

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FARMAKOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**KÖPEKLERDE İZOLE SAFEN VENDE ALFA-ADRENERJİK RESEPTÖR  
AGONİST VE ANTAGONİSTLERİ ARASINDAKİ ETKİLEŞME**

T 58732

DOKTORA TEZİ

HÜLAGÜ BARIŞKANER

**Danışman**  
Prof.Dr.Necdet DOĞAN

KONYA-1997

**İÇİNDEKİLER**

<b>BÖLÜM I</b>	
GİRİŞ.....	1
<b>BÖLÜM II</b>	
LİTERATÜR BİLGİSİ.....	2-6
<b>BÖLÜM III</b>	
MATERYAL VE METOD.....	7-10
III.1. Biyolojik preparatların hazırlanması.....	7
III.2. Deneysel Prosedür.....	7
III.2.1. Agonist-Antagonist Etkileşme Denemeleri.....	7
III.2.2. Agonistlerin İntrinsik Aktivitelerinin Saptanması.....	8
III.2.3. Agonistlerin Afinitelerinin Saptanması.....	8
III.3. Besleyici Solüsyon ve İlaçlar.....	8
III.4. İstatistiksel Yöntemler.....	9
<b>BÖLÜM IV</b>	
BULGULAR.....	11-13
IV.1. Vena Saphena Şeritlerinde Agonistlerin Etkileri ve Antagonistlerle Etkileşmeleri.....	11
IV.1.1. Noradrenalin'in Etkileri.....	11
IV.1.2. Fenilefrin'in Etkileri.....	11
IV.1.3. Klonidin'in Etkileri.....	12
IV.1.4. UK-14304 ün Etkileri.....	12
IV.1.5. B-HT 933 ün Etkileri.....	12
IV.2. Agonistlerin İntrinsik Aktivitesi.....	13
IV.3. Agonistlerin Afiniteleri.....	13
<b>BÖLÜM V</b>	
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	22-26
<b>BÖLÜM VI</b>	
ÖZET (Türkçe).....	27-28
<b>BÖLÜM VII</b>	
ÖZET (İngilizce).....	29-30
<b>BÖLÜM VIII</b>	
KAYNAKLAR.....	31-37
ÖZGEÇMİŞ.....	38
TEŞEKKÜR.....	39

**TABLO LİSTESİ**

Tablo-I Postsinaptik alfa-adrenerjik reseptör alt-tiplerinin çeşitli dokulardaki dağılımı.....	19
Tablo-II Köpek safen veninde agonist-antagonist etkileşmesinde elde edilen $pD_2$ ( $-\log EC_{50}$ ) değerleri.....	20
Tablo-III Köpek safen veninde agonist-antagonist etkileşmesinde elde edilen $pA_2$ değerleri.....	21

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil-1 V. saphenada noradrenalinin etkisi ve prazosin ile etkileşimi.....	14
Şekil-2 V. saphenada fenilefrinin etkisi ve prazosin ile etkileşimi.....	15
Şekil-3 V. saphenada klonidinin etkisi ve yohimbin ile etkileşimi.....	16
Şekil-4 V. saphenada UK 14304' ün etkisi ve fluparoksan ile etkileşimi.....	17
Şekil-5 V. saphenada B-HT 933' ün etkisi ve yohimbin ile etkileşimi.....	18



# BÖLÜM I

## GİRİŞ

Adrenerjik sinir ucundan salıverilen noradrenalinle aktive edilen alfa-adrenerjik reseptörlerin  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörler şeklinde iki ana alt gruba ayrıldıkları bilinmektedir. Düz kaslı yapıların çoğunda bu iki tip reseptörün daha ziyade postsinaptik yerleşim gösterdiği saptanmıştır. Vasküler düz kaslı yapılarda postsinaptik yerleşim gösteren  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerden hakim reseptör tipi türe ve dokuya göre değişmektedir. Bu nedenle vasküler düz kaslı yapılarda  $\alpha$ -adrenerjik agonist ve antagonistleriyle elde edilen cevaplar da farklı olabilmektedir.

Köpek safen veninde yapılan bu in vitro çalışmada bir klasik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonisti olan klonidin kullanılmış ve ayrıca nisbeten yeni sayılabilecek ilaçlardan da UK-14304 ve B-HT 933 denenmiştir. Bunlara ilaveten çalışmada  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör agonisti olarak fenilefrin kullanılmış ve ayrıca her iki reseptör tipini de aktive eden noradrenalin araştırılmıştır. Çalışmada  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör antagonistisi olarak prazosin,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör antagonistisi olarak yohimbin ve yeni bir antagonist olarak da Fluparoksan denenmiştir. Sunulan bu çalışmada, köpek safen veninde postsinaptik alfa-adrenerjik reseptör alt tiplerinin belirlenmesi, ilaçların potensi ve intrinsik aktiviteleri ile aralarındaki etkileşme türünün ortaya konması amaçlanmıştır.

## BÖLÜM II

### LİTERATÜR BİLGİSİ

Memelilerde sempatik sinir sisteminin uyarılmasıyla oluşan etkilere aracılık eden noradrenalinin aktive ettiği adrenerjik reseptörler, farmakolojik özelliklerine göre ilk kez 1948 yılında Ahlquist tarafından iki büyük gruba ayrılmış ve  $\alpha$ - ve  $\beta$ - adrenerjik reseptörler olarak isimlendirilmişlerdir (Ahlquist 1948).

$\alpha$ -Adrenerjik reseptörlerin homojen bir grup oluşturmadığı ve bunların  $\alpha_1$ -ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörler şeklinde isimlendirilen iki ayrı tipinin bulunduğu ilk kez Delbarre ve Schmitt (1973) tarafından ortaya konulmuştur. Bu gelişmeden sonra, Langer (1974) belirtilen reseptör alt tiplerini yerleşimlerine göre değerlendirerek efektör hücre membranında bulunanları  $\alpha_1$ - alt tipi ve adrenerjik sinir ucunda bulunanları da  $\alpha_2$ - alt tipi şeklinde isimlendirmiştir. Docherty ve ark (1979) yaptıkları çalışmada  $\alpha_1$ -ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörler için spesifik ve spesifik olmayan agonist ve antagonistleri kullanarak efektör hücre membranında  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörlere ilaveten  $\alpha_2$ - adrenerjik reseptörlerin bulunduğunu da ortaya koymuşlardır. Bu bulguyu Timmermans ve ark (1979)'da aynı yıl içinde desteklemiştir. Amino asit dizileri ve radyoligand bağlama bölgelerindeki membran alanlarının farmakolojik özellikleri bakımından birkaç subtipe ayrılmalarına rağmen (Wilson ve Minneman 1990, Lomasney ve ark 1991) subtiplere özgü

antagonistlerin bulunmaması nedeniyle fonksiyonel deneylerde  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ - reseptörlerin detaylı olarak sınıflandırılmasını yapmak oldukça zordur (Blaylock ve Wilson 1995 ).Günümüzde gen klonlama tekniği kullanılarak  $\alpha_1$ - adrenerjik reseptörlerin  $\alpha_{1A}$  , $\alpha_{1B}$  ve  $\alpha_{1C}$  şeklinde üç alt tipinin (Delbarre ve Schmitt 1973)  $\alpha_2$  adrenerjik reseptörlerin de  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$ ,  $\alpha_{2C}$  ve  $\alpha_{2D}$  olmak üzere dört alt tipinin varlığı gösterilmiştir (Bylund 1992). Bunlara ilaveten son yıllarda yapılan bir çalışmada (Daniel ve ark 1996)  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörlerin  $\alpha_{1D}$ - şeklinde bir diğer alt tipinin de bulunabileceği bildirilmiştir.

İn vivo ve in vitro çalışmalarda  $\alpha$ -adrenerjik reseptörleri daha selektif olarak etkileyen agonist ve antagonist ilaçların geliştirilmesine çalışılmıştır. Bu çalışmalarda aynı zamanda reseptör alt tiplerinin belirlenmesi de amaçlanmış, fonksiyonel ve radyoligand bağlama çalışmalarında özellikle antagonistlerin etkinliklerini gösteren  $pA_2$ ,  $IC_{50}$  ve  $EC_{50}$  gibi değerler mukayese edilmiştir.

Birçok in vivo ve in vitro çalışmada selektif  $\alpha_1$ - adrenerjik reseptör agonisti olarak daha ziyade fenilefrin ve metoksaminin,  $\alpha_2$  - adrenerjik reseptör agonisti olarak da klonidin, ksilazin ve  $\alpha$ -metilnoradrenalinin kullanıldığı görülmektedir. Her iki reseptör tipini birlikte aktive etmek amacı ile de noradrenalin kullanılmaktadır (Starke ve Docherty 1981,Mc Grath 1982). Çalışmalarda selektif  $\alpha_1$  -adrenerjik reseptör antagonisti olarak prazosin denenmiş ve bu ilaçtan postsinaptik yerleşim gösteren  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin tiplendirilmesinde farmakolojik ajan olarak oldukça faydalanılmıştır (Starke ve Docherty 1981,Mc Grath 1982). Postsinaptik yerleşim gösteren  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörleri selektif olarak bloke etmek amacıyla da çalışmaların oldukça büyük bir bölümünde yohimbin ve rovolinden yararlanılmıştır. Son zamanlarda  $\alpha$ -adrenerjik reseptörler ve bunların alt tiplerinin belirlenmesinde fonksiyonel ve radyoligand bağlama çalışmalarına ilave olarak moleküler klonlama tekniği de kullanılmakta

olup, bu metod reseptör alt tiplerinin belirlenmesinde en son aşamayı oluşturmaktadır.

Deneyisel bulgular,  $\alpha$ -adrenerjik reseptör alt-tiplerinin türe ve buldukları damar segmentine göre değişebileceğini ve bu nedenle söz konusu reseptörlerin aktive edilmeleriyle elde edilen cevapların da oldukça farklı olabileceğini ortaya koymaktadır. Yukarıda belirtildiği gibi, türe ve damar segmentine göre oldukça farklı lokalizasyon gösteren  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin uygun ligandlarla aktive edilmesi de reseptör alt-tipine göre farklı sinyal transdükleme mekanizmalarının stimüle edilmesine neden olmaktadır.

İlk kez, Battaglia ve arkadaşları (1983) sıçan frontal korteksinde yaptıkları bir radyoligand bağlama çalışması ile fentolamin ve WB 4101'in [ $^3\text{H}$ ] prazosinin bağlanmasını farklı derecelerde inhibe ettiğini görmüşler ve belirtilen dokuda  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörlerin iki ayrı tipinin bulunduğunu belirterek bunları  $\alpha_{1A}$ - ve  $\alpha_{1B}$ - şeklinde isimlendirmişlerdir. Daha sonra  $\alpha_{1A}$ -alt tipinin sığır beyni hücre kültürlerinde ve ayrıca sıçanda çeşitli dokularda (kalp, dalak, aorta ve serebral korteks) bulunduğu gösterilmiştir (Lomasney ve ark 1991). Düz kas hücre membranında reseptöre bağımlı  $\text{Ca}^{++}$ -kanalları ile kenetli olan  $\alpha_{1A}$ -tipi adrenerjik reseptörlerin ekstraselüler  $\text{Ca}^{++}$  girişi ile aktive edilen sinyal transdükleme mekanizması ile ilişkili olduğu ve özellikle vasküler düz kaslı yapılarda tonik cevaba aracılık ettiği ortaya konmuştur (Wilson ve Minneman 1990).  $\alpha_{1B}$  alt tipi ise, ilk kez hamster vas deferens hücre kültürlerinde gösterilmiştir (Cotecchia 1988).  $\alpha_{1B}$ -alt tipinin uyarılması fosfoinozitid hidrolizine aracılık etmektedir. Hücrede sitosole salıverilen inositoltrifosfat intraselüler depolardan kalsiyum salıverilmesine neden olmakta ve dolayısıyla  $\alpha_{1B}$  alt tipinin uyarılması vasküler düz kaslı yapılarda esasen fazik cevabın oluşmasını sağlamaktadır.  $\alpha_{1C}$ - alt tipi ise ilk kez sığır beyni hücre kültürlerinde tanımlanmıştır (Schwin 1990).  $\alpha_{1C}$ - alt tipinin aktive edilmesi de  $\alpha_{1B}$ - alt tipi için belirtildiği gibi, inositoltrifosfat aracılı intraselüler kalsiyum rilizine neden olmaktadır.



$\alpha_2$ -Adrenerjik reseptörlerin homojen bir grup oluşturmadığı ve farklı farmakolojik kriterlere sahip alt tiplerinin bulunabileceği ilk kez insan ve rat beyinde prazosinin, [ $^3\text{H}$ ] yohimbin bağlanmasını inhibe etme potensinin beyin değişik bölgelerine göre farklı olduğunun saptanmasıyla ortaya atılmıştır (Bylund 1985, Petras ve Bylund 1986, Martinotti ve ark 1991). Bu bulgulara dayanılarak prazosine düşük affiniteli bağlanma yerleri  $\alpha_{2A}$  ve prazosine yüksek affiniteli bağlanma yerleri de  $\alpha_{2B}$  olarak isimlendirilmiştir.  $\alpha_{2A}$ -Alt tipi adrenerjik reseptörlerin insan trombosit, tavşan dalağı ve rat submandibular bezinde bulunduğu gösterilmiştir (Docherty ve Connaughton 1991, Bylund 1992). Bu yapılara ilaveten, neonatal sıçan akciğeri, sıçan böbreği (Bylund 1992) ve atriumunda (Smith ve ark 1992) da  $\alpha_{2B}$ -alt tipi reseptörlerin bulunduğu gösterilmiştir. Bu reseptörleri belirlemek için prazosin, klorpromazin, ARC 239 gibi selektivitesi nispeten yüksek ligandlar kullanılmaktadır (Bylund 1992).  $\alpha_{2D}$ - Alt tipi adrenerjik reseptörlerin ise, sığır pineal bezinde bulunduğu ve diğer reseptör alt tiplerine göre rovolisine düşük affinite gösterdiği belirlenmiştir (Simonneauz 1991).

$\alpha_2$ -Adrenerjik reseptörlerin aktive edilmesiyle adenilat siklaz enziminin inhibe edildiği ve c-AMP yapımının azaldığı bilinmektedir (Bylund ve Ray-Prenger 1989). Buna ilaveten katalaminlerin  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörleri aktive etmek suretiyle oluşturdukları etkilere bu ajanların potasyum kanallarını aktive etmelerinin de katkıda bulunduğu söylenebilir (Isom ve Limbird 1988).  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlere bağlı etkilerde yukarıda belirtilen her bir alt tipe özgü bir sinyal transdükleme mekanizmasının bulunup bulunmadığı da henüz tam olarak bilinmemektedir (Daly ve ark 1988). Deney hayvanlarında noradrenalin, fenilefrin, UK-14304 gibi agonistler ve rovolisin, Wy-26703, CH-38083, prazosin ve korinantin gibi antagonistler ile yapılan çalışmalara dayanarak vasküler yataktaki postsinaptik  $\alpha$ -adrenerjik reseptörler  $\alpha_1$ -ve  $\alpha_2$ - olmak üzere iki alt sınıfa ayrılmıştır. Agonist-antagonist etkileşmeleriyle yürütülen in vitro farmakodinami çalışmalarında bir çok

vasküler düz kaslı yapının  $\alpha_1$ -tipi adrenerjik reseptör içerdiği, buna karşın,  $\alpha_2$ -alt tipinin bir kaç dokuda örneğin, köpek, kobay ve tavşan safen veni ile kobayda femoral vende bulunduğu gösterilmiştir (Daly ve ark 1988).  $\alpha_2$ -Adrenerjik reseptörlerle ilgili çalışmalar daha ziyade köpek safen veninde yapılmış ve Sullivan ve Drew (1980) 'de bu dokunun belirtilen tipte yapılacak çalışmalar için uygun bir doku olduğunu belirtmişlerdir. Vasküler düz kaslarda postsinaptik  $\alpha$ -adrenerjik reseptör alt-tiplerini belirlemek amacıyla köpek safen veni dışında diğer dokular da kullanılmış ve farklı özelliklere sahip bir çok agonist ve antagonist denenmiştir. Örneğin, Sullivan ve Drew(1980) köpek izole safen ven şeritlerinde agonist olarak noradrenalin ve fenilefrin, antagonist olarak da prazosin ve yohimbin kullanarak postsinaptik  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin sadece  $\alpha_1$ -tipinde olduğunu, buna karşın, fenilefrin'in daha az etkin, yohimbin' in ise diğer dokulardakine göre daha güçlü antagonist etkinlik gösterdiğini belirtmişlerdir.

Birçok farklı dokuda çeşitli agonist ve antagonist kullanılarak postsinaptik  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin alt-tipleri belirlenmeye çalışılmıştır. Önemli bazı örnek çalışmalar Tablo-I' de gösterilmiştir.

Sunulan bu in vitro çalışmada, köpek safen veninde  $\alpha$ -adrenerjik reseptör alt-tiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada klasik  $\alpha$ -adrenerjik reseptör agonistleri olarak bilinen noradrenalin, fenilefrin ve klonidine ilaveten, nisbeten yeni sayılabilecek ve daha az araştırılmış olan B-HT 933 ve UK-14304 de kullanılmıştır. Belirtilen agonistlerle elde edilen cevapların bloke edilebilirliğini belirlemek amacıyla da  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör blokörü prazosin ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör blokörü yohimbin denenmiştir. Bu iki antagoniste ilaveten hakkında yeterince bilgi bulunmayan fluparoksan da çalışmaya dahil edilmiştir.

## **BÖLÜM III**

### **MATERYAL-METOD**

#### **III.1. Biyolojik Preparatların Hazırlanması**

Deneylerde 10-25 kg. ağırlığında her iki cinsiyetten köpekler kullanıldı. Hayvanlar 30 mg/kg dozunda intravenöz yolla verilen sodyum pentobarbital ile anestezi edildiler. Anestezi altında izole edilen vena saphena magna'dan spiral kesi ile 2-3 mm genişliğinde, 15-18 mm boyunda şeritler hazırlandı. Damar şeridi 25 ml'lik Krebs-Henseleit solüsyonu içeren, sıcaklığı 37° C derecede sabit tutulan ve %95 O<sub>2</sub>-%5 CO<sub>2</sub> karışımı ile sürekli olarak gazlandırılan organ banyosuna alındı. Şerit bir ucundan organ askısına, diğer ucundan da izotonik levyeye bağlanarak tespit edildi. 1 gr'lık istirahat gerilimi uygulandı. Preparatlar 15 dakika aralıklarla besleyici solüsyonla yıkanarak en az bir saat süreyle dinlenmeye bırakıldı. Agonist ilaçların verilmesiyle elde edilen kasılmalar 10 kez büyütülerek kimograf tamburuna sarılı isli kağıda izotonik olarak yazdırıldı.

#### **III.2 Deneysel Prosedür**

##### **III.2.1. Agonist-antagonist etkileşme denemeleri**

Agonist ilaçlar banyo sıvısına kümülatif konsantrasyonlarda 0.1 ml hacim içerisinde ilave edildiler. Verilen her dozda maksimum kararlı cevaba ulaşıldıktan sonra, bir sonraki doza geçildi ve böylece çalışılan agonist için kontrol konsantrasyon- cevap eğrileri elde edildi.

Bundan sonra doku belirli aralıklarla besleyici solüsyonla yıkandı ve bazal düzeye inildikten sonra banyoya  $\alpha$ -adrenerjik reseptör antagonisti ilaçlardan birisinin denenen ilk konsantrasyonu ilave edilerek 20 dakika süreyle beklenildi. Bu süre sonunda tekrar agonistin konsantrasyon-cevap eğrisi alındı. Etkileşme denemelerinde aynı dokuda bir agonist, çalışılan antagonistlerden sadece birinin iki farklı konsantrasyonuna karşı denendi. Antagonistin her konsantrasyonundan, önce agonistin kontrol konsantrasyon-cevap eğrisi tekrar elde edildi. Antagonistlerin denenen her konsantrasyonu banyo sıvısına 0.1 ml hacim içerisinde ilave edildi.

### **III.2.2. Agonistlerin intrinsik aktivitelerinin saptanması**

Bu amaçla aynı dokuya agonistlerin  $3 \times 10^{-5}$  M konsantrasyonu uygulanarak konsantrasyon-cevap eğrileri elde edildi ve bir diğer agonist uygulanmadan önce doku yıkanarak en az 1 saat süreyle dinlendirildi. Agonistlerin veriliş sırası değiştirilerek yürütülen bu denemelerde kasılma amplitüdü büyük olan agonistin intrinsik aktivitesi 1 olarak kabul edilip, diğerlerinin intrinsik aktivitesi bu değerlerin %'si şeklinde ifade edildi.

### **III.2.3. Agonistlerin afinitelerinin saptanması**

Agonistlerin afinitelerinin değerlendirilmesinde, agonistlerin kontrol konsantrasyon- cevap eğrilerinden elde edilen  $-\log EC_{50}$  ( $pD_2$ ) değerleri karşılaştırılmıştır.

## **III.3 Besleyici Solüsyon ve İlaçlar**

Deneylerde kullanılan Krebs-Henseleit solüsyonunun içeriği mM olarak şöyledir;

NaCl.....	119.00
KCl.....	4.70
CaCl <sub>2</sub> .....	2.50
MgSO <sub>4</sub> .....	1.50
NaHCO <sub>3</sub> .....	25.00
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	1.20
glükoz.....	11.00

Deneylede aşağıda belirtilen agonist ve antagonist ilaçlar kullanıldı: agonistler; Noradrenalin (BDH), Fenilefrin hidroklorür (Sigma), Klomidin hidroklorür (Sigma), B-HT 933 (Boehringer), UK-14304 (Sigma). Antagonistler; Prazosin hidroklorür (Pfizer), Yohimbin hidroklorür (Sigma), Fluparoksan (Glaxo Group Research Ltd.). Deneylede kullanılan ilaçların konsantrasyonları baz ağırlıkları üzerinden hesaplanmıştır. Prazosin' in stok solüsyonu ( $10^{-4}$  M) Dimetil sülfoksit ( DMSO)'le, alt konsantrasyonları ise distile su ile hazırlandı.

#### **III.4. İstatistiksel Yöntemler**

Agonist ilaçların oluşturduğu kasılmalar maksimum cevabın % si olarak ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde belirtilmiştir. Ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel anlamlılık derecesi student'in "t" testi ile belirlenmiştir (Goldstein 1971). Grup içi analizlerde eşleştirilmiş ve gruplar arası analizlerde de eşleştirilmemiş test uygulanmıştır. p değerinin 0.05 den küçük bulunması durumunda ortalamalar arasındaki fark anlamlı kabul edilmiştir.

**Eşleştirilmiş t testi:**

$$S = \sqrt{\frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n-1}}$$

$\bar{X}$  =Aritmetik Ortalama

n=Deneme sayısı

S=Standart sapma

$$t = \frac{\bar{x}}{\frac{S}{\sqrt{n}}}$$

**Eşleştirilmemiş t testi:**

$$t = (\bar{x}_a - \bar{x}_b) \sqrt{\frac{(n_a + n_b - 2) \cdot (n_a \cdot n_b)}{\left[ \left( \sum x_a^2 - \frac{(\sum x_a)^2}{n_a} \right) + \left( \sum x_b^2 - \frac{(\sum x_b)^2}{n_b} \right) \right] (n_a + n_b)}}$$

Agonist ilaçların oluşturduğu maksimum cevabın %50 sini sağlayan konsantrasyonlar ( $EC_{50}$ ) her deneyin log konsantrasyon-cevap eğrilerinden elde edilip  $pD_2$  ( $-\log EC_{50}$ ) değerleri şeklinde verildi. Antagonistlerin etkinliklerini gösteren,  $pA_2$  değerleri Arunlakshana-Schild (Arunlakshana ve Schild 1959) metoduna göre hesaplanmıştır.

## BÖLÜM IV

### BULGULAR

#### IV. 1 Vena Saphena Şeritlerinde Agonistlerin Etkileri ve Antagonistlerle Etkileşmeleri

##### IV. 1.1. Noradrenalin'in etkileri

V. saphena şeritlerinde noradrenalin konsantrasyona bağımlı olarak kasılmaya neden olmuştur. Ortamda  $\alpha_1$ - adrenerjik reseptör antagonisti prazosin ( $10^{-8}$ ,  $3 \times 10^{-8}$  M) bulunduğunda noradrenalin'in konsantrasyon- cevap eğrisinin sağa kaydığı,  $pD_2$  değerinin azaldığı, maksimum cevabın değişmediği fakat schild metoduna göre eğim 1' den farklı olduğu görülmüştür(Şekil-I,Tablo-II). Noradrenalin- prazosin ikilisi için saptanan  $pA_2$  değeri  $8.413 \pm 0.342$  olup tablo-III' de gösterilmiştir. Prazosin solventi etkisiz bulunmuştur (n=4).

##### IV.1.2. Fenilefrin'nin etkileri

V. saphena şeritlerinde fenilefrin konsantrasyona bağımlı olarak kasılma oluşturmuştur. Ortama  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör blokörü prazosin ( $3 \times 10^{-9}$ ,  $3 \times 10^{-8}$  M) ilave edildiğinde, fenilefrin'in kontrol konsantrasyon- cevap eğrisi paralel şekilde sağa kaymış ve  $pD_2$  değeride anlamlı olarak azalmıştır(Şekil-2,Tablo-II).Fenilefrin-prazosin ikilisi için hesaplanan  $pA_2$  değeri  $8.28 \pm 0.200$ , tablo-III'de gösterilmiştir. Prazosin solventi etkisiz bulunmuştur (n=4 ).

#### **IV.1.3. Klonidin'in etkileri**

Klonidin, v.saphena şeritlerinde konsantrasyona bağımlı olarak kasılmaya neden olmuştur (Şekil-3 ). Ortama  $\alpha_2$ - adrenerjik reseptör antagonisti yohimbin ( $10^{-8}$ ,  $3 \times 10^{-8}$  M) konulduğunda klonidin kontrol konsantrasyon- cevap eğrisi paralel olarak sağa kaymış ve  $pD_2$  değeride anlamlı olarak azaltmıştır(Tablo-II). v. saphena şeritlerinde klonidin-yohimbin ikilisi için  $pA_2$  değeri  $8.126 \pm 0.088$  olarak bulunmuş ve Tablo III' de gösterilmiştir.

#### **IV.1.4. UK-14304' ün etkileri**

Aynı dokuda UK-14304, konsantrasyona bağımlı olarak kasılma oluşturmuştur. Besleyici sıvıya  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör antagonisti fluparoksan ( $10^{-8}$ ,  $3 \times 10^{-8}$  M) konulduğunda UK-14304' ün kontrol konsantrasyon- cevap eğrisi paralel şekilde sağa kaymıştır.  $pD_2$  değeride anlamlı olarak azalmıştır (Şekil-4, Tablo-II). UK-14304- fluparoksan ikilisi için hesaplanan  $pA_2$  değeri  $9.530 \pm 0.657$  olup tablo-III' de gösterilmiştir.

#### **IV.1.5. B-HT 933' ün etkileri**

B-HT 933, v. saphena şeritlerinde konsantrasyona bağımlı olarak kasılmaya neden olmuştur(Şekil-5).  $\alpha_2$ -Adrenerjik reseptör antagonisti yohimbin (  $10^{-9}$ ,  $3 \times 10^{-9}$  M) klonidin kontrol konsantrasyon- cevap eğrisini paralel olarak sağa kaydırmış ve  $pD_2$  değerini de anlamlı olarak azaltmıştır (Tablo-II). V. saphena şeritlerinde B-HT 933-yohimbin ikilisi için  $pA_2$  değeri  $8.600 \pm 0.242$  olup tablo-III' de gösterilmiştir.

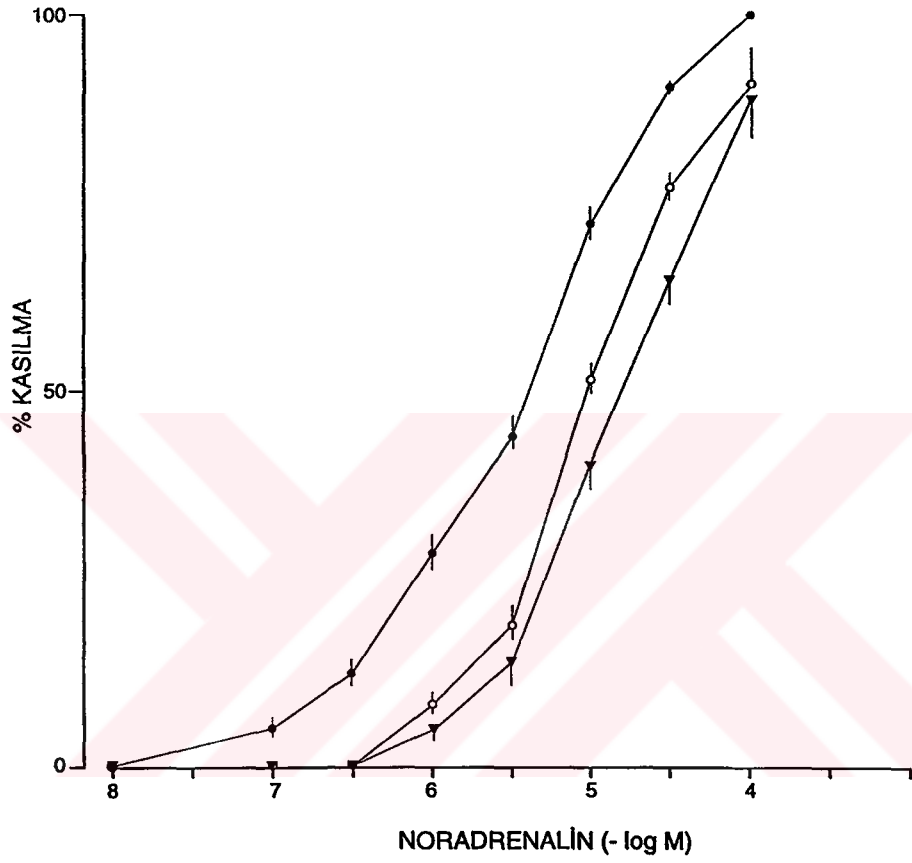


## **IV.2. Agonistlerin İntrensik Aktivitesi**

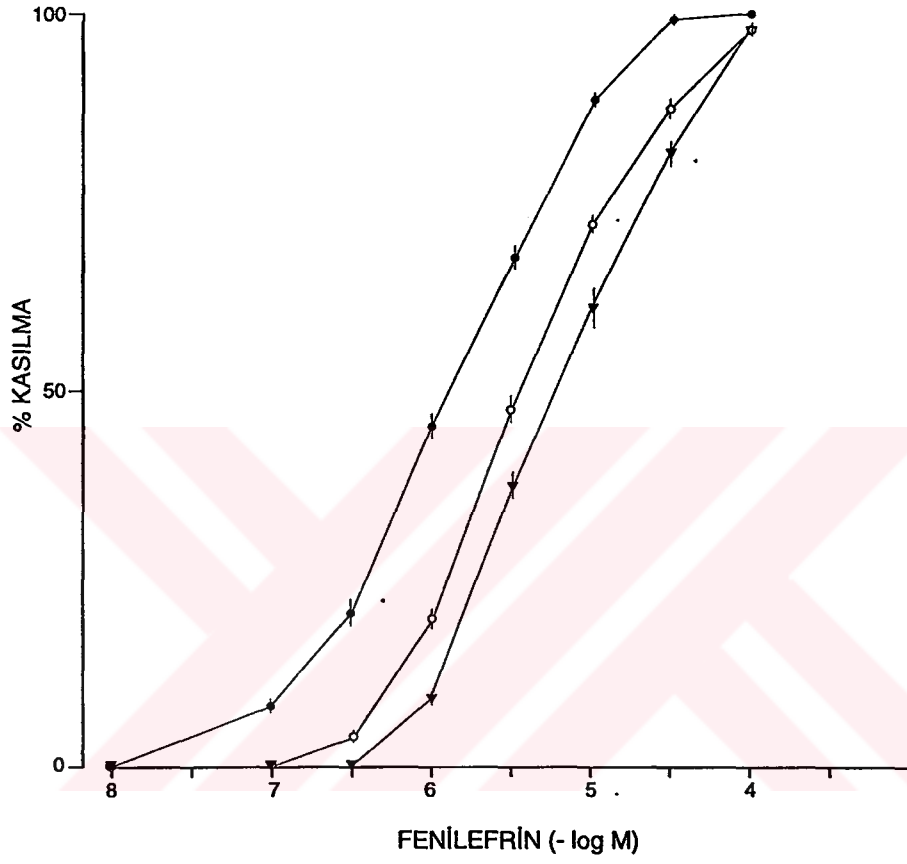
$\alpha_1$ -Adrenerjik reseptör agonistleri olan noradrenalin ve fenilefrin intrinsik aktivitelerinin farksız olduğu görülmüştür. Buna karşın,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonistleri için sıralamanın *UK 14304=klonidin> B-HT 933* şeklinde olduğu saptanmıştır.

## **IV.3. Agonistlerin Afiniteleri**

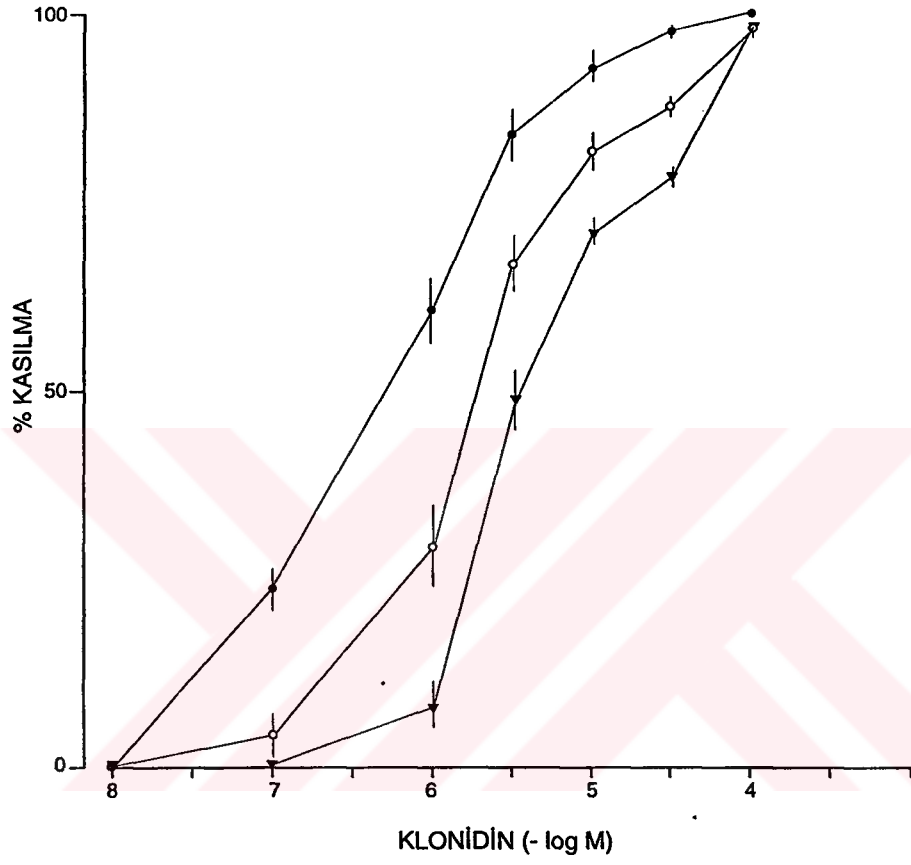
Kontrol konsantrasyon-cevap eğrilerinden hesaplanan  $pD_2$  değerleri karşılaştırıldığında (Tablo-II) V.saphena şeritlerinde agonistlerin afinitelerinin *UK14304>klonidin=B-HT933= fenilefrin> noradrenalin* şeklinde sıralandığı saptanmıştır.



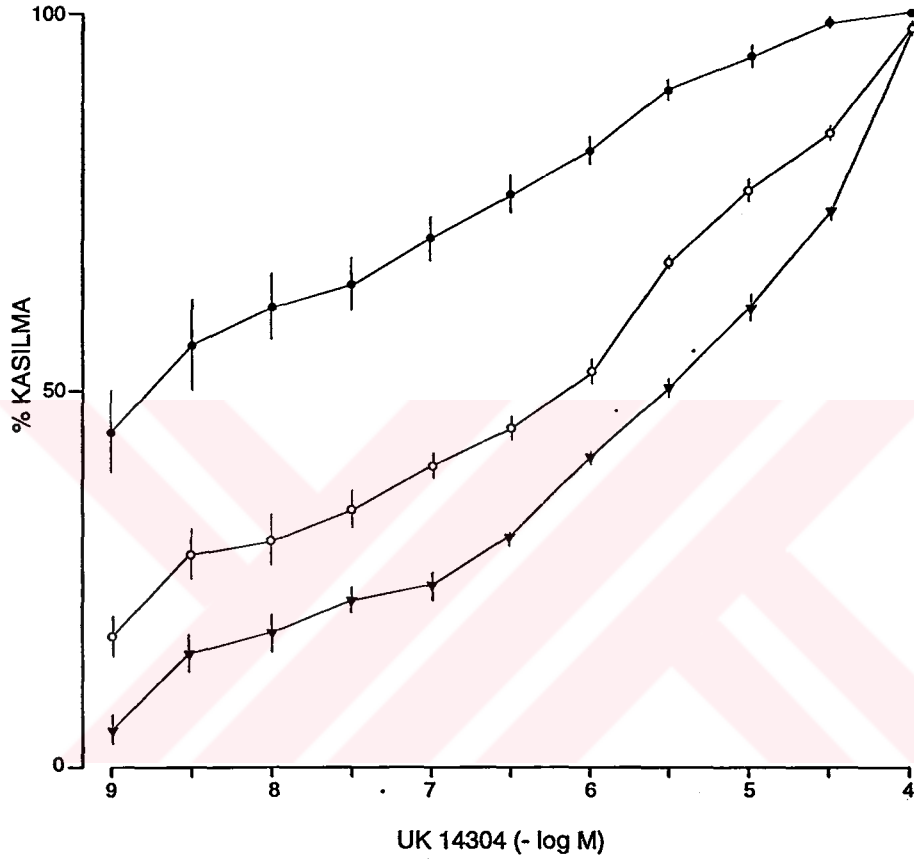
Şekil 1: V. Saphenada noradrenalin'in etkisi (●-●) ve prazosin ( $10^{-8}$  M ○-○ ;  $3 \times 10^{-8}$  M ▼-▼) ile etkileşimi.



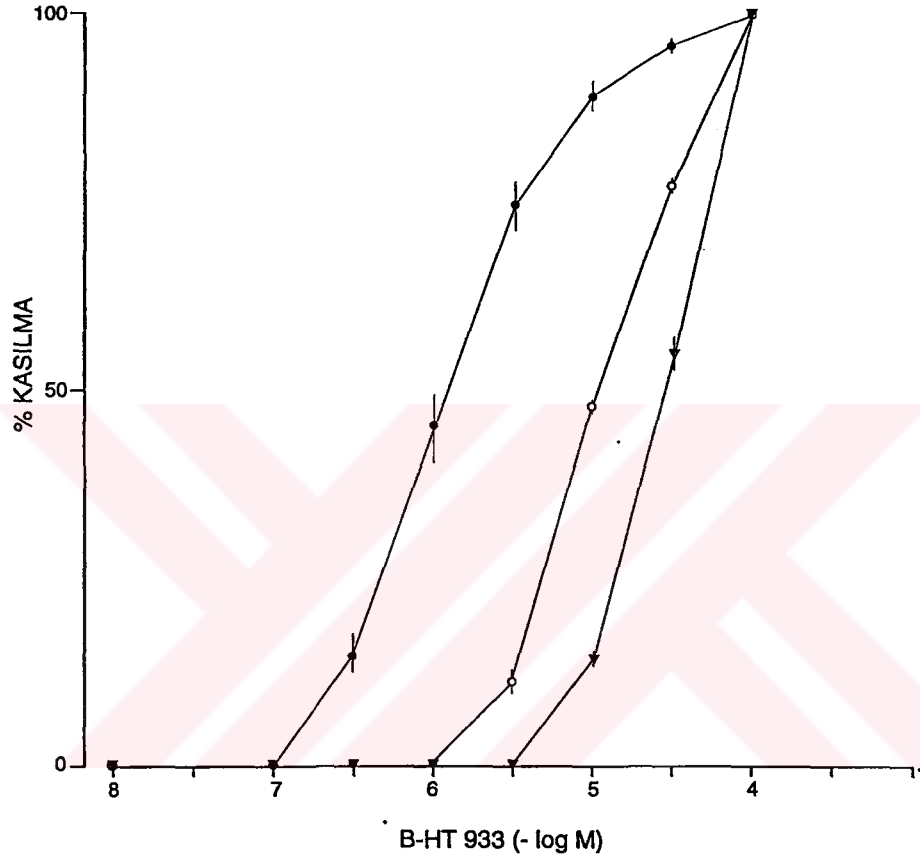
Şekil 2: V. Saphenada fenilefrin'in etkisi (●-●) ve prazosin ( $3 \times 10^{-9}$  M ○-○;  $3 \times 10^{-8}$  M ▼-▼) ile etkileşimi.



Şekil 3: V. Saphenada klonidin'in etkisi (●-●) ve yohimbin ( $10^{-8}$  M ○-○;  $3 \times 10^{-8}$  M ▼-▼) ile etkileşimi.



Şekil 4: V. Saphenada UK 14304'ün etkisi (●-●) ve fluparoksan (10<sup>-8</sup> M ○-○ ; 3 x 10<sup>-8</sup> M ▼-▼) ile etkileşimi.



Şekil 5: V. Saphenada B-HT 933'ün etkisi (●-●) ve yohimbini ( $10^{-9}$  M ○-○ ;  $3 \times 10^{-9}$  M ▼-▼) ile etkileşimi.

Tablo-I: postsinaptik alfa-adrenerjik reseptör alt-tiplerinin çeşitli dokulardaki dağılımı

DOKU	AGONİST	ANTAGONİST	RESEPTÖR TİPİ	REFERANS
İnsan trombosit, Tavşan trombosit	UK 14304	Rovolsin	$\alpha_2$	Grant-Scrutton, (1980) <sup>28</sup>
Köpek safen veni	NA, FE, UK 14304	Prazosin, Rovolsin	$\alpha_1, \alpha_2$	Alabester ve ark, (1985) <sup>2</sup>
Tavşan safen veni	NA, FE, UK 14304	Prazosin, Rovolsin	$\alpha_2$	Alabester ve ark, (1985) <sup>2</sup>
Tavşan aortası, Tavşan kulak arteri, Tavşan sol renal veni	FE, NA, UK 14304	Prazosin, Rovolsin, Korinantin	$\alpha_1$	Daly ve ark, (1988) <sup>13</sup>
Tavşan safen veni, Tavşan plantar veni	FE, NA, UK 14304	Prazosin, Rovolsin, Korinantin	$\alpha_1, \alpha_2$	Daly ve ark, (1988) <sup>13</sup>
Tavşan aortası	NA, Metoksamin	Prazosin, Yohimbın	$\alpha_2$	Ruffolo ve Waddel, (1981) <sup>40</sup>
Siçan aortası	NA, Metoksamin	Prazosin, Yohimbın	$\alpha_1, \alpha_2$	Ruffolo ve Waddel, (1981) <sup>40</sup>
Dormuz digital arteri	NA	Rovolsin, Prazosin, YM-12617, CH-38083	$\alpha_1, \alpha_2$	Blaylock ve Wilson, (1995) <sup>6</sup>
Dormuz metakarpal veni	NA	Rovolsin, Prazosin, YM-2617, CH-38083	$\alpha_2$	Blaylock ve Wilson, (1995) <sup>6</sup>
Köpek safen veni	M-7, NA, B-HT920 SK&F89748-A	Prazosin, Fenoksibenzamin, Rovolsin	$\alpha_1, \alpha_2$	Fowler ve ark, (1984) <sup>26</sup>

**Tablo-II : Köpek safen veninde agonist- antagonist etkileşmesinde elde edilen  $pD_2$  ( $-\log EC_{50}$ ) değerleri**

AGONİST	KLONİDİN (n=6)	UK-14304 (n=6)	B-HT 933 (n=6)	NORADRENALİN (n=6)	FENİLEFRİN (n=6)
KONTROL	6.294 ± 0.189	8.635 ± 0.371	5.948 ± 0.120	5.440 ± 0.083	5.893 ± 0.065
ANTAGONİST VARLIĞINDA	Yohimbın ( $10^{-8}$ M) 5.787 ± 0.155 *	Fluparoksan ( $10^{-8}$ M) 6.392 ± 0.265 *	Yohimbın ( $10^{-9}$ M) 4.986 ± 0.013 *	Prazosin ( $10^{-8}$ M) 5.006 ± 0.068 *	Prazosin ( $3 \times 10^{-8}$ M) 5.435 ± 0.067 *
	Yohimbın ( $3 \times 10^{-8}$ M) 5.480 ± 0.148 *	Fluparoksan ( $3 \times 10^{-8}$ M) 5.416 ± 0.140 *	Yohimbın ( $3 \times 10^{-9}$ M) 4.555 ± 0.033 *	Prazosin ( $3 \times 10^{-8}$ M) 4.605 ± 0.127 *	Prazosin ( $3 \times 10^{-8}$ M) 5.213 ± 0.109 *

\*  $p < 0.05$  (kontrol  $pD_2$  değerine göre)

n: Deneme sayısı



Tablo-III: Köpek safen veninde agonist-antagonist etkileşmesinde elde edilen pA<sub>2</sub> değerleri

AGONIST	ANTAGONIST	pA <sub>2</sub>	EGİM
KLONIDİN	YOHİMBİN (n=6)	8.126 ±0.088	0.936 ±0.085
B-HT 933	YOHİMBİN (n=6)	8.600±0.242	0.963±0.076
UK 14304	FLUPAROKSAN (n=6)	9.530±0.657	1.550±0.467
FENİLEFRİN	PRAZOSİN (n=6)	8.280 ±0.200	0.981±0.038
NORADRENALİN	PRAZOSİN (n=6)	8.413±0.342	0.600±0.095 *

\* 1' den farklı (p<0.05)

## BÖLÜM V

### TARTIŞMA ve SONUÇ

Vasküler düz kaslı yapıların  $\alpha$ -adrenerjik reseptör agonist ve antagonistlerine verdikleri cevapların kullanılan deney hayvanının türüne, yaşına, çalışılan dokuya ve in vitro ortamın koşullarına göre değişebileceği bilinmektedir. Sunulan bu in vitro çalışmada, köpek safen veninde, postsinaptik  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin alt-tiplerinin belirlenmesi amaçlanmış ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonistleri olarak klonidin (Starke ve ark 1974) , B-HT 933 (Ruffolo ve Zeid 1985, Mabajoye ve ark 1991) ve UK 14304 (Flavahan ve Vanhoutle 1986a,b) kullanılmıştır. Çalışmada  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör agonisti olarak fenilefrin (Flavahan ve Vanhoutle 1986a, Dunn ve ark 1991) ve ayrıca non-spesifik  $\alpha$ -adrenerjik reseptör agonisti olarak da noradrenalin (Flavahan ve Vanhoutle 1986b) denenmiştir. Belirtilen agonistlere bağlı cevapların antagonize edilmesinde de  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör antagonistleri yohimbin (Starke ve ark 1975, Docherty ve Starke 1981) ve fluparoksan (Halliday ve ark 1991) ve ayrıca selektif etkili bir  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör antagonisti olan prazosin (Alabaster ve ark 1985, Daniel ve ark 1996) kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan tüm alfa-adrenerjik reseptör agonistleri v. saphenada konsantrasyona bağımlı olarak kasılma oluşturmuşlardır. Agonistlerin afinitelerine göre UK-14304> klonidin= B-HT 933= fenilefrin> noradrenalin şeklinde ve intrinsik aktivitelerine göre de

fenilefrin= noradrenalin ve UK-14304=klonidin>B- HT 933 şeklinde sıralandıkları saptanmıştır.

Köpekte v. saphenada gerçekleştirilen bu çalışmada, klonidin doza bağımlı bir şekilde ve tekrarlanabilir nitelikte kasılma oluşturmuştur. Ortama iki farklı konsantrasyonda yohimbin ilave edilmesi, klonidine ait kontrol konsantrasyon- cevap eğrilerini paralel bir şekilde ve anlamlı olarak sağa kaydırmış ve klonidinle elde edilen maksimum kasılma cevaplarını değiştirmemiştir. Schild çiziminde eğim 1' den farksız bulunmuş, klonidin-yohimbin ikilisine ait  $pA_2$  değeride  $8.126 \pm 0.088$  olarak hesaplanmıştır.

Klonidin-yohimbin etkileşmesiyle ilgili olarak köpekte v. saphena da yapılan bir çalışmada (Cotecchia ve ark 1988) yohimbin için  $pA_2$  değeri 8.20 olarak hesaplanmıştır. Belirtilen değer, sunulan bu çalışmada elde edilen değerlerin %95 güvenirlilik sınırları arasında yer almaktadır. Köpekte v. saphenada klonidin-yohimbin etkileşmesini inceleyen bir çok çalışma bulunmakta olup, yohimbin için belirlenen  $pA_2$  değerleri Constantine ve arkadaşları (1982)'nin çalışmasında da 8.20 olarak hesaplanmıştır. Benzer şekilde, bu çalışmadaki elde edilen  $pA_2$  değeri, Doğan (1982)'nin aynı dokuda yohimbin için belirttiği  $pA_2$  değerinin %95 güvenirlilik sınırları arasında yer almaktadır.

V. saphena şeritlerinde B-HT 933, doza bağımlı bir şekilde kasılma oluşturmuştur. Ortama iki farklı konsantrasyonda yohimbin ilave edilmesi, kontrol- B-HT 933 konsantrasyon-cevap eğrilerini paralel bir şekilde ve anlamlı olarak sağa kaydırmıştır. Yohimbin, B-HT 933 'le elde edilen maksimum kasılma cevaplarını değiştirmemiştir. Schild çiziminde eğim 1' den farksız bulunmuş, B-HT 933-yohimbin ikilisine ait  $pA_2$  değeride  $8.60 \pm 0.242$  olarak hesaplanmıştır.

Literatürde B-HT 933- yohimbin etkileşmesiyle ilgili olarak kobay ileumunda yapılan bir çalışmada (Akers ve ark 1991) yohimbin için  $pA_2$  değeri 7.84 olarak hesaplanmış ve % 95 güvenirlilik sınırlarının ise 7.13- 8.64 olduğu belirtilmiştir. Köpekte v. saphenada  $\alpha_2$ - adrenerjik reseptör agonisti olarak B-HT 920' nin denendiği çalışmaların birinde (Docherty ve Ruffolo 1988) yohimbin için  $pA_2$  değeri 8.60 olarak bulunmuş, yine aynı dokuda gerçekleştirilen bir diğer çalışmada (Furuta 1988) ise bu değer 8.77 olarak hesaplanmıştır. Belirtilen değerler bu çalışmadaki değerlerle uyumludur.

Sunulan bu çalışmada, klonidin-yohimbin ve B-HT 933-yohimbin etkileşmelerinde hesaplanan  $pA_2$  değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonistleri klonidin ve B-HT 933 ün bu dokuda aynı reseptörler üzerinden etkili olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada klonidin ve B-HT 933 ile yohimbin arasındaki etkileşmenin, kompetitif antagonizma tipine uyduğuda saptanmıştır.

UK 14304-fluparoksan etkileşmesinin çalışıldığı bölümde de fluparoksan, UK 14304'e ait kontrol konsantrasyon-cevap eğrisini anlamlı olarak ve paralel bir şekilde sağa kaydırmış UK 14304'le oluşan maksimum kasılma cevabı değişmemiştir. UK 14304' le elde edilen cevapların fluparoksanla inhibisyonunda  $PA_2$  değeri  $9.530 \pm 0.657$  olarak hesaplanmıştır. Literatürde, damar düz kaslarında  $\alpha_2$ -adrenerjik agonisti UK 14304'le oluşan kasılma cevaplarının inhibisyonunda fluparoksanın kullanıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Sadece sıçan vaz deferensinde UK 14304 - fluparoksan etkileşmesini inceleyen bir çalışmada (Halliday ve ark 1991)  $pA_2$  değeri  $7.87 \pm 0.05$  olarak hesaplanmış ve UK 14304'le oluşan kasılma cevaplarının fluparoksan varlığında anlamlı olarak ve paralel bir şekilde sağa kaydığı ve maksimum kasılma cevabının da etkilenmediği belirtilmiştir. Sunulan bu çalışmada da UK 14304 ile

fluparoksan arasındaki etkileşmenin kompetitif antagonizma tipine uyduğu görülmektedir.

Fenilefrin diğer vasküler düz kaslı yapılarda olduğu gibi, bu dokuda da doza bağımlı olarak kasılma oluşturmuştur. Ortama iki farklı konsantrasyonda prazosin ilave edilmesi, fenilefrinin kontrol-konsantrasyon cevap eğrilerini paralel bir şekilde ve anlamlı olarak sağa kaydırmış ve fenilefrinle elde edilen maksimum kasılma cevapları değişmemiştir. Schild çiziminde eğim 1' den farksız bulunmuş, fenilefrin-prazosin ikilisine ait  $pA_2$  değeride  $8.28 \pm 0.200$  olarak hesaplanmıştır. Köpekte v. saphenada fenilefrin-prazosin etkileşmesini inceleyen bir çalışmada (Sullivan ve Drew 1980)  $pA_2$  değeri 8.15 olarak hesaplanmıştır. Bir diğer çalışmada ise Shepperson ve Langer (1981) bu değeri belirtmişlerdir. Fenilefrin-prazosin etkileşmesinin araştırıldığı diğer bazı çalışmalarda da örneğin, tavşan portal veninde (Docherty ve ark 1980) bu değer 8.10, köpek safen veninde (Doğan 1982) de 8.41 olarak hesaplanmış olup, sunulan bu çalışmada elde edilen değerlerle uyumlu oldukları görülmüştür.

Noradrenalin safen vende konsantrasyona bağımlı bir tarzda kasılma oluşturmuş ve ortama iki farklı konsantrasyonda ilave edilen prazosinle kontrol cevap paralel olmayan bir şekilde sağa kaymıştır. Schild çiziminde eğim 1' den farklı bulunmuştur. Vasküler düz kaslı yapılarda noradrenalin-prazosin etkileşmesinin araştırıldığı bir çok çalışma bulunmaktadır. Sunulan bu çalışmada da gösterildiği gibi, araştırmacılar etkileşmenin non-kompetitif antagonizma tipine uymasının nedenini, noradrenalinin  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörleri birlikte aktive etme özelliğinin olması ve bu nedenle ortamda  $\alpha_1$ - veya  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör blokörlerinden sadece birisinin bulunması ile açıklamışlardır. Literatürde bu iki ilaç arasındaki etkileşmenin non-kompetitif tarzda olduğunu gösteren çok önemli araştırmalar bulunmaktadır. Örneğin, köpek safen veninde ve femoral arterinde

(Mey ve Vanhoutle 1981), tavşan safen veni ve kulak veninde (Daly ve ark 1988), insan safen veninde (Steen ve ark 1984) ve insanda cilt arterlerinde (Barbujo ve ark 1988) yapılan çalışmalar sayılabilir.

Köpek safen veninde postsinaptik  $\alpha$ -adrenerjik reseptör alt tiplerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen bu in vitro çalışmada, klasik  $\alpha$ -adrenerjik reseptör agonist ve antagonistlerine ilaveten, UK 14304, B-HT 933 ve fluparoksan gibi nisbeten yeni sayılabilecek bazı ilaçlar da kullanılmış ve belirtilen dokuda  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerin birlikte bulunduğu gösterilmiştir. Bu dokuda klonidin-yohimbin, UK 14304-fluparoksan, B-HT 933-yohimbin ve fenilefrin-prazosin etkileşmesinin kompetitif, buna karşın, noradrenalin-prazosin etkileşmesinin de non-kompetitif antagonizma tipine uyduğu saptanmıştır.

## ÖZET

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Farmakoloji(Tıp) Anabilim Dalı  
DOKTORA TEZİ/ KONYA-1997

Hülagü BARIŞKANER

Danışman  
Prof. Dr. Necdet DOĞAN

### **Köpeklerde İzole Safen Vende Alfa-Adrenerjik Reseptör Agonist ve Antagonistleri Arasındaki Etkileşme**

Köpek v. saphena şeritlerinde postsinaptik alfa-adrenerjik reseptör alt-tiplerini saptamak amacıyla yapılan bu in vitro çalışmada alfa-adrenerjik reseptör agonistlerinden fenilefrin, noradrenalin, klonidin, UK 14304 ve B-HT 933 ve alfa-adrenerjik reseptör antagonistlerinden de prazosin, yohimbin ve fluparoksan kullanılmıştır.

Ven şeritleri temperaturü 37 C<sup>0</sup> de sabit tutulan ve %95 O<sub>2</sub>-%5 CO<sub>2</sub> karışımı ile sürekli olarak gazlandırılan Krebs-Henseleit solüsyonu içeren 25 ml' lik organ banyosuna alınmıştır. Kümülatif tarzda ilave edilen α-adrenerjik reseptör agonistleri ile elde edilen kasılma cevapları üzerine, iki farklı konsantrasyonda uygulanan α-adrenerjik reseptör antagonistlerinin inhibitör etkinlikleri araştırılmıştır. Tüm cevaplar izotonik olarak isli kağıda yazdırılmıştır.

V. saphenada denenen beş  $\alpha$ -adrenerjik reseptör agonistinin de doza bağımlı olarak kasılmaya neden olduğu ve afinitelerinin UK 14304 > klonidin = B-HT 933 = fenilefrin > noradrenalin şeklinde sıralandığı saptanmıştır. Köpek v. saphena dokusunda klonidin-yohimbin, UK 41304-fluparoksan, B-HT 933-yohimbin ile fenilefrin-prazosin etkileşmesinin kompetitif, buna karşın, noradrenalin-prazosin etkileşmesinin de non-kompetitif antagonizma tipine uyduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, köpek v. saphenasında postsinaptik yerleşim gösteren  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ - adrenerjik reseptör alt-tiplerine uyduğu görülmüştür.



## **SUMMARY**

### **Interaction Between Alpha-Adrenergic Receptor Agonists and Antagonists In Canine Isolated Saphenous Vein**

In this in vitro study,  $\alpha$ -adrenergic receptor agonists phenylephrine, noradrenaline, clonidine, UK 14303 and B-HT 933 and  $\alpha$ -adrenergic receptor antagonists, prazosin, yohimbine and fluparoxan have been used to investigate alpha-adrenergic receptor subtypes in canine isolated saphenous vein.

The strips have been suspended in 25 ml organ bath containing Krebs-Henseleit solution which was maintained at a constant temperature of 37 °C and bubbled with a gas mixture containing 95 % O<sub>2</sub> and 5 % CO<sub>2</sub>. The contractile responses of cumulative concentrations of  $\alpha$ -adrenergic receptor agonists have been obtained. Then, the inhibitory potencies of  $\alpha$ -adrenergic receptor antagonists applied in two different concentrations have been investigated. All responses have been recorded isotonicly on a smoked paper.

It has been concluded that five  $\alpha$ -adrenergic receptor agonists used in canine saphenous vein caused dose-dependent contraction

and their affinities are UK 14304 > clonidine = B-HT 933 = phenylephrine > noradrenaline, respectively. It has been established that in canine saphenous vein clonidine-yohimbine, UK 14304-fluparoxan, B-HT 933-yohimbine and phenylephrine-prazosin interaction suited to competitive and contrarily noradrenaline-prazosin interaction suited to non-competitive antagonism type.

In conclusion it has been found out that postsynaptic  $\alpha$ -adrenergic receptors in canine saphenous vein suited to  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ -adrenergic receptor subtypes.



## BÖLÜM VI

### KAYNAKLAR

Ahlquist RP (1948) A study of the adrenergic receptors. Am J Physiol 153:586-600.

Alabaster VA, Keir RF, Peters CJ (1985) Comparison of activity of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in dog and rabbit saphenous vein. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 330: 33-36.

Akers I, Coates J, Drew GM, Sullivan AT(1991)  $\alpha_2$ -Adrenoceptor blocking profile of SK&F 104078: further evidence for receptor subtypes. Br J Pharmacol 102: 943-949.

Arunlakshana O and Schild HO (1959) Some quantitative uses of drug antagonists. Br J Pharmacol Chemother 14: 48-58.

Battaglia G, Shannon M, Borgundvaag B and Titeler M (1983) Properties of  $^3\text{H}$ -prazosin labeled  $\alpha_1$ -adrenergic receptors in rat brain and porcine neurointermediate lobe tissue. J Neurochem 41: 538-542.

Blaylock NA, Wilson VG (1995) Pharmacological characterization of noradrenaline - induced contractions of the porcine isolated palmar lateral vein and palmar common digital artery Br J Pharmacology 114: 694-702.

Barbujo J, Villalan ALG, Valle J, Gomez B, Diequez G (1988) Postjunctional Alpha-1 and Alpha-2 Adrenoceptors in Human Skin Arteries. An in Vitro Study The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 249: 284-287.

Bylund DB, (1992) Subtypes of  $\alpha_1$  - and  $\alpha_2$  - adrenergic receptors. FASEB J 6: 832-839.

Bylund DB (1985) Heterogeneity of  $\alpha_2$  -adrenergic receptors. Pharmacol Biochem Behav. 22: 835-843.

Bylund DB and Ray-Prenger C (1989) Alpha 2A and alpha 2B adrenergic receptor subtypes: attenuation of cyclic AMP production in cell lines containing only one receptor subtype. J Pharmacol Exp Ther 251: 640-644.

Constantine JW, Lebel W, Archer R (1982) Functional postsynaptic  $\alpha_2$  - but not  $\alpha_1$  - adrenoceptors in dog saphenous vein exposed to phenoxybenzamine. Eur J Pharmacol 85: 325-329.

Cotecchia S, Schwinn DA, Randall RR, Lefkowitz RJ, Caron MG And Kobilka BK (1988) Molecular cloning and expression of the cDNA for hamster  $\alpha_1$  - adrenergic. Proc Natl Acad Sci USA 85: 7159-7163.

Daly CJ, McGrath JC, Wilson VG (1988) An examination of the postjunctional  $\alpha$  - adrenoceptor subtypes for (-) - noradrenaline in several isolated blood vessels from the rabbit. Br J Pharmacol 95: 473-484.

Daly CJ, McGrath JC, Wilson VG (1988) Evidence that the population of postjunctional - adrenoceptors mediating contraction of smooth muscle in the rabbit isolated ear vein is predominantly  $\alpha_2$ . Br J Pharmacol 94: 1085-1090.

Daniel EE, Low AM, Gaspar V, Lu Chao H, Green J, Akrong J, Duerksen S, Soyka C (1996) Unusual  $\alpha$ -adrenoceptor subtype in canine saphenous vein: comparison to mesenteric vein. Br J Pharmacol 117: 1535-1543.

Delbarre B and Schmitt H (1973) A further attempt to characterize sedative receptors activated by clonidine in chickens and mice. Eur J Pharmacol 22: 355-359.

Docherty JR, Ruffolo RR (1988) Evidence that the dog pulmonary artery contains a homogeneous population of  $\alpha_1$ -adrenoceptors. Br J Pharmacol 93: 22-28.

Docherty JR and Connaughton S (1991) Role and pharmacology of vascular pre- and postjunctional  $\alpha_2$ -adrenoceptors, In " Aspects of Synaptic Transmission" Ed T Stone, London.

Docherty JR, Macdonald A And Mc Grath JC (1979) Further sub-classification of  $\alpha$ -adrenoceptors in the cardiovascular system, vas deferens and anococcygeus muscle of the rat. Br J Pharmacol 67: 421-422.

Docherty JR, Starke K (1981) Postsynaptic alpha-adrenoceptor subtypes in rabbit blood vessels and rat anococcygeus muscle studied in vitro. J Cardiovasc Pharmacol 3:854p.

Docherty JR, Madjar H, Starke K (1980) An investigation of pre and postsynaptic  $\alpha$ -adrenoceptors in the rabbit hindlimb. Br J Pharmacol 72:120p.

Doğan N,(1982) Köpekte Femoral Arter ve Safen Vende Postsinaptik Alfa Adrenerjik Reseptörlerin Karşılaştırmalı İncelenmesi. Ankara

Dunn WR, McGrath JC, Wilson VG (1991) Postjunctional  $\alpha$ -adrenoceptors in the rabbit isolated distal saphenous artery: indirect sensitivity to prazosin of responses to noradrenaline mediated via postjunctional  $\alpha_2$ -adrenoceptors. *Br J Pharmacol* 103:1484-1492.

Flavahan NA, Vanhoutle PM (1986,a) Alpha-1 and Alpha-2 Adrenoceptor: Response Coupling in Canine Saphenous and Femoral Veins. *The Journal of Pharmacology* 238,131-138.

Flavahan NA, Vanhoutle PM (1986,b) Effect of Cooling on Alpha-1 and Alpha-2 Adrenergic Responses in Canine Saphenous and Femoral Veins. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 238,139-147.

Fowler PJ, Grous M, Price WD, Matthews W (1984) Pharmacological Differentiation of Postsynaptic Alpha Adrenoceptors in the Dog Saphenous Vein. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 299: 712-718.

Furuta T (1988) Precontraction- induced contractile response of isolated canine portal vein to alpha-2 adrenoceptor agonists. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 337: 525-530.

Grant JA, Scrutton MC (1980) Interaction of selective alpha-adrenoceptor agonists and antagonists with human and rabbit blood platelets. *British J Pharmacol* 71: 121.

Goldstein A (1971) *Biostatistics and Introductory Text*. The Mc Millan Co., New York.

Halliday CA, Jones BJ, Skingle M, Walsh DM, Wise H (1991) The pharmacology of fluparoxan: a selective alpha-2 adrenoceptor antagonist. *Br J Pharmacol* 102,887-895.

Isom LL And Limbird LE (1988) What happens next? A hypothesis linking the biochemical and electrophysiological sequelae of alpha-2 adrenergic receptor occupancy with the diverse receptor-mediated physiological effects, In "The Alpha-2 Adrenergic Receptors" Ed L Limbird, 323-363, Humana.

Langer SZ (1974) Presynaptic regulation of catecholamine release. *Biochem Pharmacol* 23: 1973-1800.

Lomasney JW, Cottechia S, Lorenz W, Leung W, Schwinn Y And Caron MG (1991) Molecular cloning and expression of the cDNA for the  $\alpha_{1A}$ - adrenergic receptor. *J Biol Chem* 266: 6365-6369.

Mabajoye A, Oriowo J, Hieble P And Ruffolo RR (1991) Evidence for heterogeneity of prejunctional alpha-2-adrenoceptors *Pharmacology* 43: 1-13.

Martinotti E, Breschi MC, Omini C, Pani M, Ciucci MA, Nieri P (1991) Comparative study of postsynaptic alpha-adrenoceptors in aorta obtained from human and other mammalian species. *Pharmacological Research* 23,57-69.

Mc Grath JC (1982) Evidence for more than one type of postjunctional  $\alpha$ -adrenoceptor. *Biochem Pharmacol* 31: 467-484.

Mey DJ, Vanhoutte PM (1981) Uneven Distribution of Postjunctional Alpha-1 and Alpha-2 like Adrenoceptors in Canine Arterial and Venous Smooth Muscle. *Cir Res* 48: 875-884.

Petras AC and Bylund DB (1986) Alpha<sub>2</sub>- adrenergic receptor subtypes indicated by [<sup>3</sup>H] yohimbine binding in human brain. *Life Sci* 38: 2129-2137.

Ruffolo RR and Zeid RL (1985) Relationship between  $\alpha$ -adrenoceptor occupancy and response for the  $\alpha$ -adrenoceptor agonist cirazolin and  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonist B-HT 933 in canine saphenous vein. *J Pharmacol Exp Ther* 235: 636-653.

Ruffolo RR, Waddell JR, Yaden EL (1981) Postsynaptic alpha adrenergic receptor subtypes differentiated by yohimbine in tissues from the rat. Existence of alpha<sub>2</sub>-adrenergic receptors in rat aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 217-235.

Schwin DA, Lomasney JW, Lorenz W, Szklut PJ, Fremeau RT, Yang-Feng T, Caron MG and Lefkowitz RJ (1990) Molecular cloning and expression of the cDNA for a novel adrenergic receptor subtype. *J Biol Chem* 265: 8181-8189.

Shepperson NB, Langer SZ (1981) The effects of 2-amino-tetrahydronaphthalene derivative a selective  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonist in vitro. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 318: 10-13.

Simonneauz V, Ebadi M And Bylund DB (1991) Identification and characterization of alpha-2d adrenergic receptors in bovine pineal gland. *Mol Pharmacol* 40: 235-241

Smith K, Connaughton S And Docherty JR (1992) Investigation of prejunctional  $\alpha_2$ -adrenoceptors in rat atrium, vas deferens and submandibular gland. *Eur J Pharmacol* 211: 251-256.

Sullivan AT, Drew GM (1980) Pharmacological characterisation of pre- and postsynaptic alpha-adrenoceptors in dog saphenous vein. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 314: 249-258.

Starke K And Docherty JR (1981) Alpha-1 and alpha-2 adrenoceptors: pharmacology and clinical implications. *J Cardiovasc Pharmacol* 3: 14-23.



Starke K, Montel H, Gayk W and Merker P (1974) Comparison of the effects of clonidine on pre- and postsynaptic adrenoceptors in the rabbit pulmonary artery. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 285: 133-150.

Starke K, Borowski E and Endo T (1975) Preferential blockade of presynaptic  $\alpha$ -adrenoceptors by yohimbine. Eur J Pharmacol 34: 384-388.

Steen S, Sjöberg T, Skarby T, Norgren L, Andersson KE (1984) The Postjunctional  $\alpha$ -Adrenoceptors of the Human Saphenous Vein. Acta Pharmacol et Toxicol 55: 351-357.

Timmermans PBMWM, Kwa HY and Van Zwieten PA (1979) Possible subdivision of postsynaptic alpha-adrenoceptors mediating pressor responses in the pithed rat. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 310: 189-193.

Wilson KM and Minneman KP (1990) Different pathways of [ $^3$ H] inositol phosphate formation mediated by  $\alpha_{1A}$ - and  $\alpha_{1B}$ -adrenergic receptors. J Biol Chem 265: 17601-17606.

## ÖZGEÇMİŞ

1966 yılında Almanya'nın Bonn şehrinde doğdu. İlk-orta ve lise öğrenimini Konya'da tamamladı. 1983 yılında İzmir Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesine girdi. 1989 yılında fakülteyi bitirdi. 1.5 yıl süre ile Erzurum- İspir ilçesinde mecburi hizmetini tamamladı ve 1992 yılında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesine tayin oldu. Halen SÜ. Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma hastanesinde hekim olarak çalışmaktadır.

Evli ve bir çocuk babasıdır.

## TEŞEKKÜR

Bana bu tezi vererek yetiŐmemi sağlayan, tezin oluŐumunda konu seğiminden yazımına kadar her aŐamada değerli yardımlarını esirgemeyen hocam, sayın Prof. Dr. Necdet DOĞAN' a teŐekkürü bir borç bilirim.

Dr. Hülügü BARIŞKANER

KASIM-1997