

**37942**

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TAVŞANDA VAZ DEFERENS VE AORTADA  
FLUPAROKSAN'IN PRE- VE POSTSİNAPTİK  
 $\alpha$ - ADRENERJİK RESEPTÖR BLOKE EDİCİ ETKİSİ**

(DOKTORA TEZİ)

**Uzm. Ecz. Ayşe Saide ŞAHİN**  
Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman:  
**Prof. Dr. Necdet DOĞAN**

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

KONYA - 1994

# İÇİNDEKİLER

## BÖLÜM I

<i>GİRİŞ</i> .....	1
--------------------	---

## BÖLÜM II

<i>LİTERATÜR BİLGİSİ</i> .....	2
--------------------------------	---

## BÖLÜM III

<i>MATERYAL ve METOD</i> .....	8
III - 1. Biyolojik preparatların hazırlanması .....	8
III - 2. Deneysel prosedür .....	8
III - 3. Besleyici solüsyon ve ilaçlar .....	10
III - 4. İstatistiksel yöntemler .....	11

## BÖLÜM IV

<i>BULGULAR</i> .....	12
IV - 1. Tavşan vaz deferensinde agonistlerin etkileri ve antagonistlerle etkileşmeleri .....	12
IV - 1.1. Klonidinin etkileri .....	12
IV - 1.2. B-HT 933'ün etkileri .....	13
IV - 2. Tavşan aortasında agonistlerin etkileri ve antagonistlerle etkileşmeleri .....	13
IV - 2.1. Klonidinin etkileri .....	13
IV - 2.2. B-HT 933'ün etkileri .....	14

## BÖLÜM V

<i>TARTIŞMA ve SONUÇ</i> .....	21
--------------------------------	----

## BÖLÜM VI

<i>ÖZET (Türkçe)</i> .....	27
----------------------------	----

## BÖLÜM VII

<i>ÖZET (İngilizce)</i> .....	29
-------------------------------	----

## BÖLÜM VIII

<i>KAYNAKLAR</i> .....	31
<i>ÖZGEÇMİŞ</i> .....	38
<i>TEŞEKKÜR</i> .....	39

# **BÖLÜM I**

## **GİRİŞ**

Adrenerjik sinir ucundan saliverilen noradrenalinle aktive edilen  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörler şeklinde iki ana alt gruba ayrıldıkları bilinmektedir. Düz kaslı yapıların çoğunda bu iki tip reseptör daha ziyade postsinaptik yerleşim gösterirken, presinaptik uçta hakim reseptör tipinin  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörler olduğu saptanmıştır. Son yıllarda presinaptik yerleşim gösteren  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörleri spesifik ve selektif olarak bloke eden ilaçlar üzerindeki çalışmalar yoğunlaşmıştır.  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör blokörlerinin, adrenerjik sinir ucundan noradrenalin saliverilmesini artırmaları ve böylece sinaptik aralıkta noradrenalin konsantrasyonunu yükseltmeleri, bu ilaçların endojen depresyon ve diğer bazı durumlarda kullanılmalarının temelini oluşturmaktadır.

Fluparoksan,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörleri bloke eden ve bu özelliği nedeniyle klinikte antidepresan ilaç olarak kullanılma olasılığı bulunan yeni bir ajandır. Literatürde, bu maddenin pre- ve postsinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörler üzerine olan etkisini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, tavşan vaz deferens ve aorta preparatında gerçekleştirilen bu çalışmada,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonisti olarak klonidin ve B-HT 933 kullanılmış, fluparoksanın pre- ve postsinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörler üzerine olan etkinliği belirlenerek, elde edilen bulgular oldukça tanınmış bir  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör antagonisti olan yohimbinle bulunan sonuçlarla karşılaştırılmıştır.

## **BÖLÜM II**

### **LİTERATÜR BİLGİSİ**

#### **Adrenerjik Reseptörler**

Sempatik sinir sisteminin organizmada bir çok fonksiyonun homeostatik regülasyonunda rol oynadığı bilinmektedir. Memeli sempatik sinir sisteminin uyarılmasıyla oluşan etkilere aracılık eden, noradrenalinin aktive ettiği adrenerjik reseptörler (Adrenoseptörler), farmakolojik özelliklerine göre ilk kez 1948 yılında Ahlquist tarafından iki büyük gruba ayrılmış ve  $\alpha$ - ve  $\beta$ - adrenerjik reseptörler olarak isimlendirilmişlerdir (1).

$\alpha$ -Adrenerjik reseptörlerin homojen bir grup oluşturmadığı ve bunların  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörler şeklinde isimlendirilen iki ayrı tipinin bulunduğu ilk kez 1973 yılında Delbarre ve Schmitt (13) tarafından ortaya atılmıştır. Bu gelişmeden sonra, 1974 yılında Langer (27) belirtilen reseptör alt tiplerini anatomik yerleşimlerine göre değerlendirerek, efektör hücre membranında bulunanları  $\alpha_1$ -alt tipi ve adrenerjik sinir ucunda bulunanları da  $\alpha_2$ -alt tipi şeklinde isimlendirmiştir. 1979 yılında Docherty, MacDonald ve McGrath (14), yaptıkları bir 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. Benzer bulgu, aynı yıl Timmermans ve Van Zwieten (49) tarafından da desteklenmiştir.

1982 yılına kadar yapılan birçok in vivo ve in vitro çalışmada  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin yukarıda belirtilen iki farklı tipinin bulunduğu kabul edilerek, adrenerjik nöroefektör kavşakta pre- ve postsinaptik yerleşim gösteren  $\alpha$ -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  $pA_2$ ,  $pK_B$ ,  $IC_{50}$  ve  $EC_{50}$  gibi değerler mukayese edilmiştir. Belirtilen tarihe kadar yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda selektif  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör agonisti olarak daha ziyade fenilefrin ve metoksamin,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonisti olarak da klonidin, ksilazin ve  $\alpha$ -metilnoradrenalinin kullanıldığı görülmektedir. Her iki reseptör tipini birlikte aktive etmek amacıyla da noradrenalin kullanılmıştır (31, 46). Aynı dönemde selektif  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör antagonisti olarak prazosin kullanılmış ve bu ilaçtan postsinaptik yerleşim gösteren  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin tiplendirilmesinde farmakolojik ajan olarak oldukça faydalanılmıştır (31, 46). Postsinaptik yerleşim gösteren  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörleri selektif olarak bloke etmek amacıyla da çalışmaların oldukça büyük bir bölümünde yohimbin denenmiş ve ayrıca rauwolsinden de yararlanılmıştır.

Diğer reseptörlerle ilgili tiplendirme çalışmalarında olduğu gibi,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerin alt tiplerinin belirlenmesinde de önce fonksiyonel çalışmalardan elde edilen bilgiler toplanmış ve 1980'li yılların başında radyoligand bağlama tekniğinin reseptör identifikasyonunda kullanılmaya başlanmasıyla bilgiler daha da geliştirilmiştir. Kısaca belirtmek gerekirse fonksiyonel çalışmalardan elde edilen bulguların bağlama çalışmalarıyla desteklenmesi amaçlanmıştır. Son yıllarda  $\alpha$ -adrenerjik reseptörler ve bunların alt tiplerinin belirlenmesinde fonksiyonel ve radyoligand bağlama çalışmalarına ilaveten moleküler klonlama tekniği de kullanılmakta olup, bu metod reseptör alt tiplerinin belirlenmesinde en son aşamayı oluşturmaktadır.

### $\alpha_1$ -Adrenerjik Reseptörler

Fonksiyonel çalışmalardan elde edilen bulgulara göre  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörlerin alt tiplerinin belirlenmesi mümkün değildir. Bu reseptörlerin en az iki farklı alt tipinin bulunabileceği ilk kez 1983 yılında Battaglia ve arkadaşları (6) tarafından sıçan frontal korteksinde yapılan bir radyoligand bağlama çalışması ile ortaya konmuştur. Araştırmacılar fentolamin ve WB 4101'in, [ $^3H$ ] prazosinin bağlanmasını farklı derecelerde inhibe ettiğini saptayarak belirtilen dokuda  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörlerin homojen karakterde olmadıklarını öne sürmüşlerdir. Bu bulgu Morrow ve Creese (33) tarafından da desteklenmiş olup,  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörler  $\alpha_{1A}$ - ve  $\alpha_{1B}$ - şeklinde ilk kez bu araştırmacılar tarafından isimlendirilmiştir. Moleküler klonlama tekniği ile yapılan çalışmalar da bu

bulguyu desteklemiş ve aynı zamanda  $\alpha_{1C}$ - şeklinde isimlendirilen üçüncü bir alt tipin bulunduğu da ortaya konmuştur.

Son yıllarda  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörlerin belirlenmiş bulunan üç alt-tipinin reversibl ve irreversibl antagonistlere affiniteleri, dokulara göre dağılımları, aktive edilmeleriyle oluşan farmakolojik cevaplara aracılık eden mekanizmalar konusunda birçok çalışma yapılmış ve ayrıca gen klonlama tekniği kullanılarak yapısal özellikleri (Aminoasid sayısı, kromozom numarası,  $NH_2$  ve  $COOH$  terminalindeki rezidü sayıları v.b.) belirlenmeye çalışılmıştır.

$\alpha_{1A}$ -Alt tipinin sığır beyni hücre kültürlerinde ve ayrıca sıçanda çeşitli dokularda (Vaz deferens, hipokampus, serebral korteks, aorta, beyin sapı, kalp ve dalak) bulunduğu gösterilmiş (29) ve bu alt tipin reversibl antagonistlerden WB 4101 ve fentolamine yüksek affinite gösterdiği, buna karşın irreversibl etkili kloroetilkonidin ile alkilenmeye duyarsız olduğu saptanmıştır (22). Membrandaki reseptöre bağımlı  $Ca^{++}$  kanalları ile kenetli olan  $\alpha_{1A}$ -adrenerjik reseptörlerin ekstrasellüler  $Ca^{++}$  girişi ile aktive edilen sinyal transdükleme mekanizması ile ilişkili olduğu ve özellikle vasküler düz kaslı yapılardaki tonik cevaba aracılık ettiği ortaya konmuştur (52).

$\alpha_{1B}$ -Alt tipinin ilk kez hamster vaz deferensi hücre kültüründe bulunduğu gösterilmiştir (11). Daha sonra aynı tipin sıçanda karaciğer ve dalakta da mevcut olduğu saptanmıştır (48). Bu alt tip prazosine yüksek affinite göstermekte olup, WB 4101 ve fentolaminle kısmen bloke edilebilmektedir.  $\alpha_{1A}$ -Alt tipi kloroetilkonidine duyarsız olduğu halde,  $\alpha_{1B}$ -alt tipi irreversibl blokaja oldukça duyarlıdır (11).  $\alpha_{1B}$ -Alt tipinin uyarılması fosfoinozid 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 (23).

$\alpha_{1C}$ -Alt tipi ise ilk kez sığır beyni hücre kültürlerinde tanımlanmıştır. Bu alt tipin, prazosinle bloke edilebildiği, buna karşın WB 4101 ve fentolamine yüksek affinite gösterdiği ve aynı zamanda kloroetilkonidin ile inaktivasyona duyarlı olduğu saptanmıştır (41).  $\alpha_{1C}$ -Alt tipinin aktive edilmesi de,  $\alpha_{1B}$ -alt tipi

için belirtildiği gibi, inositoltrifosfat aracılı intraselüler kalsiyum rilizine neden olmaktadır.

Sıçan vasküler düz kaslarında  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör alt tiplerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda, alt tiplerin dağılımının dokuya göre farklı olabileceği ortaya konmuştur. Örneğin renal arterde yaygın tip  $\alpha_{1A}$  olduğu halde, aortada  $\alpha_{1B}$ -alt tipinin yoğun olarak bulunduğu saptanmıştır. Buna karşın, mezenterik arter ve portal ven her iki tipi birlikte içermektedir (24).

### $\alpha_2$ -Adrenerjik Reseptörler

Daha önce de belirtildiği gibi, anatomik yerleşim özelliklerine göre sempatik postganglioner lif uçlarında bulunan adrenerjik reseptörler  $\alpha_2$ -alt tipi, efektör hücre membranında bulunanlar da  $\alpha_1$ -alt tipi olarak isimlendirilmişlerdir. Daha sonra yapılan çalışmalarda  $\alpha_2$ -alt tipinin efektör hücre membranında da bulunduğu gösterilmiştir.  $\alpha_1$ -Adrenerjik reseptör alt tiplerinin belirlenmesinde olduğu gibi,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör subklasifikasyonunda da gen klonlama tekniği, radyoligand bağlama çalışmaları ve daha az derecede olmak üzere fonksiyonel çalışmalardan elde edilen bulgular değerlendirilmektedir.  $\alpha_2$ -Adrenerjik reseptörlerin homojen bir grup oluşturmadığı ve farklı farmakolojik kriterlere sahip alt-tiplerin bulunabileceği ilk kez insan ve rat beyinde prazosinin, [ $^3H$ ] yohimbin bağlanmasını inhibe etme potensinin beyin değişik bölgelerine göre farklı olduğunun saptanmasıyla ortaya atılmıştır (7, 36). Bu bulguya dayanılarak prazosine düşük affiniteli bağlanma yerleri  $\alpha_{2A}$  ve prazosine yüksek affiniteli bağlanma yerleri de  $\alpha_{2B}$  olarak isimlendirilmiştir. Halen  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$ ,  $\alpha_{2C}$  ve  $\alpha_{2D}$  şeklinde isimlendirilen dört farklı  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör alt tipi olduğu kabul edilmektedir.

$\alpha_{2A}$ -Alt tipi adrenerjik reseptörlerin insan tomboziti, tavşan dalağı, rat vaz deferensi ve submandibular bezinde bulunduğu gösterilmiş olup (9, 15), bu alt tipe özgü selektif ligandlar olarak da daha ziyade oksimetazolin, guanoksabenz ve guanfasin kullanılmaktadır (3).

$\alpha_{2B}$ - ve  $\alpha_{2C}$ -Alt tipi adrenerjik reseptörlerin dokulara göre dağılımları konusundaki bilgiler henüz yetersizdir. Buna karşın neonatal sıçan akciğeri, sıçan böbreği (9) ve atriyumunda (43)  $\alpha_{2B}$ -alt tipi reseptörlerin bulunduğu

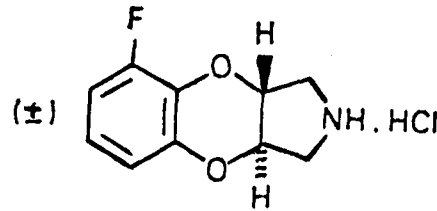


gösterilmiş olup, bu reseptörleri belirlemek amacıyla prazosin, klorpromazin, ARC 239 gibi selektivitesi nispeten yüksek ligandlar kullanılmaktadır (9).  $\alpha_{2C}$ -Tipi adrenerjik reseptörlerin ise opossum böbrek hücrelerinde bulunduğu gösterilmiş olup, WB 4101 ve BAM 1303 gibi ligandların bu tipe olan affinitelerinin,  $\alpha_{2B}$ -alt tipine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.  $\alpha_{2D}$ -Alt tipi adrenerjik reseptörlerin ise sığır pineal bezinde bulunduğu ve diğer reseptör alt tiplerine göre rauwolsine düşük affinite gösterdiği belirlenmiştir (42).

$\alpha_2$ -Adrenerjik reseptörlerin aktive edilmesiyle adenilat siklaz enziminin inhibe edildiği ve c-AMP yapımının azaldığı bilinmektedir (8). Buna ilaveten, katekolaminlerin  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörleri aktive etmek suretiyle oluşturdukları etkilere bu ajanların potasyum kanallarını aktive etmelerinin de katkıda bulunduğu söylenebilir (26).  $\alpha_2$ -Adrenerjik reseptörlere bağlı etkilerde yukarıda belirtilen her bir alt tipe özgü bir sinyal transdükleme mekanizmasının bulunup bulunmadığı da henüz bilinmemektedir.

### Fluparoksan

$\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ -Adrenerjik reseptörleri bloke etmeleri bakımından selektiviteleri belirgin derecede farklı olmayan birçok ilaç bulunmaktadır.  $\alpha_2$ -Adrenerjik reseptörleri,  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörlere göre oldukça seçici bir şekilde bloke edebilecek ilaçlar sentezlenmiş ve bu ilaçlarla ilgili ilk bilgiler imiloksan (32) ve idazoksan (17) üzerinde yapılan çalışmalarla elde edilmiştir. Bir  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör blokörü olan fluparoksana (Şekil 1) ait ilk çalışma 1978 yılında kobay ileumunda Drew (18) tarafından gerçekleştirilmiş ve ilacın  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörleri oldukça selektif bir şekilde bloke ettiği gösterilmiştir.



**ŞEKİL 1: Fluparoksanın açık formülü**



Fluparoksan 1978 yılında sentezlenmiş olmasına rağmen üzerinde çok az in vitro çalışma yapıldığı görülmektedir. Buna paralel olarak in vivo çalışmaların da sayısı oldukça azdır. Nitekim, santral sinir sisteminde  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerin bloke edilmesinin noradrenalin rilizini artırdığı bilindiğinden (40) fluparoksanın depresyon tedavisinde yararlı olabileceği düşünülmüş ve yapılan kısıtlı sayıdaki çalışmalarda da bu konu üzerinde durulmuştur.

Sıçan vaz deferensi ve kobay ileumu üzerinde yapılan bir çalışmada stimülasyona bağlı kasılma cevaplarının bir  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonisti olan UK 14304 ile inhibisyonu ve bu etkinin fluparoksanla antagonize edilebilirliği araştırılmıştır. Her iki dokuda da fluparoksan - UK 14304 etkileşmesinden elde edilen  $pK_B$  değerleri eşit bulunmuştur. Buna karşın, aynı çalışmada sıçan anokoksigeus kasında bir  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör agonisti olan fenilefrinle elde edilen kasılma cevaplarının fluparoksanla inhibisyonunda elde edilen  $pK_B$  değeri, sıçan vaz deferensi ve kobay ileumunda elde edilen değerle mukayese edildiğinde oldukça düşük bulunmuştur. Araştırmacılar bu bulgulara dayanarak, fluparoksanın  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlere olan selektivitesinin  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörlere göre en az 2500 kez daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır (21).

Daha önce de belirtildiği gibi, bir  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör blokörü olan fluparoksanla sadece birkaç çalışma yapıldığı ve dolayısıyla ilaç hakkında yeterli bilgi bulunmadığı dikkati çekmektedir. Bu nedenle sunulan bu in vitro çalışmada, fluparoksanın presinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörler üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla tavşan vaz deferens preparatı ve ayrıca ilacın postsinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörler üzerine olan etkisini ortaya koymak amacıyla da tavşan aortası kullanılmıştır. Belirtilen her iki dokuda fluparoksan ve klasik bir  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör blokörü olan yohimbinle elde edilen bulgular karşılaştırılmış ve çalışmada  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonisti olarak klonidin ve B-HT 933 (2-amino-6-ethyl-4,5,7,8,-tetrahydro-6H-oxazolo-[5,4-d]-azepin)'den yararlanılmıştır.

## **BÖLÜM III**

### **MATERYAL VE METOD**

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

Çalışmada ağırlık farkı gözetilmeksizin seçilen New-Zeland türü erişkin erkek tavşanlar başlarına vurularak sersemletilip, a. carotis'leri kesilmek suretiyle öldürüldüler. Her iki vaz deferens ve torasik aorta süratli bir şekilde çıkarılarak çalışmada kullanılan besleyici solüsyona alındılar. Çevre dokulardan temizlenen preparatlar aşağıda belirtildiği şekilde çalışmaya hazır hale getirildiler;

#### **Vaz Deferens**

Çalışmada her iki vaz deferensin prostatik yarıları kullanıldı. Preparatlar iki uçlu platin elektrod taşıyan organ tutacağı ile izole organ banyosuna asıldı. Tek kanallı bir stimülatör (Harvard) kullanılarak supramaksimal voltaj, 0.1 Hz ve 1 ms şartlarında uyarılan dokuda elde edilen kasılma (tviç) cevapları izometrik olarak osilografa (Harvard) kaydedildi.

#### **Aorta**

Torasik aortadan 2-3 mm eninde ve yaklaşık 20 mm boyunda spiral şeritler hazırlandı. İzole organ banyosuna yerleştirilen preparatta çalışmada denenen ilaçlarla elde edilen cevaplar 10 kez büyütülerek kimograf tamburuna sarılı isli kağıda izotonik olarak kaydedildi.

#### **III - 2. Deneysel Prosedür**

Yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanarak 37 °C 'de ısıtılan ve 25 ml besleyici solüsyon içeren izole organ banyosuna alınan preparatlar % 95 O<sub>2</sub> + %

5 CO<sub>2</sub> karışımı ile sürekli olarak gazlandırıldı. Her iki doku 1 g gerilim altında bir saat süreyle dinlenmeye bırakıldı. Bu süre içerisinde dokular 15 dakika arayla yıkandı.

### Vaz Deferens

Dinlenme peryodunun bitiminde, yukarıda belirtilen şartlarda stimüle edilen dokuda önce kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonistleri klonidin veya B-HT 933'ün stimülasyona bağlı kasılmaları inhibe etme güçleri araştırıldı. Bu amaçla kontrol cevap alındıktan sonra, agonist ilacın ilk konsantrasyonu uygulanarak 100 saniye süreyle beklendi ve doku uyarılarak aynı büyüklükte 3-4 kasılma cevabı alındıktan sonra stimülasyon durduruldu. Agonistin artan konsantrasyonlarında da aynı işlem uygulanarak kontrol kümülatif konsantrasyon-cevap eğrisi elde edildi. Doku yıkılarak yaklaşık 45 dakika süreyle dinlendirildikten sonra stimülasyona verilen kontrol cevap tekrar yazdırıldı. Ortama, çalışmada denenen  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör antagonistlerinden yohimbin veya fluparoksanın ilk konsantrasyonu ilave edilerek 20 dakika süreyle beklendi. Agonistle kümülatif konsantrasyon-cevap eğrisi tekrarlandı. Aynı işlem antagonistin ikinci konsantrasyonu ile de yapılarak çalışma tamamlandı.

Vaz deferens preparatındaki elektriksel stimülasyonla elde edilen kasılma cevabının sinir terminallerinden salıverilen nöromediyatörlerle ilgili olduğunu belirlemek amacıyla, çalışmanın bir bölümünde ortama 10<sup>-5</sup> M konsantrasyonda guanetidin ilave edilerek 45 dakika süreyle inkübasyon yapıldı (19) ve bu işlemden sonra dokunun stimülasyona verdiği cevap araştırıldı.

### Aorta

**Klonidin - yohimbin ve klonidin - fluparoksan etkileşmesi:** Dinlenme peryodunun bitiminde, çalışmada denenen  $\alpha_2$ -agonist klonidin ile antagonistler arasındaki etkileşmeyi belirlemek amacıyla agonist ilaç banyoya kümülatif tarzda ilave edildi. Uygulanan her dozda maksimum kararlı amplitüde ulaşıldıktan sonra bir sonraki konsantrasyona geçildi ve böylece kontrol konsantrasyon-cevap eğrileri elde edildi. Bu aşamadan sonra, doku belirli aralıklarla besleyici solüsyonla yıkandı ve bazal düzeye inildikten sonra banyoya

antagonistin denenen ilk konsantrasyonu ilave edilerek 20 dakika süreyle inkübasyon yapıldı. Bu süre sonunda yukarıda belirtildiği şekilde agonist uygulanarak elde edilen cevaplar gözlemlendi. Aynı işlem antagonistin ikinci konsantrasyonu için de tekrarlandı. Aynı dokuda klonidin, sadece antagonistlerden birinin iki farklı konsantrasyonuna karşı denendi.

**B-HT 933 cevapları:** Aortada kümülatif tarzda uygulanan bu agonistle  $10^{-4}$  M konsantrasyona ulaşılmasına rağmen cevap elde edilemediği için antagonistlerle etkileşme denemeleri yapılamamış, buna karşın ortamın kalsiyum konsantrasyonu 2 katına çıkarılarak bu ajana verilen cevaplar araştırılmıştır.

### III - 3. Besleyici Solüsyon ve İlaçlar

Deneylerde kullanılan Krebs-Henseleit solüsyonunun içeriği mM olarak şöyledir:

NaCl .....	119
KCl .....	4.7
MgSO <sub>4</sub> .....	1.5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	1.2
CaCl <sub>2</sub> .....	2.5
NaHCO <sub>3</sub> .....	25
Glukoz .....	11

**Deneylerde aşağıda belirtilen agonist ve antagonist ilaçlar kullanıldı:** Klonidin hidroklorür (Sigma), B-HT 933 (Boehringer, Ireland), yohimbin hidroklorür (Sigma), fluparoksan (Glaxo Group Research Ltd.), guanetidin sülfat (Ciba).

Çalışmada kullanılan ilaçlar, distile suda eritilmiş ve konsantrasyonları baz ağırlıkları üzerinden hesaplanmış olup, her doz banyoya 0.1 ml hacim içerisinde ilave edilmiştir.

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

#### **Vaz deferens**

Agonist maddenin ilavesinden sonra stimülayona verilen cevaplar kontrol cevabın %'si şeklinde değerlendirilerek, inhibitör kümülatif konsantrasyon-cevap eğrileri elde edilmiş ve maksimum cevabın % 50'sini sağlayan konsantrasyonlar da  $pD_2$  ( $-\log ED_{50}$ ) değerleri şeklinde verilmiştir.

#### **Aorta**

Agonist ilacın oluşturduğu maksimum kasılma cevabının % 50'sini sağlayan konsantrasyonlar ( $ED_{50}$ ) bulunarak  $PD_2$  ( $-\log ED_{50}$ ) şeklinde ifade edilmiştir. B-HT 933'ün kullanıldığı bölümde bu agonistin iki farklı kalsiyum konsantrasyonundaki cevapları, klonidinle oluşan maksimum kasılmanın %'si olarak değerlendirilmiş ve bu bölüm agonistlerin uygulanış sırası değiştirilerek yürütülmüştür.

Her iki dokuda da antagonistlerin etkinliklerini gösteren  $PA_2$  değerleri Arunlakshana - Schild (5) metoduna göre hesaplanmıştır.

Çalışmada elde edilen değerler ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde verilmiş olup, ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel anlamlılık derecesi Student'in "t" testi ile saptanmıştır (20). Grup içi analizlerde eşleştirilmiş ve gruplar arası analizlerde de eşleştirilmemiş test uygulanmıştır.

## **BÖLÜM IV**

### **BULGULAR**

#### **IV - 1. Tavşan vaz deferensinde agonistlerin etkileri ve antagonistlerle etkileşmeleri**

Supramaksimal voltaj, 0.1 Hz ve 1 ms süre şartlarında uyarılan dokuda elde edilen kasılma cevaplarının tekrarlanabilir nitelikte olduğu, zamana bağlı değişme görülmediği ve bazal tonusun etkilenmediği saptanmıştır (Şekil 2). Stimülasyona bağlı kasılma cevaplarının sinir uçlarından salıverilen nöromediyatörlere bağlı olup olmadığını saptamak amacıyla yapılan çalışmalarda ortama  $10^{-5}$  M konsantrasyonda guanetidin ilave edilerek 45 dakika süreyle beklenmiş ve bu uygulamanın stimülasyonla elde edilen cevapları tam olarak inhibe ettiği saptanmıştır (Şekil 3).

#### **IV - 1.1. Klonidinin etkileri**

Stimülasyona verilen kontrol cevap alındıktan sonra, ortama kümülatif konsantrasyonda klonidin ilave edilmesi, elde edilen kasılma cevaplarını konsantrasyona bağlı bir şekilde inhibe etmiş ve maksimum inhibisyona ulaşılmıştır. Ortama iki farklı konsantrasyonda yohimbin ( $3 \cdot 10^{-8}$ ,  $3 \cdot 10^{-7}$  M) veya fluparoksan ( $3 \cdot 10^{-7}$ ,  $3 \cdot 10^{-6}$  M) ilave edilmesi kontrol klonidin konsantrasyon-cevap eğrilerini paralel olarak anlamlı bir şekilde sağa kaydırmış ve klonidinle elde edilen maksimum inhibisyonda bir değişiklik olmamıştır (Şekil 4, 5). Yohimbin - klonidin etkileşmesine ait bir örnek trase Şekil 6'da gösterilmiştir. Ortama iki farklı konsantrasyonda yohimbin veya fluparoksan ilave edilmesi durumunda klonidin için hesaplanan kontrol  $pD_2$  değerinin anlamlı olarak azaldığı ( $p < 0.05$ ) görülmüştür (Tablo 1).

Yohimbin - klonidin ve fluparoksan - klonidin etkileşmelerinde hesaplanan  $pA_2$  değerleri Tablo 2'de görülmekte olup yohimbin için hesaplanan  $pA_2$  değerinin fluparoksanla elde edilen değere göre anlamlı olarak büyük olduğu saptanmıştır ( $p < 0.05$ ).

#### **IV - 1.2. B-HT 933'ün Etkileri**

Kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan B-HT 933 stimülasyona bağlı cevapları, konsantrasyona bağımlı bir şekilde inhibe etmiş ve çalışılan konsantrasyon aralığında maksimum inhibisyona ulaşılmıştır. Ortamda yohimbin ( $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M) veya fluparoksan ( $10^{-6}$ ,  $3 \cdot 10^{-6}$  M) varlığında kontrol konsantrasyon-cevap eğrisi paralel bir şekilde sağa kaymış ve B-HT 933'le elde edilen maksimum cevap değişmemiştir. Yohimbin - B-HT 933 ve fluparoksan - B-HT 933 etkileşmesinden elde edilen  $pD_2$  değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 2'de de görüldüğü gibi yohimbin - BHT 933 etkileşmesinde hesaplanan  $pA_2$  değeri fluparoksan - BHT 933 etkileşmesinde elde edilen değerden anlamlı olarak büyüktür ( $p < 0.05$ ).

#### **IV - 2. Tavşan aortasında agonistlerin etkileri ve antagonistlerle etkileşmeleri**

##### **IV - 2.1. Klonidinin etkileri**

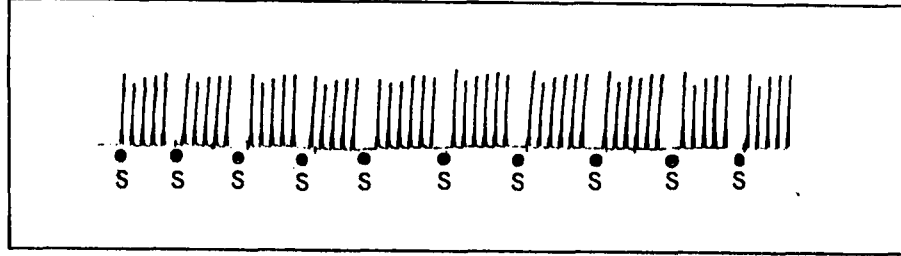
Tavşan aorta şeritlerinde kümülatif tarzda uygulanan klonidin konsantrasyona bağlı olarak kasılma oluşturmuştur. Klonidin kontrol konsantrasyon-cevap eğrisi elde edildikten sonra ortama iki farklı konsantrasyonda yohimbin ( $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M) veya fluparoksan ( $3 \cdot 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  M) konulması, klonidin konsantrasyon-cevap eğrilerini anlamlı olarak sağa kaydırmış ve klonidinle elde edilen maksimum kasılma cevabında bir değişiklik olmamıştır. Yohimbin - klonidin ve fluparoksan - klonidin etkileşmelerinde hesaplanan  $pD_2$  değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir.



Tablo 2'de de gösterildiği gibi yohimbin - klonidin etkileşmesinde hesaplanan  $pA_2$  değeri, fluparoksan - klonidin etkileşmesi için hesaplanan değerden anlamlı olarak büyük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

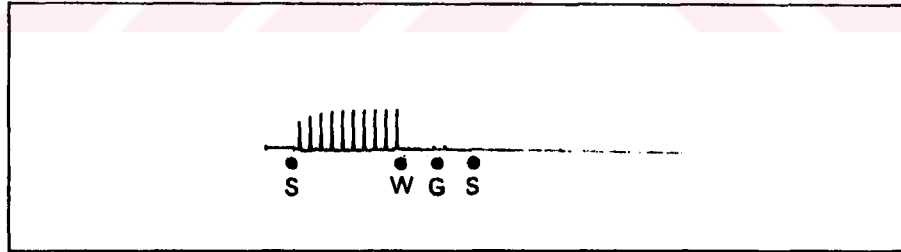
#### **IV - 2.2. B-HT 933'ün Etkileri**

Normal konsantrasyonda kalsiyum (2.5 mM) içeren ortamda B-HT 933 konsantrasyonu  $10^{-4}$  M'a yükseltilmesine rağmen kasılma cevapları elde edilememiştir. Besleyici sıvıda kalsiyum düzeyi 5 mM'a çıkarılarak yürütölen çalışmalarda klonidinle elde edilen maksimum kasılma cevabı değışmediği halde, B-HT 933 ile kasılma cevabı elde edilmiş, ancak bu cevap aynı ortamdaki klonidin cevabının  $\% 24 \pm 2.33$ 'ü oranında oluşmuştur. Bu bulgu tavşan aortasında B-HT 933'ün intrinsik aktivitesinin klonidine göre oldukça düşük olduğunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle, belirtilen dokuda yohimbin - B-HT 933 ve fluparoksan - B-HT 933 etkileşmesi çalışılamamıştır.



S : Stimulus

ŞEKİL 2: Tavşan vaz deferensinde elektriksel stimüstasyonla elde edilen kasılma cevapları

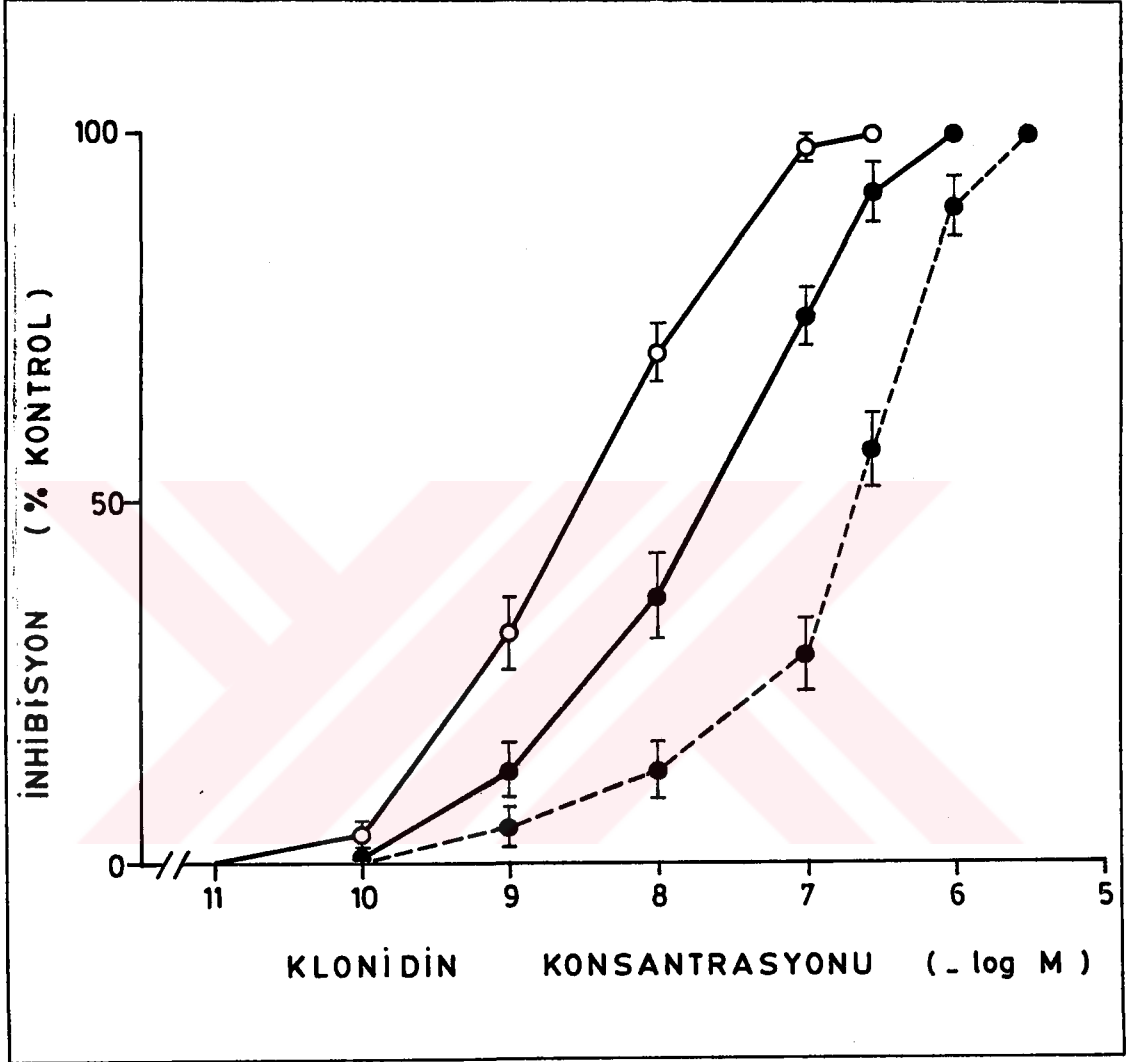


S : Stimulus

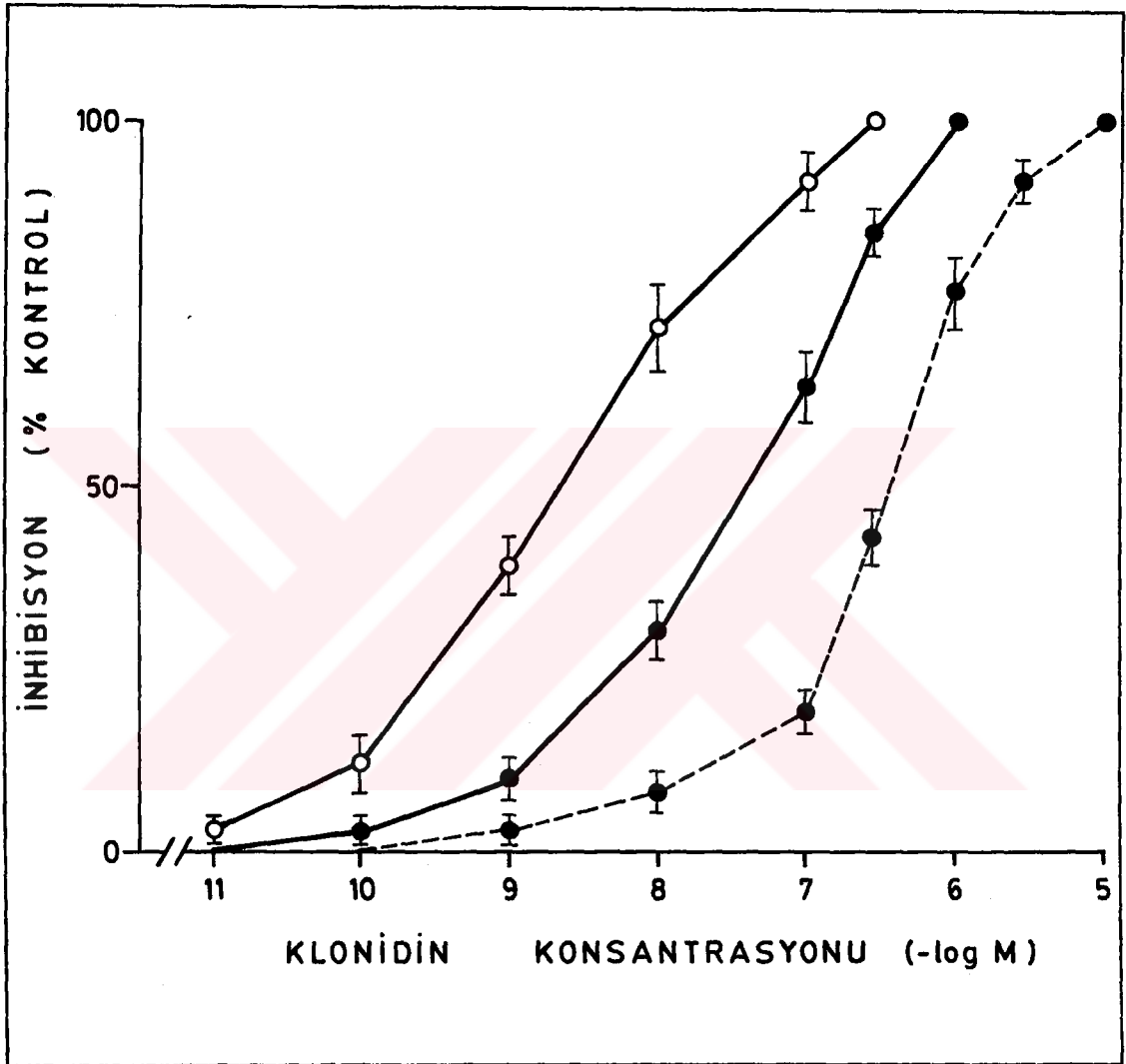
W: Yıkama

G : Guanetidin ( $10^{-5}$  M)

ŞEKİL 3: Tavşan vaz deferensinin elektriksel stimüstasyona verdiği cevapların guanetidinle inhibisyonu



ŞEKİL 4: Vaz deferenste klonidinin etkisi (o—o) ve yohimbinle ( $3 \cdot 10^{-8}$  M ●—●;  $3 \cdot 10^{-7}$  M ●----●) etkileşmesi



ŞEKİL 5: Vaz deferenste klonidinin etkisi (o—o) ve fluparoksanla ( $3 \cdot 10^{-7} M$  ●—●;  $3 \cdot 10^{-6} M$  ●----●) etkileşmesi



- : Klonidin
- K : Kontrol
- W : Yıkama
- Yoh : Yohimbine

ŞEKİL 6: Tavşan vaz deferensinde yohimbine - klonidin etkileşmesi

**TABLO 1:  $\alpha_2$ -Adrenerjik reseptör agonistleriyle yohimbin ve fluparoksan etkileşmesinde elde edilen  $pD_2$  değerleri**

Doku	Agonist	Kontrol $pD_2$	Yohimbin(M)	$pD_2$
Vaz	Klonidin (n = 7)	8.428 ± 0.166	3 • 10 <sup>-8</sup> ,	7.671 ± 0.204*
			3 • 10 <sup>-7</sup> ,	6.685 ± 0.158*
Deferens	B-HT 933 (n = 8)	5.925 ± 0.179	10 <sup>-7</sup> ,	4.925 ± 0.152*
			10 <sup>-6</sup> ,	4.000 ± 0.112*
Aorta	Klonidin (n = 8)	6.537 ± 0.073	10 <sup>-7</sup> ,	6.012 ± 0.069*
			10 <sup>-6</sup> ,	5.212 ± 0.081*

Doku	Agonist	Kontrol $pD_2$	Fluparoksan(M)	$pD_2$
Vaz	Klonidin (n = 7)	8.485 ± 0.247	3 • 10 <sup>-7</sup> ,	7.083 ± 0.237*
			3 • 10 <sup>-6</sup> ,	6.342 ± 0.101*
Deferens	B-HT 933 (n = 8)	5.862 ± 0.078	10 <sup>-6</sup> ,	5.112 ± 0.074*
			3 • 10 <sup>-6</sup> ,	4.625 ± 0.102*
Aorta	Klonidin (n = 8)	6.222 ± 0.187	3 • 10 <sup>-6</sup> ,	5.722 ± 0.153*
			10 <sup>-5</sup> ,	5.333 ± 0.140*

\*p < 0.05 (Kontrol  $pD_2$  değerine göre)  
n : Deneme sayısı

**TABLO 2:  $\alpha_2$ -Adrenerjik reseptör agonistleriyle yohimbin ve fluparoksan etkileşmesinde elde edilen pA<sub>2</sub> değerleri**

Doku	Agonist	Antagonist	pA <sub>2</sub>	Eğim
Vaz	Klonidin	Yohimbin (n = 7)	8.000 ± 0.112 <sup>a</sup>	1.001 ± 0.072
		Fluparoksan (n = 7)	7.423 ± 0.152	1.103 ± 0.070
Deferens	B-HT 933	Yohimbin (n = 8)	7.912 ± 0.160 <sup>b</sup>	0.995 ± 0.045
		Fluparoksan (n = 8)	7.049 ± 0.108	1.031 ± 0.027
Aorta	Klonidin	Yohimbin (n = 8)	7.548 ± 0.096 <sup>c</sup>	0.946 ± 0.014
		Fluparoksan (n = 8)	5.857 ± 0.053	1.032 ± 0.011

a) p < 0.05; vaz deferenste fluparoksan - klonidin etkileşmesinde elde edilen değere göre

b) p < 0.05; vaz deferenste fluparoksan - B-HT 933 etkileşmesinde elde edilen değere göre

c) p < 0.05; aortada fluparoksan - klonidin etkileşmesinde elde edilen değere göre

n : Deneme sayısı



## **BÖLÜM V**

### **TARTIŞMA VE SONUÇ**

İn vitro şartlarda, presinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerle ilgili çalışmalarda vaz deferens preparatının prostatik yarılarının ve vasküler düz kaslı yapılardaki postsinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlere yönelik çalışmalarda da, diğer damar yataklarına ilaveten, tavşan aortasının kullanıldığı bilinmektedir. Yeni bir  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör blokörü olan fluparoksanın pre- ve postsinaptik yerleşim gösteren  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörler üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla yapılan bu çalışmada da, yukarıda belirtilen iki farklı doku kullanılmıştır. Daha önce gerçekleştirilen birçok çalışmada olduğu gibi, bu çalışmada da  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörleri stimüle ettikleri bilinen klonidin (44) ve B-HT 933 (30, 39) kullanılmış ve bu agonistlere bağlı cevapların inhibisyonunda fluparoksanın etkinliği, klasik bir  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör blokörü olan yohimbinle (45) elde edilen bulgularla mukayese edilmiştir.

Sunulan bu çalışmada, bir  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonisti olan klonidin, vaz deferensin elektriksel stimülasyona verdiği cevapları doza bağımlı bir şekilde inhibe etmiştir. Klonidin bu etkisi, presinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörleri stimüle etmesine bağlıdır. Nitekim, klonidin çeşitli türde deney hayvanlarından alınan vaz deferens preparatlarında da stimülasyona bağlı kasılma cevaplarını inhibe ettiği ve inhibisyonun presinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerin uyarılması sonucu noradrenalin ve onun ko-transmitteri olan ATP'nin salıverilmesindeki azalmaya bağlı olduğu savunulmuştur (28, 30, 47). Bu çalışmada, elektriksel stimülasyonla elde edilen kasılma cevapları, klonidinle % 100 oranında inhibe edilmiştir. Bu bulgu, oluşan cevapların düz kas liflerinin direkt olarak uyarılmasından kaynaklanmadığını, buna karşın, adrenerjik sinir ucundan salıverilen nörotransmitterlerle ilgili olduğunu göstermektedir. Benzer yorum, Wannan ve arkadaşlarının (51) rat vaz deferens preparatında yaptıkları çalışmada da öne sürülmüştür. Kasılma cevaplarının nöronal orijinli olduğunu

destekleyen bir diğere önemli bulgu da  $10^{-5}$  M konsantrasyonda kullanılan guanetidin bu cevapları inhibe etmesidir. Guanetidin bu etkisi, stimülasyonla gerçekleştirilen birçok çalışmada da gösterilmiştir (16, 19). Literatürde, düşük frekansta stimüle edilen vaz deferensin prostatik yarısının presinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörleri etkileyen agonist ve antagonistlerin etkinliklerinin araştırılması için uygun bir doku olduğu öne sürüldüğünden, sunulan bu çalışmada da stimülasyon frekansı olarak 0.1 Hz seçilmiştir. Gerek çalışmada seçilen stimülasyon frekansı ve gerekse cevapların doza bağımlı bir şekilde inhibe edilmesi ve bunlara ilaveten cevapların guanetidinle tam olarak ortadan kaldırılabilmesi kasılma cevaplarının salıverilen nörotransmitterlere bağılı olduğunu göstermektedir. Çalışmada denenen bir diğere  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonisti B-HT 933 de, klonidine benzer şekilde stimülasyona verilen kasılma cevaplarını doza bağımlı bir tarzda ve % 100 oranında inhibe etmiştir. B-HT 933'ün bu etkisi daha önce gerçekleştirilen bazı çalışmalarda da ortaya konmuştur (30, 35). Vaz deferenste, klonidin ve B-HT 933 için bulunan  $PD_2$  değerleri karşılaştırıldığında, bu dokunun klonidine olan duyarlılığının B-HT 933'e nazaran anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır.

Çalışmada, belirtilen şartlarda stimüle edilen tavşan vaz deferens preparatında, klonidinle elde edilen kontrol konsantrasyon-cevap eğrisi, ortama iki farklı konsantrasyonda yohimbin veya fluparoksan ilave edilmesiyle anlamlı olarak ve paralel bir şekilde sağa kaymış, bu iki antagonist klonidinle elde edilen maksimum inhibisyonu değiştirmemiştir. Yohimbin - klonidin ve fluparoksan - klonidin etkileşmelerinde Schild çiziminde eğim 1'den farksız bulunmuş, yohimbin ve fluparoksan için  $pA_2$  değerleri sırasıyla  $8.000 \pm 0.112$  ;  $7.423 \pm 0.152$  olarak hesaplanmıştır. Yohimbinle elde edilen  $pA_2$  değeri, fluparoksan için hesaplanan değerden anlamlı olarak büyüktür.

Yohimbin - klonidin etkileşmesiyle ilgili olarak tavşan vaz deferensinde yapılan bir çalışmada (27), yohimbin için  $pA_2$  değeri 7.73 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada elde ettiğimiz değer, belirtilen çalışmada verilen değerlerin % 95 güvenilirlik sınırları arasında yer almaktadır. Tavşan vaz deferensinde daha az olmak üzere, sıçan vaz deferensinde yohimbin - klonidin etkileşmesini inceleyen birçok çalışma bulunmakta olup, yohimbin için belirlenen  $pA_2$  değerleri, Mottram'ın (34) çalışmasında  $8.21 \pm 0.15$ , Doxey ve arkadaşlarının (17) çalışmasında da  $8.14 \pm 0.05$  olarak belirlenmiştir. Sunulan bu çalışmada, bulduğumuz değer, belirtilen çalışmalarda verilen değerlerden farksızdır. Benzer

şekilde kobay ileumunda yapılan bir çalışmada (34), aynı etkileşme için hesaplanan  $pA_2$  değerinin ( $7.74 \pm 0.24$ ) bu çalışmada bulduğumuz değerden farksız olduğu da görülmüştür. Sıçan vaz deferensinde  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonisti olarak ksilazinin denendiği çalışmaların birinde (25) yohimbin için  $pA_2$  değeri  $7.79 \pm 0.09$  olarak hesaplanmış, bir başka çalışmada ise (10) bu değer, 7.50 olarak verilmiş ve % 95 güvenirlilik sınırları 6.82 - 8.97 olarak belirtilmiştir. Bu değerler, çalışmada bulduğumuz değerlerle uyumludur.

Fluparoksan - klonidin etkileşmesinin çalışıldığı bölümde de, yohimbin için belirtildiği gibi, fluparoksan, klonidine ait kontrol konsantrasyon-cevap eğrisini anlamlı olarak ve paralel bir şekilde sağa kaydırmış ve klonidinle oluşan maksimum inhibisyonu etkilememiştir. Yukarıda da belirtildiği gibi, klonidin cevaplarının inhibisyonunda fluparoksanla elde edilen  $pA_2$  değeri ( $7.423 \pm 0.152$ ), yohimbin için hesaplanan değerden ( $8.000 \pm 0.112$ ) anlamlı olarak düşük olup, presinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörleri bloke etmede yohimbin, fluparoksana nazaran yaklaşık 4 kez daha potent bulunmuştur. Literatürde, tavşan vaz deferensinde fluparoksan - klonidin etkileşmesini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Buna karşın, yukarıdaki bulgudan farklı olarak, sıçan vaz deferens preparatında yohimbin - klonidin ve fluparoksan - klonidin etkileşmesinin incelendiği bir çalışmada (21),  $pK_B$  değerleri karşılaştırılmış ve fluparoksanın yohimbine nazaran daha etkin olduğu saptanmıştır. Bu araştırmacılar, klonidin cevaplarının fluparoksanla inhibisyonuna ait Schild çiziminde eğimin 1'den farklı olduğunu ve bunun nedeninin bilinmediğini belirtmişlerdir. Yohimbin - fluparoksan kıyaslanmasında ortaya çıkan bu çelişkili durum, agonist - antagonist etkileşmelerinin incelendiği birçok çalışmada da belirtildiği gibi, deneme hayvanı türlerinin farklı olmasına bağlanabilir.

Çalışmada denenen bir diğer  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonisti B-HT 933, tavşan vaz deferens preparatının elektriksel stimülasyona verdiği cevapları konsantrasyona bağımlı bir şekilde inhibe etmiş ve çalışılan konsantrasyon aralığında maksimum inhibisyona ulaşılmıştır. Ortama yohimbin veya fluparoksan ilave edilmesi, bu agoniste bağlı kontrol konsantrasyon-cevap eğrisini anlamlı bir şekilde ve paralel olarak sağa kaydırmış ve elde edilen maksimum cevap değişmemiştir. Yohimbin - B-HT 933 ve fluparoksan - B-HT 933 etkileşmelerinde  $pA_2$  değerleri sırasıyla  $7.912 \pm 0.160$  ve  $7.049 \pm 0.108$  olarak hesaplanmış, Schild çiziminde de eğimlerin 1'den farksız olduğu

görülmüştür.  $\alpha_2$ -Adrenerjik reseptör agonisti olarak klonidinin kullanıldığı bölümdeki sonuçlara benzer şekilde, bu bölümde de, yohimbinle elde edilen  $pA_2$  değeri, fluparoksan için hesaplanan değerden anlamlı olarak büyük bulunmuştur.

Yohimbin - B-HT 933 etkileşmesinin araştırılması amacıyla, sıçan vaz deferensinde yapılan bir çalışmada (2),  $pA_2$  değeri 7.46 bulunmuş ve % 95 güvenilirlik sınırları olarak da 7.23 - 7.84 değerleri verilmiştir. Aynı çalışmada, kobay ileumunda yohimbin - B-HT 933 etkileşmesi için  $pA_2$  değeri 7.84 olarak hesaplanmış ve % 95 güvenilirlik sınırlarının ise 7.13 - 8.64 olduğu belirtilmiştir. Bu değerlerin, tavşan vaz deferensinde yohimbin için hesapladığımız değerlerden farksız olduğu görülmektedir.

Literatürde, tavşan vaz deferens preparatı da dahil olmak üzere, stimülasyon uygulamak suretiyle presinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerin araştırıldığı birçok çalışmada, fluparoksan - B-HT 933 etkileşmesine ait bir bilgi bulunmadığı görülmüştür. Buna karşın, tavşan vaz deferens preparatında yapılan bu çalışmada, fluparoksanın B-HT 933'e bağlı cevapları inhibe ettiği ve bu yönüyle potensinin yohimbine nazaran yaklaşık 7 kez daha zayıf olduğu saptanmıştır.

Sunulan bu çalışmada, yohimbin - klonidin ve yohimbin - B-HT 933 etkileşmelerinde bulunan  $pA_2$  değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Benzer şekilde, fluparoksan - klonidin ve fluparoksan - B-HT 933 ikilileri için bulunan  $pA_2$  değerleri de birbirinden farksızdır. Bu sonuçlar,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonistleri klonidin ve B-HT 933'ün bu dokuda aynı reseptörler üzerinden etkili olduğunu göstermektedir. Tavşan vaz deferensindeki presinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerde yohimbin ve fluparoksanın etki güçleri karşılaştırıldığında, yohimbinin fluparoksana göre daha potent olduğu, klonidin ve B-HT 933 ile bu iki antagonist arasındaki etkileşmenin, kompetitif antagonizma tipine uyduğu görülmektedir.

Postsinaptik  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin aktive edilmesinin damar düz kaslarında kasılma oluşturduğu bilinmektedir. Bir  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonisti olan klonidinle yapılan çalışmaların, daha ziyade postsinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerin yoğun olarak bulunduğu sıçan aortası üzerinde gerçekleştirildiği

görülmektedir (38, 50). Sıçan aortasından farklı olarak tavşan aortasının postsinaptik  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörlerden zengin olduğu bilindiğinden, bu dokuda klonidinle yapılan çalışmaların sayısı oldukça azdır. Nitekim, tavşan aortasında yapılan bir çalışmada klonidinle birlikte bazı  $\alpha$ -adrenerjik reseptör agonistleri denenmiş ve bu dokunun klonidine olan afinitesinin düşük olduğu saptanmıştır (37). Buna paralel olarak, tavşan aortasında gerçekleştirilen başka bir çalışmada da noradrenalinle bir diğer  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonisti UK 14304 mukayese edilmiş ve bu ajanın intrinsik aktivitesinin noradrenaline göre anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır (12).

Tavşan aortasında gerçekleştirilen bu çalışmada, klonidin doza bağımlı bir şekilde ve tekrarlanabilir nitelikte kasılma oluşturmuştur. Ortama iki farklı konsantrasyonda yohimbin veya fluparoksan ilave edilmesi, kontrol klonidin konsantrasyon-cevap eğrilerini paralel bir şekilde ve anlamlı olarak sağa kaydırmış ve belirtilen iki antagonist, klonidinle elde edilen maksimum kasılma cevaplarını değiştirmemiştir. Schild çiziminde eğim 1'den farksız bulunmuş, yohimbin - klonidin ve fluparoksan - klonidin ikililerine ait  $pA_2$  değerleri sırasıyla  $7.548 \pm 0.096$  ve  $5.857 \pm 0.053$  olarak hesaplanmıştır. Bu iki değer birbirinden anlamlı olarak farklıdır. Literatürde, damar düz kaslarında  $\alpha$ -agonistlere verilen kasılma cevaplarının inhibisyonunda yohimbin - fluparoksan kıyaslamasının yapıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Sunulan bu çalışmada, yohimbin, tavşan vaz deferensindeki bulgulara benzer şekilde, tavşan aortasında da, klonidine bağlı cevapları inhibe etme bakımından fluparoksana nazaran daha etkin bulunmuştur.

Tavşan aortasında  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonisti olarak B-HT 933'ün kullanıldığı bölümde  $10^{-4}$  M konsantrasyona çıkılmasına rağmen cevap alınamamıştır. Benzer bulgu Alexandre ve arkadaşlarının (4) aynı dokuda yaptıkları bir çalışmada da elde edilmiş ve B-HT 933 ile kasılma cevabı elde edilebilmesi için  $10^{-4}$  M konsantrasyonun üzerine çıkılması gerektiği bildirilmiştir. Araştırmacılar, belirtilen yüksek konsantrasyonlarda alınan cevapların, bir  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör blokörü olan prazosinle bloke edilebildiğini, buna karşın yohimbinin etkisiz olduğunu belirtmişlerdir. Yukarıda da belirtildiği gibi, aynı dokuda gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada da, normal solüsyonlu ortamda B-HT 933 ile cevap elde edilmemiş, ortamın kalsiyum konsantrasyonu iki katına çıkarıldığında elde edilen maksimum cevap, maksimum klonidin cevabının ancak  $\% 24 \pm 2.33$  oranında oluşmuştur. Normal



solüsyonda cevap elde edilememesi ve buna ilaveten yüksek kalsiyumlu ortamda elde edilen cevabın klonidin cevabına göre anlamlı olarak düşük olması nedeniyle, bu dokuda, B-HT 933 ile çalışmada denenen  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör antagonistleri arasındaki etkileşme araştırılmamıştır.

Tavşanda vaz deferens ve aortada yapılan bu in vitro çalışmada,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonistleri klonidin ve B-HT 933 ile elde edilen cevaplar ve bunların  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör antagonistleri olan yohimbin ve fluparoksanla inhibe edilebilirliği araştırılmıştır. Vaz deferens preparatında elektriksel stimülasyonla elde edilen cevaplar, belirtilen her iki agonistle doza bağımlı bir şekilde inhibe edilmiş ve inhibisyonun ortadan kaldırılmasında bu agonistlerle yohimbin ve fluparoksan arasındaki etkileşmenin kompetitif antagonizma tipine uyduğu saptanmıştır. Çalışmanın aortada yapılan bölümünde de klonidin, doza bağımlı olarak kasılma oluşturmuş ve bu cevaplar yohimbin ve fluparoksanla yine kompetitif olarak antagonize edilmiştir. Yohimbin ve fluparoksanın etki güçleri kıyaslandığında, denenen her iki agoniste karşı hem vaz deferenste ve hem de aortada yohimbinin fluparoksana göre daha etkin olduğu saptanmıştır.

## **BÖLÜM VI**

### **ÖZET**

Yeni bir  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör blokörü olan fluparoksanın pre- ve postsinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerdeki etkinliğinin araştırılması amacı ile yapılan bu in vitro çalışmada, tavşan vaz deferensi ve tavşan aortası üzerinde çalışılmış ve fluparoksanın etkinliği, bilinen bir  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör antagonisti olan yohimbinle karşılaştırılmıştır. Çalışmada  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonistleri olarak da klonidin ve B-HT 933 kullanılmıştır.

Preparatlar temperaturü 37 °C'de sabit tutulan, % 95 O<sub>2</sub> - % 5 CO<sub>2</sub> karışımı ile gazlandırılan ve Krebs-Henseleit solüsyonu içeren 25 ml'lik organ banyosuna alınmıştır. Tavşan vaz deferensinin prostatik yarıları supramaksimal voltaj, 0.1 Hz ve 1 ms şartlarında uyarılarak kasılma cevapları elde edilmiş ve bu cevapların agonistlerle inhibisyonunda antagonist ilaçların etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Aortada ise benzer şekilde, agonistlerle elde edilen kasılma cevaplarının antagonist ilaçlarla inhibisyonu araştırılmıştır.

Tavşan vaz deferensinde elektriksel stimülasyonla elde edilen kasılma cevapları, klonidin ve B-HT 933 ile doza bağımlı olarak inhibe edilmiş, ortama iki farklı konsantrasyonda uygulanan yohimbin ve fluparoksan, bu agonistlerle elde edilen konsantrasyon-cevap eğrilerini anlamlı olarak, paralel bir şekilde ve maksimum cevabı etkilemeden sağa kaydırmışlardır. Elde edilen pA<sub>2</sub> değerleri mukayese edildiğinde, klonidin ve B-HT 933'e karşı yohimbinle elde edilen pA<sub>2</sub> değerlerinin (8.000 ± 0.112 ; 7.912 ± 0.160), fluparoksanla elde edilen değerlerden (7.423 ± 0.152 ; 7.049 ± 0.108) anlamlı olarak büyük olduğu görülmüştür.

Tavşan aortasında kümülatif tarzda ilave edilen klonidin, konsantrasyona bağımlı bir şekilde kasılma oluşturmuş ve iki farklı



konsantrasyonda uygulanan yohimbin ve fluparoksan, klonidin kontrol konsantrasyon-cevap eğrisini anlamlı olarak, paralel bir şekilde sağa kaydırmış ve maksimum kasılma cevabı değişmemiştir. Yohimbin, klonidine bağlı kasılma cevaplarını inhibe etmede, fluparoksana göre oldukça etkin bulunmuştur.

Sonuç olarak, tavşan vaz deferens ve aorta preparatında yohimbin ve fluparoksan için bulunan  $pA_2$  değerleri karşılaştırıldığında, her iki dokuda da, yohimbinin fluparoksana göre daha potent olduğu saptanmıştır. Çalışmada ayrıca B-HT 933'ün intrinsik aktivitesinin klonidine göre anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür.

## **BÖLÜM VII**

### **SUMMARY**

#### **PRE- AND POSTSYNAPTIC $\alpha_2$ -ADRENERGIC RECEPTOR BLOCKING EFFECTS OF FLUPAROXAN IN RABBIT VAS DEFERENS AND AORTA**

In this *in vitro* study, the effectiveness of fluparoxan, a new  $\alpha_2$ -adrenergic receptor blocking agent, on pre- and postsynaptic  $\alpha_2$ -adrenergic receptors has been studied in the isolated rabbit vas deferens and aorta. The results obtained with fluparoxan have been compared with those of yohimbine, a well-know  $\alpha_2$ -adrenergic receptor antagonist. In the study, clonidine and B-HT 933 were used as  $\alpha_2$ -adrenergic receptor agonists.

The tissues were 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>. In order to compare the effectiveness of yohimbine and fluparoxan on presynaptic  $\alpha_2$ -adrenergic receptors, the prostatic halves of rabbit vas deferens were electrically stimulated at supramaximal voltage, 0.1 Hz and 1 ms duration. In addition, the inhibitory potencies of yohimbine and fluparoxan on rabbit aorta contractions induced by agonist drugs have been examined.

Contractile responses of rabbit vas deferens obtained by electrical stimulation were dose-dependently inhibited by both clonidine and B-HT 933. Two different concentrations of yohimbine and fluparoxan produced significant, parallel rightward displacement of agonists concentrations-response curves without any reduction in the maximum responses. When compared, the pA<sub>2</sub> values for yohimbine against clonidine and B-HT 933 (8.000 ± 0.112 ; 7.912 ±

0.160) were significantly greater than the values obtained with fluparoxan ( $7.423 \pm 0.152$  ;  $7.049 \pm 0.108$ ).

In rabbit aorta, cumulative addition of clonidine caused a concentration-dependent contraction. Two different concentrations of yohimbine and fluparoxan shifted significantly and parallel fashion to the right the clonidine control concentration-curves with no change in the maximum responses. It was found that yohimbine was much more effective than fluparoxan in inhibiting the clonidine-dependent contractile responses.

As a conclusion, when the  $pA_2$  values calculated for yohimbine and fluparoxan were compared, it was found that yohimbine was more potent than fluparoxan in these two tissues. It was also determined that, the intrinsic activity of B-HT 933 was significantly lower than that of clonidine.

## **BÖLÜM VIII**

### **KAYNAKLAR**

1. Ahlquist, R. P. (1948) A study of the adrenergic receptors, Am. J. Physiol., 153, 586-600.
2. Akers, I., Coates, C., Drew, G. M. and Sullivan, A. T. (1991)  $\alpha_2$ -Adrenoceptor blocking profile of SKF 104078: further evidence for receptor subtypes, Br. J. Pharmacol., 102, 943-949.
3. Alberts, P. (1993) Subtype classification of presynaptic  $\alpha_2$ -adrenoceptors, Gen. Pharmac., 24, 1, 1-8.
4. Aleixandre, A., Pintado, A. and Puerro, M. (1992)  $\alpha_2$ -Adrenoceptor mediated contractions in the rabbit aorta treated with BAY K 8644, Eur. J. Pharmacol., 221, 129-134.
5. Arunlakshana, O. and Schild, H. O. (1959) Some quantitative uses of drug antagonists, Br. J. Pharmacol. Chemother., 14, 48-58.
6. 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.
7. Bylund, D. B. (1985) Heterogeneity of alpha-2 adrenergic receptors, Pharmacol. Biochem. Behav., 22, 835-843.

8. Bylund, D. B. 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.

9. Bylund, D. B., (1992) Subtypes of  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ -adrenergic receptors, *FASEB J.*, 6, 832-839.

10. Connaughton, S. and Docherty, J. R. (1990) Functional evidence for heterogeneity of peripheral prejunctional  $\alpha_2$ -adrenoceptors, *Br. J. Pharmacol.*, 101, 285-290.

11. Cotecchia, S., Schwinn, D. A., Randall, R. R., Lefkowitz, R. J., Caron, M. G. and Kobilka, B. K. (1988) Molecular cloning and expression of the cDNA for hamster  $\alpha_1$ -adrenergic receptor, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 85, 7159-7163.

12. Daly, C. J., McGrath, J. C. and Wilson, V. G. (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.

13. 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.

14. Docherty, J. R., MacDonald, A. and McGrath, J. C. (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.

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

16. Doxey, J. C., Smith, C. F. C. and Walker, J.M. (1977) Selectivity of blocking agents for pre- and postsynaptic  $\alpha$ -adrenoceptors, *Br. J. Pharmacol.*, 60, 91-96.

17. Doxey, J. C., Roach, A. G. and Smith, C. F. C. (1983) Studies of Rx 781094: a selective, potent and specific antagonist of  $\alpha_2$ -adrenoceptors, Br. J. Pharmacol., 78, 489-505.
18. Drew, G. M. (1978) Pharmacological characterization of the presynaptic  $\alpha$ -adrenoceptor regulating cholinergic activity in the guinea-pig ileum, Br. J. Pharmacol., 64, 293-300.
19. Furness, J. B. (1974) Transmission to the longitudinal muscle of the guinea-pig vas deferens: the effect of pretreatment with guanethidine, Br. J. Pharmacol., 50, 63-68.
20. Goldstein, A. (1971) Biostatistics and Introductory Text, The Mc Millan Co., New York.
21. Halliday, C. A., Jones, B. J., Skingle, M., Walsh, D. M., Wise, H. and Tyers, M. B. (1991) The pharmacology of fluparoxan: a selective  $\alpha_2$ -adrenoceptor antagonist, Br. J. Pharmacol., 102, 887-895.
22. Han, C., Abel, W. and Minneman, K. P. (1987 a) Heterogeneity of  $\alpha_1$ -adrenergic receptors revealed by chlorethyclonidine, Mol. Pharmacol., 32, 505-510.
23. Han, C., Abel, P. W. and Minneman, K. P. (1987b)  $\alpha_1$ -Adrenoceptor subtypes linked to different mechanisms for increasing intracellular  $Ca^{2+}$  in smooth muscle, Nature, 329, 333-335.
24. Han, C., Li, J. and Minneman, K. P. (1990) Subtypes of  $\alpha_1$ -adrenergic receptors in rat blood vessels, Eur. J. Pharmacol., 190, 97-104.
25. Harsing, L. G. and Vizi, E. S. (1992) Different sites of action for  $\alpha_2$ -adrenoceptor antagonists in the modulation of noradrenaline release and contraction response in the vas deferens of the rat, J. Pharm. Pharmacol., 44, 231-234.

26. Isom, L. L. and Limbird, L. E. (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.

27. Langer, S. Z. (1974) Presynaptic regulation of catecholamine release, *Biochem. Pharmacol.*, 23, 1973-1800.

28. Lattimer, N. and Rhodes, K. F. (1985) A difference in the affinity of some selective  $\alpha_2$ -adrenoceptor antagonists. When compared on isolated vasa deferentia of rat and rabbit, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 329, 278-281.

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

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

31. McGrath, J. C. (1982) Evidence for more than one type of postjunctional  $\alpha$ -adrenoceptor, *Biochem. Pharmacol.*, 31, 467-484.

32. Michel, A. D. and Whiting, R. L. (1981) 2-(2-imidazolylmethyl)-4-benzodioxans, a series of selective  $\alpha_2$ -adrenoceptor antagonists, *Br. J. Pharmacol.*, 74, 255-256.

33. Morrow, A. L. and Creese, I. (1986) Characterization of  $\alpha_1$ -adrenergic receptor subtypes in rat brain: a reevaluation of [ $^3$ H] WB 4101 and [ $^3$ H] prazosin binding, *Mol. Pharmacol.*, 29, 321-330.

34. Mottram, D. R. (1983) Pre-junctional  $\alpha_2$ -adrenoceptor activity of B-HT 920, *J. Pharm. Pharmacol.*, 335, 652-655.



35. Pagenkopf, C. W., Bourreau, J. P. and Challice, C. E. (1990) Changes in prejunctional potency of B-HT 933 during aging in the rat vas deferens, *Cli. Exp. Pharma. Physiol.*, 17, 557-565.
36. Petras, A. C. and Bylund, D. B. (1986) Alpha-2 adrenergic receptor subtypes indicated by [<sup>3</sup>H] yohimbine binding in human brain, *Life Sci.*, 38, 2129-2137.
37. Purdy, R. E. and Stupecky, G. L. (1984) Characterization of the alpha adrenergic receptor properties of rabbit ear artery and thoracic aorta, *J. Pharma. Exp. Ther.*, 229, 459-468.
38. Ruffolo, R. R., Yaden, E. L. and Waddel, J. E. (1980) Receptor interactions of imidazolines: V. clonidine differentiates postsynaptic alpha adrenergic receptor subtypes in tissues from the rat, *J. Pharmac. Exp. Ther.*, 213, 557-561.
39. Ruffolo, R. R. and Zeid, R. L. (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.
40. Schildkraut, J. J. (1965) Catecholamine hypothesis of affective disorders: reviews of supporting evidence, *Am. J. Psychol.*, 122, 509-522.
41. Schwin, D. A., Lomasney, J. W., Lorenz, W., Szklut, P. J., Fremeau, R. T., Yang-Feng, T., Caron, M. G. and Lefkowitz, R. J. (1990) Molecular cloning and expression of the cDNA for a novel adrenergic receptor subtype, *J. Biol. Chem.*, 265, 8181-8189.
42. Simonneauz, V., Ebadi, M. and Bylund, D. B. (1991) Identification and characterization of alpha-2D adrenergic receptors in bovine pineal gland, *Mol. Pharmacol.*, 40, 235-241.

43. Smith, K., Connaughton, S. and Docherty, J. R. (1992) Investigations of prejunctional  $\alpha_2$ -adrenoceptors in rat atrium, vas deferens and submandibular gland, *Eur. J. Pharmacol.*, 211, 251-256.
44. 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.
45. Starke, K., Borowski, E. and Endo, T. (1975) Preferential blockade of presynaptic  $\alpha$ -adrenoceptors by yohimbine, *Eur. J. Pharmacol.*, 34, 384-388.
46. Starke, K. and Docherty, J. R. (1981) Alpha-1 and alpha-2 adrenoceptors: pharmacology and clinical implications, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 3, 14-23.
47. Stjarne, L. and Astrand, P. (1985) Relative pre- and postjunctional roles of noradrenaline and adenosine 5'-triphosphate as neurotransmitters of the sympathetic nerves of guinea-pig and mouse vas deferens, *Neuroscience*, 14, 3, 929-946.
48. Summers, R. J. and McMartin, L. R. (1993) Adrenoceptors and their second messengers systems, *J. Neurochemistry*, 60, 1, 10-23.
49. Timmermans, P. B. M. W. M., Kwa, H. Y. and Van Zwieten, P. A. (1979) Possible subdivision of postsynaptic  $\alpha$ -adrenoceptors mediating pressor responses in the pithed rat, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 310, 189-193.
50. Verbeuren, T. J., Konenig-Berard, E., Jordaens, F. H., Van Hoydonck, A. E., Verrelst, J., Zonnekeyn, L. L. and Herman, A. G. (1989) Interaction of rilmenidine and clonidine with pre- and postjunctional  $\alpha$ -adrenoceptors in rat and rabbit blood vessels and in rat kidneys, *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 300, 114-139.

51. Wannan, G., Prior, C. and Marshall, I. G. (1991)  $\alpha$ -Adrenoceptor blocking properties of vesamicol, *Eur. J. Pharmacol.*, 201, 29-34.

52. Wilson, K. M. and Minneman, K. P. (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**

1964 yılında Konya'da doğdum. İlk ve ortaöğrenimimi de bu ilde tamamladım. 1981 yılında İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ne girerek, 1985 yılında bu fakülteyi bitirdim. 1986 yılında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi olarak atandım. 1989 yılında aynı bölümde yüksek lisansımı tamamladım, halen öğretim görevlisi olarak çalışmaktayım.

Evli ve iki çocuk annesiyim.

## **TEŞEKKÜR**

Bana bu tezi vererek yetişmemi sağlayan, tezin oluşumunda konu seçiminden yazımına kadar her aşamada değerli yardımlarını esirgemeyen hocam, sayın Prof. Dr. Necdet DOĞAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Öğr. Gör. Ayşe Saide ŞAHİN  
Nisan 1994 - KONYA

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ