

T. C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

17154

**ESTROJEN VE PROGESTERON TEDAVİSİ YAPILAN  
OVARIEKTOMİLİ SIÇANLARDA RİTODRİN VE  
NİKARDİPİNİN TOKOLİTİK ETKİLERİNİN  
KARŞILAŞTIRILMASI**

(DOKTORA TEZİ)

Uzm. Ecz. Mehmet KILIÇ  
Farmakoloji Anabilim Dalı

T. C.  
Yükseköğretim Kurulu  
Dokümantasyon Merkezi

Danışman :  
Prof. Dr. Necdet DOĞAN

## İ Ç İ N D E K İ L E R

BÖLÜM I .....	
Giriş .....	1
BÖLÜM II .....	
Literatür Bilgisi .....	2
BÖLÜM III .....	
Materyal ve Metod .....	10
III.1. Gruplandırma .....	10
III.2. Biyolojik preparatların hazırlanması .....	10
III.3. Deneysel prosedür .....	11
III.4. Besleyici solüsyonlar ve ilaçlar .....	14
III.5. İstatistiksel yöntemler .....	14
BÖLÜM IV .....	
Bulgular .....	16
BÖLÜM V .....	
Tartışma ve Sonuç .....	25
BÖLÜM VI .....	
Özet (Türkçe) .....	30
BÖLÜM VII .....	
Özet (İngilizce) .....	32
BÖLÜM VIII .....	
Literatür .....	34
Özgeçmiş .....	37
Teşekkür .....	38

## B Ö L Ü M I

### GİRİŞ

Pratikte prematür doğum eylemini durdurmak ve gebeliği miyadına kadar sürdürmek amacıyla tokolitik (uterus düz kasını gevşeten) ilaçlar kullanılmaktadır. Alkol, magnezyum sülfat ve prostaglandin sentez inhibitörleri gibi tokolitik etkili ilaçlar günümüzde yerlerini  $\beta_2$ -adrenerjik reseptör agonisti ilaçlara ve bunlardan özellikle ritodrin'e bırakmışlardır. Ancak ritodrin, uterus düz kasına ilaveten kalp, damar düz kası ve çizgili kas gibi diğer yapılarda bulunan  $\beta$ -adrenerjik reseptörleri de stimüle ederek bazı önemli yan tesirlere, örneğin: hipotansiyon, taşikardi ve tremorlara neden olmaktadır. Bu nedenle son yıllarda, ritodrin ve diğer  $\beta_2$ -agonistlere alternatif ilaç bulunması çabaları hızlanmıştır. Çalışmalar daha ziyade ilk  $Ca^{++}$ -antagonistleri olan ve oldukça tanınan verapamil ve nifedipin üzerinde yoğunlaşmıştır. Buna karşın, yeni sentezlenen  $Ca^{++}$ -antagonistlerinden özellikle nikardipin'le yeterli sayıda çalışma bulunmadığı dikkati çekmektedir. Diğer önemli bir noktada, gerek  $Ca^{++}$ -antagonistlerinin ve gerekse diğer tokolitik ilaçların etkinliklerinin hormonal duruma ve özellikle ekstraselüler sıvıdaki estrojen ve progesteron düzeylerine göre değişebilmesidir. Bu nedenle, normal ve gebelik modeline uygun hormon tedavisi yapılmış sıçanlardan alınan uteruslarda kasıcı ajan olarak asetilkolin, oksitosin ve potasyum klorür kullanılmış ve bu ilaçlara bağlı kasılmaların inhibisyonunda ritodrin ve nikardipin'in tokolitik etkileri karşılaştırılmıştır.

## B Ö L Ü M II

### LİTERATÜR BİLGİSİ

İzole sıçan uterus düz kasında, kasıcı ajan olarak asetilkolin, oksitosin ve potasyum klorür (KCl)'ün kullanıldığı bu çalışmada tokolitik ajan olarak ritodrin ve nikardipin denenmiş olup, hormonal durumdaki değişimlerin bu ilaçlara verilen cevapları ne şekilde etkilediği araştırılmıştır.

Bilindiği gibi, pratikte prematür doğum eylemini durdurmak ve gebeliği miyadına kadar sürdürmek amacıyla kullanılan ajanlara tokolitik (uterus düz kasını gevşeten) ilaçlar denilmektedir. Tokolitik ajan olarak klinikte şimdiye kadar etilalkol, magnezyum sülfat, prostaglandin sentez inhibitörleri gibi ilaçların kullanıldığı görülmektedir. Ancak, son yıllarda, yukarıda belirtilen ilaçların yerine selektif etkili  $\beta_2$ -adenerjik reseptör agonistleri ve bunlardan özellikle ritodrin kullanılmaktadır. Ritodrin'in uterus düz kası üzerine olan etkisinin bu grubun diğer iki üyesi olan terbutalin ve salbutamol'a göre daha selektif olduğu dikkati çekmekte ise de, bu ilacın uterus dışındaki diğer düz kaslı yapıları ve bazı metabolik olayları da belirgin olarak etkilediği bilinmektedir. Nitekim pulsasyon basıncının artması, diastolik basınçta düşme, pulmoner ödem, taşikardi, tremor, kan glukoz ve insülin düzeylerinde artış ve hipopotasemi ritodrin uygulanmasında karşılaşılan önemli yan tesirler arasında sayılabilir (8,17,18). Bu yan tesirler klinikte yeterli dozda ritodrin verilmesini engelleyen önemli faktörler olarak kabul edilmektedir. Akut ritodrin uygulamasına bağlı olan bu yan tesirlere ilaveten, özellikle tekrarlanan ritodrin kullanımlarında ortaya çıkan ve esasen  $\beta$ -adrenerjik reseptörler düzeyinde oluşan bazı önemli sıkıntılarda görülmektedir.

Bilindiği gibi  $\beta$ -adrenerjik reseptör agonistleri temel etkilerini miyometriumdaki  $\beta$ -adrenerjik reseptörleri aktive ederek gösterirler. Belirtilen agonistlerle kenetlenen reseptör, guanin nükleotidi düzenleyici proteinle yüksek afiniteli kompleks oluşturur. Bu kompleks membrana bağlı adenilat siklaz enzimini aktive ederek adenozin trifosfat'tan siklik adenozin monofosfat (c - AMP) oluşmasını sağlar. Oluşan bu son intraselüler ürün bir seri biyokimyasal olay sonucu intraselüler kalsiyum düzeyini düşürür ve uterus düz kasının kasılmasını önler. Ancak, yukarıda da belirtildiği gibi tekrarlanan kullanımlarda  $\beta$ -adrenerjik reseptörlerin fonksiyonlarında önemli değişimler oluşur. Başlangıçta aktive reseptör - guanin nükleotidi regülatör protein kompleksinde ayrışma (desensitizasyon) oluşur ve böylece adenilat siklaz enzimi aktivasyonu gerçekleşemez. Ritodrin uygulanmasına devam edildikçe miyometriumdaki  $\beta$ -adrenerjik reseptörlerin sayısı da azalmaya başlar (Down regulation) (12).

Ritodrin ve diğer  $\beta_2$ -adrenerjik reseptör agonisti ilaçların yukarıda açıklanan sakıncalarının bulunması, daha uygun tokolitik ilaçların geliştirilmesi çabalarını hızlandırmıştır. Bu konuda yapılan çalışmaların son yıllarda özellikle kalsiyum kanal blokörleri üzerinde yoğunlaştığı dikkati çekmektedir. Tedavide antihipertansif, antianginal ve antiaritmik etkileri nedeniyle yaygın kullanım yerine sahip bulunan ve temel etkilerini hücreye kalsiyum girişini bloke ederek gösteren ilaçlar kalsiyum kanal blokörleri (kalsiyum antagonistleri) olarak adlandırılırlar.

Kalsiyum düz kaslı yapılarda depolarizasyondan sorumlu temel katyondur. Uyarılabilir hücreler dinlenme döneminde bu iyonun pek geçirgen değildirler. Dinlenme döneminde ekstraselüler sıvıdaki kalsiyum konsantrasyonu (1 mM) intraselüler sıvıdaki konsantrasyona (0.1  $\mu$ M) nazaran 10.000 kez daha yüksektir. Eksitasyon - kontraksiyon kenetinin sağlana-

bilmesi için sitoplazmik kalsiyum düzeyinin artması gerekir. Kalsiyum iyonunun ekstraselüler ortamdan intraselüler ortama geçişi makromoleküller protein yapısında olan kalsiyum kanalları aracılığı ile olur. Bu kanalların aktivasyonu sırasında kalsiyum iyonu konsantrasyon gradientine uygun olarak pasif diffüzyon suretiyle daha az yoğun olduğu intraselüler ortama geçer. Kasılmanın gerçekleşmesini sağlayan intraselüler kalsiyum düzeyi artışında  $Na^+$  -  $Ca^{++}$  değiş-tokuş mekanizması ve ayrıca intraselüler kalsiyum depolarından kalsiyum açığa çıkmasında rol oynar (5,25). Hücre membranında ekstraselüler kalsiyum girişi için iki ayrı tipte kalsiyum kanalı bulunduğu gösterilmiştir (4). Yüksek potasyumla oluşan kasılmalarda da görüldüğü gibi, membran depolarizasyonuna bağlı olarak açılan kanallara potansiyele bağımlı kalsiyum kanalları (POC: Potential operated channels) ve düz kas membranında bulunan bazı reseptörlerin uygun agonistlerle aktive edilmesi sonucu açılan kalsiyum kanallarına da reseptöre bağımlı kalsiyum kanalları (ROC : Receptor-opareted channels) adı verilir.

Kalsiyum kanal blokörü ilaçlar hücreye ekstraselüler ortamdan kalsiyum girişini bloke ederler. İlk kez 1977 yılında Fleckenstein (7) tarafından kalsiyum antagonistleri olarak isimlendirilmişlerdir. Bu ilaçların reseptöre bağımlı kalsiyum kanallarından ziyade potansiyele bağımlı kalsiyum kanallarını daha belirgin olarak bloke ettikleri de gösterilmiştir (20,23). Voltaja bağımlı kalsiyum kanallarının farmakolojik ajanlara verdikleri cevaplara göre T, L ve N şeklinde isimlendirilen üç ayrı tipinin bulunduğu belirlenmiştir. Sunulan bu çalışmada kullanılan nikardipin dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokörlerinin bir üyesi olup, L-tipi kanalları daha selektif bir şekilde bloke etmektedir (24).

Bu çalışmada kasıcı ajan olarak kullanılan asetilkolin memeli dokularında muskarinik ve nikotinik tipteki reseptörleri aktive eden kolinergik bir ajandır. Düz kaslar asetilkolin'in etkisine oldukça duyarlı olan yapılardır. Asetilkolin uterus düz kasında muskarinik tipteki kolinergik reseptörleri aktive ederek kasılma oluşturur. Düz kaslı yapılarda kasılma olayının gerçekleşebilmesi için intraselüler serbest kalsiyum düzeyinin artması gerekir. Bu artış ekstraselüler ortamdan hücre içine olan kalsiyum-influx'ı ve/veya intraselüler depolardan serbestleyen kalsiyumla sağlanır (5). Kolinergik ilaçların neden olduğu kasılmalarda ekstraselüler kalsiyuma olan ihtiyaç farklılık gösterir. Asetilkolin'e bağlı kasılmalarda ekstraselüler kalsiyum influx'ı ve intraselüler kalsiyum-rilizi birlikte rol oynar. Asetilkolin uterus düz kasında ekstraselüler kalsiyum içermeyen ortamlarda da kasılma oluşturur. Bu durumda kasılma için gerekli olan kalsiyum intraselüler depolardan açığa çıkan kalsiyumla sağlanır.

Bu çalışmada kullanılan diğer bir uterus kasıcı ajan olan oksitosin ise uterusunda kendisine özgü reseptörleri aktive ederek kasılma oluşturur. Kasılmaların frekans ve amplitüdünü arttırır. İnsanda yapılan çalışmalar uterusunda oksitosin reseptör sayısının gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak arttığını ortaya koymuştur. Reseptör aktivasyonu sonucu gerçekleşen ritmik aktivite ve kasılma amplitüdü artışında rol oynayan intraselüler ara mekanizmalar henüz kesin olarak bilinmemektedir. Asetilkolin için belirtildiği gibi, oksitosine bağlı kasılmalarda da intraselüler kalsiyum düzeyinin artması temel olay niteliğindedir. Oksitosine bağlı kasıcı etkide bu ajanın fosfoinositid hidrolizini arttırıcı etkisinin ve buna bağlı olarak gerçekleşen intraselüler kalsiyum rilizinin payı nisbeten azdır. Buna karşın, kasıcı etkideki temel mekanizmanın

voltaja duyarlı kalsiyum kanallarından kalsiyum influx'ına bağlı olduğu savunulmaktadır (15).

Çalışmada denenen kalsiyum antagonistinin ekstraselüler kalsiyumun intraselüler ortama geçişini hangi düzeyde inhibe ettiğini araştırmak amacıyla, agonist olarak KCl kullanılmıştır. Bilindiği gibi, ekstraselüler ortamda KCl konsantrasyonunun artırılması potansiyele bağımlı olarak açılan kanalları aktive etmekte ve buna bağlı olarak intraselüler serbest kalsiyum düzeyi artmakta ve sonuçta düz kas kasılması gerçekleşmektedir (20,23).

Uterus düz kasının kasıcı ajanlara verdiği cevap ve bu cevapların uterus gevşetici ilaçlarla antagonize edilebilme özelliğinin hormonal durumdaki değişimlerden ne şekilde etkilendiği konusunda bir çok çalışma yapılmıştır. Bu konuda yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular bazı noktalarda farklılıklar göstermektedir.

Sıanda uterus dokusunun oksitosin'e verdiği kasılma tarzındaki cevapların derecesinin hayvanın fizyolojik durumuna göre değiştiği bilinmektedir. Miyometriyum dokusunun oksitosin'e duyarlığı siklusun diöstrus ve metöstrus dönemlerinde zayıftır. Buna karşın proöstrus ve östrus fazlarında duyarlılık artmaktadır. Yapılan birçok çalışmada estrojen verilmesinin uterus düz kasında oksitosin reseptör sayısını artırdığı ve buna paralel olarak oksitosin'e verilen kasıcı cevabın da belirgin olarak güçlendiği bildirilmiştir (9,16,19,22). Estrojen uygulanmasından sonra oluşan oksitosin cevaplarındaki artışın kalsiyum iyonu ile ilişkisine yönelik çalışmalarda, estrojen'in uterus düz kasında kalsiyum influx'ını artırdığı ve bu etkinin muhtemelen kalsiyum kanal sayısındaki artma sonucu oluştuğu saptanmıştır (2). Nitekim sıçan uterusu izole plazma membranında yapılan bu çalışmada estrojenin nitrendipin'in bağ-



lanma yeri sayısını artırdığı, bu etkinin uterus dokusu için spesifik olduğu ve bu nedenle uretra ve sidik kesesinde böyle bir etkinin gözlenmediği belirtilmiştir. Bu bulguyu destekleyen diğer bir çalışma da Batra ve Sjörgen (3) tarafından yapılmış olup estrogen'in uterus düz kasında ekstraselüler kalsiyum influx'ını 2 kez artırdığı gösterilmiştir.

Yukarıda da belirtildiği gibi, estrogen tedavisi uterus düz kasında oksitosin reseptör sayısını artırdığı halde, estrogen'le birlikte progesteron verilmesi veya sadece progesteron uygulanması estrogen'e bağlı oksitosin reseptör sayısı artışını engellemektedir (9). Buna paralel olarak hormonal durumdaki değişimin ekstraselüler kalsiyum influx'ını değiştirdiği de gösterilmiştir. Nitekim Ishii ve arkadaşları (13) estrogen'in kalsiyum influx'ını artırdığını, buna karşın progesteronun transmembranal kalsiyum influx'ını etkilemediğini ancak sitosoldeki kalsiyumun kalsiyum bağlayan yapılara bağlanmasını stimüle ettiğini göstermişlerdir.

Oksitosin için belirtildiği gibi, uterus düz kasının diğer bir kasıcı ajan olan potasyum klorür'e verdiği kasılma tarzındaki cevaplarında hayvanın hormonal durumuna göre değişebileceği belirtilmektedir (13). *In vitro* şartlarda, normal düzeyde kalsiyum içeren yüksek  $K^+$ lu solüsyonlarla yapılan çalışmalarda estrogen tedavisi yapılan veya estrogenle birlikte progesteron uygulanan sıçanlardan alınan uteruslarda, hormon tedavisi yapılmayan hayvanlardan çıkarılan dokulara göre KCl'e göre verilen cevapların daha belirgin olduğu gösterilmiştir. Buna karşın, sadece progesteron uygulanan hayvanlardan alınan uteruslarda KCl'e verilen kasıcı cevapların hormon tedavisi yapılmayan kontrol grubuna göre değişmediği saptanmıştır (3,26). Ishii ve arkadaşları (13) kalsiyumsuz yüksek  $K^+$ lu ortam kullanarak yaptıkları bir çalışmada, hormon teda-

visi yapılmayan veya sadece estrogen tedavisi uygulanan sıçanlardan alınan uterusda kasılma oluşmadığını progesteron veya projesteronla birlikte estrogen uygulanan grupta ise kasılma tarzında cevap elde edildiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu bulguya dayanarak projesteron'un intraselüler organellere  $Ca^{++}$  bağlanmasını artırdığını savunmuşlardır. Kalsiyum içeren yüksek  $K^+$ 'lu ortam veya kalsiyumsuz yüksek  $K^+$ 'lu ortam kullanılarak yürütülen yukarıdaki çalışmalar değerlendirildiğinde estrojenin esasen ekstraselüler  $Ca^{++}$  girişini artırdığını, buna karşın projesteron'un intraselüler kalsiyumun salıverilmesi ile ilgili mekanizmaları etkilediğini söylemek mümkündür.

Gonadal steroid (estrogen, projesteron) verilmesinin uterus düz kasında asetilkolin'e bağlı kasılma cevaplarını ne şekilde etkilediği konusunda çok az bilgi bulunmaktadır. Nissenson ve arkadaşları (19) izole tavşan uterusunda estrogen tedavisinin diğer bir muskarinik ajan olan metakolin'in neden olduğu kasılma cevabını artırdığını buna karşın estrogenle birlikte projesteron uygulanan tavşanlardan alınan uteruslarda ise metakolin'e verilen cevabın hormon tedavisi yapılmayan gruba göre değişmediğini belirtmişlerdir. Köpek uterusunda asetilkolin'in kasıcı etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (1) ortamda kalsiyum düzeyinin azaltılmasının asetilkolin'e verilen maksimum cevabı inhibe etme özelliğine bakılmış ve estrogenle birlikte projesteron tedavisi yapılan grupta, kontrol grubuna nazaran, asetilkolin'e bağlı kasılmaların ekstraselüler kalsiyuma daha çok bağımlı olduğu gösterilmiştir.

Literatürde, hormonal duruma göre ritodrin ve kalsiyum antagonistlerinin tokolitik etkinliklerinin değişimi ve bunların karşılaştırılması konusunda herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Buna ilaveten, nispeten yeni sayılan ve bir dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokö-

rü olan nikardipin'in tokolitik etkisi konusunda da yeterli bilgi bulunmadığı ve uterus dokusunda kalsiyum kanal blokörleri ile yapılan çalışmaların daha ziyade nifedipin, diltiazem ve verapamil üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Bu nedenle sunulan bu çalışmada gonadal steroidlerle tedavi edilen ovariektomili sıçanlardan alınan uteruslarda kasıcı ajan olarak asetilkolin, oksitosin ve KCl kullanılmış olup, bu ilaçlara bağlı kasılmalarda nikardipin ve ritodrin'in tokolitik etkinlikleri araştırılmıştır.



### B Ö L Ü M III

#### MATERYAL VE METOD

##### III. 1. Gruplandırma

Asetilkolin ve oksitosin'e bağılı uterus kasılmalarında ritodrin ve nikardipin'in tokolitik etkilerini mukayese etmek amacı ile yapılan bu in vitro çalışmada 180-230 g ağırlığında dişi sıçanlar kullanılmıştır. Gebelik ve emzirme dönemlerinde bulunan hayvanlar çalışmaya dahil edilmemişlerdir. Östrus siklusu gözetilmeksizin seçilen hayvanlar kontrol ve deneme (ovariektomili grup) grubu şeklinde gruplandırılmışlardır.

##### KONTROL GRUBU

Bu gruptaki hayvanlara çalışmadan 24 saat önce s.c. yolla tek doz şeklinde 1 mg/kg estradiol benzoat injekte edilmiştir.

##### DENEME GRUBU

Eter anestezi altında ventral laparotomi ile bilateral ovariektomi yapılan bu hayvanlara operasyondan sonraki 9.,10.,11. ve 12. günlerde s.c. yolla 4 gün süreyle 1 mg/kg/gün dozunda estradiol benzoat ve bu uygulamadan sonra 13.,14.,15. ve 16. günlerde de yukarıda belirtilen dozdaki estradiol benzoat'la birlikte yine 4 gün süreyle s.c. yolla 1 mg/kg/gün dozunda projesteron injekte edilmiştir. Hayvanlar son projesteron injeksiyonundan 24 saat sonra denemeye alınmışlardır.

##### III. 2. Biyolojik preparatın hazırlanması :

Yukarıda belirtilen şekilde hazırlanan sıçanlar çalışma günü başlarına vurularak sersemletilmiş ve a. carotis'leri kesilerek öldürülmüşlerdir. Karın boşluğu açılarak, Cornu uteri'ler besleyici solüsyon konulmuş bir petri kutusu içerisine alınmıştır. Burada çevre dokulardan temizlenen her iki Cornu % 95 O<sub>2</sub> - % 5 CO<sub>2</sub> karışımı ile sürekli olarak

gazlandırılan ve 37 °C'de ısıtılan 20 ml hacminde besleyici solüsyon içeren iki ayrı izole organ banyosuna yerleştirilmişlerdir. Preparatlara 0.5 g gerilim uygulanmış ve kullanılan ilaçlara bağlı cevaplar 10 kez büyütülerek izotonik olarak kimograf tamburuna sarılı isli kağıda yazdırılmıştır.

### III. 3. Deneysel prosedür :

Cornu uteri'ler 15 dakika aralıklarla besleyici solüsyonla yıkanarak 1.5 saat süreyle dinlenmeye bırakıldı. Kontrol ve deneme gruplarından elde edilen bulguları mukayese edebilmek amacı ile çalışma her iki grupta da benzer şekilde uygulanan 3 bölüm halinde yürütülmüştür. Kontrol ve deneme gruplarında her çalışmanın bitiminde Cornu'lar kurutma kağıdı ile kurutulup tartılıp, deneme grubuna uygulanan hormon tedavisinin uterus ağırlığı üzerine olan etkisi de araştırılmıştır.

#### 1. Bölüm :

Uterus kasıcı ajan olarak asetilkolin ve oksitosin'in kullanıldığı bu bölümde ritodrin ve nikardipin'in bu iki ilaçla etkileşmesi araştırılmıştır.

Agonist olarak asetilkolin'in kullanıldığı çalışmalarda kümülatif uygulama yapıldı. Verilen dozda maksimum kararlı amplitüde ulaştıktan sonra, bir sonraki konsantrasyona geçilerek kontrol konsantrasyon-cevap eğrileri elde edildi. Bu aşamadan sonra, doku belirli aralıklarla yıkandı. Bazal düzeye inildikten sonra ortama ritodrin veya nikardipin ilave edilerek 20 dakika süreyle beklenildi. Bu sürenin bitiminde asetilkolin le tekrar konsantrasyon-cevap eğrisi alındı. Çalışma yukarıda belirtilen şekilde ritodrin ve nikardipin'in 3 farklı konsantrasyonu ( $10^{-8}$ - $10^{-7}$ - $10^{-6}$  M) denenerek sürdürüldü. Asetilkolin-ritodrin ve asetilkolin-nikardipin etkileşmeleri ayrı dokularda çalışıldı.

Asetilkolin-ritodrin ve asetilkolin-nikardipin etkileşmelerinin incelendiği bu bölümde kontrol ve deneme gruplarında asetilkolin'e ait kontrol  $pD_2$  ( $-\log EC_{50}$ ) değerleri hesaplanmış olup, her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunup bulunmadığı araştırılmıştır. Ayrıca her iki grupta 3 farklı ritodrin ve nikardipin dozunun asetilkolin'e bağlı maksimum cevapta oluşturduğu % inhibisyonlar da hesaplanmıştır.

Agonist olarak oksitosin'in kullanıldığı çalışmalarda da sabit doz yöntemi seçildi. Dinlenme periyodunun bitiminde 100 mU/ml konsantrasyonda uygulanan oksitosin'le 30 dakika arayla, iki kontrol cevap alındı. Değerlendirmelerde ikinci kontrol cevap kullanıldı. Bu işlemden sonra ortama  $10^{-8}$  M konsantrasyonda ritodrin veya nikardipin ilave edilerek 20 dakika süreyle beklenildi ve belirtilen dozda uygulanan oksitosin'e verilen cevap gözlemlendi. Aynı işlem  $10^{-8}$ - $3 \times 10^{-7}$  ve  $10^{-6}$  M ritodrin veya nikardipin varlığında tekrarlandı. Oksitosin-ritodrin ve oksitosin-nikardipin etkileşmelerine ayrı dokularda bakıldı.

Oksitosin-ritodrin ve oksitosin-nikardipin etkileşmelerinin incelendiği bölümde de sabit dozda uygulanan oksitosin'le elde edilen kasılmalarda ritodrin ve nikardipin'in neden olduğu % inhibisyonlar saptanmış, kontrol ve deneme gruplarında elde edilen sonuçlar mukayese edilmiştir.

## 2. Bölüm :

Nikardipin'in ekstraselüler ortamdaki kalsiyum'un intraselüler ortama geçişini ne şekilde etkilediğinin araştırıldığı bu bölümde, uterus kasıcı ajan olarak KCl kullanılmıştır. Normal besleyici solüsyonda yıkanarak 1.5 saat süreyle dinlendirilen preparatlar 0.77 mM  $Na_2$ -EDTA içeren kalsiyum'suz ortamda 1 saat süreyle inkübe edildiler. Bu sürenin bitiminde kalsiyum'suz yüksek  $K^+$  (80 mM)'lu solüsyonla muamele edilen

dokuya kümülatif konsantrasyonlarda kalsiyum ( $10^{-4}$  -  $2.5 \times 10^{-3}$  M) ilave edilerek oluşan cevap yazdırıldı. Daha sonra, normal solüsyonla yıkılarak gevşetilen preparatta, aynı işlem kümülatif dozda kalsiyum ilavesinden önce ortamda  $10^{-8}$  M nikardipin varlığında tekrarlandı. Doku nikardipin'le 20 dakika süreyle temasta bırakıldı.

Yüksek  $K^+$ 'lu solüsyon ekimolar miktarda NaCl çıkarılıp yerine KCl ilave ederek hazırlandı.

Bu bölümde yapılan çalışmalarda, ortamda  $10^{-8}$  M nikardipin varlığında kümülatif kalsiyum ilavesi ile elde edilen kasılma cevabı, ortama nikardipin ilavesinden önce kümülatif konsantrasyonda uygulanan kalsiyum'la oluşan cevabın yüzdesi olarak değerlendirildi.

### 3. Bölüm :

Submaksimal konsantrasyonda uygulanan asetilkolin ( $3 \times 10^{-5}$  M)'le oluşan kasılma cevabı üzerine ritodrin ve nikardipin'in gevşetici etkilerini incelemek amacı ile düzenlenen bu bölüm, belirtilen konsantrasyonda uygulanan asetilkolin'e verilen cevap maksimum kararlı amplitüde ulaştıktan sonra ortama kümülatif tarzda ritodrin veya nikardipin ilave edilerek sürdürülmüştür.

Bu bölümde kontrol ve deneme gruplarında ritodrin ve nikardipin için hesaplanan  $IC_{50}$  ve  $t_{1/2}$  (maksimum gevşeme için geçen sürenin % 50'si) değerleri mukayese edilmiştir. Ayrıca her iki grupta ritodrin ve nikardipin'le oluşan % maksimum gevşeme cevapları da karşılaştırılmıştır.

Gerek kontrol ve gerekse deneme gruplarında nikardipin kullanılan tüm çalışmalarda bu ilacın çözüldüğü solvente bağlı herhangi bir etkinin bulunup bulunmadığı da araştırılmıştır.

#### III.4. Besleyici solüsyon ve ilaçlar :

Deneylerde kullanılan de Jalon solüsyonunun içeriği mM olarak şöyledir :

NaCl	.....	153
KCl	.....	5.63
CaCl <sub>2</sub>	.....	0.54
NaHCO <sub>3</sub>	.....	5.90
Glukoz	.....	2.77

Deneylerde aşağıda belirtilen ilaçlar kullanıldı :

Asetilkolin (Haver), oksitosin (Sigma), ritodrin (Duphar - Eczacıbaşı), nikardipin (Sigma), estradiol benzoat (Sigma) ve projesteron (Sigma).

Estradiol benzoat ve projesteron etilalkolde, nikardipin'in stok solüsyonu ( $10^{-4}$  M) metanolde ve diğer ilaçlarla nikardipin'in alt dilüsyonları distile suda hazırlanmış olup, belirtilen konsantrasyonları baz ağırlıkları üzerinden hesaplanmıştır.

Nikardipin'le yürütülen çalışmalarda banyonun ışıktan korunmasına özen gösterilmiştir.

#### III. 5. İstatistiksel yöntemler :

Bu çalışmada elde edilen değerler ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde verilmiş olup ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel anlamlılık derecesi Student'in "t" testi ile saptanmıştır (10). Grup içi analizlerde eşleştirilmiş ve gruplar arası analizlerde de eşleştirilmemiş test uygulanmıştır. Bu hesaplamalar aşağıdaki formüllere göre yapılmıştır.



Eşleştirilmiş t testi :

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

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

Eşleştirilmemiş t testi :

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

S = standard sapma

x = aritmetik ortalama

n = deneme sayısı

P değerinin 0.05'den küçük bulunması durumunda ortalamalar arasındaki fark anlamlı kabul edilmiştir.

## B Ö L Ü M IV

### BULGULAR

#### IV. I. 1. Asetilkolin-ritodrin ve asetilkolin-nikardipin etkileşmesi:

Kontrol ve deneme grubunda kümülatif konsantrasyonda uygulanan asetilkolin konsantrasyona bağımlı bir şekilde kasılma oluşturdu (Şekil 1). Asetilkolin için hesaplanan  $pD_2$  değeri kontrol ve deneme grubunda sırasıyla  $7.09 \pm 0.35$  ve  $6.37 \pm 0.19$  olarak bulundu. Her iki grup için hesaplanan bu değerler mukayese edildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı saptandı ( $p > 0.05$ ).

Kontrol ve deneme grubunda 3 farklı konsantrasyonda uygulanan ritodrin ve nikardipin ( $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M) asetilkolin'le elde edilen maksimum kasılma cevabını doza bağımlı bir şekilde ve anlamlı olarak inhibe etmişlerdir ( $p < 0.05$ ) (Şekil 2,3). Kasılma cevabında ritodrin ve nikardipin'le elde edilen % maksimum inhibisyon değerleri tablo 1'de gösterilmiştir. Kontrol ve deneme gruplarında ritodrin'le elde edilen maksimum inhibisyon değerleri mukayese edildiğinde ritodrin'in deneme grubunda kullanılan her üç konsantrasyonunda da daha etkin olduğu görülmüştür ( $p < 0.05$ ). Buna karşın nikardipin kullanılan çalışmalarda asetilkolin'e bağlı maksimum kasılma cevabının inhibisyonunda kontrol ve deneme grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p > 0.05$ ).

#### IV.1.2. Oksitosin-ritodrin ve oksitosin-nikardipin etkileşmesi :

Kontrol grubunda sabit dozda uygulanan oksitosin (100 mU/ml)'in neden olduğu maksimum kasılma cevaplarının ritodrin'le inhibisyonu değerlendirildiğinde;  $10^{-8}$  M ritodrin etkisiz olduğu halde denenen diğer üç ritodrin dozu maksimum kasılma cevabında anlamlı olarak inhibisyona

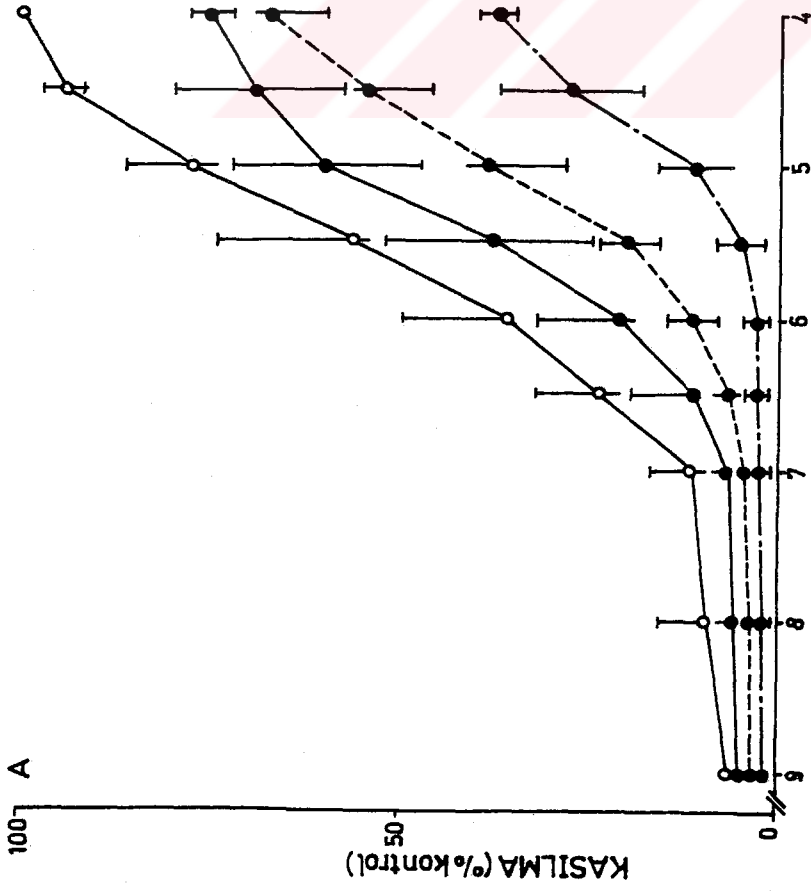
A



B



ŞEKİL 1- Rat uterusunda kontrol grubuna ait asetilkolin-ritodrin (A) ve asetilkolin-nikardipin (B) etkileşmesini gösteren trase örnekleri.

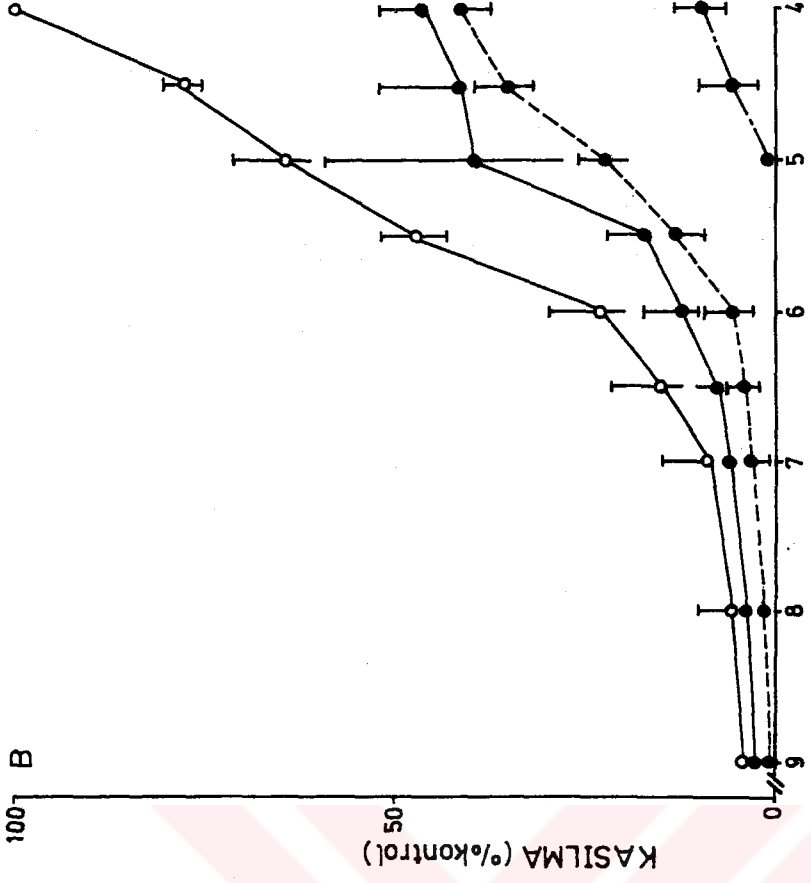


AGONİST KONSANTRASYONU(-log M)

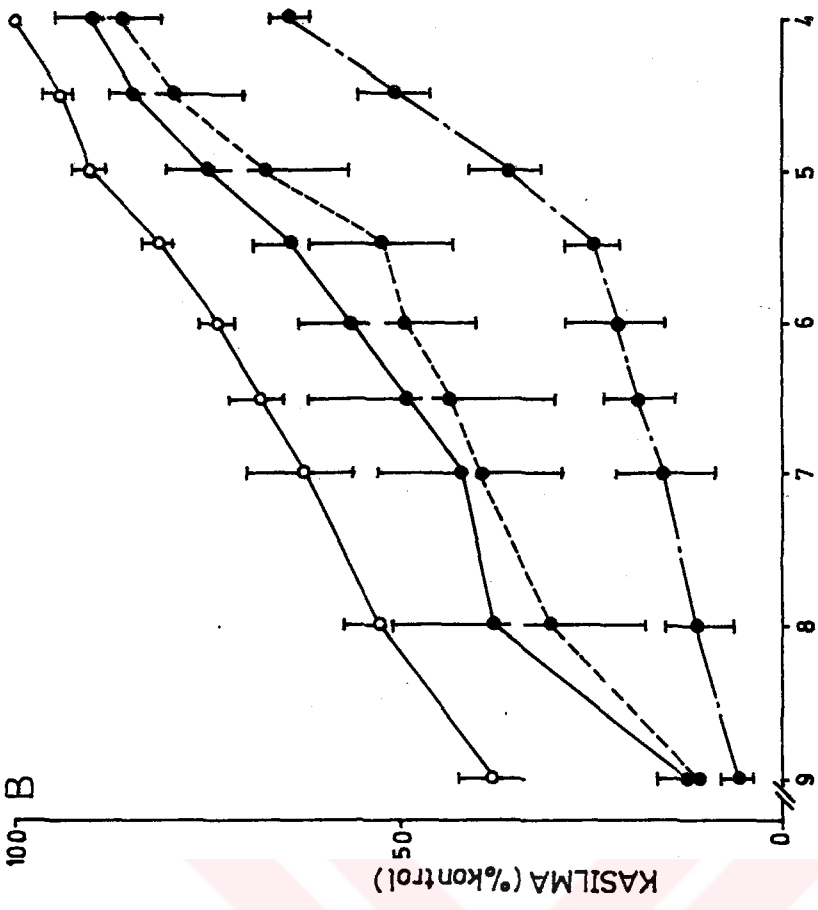
ŞEKİL 2- Rat uterusunda asetilkolin'in etkisi (o-o) ve ritodrin ( $10^{-8}M$  ●—● ;  $10^{-7}M$  ●---●) ;  $10^{-6}M$  ●—● )'le etkileşimi.

A-Kontrol grubu  
B-Deneme grubu

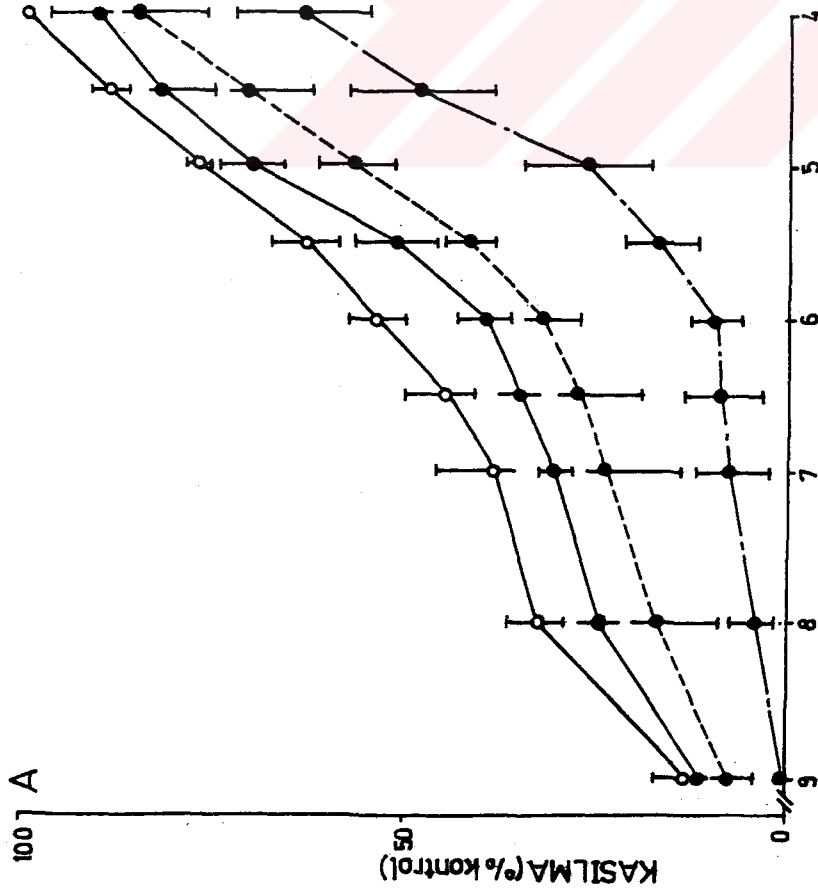
Bu ve diğer şekillerde dikey çubuklar standart hatayı yansıtmaktadır.



AGONİST KONSANTRASYONU (-log M)



AGONİST KONSANTRASYONU (-log M)



AGONİST KONSANTRASYONU (-log M)

ŞEKİL 3- Rat uterusunda asetilkolin'in etkisi (o—o) ve nikardipin ( $10^{-8}M$  ●—● ;  $10^{-7}M$  ●—●—●) ;  $10^{-6}M$  ●—●—●)'le etkileşimi.

A-Kontrol grubu  
B-Deneme grubu

ANTAGONİST	KONSANTRASYON (M)	KONTROL GRUBU	<u>n</u>	DENEME GRUBU	<u>n</u>
	$10^{-8}$	25.2±3.96	8	55.5±12.12	7
Ritodrin	$10^{-7}$	31.4±7.01	8	59.5±5.73	7
	$10^{-6}$	60.4±3.18	8	90.25±1.43	7
	$10^{-8}$	8.0±2.78	7	9.6±6.17	7
Nikardipin	$10^{-7}$	13.7±6.95	7	13.6±6.05	7
	$10^{-6}$	36.6±2.61	7	36.4±9.17	7

TABLO 1- Asetilkolin'e bağlı maksimum kasılma cevabının ritodrin ve nikardipin'le % inhibisyonu.

neden olmuştur. Buna karşın deneme grubunda kullanılan ritodrin'in 4 farklı dozu da oksitosin cevaplarını anlamlı olarak azaltmıştır ( $p < 0.05$ ; tablo 2). Kontrol ve deneme gruplarında oksitosinle elde edilen kasılmaların ritodrin'le inhibisyonu karşılaştırıldığında, deneme grubunda kullanılan 4 farklı ritodrin dozunun da kontrol grubuna nazaran daha etkin olduğu saptanmıştır ( $p < 0.05$ ).

Nikardipin, denenen 4 farklı dozda kontrol ve deneme gruplarında oksitosin'e bağlı maksimum kasılma cevabını anlamlı olarak inhibe etmiştir ( $p < 0.05$ ). Her iki grupta elde edilen % maksimum inhibisyon değerleri karşılaştırıldığında nikardipin'in deneme grubunda daha etkin olduğu gözlenmiştir ( $p < 0.05$ ; tablo 2):

IV.2. KCl'e bağlı kasılmalarda nikardipin'in inhibitör etkinliği:

Kontrol grubunda, yüksek  $K^+$  (80 mM)'lu -  $Ca^{++}$  'suz ortama  $10^{-4}$ - $2.5 \times 10^{-3}$  M aralıkta ilave edilen kalsiyum'la elde edilen uterus kasılmaları  $10^{-8}$  M nikardipin varlığında %  $69.57 \pm 1.95$  oranında inhibe olmuştur. Buna karşın deneme grubunda aynı dozda uygulanan nikardipin'le %  $83.86 \pm 3.96$  oranında inhibisyon elde edilmiş olup, bu değer kontrol grubunda elde edilen değere göre anlamlı olarak yüksektir ( $p < 0.05$ ).

IV. 3. Asetilkolin'le elde edilen kasılmalarda ritodrin ve nikardipin'in gevşetici etkilerinin karşılaştırılması :

Kontrol ve deneme gruplarında submaksimal konsantrasyon ( $3 \times 10^{-5}$  M)'da uygulanan asetilkolin'le oluşan kasılmalarda ritodrin ve nikardipin'in gevşetici etkisi karşılaştırılmış ve  $IC_{50}$ ,  $t_{1/2}$  ve % maksimum inhibisyon değerleri tablo 3'de gösterilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi ritodrin ve nikardipin için hesaplanan  $IC_{50}$  değerleri deneme grubunda kontrol grubuna nazaran daha düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Benzer durum ritodrin ve nikardipin'e ait  $t_{1/2}$  değerleri içinde geçerlidir ( $p < 0.05$ ). Buna karşın, kontrol ve deneme gruplarında ritodrin ve ni-

<u>ANTAGONİST</u>	<u>KONSANTRASYON (M)</u>	<u>KONTROL GRUBU</u>	<u>n</u>	<u>DENEME GRUBU</u>	<u>n</u>
Ritodrin	$10^{-8}$	4.84±4.05	8	26.0±5.18	8
	$10^{-7}$	11.0±3.26	8	36.80±4.31	8
	$3 \times 10^{-7}$	11.67±5.53	8	52.40±6.88	8
	$10^{-6}$	28.0±6.65	8	65.4±7.09	8
Nikardipin	$10^{-8}$	8.34±0.70	6	53.67±3.76	7
	$10^{-7}$	23.84±1.10	6	70.0±3.94	7
	$3 \times 10^{-7}$	43.50±2.67	6	86.0±0.93	7
	$10^{-6}$	59.34±2.12	6	92.34±0.84	7

TABLO 2- Oksitosin'e bağılı maksimum kasılma cevabının ritodrin ve nikardipin'le % inhibisyonu.



ANTAGONİST	IC <sub>50</sub> (M)	t 1/2 (dok)	% MAKSİMUM GEVŞEME	n	
KONTROL GRUBU	Ritodrin	2.30x10 <sup>-8</sup> ±0.51	2.59±0.58	90.67±3.29	7
	Nikardipin	5.62x10 <sup>-6</sup> ±0.11	8.99±1.32	91.40±2.92	7
DENEME GRUBU	Ritodrin	2.58x10 <sup>-9</sup> ±0.58	0.93±0.11	82.67±3.09	7
	Nikardipin	3.19x10 <sup>-9</sup> ±1.74	1.32±0.36	98.4±1.66	7

TABLO 3- Asetilkolin'e bağılı kasılmaların ritodrin ve nikardipin'le inhibisyonunda IC<sub>50</sub> t 1/2 ve maksimum gevşeme değerleri.

kardipin'le elde edilen % maksimum gevşeme cevapları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p > 0.05$ ).

Deneme grubunda hormon tedavisinin uterus büyümesi üzerine olan etkisini belirlemek amacıyla, her çalışmanın bitiminde Cornu uteri'ler tartılarak kontrol ve deneme gruplarında elde edilen tartım sonuçları karşılaştırılmıştır. Cornu ağırlıkları kontrol ve deneme gruplarında, sırasıyla  $132 \pm 0.11$  ve  $177.3 \pm 0.6$  mg olarak bulunmuştur. Bu iki değer birbirinden anlamlı olarak farklıdır ( $p < 0.05$ ).

Nikardipin çalışmalarında, bu ilacı eritmek amacıyla kullanılan metanol'un banyodaki toplam konsantrasyonu ile yapılan solvent kontrolü denemelerinde, solvante ait bir etki gözlenmemiştir.

## B Ö L Ü M V

### TARTIŞMA VE SONUÇ

Sunulan bu çalışmada kontrol ve deneme grubundaki sıçanlardan alınan uterusların ağırlıklarının farklı olduğu görülmüştür. Bu fark estrogenle yapılan tedavinin süresiyle ilişkilidir. Nitekim, estrogenin intraselüler estrogen reseptörleri aracılığıyla uterusu büyümeyi hızlandırıcı etki oluşturduğu bilinmektedir (11).

izole sıçan uterusunda yapılan bu çalışmada kasıcı ajan olarak kullanılan asetilkolin, oksitosin ve KCl'e bağlı kasılmaların ritodrin ve nikardipin gibi uterus gevşetici ilaçlarla inhibisyonunda hormonal durumdaki değişimlerin etkinliği araştırılmıştır. Gonadal steroidlerle yapılan tedavinin şekline göre iki farklı hormonal durum oluşturulmuştur. Kontrol grubundaki hayvanlara sadece estrogen verilmiş, buna karşın, deneme grubuna ayrılan sıçanlara da ovariectomi yapıldıktan sonra estrogenle birlikte progesteron uygulanmıştır.

Estrogen tedavisi veya estrogenle birlikte progesteron uygulanması uterus düz kasının asetilkolin'e verdiği kasılma tarzındaki cevap üzerinde bir değişikliğe neden olmamıştır. Nitekim asetilkolin için hesaplanan  $pD_2$  değerleri kontrol ve deneme gruplarında farksız bulunmuştur. Bu durum asetilkolin'in afinitesinin hormonal durumdan etkilenmediğini göstermektedir. Literatürde, uterus düz kasının muskarinik agonistlere verdiği kasılma cevabının hormonal durumdaki değişimlerden ne şekilde etkilendiği konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır. Diğer bir muskarinik agonist olan metakolin'le izole tavşan uterusunda yapılan bir çalışmada estrogen tedavisinin metakolin'e bağlı cevabı artırdığı buna karşın estrogenle birlikte progesteron uygulanmasının uterus cevaplarının-

da bir artmaya neden olmadığı savunulmuştur (19). İzole sıçan uterusunda yapılan bu çalışmada asetilkolin'le elde edilen bulgular yukarıdaki çalışmada belirtilen bulgulardan farklıdır. Bu durum, hormonal tedaviye bağlı olarak uterus kasılmalarında oluşabilecek değişimlerin kullanılan ajana ve dokunun türüne göre farklı olabileceğini ortaya koymaktadır.

İzole sıçan uterusunda yapılan bu çalışmada ritodrin asetilkolin'e bağlı kasılma cevaplarını deneme grubunda kontrol grubuna nazaran daha belirgin olarak antagonize etmiştir. Benzer özellik asetilkolin'le elde edilen kasımlarda ritodrin'in gevşetici etkisinin araştırıldığı bölümde de görülmüştür. Nitekim ritodrin'e ait  $IC_{50}$  ve  $t_{1/2}$  değerleri deneme grubunda daha düşük bulunmuştur. Buna ilaveten, kasıcı ajan olarak oksitosin kullanılan çalışmalarda da kontrol grubunda oksitosin'e bağlı cevapların inhibisyonunda,  $10^{-8}$  M ritodrin etkisiz bulunduğu halde aynı konsantrasyon deneme grubunda oksitosin cevaplarını anlamlı olarak inhibe etmiştir. Bu bulgular uterus düz kasında ritodrin'le oluşan tokolitik etkinin derecesinin kasıcı ajanın türünden ziyade hormonal durumdaki farklılığa bağlı olduğunu ortaya koymaktadır.

Kalsiyum antagonisti ilaçların uterus düz kasını gevşetici etkilerinin hormonal durumdaki değişimlerle ilgisi konusunda birçok çalışma yapılmış olup, elde edilen bulguların oldukça farklı olduğu görülmektedir.

Literatürde nikardipin de dahil olmak üzere diğer kalsiyum antagonisti ilaçların asetilkolin'e bağlı kasılmaları inhibe etme özellikleri ve bunun hormonal durumla ilişkisi konusunda bir bilgi bulunmamaktadır. Sıçan izole uterus düz kasında yapılan bu çalışmada asetilkolin'e bağlı cevapların nikardipin'le inhibisyonunda, her ne kadar deneme grubunda nikardipin'e ait  $IC_{50}$  ve  $t_{1/2}$  değerleri daha düşük bulunmuşsa da,

nikardipin'le elde edilen % maksimum inhibisyon değerleri açısından kontrol ve deneme grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu bulgu yukarıda da belirtildiği gibi asetilkolin'e bağlı kasılmaların hormonal durumdan etkilenmediğini desteklemekte olup, ayrıca asetilkolin'e bağlı cevapların nikardipin'le inhibisyonunda hormonal değişimlerin bir farklılığa neden olmadığını ortaya koymaktadır.

Hormonal durum nikardipin-asetilkolin etkileşmesinde belirleyici faktör olmadığı halde, nikardipin-oksitosin etkileşmelerinde önemli bir role sahiptir. Sunulan bu çalışmada nikardipin oksitosin'e bağlı kasılma cevaplarını deneme grubunda kontrol grubuna nazaran daha belirgin olarak inhibe etmiştir. Literatürde, nikardipin-oksitosin etkileşmesi ve bu etkileşimde hormonal değişimlerin rolü konusunda bir bilgi bulunmamaktadır. Sıçan uterusunda in vivo şartlarda nifedipin'le yapılan bir çalışmada (6) bu ilacın uterus kasılmalarını inhibe etme potensinin gebe uterusda normal uterusu nazaran daha güçlü olduğu savunulmuştur. Buna karşın, estrogen veya estrogenle birlikte progesteron uygulaması yapılan sıçanlardan alınan uteruslarda ise nifedipin'in uterus gevşetici etkisi farksız bulunmuştur. Nifedipin'le elde edilen bu bulgu sunulan bu çalışmada nikardipin-oksitosin etkileşmesinden elde edilen bulgulara uymamaktadır. Ancak, sıçanlarda ovariectomi yapıldıktan sonra 9.-12. günler arasında estradiol ve bunu takiben 13.-16. günler arasında da estrogenle birlikte progesteron uygulamasının deneysel gebelik modeli oluşturduğu bilinmektedir (21). Bu durumda sunulan bu çalışmada elde edilen bulgular nifedipin'in gebe uterusu daha etkili olduğunu savunan çalışmayı (6) destekler nitelikte görülmektedir. Uterus düz kasında kalsiyum antagonistleriyle elde edilen bulguların hormonal durumla ilişkisi kullanılan kalsiyum antagonistinin türüne göre de değişmektedir. Nitekim gebe

uterusta diğ er bir kalsiyum antagonisti olan diltiazem'le elde edilen bulgular, bu ajanın tokolitik etkisindeki değ iş imlerin ovarium steroidleri dış ındaki bazı faktörlere de bağ lı olabileceğ ini göstermektedir.

Sunulan bu ç alış mada nikardipin'in ekstraselü ler kalsiyumun intraselü ler ortama geç iş ini (influx) ne ř ekilde etkilediğ ini araş tırmak amacıyla 0.77 mM Na<sub>2</sub>-EDTA iç eren kalsiyum'suz yüksek K<sup>+</sup> (80 mM)'lu solü syon kullanılmı ř tır. Solü syona ilave edilen Na<sub>2</sub>-EDTA'nın hücre membranına zayıf bir ř ekilde bağ lı bulunan kalsiyum'u mobilize ederek bağ ladığ ı bilinmektedir (14). Yukarıda belirtilen ortamda inkü be edilen dokuda kasılma oluş mamı ř tır. Buna karş ın kümü latif tarzda kalsiyum ilavesi kontrol ve deneme grubunda kalsiyum konsantrasyonu ile iliş kili olarak cevap oluşturmu ř tur. Ortama 10<sup>-8</sup> M nikardipin konulması her iki grupta da kalsiyum ilavesiyle elde edilen kasılmaları inhibe etmi ř ve deneme grubunda nikardipin daha etkin bulunmu ř tur.

Gonadal steroid uygulaması yapılan deney hayvanlarından alınan uteruslarda kalsiyum antagonistlerinin ekstraselü ler kalsiyum influx'ını hangi derecede inhibe ettikleri konusunda birç ok ç alış ma yapılmı ř tır. Yüksek K<sup>+</sup>lu ortam kullanılarak yapılan bir ç alış mada, estrogen veya estrogen'le birlikte projesteron uygulanması KCl'e bağ lı kasılmaların amplitü dü nde artma oluşturmu ř tur (13). Buna karş ın, aynı ç alış mada sadece projesteron verilmesinin kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılığ a neden olmadığı savunulmu ř tur. Bu bulgu estrogen tedavisinin ekstraselü ler kalsiyum influx'ını stimü le ettiğ ini ve böylece intraselü ler serbest kalsiyum düzeyinde yükselme oluşturduğ unu ortaya koymakta olup bu özellik diğ er bazı araş tırmacılar (3,26) tarafından da doğ rulanmı ř tır. Ancak izole sıç an uterusunda yapılan bu ç alış mada nikardipin'in etkinliğ i estrogen'le birlikte projesteron verilen grupta sadece estrogen uygulaması

yapılan gruba göre daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgu, Ruzycky ve arkadaşlarının (21) estrojenle birlikte projesteron uygulanan sıçan uteruslarında elde ettikleri bulgulara uymaktadır. Bu araştırmacılar yüksek  $K^+$  (80 mM)'lu kalsiyum'suz ortamda kalsiyum ilavesiyle elde edilen cevabın inhibisyonunda nifedipin, diltiazem ve D 600 gibi kalsiyum antagonistlerini kullanarak yaptıkları çalışmada, kalsiyum için hesaplanan  $IC_{50}$  değerlerini mukayese ederek, uterusun belirtilen antagonistlere duyarlılığının gebelik modeli (estrojen-projesteron tedavisi)'nde doğum modeli (estrojen tedavisi)'ne nazaran daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu bulguya dayanarak gebelik modelinde kalsiyum kanallarının ekstraselüler kalsiyum'a duyarlılığının arttığını belirtmişlerdir. Ayrıca, gebelik ve doğum modellerinde, belirtilen kalsiyum antagonistlerinin güç sıralamasının değişmediğini de savunmuşlardır.

Literatürde nikardipin-KCl etkileşmesinin gonadal steroid tedavisiyle ne şekilde değiştiği konusunda bir bilgi bulunmamaktadır. Sunulan bu çalışmada, bir dihidropiridin grubu kalsiyum antagonisti olan nikardipin'in KCl'e bağlı cevapları deneme grubunda daha güçlü bir şekilde inhibe ettiği saptanmıştır.

Sonuç olarak, izole sıçan uterusunda yapılan bu çalışmada asetilkolin'in afinitesinin kontrol ve deneme gruplarında değişmediği, ritodrin'in asetilkolin ve oksitosin'le elde edilen kasılmaları deneme grubunda daha belirgin olarak antagonize ettiği, nikardipin-asetilkolin etkileşmesinin hormonal duruma göre farklılık göstermediği, buna karşın, nikardipin'in oksitosin ve potasyum klorür'le oluşturulan kasılmaları deneme grubunda daha belirgin bir şekilde inhibe ettiği saptanmıştır.

## B Ö L Ü M VI

### ÖZET

İzole sıçan uterusunda yapılan bu in vitro çalışmada kasıcı ajan olarak kullanılan asetilkolin, oksitosin ve KCl'e bağlı kasılmaların ritodrin ve nikardipin gibi uterus gevşetici ilaçlarla inhibisyonunda hormonal durumdaki değişimlerin etkinliği araştırılmıştır.

Gonadal steroidlerle yapılan tedavinin şekline göre iki farklı hormonal durum oluşturulmuştur. Kontrol grubundaki hayvanlara çalışmadan 24 saat evvel bir 1 mg/kg dozunda estradiol benzoat verilmiş buna karşın deneme grubuna ayrılan sıçanlara ovariyektomi yapıldıktan sonra 9.-12. günler arası estrojen benzoat ve 13.-16. günler arası da estrojenle birlikte projesteron uygulanmıştır.

Kontrol ve deneme grubundaki sıçanlardan alınan Cornu uteri'ler temperaturü 37 °C'de sabit tutulan ve % 95 O<sub>2</sub>-% CO<sub>2</sub> karışımı ile sürekli gazlandırılan de Jalon solüsyonu içerisine alınarak agonist ve antagonist ilaçlara verilen cevaplar izotonik olarak kaydedilmiştir.

Kontrol ve deneme gruplarında asetilkolin'e ait pD<sub>2</sub> değerleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Asetilkolin'le elde edilen kasılmaların üç farklı konsantrasyonda (10<sup>-8</sup>, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-6</sup> M) ritodrin ve nikardipin'le inhibisyonunda, ritodrin deneme grubunda daha etkin bulunmuştur. Submaksimal konsantrasyonda (3x10<sup>-5</sup> M) uygulanan asetilkolin'e bağlı kasılma cevaplarında ritodrin'le elde edilen % maksimum gevşeme cevapları farksız olduğu halde deneme grubunda ritodrin için hesaplanan IC<sub>50</sub> ve t1/2 değerleri daha düşük bulunmuştur. Benzer durum nikardipin-asetilkolin etkileşmesi içinde geçerlidir.



Ritodrin ve nikardipin oksitosin'le elde edilen kasılma cevaplarını deneme grubunda kontrol grubuna göre daha güçlü bir şekilde antagone etmiştir. Benzer şekilde potasyum klorür'le elde edilen kasılma cevaplarının inhibisyonunda nikardipin deneme grubunda daha etkin bulunmuştur.

Sonuçlar, asetilkolin'in afinitesinin hormonal duruma göre değişmediğini, ritodrin'in asetilkolin ve oksitosin'le elde edilen kasılmaları deneme grubunda daha belirgin olarak antagone ettiğini, nikardipin-asetilkolin etkileşmesinin hormonal duruma göre farklılık göstermediğini, buna karşın nikardipin'in oksitosin ve potasyum klorür'le oluşturulan kasılmaları deneme grubunda daha belirgin bir şekilde inhibe ettiğini ortaya koymaktadır.

B Ö L Ü M VII

SUMMARY

COMPARISON OF TOCOLYTIC EFFECTS INDUCED BY RITODRIN AND NICARDIPINE  
IN OVARIECTOMIZED RAT TREATED WITH ESTROGEN AND PROGESTERONE

An in vitro study was designed to carry out a comparative study for showing the antagonistic effect of ritodrine and nicardipine against acetylcholine-oxytocin-and KCl-induced Contractions in isolated rat uterus, treated with hormones estrogen (control group) and estrogen and progesteron (trial group).

Cornu uteries of rats conditioned with two different hormone regiments. One group of rats were treated with 1 mg/kg Estradiol Benzoat 24 hrs. prior to excision of uterus and were called as control group. On the other hand, the trial groups rats were ovariectomized before 9.-12. days estradiol benzoat treatment and to the same group of rats estradiol benzoat plus progesteron was administered between 13.-16. days. Cornu-uteris of control and trial group rats were excised and maintained at 37 °C and suspended in de Jalon solutions which were bubbled with gas mixtures containing 95 % oxygen and 5 % carbondioxide throughout the experiments. Responses of Cornu uteris were recorded isometrically.

$pD_2$  values of acetylcholine were statistically insignificant in both control and trial groups. The inhibition of ritodrine and nicardipine ( $10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}$  M) on the contractions initiated by acetylcholine were evaluated. Ritodrine was found to be more effective on the trial group. Maximal percent relaxations caused by ritodrine and nicardipine were the same when contraction was induced at submaximal

concentration of acetylcholine ( $3 \times 10^{-5}$  M). In trial group  $IC_{50}$  and  $t_{1/2}$  values of ritodrine and nicardipine were lower than control group.

The inhibition of ritodrine and nicardipine was more pronounced when contraction was induced by oxytocin in trial group than control group. Similarly, the inhibition of KCl induced contraction by nicardipine was clearly effective on trial group.

Results showed that, hormonal treatment did not change the acetylcholine affinity of control and trial group. Acetylcholin- and oxytocin-induced contractions were more antagonized by ritodrine on trial group. Two different hormonal treatments did not affect nicardipine-acetylcholine interaction. However, antagonistic effect of nicardipine was statistically significant on trial group with oxytocin- and KCl-induced contractions.

B Ö L U M VIII

LITERATUR

1. Aucelio, J.G., Calixto, J.B. and Jurkiewicz, A. (1985) Evidence for multiple sources of calcium involved on the contractile effects of agonists in the dog uterus, *Gen. Pharmac.*, 16, 3, 241-245.

2. Batra, S. (1987) Increase by oestrogen of calcium entry and calcium-channel density in uterine smooth muscle, *Br. J. Pharmacol.*, 92, 389-392.

3. Batra, S. and Sjörgen, C. (1983) Effect of oestrogen treatment on calcium uptake by the rat uterine smooth muscle, *Life Sci.*, 32, 315-319.

4. Bolton, T.B. (1979) Mechanisms of action of transmitters and other substance on smooth muscle, *Pharmacol. Rev.*, 59, 606-718.

5. Brading, A.F. and Sneddon, P. (1980) Evidence for multiple sources of calcium for activation of the contractile mechanism of guinea-pig tenia coli on stimulation with carbachol, *Brit. J. Pharmacol.*, 70, 229.

6. Downing, S.J., Hollingsworth, M. and Miller, M. (1988) The influence of oestrogen and progesterone on the actions of two calcium entry blockers in the rat uterus, *J. Endocr.*, 118, 251-268.

7. Fleckenstein, A. (1977) Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers and vascular smooth muscle, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 17, 149-166.

8. Forman, A., Anderson, K.E. and Ulmsten, U. (1981) Inhibition of myometrial activity by calcium antagonists, *Sem. Perinat.*, 5, 288-294.

9. Fuchs, A., Periyasamy, S., Alexandrova, M. and Soloff, M.S. (1983) Correlation between oxytocin receptor concentration and responsiveness to oxytocin in pregnant rat myometrium: Effects of ovarian steroids, 113, 2, 742-749.

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

11. Hamoir, G. (1977) Biochemistry of the myometrium, in Biology of the Uterus, Plenum Press, New York, 377-421.

12. Harden, T.K. (1983) Agonist-induced desensitization of the  $\beta$ -adrenergic receptor-linked desensitization of the  $\beta$ -adrenergic receptor-linked adenylate cyclase, Pharmacol. Rev., 35, 5-32.

13. Ishii, K., Kano, T. and Ando, J. (1986) Calcium channel  $Ca^{++}$  mobilization and mechanical reactivity of oestrogen and progesterone treated rat uterus, Japan. J. Pharmacol., 41, 47-54.

14. Karaki, H. and Weiss, G.B. (1980) Effects of stimulatory agents on mobilization of high and low affinity sites  $Ca^{++}$  in rabbit aortic smooth muscle, J. Pharmac. Exp. Ther., 213, 450-455.

15. Kozuka, M., Ito, T., Hirose, S., Takahashi, K. and Hagiwara, H. (1989) Endotelin induces two types of contractions of rat uterus: Phasic contractions by way of voltage-dependent calcium channels and developing contractions through a second type of calcium channels, Biochemical and Biophysical Research Communications, 189, 4, 317-323.

16. Leake, R.D. (1983) Initiation of parturition: Prevention of prematurity, Mac Donald, P.C., Porter, J. eds., Columbus; Ohio Ross Lab., 43.

17. Lippert, T.H. (1983) Tocolytic therapy for preterm labour, In Clinical Pharmacology in Obstetrics ed. Lewis P.J., Bristol: Wright and Sons, 182-218.

18. Nayler, W.G. and Horowitz, J.D. (1983) Calcium antagonists: A new class of drugs, *Pharmac. Ther.*, 20, 203-262.

19. Nissenon, R., Flouret, G. and Hechter, O. (1978) Opposing effects of estradiol and progesterone on oxytocin receptors in rabbit uterus, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 75, 2044-48.

20. Nyborg, N.C.B. and Mulvany, M.J. (1984) Effects of felodipine a new dihydropyridine vazodilator, on contractile responses to potassium noradrenaline and calcium in mesenteric resistance vessels of the rat, *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 6, 499.

21. Ruzycky, A.L., Crankshaw, S.J. and Triggle, D.J. (1987)  $Ca^{++}$  channel ligand activities in uterine smooth muscle: Influence of hormonal status, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 65, 2085-92.

22. Soloff, M.S. (1985) Oxytocin receptors and mechanisms of oxytocin action, Elsevier Science, Amico, J.A., Robinson, A.G. eds., 259-70.

23. Triggle, D.J. (1982) Biochemical pharmacology of calcium blockers, in calcium blockers: Mechanisms of action and clinical applications, 121-131.

24. Tsien, R.W., Hess, P., Mc Cleskey, E.W. and Rosenberg, R.L. (1987) Calcium channels: Mechanisms of selectivity permeation and block., *Annu. Rev. Biophys. Chem.*, 16, 265-290.

25. Vanhoutte, P.M. (1982) Heterogeneity of postjunctional vascular  $\alpha$ -adrenoreceptors and handling of calcium, *J. Cardiovasc. Pharm.*, 4, 91.

26. Weiss, G.B. (1981) Sites of action of calcium antagonists in vascular smooth muscle, In new perspectives on calcium antagonists, 83, 94.

### ÖZGEÇMİŞ

1951 yılında Konya'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi de bu ilde tamamladım. 1968 yılında Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesine girerek bu fakülteyi 1973 yılında bitirdim. 10 yıl süreyle S.S.Y. Bakanlığı Konya Göğüs Hastalıkları Hastanesinde Baş Eczacı olarak çalıştım. 1984 yılında S.Ü. Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi olarak atandım. 1987 yılında aynı bölümde yüksek lisansımı tamamladım.

Evli ve dört çocuk babasıyım.

## TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarımın devam ettiği süre içerisinde S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü ile olan akademik ve idari konulardaki ilişkilerimde yardımlarını esirgemeyen Enstitü Müdürü Sayın Prof.Dr.Mehmet KOCABATMAZ'a bana bu tezi vererek danışmanlığımı yürüten ve yetişmemi sağlamaya çalışan hocam Sayın Prof.Dr.Necdet DOĞAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Öğr.Gör.Mehmet KILIÇ

Aralık 1991, KONYA

**Y. G.**  
**Yükseköğretim Kurumu**  
**Dokümantasyon Merkezi**