

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TAVŞAN VE KOBAY AORTASINDA
 α -ADRENERJİK RESEPTÖR AGONİST VE ANTAGONİSTLERİNE
VERİLEN CEVAPLARIN YAŞ VE TEMPERATÜR İLE İLİŞKİSİ**

(DOKTORA TEZİ)

Uzm. Kim. Müh. Kısmet Esra ATALIK
Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Ekrem ÇİÇEK

49794

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM BAKANLIĞI
DOKÜMANİZYON MERKEZİ

KONYA - 1996

İÇİNDEKİLER

BÖLÜM I

GİRİŞ 1

BÖLÜM II

LİTERATÜR BİLGİSİ2

BÖLÜM III

MATERYAL ve METOD8

III.1. Biyolojik preparatların hazırlanması8

III.2. Deneysel prosedür8

III.3. Besleyici solüsyon ve ilaçlar 10

III.4. İstatistiksel yöntemler..... 10

BÖLÜM IV

BULGULAR 12

IV.1. Agonist ve antagonistlere verilen cevapların yaş ile ilişkisi 12

IV.1.1. Agonistlere bağlı cevaplar 12

IV.1.2. Antagonistlere bağlı cevaplar 12

IV.2. Agonist ve antagonistlere verilen cevapların hipotermi ile ilişkisi 13

IV.2.1. Agonistlere bağlı cevaplar 13

IV.2.2. Antagonistlere bağlı cevaplar 13

IV.3. Agonist-antagonist etkileşmeleri 14

IV.3.1. Prazosin-fenilefrin etkileşmesi 14

IV.3.2. Yohimbin-klonidin etkileşmesi 14

BÖLÜM V

TARTIŞMA ve SONUÇ23

BÖLÜM VI

ÖZET (Türkçe)30

BÖLÜM VII

ÖZET (İngilizce)32

BÖLÜM VIII

KAYNAKLAR.....34

ÖZGEÇMİŞ..... 43

TEŞEKKÜR.....44

BÖLÜM I

GİRİŞ

Vasküler düz kaslı yapılarda postsinaptik yerleşim gösteren α - adrenerjik reseptörler, α_1 - ve α_2 -adrenerjik reseptörler şeklinde iki ana alt gruba ayrılırlar. Ancak hakim reseptör tipi türe ve dokuya göre değişmektedir. Bu nedenle vasküler düz kaslı yapılarda α - adrenerjik agonist ve antagonistlerle elde edilen cevaplar da farklı olabilmektedir.

Vasküler düz kaslı yapıların agonist ve antagonist ilaçlara cevap verebilirliğinde hakim reseptör tipine ilaveten kullanılan deneme hayvanı yaşı da önemli bir unsurdur. Bilindiği gibi insanlar ve hayvanlarda fizyolojik fonksiyonlar yaşa bağlı olarak değişmektedir. Bununla ilişkili olarak ilaçların farmakolojik etkilerine duyarlık da genç ve yaşlılarda farklı olabilmektedir. Literatürde α -adrenerjik reseptör agonist ve antagonistlerine verilen cevaplara yaşın etkisini araştıran birçok çalışma olmasına karşın elde edilen sonuçlar birbirleriyle çelişkilidir.

Yapılan birçok araştırmada vasküler düz kaslı yapıların noradrenalin, asetilkolin ve serotonin gibi kasıcı ajanlara verdiği cevabın ortamın temperatürüne göre de değişebileceği bilinmektedir.

Yukarıda da belirtildiği gibi, vasküler düz kaslı yapıların α -adrenerjik reseptör agonist ve antagonistlerine verdikleri cevaplar, dokudaki hakim reseptör tipine, kullanılan deneme hayvanının tür ve yaşına ve ayrıca ortamın temperatürüne göre de değişmektedir. Bu nedenle sunulan bu in vitro çalışmada genç ve erişkin yaşta bulunan tavşan ve kobaylardan izole edilen aorta preparatlarında, farklı temperatürlerde çalışılmış ve α -adrenerjik reseptör agonistlerinden fenilefrin ve klonidin, α -adrenerjik reseptör antagonistlerinden de prazosin ve yohimbin'e verilen cevaplar araştırılmıştır.

BÖLÜM II

LİTERATÜR BİLGİSİ

Adrenerjik reseptörler ilk defa 1948 yılında Ahlquist (1) tarafından, farmakolojik özelliklerine göre α - ve β -adrenerjik reseptörler şeklinde iki alt gruba ayrılmışlardır. Bu gelişmeyi takiben, α -adrenerjik reseptörlerle ilgili araştırmalar yoğunlaşmış ve Delbarre ve Schmitt (16) 1973 yılında α -adrenerjik reseptörlerin de α_1 - ve α_2 -adrenerjik reseptörler şeklinde iki ayrı tipinin varlığını göstermişlerdir. Daha sonra, 1979 yılında, Docherty ve arkadaşları (17) post-sinaptik membran üzerinde α_1 -adrenerjik reseptörler yanında α_2 -adrenerjik reseptörlerin de bulunduğunu ortaya koymuşlardır. Yakın zamanda gen klonlama tekniği kullanılarak α_1 -adrenerjik reseptörlerin α_{1A} , α_{1B} ve α_{1C} şeklinde üç alt-tipinin (46), α_2 -adrenerjik reseptörlerin de α_{2A} , α_{2B} , α_{2C} ve α_{2D} olmak üzere dört alt tipinin varlığı gösterilmiştir (9).

Çeşitli deneme hayvanlarından izole edilen aorta preparatlarında yapılan çalışmalar, tavşan ve kobay dahil olmak üzere birçok türde, postsinaptik membranda α -adrenerjik reseptörlerin her iki tipinin de bulunduğunu, ancak hakim reseptör tipinin α_1 -adrenerjik reseptörler olduğunu ortaya koymuştur (19). Buna karşın sadece birkaç dokuda örneğin, insan safen veni (14) ve femoral vende (29) α_2 -adrenerjik reseptörlerin daha yoğun olduğu saptanmıştır.

Kullanılan deneme hayvanı yaşının, vasküler düz kaslı yapılarda eksojen ajanlara verilen cevabı etkileyen önemli unsurlardan biri olduğu bilinmektedir. İnsanda ve çeşitli deneme hay-

vanlarında, in vivo ve in vitro şartlarda yapılan birçok çalışmada, α -adrenerjik reseptör agonistleriyle elde edilen cevapların yaşla ilişkisi araştırılmıştır. Ancak sonuçlar çok çelişkili bulunmuştur.

Yaşla ilgili çalışmalar çoğunlukla izole rat aortasında yapılmış olup (21), literatürde konuyla ilgili farklı sonuçlara rastlanmıştır. Örneğin, olgunlaşma döneminde rat ve tavşan aortasında α - adrenerjik reseptör agonistlerinden noradrenalin ve metoksamin kullanılarak yapılan in vitro çalışmalarda bu agonistlerin potenslerinin azaldığından (35, 41), anlamlı bir değişme olmadığından (33) ve hatta söz konusu agonistlerin potenslerinin arttığından (13) söz eden çalışmalar mevcuttur. Yaşlılık döneminde ise, rat aortasında α_1 -adrenerjik reseptör agonistlerine bağlı kasılma cevaplarının genellikle değişmediği kaydedilirken (20), cevabın azaldığı şeklinde sonuçlar da mevcuttur (18). Belirtilen bu çelişkilerin çoğu kez çalışılan yaş gruplarının farklı oluşuna bağlı olabileceği bildirilmiştir. Ancak yaşa bağlı bu tür değişikliklerin mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir.

Yukarıdaki örneklerde de görüldüğü gibi, farklı deneme hayvanlarından izole edilen aorta preparatlarında, α -adrenerjik reseptör agonistlerine verilen kasılma cevaplarıyla yaşın ilişkisini belirlemek amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Aorta preparatlarına ilaveten, koyun kulak arterinde (61), kobay ve tavşan renal arterlerinde (27) ve rat portal veninde (22) de çalışılmış olup, bu dokularda noradrenalin'e ait EC_{50} değerinin yaşa bağlı olarak değişmediği saptanmıştır. Buna karşın, koyun karotis arterinde ise aynı ajana ait EC_{50} değerinin yaşlılık döneminde azaldığı (22) görülmüştür.

Buchholz ve Duckles (8) tarafından 6, 12, 20 ve 27 aylık Fischer-344 ratlardan izole edilen kuyruk arterlerinde, noradrenalin rizinin presinaptik modülasyonuna yaşın etkileri araştırılmış ve 6 aylık grupta saliverilen noradrenalin miktarı, 12 aylık gruba kıyasla anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Buna karşın, 12 ve 27 aylık gruplar kıyaslandığında bu iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığı ortaya konmuştur.

Literatürlere bakıldığında α -adrenerjik reseptör aracılı cevapların yaşla ilişkisinin, ligand bağlama yöntemiyle de araştırıldığı görüldü. Örneğin, rat vaz deferensinde α_1 -adrenerjik bağlanma bölgelerinin olgunlaşma döneminde arttığı (53, 54), yaşlılık döneminde ise azaldığı (43) veya değişmediği (50), tavşan kalbinde yine yaşlılık döneminde azaldığı (15), rat kalbinde ise azaldığı (47) ve hatta arttığı (40) şeklinde çelişkili sonuçlara rastlandı. İnsan trombositlerinde ise yaşlılık döneminde α_2 -bağlanma bölgelerinin maksimum sayısının azaldığı (7) veya arttığı (62) ve hatta değişmediği (23) şeklinde sonuçlar mevcuttur.

Vasküler düz kaslı yapılarda α -adrenerjik reseptör antagonistleri ile elde edilen gevşeme cevaplarının kullanılan deneme materyali yaşına bağlı olarak ne şekilde değiştiği konusunda literatürde çok fazla bilgi bulunmamaktadır. Söz konusu antagonistlerden prazosin ve yohimbin'e verilen gevşeme cevaplarının yaşla ilişkisi konusunda, 37-70 yaşları arasında erkek hastaların koroner arter baypas greftlerinden arta kalan safen ven preparatlarında yapılan in vitro bir çalışmada, prazosin'in potensinde anlamlı bir değişiklik olmadığı, yohimbin'in potensinin ise yaşlılık döneminde α_2 - adrenerjik reseptörlerdeki kayba bağlı olarak azaldığı ileri sürülmüştür (34).

Aynı konuda β -adrenerjik reseptör agonistleriyle ve diğer gevşetici ajanlardan bazılarıyla geniş bir şekilde çalışılmış olup, vasküler düz kaslı yapılarda gevşetici ajanlara verilen cevaplarla yaş arasındaki ilişkinin sadece kullanılan vazoaaktif ajana bağlı olmadığı ayrıca deneme hayvanı türüne ve hatta dokuya göre de değişebildiği saptanmıştır (24,38,44). Nitekim, izole rat aortasında (49, 56), tavşan (26) ve rat mezenterinde (2) ve insandan izole edilen çeşitli dokularda (6) olgunlaşma döneminde β -adrenerjik reseptör aktivitesinde artma, yaşlılık döneminde ise aktivitede azalma olmaktadır. Takayanagi ve arkadaşları (55) cevaplardaki azalmayı β -adrenerjik reseptör sayısındaki azalmaya bağlarken, Ericson ve Lundholm (25)'a göre ise reseptörlerin β -agonistlere afinitesi azalmaktadır.

Bir başka çalışmada, 1, 2, 3, 6, 10, 32 ve 48 haftalık tavşanlardan izole edilen aorta preparatlarında potasyum (K^+) ve fenilefrin'e bağlı kasılma cevaplarının atrial natriüretik faktör (ANF) ve isoprenalin ile inhibisyonu araştırılmış olup, ANF 'ün çalışılan bütün yaş gruplarında konsantrasyona bağlı gevşemeler oluşturduğu, isoprenalin'e duyarlılığın ise yaşlanmaya bağlı olarak azaldığı bildirilmiştir (11). Hynes ve Duckles (36) izole perfüze rat mezenterik arterinde asetilkolin, histamin ve nitrogliserinle elde edilen gevşeme cevaplarının, Carvajal ve arkadaşları (10) ise, izole rat aortasında yine asetilkolin ve diğer muskarinik agonistlere bağlı gevşeme cevaplarının yaşla ilişkisini araştırmışlar ve olgunlaşma döneminde söz konusu ajanlara verilen gevşeme cevaplarının değişmediğini göstermişlerdir.

Tavşan ve kobay aortasında α -adrenerjik reseptör antagonistleriyle elde edilen gevşeme cevaplarının yaşa bağlı olarak ne şekilde değiştiği konusunda literatürde herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır.

Vasküler düz kaslı yapıların çeşitli agonist ve antagonistlere verdiği cevapların ortamın sıcaklığına göre de değişebileceği bilinmektedir. Ancak aortada ve diğer derin damarlarda düşük sıcaklığın, *in vitro* şartlarda, kasılma ve özellikle gevşeme cevaplarını ne şekilde etkilediği konusunda çok az bilgi bulunmaktadır. Bu konudaki çalışmaların daha çok safen ven, kuyruk arteri, kulak arteri ve el venleri gibi yüzeysel dokularda yoğunlaştığı bilinmektedir (31, 32). Karaki ve Nagase (37) tarafından izole rat aortasında yapılan bir çalışmada, banyo sıcaklığı 25 ile 41 C° arasında değiştirilerek 10^{-7} M noradrenalin'e verilen kasılma cevapları elde edilmiş olup, sonuçta 33 C°'nin altında kasılma cevabının anlamlı olarak azaldığı, 39 ve 41 C° arasında ise söz konusu cevabın 37 C°'ye kıyasla arttığı bildirilmiştir. Bu bulguya benzer şekilde Vanhoutte ve arkadaşları (59) soğuğa maruz bırakılan kutanöz venlerin kasılarak kanın yüzeysel derine sirkülasyonunu sağladığını, femoral ven gibi daha derin damarlarda ise bu esnada gevşeme oluştuğunu savunmuşlardır. Bu bulguyu destekleyen diğer bir çalışmada, sıcaklığın düşürülmesine bağlı olarak sempatik sinir stimülasyonuna verilen cevabın izole köpek safen veninde arttığı, femoral vende ise inhibe olduğu gösterilmiştir (58).

Daha önce de belirtildiği gibi, aortayı da içeren vasküler düz kaslı yapıların α -adrenerjik reseptör agonist ve antagonistlerine verdikleri cevaplar çelişkili olup, tavşan ve kobay aortasında belirtilen ajanlarla elde edilen cevapların düşük sıcaklıktan ne şekilde etkilendiği konusunda literatürde herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Bu nedenle sunulan bu in vitro çalışmada, tavşan ve kobaylardan 2-3 aylık genç ve 11-12 aylık erişkin olmak üzere iki farklı yaş grubu oluşturulmuş, bunlardan izole edilen aorta preparatlarında α -adrenerjik reseptör agonistlerinden fenilefrin, klo-nidin ve α -adrenerjik reseptör antagonistlerinden de prazosin ve yohimbin'e verilen cevaplar iki farklı sıcaklıkta araştırılmıştır.



BÖLÜM III

MATERYAL ve METOD

III-1. Biyolojik Preparatların Hazırlanması

Çalışmada, cinsiyet farkı gözetmeksizin seçilen 2-3 aylık (genç) ve 11-12 aylık (erişkin) New-Zeland türü tavşanlar ile 2-3 aylık (genç) ve 11-12 aylık (erişkin) kobaylar başlarına sert bir cisimle vurularak sersemletilip, a.carotisleri kesilmek suretiyle öldürüldüler. Göğüs açılarak torasik aorta süratli bir şekilde çıkarılıp çalışmada kullanılan besleyici solüsyona alındı. Çevre dokulardan temizlenen torasik aortadan 2-3 mm eninde ve yaklaşık 20 mm boyunda spiral şeritler hazırlandı. İzole organ banyosuna yerleştirilen preparatta çalışmada kullanılan ilaçlarla elde edilen cevaplar 10 kez büyütülerek kimograf tamburuna sarılı isli kağıt üzerine izotonik olarak kaydedildi.

III-2. Deneysel Prosedür

Yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanarak 37°C'de ısıtılan ve içerisinde 25 ml besleyici solüsyon bulunan izole organ banyosuna alınan preparatlar %95 O₂-%5 CO₂ karışımı ile sürekli olarak gazlandırıldı. Dokulara yaşlarına göre şu gerilimler uygulandı: Genç tavşan ve kobay aortası 1 gr, erişkin tavşan ve kobay aortası 1,5 gr.

Dokular 15 dakika arayla yıkanarak 90 dakika süreyle dinlenmeye bırakıldı.

Dinlenme periyodunun bitiminde, çalışmanın birinci bölümünde normal sıcaklıkta (37°C) çalışıldı. Her iki yaş grubundaki tavşan ve kobay aortasına kümülatif konsantrasyonda

α_1 -adrenerjik reseptör agonisti fenilefrin uygulandı. Maksimum kasılmaya ulaşıldığında kümülatif konsantrasyonda α_1 -adrenerjik reseptör antagonisti prazosin, kontrol deneylerde ise prazosin'in çözücüsü ilave edildi. Oluşan gevşeme cevapları ve maksimum gevşeme için geçen süre ($t_{1/2}$) gözlemlendi. Aynı işlem α_2 -adrenerjik reseptör agonisti klonidin ve bunun antagonisti yohimbin için de gerçekleştirildi. Çalışmanın ikinci bölümünde agonist ve antagonistlere verilen cevaplara hipoterminin etkisi araştırıldı. Bu amaçla ortamın temperaturü 28°C'ye düşürülerek normal temperaturde gerçekleştirilen prosedür tekrarlandı.

Çalışmanın üçüncü bölümünde ise, erişkin tavşan ve kobay aortasında, yukarıda belirtilen agonist ve antagonist ilaçlar arasındaki etkileşmeye bakıldı. Dokular, önce kümülatif konsantrasyonda uygulanan fenilefrin ile kasıldı. Maksimum kasılmaya ulaştıktan sonra doku belirli aralıklarla besleyici solüsyonla yıkanarak bazal düzeye inildi. Ortama, 10^{-8} M prazosin ilave edilerek 20 dakika süreyle inkübasyon yapıldı. Bu sürenin sonunda yukarıda belirtildiği şekilde fenilefrin uygulanarak oluşan cevaplar gözlemlendi. Aynı işlem 10^{-7} M prazosin varlığında tekrarlandı. Kontrol amacı ile çalışılan dokularda ise inkübasyon aşamasında ortama prazosin'in çözücüsü konuldu. Prazosin-fenilefrin etkileşmesini araştırmak amacıyla yapılan bu işlemler, yohimbin'in iki farklı konsantrasyonu (10^{-7} , 10^{-6} M) kullanılarak klonidin için de benzer şekilde tekrarlandı.

Çalışmalarda herbir dokuda sadece bir agonist ve antagonist denendi.

III-3. Besleyici Solüsyon ve İlaçlar

Deneyleerde kullanılan Krebs-Henseleit solüsyonunun içeriği mM olarak şöyledir:

NaCl	119.00
KCl	4.70
MgSO ₄	1.50
KH ₂ PO ₄	1.20
CaCl ₂	2.50
NaHCO ₃	25.00
Glukoz	11.00

Deneyleerde aşağıda belirtilen agonist ve antagonist ilaçlar kullanıldı:

Fenilefrin hidroklorür (Sigma), klonidin hidroklorür (Sigma), prazosin hidroklorür (Pfizer), yohimbin hidroklorür (Sigma).

Prazosin hidroklorür, metilalkol-hidroklorik asid karışımında diğer ilaçlar ise distile suda eritildi. Belirtilen konsantrasyonlar ilaçların baz ağırlıkları üzerinden hesaplanarak her doz banyoya 0.1 ml hacim içerisinde ilave edildi.

III-4. İstatistiksel Yöntemler

Agonist ilaçların oluşturduğu maksimum kasılma cevabının %50'sini sağlayan konsantrasyonlar (EC₅₀), her deneyin log konsantrasyon-cevap eğrilerinden elde edilerek pD₂ (-log EC₅₀) şeklinde ifade edildi. Antagonist ilavesinden sonra gözlenen gevşeme cevapları, agonistle elde edilen maksimum kasılma cevabının %'si olarak değerlendirildi ve maksimum gevşemenin %50'sini sağlayan

antagonist konsantrasyonu IC_{50} şeklinde gösterildi. Maksimum gevşeme için gerekli olan sürenin %50'si de dakika cinsinden hesaplanarak, $t_{1/2}$ şeklinde verildi.

Antagonist ilaçların etkinliklerini gösteren pA_2 değerleri Arunlakshana-Schild (3) metoduna göre hesaplandı.

Çalışmada elde edilen değerler, ortalama \pm standart hata şeklinde belirtildi. Ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel anlamlılık derecesi Student'in "t" testi ile hesaplandı (30). Grup içi analizlerde eşleştirilmiş ve gruplar arası analizlerde de eşleştirilmemiş test uygulandı. Bu hesaplamalar aşağıdaki formüllere göre yapıldı:

Eşleştirilmiş t testi:

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

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

Eşleştirilmemiş t testi:

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

S = Standart sapma

\bar{x} = Aritmetik ortalama

n = Deneme sayısı

p değerinin 0,05'den küçük bulunması durumunda ortalamalar arasındaki fark anlamlı kabul edilmiştir.

BÖLÜM IV

BULGULAR

IV-1. Agonist ve antagonistlere verilen cevapların yaş ile ilişkisi

IV-1.1. Agonistlere bağlı cevaplar

Kümülatif konsantrasyonda uygulanan fenilefrin ve klonidin, genç ve erişkin tavşan ve kobay aortasında konsantrasyona bağımlı bir şekilde kasılmalar oluşturmuştur (Şekil 1, 2). Fenilefrin ve klonidin'e ait doz-cevap eğrilerinden EC_{50} değerleri elde edilerek buradan pD_2 ($-\log EC_{50}$) değerleri hesaplanmıştır.

Fenilefrin ve klonidin'e ait pD_2 değerleri genç ve erişkin gruplar için Tablo 1'de gösterilmiş olup, erişkin tavşan ve kobay aortasında bu değer, genç grupta elde edilen değere göre anlamlı olarak büyük bulunmuştur ($p<0.05$).

IV-1.2. Antagonistlere bağlı cevaplar

Genç ve erişkin tavşan ve kobay aortasına kümülatif konsantrasyonda uygulanan fenilefrin ve klonidin ile maksimum kasılma cevapları elde edildikten sonra banyoya kümülatif konsantrasyonlarda ilave edilen prazosin veya yohimbin, doza bağımlı bir şekilde gevşemeye neden olmuştur (Şekil 3, 4).

Tavşan ve kobay aortasında prazosin ve yohimbin'e ait IC_{50} değerleri, genç ve erişkin gruplar arasında karşılaştırıldığında, her iki türde de anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$). Benzer şekilde, her iki α -adrenerjik reseptör antagonistinin % maksimum gevşetici

etkileri ve $t_{1/2}$ değerleri açısından da genç ve erişkin gruplar arasında istatistiksel anlamda belirgin bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Tablo 2'de antagonist ilaçlara ait IC_{50} , % maksimum gevşeme ve $t_{1/2}$ değerleri gösterilmiştir.

IV-2. Agonist ve antagonistlere verilen cevapların hipotermi ile ilişkisi

IV-2.1. Agonistlere bağlı cevaplar

Tavşan ve kobay aortasında, 37°C'de kümülatif konsantrasyonda uygulanan fenilefrin ve klonidin'e ait pD_2 değerleri, daha önce de belirtildiği gibi, hesaplanmıştır. Çalışmanın bu bölümünde farklı dokular kullanılmış olup, ortam temperaturü 28°C'ye ayarlanarak hipotermi oluşturulmuş ve agonistlere ait kümülatif doz-cevap eğrilerinden EC_{50} değerleri elde edilerek, buradan pD_2 değerleri hesaplanmıştır (şekil 5, 6).

Tavşan ve kobay aortasında, her iki yaş grubunda da, 28°C'de fenilefrin ve klonidin'e ait pD_2 değerlerinin (Tablo 3), 37°C'de elde edilen değerlere göre anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır ($p< 0.05$).

IV-2.2. Antagonistlere bağlı cevaplar

Tavşan ve kobay aortasında 28 °C'de, kümülatif tarzda uygulanan fenilefrin ve klonidin ile maksimum kasılma cevapları elde edildikten sonra banyoya kümülatif konsantrasyonlarda ilave edilen prazosin veya yohimbin, doza bağımlı gevşemeye neden olmuştur (şekil 7, 8).

Tavşan ve kobay aortasında 28 °C'de, prazosin ve yohimbin'e ait IC_{50} , % maksimum gevşeme ve $t_{1/2}$ değerleri Tablo 4'te gösterilmiştir. 37 ve 28 °C'de bu değerler karşılaştırıldığında, her iki yaş grubunda da, antagonistlere ait % maksimum gevşetici etkinin temperatüre bağlı olarak değişmediği, IC_{50} ve $t_{1/2}$ değerlerinin ise 28 °C'de anlamlı olarak daha düşük olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

IV-3. Agonist-antagonist etkileşmeleri

IV-3.1. Prazosin-fenilefrin etkileşmesi

Çalışmada kullanılan agonist ve antagonist ilaçlar arasındaki etkileşmeyi araştırmak amacıyla erişkin tavşan ve kobay aortasına kümülatif konsantrasyonda uygulanan fenilefrin, konsantrasyona bağlı olarak kasılma oluşturmuştur. Fenilefrin kontrol konsantrasyon-cevap eğrisi elde edildikten sonra ortama iki farklı konsantrasyonda prazosin konulması, fenilefrin konsantrasyon-cevap eğrilerini, her iki türde de anlamlı olarak sağa kaydırmış ve fenilefrinle elde edilen maksimum kasılma cevabında bir değişiklik olmamıştır. Prazosin-fenilefrin etkileşmesinde elde edilen pD_2 değerleri Tablo 5'te gösterilmiştir.

Prazosin'in çözücüsü ile yapılan kontrollerde çözücüye bağlı bir etki gözlenmemiştir.

IV-3.2. Yohimbin-klonidin etkileşmesi

Kümülatif konsantrasyonda uygulanan klonidin, her iki türde de, konsantrasyona bağlı bir şekilde kasılmalara neden olmuştur. Ortamda yohimbin varlığında kontrol konsantrasyon-cevap eğrileri

paralel bir şekilde sağa kaymış ve klonidinle elde edilen maksimum cevap değişmemiştir. Yohimbin-klonidin etkileşmesinde elde edilen pD_2 değerleri Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 6'da da görüldüğü gibi, her iki türde de, prazosin-fenilefrin etkileşmesinde elde edilen pA_2 değerleri, yohimbin-klonidin etkileşmesinde elde edilen değerlerden anlamlı olarak büyüktür ($p<0.05$).



Tablo 1: 37 °C'de Agonistlere Ait pD_2 Değerleri

Doku	Agonist	Yaş (Ay)	pD_2	n
Tavşan Aorta	Fenilefrin	2 - 3	$5.932 \pm 0.230^*$	6
		11 - 12	6.809 ± 0.081	6
	Klonidin	2 - 3	$4.846 \pm 0.167^*$	6
		11 - 12	5.407 ± 0.146	6
Kobay Aorta	Fenilefrin	2 - 3	$5.856 \pm 0.125^*$	6
		11 - 12	6.307 ± 0.101	6
	Klonidin	2 - 3	$5.290 \pm 0.097^*$	6
		11 - 12	5.749 ± 0.174	6

* : $p < 0.05$; 11-12 aylık grupta elde edilen değere göre

Tablo 2: 37 °C'de Antagonistlere Ait IC_{50} ve $t_{1/2}$ Değerleri

Doku	Antagonist	Yaş (Ay)	IC_{50} ($\times 10^{-5}M$)	% max. gevşeme	$t_{1/2}$ (dak)	n
Tavşan Aorta	Prazosin	2 - 3	0.759 ± 0.203	100	40.20 ± 4.918	6
		11 - 12	0.628 ± 0.078	100	45.30 ± 3.028	6
	Yohimbin	2 - 3	10.00 ± 0.565	100	29.44 ± 3.280	6
		11 - 12	15.00 ± 2.235	100	38.74 ± 4.300	6
Kobay Aorta	Prazosin	2 - 3	0.610 ± 0.173	100	35.70 ± 5.385	6
		11 - 12	0.773 ± 0.216	100	34.34 ± 5.794	6
	Yohimbin	2 - 3	3.850 ± 0.771	100	20.90 ± 4.420	6
		11 - 12	4.564 ± 1.959	100	33.22 ± 4.917	6

Tablo 3: 28 °C'de Agonistlere Ait pD_2 Değerleri

Doku	Agonist	Yaş (Ay)	pD_2	n
Tavşan Aorta	Fenilefrin	2 - 3	$4.853 \pm 0.205^*$	6
		11 - 12	$5.371 \pm 0.163^{**}$	6
	Klonidin	2 - 3	$4.268 \pm 0^*$	6
		11 - 12	$4.266 \pm 0.073^{**}$	6
Kobay Aorta	Fenilefrin	2 - 3	$5.151 \pm 0.076^*$	6
		11 - 12	$5.099 \pm 0.198^{**}$	6
	Klonidin	2 - 3	$4.801 \pm 0.109^*$	6
		11 - 12	$4.507 \pm 0.086^{**}$	6

* : $p < 0.05$; 37°C'de 2-3 aylık grupta elde edilen değere göre

** : $p < 0.05$; 37°C'de 11-12 aylık grupta elde edilen değere göre

Tablo 4: 28 °C'de Antagonistlere Ait IC_{50} ve $t_{1/2}$ Değerleri

Doku	Antagonist	Yaş (Ay)	IC_{50} ($\times 10^{-5}$ M)	% max. gevşeme	$t_{1/2}$ (dak)	n
Tavşan Aorta	Prazosin	2 - 3	0.186 ± 0.048^a	100	27.10 ± 3.025^b	6
		11 - 12	0.317 ± 0.109^c	100	33.90 ± 2.109^d	6
	Yohimbin	2 - 3	0.173 ± 0.070^a	100	6.08 ± 0.880^b	6
		11 - 12	2.273 ± 1.588^c	100	10.33 ± 2.620^d	6
Kobay Aorta	Prazosin	2 - 3	0.088 ± 0.010^a	100	22.05 ± 1.445^b	6
		11 - 12	0.163 ± 0.041^c	100	24.50 ± 2.365^d	6
	Yohimbin	2 - 3	0.845 ± 0.357^a	100	17.35 ± 1.234^b	6
		11 - 12	0.058 ± 0.026^c	100	14.85 ± 0.393^d	6

a) $p < 0.05$; 37°C'de 2-3 aylık grupta elde edilen IC_{50} değerine göre

b) $p < 0.05$; 37°C'de 2-3 aylık grupta elde edilen $t_{1/2}$ değerine göre

c) $p < 0.05$; 37°C'de 11-12 aylık grupta elde edilen IC_{50} değerine göre

d) $p < 0.05$; 37°C'de 11-12 aylık grupta elde edilen $t_{1/2}$ değerine göre

Tablo 5: Prazosin-Fenilefrin ve Yohimbin-Klonidin Etkileşmelerinde Elde Edilen pD_2 Değerleri

Doku	Agonist	Kontrol pD_2	Antagonist	pD_2
Tavşan Aorta	Fenilefrin (n = 6)	6.344 ± 0.256	Prazosin 10 ⁻⁸ , 10 ⁻⁷ ,	5.113 ± 0.078* 4.265 ± 0.039*
	Klonidin (n = 6)	5.278 ± 0.075	Yohimbin 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁶ ,	4.775 ± 0.057* 4.042 ± 0.036*
Kobay Aorta	Fenilefrin (n = 6)	5.908 ± 0.213	Prazosin 10 ⁻⁸ , 10 ⁻⁷ ,	4.758 ± 0.192* 3.878 ± 0.191*
	Klonidin (n = 6)	5.292 ± 0.298	Yohimbin 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁶ ,	5.063 ± 0.365* 4.540 ± 0.289*

* : p<0.05 (Kontrol pD_2 değerine göre)

n : Deneme sayısı

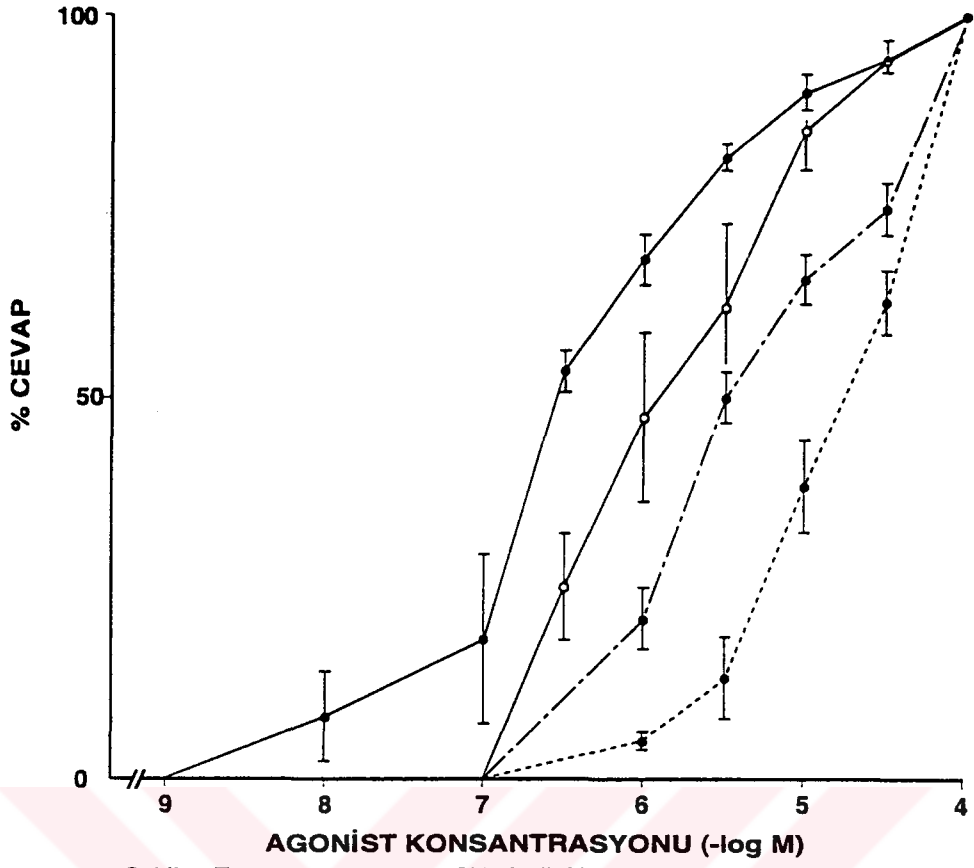
Tablo 6: Prazosin-Fenilefrin ve Yohimbin-Klonidin Etkileşmelerinde Elde Edilen pA_2 Değerleri

Doku	Agonist	Antagonist	pA_2	Eğim
Tavşan Aorta	Fenilefrin	Prazosin (n = 6)	8.325 ± 0.143 ^a	1.012 ± 0.156
	Klonidin	Yohimbin (n = 6)	7.378 ± 0.093	0.875 ± 0.057
Kobay Aorta	Fenilefrin	Prazosin (n = 6)	8.003 ± 0.113 ^b	0.927 ± 0.047
	Klonidin	Yohimbin (n = 6)	6.625 ± 0.072	0.930 ± 0.148

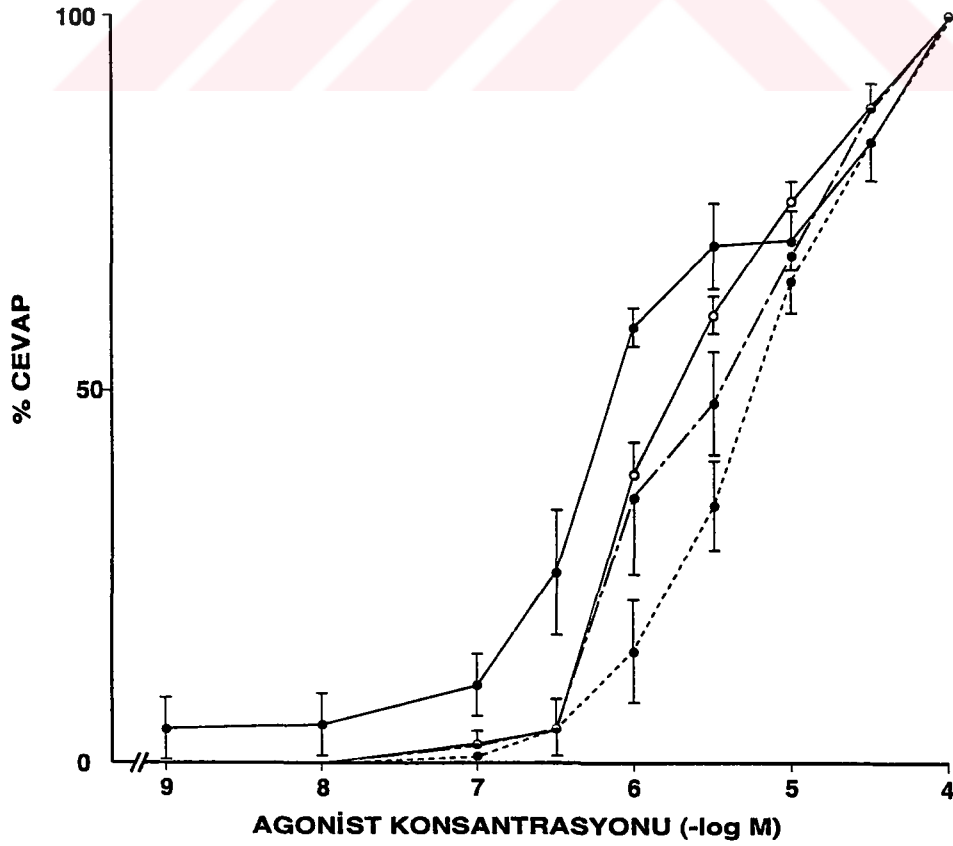
a) p<0.05 ; Tavşan aortasında yohimbin-klonidin etkileşmesinde elde edilen değere göre

b) p<0.05 ; Kobay aortasında yohimbin-klonidin etkileşmesinde elde edilen değere göre

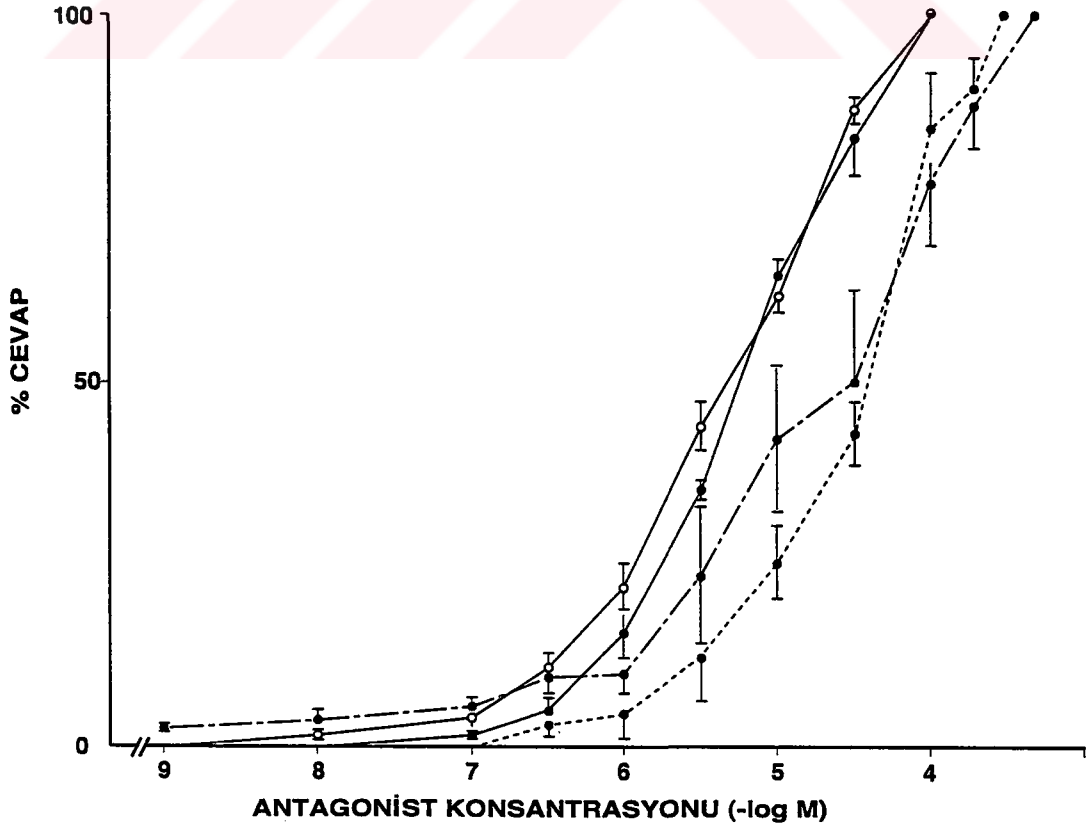
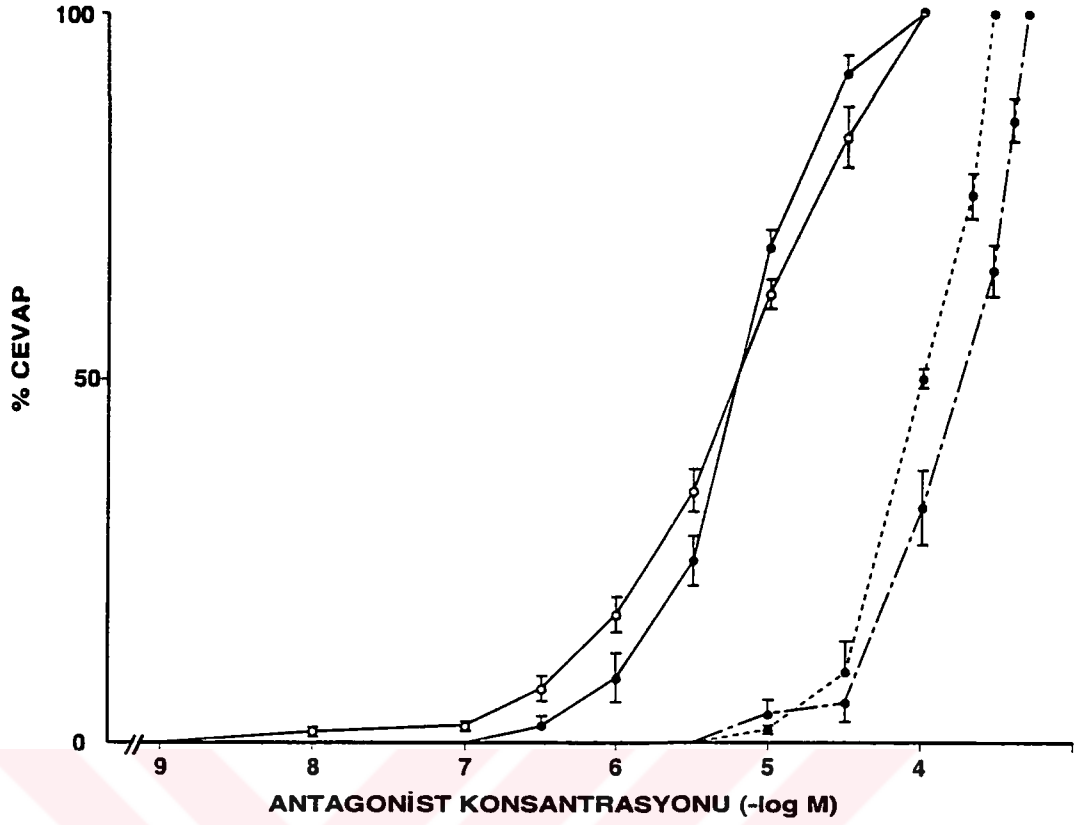
n : Deneme sayısı

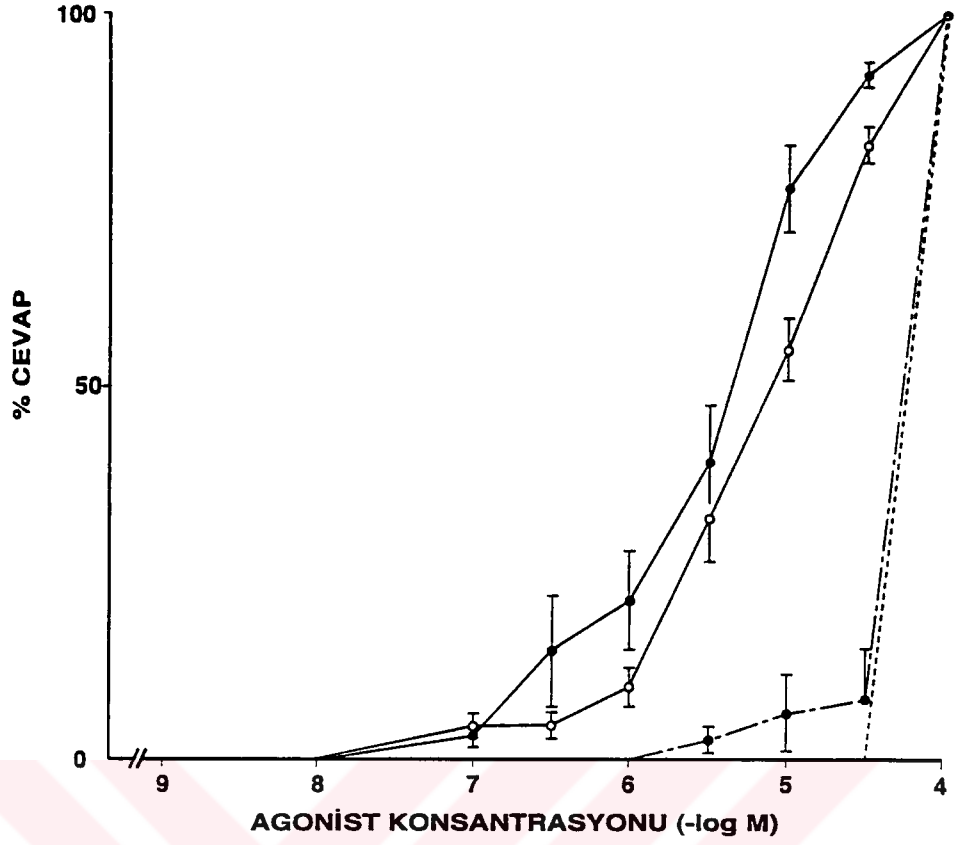


Şekil 1: Tavşan aortasında 37°C'de fenilefrin (2-3 ay ○—○ ; 11-12 ay ●—●) ve klonidin (2-3 ay ●- - - - ● ; 11-12 ay ●- - - - ●)'in etkisi

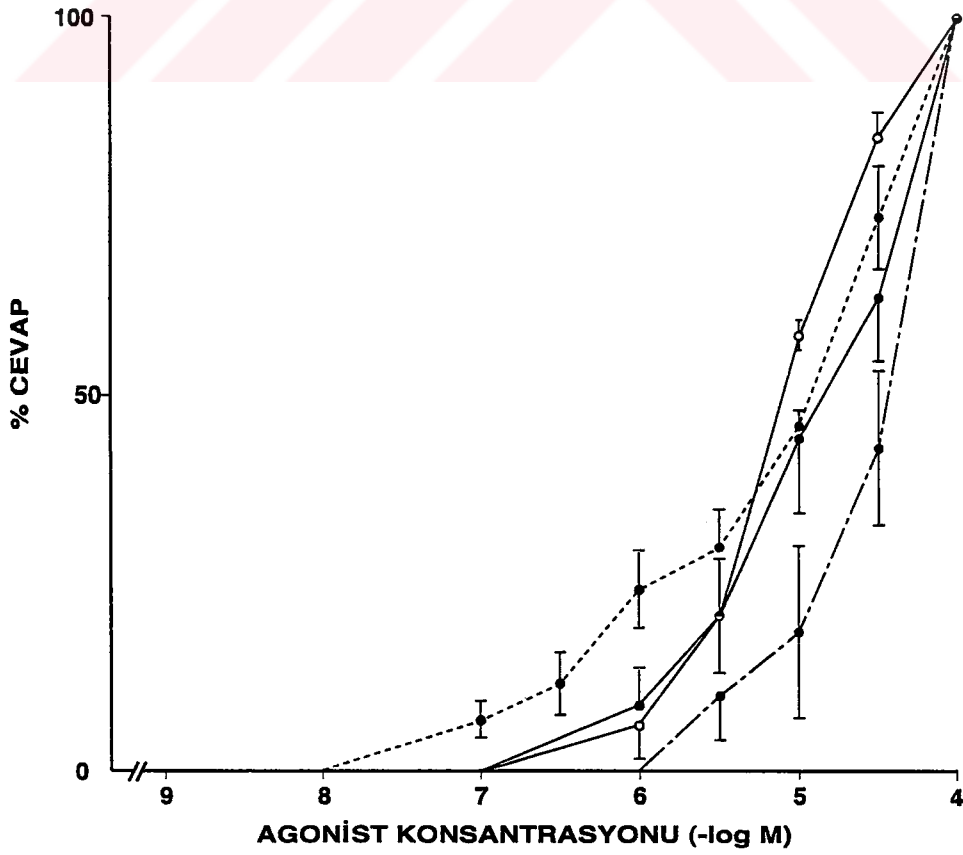


Şekil 2: Kobay aortasında 37°C'de fenilefrin (2-3 ay ○—○ ; 11-12 ay ●—●) ve klonidin (2-3 ay ●- - - - ● ; 11-12 ay ●- - - - ●)'in etkisi

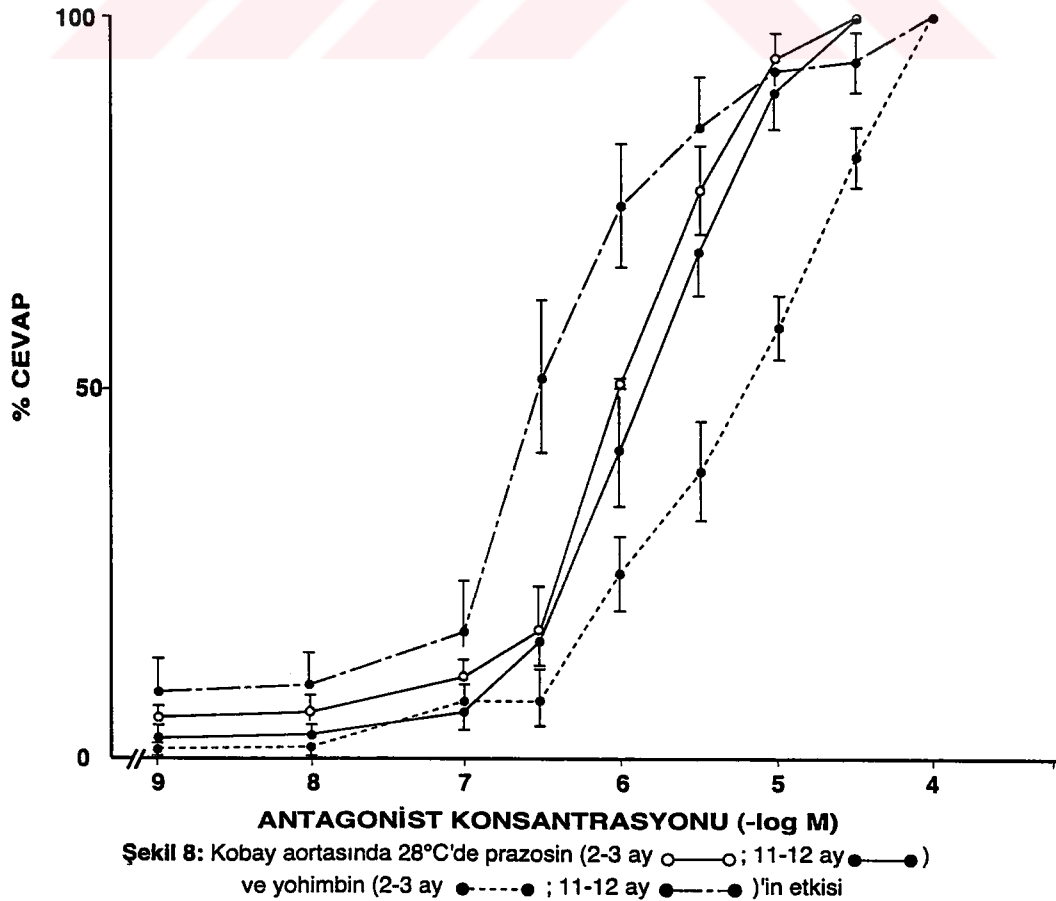
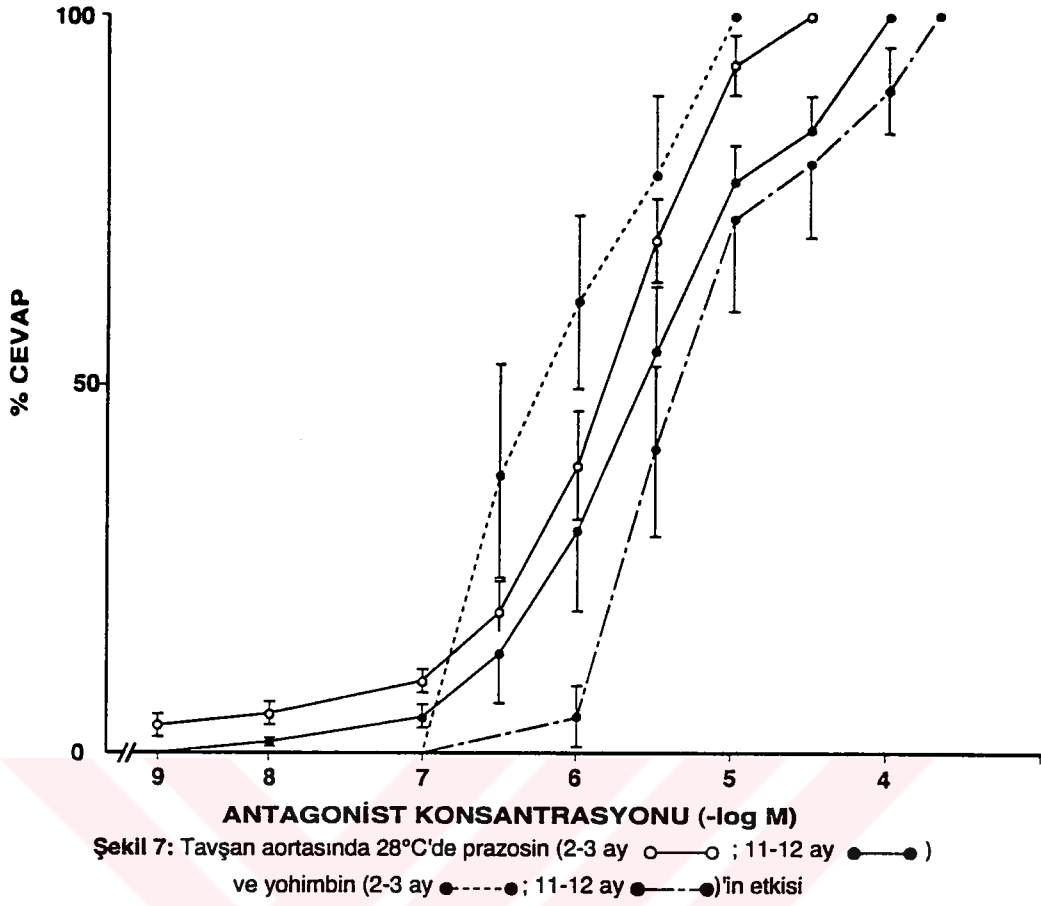




Şekil 5: Tavşan aortasında 28°C'de fenilefrin (2-3 ay ○—○ ; 11-12 ay ●—●) ve klonidin (2-3 ay ●- - -● ; 11-12 ay ●- - -●)'in etkisi



Şekil 6: Kobay aortasında 28°C'de fenilefrin (2-3 ay ○—○ ; 11-12 ay ●—●) ve klonidin (2-3 ay ●- - -● ; 11-12 ay ●- - -●)'in etkisi



BÖLÜM V

TARTIŞMA ve SONUÇ

Vasküler düz kaslı yapıların agonist ve antagonist ilaçlara cevap verebilirliğinin kullanılan deneme hayvanının tür ve yaşına ve ayrıca ortamın temperaturüne göre de değişebileceği bilinmektedir. Bu çalışmada tavşan ve kobaylardan genç ve erişkin olmak üzere iki farklı yaş grubu oluşturulmuş ve bunlardan izole edilen aorta preparatlarında, normal temperaturde α -adrenerjik reseptör agonist ve antagonistlerine verilen cevaplar hipotermik ortamda elde edilen bulgularla mukayese edilmiştir.

Tavşan ve kobay aortasında postsinaptik α -adrenerjik reseptörlerin her iki alt tipinin de bulunduğu ve bunların aktivite edilmesiyle kasılma oluştuğu bilinmektedir. Sunulan bu in vitro çalışmada, α_1 -adrenerjik reseptör agonisti fenilefrin ve α_2 -adrenerjik reseptör agonisti klonidin, genç ve erişkin tavşan ve kobaylardan izole edilen aorta preparatlarında doza bağımlı bir şekilde kasılmalar oluşturmuştur. Fenilefrin ve klonidin'e ait pD_2 değerleri erişkin tavşan ve kobay aortasında genç gruba nazaran anlamlı olarak büyük bulunmuştur. Bu durum, her iki agonistin de afinitesinin olgunlaşma döneminde arttığını göstermektedir. Benzer şekilde, 1, 3, 6, 10, 32 ve 48 haftalık tavşanlardan izole edilen aortada yapılan bir çalışmada (11), fenilefrin'in afinitesinin olgunlaşmaya bağlı olarak arttığı bildirilmiştir. Hyland ve arkadaşları (35) 1.5, 3, 6 ve 24 aylık ratlardan izole edilen aortada fenilefrine bağlı maksimum kasılma cevabının 6 ve 24 aylık grupta, 1.5 aylık genç gruba nazaran anlamlı olarak büyük olduğunu ve bu farkın,

genç grupta damar duvarının ince oluşuna bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu bölümde elde edilen sonuçlar, Cohen ve Berkowitz (12) ile Takayanagi ve Koike (56)'in izole rat aortasında noradrenalin ve serotonin'e duyarlılığın yaşa bağlı olarak arttığı şeklindeki bulgularıyla da uyumludur. Söz konusu araştırmacılar, genç hayvandan izole edilen aortada duyarlılığın düşük oluşunu düz kas kitlesinin az oluşuna bağlamışlar ve yaşla birlikte kas miktarının da arttığını vurgulamışlardır. Bu konuda izole rat vaz deferensinde yapılan bir çalışmada (40) noradrenalin'e ait pD_2 değerinin, yaşlı grupta genç gruba nazaran anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmış ve noradrenalin'e duyarlılıktaki bu artış, yaşlılık döneminde reseptörlerin total dansitesindeki artışa bağlanmıştır. Yine bu çalışmadaki bulguları destekler şekilde, tavşan üretrasında fenilefrin ve klonidin'in afinitelerinin yaşa bağlı olarak arttığı bildirilmiştir (63).

α -Adrenerjik reseptör agonistlerine verilen cevaplarla yaşın ilişkisi konusunda literatürde çelişkili sonuçlara da rastlanmaktadır. Nitekim, Mc Adams ve Waterfall (42) tarafından izole rat aortasında yapılan bir araştırmada, bu çalışmadaki bulgularla çelişkili olarak, noradrenalin, metoksamin ve fenilefrin'e ait EC_{50} değerlerinin 50 haftalık grupta 5 haftalık gruba nazaran anlamlı olarak yüksek olduğu belirtilmiş ve bu sonuç uyarı-kasılma mekanizmasının bir modifikasyonu ya da reseptör sayısındaki değişmeye bağlı olarak agonist cevapları azalmakta olabilir, şeklinde yorumlanmıştır. Kenakin (39) aynı tür ve yaştaki hayvanlardan alınan dokularda dahi, çalışmaların farklı laboratuvarlarda yapılmış olmasından kaynaklanan çelişkili sonuçların alınabildiğini bildirmiştir.

α - Adrenerjik reseptör antagonistlerinden prazosin ve yohimbin'e verilen gevşeme cevapları ile yaş arasındaki ilişkinin çalışıldığı bölümde ise, her iki antagonist için bulunan IC_{50} , % maksimum gevşeme ve $t_{1/2}$ değerlerinin yaşa bağlı olarak değişmediği görülmüştür. Farklı dokularda yapılan in vitro çalışmalarda, selektif α_1 - ve α_2 - adrenerjik reseptör antagonistlerinin, α -adrenerjik aktivasyonu önleme potenslerinin yaşa bağlı olarak değişmediği saptanmıştır (43, 57).

Bu bölümdeki bulguları destekler şekilde, rat vaz deferensi ve aortada yapılan in vitro bir çalışmada, vaz deferenste selektif α_2 - adrenerjik reseptör antagonistleri, Wy 26392 ve yohimbin'in, aortada ise α_1 -adrenerjik reseptör antagonistleri indoramin ve prazosin'in potenslerinde yaşa bağlı anlamlı bir değişikliğe rastlanmamıştır (42).

Bu konuda farklı gevşetici ajanlarla yapılan çalışmalarda da buradaki sonuçlara benzer bulgular elde edilmiştir. Örneğin, izole rat aortasında histamin ve sodyum nitroprusid'in afinitelerinin olgunlaşma döneminde değişmediği (10), benzer şekilde izole rat mezenterik arterinde yapılan bir başka çalışmada da nitrogliserin ve adenzin'e ait doz-cevap eğrilerinde, genç ve yaşlı gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadığı bildirilmiştir (12).

Gevşetici ajanlarla elde edilen cevapların yaşla ilişkisi konusunda da literatürde çelişkili sonuçlara rastlanmış olup, söz konusu ajanların potensi de kullanılan deneme hayvanı türüne ve/veya çalışılan dokuya göre olgunlaşma ve/veya yaşlanma döneminde değişebilmekte ya da aynen kalmaktadır. Nitekim, Shimizu ve Toda (51) izole köpek mezenterik ve serebral arterlerinde yaptıkları bir çalışmada, prostasiklinle elde edilen gevşeme cevabının mezenterik arterde yaşa bağlı olarak değişmediğini, serebral arterde ise yaşlılık döneminde anlamlı olarak azaldığını ileri sürmüşlerdir.

Sunulan bu çalışmada, genç ve erişkin gruplar için prazosin ve yohimbin'e ait IC_{50} , % maksimum gevşeme ve $t_{1/2}$ değerleri açısından, her iki türde de, anlamlı bir fark bulunamamıştır. Daha önce de belirtildiği gibi agonistlerin potensleri olgunlaşma döneminde artarken, antagonistlerin duyarlığında anlamlı bir değişikliğin olmayışı, damar yapısındaki ya da reseptör sayısındaki değişiklikten çok, yaşa bağlı değişikliklerin incelendiği birçok çalışmada da belirtildiği gibi, daha başka faktörlerin rol oynayabileceğini ve bunun için de daha ileri araştırmaların gerektiğini düşündürmektedir.

Çalışmanın bu bölümünde, tavşan ve kobay aortasında normal temperatürde, fenilefrin ve klonidin'e verilen cevapların düşük temperatürde ne şekilde değiştiği, iki farklı yaş grubunda da araştırılmış olup, her iki türden izole edilen aorta preparatında da düşük temperatürde agonistlerin potenslerinin anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Tavşan ve kobay aortasında α -adrenerjik reseptör agonistlerine bağlı kasılma cevaplarının temperatür ile ilişkisi konusunda literatürde herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Bununla birlikte izole rat aortasında, endotele bağlı gevşeme cevaplarına düşük temperatürün etkilerini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada (37), 10^{-7} M noradrenalinle elde edilen kasılma cevabının $33^{\circ}C$ 'nin altında azaldığı, temperatür $39^{\circ}C$ 'nin üzerine çıkarıldığında ise cevabın yaklaşık %30 oranında arttığı bildirilmiştir. Ayrıca, bu konuda aorta gibi derin damarlar olan femoral arter ve femoral vende yapılan çalışmalar da mevcuttur. Örneğin, izole tavşan femoral arterinde fenilefrin ve B-HT 920 ile elde edilen cevaplara düşük temperatürün etkisini araştırmak amacıyla yapılan

bir çalışmada (28), buradaki bulgulara benzer şekilde, düz kasta bulunan α -adrenerjik reseptörlerin aktivasyonlarının düşük temperatürde azalmasına bağlı olarak, fenilefrin afinitesinin yaklaşık altı kez azaldığı ve B-HT 920 ile elde edilen kasılma cevabının da anlamlı olarak inhibe olduğu bildirilmiştir. Vanhoutte ve Flavahan (60) izole köpek femoral veninde fenilefrin, UK 14304 ve nor-adrenalinle elde edilen kasılma cevaplarının düşük temperatürde inhibe olduğunu, bunun da reseptör rezervindeki değişikliğe bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Sunulan bu in vitro çalışmada, tavşan ve kobay aortasında her iki yaş grubunda da normal temperatürde prazosin ve yohimbin'e verilen cevapların düşük temperatürde ne şekilde değiştiği de araştırılmış olup, antagonistlere ait % maksimum gevşeme cevapları değişmeksizin, IC_{50} değerlerinin düşük temperatürde anlamlı olarak azaldığı, bu sonuca paralel olarak $t_{1/2}$ değerlerinin de anlamlı olarak düşük olduğu gözlenmiştir. Hipotermik ortamda antagonistler daha düşük konsantrasyonda %100 inhibisyon yaptıklarından, muhtemelen bununla ilişkili olarak gevşeme için geçen süre de kısalmış olabilir. Nitekim literatürde düşük temperatürde α - adrenerjik reseptör antagonistlerinin, agonistlere bağlı düz kas kasılmalarını inhibe etme güçleri ve $t_{1/2}$ değerleri açısından inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Agonist-antagonist etkileşmesinde antagonistlerin etkinliklerini gösteren pA_2 değeri ile yaş arasındaki ilişki konusunda literatürde, söz konusu değerlerin yaşa bağlı olarak değişmediği saptanmıştır. Ni-

tekim Takayanagi ve Koike (56) rat aortasında prazosin'e. Mc Adams ve arkadaşları (41) ise, yine rat aortasında indoramin ve prazosin ile vaz deferenste yohimbin ve Wy 26392'ye ait pA_2 değerlerinde, yaşa bağlı anlamlı bir farkın olmadığını vurgulamışlardır.

Sunulan bu çalışmada, agonist-antagonist etkileşmesini ve antagonistlere ait pA_2 değerlerini saptamak amacıyla erişkin tavşan ve kobay aortası kullanılmıştır. Bu aşamada fenilefrin ve klonidin, doza bağımlı bir şekilde ve tekrarlanabilir nitelikte kasılmalar oluşturmuştur. Ortama iki farklı konsantrasyonda prazosin veya yohimbin ilavesi, kontrol fenilefrin ve kontrol klonidin doz-cevap eğrilerini paralel bir şekilde ve anlamlı olarak sağa kaydırmış ve agonistlere ait maksimum kasılma cevapları değişmemiştir. Schild çiziminde eğim 1'den farksız bulunmuştur.

Prazosin-fenilefrin etkileşmesi için pA_2 değerleri tavşan ve kobay aortasında sırasıyla 8.325 ± 0.143 ve 8.003 ± 0.113 olarak hesaplanmıştır. Aynı etkileşmeyle ilgili olarak tavşan aortasında yapılan bir çalışmada (48) prazosin için pA_2 değeri 8.40 ± 0.07 olarak bulunmuş ve %95 güvenirlilik sınırları 8.20-8.60 olarak belirtilmiştir. Tavşan aortasında prazosin için elde edilen değer, yukarıda belirtilen değerler arasında yer almaktadır. Benzer şekilde rat vaz deferensinde yapılan bir çalışmada (45) aynı etkileşme için hesaplanan pA_2 değeri 8.20, köpek safen veninde ise 8.15 olarak hesaplanmış olup, bu çalışmada bulunan değer, belirtilen sonuçlarla uyumludur.

Kobay aortasında α_1 -adrenerjik reseptör agonisti olarak St 587'nin denendiği bir çalışmada (4), prazosin için pA_2 değeri 8.270 ± 0.170 olarak hesaplanmıştır. Bu değer, kobay aortasında prazosin için hesaplanan değerden farksız olduğu görülmektedir.

Sunulan bu çalışmada, yohimbin-klonidin etkileşmesi de araştırılmış olup, yohimbin için pA_2 değeri tavşan ve kobay aortasında sırasıyla 7.378 ± 0.093 ve 6.625 ± 0.072 olarak bulunmuştur. Tavşan aortasında yapılan bir çalışmada (52) aynı etkileşme için hesaplanan pA_2 değerinin (7.548 ± 0.096) bu çalışmada bulunan değerden farksız olduğu görülmüştür. Bir başka çalışmada (4) ise, kobay aortasında söz konusu etkileşme için pA_2 değeri 6.220 ± 0.320 olarak bulunmuş olup, bu değer burada hesaplanan değerden farksızdır. Yine yohimbin-klonidin etkileşmesinin araştırılması amacıyla, tavşan pulmoner arterinde yapılan bir çalışmada (61), pA_2 değeri 6.630 olarak bulunmuştur. Bu değer, kobay aortasında yohimbin için hesaplanan değerden farksız olduğu görülmektedir. Bunlara ilaveten bu çalışmada, prazosin-fenilefrin etkileşmesinde hesaplanan pA_2 değeri, yohimbin-klonidin etkileşmesinde elde edilen değerden anlamlı olarak büyük bulunmuştur. Bu bulgu, diğer bazı araştırmacıların (4,5) bulgularıyla da uyumludur.

Sonuç olarak, 2-3 aylık genç ve 11-12 aylık erişkin tavşan ve kobaylardan izole edilen aorta preparatlarında yapılan bu çalışmada, 37°C 'de fenilefrin ve klonidin'e ait pD_2 değerlerinin erişkin grupta genç gruba kıyasla anlamlı olarak büyük olduğu, prazosin ve yohimbin'e ait IC_{50} ve $t_{1/2}$ değerlerinin ise yaşa bağlı olarak değişmediği, buna karşın 28°C 'de ise agonistlere ait pD_2 değerlerinin her iki yaş grubunda da anlamlı olarak azaldığı, bunlara ilaveten erişkin tavşan ve kobay aortasında prazosin-fenilefrin ve yohimbin-klonidin arasındaki etkileşmelerin kompetitif antagonizma tipine uyduğu saptanmıştır.

BÖLÜM VI**ÖZET**

α_1 -ve α_2 -Adrenerjik reseptör agonist ve antagonistleriyle elde edilen cevaplara yaşın ve hipoterminin etkilerini araştırmak amacıyla yapılan bu in vitro çalışmada, 2-3 aylık genç ve 11-12 aylık erişkin tavşan ve kobay aortaları kullanılmıştır.

Aorta, şerit haline getirildikten sonra 37°C'de, %95 O₂-%5 CO₂ karışımı ile sürekli olarak gazlandırılan Krebs-Henseleit solüsyonu içerisine alınarak, kümülatif konsantrasyonda uygulanan fenilefrin ve klonidin'e verilen kasılma cevapları elde edilmiştir. Bunu takiben kümülatif konsantrasyonda prazosin ve yohimbin uygulanmış ve oluşan gevşeme cevapları kaydedilmiştir. Fenilefrin ile çalışılan dokuda prazosin, klonidin ile çalışılan dokuda ise yohimbin kullanılmıştır. Çalışmanın bir diğer bölümünde ise, ortam sıcaklığı 28°C'de sabit tutularak aynı prosedür tekrarlanmıştır. 11-12 aylık erişkin tavşan ve kobay aortasında, fenilefrin ve klonidin'e ait pD₂ değerleri, 2-3 aylık genç gruba kıyasla anlamlı olarak büyük bulunurken, prazosin ve yohimbin'e ait IC₅₀ ve t_{1/2} değerlerinde yaşa bağlı anlamlı bir fark gözlenmemiştir. 28°C'de ise agonistlere ait pD₂ değerleri ile antagonistlere ait IC₅₀ ve t_{1/2} değerleri, her iki yaş grubunda da, normal sıcaklığa kıyasla anlamlı olarak azalmıştır.

Erişkin tavşan ve kobay aortasında, 37°C'de antagonistlere ait pA₂ değerlerini saptamak amacıyla yapılan çalışmalarda ise, her iki türde de prazosin-fenilefrin etkileşmesinde hesaplanan pA₂ değeri yohimbin-klonidin etkileşmesinde elde edilen değerden anlamlı olarak büyük bulunmuştur.

Sonuç olarak, diğer birçok dokuda olduğu gibi, in vitro Őart-
larda tavşan ve kobay aortasında da α -adrenerjik reseptör ago-
nistlerine verilen cevapların yaşa ve ortam temperatürüne, söz ko-
nusu reseptör antagonistlerine verilen cevapların ise yalnızca
ortam temperatürüne bağlı olarak değişebileceği görülmüştür.



BÖLÜM VII**SUMMARY****INTERACTION WITH AGE AND TEMPERATURE OF THE
RESPONSES TO α -ADRENERGIC RECEPTOR AGONISTS
AND ANTAGONISTS IN THE RABBIT AND GUINEA-PIG AORTAS**

In this *in vitro* study, young (2-3 months old) and mature (11-12 months old) rabbit and guinea-pig aortas have been used to investigate the effects of maturation and hypothermia on the responses of α_1 - and α_2 -adrenergic receptor agonists and antagonists.

The strips were suspended in Krebs-Henseleit solution maintained at 37°C and bubbled with a gas mixture containing 95% oxygen and 5% carbondioxide and the contractile responses of cumulative concentrations of phenylephrine and clonidine were obtained. Then prazosin and yohimbine were applied cumulatively and responses were recorded. Prazosin was used on the tissue contracted with phenylephrine and yohimbine was used on the tissue contracted with clonidine. In another part of the investigation, the same procedure was applied at a constant temperature of 28°C. As the pD_2 values of phenylephrine and clonidine were significantly greater in the aortas from mature rabbits and guinea-pigs than from young groups, no age-related changes in the IC_{50} and $t_{1/2}$ values of prazosin and yohimbine were detected in both aortas. At 28°C, the pD_2 values of agonists, and the IC_{50} and $t_{1/2}$ values of antagonists were significantly lower than of 37°C.

However it was studied to determine the pA_2 values of antagonists in aortas from mature rabbits and guinea-pigs, at 37°C,

and was found that, the values for prazosin against phenylephrine were significantly greater than the values obtained with yohimbine against clonidine in both species.

In conclusion, as it's seen in many other tissues, in in vitro conditions on rabbit and guinea-pig aortas, the responses to α -adrenergic receptor agonists were altered with age and temperature although the responses to antagonists were altered with the temperature only.



BÖLÜM VIII**KAYNAKLAR**

1. Ahlquist, R.P. (1948) A study of the adrenergic receptors, Am. J. Physiol., 153, 586-600.
2. Altura, B.M. and Altura, B.T. (1977) Some physiological factors in vascular reactivity. I. Ageing in vascular smooth muscle, and its influence on reactivity; in Carrier, Shibata, Factors influencing vascular reactivity, PP 169-188.
3. Arunlakshana, O. and Schild, H.O. (1959) Some quantitative uses of drug antagonists, Br. J. Pharmacol. Chemother, 14, 48-58.
4. Beckeringh, J.J., Thoolen, M.J.M.C., De Jonge, A., Wilfert, B., Timmermans, P.B. M.W.M. and Van Zwieten, P.A. (1984a) Differential effects of the calcium entry blocker D 600 on contractions, of rat and guinea-pig aortas, elicited by various alpha-1 adrenoceptor agonists, J. Pharmacol. Exp. Ther., 229, 2, 515-521.
5. Beckeringh, J.J., Thoolen, M.J.M.C., De Jonge, A., Wilfert, B., Timmermans, B.M.W.M. and Van Zwieten, P.A. (1984 b) The contractions induced in rat and guinea-pig aortic strips by the α_2 -adrenoceptor selective agonists B-HT 920 and UK 14304 are mediated by α_1 -adrenoceptors, Eur. J. Pharmacol., 104, 197-203.

6. Bertel, O., Buhler, F.R., Kiowski, W. and Lutold, B.E. (1980) Decreased beta-adrenoceptor responsiveness as related to age, blood pressure and plasma catecholamines in patients with essential hypertension, *Hypertension*, 2, 130-138.
7. Brodde, O.E., Anlauf, M., Graben, N. and Buck, K.D. (1982) Age dependent decrease of α_2 - adrenergic receptors number in human platelets. *Eur. J. Pharmacol.*, 81, 345-347.
8. Buchholz, J. and Duckles, S.P. (1990) Effect of age on pre-junctional modulation of norepinephrine release, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 252, 1, 159-252.
9. Bylund, D.B. (1992) Subtypes of α_1 -and α_2 -adrenergic receptors, *FASEB J.*, 6, 832-839.
10. Carvajal, A., Shafii, M. and Docherty, J.R. (1989) Effects of maturation and ageing on the response to vasodilators in the rat aorta, *Br. J. Pharmacol.*, 96, 190.
11. Chemtob, S., Guest, I., Potvin, W. and Varma, D.R. (1991) Ontogeny of responses of rabbit aorta to atrial natriuretic factor and isoproterenol, *Dev. Pharmacol. Ther.*, 16, 108-115.
12. Cohen, M.L. and Berkowitz, B.A. (1974) Age-related changes in vascular responsiveness to cyclic nucleotides and contractile agonists, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 191, 1, 147-155.
13. Cohen, M.L. and Berkowitz, B.A. (1976) Vascular contraction: Effects of age and extracellular calcium. *Blood Vessels*, 13, 139-154.

14. Connaughton, S. and Docherty, J.R. (1988) Evidence that SK&F 104078 does not differentiate between pre and post-junctional α_2 -adrenoceptor. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 338, 379- 382
15. Dalrymple, H.W., Hamilton, C.A. and Reid, J.L. (1982) The effect of age on peripheral α_2 - adrenoceptors in vivo and in vitro in the rabbit, *Br. J. Pharmacol.*, 77, 322.
16. Delbarre, B. and Smith, H. (1973) A further attempt to characterize sedative receptors activated by clonidine in chickens and mice, *Eur. J. Pharmacol.*, 22, 355-359.
17. Docherty, J.R., MacDonald, J.A. and McGrath, J.C. (1979) Further subclassification of α -adrenoceptors in the cardiovascular system, *vaz deferens* and *anococcygeus* muscle of the rat, *Br. J. Pharmacol.*, 67, 421-422.
18. Docherty, J.R. (1986) Aging and the cardiovascular system, *J. Auton. Pharmacol.*, 6, 77-84.
19. Docherty, J.R. (1987) No evidence for more than one type of α -adrenoceptor in rabbit pulmonary artery, *Br. J. Pharmacol.*, 91, 329.
20. Docherty, J.R. (1989) The pharmacology of α_1 - and α_2 -adrenoceptors: Evidence for and against a further subdivision. *Pharmac. Ther.*, 44, 241-284.
21. Docherty, J.R. (1990) Cardiovascular responses in ageing, *Pharm. Rev.*, 42, 103-127.

22. Duckles, S.P. and Banner, W.Jr. (1984) Changes in vascular smooth muscle reactivity during development. *A. Rev. Pharmacol.*, 24, 65- 83.
23. Elliott, J.M. and Grahame-Smith, D.G. (1982) The binding characteristics of [³H] dihydroergocryptine on intact human platelets, *Br. J. Pharmacol.*, 76, 121.
24. Emmick, J.T. and Cohen, M.L. (1986) Aging and vasodilatation to atrial peptides. *Clin. and Exp. Theory and Prac.*, A 8 (1), 75-90.
25. Ericsson, E. and Lundholm, L. (1975) Adrenergic beta-receptor activity and cyclic AMP metabolism in vascular smooth muscle, variations with age, *Mech. Ageing Develop.*, 4, 1.
26. Fehn, P.A. and McCluskey, R.S. (1971) Response of fetal mesenteric microvascular system to catecholamines, *Microvasc. Res.*, 3, 104-109.
27. Gallen, D.D., Cowen, T., Griffith, S.G., Haven, A.J. and Burnstock, G. (1982) Functional and non-functional nerve-smooth muscle transmission in the renal arteries of the newborn and adult rabbit and guinea-pig, *Blood Vessels*, 19, 237-246.
28. Garcia-Villalon, A.L., Monge, L., Montaya, J.J., Garcia, J.L. Fernandez, N., Gomez, B. and Dieguez, G. (1992) Cooling and response to adrenoceptor agonists of rabbit ear and femoral artery: role of endothelium, *Br. J. Pharmacol.*, 106, 727-732.

29. Gluso, E. and Markwardt, F. (1983) Characterization of post-junctional α -adrenoceptors in isolated human femoral veins and arteries. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 323, 101-105.
30. Goldstein, A. (1971) *Biostatistics and Introductory Text*, The McMillan Co., New York.
31. Gomez, B., Borbujo, J., Garcia-Villalon, A.L., Nava-Hernandez, E., Valle, J., Garcia, J.L. and Dieguez, G. (1991) Alpha₁ and alpha₂-adrenergic response in human isolated skin arteries during cooling, *Gen. Pharmacol.*, 221, 341-346.
32. Harker, C.T., Ousley, P.J., Bownan, C.J. and Porter, J.M. (1991) Cooling augments alpha₂-adrenoceptor mediated contractions in rat tail artery, *Am. J. Physiol.*, 260, H 1166 - H 1171.
33. Hayashi, S. and Toda, N. (1978) Age-related changes in the response of rabbit isolated aortae to vasoactive agents, *Br. J. Pharmacol.*, 64, 229-237.
34. Hyland, L. and Docherty, J.R. (1985) An investigation of age-related changes in pre-and postjunctional α -adrenoceptors in human saphenous vein, *Eur. J. Pharmacol.*, 114, 361-364.
35. Hyland, L., Warnock, P. and Docherty, J.R. (1987) Age-related alterations in α_1 -and β -adrenoceptor mediated responsiveness of rat aorta, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 335, 50 - 53.
36. Hynes, M.R. and Duckles, S.P. (1987) Effect of increasing age on the endothelium-mediated relaxation of rat blood vessels in vitro, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 241, 387.

37. Karaki, H. and Nagase, H. (1987) Low temperature augments the endothelium - dependent relaxation in isolated rat aorta.. Eur. J. Pharmacol., 142, 129-132.
38. Kawai, Y. and Ohhashi, T. (1990) Age-related changes in relaxant response of vascular smooth muscles to atrial natriuretic peptide. J. Pharmacol. Exp. Ther., 252, 1234-1239.
39. Kenakin, T.P. (1984) The classification of drugs and drug receptors in isolated tissues, Pharm. Rev., 36, 3, 165-172.
40. Lai, R.T., Watanabe, Y. and Yoshida, H. (1983) The influence of aging on α -adrenoceptors in rat heart and vas deferens, Japan J. Pharmacol., 33, 241-245.
41. McAdams, R.P., Lattimer, N., Phodes, K.F. and Waterfall, J.F. (1985) The effects of age on activation of pre-and postsynaptic α -adrenoceptors in the rat, Br. J. Pharmacol., 86, 494.
42. McAdams, R.P. and Waterfall, J.F. (1986) The effect of age on the sensitivity of pre-and postsynaptic alpha-adrenoceptors to agonists and antagonists in the rat, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 334, 430-435.
43. Miyamoto, A. and Ohshika, H. (1989) Age-related changes in [3 H] prazosin binding and phosphoinositide hydrolysis in rat ventricular myocardium, Gen. Pharmacol., 20, 647-651.
44. Moritoki, H., Hosoki, E. and Ishida, Y. (1986) Age-related decrease in endothelium - dependent dilator response to histamine in rat mesenteric artery, Eur. J. Pharmacol., 126, 61-67.

45. Muramatsu, I., Oshita, M. and Yamanaka, K. (1983) Selective alpha-2 blocking action of DG-5128 in the dog mesenteric artery and rat vas deferens, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 227, 194-198.
46. Muramatsu, I., Ohmura, T., Kigoshi, S., Hashimoto S. and Oshita, M. (1990) Pharmacological subclassification of α_1 -adrenoceptors in vascular smooth muscle, *Br. J. Pharmacol.*, 99, 197- 201.
47. Partilla, J.S., Hoopes, M.T., Ito, H., Dax, E.M. and Roth, G.S. (1982) Loss of rat ventricular α_1 -adrenergic receptors during aging, *Life Sciences*, 31, 2507-2512.
48. Rezaki, Y.E. and İlhan, M. (1991) Evaluation of α -adrenoceptor agonistic activity of RDS-127 (2-di-n-propylamino-4,7-dimethoxyindane) in rabbit and rat aortae, *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 310, 76-86.
49. Sawyer, R. and Docherty, J.R. (1987) Reduction with age in the relaxation to β -adrenoceptor agonists and other vasodilators in rat aorta, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 336, 60-63.
50. Schaffer, W. and Williams, R.S. (1986) Age dependent changes in expression of α_1 - adrenergic receptors in rat myocardium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 138, 387 - 391.
51. Shimizu, I. and Toda, N. (1986) Alterations with age of the response to vasodilator agents in isolated mesenteric arteries of the beagle, *Br. J. Pharmacol.*, 89, 769-778.

52. Şahin, A.S. (1994) Tavşanda vaz deferens ve aortada Flu-paroksan'ın pre- ve postsinaptik α -adrenerjik reseptör bloke edici etkisi, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
53. Takayanagi, I., Koike, K., Maeda, O. and Ishizuka, M. (1986) A difference in alpha- adrenoceptor mechanisms in vasa deferentia isolated from young and old rats, *Jpn. J. Pharmacol.*, 41, 533-536.
54. Takayanagi, I., Maeda, O. and Koike, K. (1987) Postsynaptic α_1 -adrenoceptor mechanisms in rat vaz deferens and ageing, *J. Pharm. Pharmacol.*, 36, 754-757.
55. Takayanagi, I., Shinkai, M. and Yamasawa, K. (1989) Effects of ageing on α_1 -adrenoceptor mechanisms and inhibitory effect of diltiazem on noradrenaline maximum response in isolated rat aortic preparation, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 67, 1398-1402.
56. Takayanagi, I. and Koike, K. (1991) Effects of aging on post-synaptic α_1 -adrenoceptor mechanisms in rat aorta, *Gen. Pharmac.*, 22, 2, 211-218.
57. Toda, N. and Shimizu, E. (1987) Neuroeffector function in mesenteric arteries isolated from beagles of different ages, *J. Pharmacol.Exp. Ther.*, 240, 223-227.
58. Vanhoutte, P.M. and Lorenz, R.R. (1970) Effect of temperature on the reactivity of saphenous, mesenteric and femoral veins of the dog. *Am. J. Physiol.*, 218, 1746-1750.

59. Vanhoutte, P.M., Cooke, J.P., Lindblad, L.E., Shepherd, J.T. and Flavahan, N.A. (1985) Modulation of postjunctional α -adrenergic responsiveness by local changes in temperature. *Clin. Sci.*, 68 (Suppl. 10), 121-123.
60. Vanhoutte, P.M. and Flavahan, N.A. (1986) Effects of temperature on α - adrenoceptors in limb veins: role of reseptor reserve. *FASEB*, 45, 9, 2347-2354.
61. Wyse, D.G., Van Peiten, G.R. and Harris, W.H. (1977) Responses to electrical stimulation, noradrenaline, serotonin and vasopressin in the isolated ear artery of the developing lamb and ewe, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 55, 1001-1006.
62. Yokoyama, M., Kusui, A., Sakamoto, S. and Fukuzaki, H. (1984) Age-associated increments in human platelet α -adrenoceptor capacity. Possible mechanism for platelet hyperactivity to epinephrine in aging man, *Thromb. Res.*, 34, 287.
63. Yoshida, M., Latifpour, J., Tadashi, N. and Weiss, R.M. (1991) Pharmacological characterization of alpha-adrenergic receptors in the young and old female rabbit urethra, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 257, 3, 1100-1108.

ÖZGEÇMİŞ

1966 yılı Konya doğumluyum. İlk ve orta öğrenimimi de bu ilde tamamladım. 1983 yılında Selçuk Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Kimya Mühendisliği bölümüne başladım ve 1987 yılında bitirdim. 1989 yılında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'na uzman olarak atandım. Aynı yıl bu bölümde Yüksek Lisansımı tamamladım, halen aynı görevime devam etmekteyim.

Evli ve bir çocuk annesiyim.

TEŞEKKÜR

Çalıőmamın her aşamasında yardım ve ilgilerini esirgemeyen hocam ve danıőmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Ekrem ÇIÇEK'e ve bölüm başkanımız hocam Sayın Prof. Dr. Necdet DOĞAN'a teşekkür ederim.

Uzm. Kısmet Esra ATALIK

Ocak 1996, KONYA