artan histamin salınımı <sup>45</sup>Ca kavrayışından bağımsızdır. Kalsiyum kavrayışıyla eşlik eden hem PGD<sub>2</sub> oluşumu hem de histamin salınımı 0.1 μM A23187'nin yukarısında bulunmuştur. A23187 ile artan PGD<sub>2</sub> oluşumu ekstraselüler Ca<sup>2+</sup> yokluğunda veya bir fosfolipaz A<sub>2</sub> inhibitörü olan 1 μM quinacrine varlığında tamamıyla inhibe olur(99).



Spesifik bir uyarıyla mast hücrenin uyarılması genellikle kimyasal mediatörlerin salınımına yol açar. Bu reaksiyon enflamatuvar sürecin bir kısmı olarak kabul edilir. (86,87). Histamine ek olarak allerjik süreçlerde başka maddelerde önemli bir rol oynayabilirler. Bu mediatörler sırasıyla slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A), eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis (ECF-A), neutrophil chemotactic factor of anaphylaxis (NCF-A), platelet activating factor (PAF), heparin (88,89) ve arjinin esterazdır. (bukallkreine benzeyen insan lokositlerinde bulunan bir maddedir.) (90,91).

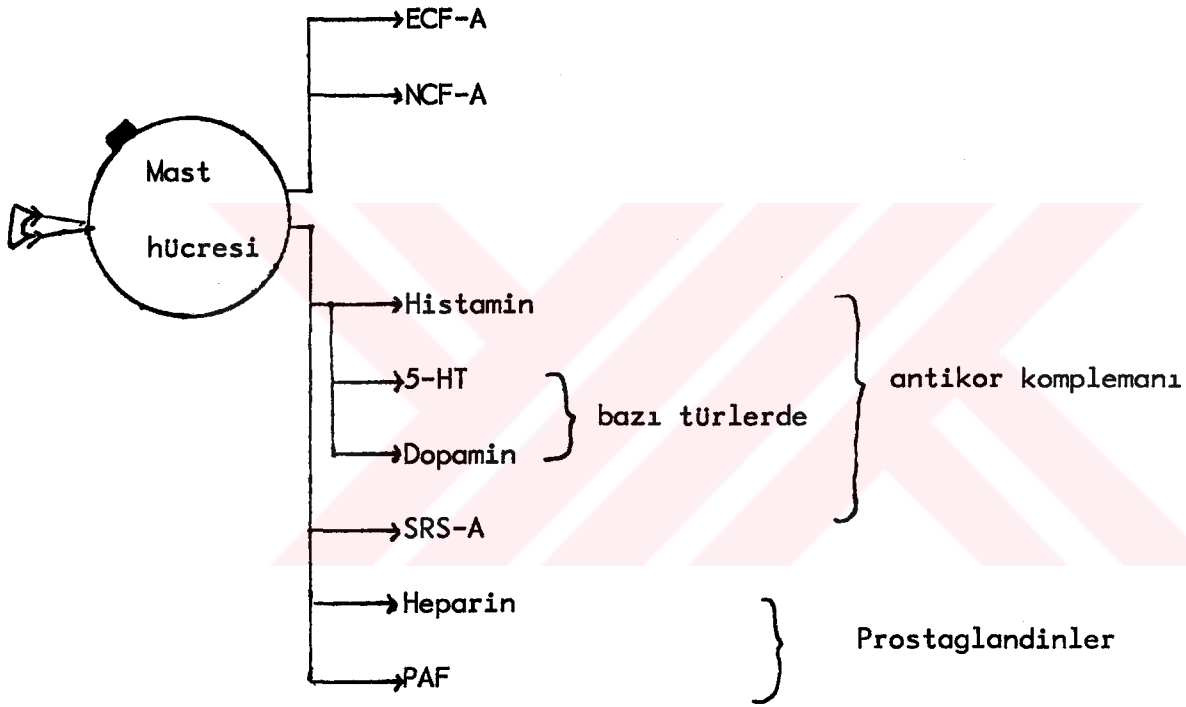
Mediatörler iki gruba ayrılabilir. Bunlardan bir grubu histamin, ECF-A ve heparinden oluşup başlangıçta mast hücrelerinde depolanmıştır. Diğerleri SRS-A, PAF gibi spesifik bir stimulus ile mast hücrenin aktivasyonunun bir sonucudur. Bu sonucuların dokularda inaktif prekürsörler şeklinde mevcut olduğu önerilmiştir.

Histaminin normal rolü hala tartışılmaktadır. Bazı yazarlar histamini yalnız normal bir flogojen mediatör olarak kabul ederlerken diğerleri yerel bir hormon olarak kabul ederler. Histaminin sentezinin glukosteroidler tarafından engellenmesi en azından kısmen bu sonucuların antiinflamatuvar gücünü ortaya koyar. Gastroenterologlar histamin, mide salgısının (gastrik sekresyonun) tek değilse bile en önemli mediatörü olarak kabul ederler. (80).

---

SRS-A: Yapısı tam olarak teşhis edilmemiş olup eldeki kanıtlar bunun

kükürt içeren bir asit molekulu olduğunu (103) arilsülfataz tarafından enzimatik olarak inaktive edildiğine (104,105) önermektedir. SRS-A normalde mast hücrelerinde mevcut değildir; mast hücrelerinin antijen tarafından etkilenmesi sonucu sentezlenir ve salınır (106). Antikoru antijen ile birleşmesinden oluşur.



#### Mast hücresinin saldığı mediatörleri

ECF-A : Mast hücrelerinde granüllerle bileşik şekilde bulunur. (107). Molekül ağırlığı 300-1000 arasında bir peptit olup bu madde yüksek voltaj elektroforezinde (nötral pH da gerçekleştirilen) iki ana dal aktivite piki gösterir ve en azından iki asit tetrapeptitinden oluşmuştur. (108). ECF-A'nın çektiği eozinofil granülleri ribonükleaz, arilsülfataz,  $\beta$  glükoronidaz peroksidaz, histaminaz vb.gibi çok sayıda hidrolitik enzim içerirler. Bu



hücrelerin bir işlevlerinde anafaktik reaksiyon sırasında salgılanan biyolojik olarak aktif küçük moleküllerin parçalanması olduğu önerilmiştir (109,110).

NCF-A: İlk olarak insan lösemik bazofil ekstratlarında keşfedilmiştir.

ECF-A gibi mast hücrelerinden türediği düşünülen bir makromoleküldür (100).

Kalitrein bazofili: Bazofillerce zenginleştirilmiş insan periferik kan lökosit süspansiyonlarında esteraz ve kinin üreten gizli güçlü bir protein salınımı ispatlanmıştır (111).

PAF: Birçok kaynağa göre bu maddenin molekül ağırlığı 300-1100 arasında olup lipid özelliği gösterir. Bir PAF'ın fosfolipaza duyarlı olduğu bulunmuştur. Periferik kan lökositlerinin süspansiyonun bazik enkübasyonu ile kendiliğinden ortaya çıkabilir ve bunun sonucunda bu faktörün kesin anlamda önceden oluşmadığı anlaşılır (112,113).

### 2.2.2 Metal iyonlarının histaminle invivoda girişimleri

Belirli bir zamandan beri metal iyonlarının histamin salınımı ve /veya farmakodinamik etki üzerinde etkisi incelenmektedir.  $Ca^{2+}$  iyonları değişik hücre fonksiyonlarında regülatör olarak önemli olduğu için bu olay  $Ca^{2+}$  iyonlarıyla  $H_1$  reseptör stimülasyonunun genel neticesi olan farmakolojik olayların çeşitliliğini açıklayabilir (97,34). Mast hücrelerinin degranülasyonunda  $Ca^{2+}$  iyonunun rolü bugün iyice belirgindir (83). Çünkü kalsiyumun hücre içinde emilimi ve bunun sonucu salınım linear olarak ilişkilidir (114,115).

Kalsiyumun histamin salınımında bilinen en az iki etkisi vardır.

Bunlardan biri sekonder messenger olarak sitosoldaki kalsiyum konsantrasyonlarında artış, ve diğeri salgılama işleminin başlatılmasıdır. Kalsiyumun aynı zamanda histamin salımını ayarlayıcı etkiside vardır; buda en iyi 48/80 maddesiyle gösterilir (97). Dibutil siklik AMP sistolik  $Ca^{2+}$  iyonlarını artırır. Böylece histamin, karbokol ve gastirin reseptörlerinin stimilasyonu sonucu değişik kaynaklardan stoplazmaya  $Ca^{2+}$  iyonlarının hareketi artar(116).

Bazı durumlarda, tek bir hücrede kalsiyum seviyelerindeki salınım bile ölçülebilir (24). Ayrıca mast hücrelerinin granülü salmasının ardından kalsiyum iyonunun yükü bir rol daha oynayabilir. Şöyle ki, granül yüzeyinde oluşan histaminin salınması için katyon alışverişinde sodyuma ek bir rolü olabilir (117).

Histamin stimilasyonu sitosolik kalsiyum konsantrasyonunda bir artışa neden olur. Sitosolik kalsiyum konsantrasyonunun artışı, histaminin uygulamasından 15-30 saniye sonra zirveye ulaşır (34).

Öte yandan, dış uyarısız kendiliğinden histaminin zayıf salınımı stronsiyum konsantrasyonunun hücre dışı sıvıda artmasıyla artar; kalsiyum ise böyle bir etkiye yol açmaz (118). Stronsiyum antijen-antikör tipli yani immuholojik histamin salımına aracılık eden  $Ca^{2+}$  yerini alabilse de doğrudan salınım (dekstranla) durumunda böyle bir katkısı bulunmaz (119).

Histaminin salımını veya farmakodinamik etkileriyle ilgili ilişkilerde en sık işe karışan metal çinkodur. Histamin salımına yol açan 48/80 maddesinin etkisiyle histaminle aynı zamanda bu metalin anlamlı miktarı salınır (120) Buna karşılık her ne kadar çinko diğeri herhangi bir hü-

re tipine göre mast hücrelerinde 40 kere daha konsantre olsa da histamin depolanmasında hiç bir anlamlı rol oynamıyor gibi gözükmektedir (69).

Aynı şekilde bakır, kurşun ve lantana oranla daha düşük dercede olsa da, çinko, diğer yandan histamin salımının güçlü bir inhibitörü olarak bilinmektedir (121,122) Bu olayı açıklamak için bir çok kuram önerilmiştir. Bunlardan biri; kısmen mast hücreleri zarının çinko tarafından stabilize bir aktiviteye eriştirildiği onaylamaktır (123,124).

Salındıktan sonra histaminin farmakodinamik etkisiyle ilgili olarak çinkonun bu etkiler üzerinde güçlü bir inhibitör etkisi olduğu ispatlanırken aksine bakırın bu etkileri şiddetlendirdiği görülmüştür (125).

### 2.3 Histaminin Farmakodinamik Etkisi

#### 2.3.1 Enflamatuar reaksiyonlar

Histamin kardiovasküler sistem üzerinde farklı şekillerde etkiler uygular. Histaminin genel uygulanması; arter basıncı, ven basıncı ve genelde vasküler direnç üzerinde iki evreli, uç evreli ya da karşıt (hipotansiyon, hipertansiyon gibi) etkilere yol açar. Kardiyak hız, kasılma kuvveti iletim hızı, kalp debisi, koroner kan akımı gibi kardiyak fonksiyonlarının çoğu histamin uygulanmasıyla değişikliğe uğrar (123,34).

Çeşitli memeli türlerine göre histamin bu kardiyak parametrelerin çoğu üzerinde karşıt etkilere yol açabilir. Her ne kadar histamin bölgesel kan akımını derin değişikliklere uğratabilsede aynı bir tür için bölgeden bölgeye, ya da aynı bölgede türden türe değişen geniş bir duyarlılık aralığı mevcuttur. Genelde histamin 80µm den daha düşük kan damarla-

rını genişletiyor gibi görülürken histaminin etkisi altında daha geniş mikrodamarlarla, geniş damarlar kasılırlar (34,126) Histamin direk olarak sistemik anflaksinin kardiyak belirtilerinden sorumludur.  $2 \times 10^{-6}$  M. histaminde refleksif bir hareket bulunmamıştır.  $2 \times 10^{-6}$  M. histamin çözeltisi banyo çözeltisine ilave edildiği zaman ise çarpıntıya neden olur.  $2 \times 10^{-5}$  M. histamin kardiyak anflaksiyle ortaya çıkar.

Histamin lateral veya 3. ventriküle enjekte edildiği zaman içki alışkanlığına, hipotermiye, arteriyel hipertansiyona ve vazopresin, prolaktin ve ACTH salımına yol açar. 3. ventriküle veya ön hipotalamusa verildiği zaman histamin sistemik kan basıncını arttırır. Histaminin periferik alımı içki alışkanlığını arttırır, ve gün boyunca histamin salımının sigara alışkanlığıyla ilişkili olduğu bulunmuştur (127).

WILLOUGHBY ve arkadaşları kininler ve prostoglandinlerin salımını öncesi histamin salımının (ve bir çok türde seratonin) başlangıçta ki ödemden sorumlu olduğunu buna karşılık diğer mediatörlerin ise enflamasyonun sonra ki evrelerinden sorumlu olduğunu önermişlerdir (128,129). Ancak, bu hipotezin zayıf noktası şudur: Her ne kadar histamin, seratonin, kininler ve prostoglandinler ödemin indükleyici etkeni olsalarda bunlardan hiç birisi enflamasyonun önemli ögesi olan nötrofil birikimine yol açmaya elverişli değildir. (130) Bugün histaminin hem anti enflamatuvar hem de pro enflamatuvar aktivitesi olduğu iddia edilmektedir. Proenflamatuvar aktivite olarak, enflamasyonda rol oynayan faktörlere vasküler geçirgenliği ayarlayan vasküler hücre reseptörleri üzerine etki söz konusudur. Anti enfla-

matuvar etkinin ise immunoaktif hücrelerin aracılığıyla yürüdüğü ve böylece histaminin bastırıcı(supressor)hücrelerin doğal ortadan kaldırma yeteneğini arttırarak ve T-lenfositlerin sitotoksik etkilerini inhibe ederek etkidiği önerilmiştir (34).

Duyarlı radyokimyasal denemeleri kullanan BEAVEN ve arkadaşları zamanın fonksiyonları olarak yanıklarda histamin salımını izleyebilmişlerdir. Bunlar ödemin gelişmesi sırasında hücre içi sıvıdaki histamin düzeyinde bir artış gözlemişler;ancak ödemin tam olarak gelişmesinin ardından başka hiç bir salımına rastlamamışlardır (131).

Bugün genellikle ödem oluşumuyla ilgili olarak histamin etkisi altında arteriollerin dilatasyona uğradığı,prekapiler sfenakterlerin açıldığı ve venüller kontrakte olduğu kabul edilir. Kılcal damarlara ulaşan kan, staz halinde bloke olur. Çeperin mekanik çekilmesiyle pasif bir dilatasyon oluşmuştur ve bunun neticesinde ortaya çıkan permeabilite artışı laküner bölgeye doğru plazma eksüdasyonuna yol açar. (132).

Özellikle,allerjik astım,rinit(burun yangısı) ve saman nezlesi öte yandan da ilaç ve böcek sokmaları gibi bir dizi allerjik reaksiyon polinükleer bazofillerin degranülasyonuna bağlanabilir. İndüklenmiş histamin salınımı, rejenik tipli olup; (IgE);bunun farklı evreleri bu özet olarak incelenmiştir.(Ancak bu sırada zar aktivasyon olayları cAMP ve GMP oranlarını etkileyen intrasitoplazmik biyokimyasal değerler,mikrotübüllerin etkileri,mikroflamanların etkileri,konstraksiyon ve degranülasyon üzerine fazla ısrar edilmemiştir.)Bununla birlikte,immunoallerjik histamin

salınım tipleri de vardır. Örneğin;kompleman aktivasyonu(zar mekanizmasını uyararak)gibi...Bu işlem doğrudan olduğu gibi(stimulatör olarak IgE ,IgM ) değişik yoldanda(bunun stimilatörü IgA, IgM ,IgE kümeleridir)(133,134)olabilir ya da PAF işe karışabilir(135).Son olarak fiziksel etkenlere(fiziksel yada psişik stresler,travmalar,iyonlaştırıcı radyasyonlar vb.yada histamin taşıyan hücre üzerine tahriş edici etkenlerin doğrudan etkisi;hipotenik çözelti,pH değişikliği,termik değişim vb)yılan veya arı zehirleri, tedavide kullanılan mikro veya makromoleküler kimyasal maddelerin yol açtığı salınımlar da söz konusu olabilir.Bu tür salınımlar immuniter olmayıp doğrudandır.Mekanizma değişik olsada belirli bir ölçüde immunolojik mekanizmalara yakındır (136).

Bugün histamin ve ona akraba olan bazı maddelerin insanda allerjide önemli bir rol oynadığı bilinir. ( Örn:duyarlı bir hastadan penisilin enjeksiyonunun yol açtığı anaflaktik şok histamin salınımının en iyi bilinen klinik görünümüdür. Ancak bu salınım genellikle Quinicke ödemi ürtiker veya bir solunum rahatsızlığı gibi daha az ciddi bozukluklara yol açar. İlaç kökenli histaminin salınımının bir alerji vasküleritenin ortaya çıkışındaki rolü daha pek açık değildir (43)).Gastro intestinal yoldan ağız yoluyla büyük dozlar verilse bile çok az histamin emilir; ancak küçük paranteral dozlar bile yoğun bir cevaba yol açar (137). Bu cevap bir çok alerjik reaksiyonda aynıdır ve şiddeti histaminin difüzyon olanağına bağlıdır.Bu difizyon şiddetli ise histaminin metal komplekslerinin yük ve yapısıyla ilişkili olacaktır (138).

Akciğerlerde histamin mukoza adelesi üzerine etkiler ve bronşiyal daralmaya neden olur (139). SRS-A muhtemelen astım reaksiyonlarında önemli bir katkıda bulunur (140,141). BROWN ve arkadaşları, astım rahatsızlığı olmayan bireylere izin verilenin üst sınırında histamin dozlarını sistematik olarak uygulanması durumunda, bunun pulmoner mekanizma da anlamlı istatistiksel değişimlere yol açtığını ispatlamışlardır. Ancak bu bozukluklar, fizyolojik anlamlarını şüpheli gösterecek kadar zayıftır. Buna karşın astımlı bireylerin hepsi çok duyarlı hale geçerler. Ancak bu konudaki gözlemlerde tek düzelik yoktur (142). (Belli bir standardı yoktur(140).)

### 2.3.2 Mikrosirkülatuvar etkiler

İnvivodaki bütün mikrosirkülatuvar gözlemler, histaminin lokal uygulamasının, incelenen memeli türünden bağımsız olarak doza bağlı aşağıdaki etkileri oluşturduğunu gösterir (126):

- a) Prekapiller sfenakterler, metarterioller, arterioller ile iskelet ve kulak kası, deri, spanşik damarlardaki kas venüllerinin dilatasyonu
- b) Genellikle 80 µm'den geniş mikro damarların kasılması
- c) Post-kapiller venöz intravasküler basıncın artışı
- d) Metarterioller ve prekapiller sfenakterlerin vazomotorluğunun dilatasyonu

Her ne kadar bütün kas mikrodamarları (4-8 µm lik gerçek endotial kılcallar dışında) histaminin lokal uygulamasına cevap olarak dilatasyona uğrayabilse de kas mikrodamarlarının farklı bir duyarlılık

gradianti gösterdikleri sanılmaktadır. Arterioller > prekapiller sfen-  
terler > kas venülleri (143)

### 2.3.3 Dokuların büyümesi ve yaraların iyileşmesi

KAHLSON ve ROSENGREN (81) hızlı büyüyen veya kendini tamir eden birçok dokuda histamin oluşturma yeteneğinin arttığını göstermişlerdir. Bunlara örnek olarak fetal büyümeyi, karaciğer rejenerasyonunu, yara veya bazı tümörlerin enflamatuvar granülomasını incelemişlerdir. Bu dokuların histamin düzeyleri belirgin bir şekilde yüksek olmadığından doğum halindeki histamini depolamayıp derhal aktif bir şekilde kullanıma hazır olduğunu önermişlerdir (nascend histamin). Bir yaradan sonra mast hücreleri derhal degranüle olup kaybolurlar. Enflamasyon sakinleşip fibroplastlar arttığı ölçüde mast hücreleri artan sayıda tekrar ortaya çıkarlar ve granüloma dokusuna sızar gibi gözükürler. Fibröz doku vaskülerliğini kaybedip daha az hücre içerir duruma geldikçe kapanan yara dokusunda artık mast hücresi görülmeinceye kadar mast hücresi ve fibroplastların sayısı düşer (63). Histamin düzeyleri de benzer değişimler gösterir, yani yaradan sonra azalır, granülasyon işlemi sırasında artarlar ve sonra yeniden iyileşen yaralarda azalır (144). Hipertrofik yara izleri ve keleoitlerin iyileşmesi durumunda, bağıl olarak yüksek bir mast hücre sayısına rastlanmış olup bunlardaki histamin düzeyleri de normal yara izi dokusu ve deriye oranla yüksektir (145,146).



#### 2.3.4 Histamin ve sinir sistemi

Histamin sinir sisteminde bir mediatörü olup (147), beyinde (57,148,149) özellikle hipotalamusta nicel olarak önemli transmitter olarak gözükmektedir. Histaminin beyindeki lokalizasyonu sinirlerle ve mast hücreleriyle sınırlanmaz (57). Histaminin  $H_3$  reseptörleri merkezi sinir sisteminde histamin neronlarının rolünü açıklamada yararlı olabilir (150). Diğer organlar için olduğu gibi beyin kan damarları intravenöz histamine reaksiyon gösterir. Dilatasyon, migreni hatırlatan özgün baş ağrısıyla ortaya çıkar. Ancak nitriller gibi diğer vazodilatörlerle aynı sendromları oluştururlar (51). Baş ağrısı ve migreni olan hastalarda histaminin idrar atılma düzeylerinin artabileceği görülmüştür (149). Hipotalamus histaminin büyük bir bölümü mast hücreleri ile ilgili değildir (151). Bazı çalışmalar hipotalamus histamininin bağıl olarak hızlı bir tüketim hızı olduğunu belirtmektedir. Bu konudaki tahminler 30 saniyeden (152) 46 dakikaya kadar (153) değişir. Esasen bu hız, fizyolojik stres durumunda yüksek iken, anestezi durumunda düşüktür (152).

Histidinden histamin oluşum oranı diğer biyolojik aminlerde görüldüğü gibi ekstranerol histamin ile kontrol edilebilir. Histaminin sinir uçlarından hareketle salınımındaki etkiler de diğerlerinin benzeri mekanizmalara sahiptir (34). Diğer biyolojik aminlere göre histaminin beyinde tüketimi çok hızlıdır ve metilasyon sürecinin oluşturduğu biyolojik olarak etkisiz 1,4-metil histamin molekülü inaktivasyondan sorumlu olabilir (154).

Histaminin düşük konsantrasyonlarında depresyon ortaya çıkar ( $10^{-8}, 10^{-6}M$ ) . Merkezi sinir sisteminde histaminin fonksiyonları olarak hormonal salgılanma enerji üretimi ,uyku hali ve uyanıklık gözlemlenmiştir. Son zamanlarda,çeşitli labratuvarlar hem histamin hem de histidin dekarboksilaz antikorları geliştirmişlerdir ve hücre immunokimyası metotlarıyla sinir sistemi modellemeleri yapabilmişlerdir (34).

### 2.3.5 Bazı hastalıklarda histaminin rolü

Bazı hastalıklarda doku mast hücreleri (mastositoz)ve kan bazofillerinin (bazofili)sayısında anormal bir artma belirlenir (156).İki tip myeloproleperatif bozukluk durumunda (kemik iliği artışı)yani granülostik lösemide (157) ve polistemioverada (157)bazofili gözlenmiştir.Bu bozukluklarda ,histaminüri (158,159)ile kanda ve dokularda (160,161)anormal histamin düzeyleri gözlenmiştir.Soğuk terleme (kolinerjik Ürtiker), güneş radyasyonu,basınç ve vibrasyon gibi özgül fiziksel stimulusların yol açtığı bazen ciddi Ürtiker reaksiyonlarında oluşan bir grup rahatsızlık daha mevcuttur. Bu hastalıklar seyrek olsa da rahatsızlık verici ve tehlikeli olabilir. Örn: soğuk Ürtikeri olan bir kaç hastada plajda oynama sırasında bayılma (senkop),başdönmesi olayları gözlenmiştir (162). Ürtiker genellikle hastanın duyarlı olduğu stimulus tipi dikkate alınarak sınıflandırılır. Bu bozuklukların alerjik koşullarla ilişkisi ortaya konulamamıştır;içerdikleri mekanizmalar az bilinmektedir.Buna rağmen LEXIS yapay Ürtikeri (dermotogrizm) olan bazı hastalarda (163)histamine benzeyen bir maddenin varlığı üzerine dikkati çekmektedir. Bu gözlem daha

sonraki çalışmalarla da onaylanmıştır(164). Son zamanlarda soğuk Ürtiker durumunda venöz kanda histamin konsantrasyonu yüksek bulunmuştur(165,166). Bazı çalışmalar, soğuk Ürtiker, bazı kültüf fizik Ürtikeri (kolinerjik) ve vibratuvar Ürtiker durumlarında, histaminin başlıca mediatör olduğunu göstermektedir (162,167,168). Diğer Ürtiker şekilleri üzerinde çok az bil-  
gimiz olduğundan yazarlar histamin salınımını bu reaksiyonların ortak mekanizması olarak önermeye çekinmektedirler Basınç Ürtikerinin geciktirilmiş tipli belirtileri, bir histamin salımının belirticileri olmadığından, olaydan diğer mediatörlerin sorumlu olması olasıdır(51).

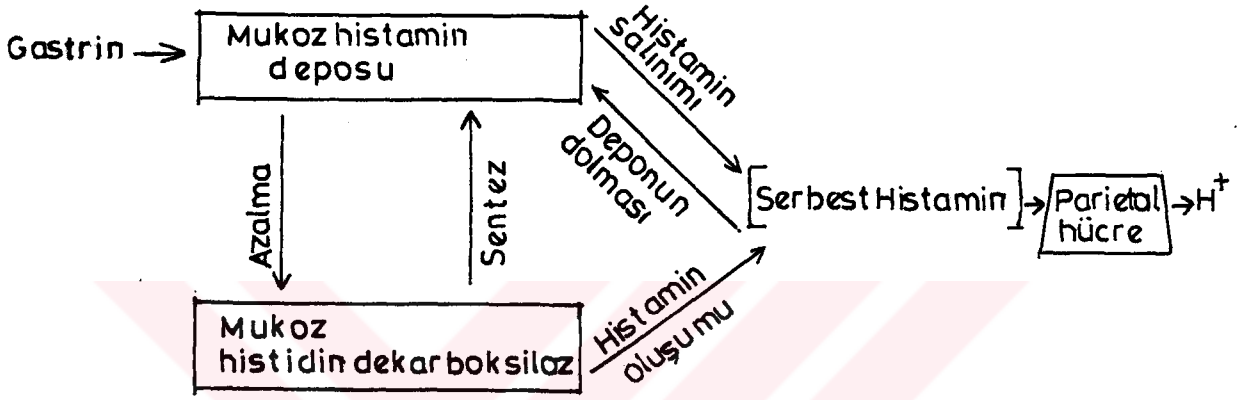
### 2.3.6 Histaminin gastrik etkisi

Histamin bazı salgı bezleri üzerinde uyarıcı etkiye sahiptir. Özellikle midede gastrik asit salınımı artışına yol açar. (Burun ve göz-  
yaşı salgı bezlerinde uyarılırlar.) Histaminin  $H_2$  reseptörü parietal hü-  
relerde yer alır. Bunun en son kanıtı ise ortamda ve oksijen alınışında parietal hücrelerin oranı arasındaki ilişkidir. Parietal hücreler izole edildiği zaman hücre yüzeyleri değişir ve sekresyon yeteneklerini kaybe-  
derler. Histamin ile stimülasyonla, parietal hücreler salınım kanalları oluşturur (34). Bugün gastrik asit salınımını ayarlama histaminin rolü-  
nü açıklamak için başlıca iki varsayım öne çıkmıştır(169):

1- İlk olarak; CODE'nin önerdiği ve histaminin parietal hücrenin salgılatıcı etkisinin son ortak mediatörü olduğudur (170). KAHLSON gastrin enjeksiyonu (171) ve vagal stimilasyon (172) sonuçlarına dayanarak mukoza histamini ve gastrik asit salınımı arasındaki fizyolojik ilişkiyi tanım-

layan bir model geliştirmiştir. Bu model iki varsayıma dayanır.

a) Bunlardan biri histamin salınımının bir tekrar beslenme mekanizmasıyla histidin dekarboksilaz aktivitesinin uyarılmasından sorumlu olduğudur.



Histaminin gastrik etki modeli (173)

b) Ortak mediatör kavramı açısından çok önemli olan ikinciside

mukoza histaminin;oluşum veya salınımının ardından parietal hücreleri

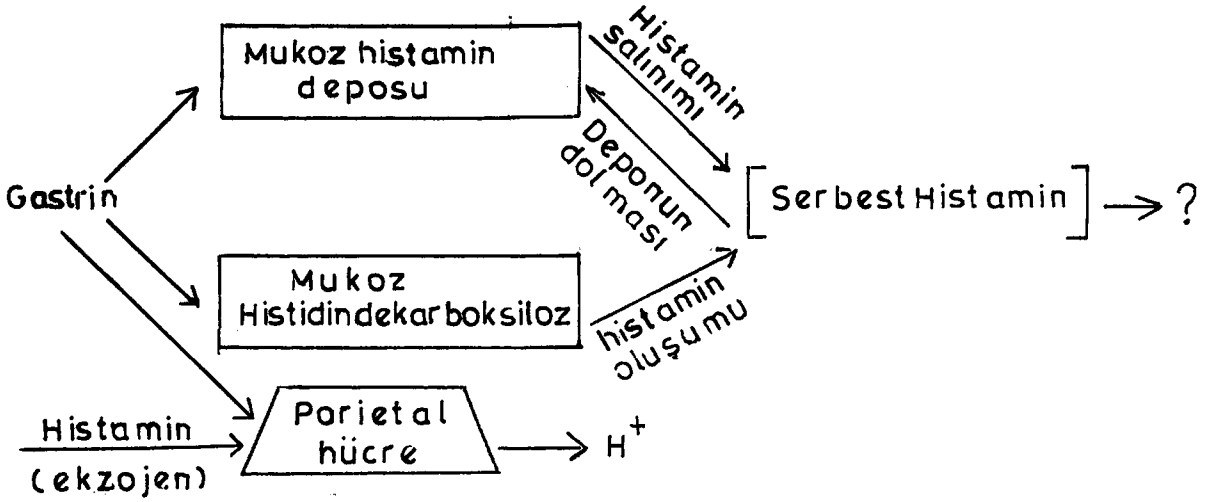
uyardığıdır(174). LIMLOMWONGSE gastrin için Uç ayrı etki önerir:(175)

Histamin salınımının stimulasyonu,histidin dekarboksilazın aktivasyonu

ve gastrik asit salınımının stimulasyonu. Ekzojen histamin de asit

salınımına uyarır. Ancak bu durum gastrik mukozada histidin dekarboksilaz

ve endojen histaminin işlevlerini açıklamaz (176).



### Gastrinin etkisi (164)

2- Daha yeni olarak KONTÜREK ve GROSSMAN ,parietal hücrenin,histamin,asetilkolin ve gastrin için farklı reseptörleri olduğunu önererek salınım süreci için çok reseptörlü bir denetim ileri sürmüşlerdir (177). Bu reseptörlerden herhangi birinin kimyasal uyarılması ya da engellenmesi, diğerlerinden biri ya da hepsinin özelliklerini bozacaktır. Gastrik asit salınımı için gerekli minimal dozun,duodenum ülseri olan bireyde 75 µg/kg histamin asit fosfat komşuluğunda olduğu belirlenmiştir (178,179).

İnsan ve tavşan gastrik asit bezleri arasındaki farkları karşılaştıran bir çalışmada reseptör afinitesinin farklı olduğu bulunmuştur (34). Sıçanlarüzerine yapılan denemeler sonucunda gastrik mukoza hücreleri histamininin streslerin yol açtığı gastrik ülserlerin oluşumunda doğrudan işe karıştığı tahmin edilmektedir (180).Bu hayvanlarda,pnömo-gastrik

sinirlerin elektriksel stimulasyonu (181) ya da streslerin (182) oluşturduğu gastrik ũlsere karşı çinko ile muamele ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ )midede salınan histamini azalterek koruyucu rol oynar(122). Bununla birlikte in-vivoda gastrik histamin ile çinkonun ne şekilde birbirine mũdahale ettiği daha ispatlanmamıştır.

Bir başka önemli olguyu da belirtelim: Mide kanseri olan hastalarda normal bireylere oranla kandaki histamin knsantrasyonu yũksektir (183).

Bununla birlikte,mide bölgesindeki histamin,allerjik alanın dışındadır. ũnkũ salınımı bugũnkũ bilgilerimizin ışığında immunolojik mekanizma içermez (43).

#### 2.4Histamin Reseptörleri

Gerek immunolojik, gerek doğrudan yapılı bir stimulasyonun ardından histamin mast hũcreleri veya bazofillerden enerjiye bağımlı bir mekanizmayla"explosive" bir şekilde salınır. Bugũn  $H_1, H_2, H_3$  şeklinde sınıflandırdığımız reseptör merkezlerine bağlanmadan sonra histamin etkisini uygular; bu reseptör merkezlerinin her birine zđũ antihistaminikler bulunmaktadır (34,79,80,140,150,184).

Bugũn antihistaminik bir ajan histaminin birçok farmakolojik etkisini azaltabilen veya engelliyebilen bir ilaç ve /veya histaminin oluşturduğu cevaba diametral olarak karşıt bir cevap oluşturan bir ilaç olarak tanımlanır.Dũřũnũlen etki şekli histaminik ajanla histamin arasında dokudaki reseptör maddeye karşı yarışmalı bir antagonizma olarak kabul

edilir;antihistaminik ajanın reseptör madde veya etki merkeziyle birleşmesi histaminin özgün etkisini doku üzerinde uygulamasına engel olabilir. Bu septomlara dayanan bir tedavidir (185). Antihistaminik araştırma 1937 'de ilk defa Pasteur Enstitüsünde (Fransa'da ) BOVET ve STAUB (186) tarafından başlatılmış ve bu yazarlar antihistaminik bir aktiviteye sahip bir seri tersiyer amini belirtmişlerdir. Bu maddeler klinikte kullanım için toksik olmayan bazı türevleri önerilmiştir (187,188). Bir seri diğer antihistaminik de bunun ardından ortaya çıkmıştır. Ancak bu bileşiklerin ne histaminin bütün etkilerini ne de allerjik reaksiyonun bütün belirtilerini engelliyemedikleri çabuk anlaşılmıştır. Bunların etkinlikleri farklı türlere göre değişmekteydi. İnsanda,yararları allerjik reaksiyon tipi ile değişiyordu. Örneğin : Anafilaktik şok sırasında bu maddeler kan basıncının azalmasını,astım sırasında bronkospazmı engelliyemiyorlardı ama buna karşılık allerjik rinit, saman nezlesi, Ürtiker veya böcek sokmasının yerel reaksiyonlarının septomlarını basitleştiriyorlardı. Bu ilaçların antihistaminik aktivitelerine ilâveten lokal anestezi aktivite ve atropin benzeri aktiviteleri de bulunmaktaydı ve bu şüphesiz klinikte kullanılmalarına yardımcı olmuştu (51).

#### 2.4.1 H<sub>1</sub> reseptörleri

1966' da ASH ve SCHILD histaminin farmakolojik etkisinin en azından iki farklı tip reseptör tarafından elde edildiğini (189) önermişler ve H<sub>1</sub>sembolünün prometazin ve mepiramin varlığında gözlenebilen bir farmakolojik etki oluşturan histamin reseptörünü betimlemek için kullana-

bileceğini önermişlerdir. Ayrıca bu şekilde inhibe olmayan histaminin farmakolojik etkilerinin, diğer reseptörleri işe karıştırmaması gerektiği sonucuna varmışlar ve bunların belirlenmesinin özgün antagonistleri keşfetmeyi gerektireceğini kabul etmişlerdir. O zaman için inhibe olmayan bu etkiler, kalp ritminin ve sıçan uterusunun uyarılmasıyla gastrik salgı nımı içermektedirler.

$H_1$  Reseptörleri özellikle bronşiyal ve gastrointestinal düz kaslarda ve beyinde bulunur. Histaminin  $H_1$  reseptörü hedef hücrenin kristalleri içindeki  $Ca^{2+}$  konsantrasyonunun artmasıyla özel davranan reseptör sınıfına girer (34,139).

Klasik antihistaminiklerin seçici  $H_1$  antagonisti olduğu görülmüştür. Ancak seçici  $H_1$  antagonistlerinin bulunmasının zor olduğu anlaşılmıştır. Histamin hala en güçlü agonisttir; seçicilikte gelişmeler kaydedilmesine rağmen, histamin molekülünde yapılan küçük değişiklikler  $H_1$  reseptörünün aktivitesini büyük ölçüde azaltır. Örneğin : Histaminin yüksek  $N^{\alpha}$  alkil analogları histamine nazaran oldukça zayıf agonisttir ( 34).

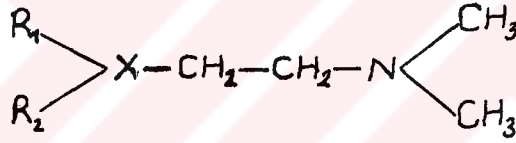
Difenhidramin sınıfı ilk  $H_1$  antagonistler NAUTA ve REKKER grubunca ortaya çıkarılan ve nicel yapı-aktivite ilişkileri hakkında bilgi edinilen ilk maddeler arasındadır. Bunların genel formülü şekil 2-2 de gösterilmiştir. Klasik  $H_1$  antagonistlerinin sakinleştirici yan etkileri bulunur.



ancak,allerjik durumlar için klinik kullanımları,allerjik reaksiyonun di-  
ğer mediatörleriyle girişimlerinin yetersizliği nedeniyle,sınırlıdır. H<sub>1</sub>  
reseptör antagonistleri astma tedavisinde de kullanılırlar(34,139).

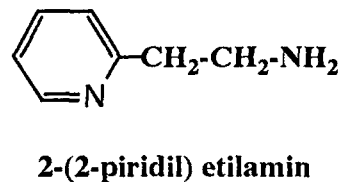
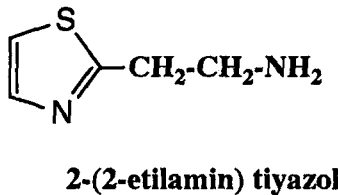
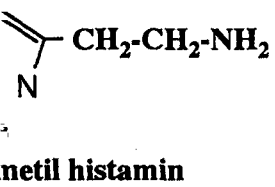
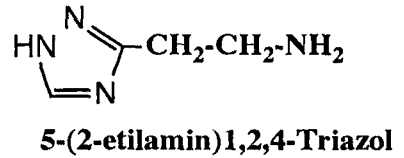
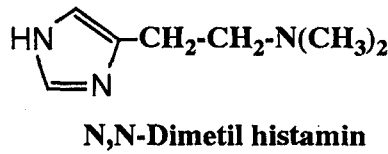
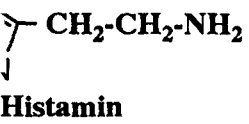
Bazı H<sub>1</sub> antagonistlerinin insanda,fare ve kobay beyinde den-  
ge disosiyasyon sabitleri K<sub>D</sub> (34).

H <sub>1</sub> antagonist	İnsan	Kobay	Fare	K <sub>D</sub> (nM)
Mepiramin	1.0	0.8	9.1	
Tripolidin	3.7	0.2	5.6	
d-Klorfeniramin	4.2	0.8	9.1	
l-Klorfeniramin	350	200	500	

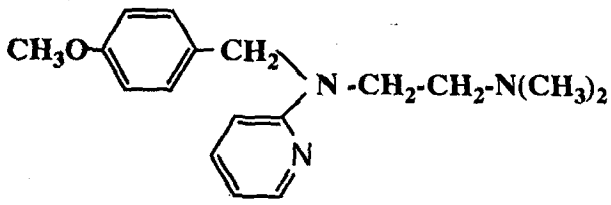


Şekil 2.2 Klasik H<sub>1</sub> antagonistlerinin genel formülü

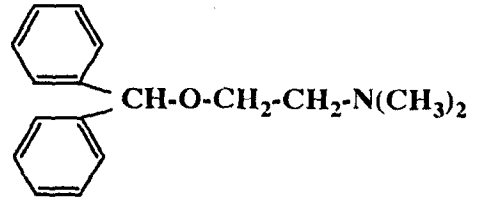
#### H<sub>1</sub> AGONİSTLERİ



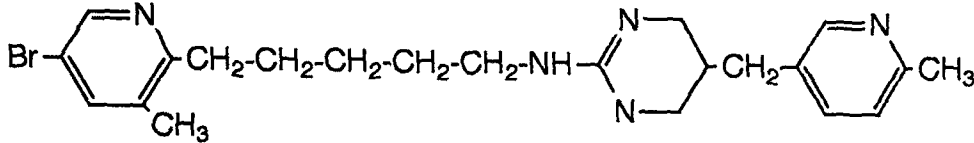
H<sub>1</sub> ANTAGONİSTLERİ



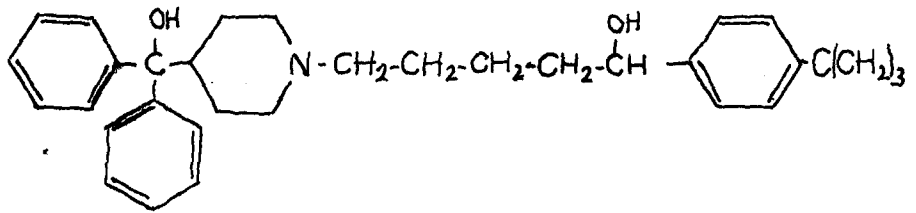
Pirilamin veya Mepiramin (NEO-Antergan)



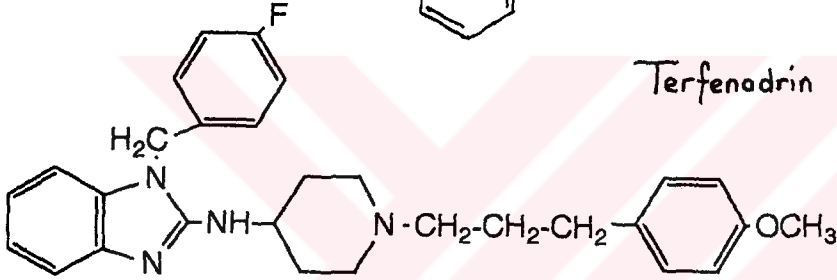
Difenhidramin (Benadril)



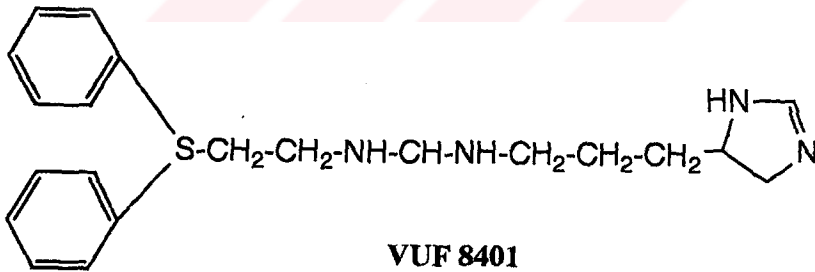
Terfenastin



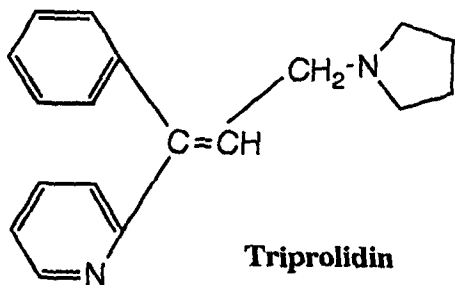
Terfenadrin



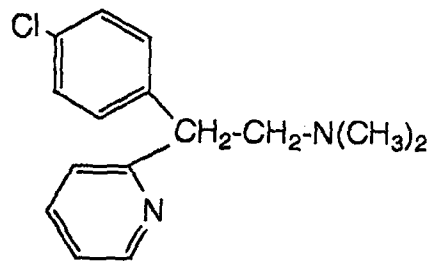
Astemizol



VUF 8401



Tripolidin



Klorfeniramin

#### 2.4.2 H<sub>2</sub> reseptörleri

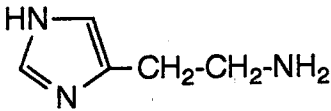
1972'de İngiltere'de Smith Kline and French laboratuvarlarında BLACK ve arkadaşları(191)burimamidin imidazol türevinin yani N-metil N' (4,5-imidazolil butil)tiyoüenin farmakolojik özelliklerini ve sentezini açıkladılar. Burimamidin,gastrik asit salınımına,kalp ritmine,sıçan uterus kasılmasına histaminin etkileri karşısında,yarışmalı antagonizmaya sahip olduğu gösterildi. Bu yeni tür reseptörlere H<sub>2</sub> adını verdiler.İlginç nokta,bu yeni bileşiğin başlangıçta söz konusu olan antihistaminiklerin bloke ettiği histamin etkilerini bloke etmemesiydi. BLACK ve arkadaşları,H<sub>1</sub> ve H<sub>2</sub>reseptörlerinin 4-metil histamin ve 2-metil histamin bileşikleriyle de birbirinden ayırt edilebileceğini gösterdiler. Böylece 2-metil histamin H<sub>1</sub> reseptörlerini içeren dokular üzerinde etkili olduğu halde,4-metil histamin H<sub>1</sub> reseptörlerinin dokuları üzerinde zayıf etki gösteriyor ancak H<sub>2</sub> reseptör dokularını güçlü şekilde uyarıyordu. Kimyasal yapı benzerliğinden yararlanılarak metiamid (192), simetidin (193) gibi büyük H<sub>2</sub>reseptör antagonistleri sentezlendi ve bunların farmokolajik özelliklerinin burimamidin benzeri oldukları bulundu. Simetidin sentezi metiamid verilen hastalardaki agranülasitoz olgusuna çare aranmasının bir sonucudur(194). Agranülositozdan sorumlu görülen metiamidin tiyoüre kısmı yerine simetidinde bir biyoguanidin grubu yerleştirilir. İnsanda ve hayvanlarda(194) simetidin gastrik asit salınımını inhibe etmek için metiamid kadar etkili olduğu halde,hayvanlarda hematopoyetik toksisiteden yoksun gözüküyordu (195).

H<sub>2</sub> antagonistleri gastrik asit salınım yanında c-AMP Üretimi- ni de inhibe ederler. Böylece,örneğin simetidin,ranitidin ve famotidin gibi H<sub>2</sub> antagonistlerinin ,adenilatsiklaz reseptör sistemiyle girişimde bulunabileceği düşünülmüştür(34).

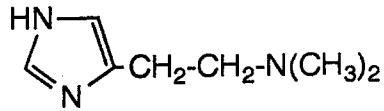
Bu H<sub>2</sub> reseptör antagolistlerinin ortaya konusu histamin ile ilgili bir çok biyolojik cevabı ve de histaminin gastirik salınımı fizyo- lojisindeki rolünü tanımlamaya yardım etmiştir (169).

Spesifik H<sub>2</sub> agonisti elde etmek için pek çok histamin türevi yapılmıştır. 4 pozisyonundaki metil grubu yerine etil,n-propil veya n-butil gruplarının yerleştirilmesi düşünülmüştür. İlk gerçek seçici ve güçlü H<sub>2</sub> agonisti dimaprittir. Histamine çok benzeyen yapıya sahip dimap- ritin izotiyoure parçasıyla histaminin imidazol halkası aynı özelliklere sahiptir. 1978' de bulunan H<sub>2</sub>- agonisti impromidin kobay atriumunda histaminden 4810 kat daha aktiftir ve histaminin H<sub>1</sub> reseptörü için zayıf anta- gonisttir (34).

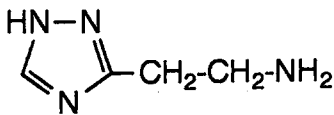
### H<sub>2</sub> AGONİSTLERİ



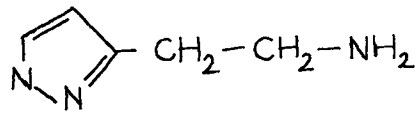
**Histamin**



**N,N Dimetil Histamin**

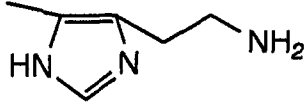


**5-(2-etilamin) 1,2,4-Triazol**

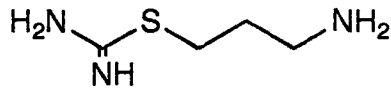


**Betazol (Histalog)**

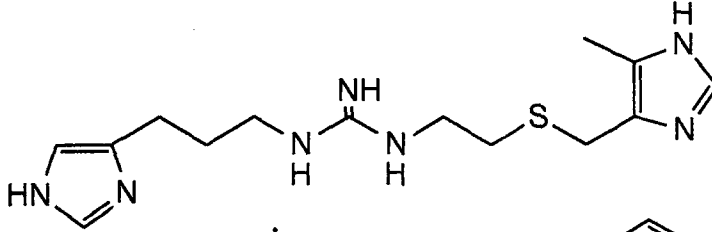
## H<sub>2</sub> AGONİSTLERİ



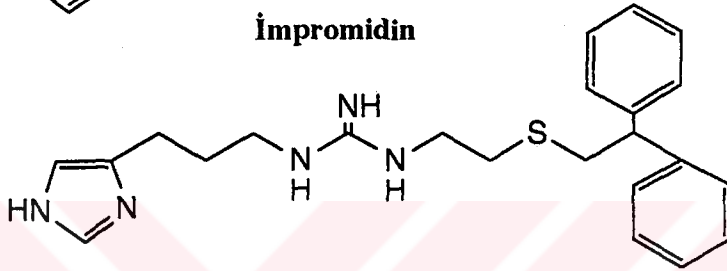
**4-metil Histamin**



**Dimaprit**

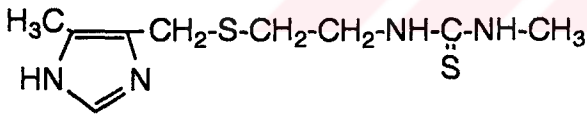


**İmpromidin**

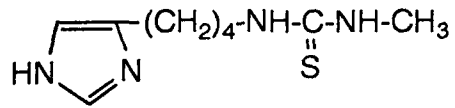


**VUF 8401**

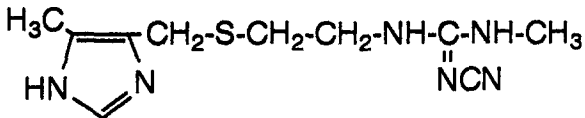
## H<sub>2</sub> Antagonistleri



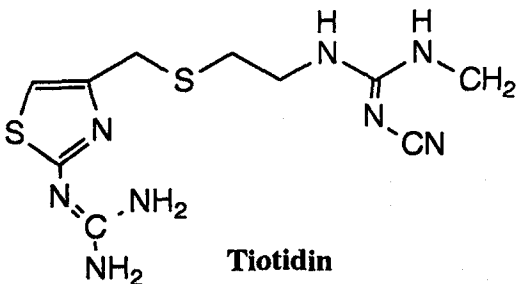
**Metiomid**



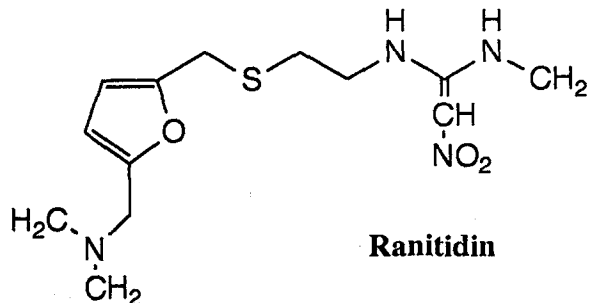
**Burimamid**



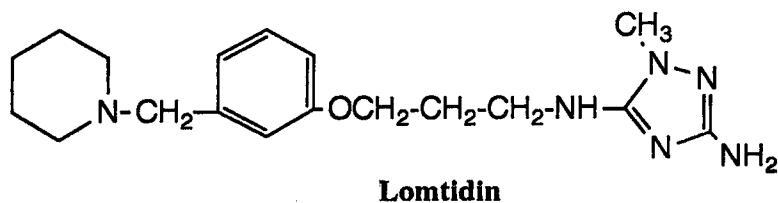
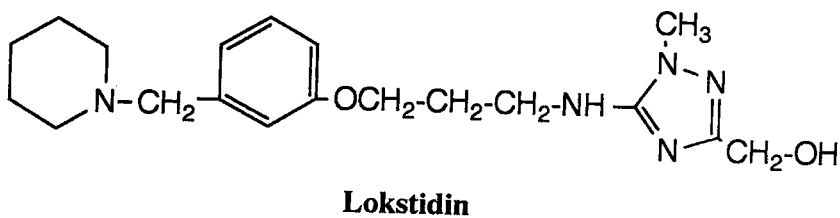
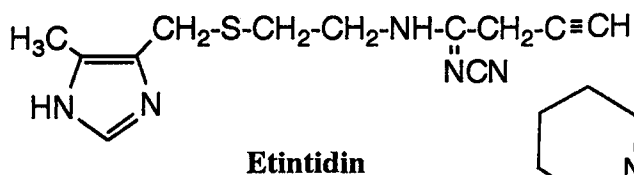
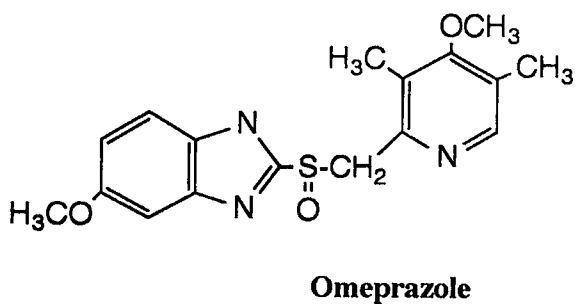
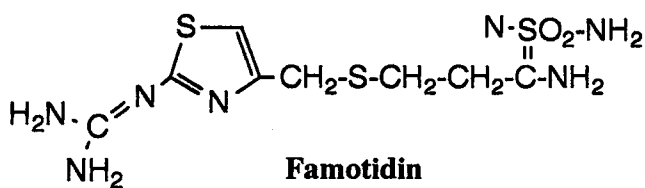
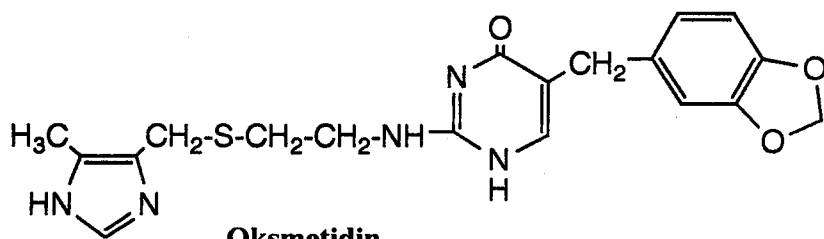
**Simetidin**

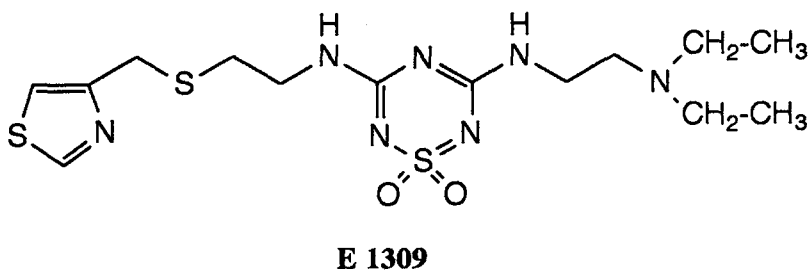
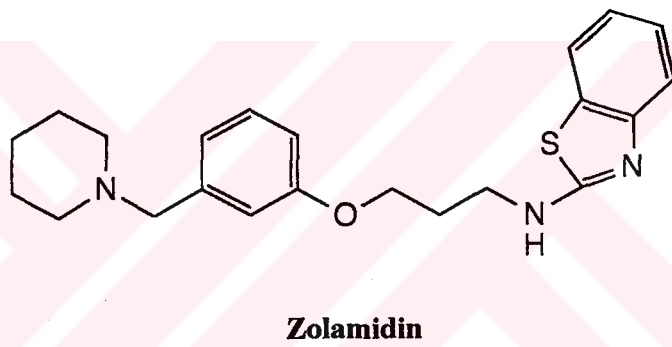
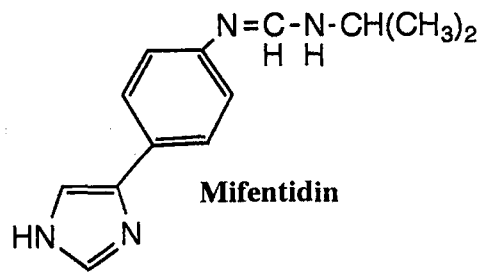
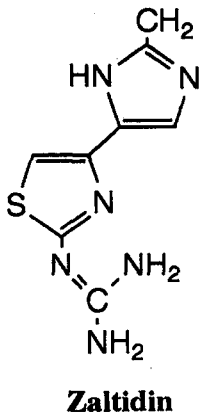


**Tiotidin**



**Ranitidin**





### 2.4.3 H<sub>3</sub> reseptörleri

Histaminin H<sub>3</sub>reseptörü ilk defa J.C. SCHWARTZ grubu (1983) tarafından, fare beyin dokusunu kullanarak histaminin salıverilmesinin kontrolünden sorumlu histamin reseptörünün alışılmamış farmakolojik özelliklerini tanımlamak amacıyla ortaya atılmıştır(184).H<sub>3</sub> reseptör terimi, önceleri H<sub>1</sub> reseptörlerinin alt sınıfı ve H<sub>2</sub> reseptörlerinin alt sınıfı gibi düşünülmüştür(34). Fare serebral korteks depolarize parçalarından histaminin kendi salınımını inhibe ettiğinin gösterilmesi neticesinde H<sub>3</sub> reseptörü H<sub>1</sub> ve H<sub>2</sub> reseptöründen ayrılmıştır.Histamin,H<sub>3</sub> reseptörüyle prevasküler sinir uçları üzerinde karşılıklı etkileşir;böylece kobay mesentrik arterinde sempatik nerotransmisyonunu deprese eder. Bu özellik beyindeki H<sub>3</sub> reseptörleriyle etkileşimin benzeridir(148). Yoğunlukları beyin proteinlerinden daha az olmasına rağmen bazı periferik dokularda da (özellikle akciğerde) H<sub>3</sub> reseptörleri teşhis edilmiştir(34,148,150,196)

H<sub>3</sub> reseptörüne seçici ilaçlar üzerine yapılan çalışmalarda ARRANG ve  $\alpha$ -metil histaminin,histaminden 15 kat yüksek kuvvetle tam agonist olarak davrandığı bulunmuştur(184). D-histidinin R konfigürasyonu ve N <sup>$\alpha$</sup> -metil-1-kloro metil histaminin,trisyumlu histamin salınımını maksimal düzeyde inhibe eden(aynen ekzojen histamin için olduğu gibi) H<sub>3</sub> reseptör agonisti olarak davranırlar(196).

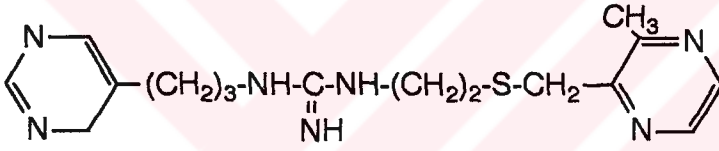
(+)İzomerler (L-Histidin S konfigürasyonuna uygun) H<sub>3</sub> reseptöründe yüksek oranda tercih edilir. Sapromin ve onun S-enantiomeri benzerpotansiyelle ( $5.6 \times 10^{-8}$  M ve  $4.5 \times 10^{-8}$  M) H<sub>3</sub> reseptörlerinde histamin



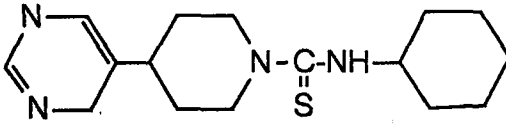
antagonisti olarak davranır (196). Trioperamid kuvvetli ve seçici bir  $H_3$  antagonistidir (184).

Histaminin ve 3( $\beta$ -aminometil) pirazol AEBS'ye afinite göstermediği için yazarlar yeni bir grup histamin bulunduğu sonucuna varmışlardır. Fakat böyle bir sonucu kabul etmek henüz çok erken olduğu düşünülmektedir(34).

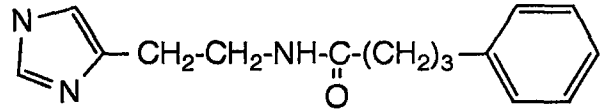
### $H_3$ ANTAGONİSTLERİ



**İmpromidin**



**Tiyoperamid**



**N-(4-fenil butanoil) histamin**

## 2.5 Kan Plazmasında Histamin-Metal İyonları Girişimlerinin Simulasyonu

Eğer mide histamini sorununu bir kenara bırakıp histaminin insan vücudunun tümü üzerindeki etkileri ile ilgilenecek olursak (örn: anestezipler veya plazma süstitülerinin enjeksiyonlarının sonucu kaydedilenler gibi) ilgilendiğimiz bütün birimlerde ortak nokta kan plazmasıdır.

Öte yandan, mide salınımı stimülasyonu ve bazofil azalması hemen hemen plazma histaminin azalmasına paraleldir. Plazmadaki histamin konsantrasyonu çeşitli yazarlar tarafından belirlenmiştir. (Tbl:2-3)

Biz normal halde plazmadaki histamin konsantrasyonu olarak DOENICKE ve LORENZ (84)  $0.69 \pm 0.26 \text{ ng/cm}^3$  değerlerini kabul ettik, uç değerler olarak  $0.1- 1.4 \text{ ng/cm}^3$  düşünüldü. Tüm kandaki ortalama histamin konsantrasyonu olarak ise  $54 \pm 18 \text{ ng/cm}^3$  (84) ve uç değerler  $17-86 \text{ ng/cm}^3$  olarak alındı. Burada tüm kan histamininin özellikle bazafillerde yer aldığını belirtelim.

Histaminin doğrudan salınması durumunda histamin salgılatan ilacın (43) ve histaminin kendinin (84,85) plazma oranları gözlenen etkilere doğrudan bağlıdır. İnsanda plazma histamininin bazı tayin yöntemleri yardımıyla iyice tanımlı klinik etkilere tekabül eden eşik konsantrasyon değerleri saptanabilmiştir (85).

Histaminin plazmada ligand olarak koordinasyon yapıcı gücünün hangi ölçüde bazı metal iyonlarıyla salınım ve/veya farmakodinamik etkisi arasında açığa çıkarılan girişimleri etkilediği, çok büyük öneme sahip olacaktır (207). Trisyumlu simetidin uygulanan ilk radyoligandtır (34).

Tablo 2-3 Çeşitli yöntemlerle ölçülen insandaki histamin plazma konsantrasyonları

Histamin kons. ng/cm <sup>3</sup>	Sınır değerler ng/cm <sup>3</sup>	Yöntemin ilkesi	Referans
-	(0.0 - 1.0)		(197)
0.62	(0.1 - 1.4)	Fluorimetri	(198)
-	(0.3 - 1.4)	Fluorimetri	(199)
0.61	(0.4 - 1.0)	İzotop	(200)
0.5	-	İzotop	(201)
0.5	(0.0 - 1.1)	Fluorimetri	(202)
0.0	(0.0 - 0.3)	Fluorimetri	(203)
0.46	(0.0 - 1.24)	İzotop	(204)
0.3	(0.0 - 0.9)	Fluorimetri	(205)
1.0		İzotop	(159)
0.69	(0.1 - 1.4)	Fluorimetri	(84)
0.61	(0.4 - 0.8)	FLuorimetri	(206)

Bu amaçla klinik belirtilere tekabül eden konsantrasyonlarda histaminin oluşabileceği komplekslerin dağılımı analiz edilebilir.

Elimizde böyle bir analiz yapma olanağı mevcuttur. Çünkü düşük molekül kütleli metal komplekslerin plazma dağılımını bilgisayarda tasarlayan bir model var olup (208,209,210) söz konusu metal iyonlarının histamin ile oluşturduğu ikili kompleksler (binerler ) ve söz konusu metal iyonlarının histamin ve diğer düşük moleküllü ligandlarla oluşturduğu (terner)

komplekslerinin denge sabitlerinin bilinmesi durumunda bu simülasyon modeli kullanılır.

Tablo: 2-4 Venöz kanda plazma histamin konsantrasyonunun artmasının insandaki biyolojik reaksiyonları (Eşik değerler (85))

Histamin Kons. ( $\times 10^{-9}$ mol $\text{dm}^{-3}$ )	Fizyopatolojik Reaksiyonlar
0- 9	Reaksiyon yok (Normal değerler)
9-18	Gastrik asit salgınım
27-45	Kardiak frekansın yükselmesi
54-72	Arteriel basınç azalır
63-108	Bronkospazm
900'e doğru	Kalp durması

## DENEYSEL ÇALIŞMA

### 3.1 Histaminin Miktar Tayini

Alkali pH'da o-phtalaldehide kondansasyonuyla fluorasans ölçümü ,düşük molekül ağırlıklı biyojenik aminler ve aminoasitler için hassas deneme olarak kabul edilmiştir(211): amino asitler,amino şekerleri,poli-aminler,glutation gibi... Histaminin fluorimetrik ölçümünde bu maddelerin müdahalesi uç yoldan olur (127).

a) o-Phtalaldehide ile tepkimeye sokulmasından sonra histamin benzeri fluoresans veren maddeler: Bu şekilde,histamini taklit ederek, reaksiyona müdahale eden maddelerin varlığı uzun zamandır bilinmektedir.

Tablo 3.1

Tablo 3.1 Butanolle ekstraksiyon ve OPT ile kondansasyondan sonra histamine benzer fluoresans gösteren maddeler

	mol/l <sup>1</sup>
Spermidin	$4 \times 10^{-5}$
Noradrenalin	$5 \times 10^{-4}$
Spermin	$4 \times 10^{-4}$
Putresin	$3 \times 10^{-3}$
Triptamin	$5 \times 10^{-3}$
5-OH Triptamin	$5 \times 10^{-3}$
Adrenalin	$10^{-2}$
3-OH Triptamin	$10^{-2}$
Metilhistamin	$2 \times 10^{-2}$
Adenin	$6 \times 10^{-2}$

1-Konsantrasyonlar  $5 \times 10^{-7}$  mol/l histamin ile aynı fluoresansı verecek şekildedir.

b) Histamin fluoresansının bastırılması: Metilhistamin, tiramin ve triptamin bu ilişkide oldukça etkilidir. Hem metilhistamin, hem de tiramin kendilerinin maksimum inhibitör etkisini kondansasyon sırasında OPT için bir yarış olduğu zaman ortaya koyarlar Tablo 3.2

Tablo 3.2 Histamin fluoresansının biyojenik aminlerle önlenmesi

	ED <sub>50</sub> mol/l <sup>1</sup>
Metilhistamin	3x10 <sup>-4</sup>
3-OH Tiramin	10 <sup>-3</sup>
5-OH Triptamin	10 <sup>-3</sup>
Tiramin	3x10 <sup>-3</sup>

1- Butanol ile ekstraksiyon yapıldıktan sonra ki analiz yapıldığı zaman 5x10<sup>-7</sup> mol/l histaminin fluoresansını % 50 bastıran konsantrasyonlar

c) Günlüğü veya UV ışığıyla OPT ürünlerinin önışınlanması veya uyarılma sırasında histamine benzer fluoresansının artması: Bu tip engelleme aminoasitlerde özellikle histidinde görülür. Tablo 3.3

Fluometrik ölçümde OPT ile kondansasyondan önce bu maddelerin uzaklaştırılması için çeşitli saflaştırma yöntemleri tavsiye edilmiştir. Butanol ekstraksiyonu müdahaleci maddelerin üzerinde histamin seçiminde oldukça etkili olmasına rağmen müdahaleden sakınmak için yeterli değildir. Bundan başka iyon değiştirici kromatografi ve HPLC yöntemleri de

kullanılmaktadır.

Tablo 3.3 UVA ile önışınlanmasıyla OPT ile aminoasitlerin kondansasyon ranlerinin artan fluoresansının değişimi<sup>1</sup>

Amino asit	Konsantrasyon mol/l	Fluoresans 0 <sup>2</sup> zamanın da	Fluoresans maksimum 20 m <sup>2</sup>	Max.ulaşın- cayakadar UVA önışın lanma zama nı min.	Butanol eks- traksiyonu ile aktivi- te %
Histidin	3x10 <sup>-6</sup>	29 $\bar{+}$ 2	195 $\bar{+}$ 8	2	12
Arginin	10 <sup>-4</sup>	9 $\bar{+}$ 0	79 $\bar{+}$ 3	30	7
Sistein	10 <sup>-3</sup>	7 $\bar{+}$ 1	232 $\bar{+}$ 17	30	18
Tironin	2x10 <sup>-3</sup>	4 $\bar{+}$ 0	185 $\bar{+}$ 2	10	3
Glisin	10 <sup>-2</sup>	5 $\bar{+}$ 0	208 $\bar{+}$ 7	30	1
Glutamin	10 <sup>-2</sup>	5 $\bar{+}$ 1	148 $\bar{+}$ 17	30	10
Alenin	10 <sup>-2</sup>	13 $\bar{+}$ 2	133 $\bar{+}$ 7	30	20
Serin	10 <sup>-2</sup>	11 $\bar{+}$ 1	167 $\bar{+}$ 23	30	1
İzolosin	10 <sup>-2</sup>	2 $\bar{+}$ 0	133 $\bar{+}$ 9	30	37
Asparajin	10 <sup>-2</sup>	0	113 $\bar{+}$ 3	30	0

1. Gösterilen konsantrasyonlarda amino asitler el metoduyla OPT ile reaksiyona sokulur. UVA ışığı zamanın çeşitli uzunlukları için 3J/8 min dağılım gösterir.

Dowex WX8 li iyon değiştirici kromatografi ile ayırma uygun değildir (212). Bazı yazarlar bu düşünceye katılmamaktadır.Kısacası bu farklılık için,nedenlerde belirsizlik mevcuttur.

HPLC ve gaz kromatografisi rutin çalışmalar için uygundur.

Fluorimetrik histamin deneylerinin avantajları için aşağıdaki önlemlerin alınması tavsiye edilir.

(1)- Gerçek histaminin kullanılmasıyla; örnek, histamin fluo- resansını ortadan kaldıran maddeleri içermez.

(2)- Histamin azalan enzimler diaminoksidaz ve/veya metiltrans- ferazın alındığı örnekler histamini taklit eden maddeleri içermez veya sadece sindirilebilecek miktarda histamin olarak hesaba katılabilir.

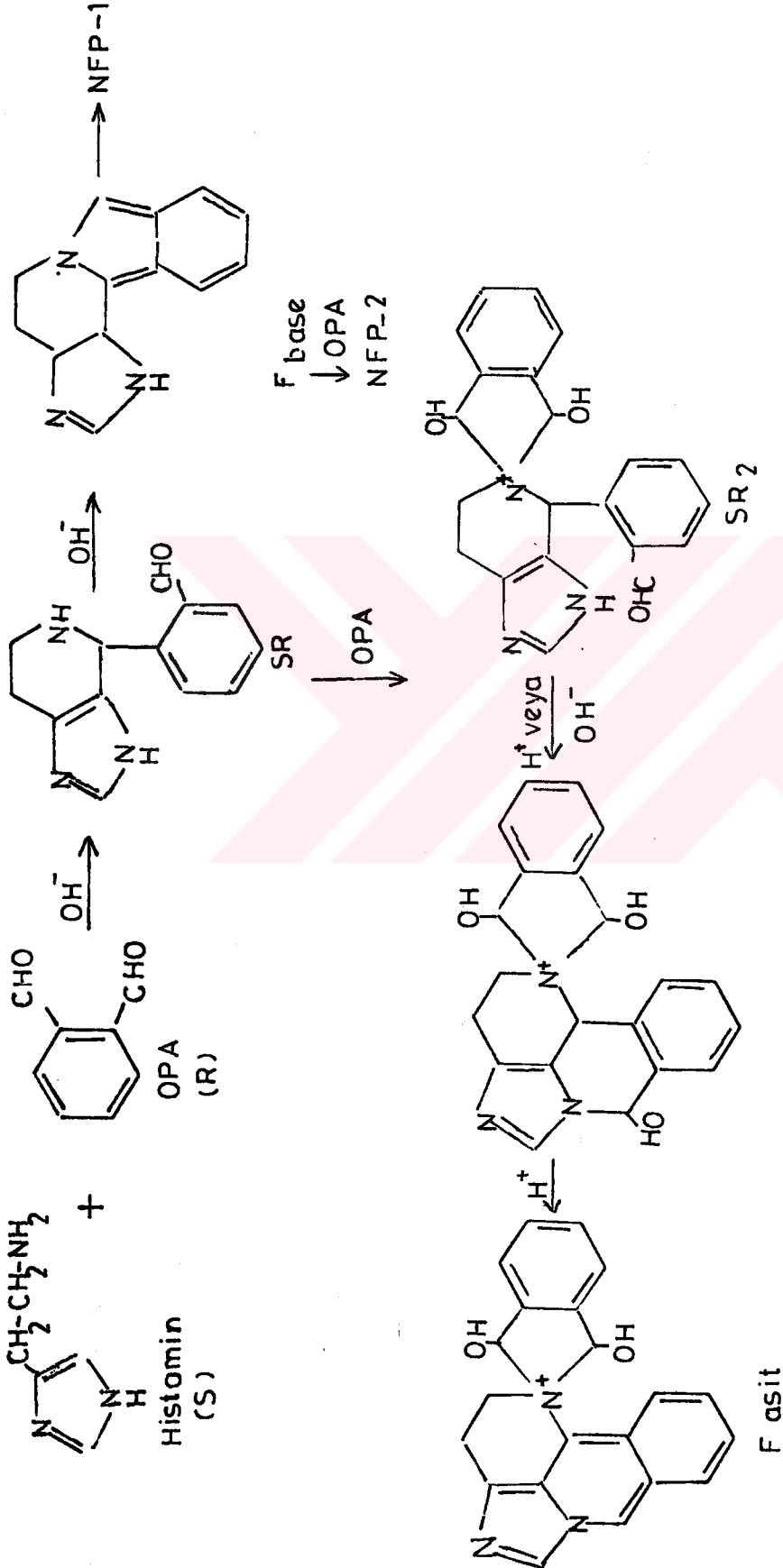
(3)- Uyarılma dalga boyu ışık etkisinin uzaması, fluoresans aktivitesinde belirgin bir artma olmaz (212).

Histamin düşük molekül ağırlıklı biyolojik aminler ve amino- asitlerden ayrıldıktan sonra OPT ile fluoroforunun oluşması iki basamakta olur; kondansasyon ve asitlendirme (213).

Histaminin alkali ortamda o-phtalaldehyde ile reaksiyona so- kulmasıyla dayanıksız fluoresans ürünleri oluşur (F (Baz)). İlk basamak- ta histamin o-phtalaldehyde ile kondanse olur ve "Schiff bazı" oluşur (hemen tetrahidropriimidazole döner). Solüsyonun pH' sının 2-4'e kadar asitlendirilmesiyle stabil ürünler verir (F (asit))(211). Histaminin o- phtalaldehyde ile kondansasyona sokulmasından 4 dakika sonra fluoresans kuvveti maksimuma ulaşır ve daha sonra azalmaya başlar. Histaminin optimum fluoresans alanı için reaksiyon karışımın pH'sı 12.4-12.7 arasında olmalı- dır. Histaminin OPT ile kondansasyonu fosforik asit ilavesiyle pH2-3.5'e ayarlanarak durdurulur. OPT-histamin kompleksinin fluoresansı asit pH da hem daha stabil hemde daha kuvvetlidir. pH 3.3 de histamin stabilitesi

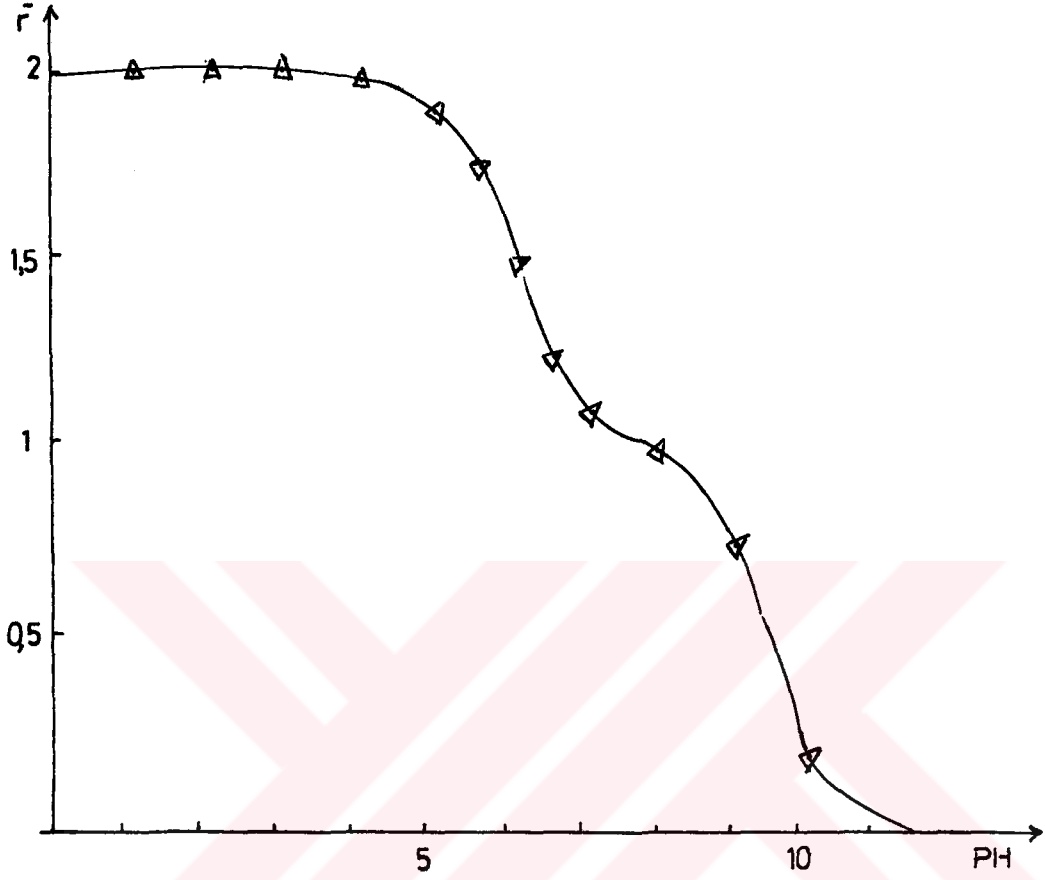


en az 20 saat oda sıcaklığında korur (211,213,214).

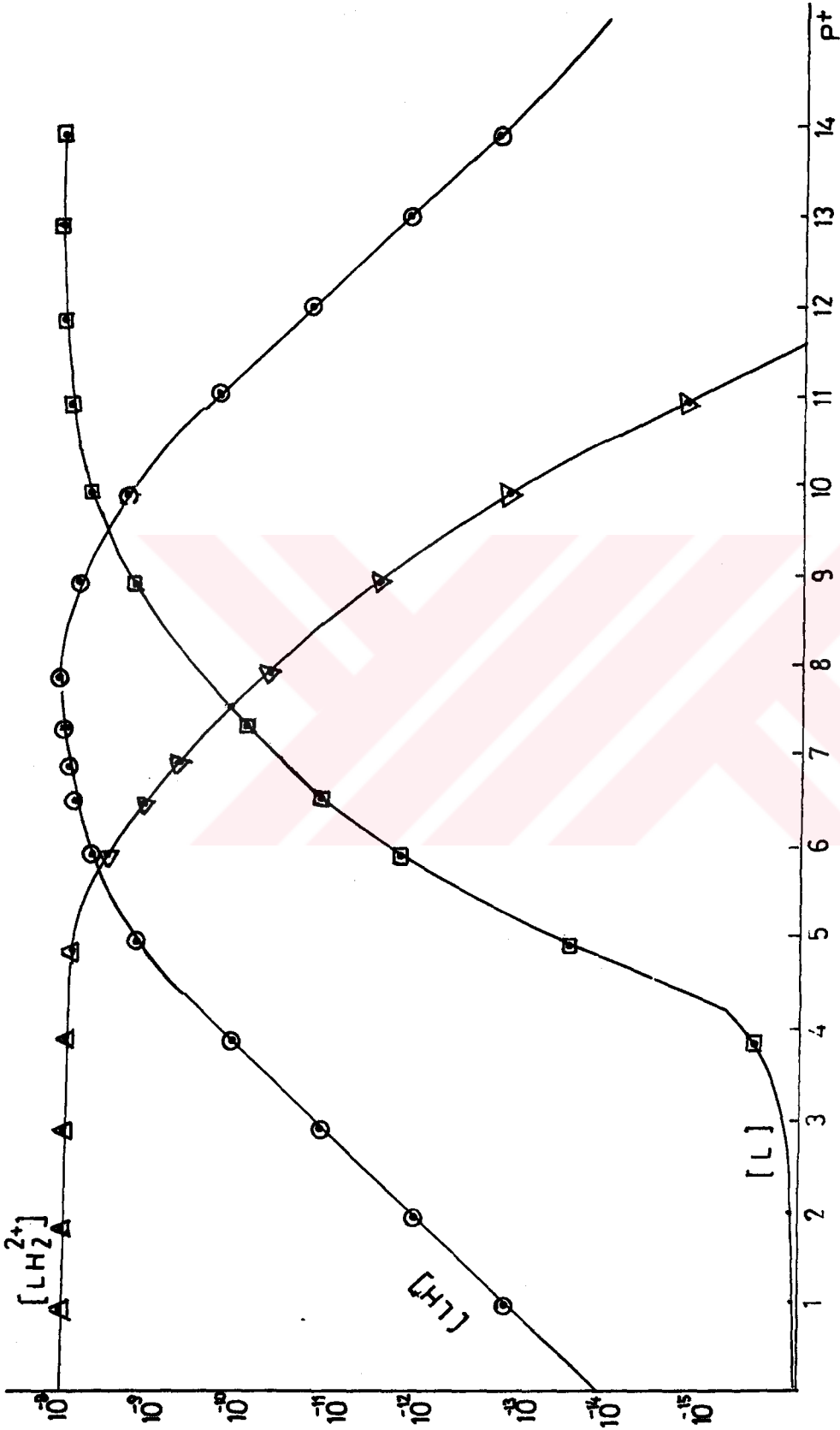


Histaminin OPT ile reaksiyonunun fluoressans mekanizması (211)

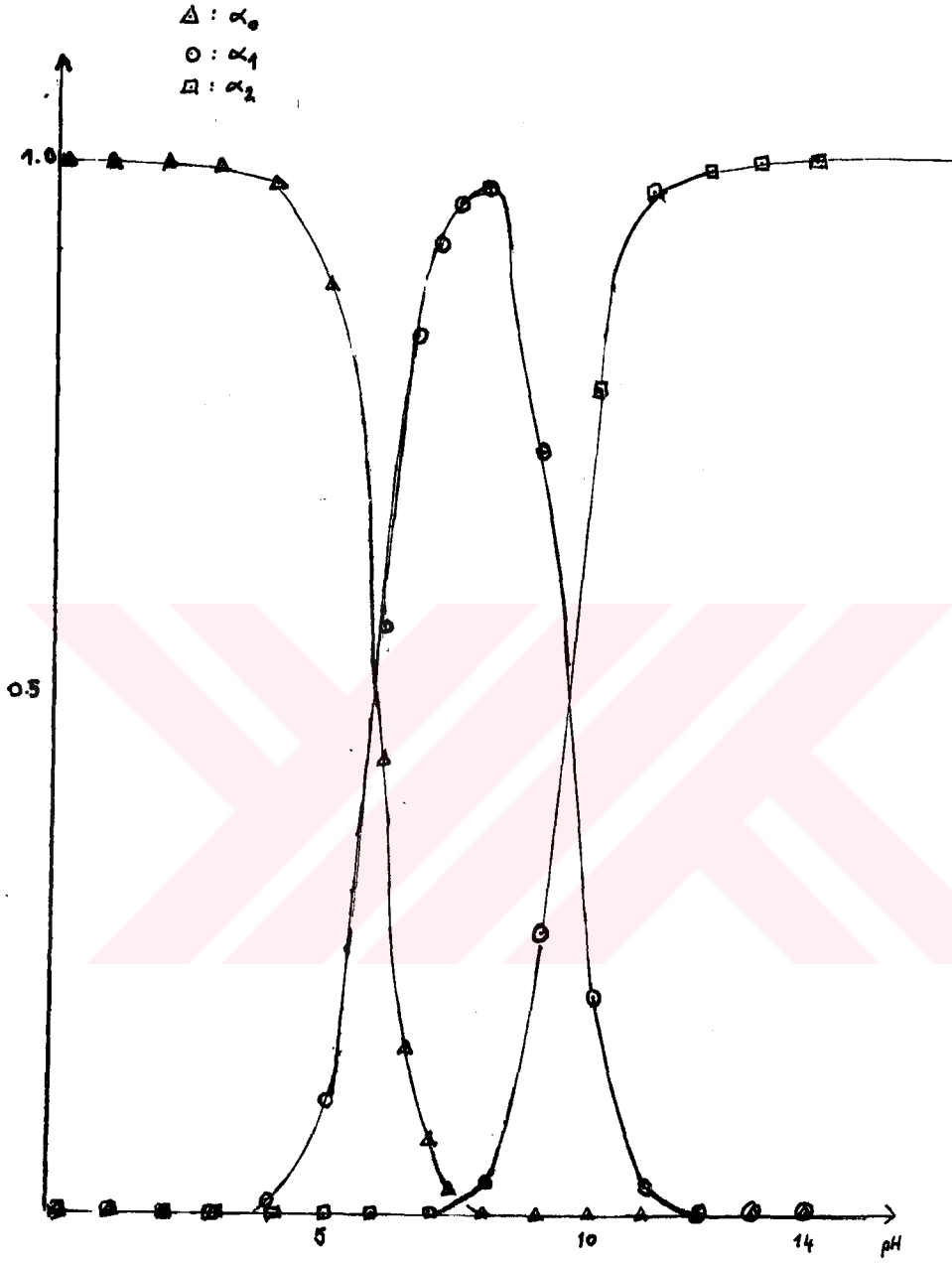
NFP: Fluoressans vermeyen ürünler



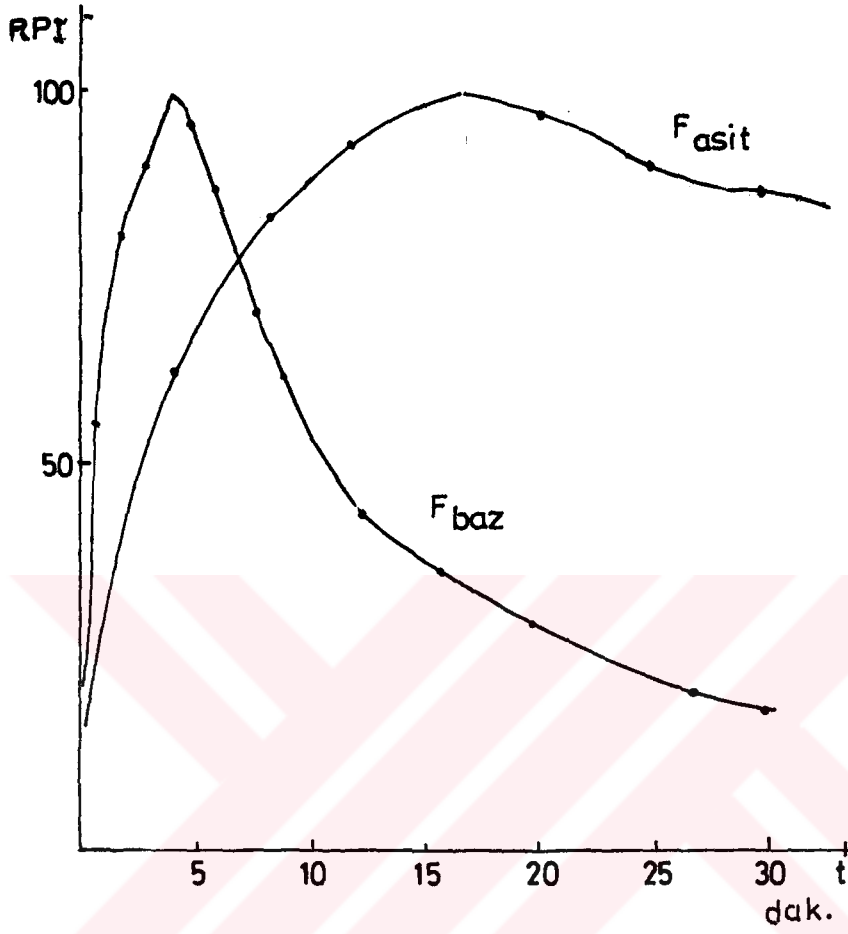
A- Histaminin 37° deki hidrojen iyonu ile kompleksleşmesinin pH'a bağımlı değişimleri (protonasyon)



B- A'da kullanılan verilerden elde edilen 37°C deki protanasyon sabitlerinin kullanımıyla hazırlanan histaminin çeşitli türlerinin pH'a bağlı konsantrasyonları



C-A'da kullanılan verilerden elde edilen  $37^{\circ}\text{C}$  deki protanasyon sabitle-  
rinin kullanımı ile hazırlanan histaminin çeşitli türlerinin pH'a bağı-  
lı  $\alpha$ -kesirleri



Histaminin OPT ile kondansasyon ürünlerinin asidik ve bazik ortamda bozunması

### 3.2 Histaminin stabilitesi

Saklanan seyreltik histamin klorür çözeltilerinde bakteriyel kontaminasyon (tam miktarlar değişik konsantrasyonlardan alınmıştır).

Saklanma sıcaklığı	Haftalar				Aylar		
	1	2	3	4	2	3	6
4°C	-	-	-	-	-	+	+
							0.5mg/ml
20°C	-	-	-	-	-	+	-
							0.8mg/ml
-18°C	^	^	^	-	-	+	-
							0.1mg/ml

- : Bakteriyel kontaminasyon görülüyor.

+ : Belirtilen konsantrasyonlarda bakteriyel kontaminasyon görülmektedir.

^ : Bilinmemektedir.

Histamin klorür çözeltilerinin dayanıklılığı yapılan çalışmalar için çok önemli bir faktördür. Yapılan çalışmalarda 4 ve /veya -18°C de saklanan histamin klorür çözeltilerinin en az 6 ay stabil olduğu görülmüştür. Şayet konsantrasyon 0.25 mg/ml den yüksek ise 20°C de saklanan histamin klorür çözeltilerinin aktivitesi en az 6 ay stabildir ve eğer 0.25 mg/ml den daha az ise stabilite 4 haftadan daha azdır ve açıldıktan sonra bir hafta içinde kullanılmalıdır. 3 ay saklanan 0.5 mg/ml den daha seyreltik çözeltilerde bakteriyel kontaminasyon görülmüştür fakat mantar



### 3.3 Kullanılan Cihazlar

Çalışmalarda SHIMADSU Rf 540 spektrofleurimetri ile kuvars küvetler kullanılmış,çözelti ve tampon pH'ları SCHOTT MAINZ pH metresi ile ölçülmüş,elektrot olarak SCHOTT MAINZ kombine cam elektrotundan yararlanılmıştır.

### 3.4 Kullanılan kimyasal maddeler ve hazırlanan çözeltiler

#### 3.4.1 Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Histamin 2HCl	(Sigma)
NaCl	(Riedel)
KCl	(Merck)
Borik asit	(Merck)
n-Butanol	(Riedel)
n-Heptan	(Merck)
HCl	(Merck)
NaOH	(Merck)
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	(Riedel)
Metanol	(Merck)
o-phtalaldehyde	(Hiedel Berg)

#### 3.4.2 Hazırlanan Çözeltiler

Histamin 2 HCl : Salin ile hazırlanan  $10^{-2}$  M. lık stok çözeltilerden salin kullanılarak çeşitli seyrelmeler yapılarak hazırlandı.

Salin çözeltisi 8.482 g. NaCl, 0.3725 g. KCl 1000 ml su ile seyreltilir.

1 N.NaOH	3 N. NaOH
% 50 NaOH	2 M. H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
0.05 N. HCl	



o- phtalaldehyde: 0.005 g OPT 0.2 ml metonelde çözündürülür ve borat tamponuyla 10 ml' ye seyreltilir (214).

Borat tamponu: 3.095 g. borik asit 90 ml. distile suda çözündürülür. % 50 NaOH ile pH 12.3'e ayarlanarak 100 ml'ye tamamlanır.

### 3.5 Çalışma Yöntemi

Çalışma iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon ve fluorimetrik ölçüm . Fluorimetrik işlemdede o-phtalaldehyde-histamin fluorunun oluşması iki basamakta olur (213).

a) Kondansasyon basamağı

b) Asitlendirme basamağı

#### 3.5.1 Ekstraksiyon safhası

Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan histamin klorür çözeltisinden 1 ml, içinde 300 mg NaCl ve 1.25 ml n-butanol içeren tüplere alınır. 0.1 ml 3 N. NaOH birden ilave edilir. 1 dakika 5 dakika 2000 rpm de santrifüj edilir. Butanol (Ust faz) 1 ml, içinde 1.9 ml n-heptan, 1.2 ml 0.05 N. HCl içeren tüplere alınır. 1 dakika çalkalanır. Fazların ayrılması için 5 dakika dinlendirilir.

#### 3.5.2 Fluorimetrik ölçüm

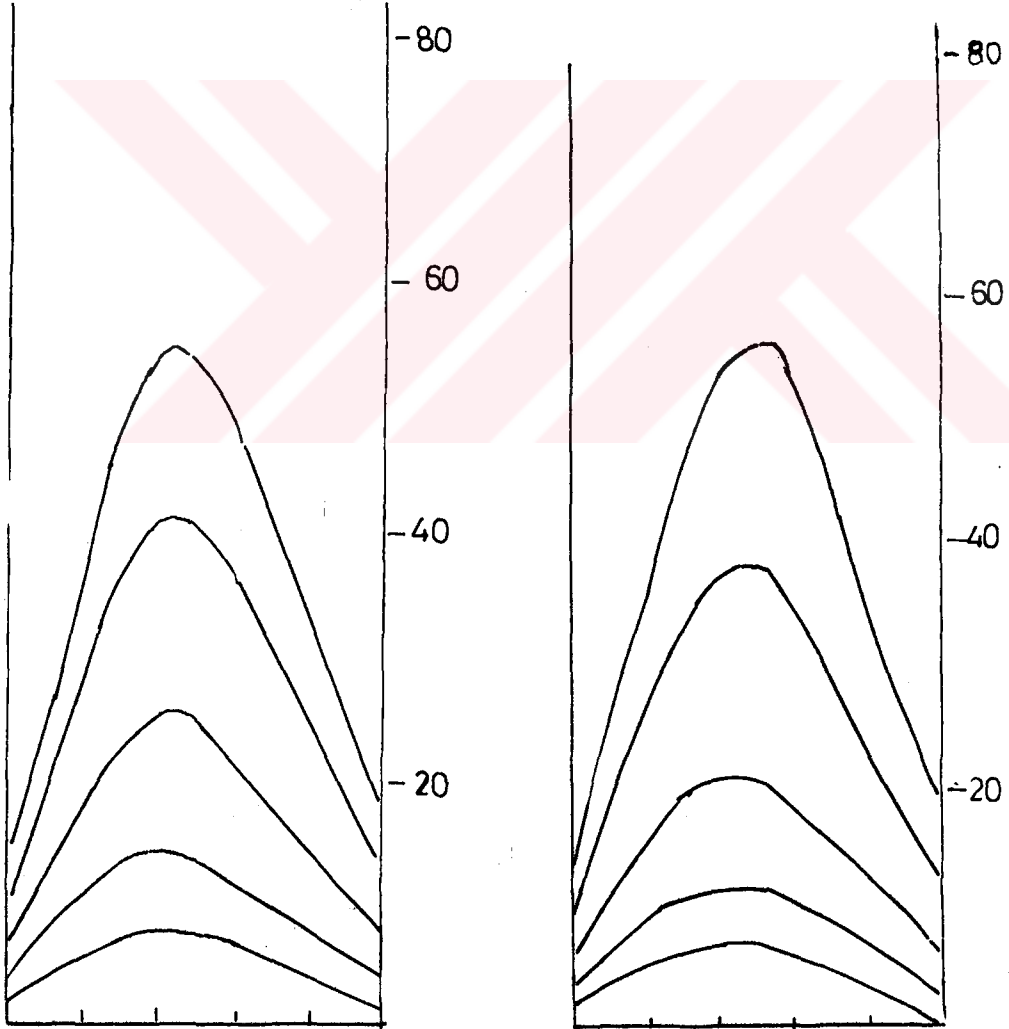
Kondansasyon safhası: Asit fazdan 1 ml (alt faz) alınır, üzerine 0.5 ml 1 N. NaOH ilave edilerek pH 12.3 e ayarlanır. 0.1 ml OPT ilave siyle histamin ile OPT nin kondansasyonunun sağlanması için 7 dakika enkübasyona bırakılır (211,213).

Asitlendirme safhası: 0.4 ml 2. M.  $H_3PO_4$  ilave edilerek,

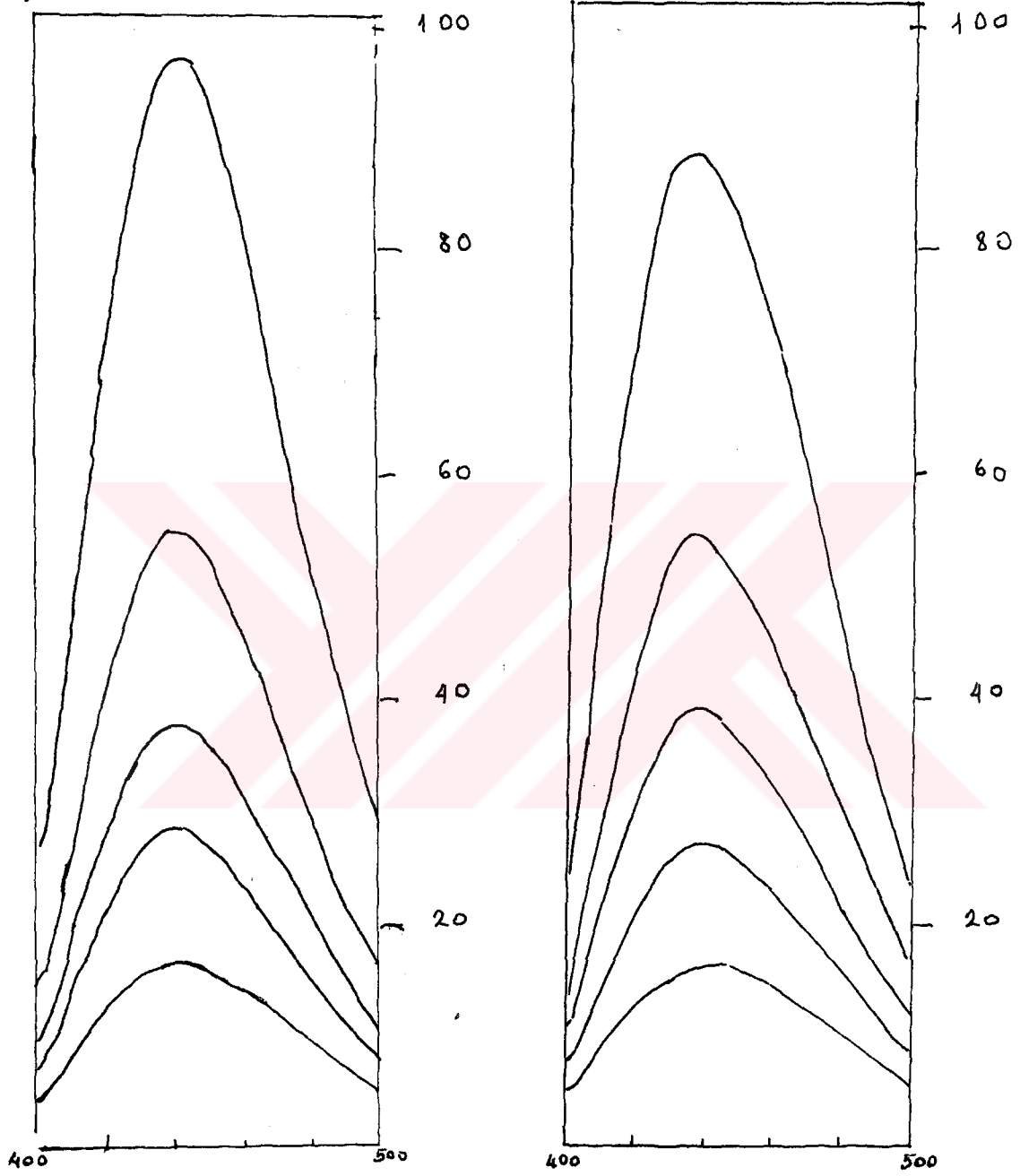
bozunma durdurulur ve 15 dakika bekledikten sonra 360/440 nm de fluorensans şiddeti okunur.

### 3.5.3 Körün hazırlanması

Kör ekstraksiyon safhasından geçirilmeden direk fluorimetrik ölçüm aşamasından başlanarak hazırlanır. 1 ml salin çözeltisinden alınıp üzerine 0.5 l N NaOH ve 0.1 ml OPT ilave edilir. 7 dakika enkübasyona bırakılır ve 0.4 ml 2 M.H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ilave edilir, 15 dakika bekledikten sonra 360/440 nm de fluorensans şiddeti okunur.



Histaminin OPT ile verdiği kondansasyon ürünlerinin 15 ve 50 dakikaki spektrumları



Histaminin OPT ile verdiği kondansasyon ürünlerinin 15 ve 50 dakikadaki spektrumları

### 3.6 Deneysel Bulgular

#### 3.6.1 Fluoresans şiddetinin kararlılığının sağlanması

Fluoresans şiddetinin kararlılığının sağlanması için ilk aşamada; asitlendirmenin yapılacağı asit ve optimum pH belirlendi. 2 M. ile pH 1.9'a ayarlanarak  $10^{-5}$  M. ile  $10^{-7}$  m. arası (1.841- 0.01841 µg/ml) konsantrasyonlarda ekstraksiyon işlemi yapılarak ve bu işlem yapılmadan doğrudan floresans şiddetinin okunması yoluna gidildi. Yapılan çalışmalarda histamin- o-phtalaldehyde kondansasyonunun durdurulmasından sonra zamana karşı okunan floresans şiddetlerinde, her iki halde de belirgin bir değişme olmadığı gözlemlendi. Bu çalışmalarda elde edilen verilerden bazıları Tablo 3-4 ve 3-5 de gösterilmiştir.

M	Konsantrasyon µg/ml	15 dakika sonraki floresans şiddeti	5.0 dakika
$10^{-7}$	0.01841	23.3	25.6
$2.5 \times 10^{-7}$	0.04603	24.5	26.3
$5 \times 10^{-7}$	0.09205	26.0	27.3
$7.5 \times 10^{-7}$	0.1381	28.1	27.4
$10^{-6}$	0.1841	33.2	33.8
$2.5 \times 10^{-6}$	0.4603	39.5	38.8
$5 \times 10^{-6}$	0.9205	43.0	39.8
$7.5 \times 10^{-6}$	1.380	55.0	62.0
$10^{-5}$	1.841	59.2	55.2

Tablo 3-4 Çeşitli konsantrasyonlarda ekstraksiyon yapılarak histaminin OPT ile verdiği kondansasyon Ürünlerinin zamana karşı okunan floresans şiddetleri

M	Konsantrasyon Mg/ml	15 dakika sonraki	50 dakika fluoresans şiddetleri
$10^{-7}$	0.01841	8.1	8.8
$2.5 \times 10^{-7}$	0.04603	12.4	12.3
$5 \times 10^{-7}$	0.09205	13.2	16.2
$7.5 \times 10^{-7}$	0.1341	18.8	18.2
$10^{-6}$	0.1841	26.8	25.2
$2.5 \times 10^{-6}$	0.4603	39.5	38.8
$5 \times 10^{-6}$	0.9205	81.5	88.3
$7.5 \times 10^{-6}$	1.380	-	-
$10^{-5}$	1.841	-	-

Tablo 3-5 Çeşitli konsantrasyonlarda ekstraksiyon yapılmadan histaminin OPT ile verdiği kondansasyon ürünlerinin zamana karşı okunan fluoresans şiddetleri

Yukarıdaki verilerden görüldüğü üzere değişik konsantrasyonlarda yapılan çalışmalarda histamin ile OPT arasındaki reaksiyonun durdurulmasından 15 ve 50 dakika sonra belirgin bir artma olmadığı görülmektedir.

### 3.6.2 Kalibrasyon eğrisinin çizilmesi

Çalışmalar iki şekilde gerçekleştirilmiştir. İlk olarak belirlenen çalışma yönteminin ekstraksiyon safhasından başlayarak, tüm yöntemin uygulanması ve ikinci olarak ekstraksiyon safhası yapılmadan direk fluorimetrik ölçüm safhasının kullanıldığı yöntem.

Yapılan tüm çalışmalar için 1.841 mg/ml-0.01841 µg/ml konsantrasyon aralığı seçilmiştir. Bu konsantrasyonlar kullanılarak iki şekil uygulamanın sonucunda elde edilen veriler Tablo 3-6 ve 3-7 de ve bu verilere dayanarak çizilen kalibrasyon eğrileri Şekil 3-7 verilmiştir.

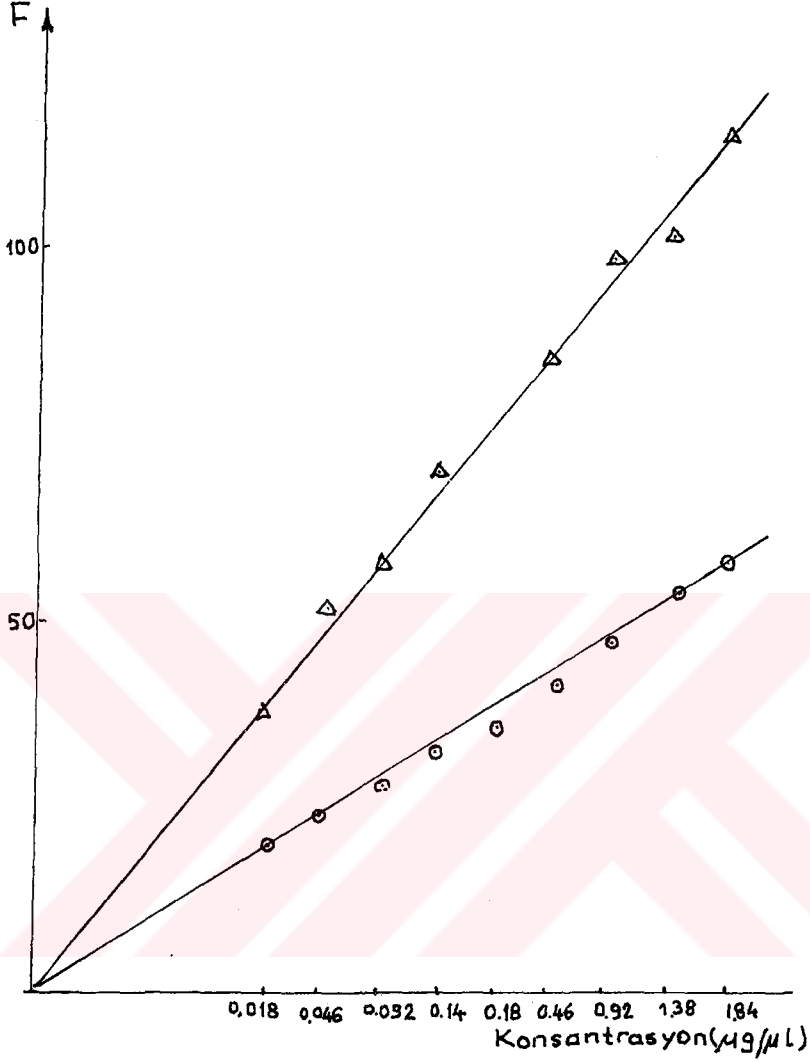
M	Konsantrasyon µg/ml	15 dakika sonraki fluoresans şiddeti
$10^{-7}$	0.01841	20.5
$2.5 \times 10^{-7}$	0.04603	24.5
$5 \times 10^{-7}$	0.09205	28.3
$7.5 \times 10^{-7}$	0.1341	33.1
$10^{-6}$	0.1841	36.3
$2.5 \times 10^{-6}$	0.4603	42.6
$5 \times 10^{-6}$	0.8921	48.2
$7.5 \times 10^{-6}$	1.380	54.4
$10^{-5}$	1.841	58.4

Tablo 3-6 Çeşitli konsantrasyonlarda ekstraksiyon yapılarak histaminin-  
OPT ile verdiği kondansasyon ürünlerinin fluoresans şiddetleri

Konsantrasyon		15 dakika sonraki
M	Mg/ml	fluoresans şiddetleri
$10^{-7}$	0.01841	37.5
$2.5 \times 10^{-7}$	0.04603	52.0
$5 \times 10^{-7}$	0,09205	58.2
$7.5 \times 10^{-7}$	0.1341	70.9
$10^{-6}$	0.1841	80.0
$2.5 \times 10^{-6}$	0.4603	86.0
$5 \times 10^{-6}$	0.8921	99.6
$7.5 \times 10^{-6}$	1.380	102.0
$10^{-5}$	1.841	116.0

Tablo 3-7 Çeşitli konsantrasyonlarda ekstraksiyon yapılmadan histaminin OPT ile verdiği kondansasyon ürünlerinin fluoresans şiddetleri

Aynı şartlarda yapılan iki ayrı çalışmada ekstraksiyon yapılarak okunan fluoresans şiddetinin, ekstraksiyon yapılmadan okunan fluoresans şiddetlerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. Ekstraksiyon işleminde çeşitli kayıpların olduğu gözönüne alınırsa, bu sonucun elde edilmesi doğaldır.

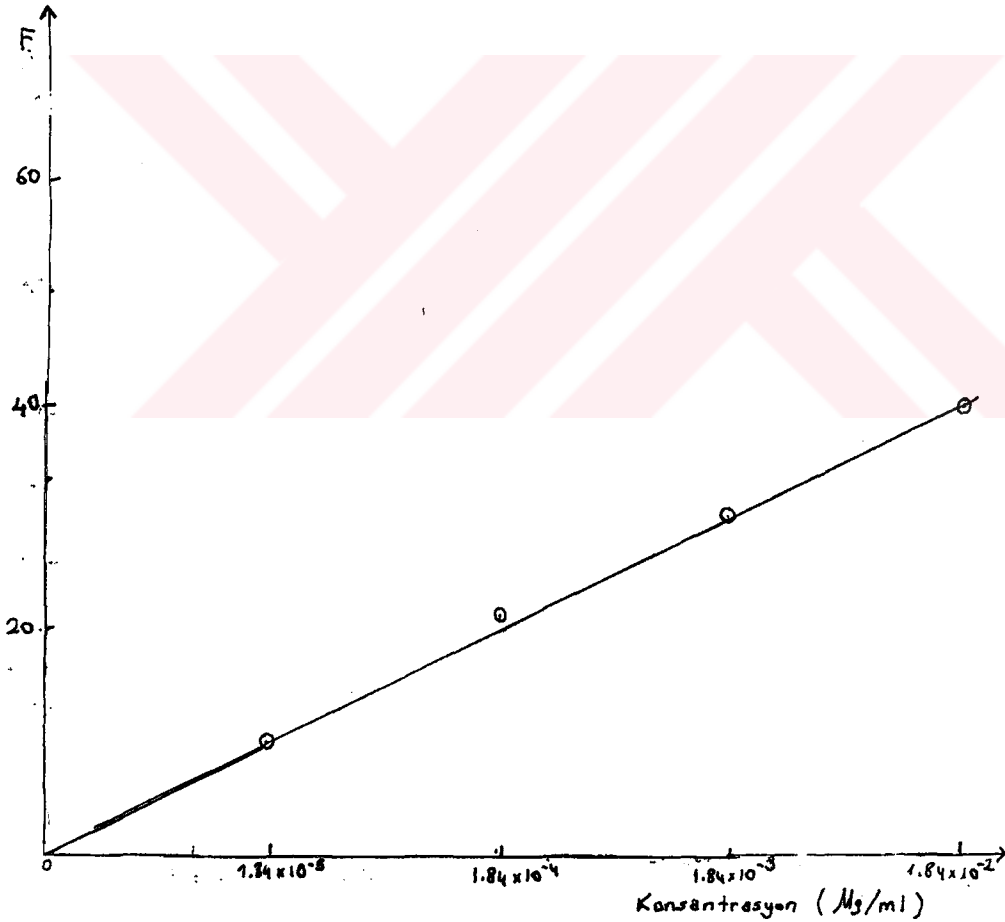


Şekil 3-7 Çeşitli konsantrasyonlarda ekstraksiyon yapılarak ve ekstraksiyon yapılmadan okunan histamin-OPT kondansasyon ürünlerinin fluoeresans şiddetleri

- → Ekstraksiyon yapılarak elde edilen kalibrasyon eğrisi
- △ → Ekstraksiyon yapılmadan elde edilen kalibrasyon eğrisi



Değişik konsantrasyonlarda istenilen sonucun elde edilmesi üzerine daha seyreltik konsantrasyon aralığında  $10^{-7}$  M.-  $10^{-10}$  M. arasında ( $1.841 \times 10^{-2}$  -  $1.841 \times 10^{-5}$  Mg/ml ) histaminin o-phtalaldehyde ile verdiği kondansasyon ürünlerinin fluoresans şiddetlerinin okunması yoluna gidildi. Ekstraksiyon yapılmadan bu konsantrasyon aralığında bir ön çalışma yapıldı. Bu çalışmaya ait veriler Tablo 3-8 de ve bu verilere dayanılarak çizilen kalibrasyon eğrisi Şekil 3-8 de verilmiştir.



Şekil 3-8 Çeşitli konsantrasyonlarda ekstraksiyon yapılmadan okunan histamin- OPT kondansasyon ürünlerinin fluoresans şiddetlerinin kalibrasyon eğrisi

Konsantrasyon		15 dakika sonraki
M	Mg/ml	fluoresans şiddeti
$10^{-10}$	$1.841 \times 10^{-5}$	14.4
$10^{-9}$	$1.841 \times 10^{-4}$	21.9
$10^{-8}$	$1.841 \times 10^{-3}$	30.2
$10^{-7}$	$1.841 \times 10^{-2}$	39.2

Tablo 3-8 Çeşitli konsantrasyonlarda ekstraksiyon yapılmadan okunan histamin-OPT kondansasyon ürünlerinin fluoresans şiddetleri

Bu sonuçlardan, histamin tayininde geliştirilen yöntemin her iki konsantrasyon aralığında da (gerek derişik gerekse seyreltik) uygulanabileceği saptanmıştır.

### 3.7 Çinko-Histamin-Glutamik asit kompleksinin incelenmesi

Ön deneme olarak, çinko-histamin-glutamik asit kompleksinin hazırlanması yoluna gidilmiştir. Ön deneme için daha önce kullanılan maddelerden farklı olarak  $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$  (Riedel) ve glutamik asit (Merck) kullanılmıştır. Her birinden 0.04 M. ( $1.1495 \times 10^4$  Mg/ml  $ZnSO_4$ ,  $7.364 \times 10^3$  Mg/ml histamin,  $5.8852 \times 10^4$  Mg/ml glutamik asit) olacak şekilde stok çözeltiler hazırlandı ve deneme için kullanılacak çözeltiler bu çözeltilerden belli oranlarda alınarak hazırlandı.

Kompleks çözeltilinin hazırlanması iki farklı şekilde yapılmıştır.

a)- 1:1:1 oranında  $ZnSO_4$  - histamin - glutamik asit kullanıla-

rak içlerinde 2 mmol-10mmol arasında değişik konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı.

b)-  $ZnSO_4$  ve glutamik asit miktarı 10 mmolde sabit tutularak sadece histamin miktarı 0 -10 mmol arasındaki konsantrasyonlarda olacak şekilde çözeltiler hazırlandı.

Hazırlanan çözeltiler stok çözelti olarak kabul edildi ve 350 kat seyreltilerek daha önce belirtilen ekstraksiyon safhasından geçirildi. Çözeltilerde yüksüz histamin miktarını belirlemek için spektrofotometriden, yüksüz çinko miktarını belirlemek için atomik absorpsiyon spektrofotometresinden yararlanılmıştır.

### 3.7.1 Spektrofotometrik çalışma

A ve b paragraflarında belirtilen şekilde çözeltiler, hazırlanıp ekstraksiyon safhasından geçirilip fluorimetrik ölçüm safhasından sonra 15 dakika bekletilerek 360/440 nm de spektrofotometrede ölçüm yapılmıştır. Bu çalışmada elde edilen veriler Tablo 3.9, Tablo 3.10 ve bu verilere ait grafikler Şekil 3.9, Şekil 3.10 da verilmiştir.

a)	Konsantrasyon				15 dakika sonraki fluoresans şiddeti	
	$ZnSO_4$		Histamin			Glutamik asit
mmol-	Mg/ml	mmol-	Mg/ml	mmol	Mg/ml	
2	$5.7474 \times 10^2$	2	$3.682 \times 10^2$	2	$2.8626 \times 10^2$	9.7
4	$11.4948 \times 10^2$	4	$7.364 \times 10^2$	4	$5.7252 \times 10^2$	25.6
8	$22.9896 \times 10^2$	8	$14.728 \times 10^2$	8	$11.4504 \times 10^2$	73.8
10	$28.7370 \times 10^2$	10	$18.410 \times 10^2$	10	$14.4130 \times 10^2$	81.8

Tablo 3-9 a'ya göre hazırlanan çözeltilerin fluoresans şiddetleri

Konsantrasyon						15 dakika sonraki fluoresans şiddeti
ZnSO <sub>4</sub>		Histamin		Glutamik asit		
mmol	Mg/ml	mmol	Mg/ml	mmol	Mg/ml	
10	2.8737x10 <sup>3</sup>	0	0	10	1.4413x10 <sup>3</sup>	11.7
10	2.8737x10 <sup>3</sup>	2	3.682x10 <sup>2</sup>	10	1.4413x10 <sup>3</sup>	12.5
10	2.8737x10 <sup>3</sup>	4	7.364x10 <sup>2</sup>	10	1.4413x10 <sup>3</sup>	15.6
10	2.8737x10 <sup>3</sup>	6	11.046x10 <sup>2</sup>	10	1.4413x10 <sup>3</sup>	24.5
10	2.8737x10 <sup>3</sup>	8	14.728x10 <sup>2</sup>	10	1.4413x10 <sup>3</sup>	71.0
10	2.8737x10 <sup>3</sup>	10	18.410x10 <sup>2</sup>	10	1.4413x10 <sup>3</sup>	81.8

Tablo 3-10 b'ye göre hazırlanan çözeltilerin fluoresans şiddetleri

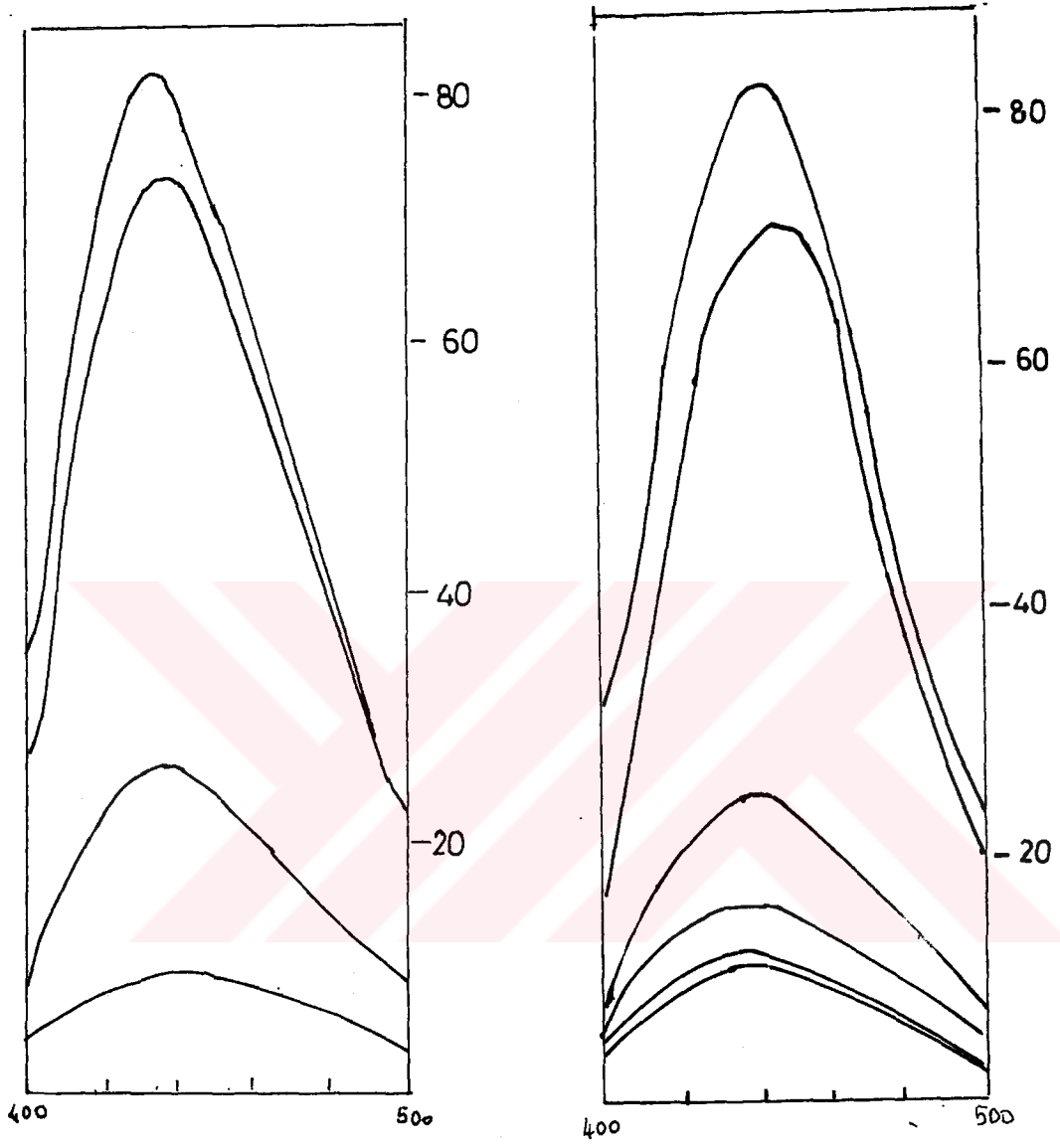
### 3.7.2 Atomik absorpsiyon spektrofotometrik çalışma

Ölçümler AA- 680 / 680G model atomik absorpsiyon spektrofotometresi kullanılmıştır.

#### Standardın hazırlanması

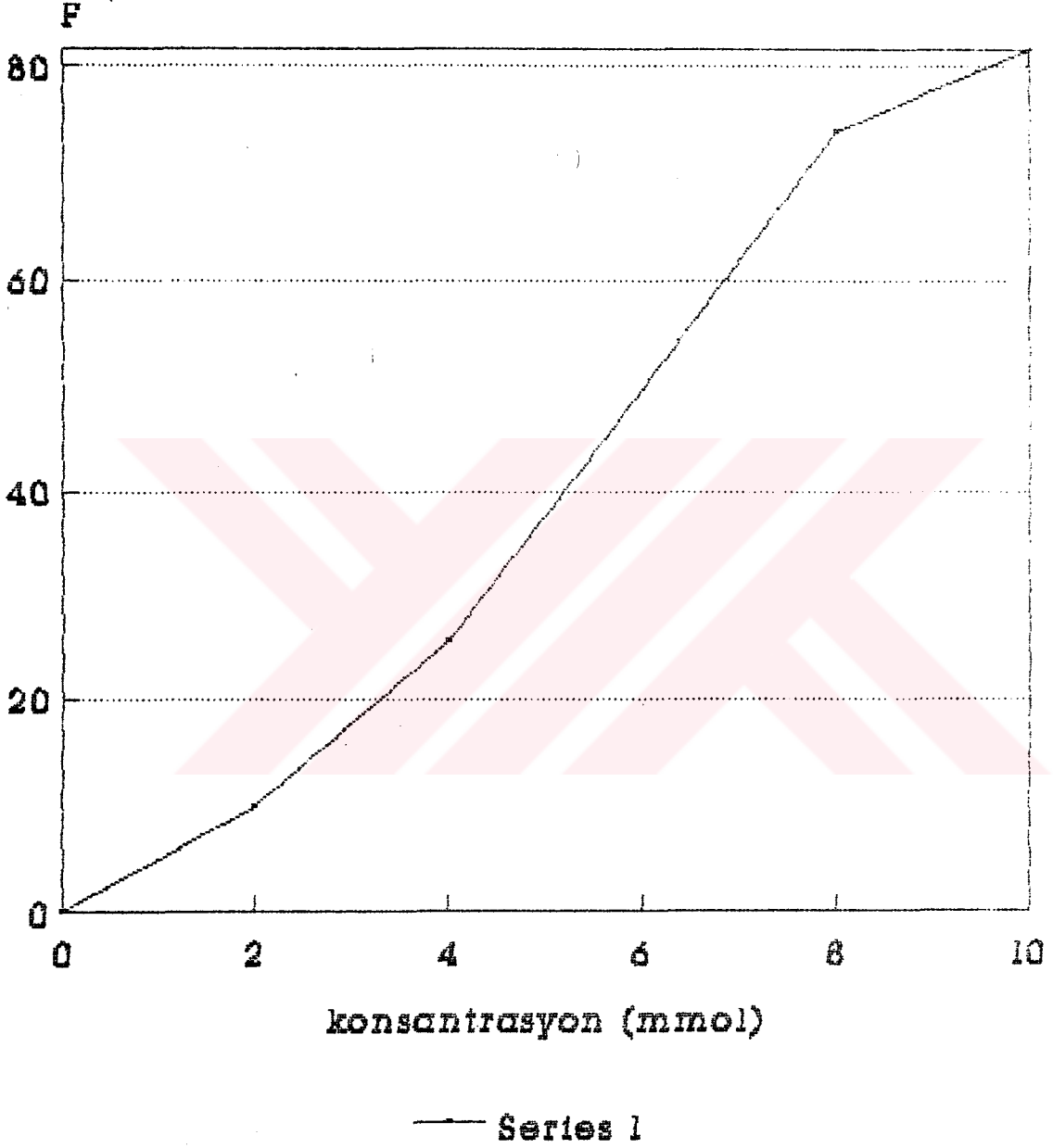
0.04 m. lık ZnSO<sub>4</sub> çözeltisinden farklı miktarlarda alınıp belli oranlarda (350 kat seyreltilmiştir ) 0.00545 ppb - 0.5745 ppb konsantrasyonları arasında standart çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerle elde edilen değerler Tablo 3-11 de ve bu değerlerde çizilen standart grafik Şekil 3-11 de verilmiştir.

Bu standart grafik yardımıyla  $5.747 \times 10^{-3}$  ppb ile  $2.899 \times 10^{-2}$  ppb konsantrasyon aralığında a ve b paragraflarında belirtilen şekilde hazırlanıp ekstraksiyon safhasından geçirilen çözeltilerde yüksüz Zn miktarı ölçülmüş ve alınan sonuçlar Tablo 3-12 de verilmiştir.



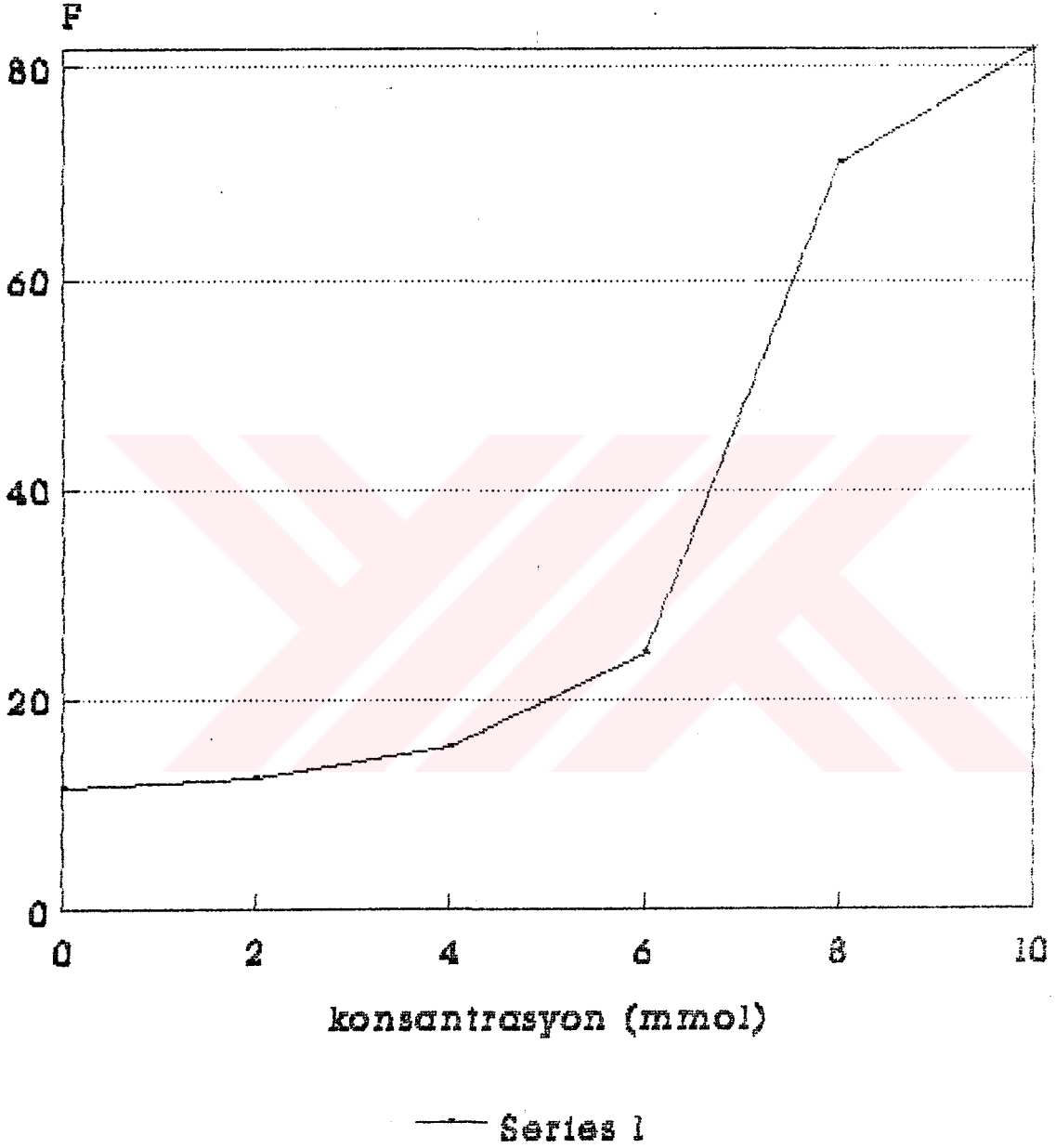
ZnSO<sub>4</sub>-Histamin-Glutamik asit kompleksinin zamana karşı spektrumları

# Zn+HIS+GLU.ASIT SPEKTROFLUOROMETRİK EGRISI



Şekil 3-9 a'ya göre hazırlanan çözeltilerde yüksüz histaminin OPT ile verdiği kondansasyon ürünlerinin spektrofloreometrik eğrisi

# Zn+HIS+GLU. ASIT SPEKTROFLUOROMETRİK EGRISI



Şekil 3-10 b'ye göre hazırlanan çözeltilerde yüksüz histaminin OPT ile verdiği kondansasyon ürünlerinin spektrofloretrik eğrisi

	Absorpsiyon	Konsantrasyon ppb
Kör	0.286	
Standart 1	0.605	0.006
Standart 2	0.896	0.012
Standart 3	0.966	0.017

Tablo 3-11 ZnSO<sub>4</sub> çözeltisiyle hazırlanan standartların atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile elde edilen absorpsiyon değerleri

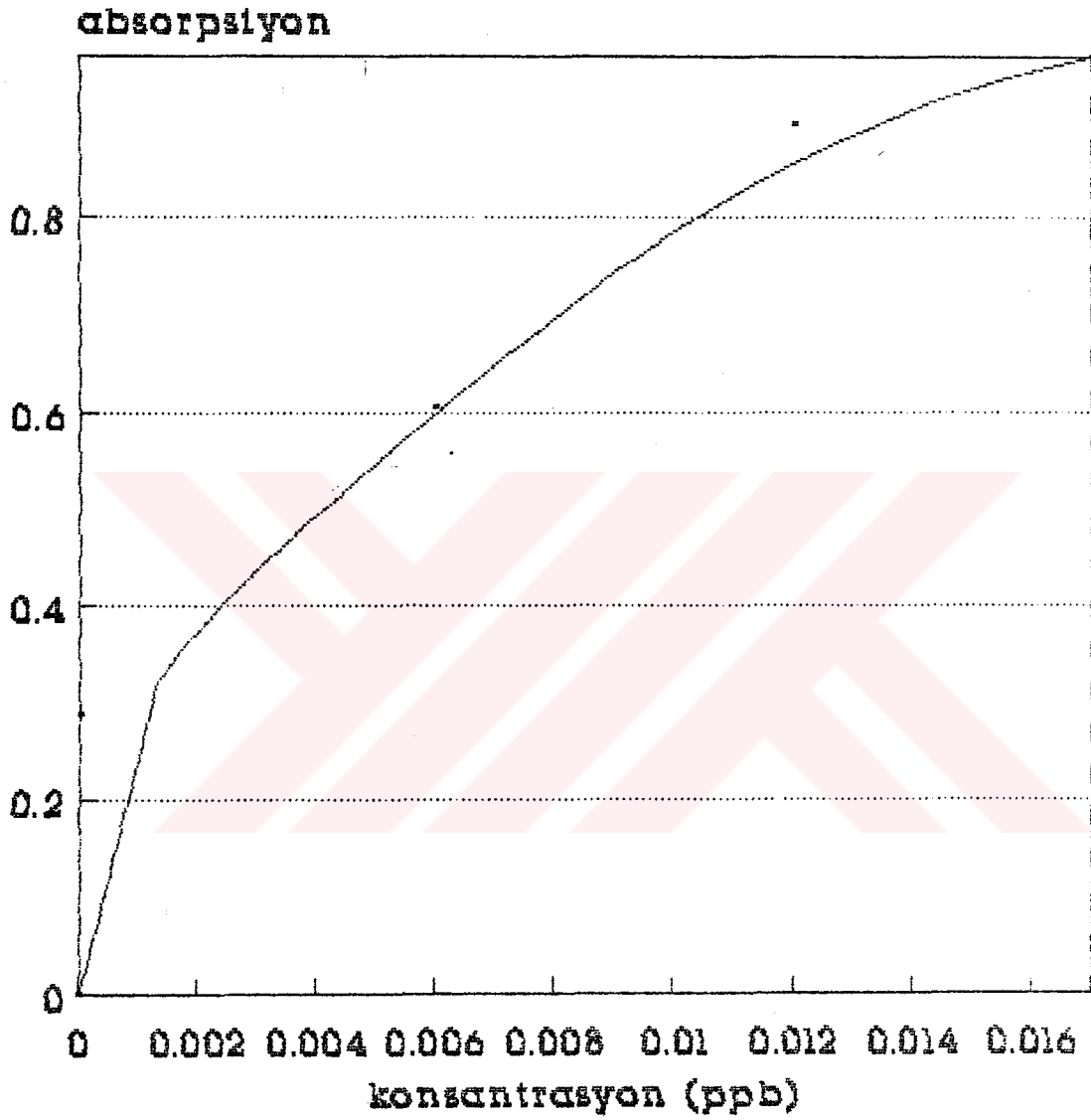
ZnSO <sub>4</sub>		Histamin		Glutamik asit		Absorpsiyon	Konsantrasyon ppb
mmol	Mg/ml	mmol	Mg/ml	mmol	Mg/ml		
2	5.747x10 <sup>2</sup>	2	3.682x10 <sup>2</sup>	2	2.863x10 <sup>2</sup>	0.719	0.08
4	1.150x10 <sup>3</sup>	4	7.364x10 <sup>2</sup>	4	5.725x10 <sup>2</sup>	0.582	0.05
6	1.724x10 <sup>3</sup>	6	1.105x10 <sup>3</sup>	6	8.588x10 <sup>2</sup>	0.580	0.011
8	2.299x10 <sup>3</sup>	8	1.473x10 <sup>3</sup>	8	1.145x10 <sup>3</sup>	0.646	0.006
10	2.874x10 <sup>3</sup>	10	1.841x10 <sup>3</sup>	10	1.441x10 <sup>3</sup>	0.662	0.006
10	2.874x10 <sup>3</sup>	0	0	10	1.441x10 <sup>3</sup>	0.811	0.01
10	2.874x10 <sup>3</sup>	2	3.682x10 <sup>2</sup>	10	1.441x10 <sup>3</sup>	0.382	0.001
10	2.874x10 <sup>3</sup>	4	7.364x10 <sup>2</sup>	10	1.441x10 <sup>3</sup>	0.724	0.008
10	2.874x10 <sup>3</sup>	6	1.105x10 <sup>3</sup>	10	1.441x10 <sup>3</sup>	0.700	0.007
10	2.874x10 <sup>3</sup>	8	1.473x10 <sup>3</sup>	10	1.441x10 <sup>3</sup>	0.543	0.004
10	2.874x10 <sup>3</sup>	10	1.841x10 <sup>3</sup>	10	1.441x10 <sup>3</sup>	0.662	0.006

Tablo 3-12 a ve b 'ye göre hazırlanan çözeltilerinin atomik absorpsiyon spektrofotometresinde ölçülen absorpsiyon ve konsantrasyonlar

Bu verilerle elde edilen toplam sonuçlar Tablo 3-13 de verilmiştir.



# ATOMİK ABSORPSİYON STANDART EGRISI



— Series 1

Absorpsiyon	Konsantrasyon ppb	Kütle g	Seyrelme	Hacim ml	Aktüel konsantrasyon %	Mg/g
A	0.7193	0.0006	100	50	6.8854	$6.8854 \times 10^4$
B	0.5820	0.0115	100	50	0.2208	$2.2088 \times 10^3$
C	0.5806	0.0012	100	50	2.1055	$2.1055 \times 10^4$
D	0.6466	0.0023	100	50	1.4092	$1.4092 \times 10^4$
E	0.6622	0.0029	100	50	1.1806	$1.1806 \times 10^4$
-----						
E <sub>1</sub>	0.8118	0.0029	100	50	1.8672	$1.8672 \times 10^4$
E <sub>2</sub>	0.3826	0.0029	100	50	0.3119	$3.1190 \times 10^3$
E <sub>3</sub>	0.7248	0.0029	100	50	1.4488	$1.4488 \times 10^4$
E <sub>4</sub>	0.7005	0.0029	100	50	1.3416	$1.3416 \times 10^4$
E <sub>5</sub>	0.5439	0.0029	100	50	0.7469	$7.4691 \times 10^3$

Tablo 3-12 Atomik absorpsiyon spektrofotometresinde Zn-Histamin-Glutamik osit kompleksi ile elde edilen toplam sonuçlar

## TARTIŞMA

Daha 1959'larda ilk olarak ortaya atılan (217), 1970'lerde geliştirildiği belirlenen spektrofotometrik histamin (218) tayin yönteminin birçok laboratuvar tarafından uygulanmasına rağmen temelde kondansasyon kinetikleri ve bazı saklanma sorunları olduğu görülmüş ve bu işlemlerin bu tez bünyesinde nasıl stabilize edileceği üzerine çalışılmıştır. Bunun sonucunda, çalışma pH' ları ve ortam stabilizasyonları analitik bilgilerle düzene sokulmuş ve gerekli hesaplamalarla şartlar düzenlenmiştir. Ancak; teknik sorunların üstesinden gelinip kondansasyonun da stabilizasyon ortamı sorunu çözülmesine ve bazı yazarların izlediği kinetik gelişmelerin (211) ve stabilite sorunlarının (215,216) üstesinden gelinmesine rağmen in-vitro çalışmalara uygun olan geliştirdiğimiz tayin yöntemi daha in-vivodaki düzeylere indirilememiştir. Bu arada ikinci işlem parametresi üzerinde yapılan atomik absorpsiyon ön çalışmalarında bu parametrenin elde edilen nitel neticelerden, nicel sonuçlar vermek üzere kompleks çalışmalarında, farmakolojik etki incelemelerinde bir modelleme için gerekli COMICS bilgisayar programı anabilim dalımızca temin edilmiştir.

## ÖZET

Bu tez bünyesinde, histaminin spektrofotometrik miktar tayini ve çinko histamin komplekslerinin izolasyonu incelenmiştir.

İlk olarak çalışma koşulları ayarlanmıştır. Bu amaçla histaminin o-phthalaldehide ile kondansasyonu için gerekli kuvvetli alkali ortamın sağlanması için gerekli NaOH miktarı, reaksiyonun durdurulması için gerekli asidik ortamın ayarlanması için gerekli  $H_3PO_4$  miktarı belirlenmiştir. Oluşan kondansasyon ürününün stabil kalmasını sağladıktan sonra  $10^{-5}$   $10^{-7}$  M. konsantrasyon aralıklarında, belirtilen yöntem uygulanarak miktarları yapılmıştır.

Uygun koşullar sağlandıktan sonra histamin çözeltilerinin ekstraksiyonu yapılarak ve yapılmadan o-phthalaldehide ile oluşan kondansasyon ürünlerinin spektrofotometrede 360/440 nm de floresans şiddetleri ölçülmüştür.

Tüm bunlara ilaveten bir ön deneme niteliğinde çinko-histamin-glutamik asit kompleksi oluşturulup ekstraksiyon yapılmış ve spektrofotometrede ve atomik absorpsiyon spektrofotometresinde ölçüm yapılmıştır.

### SUMMARY

In this work, spectral determination of histamine and isolation of some Zn-histamine complexes are studied.

At first, the working conditions are assayed. For this purpose, the quantity of NaOH which is need for the strong alkali pH for the condensation of histamine with o-phytalaldehyde, and the quantity of  $H_3PO_4$  that is needed for regulating to asidic pH which is used for the stability of the procedure which is form after stopping the reaction, is determined.

Afterwards, between  $10^{-5}$  to  $10^{-7}$  M. concentration interval, the histamine determinations are realized using the asseyed method. By extracting and without extracting of the histamine solutions, fluorimetric measure of the procedure which is formed after condensation with o-phytalaldehyde is made at 360/440 nm. in the spectrofluorimetry.

In addition to these zinc-histamine-glutamic acid complexes are formed, extracted and measured by spectrafluorimetrically and atomic absorpsion spectrophotometrically as a pre-studied.

REFERANSLAR

- 1-WINDAUS,A.; VOGT,W., Ber. Deütsch. Ges.,(1907) ,40,3691.
- 2-BARGER,G.; DALE,H.H.,J.Physiol.(Lond.), (1910)38,40.
- 3-ACKERMANN,D.; Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.,(1910),38,40.
- 4-DALE,H. H.,Lancet, (1929),1179,1233,1285.
- 5-THORPE,W. V., Biochem. J., (1928 ) ,22,94.
- 6-DALE,H. H.; LAIDLAW,P.P., J.Physiol.(Lond.), (1910),41,38.
- 7-BEST,C.H.;DALE,H.H.;DUDLEY,H.W.;THORPE,W.V., J.Physiol.(Lond.); (1927)  
62,397.
- 8-BARGER,G.; DALE.H.H.,J.Physiol. (1911),41,499.
- 9-MELLANBY,E.; TWORT,F.W., J.Physiol.(Lond.), (1912),45,53.
- 10-ABEL,J.J.;KUBOTA,S., J.Pharmacol.exp. Ther., (1919),13,243.
- 11-ACKERMANN,D.; MOHR,M., Hoppe-Seyers Z.Physiol. Chem.(1938),75,255.
- 12-DURANT,G.J.; GANELLIN,C.R.; PARSONS,M.E., J.Med.Chem., (1975),18,905.
- 13-IUPAC-IUB "Comission on Biochemical Nonenclatura",Biochem., (1972)11,1726
- 14-RICHARDS,W.G.;WALLIS,J.; GANELLIN,C.R., Eur.J.Med.Chem., (1979),14,1,9
- 15-MULTQUIST,D.E.; MOYER,R.W.; BOYER,P.D., Biochem., (1966),5,322.
- 16-GANELLIN,C.R.,J.Pharm. Pharmacol., (1973),25,787.
- 17-GANELLIN,C.R., dans "Molecular and Quantum Pharmacology",Reidel,Dordrecht  
Holland, (1974),43,
- 18-REYNOLDS,W.F.; PEAT,I.R.;FREADMAN,M.H.; LYERLA,J.R., J.Amer. Chem. Soc.  
(1973),95,328.
- 19-REYNOLDS,W.F.; TRENZ,C.W., Can. j. Biochem., (1977),55/5,576.
- 20-PROUT,K.;CHITCHLEY,S.R.; GANELLIN,C.R., Acta Crystallogr. Sec.B, (1974)  
30,2884.
- 21-BONNET,J.J.;IBERS,J.A., J.Amer.Chem.Soc., (1973),95,4829.
- 22-KANG,S.; CHOU,D., Chem. Phys. Lett., (1975),34,537.
- 23-BYNR,s.R.; GRABER,C.W.; MIDLAND,S.L., J. Org. Chem., (1976),41/13,2283
- 24-HAM,N.S.; CASY,A.F.; ISON,K.R., J. Med. Chem., (1973), 16,470.
- 25-GANELLIN,C.R.; PEPPER,E.S.; PORT,G.N.J.; RICHARDS,W.G.,J.Med.Chem.(1973)  
16,610.

- 26-RICHARDS,W.G., dans "Water;Compr.Treatise", Plenum,New York,N.Y.(1979)  
6, 123.
- 27-LOONEN,A.J.M.; SONDIJN,W., Pharma. Weekbl., (1977), 122/39, 997.
- 28-RICHARDS,W.G.; WALLIS,J., J .Med. Chem., (1976), 19/10,1250.
- 29-RICHARDS,W.G.; WALLIS,J,, J. Proc. Soc. Lond.,B,(1977), 199, 291.
- 30-LEWIS,B.; VON GEBAUER-FUELNEGG,E.; FARMER,J.C., Amer. Chem. Soc. (1933)  
55,2025.
- 31-HATEM,S., Compt. Rend., (1956), 243,801.
- 32-JONES,R.G., dans "Hand. of Exp. Pharm. 18/1 Springer,Berlin, (1966), 1.
- 33-SCHAYER,R.W., dans "Hand of Exp. Pharm. 18/1 Springer,Berlin,(1966),688.
- 34-HAAKSMA,E.E.J.; LEURS,R.; TIMMERMAN,H., Pharmac.Ther., (1990), 47, 73.
- 35-SCHAYER,R.W., dans"Hand of Exp.Pharm. 18/2" Springer,Berlin,(1978), 109.
- 36-HAKANSON,R., Eur. J. Pharmacol., (1967), 1,34.
- 37-HAKANSON,R., Eur.J. Pharmacol., (1967), 1, 42.
- 38-AURES,D.; HAKANSON,R., dans "Methods in Enzymology 17/B "Academic Press,  
New York, (1971), 663.
- 39-HAMMAR,L., PAHLMAN,S.; HJERTEN,S., Biochim. Biophys. Acta., (1975), 403,  
554.
- 40-HAKANSON,R., Acta Physiol. Scand., (1970), Suppl., 340, 7.
- 41-GARBARG,M.; HALPERN,B., Life Sci., (1971),10/2, 1211.
- 42-GARBARG,M.; HALPERN,B., Life Sci., (1971), 10/2,1219.
- 43-DRY,J.; LEYNADIER,F.;PRALADIER,A.; HERMAN,D., Therapeutique, (1977),  
53/2, 77.
- 44-SCHAYER,R.W., Brit. J. Pharmacol., (1956), 11, 472.
- 45-SCHAYER,R.W., Physiol. Rev., (1959), 39, 116.
- 46-MONDOVI,B.; GUERRIERRI,P.; WOLF,A.M.; BALLINI,A.; GEROSA,P., Agents  
Actions, (1979)9,40.
- 47-STONER,P.; Agents Actions, (1985), 17, 5
- 48-WISESURIYA,D.; RECHNITZ,G.A., Analytica Chim. Acta, (1991), 243, 1
- 49-WETTERQVIST, dans "Hand of Exp. Pharm. 18/1", Springer Berlin, (1966),  
660.

- 50-PARROT, J.L.; MORDELET-DAMBRINE, M, dans "Hand of Exp. Pharm. 18/1 " Springer, Berlin, (1966), 660.
- 51-BEAVEN, M.A., "Monographs in Allergy 13 " S.Karger, Basel, (1978).
- 52-SCHAYER, R.W., dans "Hand of Exp. Pharm. 18/1 " Springer, Berlin, (1966), 672.
- 53-REILLY, M.A.; SCHAYER, R.W., Br. J. Pharmacol., (1970), 38, 478.
- 54-SCHAYER, R.W.; REILLY, M.A., Agents Actions, (1975), 5/2, 119.
- 55-SCHAYER, R.W.; COOPER, J.A.D., J. Appl. Physiol., (1956), 9, 481.
- 56-SCHAYER, R.W.; KARJALA, S.A., J. Biol. Chem, (1956), 221, 307.
- 57-HOUGH, L.B., Prog. Neurobiol. (Oxford), (1988), 30, 469.
- 58-BROWN, D.D.; THOMCHICK, R.; AXELROR, J., J. Biol. Chem., (1959), 234, 2948.
- 59-LINDALL, K.M., Acta Physiol. Scand, (1960), 49, 114.
- 60-WESTLING, H., Scand. J. Clin. Lab. Invest., (1969), 23, 1.
- 61-NAKAJIMA, T.; SANO, J, Biochim. Biophys. Acta, (1964), 82, 260.
- 62-BERGMARK, T.; GRANERUS, G., Scand. J. Clin. Lab. Invest., (1974), 34, 365.
- 63-RILEY, J. R., "The Mast Cells", Livingstone, Edinburg, (1959).
- 64-UVNAS, B. "Proc. of Ninth Eur. Cong. of Allerg. and Clin. Immunol.", Pitman Med. Publ., (1975), 63.
- 65-UVNAS, B., dans "Hand of Exp. Pharm. 18/2 ", Berlin, (1978), 75.
- 66-BERQVIST, U; SAMUELSON, G.; UVNAS, B, Acta Physiol. Scand., (1971), 83, 362.
- 67-UVNAS, B.; ABORG, C.H.; BERGENDORFF, A., Acta Physiol. Scand., (1970), Suppl. 336.
- 68-GREEN, J.P., Fed. Proc., (1967), 26, 211.
- 69-UVNAS, B; ABORG, C.H.; BERQVIST, U., Acta Pyhsiol. Scand., (1975), 93, 401.
- 70-BERGENDORFF, A.; UVNAS, B., Acta Physiol. Scand., (1972), 84, 320.
- 71-LAGUNOFF, D., Biochem. Pharmacol., (1972), 21, 1889.
- 72-CODE, C.F., Physiol. Rev., (1952), 32, 47.
- 73-GRAHAM, H.T.; LOWRY, O.H.; WHEELWRIGHT, F.; LENZ, M.A.; PARISH, H.H., Blood, (1955), 10, 467.



- 74-PARWARESCH, M.R., "The Human Blood Basophil", Springer, Berlin, (1976).
- 75-EHRICH, W.E., Science, (1953), 118, 603.
- 76-SAMPSON, P.; ARCHER, G.T., Blood, (1967), 29, 722.
- 77-LEWIS, G.P.; WHITTE, B.J.R., Br.J.Pharmac., (1977), 61, 229.
- 78-UVNAS, B., dans "Heparin; Struct.Cell.Func.and Clin.Appl?", Academic Press, New York, (1979), 243.
- 79-GUTH, P.H.; CODE, C.F., Gastroenterology, (1978), 74, 662.
- 80-LECOMTE, J.; Louvain Med., (1978), 97/3, 87.
- 81-KAHLSON, G.; ROSENGREN, E., Physiol.Rev., (1968), 48, 155.
- 82-KIRSHNER, N.; VIVEROS, O.H., Pharmacol. Rev., (1972), 24, 385.
- 83-FODEMAN J.C.; GARLAND, L.G.; MONGAR, J.L., Symp.Soc?Exp.Biol., (1976), 30, 193.
- 84-DOENICKE, A.; LORENZ, W., Ann.Anesth.Franc., (1976), 2, 219.
- 85-DOENICKE, A.; LORENZ, W., Ann.Franc., (1977), 7/8, 691.
- 86-LICHTENSTEIN, L.M., dans "Mol.and Biol.Asp.of the Ac.Allergic Reac. " Pleum Publishing, New York, (1976), 223.
- 87-AUSTEN, K.F.; WASSERMAN, S.I.; GOEIZL, E.J., dans "Mol.and Biol.Asp.of the Ac.Allergic Reac.", Pleum Publishing, New York, (1976), 293.
- 88-SOTER, N.A.; AUSTEN, K.F., J.Invest.Derm., (1976), 67, 313.
- 89-LICHTENSTEIN, L.M.; Chest, (1978), Suppl. 73/6, 919.
- 90-NEWBALL, H.H.; TALAMO, R.C.; LICHTENSTEIN, L.M., J.Allergy Clin. Immun., (1975), 55, 72.
- 91-NEWBALL, H.H.; TALAMO, R.C.; LICHTENSTEIN, L.M., Nature, Lond., (1975), 245.
- 92-KAZIMIERCZAK, W; DIAMANT, B. "dans Prog.Allergy 24" Karger, Basel, (1978), 295.
- 93-DAERON, M.; DUC, H.T.; KANELLOPOULOS, J.; LE BOUTEILLER, P.; KINSKY, R.; VOISIN, G.A., Coll. Immun., (1975), 20, 133.
- 94-ADAMCZYK, E.P.; GIETZEN, K., Cell Calcium, (1989), 10, 93.
- 95-READ, G.W.; LENNEY, J.F., J.Med.Chem., (1972), 15, 320.
- 96-BALTZLY, R.; BUCKS, J.S.; BEER, E.J.; WEEB, F.J., J:Amer.Chem.Soc., (1949), 71, 1301.

- 97-CHAKRAVARTY,N.; WEI-JUN,Y., *Agent Actions*, (1986), 18, 57.
- 98-OHUCHI,K; HIRASAWA,N.; WATANBE,M.; TSURUFUJI,S., *Eur.J.Pharmacol.*, (1985) 117, 337.
- 99-KAWABE,H.; HAYASHI,H.; HAYAISHI,O., *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, (1987), 18, 467.
- 100-LEWIS,R.A.; GOETZL,E.J.; WASSERMAN,S.I.; VALONE,F.H.; RUBIN,R.H.; AUSTEN,K.F., *J.Immun.*, (1975), 114, 87.
- 101-LICHTENSTEIN,L.M., *J.Immun.*, (1975), 1692.
- 102-CHANEY,M.O.; DEMARCO,P.V.; JONES,N.D.; OCCOLOWITZ,J.L., *J.Amer.Chem.Soc.*, (1974), 96, 1932.
- 103-ORANGE,R.P.; STECHSCHULTE,D.J.; AUSTEN,K.F., *Fed. Proc.*, (1969), 28, 1710.
- 104-ORANGE,R.P.; MURPHY,R.C.; AUSTEN,K.F., *J. Immun.*, (1974), 113, 316.
- 105-WASSERMAN,S.I.; GOETZL,E.J.; AUSTEN,K.F., *J.Exp.Med.*, (1974), 140, 113.
- 106-LEWIS,R.A.; WASSERMAN,S.I.; GOETZL,E.J.; AUSTEN,K.F., *J.Exp.Med.*, (1974), 140, 1113.
- 107-WASSERMAN,S.I.; GOETZL,E.J.; AUSTEN,K.F., *J. Immun.*, (1974), 112, 351
- 108-GOETZL,E.J.; AUSTEN,K.F., *Proc.Natl. Acad. Sci. USA*
- 109-ZEIGER,R.S.; YURDIN,D.L.; COLTEN,H.R., *J. Allergy Clin. Immunol.*, (1976), 58, 172.
- 110-ZEIGER,R.S.; COLTEN,H.R., *J. Immun.*, (1979), 118, 540.
- 111-NEWBALL,H.H.; LICHTENSTEIN,L.M.; TALAMO,R.C., *Fed. Proc.*, (1975), 34, 1045.
- 112-BENVENISTE,J., *Nature*, (1974), 249, 581.
- 113-WASSERMAN,S.I., *Scand. J. Resp. Dis.Suppl.*, (1977), 98, 28.
- 114-FOREMAN,J.L.; MONGAR, J.L.; HALLETT,M.B., *Agents Actions*, (1977), 271, 193.
- 115-MONGAR,J.L.; FOREMAN,J.C.; HALLETT,M.B., *Agents Actions*, (1978), 8/4, 400
- 116-UEDO,S.; YASUNOBU,O., *Biochim. Biophys. Acta*, (1989), 1012, 254.

- 117-JVNAS,B.; ABORG,C.H., *Acta Physiol. Scand.*, (1977), 100, 309.
- 118-FOREMAN,J.C., *J. Physiol.*, (1977), 271, 215.
- 119-THOMPSON,H.L.; LEOUTSAKOS,A.; PEARCE,F.L., *Agents Actions*, (1987), 20,  
.169.
- 120-KELLER,R.; SORKIN,E., *Experientia*, (1970), 26/1, 30.
- 121-KAZIMIERCZAK,W.; ADAMAS,B.; MALINSKI,C., *Biochem.Pharm.*, (1978),27,243.
- 122-OGLE,C.W.; CHO;C.H., *Pharm. Res. Comm.*, (1977), 9/8, 679.
- 123-KAZIMIERCZAK,W.; MASLINSKI,C., *Agent Actions*, (1974), 4/5, 320.
- 124-AVIGAD,L.S.; BERNHEIMER,A.W., *Infect. and Immunity*, (1976), 13/5, 1378
- 125-WALKER,B.M.; REEVES,R.; KAY,D.J., *Search*, (1975), 6,4,134.
- 126-ALTURA,B.M.; HALEVYS,S., dans "*Hand of Exp. Pharma.*", 18/2, Springer,  
Berlin, (1978), 1.
- 127-OOSTING,E.; KEYZER,J.J.; WOLTHERS,B.G., *Agents Actions*, (1989), 27,  
205.
- 128-WILLOUGHBY,D.A.; ROSA,M., dans "*Immunopathology of Inflammation*" ,  
*Excerpta Medica*, Amsterdam, (1971), 28.
- 129-ROSA,M.; GIROUD,J.M.; WILLOUGHBY,D.A., *J. Path.*,(1971), 104, 15.
- 130-VINEGAR,; TRUAUX,J.R.; SELPH,J.L., *Fed. Proc. Fed. Am. Socs.Exp.Biol.*,  
(1976), 35, 2447.
- 131-HORAKOVA,Z.; BEAVEN,M.A., *Eur. J. Pharmacol*, (1974), 27, 305.
- 132-COURTOIS,P., *Communication Personnelle*.
- 133-ISHIZAKA,K.; ISHIZAKA,K., *Clin.Exp.Immunol.*, (1970), 6, 31.
- 134-ISHIZAKA,T.; ISHIZAKA,K., *Scand. J. Resp. Dis. Suppl.*, (1977), 98, 13.
- 135-BEVENISTE,J.; HENSON,P.; COCHRANE,C., *J.Exp. Med.*, (1972),136, 1356.
- 136-GRILLIAT,J.P., *Sem. Hop.Paris*, (1979), 55, 13/14,658.
- 137-DOERGE,R.F., *Text Org. Med. Pharm. Chem.*, (1977), 648.
- 138-BERTHON,G.; VARSAMIDS,A.; BLAQUIERE,C.; RIGAL,D., *Agents Aëtions*, (1989),  
22, 3/4, 231.
- 139-JOAD,J.; CASALE,T.B., *Ann. Allergy.*, (1988), 61, 1.
- 140-STONER,B., *Agents Actions*, (1985), 17, 5.
- 141-PIPER,P.J., *Scand. Resp. Dis. Suppl.*, (1977), 98, 40.

- 142-BROWN, R.; INGRAM, R.H. Jr.; WELMAN, J.J.; Mc FADDEN, E.R. Jr., *Applied Physiol.* (1977), 42/2, 221.
- 143-ZWEIFACH, B.W., dans "Microcirculation I.", University Park Press, Baltimore (1977), 1.
- 144-MARCKMANN, A.; ZACHARIAE, H., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* (1964), 117, 705.
- 145-HAKANSON, R.; OWMAN, C.; SJÖBERG, N.O.; SPORRONG, B., *Experientia* (1969), 25, 854.
- 146-COHEN, I.K.; BEAVEN, M.A.; HORAKOVA, Z.; KEISER, H.R.; *Surg. Forum* (1972), 23, 509.
- 147-VAISFEL'D, I.L., *Zh. Uses. Khim. O-va* (1976), 21/2, 204.
- 148-ISHIKAWA, S.; SPERELAKIS, N.; *Nature* (London), (1987), (3276118), 158-60.
- 149-SYVYDER, S.H., *Excerpta Med. Int. Congr. Ser.* (1975), 359, 569.
- 150-ARRANG, J.M.; GARBARG, M.; LANCELOT, J.C.; et. all., *Int. Arch. Allerg. Appl. Immunol.*, (1988), (88, 1-2), 79-81.
- 151-GREEN, J.P., JOHNSON, C.L.; WEINSTEIN, H., "Psychopharmacology: A generation at progress", Raven Press, New York (1978).
- 152-DISMUKES, K.; SNYER, S.H., *Brain Res.* (1974), 78, 467.
- 153-POLLARD, H.; BISCHOFF, S.; SCHWARTZ, J.C., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (1974), 190, 88.
- 154-HAAS, H.L.; WOLF, P., "Ion and Trans. Mec. in the Mamm. Centr. nerv. Syst." Elsevier, North Holland Biomedical Press (1978).
- 155-DENIS, D.J., dans "Clin. dermatology I" Harper and Row, New York (1972), 1.
- 156-BERG, B.; GRANERUS, G.; WESTLING, H.; WHITE, T., *Scand. J. Haemat.* (1971), 8, 63.
- 157-WESTIN, J.; GRANERUS, G.; WEINFELD, ; WETTERQVIST, H., *Scand., J. Haemat.* (1975), 15, 45.
- 158-DENIS, D. J.; WALTON, M.D.; HIGDON, R. S., *Arch. Derm.* (1961), 83, 127.
- 159-HORAKOVA, Z.; KEISER, H.R.; BEAVEN, M.A., *Clin. Chim. Acta.* (1977), 79, 447.
- 160-RILEY, J.R.; WEST, G.B., "Hand of Exp. Pharm. 18/1". Springer, Berlin, (1966), 116.
- 161-HALPERN, B.N., *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* (1942), 68, 339.
- 162-KAPLAN, A.P.; BEAVEN, M.A., *J. Invest. Derm.* (1976), 67, 327.

- 163-LEWIS, T.; HARMER, I.M., *Heart* (1927), 14, 19.
- 164-GREAVES, M.W.; SONDERGAARD, J., *Arch. Derm.* (1970), 101, 418.
- 165-BENTLEY, P.C.; BLACK, A.K.; GREAVES, M.W., *lancet* (1976), 11, 63.
- 166-GREAVES, M.W.; MARKS, R.; ROBERTSON, I., *Br. J. Dermatol.* (1977), 97/2, 225.
- 167-KAPLAN, A.P.; GRAY, L.; SHAFF, R.E.; HORAKOVA, Z.; BEAVEN, M.A., *J. Allergy Clin. Immunol.* (1979), 55, 394.
- 168-METZGER, W.J.; KAPLAN, A.P.; BEAVEN, M.A.; IRONS, J.; PATTERSON, R., *J. Allergy Clin. Immunol.* (1976), 57, 605.
- 169-TEPPERMAN, B.L.; JACOBSON, E.D.; ROSENFELD, G.C. *Life Sciences* (1979), 24, 2301.
- 170-CODE, C.F., *Fed. Proc.* (1965), 24, 1311.
- 171-KAHLSON, G.; ROSENGREN, E.; SVAHN, D.; THUNBERG, R. *J. Physiol. (lond.)*, 1964, 174, 400.
- 172-KAHLSON, G.; ROSENGREN, E.; THUNBERG, R., *J. Physiol. (lond.)* (1967), 190, 455.
- 173-JOHNSON, L.R.; AURES, D., *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)* (1970), 134, 880.
- 174-JOHNSON, L.R.; GROSSMAN, M.I., *Gastroenterology* (1971), 60, 120.
- 175-LIMLOMWONGSE, L.; THITHAPANDNA, A.; SOBHON P., *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)* (1973), 142, 1281.
- 176-JOHNSON, L.R., dans "Hand of Exp. Pharm. 18/2", Springer, Berlin (1978), 41.
- 177-GROSSMAN, M.I.; KONTUREK, S.J., *Gastroenterology* (1974), 66, 517.
- 178-GUPTA, P.S.; SHARMA, N.G.K.; GHOSH, S.K., *J. Assoc. Phys. India* (1973), 21, 1069.
- 179-JAGASIA, R.S.; PIMPARKAR, B.D., *Am. J. Gastroenterol.* (1976), 66/1, 49.
- 180-RÄSÄNEN, T.; SCHWARTZ, J.C., dans "Peptic Ulcer", Munksgaard, Copenhagen (1971), 190.
- 181-CHO, C.H.; OGLE, C.W.; DAI, S., *IRCS Med. Sci.* (1976), 4, 469.
- 182-CHO, C.H.; OGLE, C.W.; DAI, S., *Eur. J. Pharmac.* (1976), 38, 337.
- 183-GRACHEVA, Z.A.; ELISTRATOVA, N.A.; SOKOLOVA, I.I., *Lab. Delo* (1977), 3, 50.
- 184-VAN DER WERF, J.F.; TIMMERMAN, H.; *Trends. Pharmacol. Sci.*, (1989), (10-4), 159-62.
- 185-LOEW, E.R., *Physiol. Rev.* (1947), 27, 542.

- 186-BOVET, D., H., STAUB, A.M., *Compt. Rend. Soc. Biol.* (1937), 124, 547.
- 187-HALPERN, B.N., *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* (1942), 68, 339.
- 188-BOVET, D.; HORCLOIS, R.; WALTHER, T.F., *C.R. Séanc. Soc. Biol.* (1944), 138, 99.
- 189-ASH, A.S.F.; SCHILD, H.O., *Br. J. Pharmacol. Chermother.* (1966), 27, 427.
- 190-LEE, R.M.; McDOWALL, R.D., *J. Clin. Hosp. Pharm.*, (1986)-(11)-6 389-408.
- 191-BLACK, J.W.; DUNCAN, W.A.M.; DURANT, C.J.; GANELLIN, C.R.; PARSONS, M.E.,  
*Nature* (1972), 236, 385.
- 192-BLACK, J.W.; DUNCAN, W.A.M.; EMMETT, J.C.; GANELLIN, C.R.; HESSELBO, T.;  
PARSONS, M.E.; WYLLIE, J.H., *Agents and Actions* (1973), 3, 133.
- 193-BRIMLECOMBE, R.W.; DUNCAN, W.A.M.; DURANT, G.J.; EMMETT, J.C.; GANELLIN,  
C.R.; PARSONS, M.E., *J. Int. Med. Res.* (1975), 3, 86.
- 194-WOODS, C.J.; SIMKINS, M.A., dans "Int. Symp. on Histamine H<sub>2</sub>-Receptor  
Antagonists". *Int. Symp.* (1973).
- 195-BURLAND, W.L.; SIMKINS, M.A., "Cimetidine: Prsc. 2nd. Int. Symp, on Histamine  
H<sub>2</sub>-Receptor Antagonists", *Excerpta Medica, Amsterdam*, (1977).
- 196-ARRANGE, J.M.; SCHWARTZ, J.C.; SCHUNACK, W., *Eur. J. Pharmacol.*, (1985),  
(117, 1), 109-14.
- 197-ADAM, H.M.; HARDWICK, D.C.; SPENCER, K.E.V., *Brit. J. Pharmacol.* (1957),  
12, 397.
- 198-GRAHAM, H.; SCARPELLINI, J.A.D.; HUBKA, B.P.; LOWRY, O.H., *Biochem. Pharmacol.*  
(1968), 17, 2271.
- 199-LORENZ, W.; BENESCH, L.; BARTH, H.; MATEJKA, E.; MEYER, R.; KUSCHE, J.; HUTZEL,  
M.; WERLE, E., *Z. Anal. Chem.* (1970), 252, 94.
- 200-MILLER, R.L.; McCORD, C.; SANDRA, M.; BOURNE, H.R.; MELMON, K.L., *J. Pharmacol.*  
*Exp. Therap.* (1970), 175, 228.
- 201-BEAVEN, M.A.; JACOBSEN, S.; HORAKOVA, Z., *Clin. Chim. Acta* (1972), 3791.
- 202-LORENZ, W., *Agents and Actions* (1975), 5, 402.
- 203-LORENZ, W.; DOENICKE, A.; FREUND, M.; SCHMAL, A.; DORMANN, P.; PRAETORIUS, B.;  
SCHURCK-BULICHM., *Anaesthesist* (1975), 24, 228.
- 204-BRUCE, Ch.; WEATHERSTONE, R.; SEATON, A.; TAYLOR, W.H., *Thorax* (1976), 31, 724.
- 205-LORENZ, W.; DENICKE, A., *The Mount Sinai J. of Med.* (1978), 45/3, 357.
- 206-TSURUTA, Y.; KOHASHI, ; OHKURA, Y., *J. of Chromatography* (1978), 146, 490.

- 207-KAYALI AYCIL, These Docteur Ès Sciences Physiques (1980).
- 208-MAY, P.M.; LINDER, P.W.; WILLIAMS, D.R., *J.Chem.Soc.Dalton*, (1977), 588.
- 209-MAY, P.M.; LINDER, P.; WILLIAMS, D.R.; *Experientia* (1976), 32, 1492.
- 210-BERTHON, G.; MAY, P.M.; WILLIAMS, D.R., *J.Chem.Soc.Dalton* (1978), 1433.
- 211-YOSHIMURA, T.; KANEUCHI, T.; MIURA, T.; KIMURA, M., *Anal.Biochem.* (1987),  
164, 132-137.
- 212-KOWNATZKI, E.; GRUNINGER, G.; FUHR, N., *Pharmacology* (1987) (34), 17-24.
- 213-HAKANSON, R.; RÖNNBERG, A.L.; SJÖLUND, K., *Anal.Biochem.*, (1972), (47),  
356-370.
- 214-SIRAGANIAN, R.P., *Am.Soc.Microbiology*, 1976, 603-613.
- 215-NIELSEN, N.H.; MADSEN, F.; FROLUND, L.; SVENDSEN, U.G.; WEEKE, B., *Allergy*,  
(1988), 43, 454.
- 216-MARWAHA, R.K.; JOHNSON, B.F., *Am.J.of Hosp.Pharm.* (1986), 43, 380.
- 217-SHORE, P.A.; BURKHALTER, A.; COHN, JR.V.H., *J.Pharmacol.Exp.Ther.* (1959),  
127:182-186.
- 218-SIRAGANIAN, R.P., *Anal.Biochem.*, (1974), 57, 383.

## ÖZGEÇMİŞİM

1967 yılında İzmir'in Ödemiş ilçesinde doğdum. İlköğrenimimi Özel İnal Ertekin İlkokulunda tamamladım. Ortaokul ve lise öğrenimimi Bursa Anadolu Lisesinde yaptıktan sonra 1985 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesine başladım. 1989 yılında mezun oldum ve 1990 yılında aynı fakültede de yüksek lisansa başladım. Bekarım.