

44382

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANA BİLİM DALI

**SIÇAN PROKSİMAL KOLONUNDA SEROTONİN
RESEPTÖRLERİNİN SINIFLANDIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANİTASYON MERKEZİ

DR. AYŞE GELAL

İZMİR - 1995

ÖNSÖZ

Bu tez 923.93.01.05 No'lu sayı ile Dokuz Eylül Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. Tez çalışmalarımın planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesinde ilgi ve yardımlarını gördüğüm değerli hocam Prof. Dr. Hülya Güven'e ve tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Dr. Ayşe Gelal

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ VE AMAÇ	1-2
II. GENEL BİLGİLER	3-23
A. Reseptör Kavramı	
B. Agonist ve Antagonist İlaç	
C. Farmakolojik Antagonizma	
D. Serotonin	
E. Serotonin Reseptörlerinin Sınıflandırılması	
F. Serotonin Reseptör Tiplerinin Özellikleri	
III. GEREÇ VE YÖNTEM	24-32
A. Organ Banyosu	
B. Konsantrasyon-Cevap Eğrileri	
C. Araştırma Yöntemi	
IV. BULGULAR	33-42
V. TARTIŞMA	43-46
VI. SONUÇ	47
VII. ÖZET	48-49
VIII. KAYNAKLAR	50-54

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Serotonin (5-hidroksitriptamin; 5-HT) vücutta yaygın olarak bulunan endojen nöromedyatörlerden biri olup vücuttaki toplam miktarının yaklaşık olarak 10 mg kadar olduğu ve büyük bir kısmının da gastrointestinal kanalda bulunduğu bildirilmektedir (1). Gastrointestinal kanalda ise en yoğun olarak mide-barsak mukozasındaki enterokromafin hücrelerde ve enterik sinir sistemini (ESS) oluşturan myenterik plexus ile submukozal plexustaki serotonerjik nöronlarda bulunur (1,2).

Serotoninin fizyolojik ve farmakolojik etkilerine aracılık eden, bu güne kadar saptanmış ve kabul edilmiş dört tip reseptörü (5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄) olduğu ve bu reseptörlerin de multipl subgrupları bulunduğu bildirilmiştir. En iyi tanımlanmış olan 5-HT₁ ve 5-HT₂ reseptörlerinin subtipleridir: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT₁ benzeri 5-HT_{1E} ve 5-HT_{1F}; 5HT_{2A}, 5HT_{2B} ve 5-HT_{2C} reseptörleridir. Ayrıca 5-HT₅, 5-HT₆ ve 5-HT₇ reseptör tiplerinin olduğu da ileri sürülmektedir (3,4).

Santral sinir sisteminde ve periferde özellikle de yoğun olarak bulunduğu gastrointestinal sistemde, serotoninin nöromedyatör olarak önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir (5). Yapılan çalışmalarda; özofagus, mide, ince barsak, ileokolonik sfinkter ve kolon motor fonksiyonlarının kontrolünde serotoninin yer aldığı gösterilmiş ancak kesin fizyolojik rolü henüz belirlenememiştir.

Serotonin ilaç olarak kullanılmadığından agonist ve antagonistleri tedavide önem kazanmıştır. Geliştirilen serotonin reseptör agonisti ve antagonistleri ilaçların kusma, migren, anksiyete, depresyon, şizofreni, hipertansiyon, periferik damar hastalıkları ve bazı gastrointestinal hastalıkların tedavisinde klinik yararının olduğu ve olabileceği giderek artan bir şekilde ortaya konulmuştur (1).

Kolonik motilite myenterik ve submukozal plexustan kaynaklanan stimülatör ve inhibitör nörotransmitterler aracılığı ile düzenlenir (6,7). Serotonin, bu nörotransmitterlerden biridir ve gastrointestinal kanal üzerindeki etkisi oldukça

karmaşıktır. Myenterik pleksustan veya enterokromafin hücrelerden açığa çıkan serotonin, kendi reseptörleri aracılığı ile intestinal düz kası hem direkt hem de asetilkolin veya diğer nörotransmitterlerin intramural nöronal salınımını değiştirerek, indirekt yol ile etkileyebilir (8,5,9,10). Bu komplike etki, serotoninin çeşitli bölgelerdeki inhibitör veya eksitatör nitelikteki farklı reseptörleri etkilemesine ve serotoninin nöronal ve endokrin hücreler olmak üzere farklı iki enterik depodan kaynaklanmasına bağlanmaktadır (11).

Serotoninin çeşitli vücut dokularında ve hatta aynı dokuda hem kasıcı hem de gevşetici etki oluşturabileceği ve türler arasında da serotonine olan yanıtın farklı olabileceği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (12).

Bu güne kadar serotoninin barsak üzerindeki etkisi en etraflı şekilde kobay ileumunda incelenmiş olup kolon ile yapılmış olan çalışmalar çok sınırlıdır. Oysa gastrointestinal kanal hastalıklarının tedavisinde serotonin agonist ve antagonistlerinin yer alabilmesi için serotoninin bu sistem üzerindeki fonksiyonlarının da ayrıntılı olarak bilinmesi gerekmektedir. Serotoninin kolondaki farmakolojik etkilerine ışık tutabilmesi düşüncesinden yola çıkarak planlanan bu çalışmada; izole sıçan proksimal kolonu üzerine serotoninin etkisi ve bu etkiye aracılık eden reseptör tipleri araştırılmak istenmiştir.

II. GENEL BİLGİLER

A- RESEPTÖR KAVRAMI

a) Reseptör nedir?

Bazı ilaçlar, hormonlar ve diğer endojen etkin maddeler hücrelerde kendilerini tanıyan özel yerleri selektif olarak etkilemek suretiyle etki oluştururlar. Hücrelerde, belirli bir makromolekülün özel bir kısmını oluşturan, ilaç veya etkin endojen madde moleküllerini seçici bir şekilde yüksek afinite göstererek bağlayan ve etkinin başlamasında aracılık eden bu noktalara reseptör adı verilir. Genellikle protein veya glikoprotein yapısındadırlar.

Reseptörlerin iki önemli görevi vardır: Biri, etkin ilaç ve diğer madde moleküllerini tanımaları, diğeri ise bu maddelerle reseptörün geçici olarak birleşmesi sonucu meydana gelen kimyasal sinyali biyolojik sinyale dönüştürmeleridir. Bu olaya sinyal transdükleme adı verilir (13).

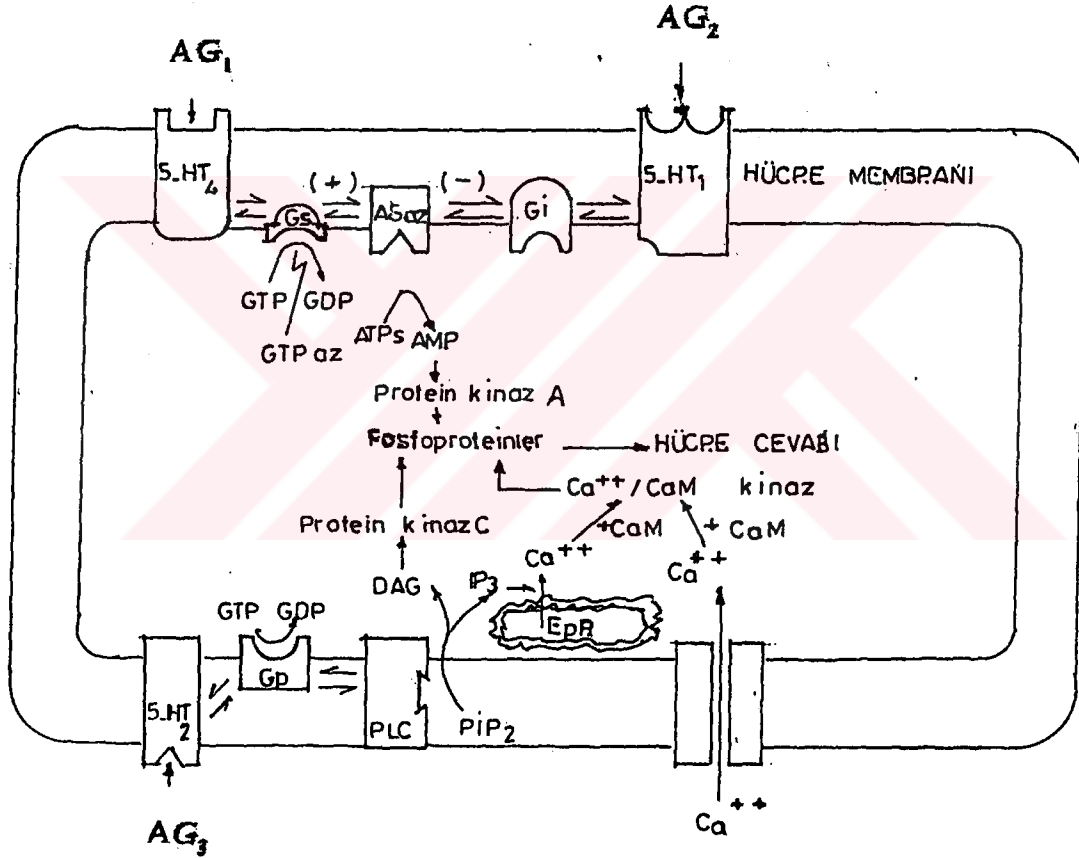
b) Reseptörlerin izolasyonu

Reseptör tiplerinin ve alt tiplerinin belirlenmesinde ilk zamanlar, tüm hayvanda veya izole dokularda ilaçların yaptığı fonksiyonel değişmelerin karşılaştırılmasına dayanan farmakolojik (fonksiyonel) yöntemler kullanılmıştır. Daha sonraları radyoligand bağlama ve otoradyografi yöntemleri bu reseptörlerin belirlenmesi ile ilgili incelemelere girmiştir. Günümüzde ise sayılan bu yöntemlerin yanısıra moleküler biyoloji yöntemleri de reseptör belirleme için kullanılmaya başlanmıştır. Bu teknikte; membran reseptörlerinin izolasyonu için önce hücre membran proteinlerinin deterjanlarla suda çözünmesi gerekir. Bu çözünmüş fraksiyondan reseptör proteini özel yöntemlerle izole ve pürifiye edilebilir. Böylece, saflaştırılan reseptör proteini molekülünün, molekül ağırlığı ve primer yapısı (amino asid dizilimi) belirlenir. Son zamanlarda reseptör proteini sentezini sağlayan o reseptöre özel mRNA'lar izole edilmiş, komplementer DNA'lar (cDNA) yapılmış ve reseptör sentezi ile ilişkili gen klonlanarak reseptör proteinleri üretilmiştir.

Reseptör incelemelerinde klonlama, yer yer diğer iki reseptör belirleme yaklaşımının önüne geçmiştir. Bu nedenle halen gen klonlama ile varlığı gösterilen, fakat farmakolojik yöntemlerle incelenip fonksiyonel önemi henüz belirlenmemiş reseptör alt tipleri vardır. Ancak, pahalı bir yöntem olduğu için kısıtlı sayıda laboratuvarlarda uygulanabilmektedir.

c) Reseptör aktivasyonu ve reseptör sonrası olaylar

Endojen etkin maddelerin ve ilaçların kendilerine özgü reseptörleri etkileyebilmeleri için, moleküllerinin reseptörler ile kombine olması gerekir (şekil 1).



Şekil 1 : Efektör hücre membranında bulunan serotonerjik reseptörlerin transmembranal transdükleme sistemlerinin başlıcaları ve sitoplazma içinde hücre cevabına yol açan temel olaylar. AG: agonist molekülleri, ASaz: adenilil siklaz molekülü, CaM: kalmodulin, DAG: diasilgliserol, G: GTP'ye bağımlı düzenleyici protein molekülleri, EpR: endoplazmik retikulum, IP₃: inozitol 1,4,5-trifosfat, PIP₂: fosfatidilinozitol 4,5-bifosfat

Reseptörler kendileri gibi hücre membranında bulunan efektör makromoleküller ile kenetlenirler. Efektör makromoleküller:

- i) özel enzimler (adenilil siklaz, fosfoinozidaz, guanilat siklaz)
- ii) iyon kanalları
- iii) aktif transport sistemleri (pompalar) dır.

Reseptörlerin membrandaki efektör makromolekülleri etkilemelerine G proteinleri aracılık eder. Santral sinir sisteminde ve periferik yapılarda G proteinlerinin en az 12 çeşidinin bulunduğu saptanmıştır. Gi, Gs, Gp, Go, Gk,...

Reseptörler, G proteinleri ve efektör makromoleküller; nörotransmitterlerin, nöromodülatörlerin ve hormonların reseptöre olan etkilerini hücre içine aktaran transmembranal sinyal transdükleme sistemlerinin üç ana ögesini oluştururlar.

Reseptörlerin aktivasyonu ile oluşan sinyalin membranda yerleşmiş transmembranal transdükleme sistemleri tarafından transdüklenmesi sonucu oluşan ikinci ulaklar (sAMP, sGMP, diasilgliserol ve inozitol trifosfat gibi) hücre içinde birbirini izleyen bir olaylar dizisini başlatır. Bunlara reseptör sonrası (post-reseptör) olaylar adı verilir. Bu olaylar hücrede gözlenen ve klasik farmakolojik yöntemlerle ölçülen son etki yani hücre cevabı ile sonuçlanır. Bu süreç içerisinde meydana gelen sinyal bir yandan transdüklenirken, öte yandan da önemli ölçüde amplifiye edilir (14).

Şimdiye kadar tamamen karakterize edilmiş serotonin reseptörlerinden 5-HT₁ reseptörlerinin hepsi regülatör G proteini aracılığı ile adenilil siklazı inhibe etmektedir. Bunun bir istisnası 5-HT_{1c} reseptörüdür. Bu reseptör diğerlerinden farklı olarak membranda fosfoinozidaz (fosfolipaz C) ile kenetlenmiştir. Bu reseptörlerin aktivasyonu 5-HT₂ reseptörlerinin aktivasyonunda olduğu gibi, fosfatidilinozitol 4,5 bifosfatın fosfoinozidaz ile hidrolize olmasına ve sitoplazmada ikinci ulak olarak inozitol trifosfat ve diaçilgliserol oluşmasına neden olmaktadır. Ayrıca 5-HT_{1A} reseptörlerinin, pertusis toksinine duyarlı G proteinleri aracılığı ile K⁺ kanallarını açarak hiperpolarizasyon yaptığı da gösterilmiştir (3,4).

Serotonin 5-HT₃ reseptörleri, nikotinic reseptörler gibi bir iyon kanalının intrinsik kısmını oluşturur. Membranda sodyum kanalı ile direkt kenetlenmişlerdir. Aktive edildiklerinde, sodyum kanalını açarak nöronlarda hızlı depolarizasyon yaparlar (1,3). Serotoninin açtığı bu kanallardan Na⁺ ve K⁺ geçişi olur. Sellüler depolarizasyonun sonunda Ca⁺⁺'un ekstrasellüler kompartmandan içeriye doğru akımına bağlı olarak sitozolik Ca⁺⁺ konsantrasyonu hızla artar.

Serotonin 5-HT₄ reseptörleri ise, G proteinleri aracılığı ile adenilil siklazla onu stimüle edecek şekilde kenetlenmiştir (15).

B- AGONİST VE ANTAGONİST İLAÇ

Reseptörler aracılığı ile hücreleri etkileyen ilaçların temel özellikleri yapıcı, o reseptörleri aktive eden endojen etkin maddelere benzemeleridir. Bu yapısal benzerlik nedeniyle reseptör bağlanma noktası kendine özgü endojen madde ile ilaç molekülünü ayırd edemez ve ilaç tarafından da aktive edilebilir. Vücuttaki tüm endojen etkin maddeler, farmakoloji yönünden agonist maddelerdir; reseptörleri onlar gibi aktive edebilen ilaçlar da agonisttir. Antagonist ilaçlar da, endojen ve ekzojen agonist maddeler ile benzer yapıya sahip olduklarından reseptör noktaları etkilerler. Ancak bunlar reseptörü aktive edemezler ve reseptörleri kapatarak onların agonist ilaçlar veya endojen etkin maddeler ile etkilenmesini engellerler (reseptör bloku). Bu tür ilaçlara o reseptörlerin blokerleri adı da verilir (13).

C- FARMAKOLOJİK ANTAGONİZMA

Aynı reseptör ile birleşebilen iki ilaç arasındaki antagonizma şeklidir. Antagonist ilacın reseptörle reversibl veya irreversibl bir şekilde bağlanmasına göre kompetitif veya kompetitif olmayan (non-kompetitif) şekillerde olur.

a) Kompetitif Antagonizma:

Bu tür antagonizmada agonist ve antagonist ilaçlar aynı reseptör için yarışma halindedir. Her ikisinin de reseptörle kombinasyonu reversibldir. Antagonizmanın derecesi, ortamda bulunan agonist ve antagonist maddelerin moleküler konsantrasyonları arasındaki orana bağlıdır, eğer agonistin konsantrasyonu artırılırsa antagonizma tamamen ortadan kaldırılabilir. Bu yüzden kompetitif antagonizma, yenilebilir bir antagonizmadır.

b) Parsiyel Agonist Niteliğindeki Kompetitif Antagonistler:

Parsiyel agonist niteliğindeki antagonist ilaç, in vitro incelemelerde tek başına veya düşük konsantrasyonda tam agonist bir ilaç ile birlikte verildiğinde agonist gibi hareket eder ve reseptör aktivasyonuna bağlı özel agonistik etkiyi oluşturur. Eğer parsiyel agonist aynı reseptörü etkileyen tam agonistin yüksek konsantrasyonu ile birlikte verilirse onun etkinliğini azaltır yani antagonistik bir etki oluşturur.

c) Kompetitif Olmayan Antagonizma:

Bu tür antagonizmada; antagonist molekülleri, reseptörlere kovalent bağlarla irreversibl olarak bağlanmıştır. Dolayısıyla, ortamdaki antagonist konsantrasyonuna göre reseptörlerin belirli bir yüzdesi irreversibl olarak kapatılmıştır. Böylece agonistin etkisine açık reseptör sayısı azaldığından, agonistler ile elde edilmesi mümkün maksimum cevabın büyüklüğü de azalır. Bu antagonizmada antagonistin reseptörden ayrılması söz konusu olmadığından, vücutta bu reseptörlerin blokajına bağlı olarak meydana gelen etkinin devam süresi ilacın eliminasyon hızına değil, ilaçla kapatılan reseptörlerin yerine yeni reseptör sentez edilmesinin hızına bağlıdır (13).

D-SEROTONİN

a) Tarihçe:

Serotonin 1940 yılının sonlarında, vazopressör ajan olan anjiotensinin araştırılması sırasında tesadüfen bulunmuştur. 1948 yılında Cleveland Kliniği'ndeki araştırmacılar maddeyi kristalize etmişler ve serumda bulunan vazotonik bir endojen madde olduğu için de "serotonin" olarak adlandırmışlardır (16,17).

Bu dönemde Erspamer ve arkadaşları gastrointestinal mukozadaki enterokromafin hücrelerde barsak stimule edici faktör olduğunu bulmuşlar ve enteramin olarak isimlendirmişlerdir. Daha sonra bunun önceden tanımlanmış olan serotonin ile aynı madde olduğu anlaşılmıştır (16).

Serotonin, kimyasal olarak tanımlanıncaya kadar yapılan çalışmalar bu maddenin birçok dokuya dağıldığı ve çeşitli farmakolojik etkilere sahip olduğu yönündeydi. Serotoninin beyinde keşfedilmesi; liserjik asid dietilamid (LSD) ve diğer potent hallusinojenlerin serotonine benzer yapıda olduğunun bulunması ve rezepinin beyinde serotonin düzeyini düşürdüğünün gösterilmesi bu maddeye olan ilgiyi artırmıştır (16).

b) Endojen serotonin:

i. Dağılım:

Erişkin insan vücudundaki serotoninin %90'ı gastrointestinal sistem mukozasındaki enterokromafin hücrelerde, kalanın büyük bir kısmı ise trombositler ve santral sinir sisteminde (SSS) bulunur. Enterokromafin hücreler, epitel hücrelerinin özelleşmiş şekilleridir. Histolojik ve embriyolojik özellikleri bakımından APUD (amin prekürsör uptake ve dekarboksilasyon sözcüklerinin baş harfleri) hücrelerinin bir tipidir. Bu hücreler amin prekürsörü olan amino asitleri geri alırlar; onları ya dekarboksilasyonla etkin aminlere dönüştürürler ya da ribozomlarında etkin peptidlere çevirirler. Bu hücrelerde serotoninin yanısıra P maddesi, motilin ve enkefalin gibi peptidlerin de oluşup depolandığı immünofluoresans yöntemi ile gösterilmiştir. Bu hücrelerden serotonin salıverilmesinin, splanknik sinirler içinde

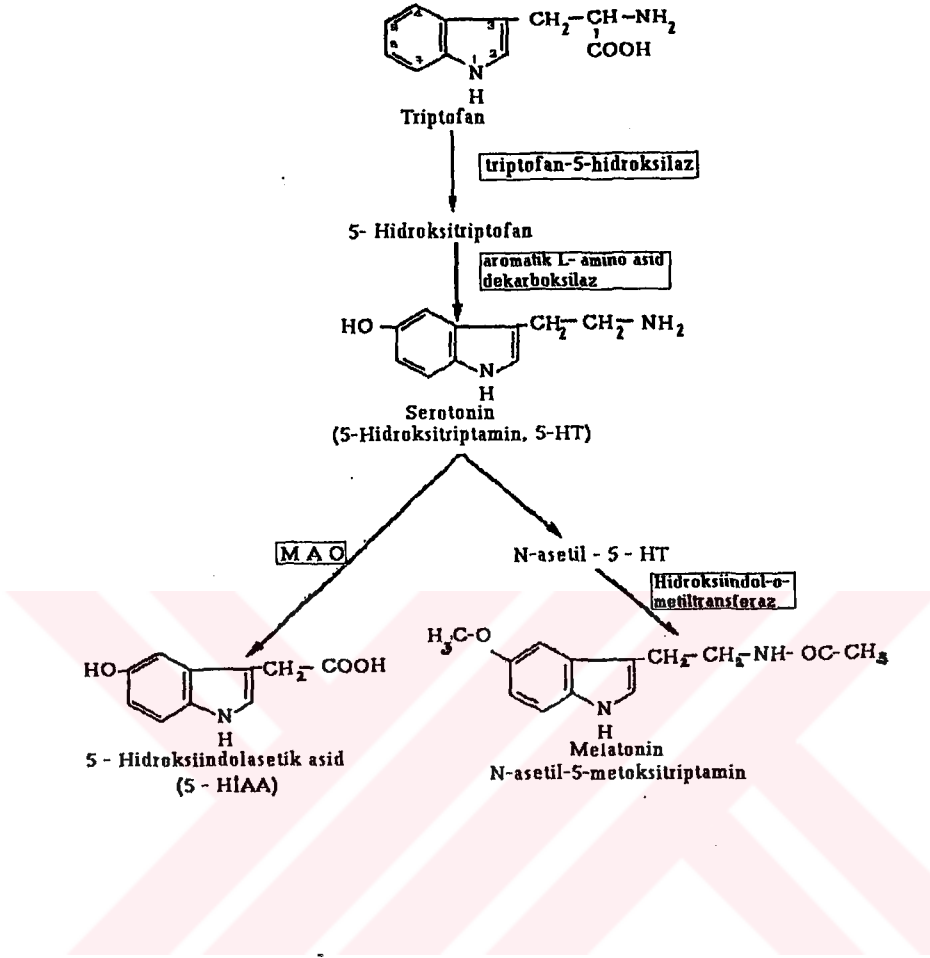
gelen sempatik sinir lifleri ve vagus tarafından kontrol edildiği saptanmıştır (18). Enterokromafin hücreler, barsak içeriğinin yaptığı basınçla stimüle edilirler ve salıverdikleri serotonin ile primer afferent nöron uçlarını aktive ederek peristaltik refleksi başlatırlar, postprandiyal mide-barsak hiperemisine katkıda bulunurlar.

Serotonin insan vücudu dışında hayvan ve bitkilerin dokularında da yaygın olarak bulunur. Örneđin; ısırgan otunun dalayıcı tüylerinde, akrep ve eşek arısının venomunda, bazı meyvelerde (muz,..) ve sert kabuklu çerezlerde bulunabilmektedir (16,1,19,20).

ii. Biyosentez :

Serotonin, enterokromafin hücrelerde, SSS'deki serotonerjik nöronlarda ve mide-barsak çeperindeki enterik sinir sistemini (ESS) oluşturan myenterik plexus ve submukozal plexustaki serotonerjik nöronlarda triptofandan sentez edilir. Nöronlar içinde turnover zamanı 1 saat, enterokromafin hücrelerde ise 7-12 saat kadardır. Trombositler içinde serotonin sentez edilmez; bu hücreler serotoninini plazmadan alır ve depolar. Normalde insan mast hücreleri serotonin içermez, ancak bu hücrelerden kaynaklanan tümörlerde bulunur (16,1).

Serotonin, besinler ile hücreye alınan bir amino asid olan L-triptofandan sentez edilir. Sentezin ilk basamağında, triptofanın indol halkası 5 numaralı karbonundan triptofan-5-hidroksilaz enzimi ile hidroksillenir. Bu, sentezin hız kısıtlayıcı basamağıdır. Oluşan 5-hidroksitriptofan, nonspesifik aromatik L-amino asid dekarboksilaz enzimi ile dekarboksillenerek 5-hidroksitriptamine dönüşür (şekil 2). Daha sonra, sentez edilmiş olan serotonin enterokromafin hücrelerde ve sinirlerde bulunan granüler veziküllerde depo edilir.



Şekil 2. Serotonin sentez ve metabolizması

Serotonin, enterokromafin hücrelerden ve SSS'deki serotonerjik sinir uçlarından parsiyel ekzositoz yolu ile salıverilir. p-klorofenilalanin, SSS'de ve periferdeki hücrelerde triptofan hidroksilaz enzimini inhibe ederek serotonin sentezini azaltır, dokulardaki konsantrasyonunu düşürür. Serotonerjik nöronların nörotoksini olan p-kloramfetamin, sıçanlara yüksek dozda verildiğinde beyinde serotonerjik nöronları tahrip ederek serotonin düzeyini düşürür (1).

Serotoninin gerilimi katekolaminlerde olduğu gibi kokain ve trisiklik antidepresanlar ile bloke edilir (16,1).

iii. Metabolizma

Serotonin, hücrelerde mitokondriyel monoamin oksidaz (MAO) A ve B tarafından oksidatif deaminasyon ile metabolize olur ve 5-hidroksiindolasetik aside (5-HIAA) dönüşür. Ayrıca pineal bezde N-asetilasyon ve 5-metilasyona uğrayarak melatonin oluşturur (20). Normal erişkinlerde endojen serotoninin metabolizması sonucu günde yaklaşık olarak 2-10 mg 5-HIAA idrar ile atılır (16). Bu miktarın artması karsinoid tümör (enterokromafin hücrelerin tümörü) tanısını koymada önemli bir laboratuvar bulgusudur.

Kandaki serotoninin eliminasyonunda rol oynayan en önemli organ akciğerlerdir. İntravenöz infüzyon ile uygulanan serotoninin %90'dan fazlası akciğerlerden geçerken bu organ tarafından tutulur, metabolize edilir. Metabolizmada rol oynayan akciğer damar yatağının endotel hücreleri ve içerdikleri MAO'dur.

Serotonin, kan-beyin engelini aşamadığından SSS'ne geçemez. Ancak, prekürsörü olan triptofan SSS'ne geçebilir.

E- SEROTONİN RESEPTÖRLERİNİN SINIFLANDIRILMASI:

Serotonerjik reseptörlerin varlığı ilk olarak 1957 yılında izole kobay ileumu ile yaptıkları çalışmalarla Gaddum ve Picarelli tarafından gösterilmiştir. Gaddum ve Picarelli kas kontraksiyonunu kontrol eden, farmakolojik olarak farklı iki reseptör tipi olduğunu ileri sürmüşlerdir: biri; ileal düz kasta bulunan ve dibenzilin (fenoksibenzamin) ile antagonize edilen 'D-triptamin reseptörü' diğeri ise; nöronal dokuda bulunan ve morfin ile antagonize edilen 'M-triptamin reseptörü'dür (21). Daha sonra yapılan çalışmalarla, kobay ileumunun Gaddum ve Picarelli'nin tanımlamış olduklarından farklı serotonin reseptörlerini de içerdığı ileri sürülmüştür (22,23): Bu reseptörlerden birinin düz kaslarda gevşemeye neden olduğu, diğeri kolinerjik sinir uçlarından asetilkolin salınımını inhibe ettiği (24), bir diğeri ise nonkolinerjik nöronlarda depolarizasyon yaptığı gösterilmiştir (25).

1972-1973 yıllarında beyin dokusunda serotonin için radyoligand bağlanma bölgelerinin keşfedilmesi ile serotonin reseptörlerinin sınıflandırılmasında önemli adımlar atılmıştır. 1979 yılında Peroutka ve Snyder iki tip serotonerjik reseptörün olduğunu ileri sürmüştür (17,22). [³H] 5-HT'ye afinitesi yüksek olan reseptörleri 5-HT₁ reseptörleri, spiperona afinitesi yüksek reseptörleri ise 5-HT₂ reseptörleri olarak adlandırmıştır. Yine bu raporlarında Peroutka ve Snyder, [³H] 5-HT ile bağlanmanın spiperidol tarafından inhibisyonunun bifazik olması nedeniyle 5-HT₁ reseptörlerinin heterojen olabileceğini iddia etmişlerdir. 1981 yılında Pedigo ve arkadaşları 5-HT₁ reseptörlerinin 5-HT_{1A} ve 5-HT_{1B} olmak üzere iki alt tipinin olduğunu ileri sürmüşlerdir. 1985 yılında Pazos ve arkadaşları tarafından ortaya atılan fikir ise üçüncü bir bağlanma yerinin de 5-HT_{1C} olabileceğidir.

1986 yılında Bradley ve arkadaşları fonksiyonel 5-HT reseptörlerini 3 gruba ayırmıştır:

- 1) serotonin 5-HT_{1benzeri} reseptörler
- 2) serotonin 5-HT₂ reseptörleri
- 3) serotonin 5-HT₃ reseptörleri (22).

1986 yılında, bu sınıflandırma yapıldığı zaman serotonin 5-HT₁ reseptörlerin alt tipleri ile serotoninin belirli fonksiyonel etkileri arasında ilişki kurulamadığından bu reseptörlerin hepsine serotonin 5-HT_{1benzeri} reseptörler denilmiştir. Bu reseptörlerin ortak özellikleri, 5-karboksamidotriptamin (5-CT) ile stimüle edilmeleri, metiotepin ve metizerjid ile bloke edilmeleri ancak ketanserin tarafından etkilenmemeleridir.

Bradley ve arkadaşları tarafından tanımlanan serotonin 5-HT₂ reseptörleri, daha önce Gaddum ve Picarelli tarafından (1957) kobay ileumunda tanımlanmış olan 'D-triptamin reseptörleri' ne karşılık gelmektedir. Bu reseptörlerin serotonine afinitesi düşük; ketanserin, metergolin, metizerjid, mianserin gibi antagonistlere afinitesi yüksektir.

Bu sınıflandırmadaki 5-HT₃ reseptörleri de 'M-triptamin reseptörleri' ne karşılık gelmektedir. Serotoninin depolarizan etkisine aracılık eden periferel nöronlarda bulunur. ICS 205-930 ve MDL 72222 gibi kokain derivelerine afinitesi yüksektir.

Harting 1989 yılında serotonin reseptörlerinin moleküler biyolojik özelliklerini ve predominant transdüksiyon sistemini tanımlayarak basit bir sınıflama yapmıştır. Bu sınıflandırmada reseptörler; G proteini ile kenetli olanlar ve iyon kanalına direkt olarak bağlananlar olmak üzere iki gruba ayrılmıştır (17).

5-HT_{1D} olarak adlandırılan yeni bir 5-HT₁ reseptör subtipinin bulunması ve 5-HT_{1C} ile 5-HT₂ reseptörleri arasında farmakolojik ve moleküler benzerlik bulunduğunun gösterilmesi üzerine 1990 yılında Peroutka yeni bir sınıflandırma yapmıştır:

- 1) 5-HT₁ reseptörleri (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} ve 5-HT_{1D} subtipleri)
- 2) 5-HT₂ reseptörleri (5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} ve 5-HT_{1C} subtipleri)
- 3) 5-HT₃ reseptörleri.

Farmakolojik teknikler, radyoligand bağlama ve otoradyografik çalışmalar, moleküler biyoloji ve transmembranal transdüksiyon mekanizmalarına göre bugün kabul edilen sınıflandırmada 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃ reseptörleri ile henüz klonlanamamış 5-HT₄ reseptörleri bulunmaktadır. 5-HT₅, 5-HT₆ ve 5-HT₇ reseptör genleri son zamanlarda klonlanmış fakat bu reseptörler farmakolojik yöntemler ile henüz gösterilememiştir (tablo 1).

Tablo 1: Serotonin reseptörleri

Reseptör tipi	Reseptör subtipi	Selektif agonist	Selektif antagonist	Etkili yolağı
5-HT ₁	5-HT _{1A}	8-OH-DPAT, DP-5-CT,ürapidil	WAY100135, SDZ16525, NAN190,SDZ21009	sAMP K ⁺ kanalı
	5-HT _{1B}	CP93129	--	sAMP
	5-HT _{1D}	Sumatriptan, L 694247	GR127935	sAMP
	* 5-ht _{1E}	--	--	sAMP
	* 5-ht _{1F}	--	--	sAMP
	5-HT ₁ -benzeri	--	--	sAMP
	5-HT ₂	5-HT _{2A}	α -metil-5-HT,DOI	Ketanserine,ritanserine, pirenperon SB 200646
5-HT _{2B}		α -metil-5-HT	SB 200646	IP ₃ /DG
5-HT _{2C}		α -metil-5-HT,DOI	Metergoline, SB 200646	IP ₃ /DG
5-HT ₃	--	2-metil-5-HT,m-klorofenilbiguanid	Tropisetron,zakoprid, granisetron, ondansetron	İnternal kationik kanal
5-HT ₄	--	5-MeOT, renzaprid, BIMU8	GR 113808, SB 204070,DAU 6285	sAMP
*5-ht ₅	--	--	--	?
*5-ht ₆	--	--	--	sAMP
*5-ht ₇	--	--	--	sAMP

*IUPHAR reseptör sınıflaması komitesinin önerisi üzerine rekombinant reseptörler küçük harf, dokuda bulunan reseptörler ise büyük harf ile gösterilmektedir (25).

F- SEROTONİN RESEPTÖR TİPLERİNİN ÖZELLİKLERİ

a) Serotonin 5-HT₁ Reseptörleri:

5-HT₁ reseptörleri çok heterojen bir grup oluşturmaktadır. Bu heterojenitenin sınırlarının belirlenmesi ve birçok reseptör özelliğinin kesin olarak çözümlenmesi gerekmektedir (26). Bununla birlikte bugün klonlanmış olan 5-HT₁ reseptörleri

5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E} ve 5-HT_{1F} reseptörleridir.

i. Serotonin 5-HT_{1A} Reseptörleri:

Hipokampusta yoğun olarak bulunduğu ve emosyonun düzenlenmesinden sorumlu olduğu gösterilmiştir.

5-HT_{1A} reseptörlerinin agonistleri:

8-OH-DPAT (8-Hidroksi-2-(di-n-propilamino)tetralin), buspiron, gepiron, ipsapiron, flesinoksan, ürapidil, 5-metil-ürapidil ve MDL 72832 (8-(4-(1,4-Benzodioksan-2-ilmetilamino)butil)-8-azaspiro(4,5)dekan-7,9-dion)

5-HT_{1A} reseptörlerinin antagonistleri:

NAN 190 (1-(2-Metoksifenil)-4-(4-(2-ftalimmido)butil)piperazin), MDL 73005 (8-(2-(2,3-Dihidro-1,4,benzodioksin-2-ilmetilamino) etil)-8-azaspiro(4,5)dekan-7,9-dion), 5-F-8-OH-DPAT, BMY 7378 (1-piperazinil8-(2-(4-(2-Metoksifenil)-)etil)-8-azaspiro(4,5)-dekan-7,9-dion), SDZ 21 (Metil-4(4-(4-(1,1,3-triokso-2H-1,2-benziosotiazol-2-il)butil)-1-piperazinil)1H-indol-2-6525 karboksilat) ve en son geliştirilmiş olan WAY 100135 (N-tert-butil-3-(4-(2-metoksifenil)piperazin-1-il)-2-fenilpropanamid) selektif antagonistlerdir. Ancak WAY 100135 dışında kalanlar kullanıldıkları dokuya göre değişebilen parsiyel agonistik etki gösterebilirler. Ayrıca pindolol, propranolol, alprenolol gibi bazı beta adrenoseptör blokörleri de antagonistik aktiviteye sahiptir (3,4).

Buspiron, gepiron gibi 5-HT_{1A} reseptörlerinin parsiyel agonistleri anksiyolitik ve hatta antidepresan aktiviteye sahiptir (3). 8-OH-DPAT, flesinoksan, ürapidil ve 5-metil-ürapidil gibi agonistler ise santral 5-HT reseptörlerini aktive ederek kalp atım hızını ve kan basıncını düşürür (27). Günümüzde anksiyete tedavisinde buspiron, hipertansiyon tedavisinde ise ürapidil klinik kullanım alanına girmiştir (1).

ii. Serotonin 5-HT_{1B} Reseptörleri:

Sıçan ve farelerin (rodentlerin) bazal ganglionlarında yoğun olarak bulunduğu gösterilmiştir. [³H] 5-HT ile yapılan bağlama çalışmaları ile diğer memelilerin beyinlerinde 5-HT_{1B} reseptörleri olmadığı, bu yerlerde 5-HT_{1D} reseptörlerinin bulunduğu gösterilmiştir.

5-HT_{1B} reseptörleri damar yatağında da bulunmaktadır. Sıçan vena kavasında 5-HT_{1B} reseptörleri aracılığı ile noradrenalin salınımının inhibe olduğu ileri sürülmüştür.

Bu reseptörlerin ayrıca sıçan penis ereksiyonunda da rolü olduğu gösterilmiştir.

5-HT_{1B} reseptörlerinin agonistleri:

Yeni bulunmuş olan CP 93129 (3-(1,2,5,6-Tetrahidropirit-4-İl)pirolo(3,2-b)pirid-5-on) selektif agonisttir. RU 24969 (5-Metoksi-3(1,2,3,6-tetrahidro-4-piridinil)-1H-indol), TFMPP (N-(3-Triflorometil-fenil)piperazin), mCPP (1-(3-Klorofenil)piperazin) selektif olmayan agonistler arasındadır.

5-HT_{1B} reseptörlerinin antagonistleri:

Selektif antagonisti henüz yoktur. Bazı beta-adrenoseptör antagonistleri (SDZ 21009 (4(3-Terbutilamino-2-hidroksi propoksi)indol-2-karbonikasid-isopropilester), siyanopindolol) antagonistik etkiye sahiptir (3).

iii. Serotonin 5-HT_{1D} Reseptörleri:

5-HT_{1D} reseptörleri radyoligand bağlama çalışmaları ile 5-HT_{1Dalfa} ve 5-HT_{1Dbeta} olmak üzere iki alt gruba ayrılmasına rağmen her iki grubun da agonist ve antagonistleri aynıdır. 5-HT_{1Dbeta} alt grubu rodentlerdeki 5-HT_{1B} reseptörlerinin dağılım yerlerine ve fonksiyonlarına benzer özellik gösterir. Non-rodent memelilerin (kobay, domuz, tavşan, köpek, maymun, insan, güvercin) bazal gangliyon, substansia nigra ve nigrostriatal yolağında yoğun olarak bulunur.

Yapılan çalışmalarla, domuz koroner arterinde EDRF aracılığı ile oluşan gevşemeden 5-HT_{1D} reseptörlerinin sorumlu olduğu, bu reseptörlerin ayrıca siğir ve insan serebral arterinde de bulunduğu iddia edilmiştir. Ancak siğir ve insan serebral arterinde bu reseptörler aracılığı ile kontraktil etkinin olduğu gösterilmiştir (27).

Ayrıca trigeminal ganglionlarda bulunan 5-HT_{1D} reseptörlerinin uyarılması ile de plazma eksravazasyonunun inhibe olduğu gösterilmiştir.

5-HT_{1D} reseptörlerinin 5-HT_{1B} reseptörleri gibi otoreseptör olduğu aynı zamanda non-serotonerjik nöronlarda da bulunduğu ve buralardan glutamat, asetilkolin salınımını inhibe ettiği ileri sürülmüştür.

5-HT_{1D} reseptörlerinin agonistleri:

Sumatriptan ve potent agonist olan L 694247 (2-(5-(3-(4-Metilsulfanilamino)benzil-1,2,4-oksadiazol-5-il)-1H-indol-3-il)etilamin)'dir.

Sumatriptan, bugün migren ve cluster baş ağrısının akut döneminin tedavisinde kullanılmaktadır (1).

5-HT_{1D} reseptörlerinin antagonistleri:

Yeni bulunmuş olan selektif antagonist GR 127935 (N-(4-Metoksi-3-(4-metil-1-piperazinil)fenil)-2'-metil-4'-(5-metil-1,2,4-oksadiazol-3-il)(1,1-bifenil)-4-karboksamid) ile selektif olmayan metergolin ve metiotepindir (3).

iv. Serotonin 5-HT_{1E} ve 5-HT_{1F} Reseptörleri:

Bu reseptörler; rekombinant proteinleri, aminoasid homolojisi ve adenilil siklaz inhibisyonu yapma özelliklerine göre 5-HT₁ reseptör alt grupları olarak sınıflandırılmıştır. Ancak bu reseptörler agonist ve antagonistlere olan afiniteleri açısından diğer 5-HT₁ reseptörlerinden farklıdır. Çünkü 5-CT'nin bu reseptörler üzerinde agonist etkisi ya çok azdır ya da yoktur. Yine aynı şekilde metiotepinin de bu iki reseptör üzerindeki antagonistik etkisi çok düşüktür (3,4).

Henüz bu reseptörlerinin dağılım bölgeleri kesin olarak belirlenememiştir. Ancak homojenet bağlama çalışmaları ile 5-HT_{1E} reseptörlerinin beyinde 5-HT_{1D} reseptörleri ile aynı yerlerde bulunduğu, 5-HT_{1F} reseptörlerinin ise insanlarda beyin, mezenter ve uterusu bulunduğu ileri sürülmüştür.

5-HT_{1E} ve 5-HT_{1F} reseptörlerinin fonksiyonu hakkında yeterli bilgi henüz yoktur.

Bilinen selektif agonist ve antagonistleri yoktur.

v. Serotonin 5-HT_{1benzeri} Reseptörler:

Bu reseptörler, 5-HT₁ bağlanma yeri alt türleriyle henüz pozitif olarak ilişkilendirilememiş, SSS'de tanımlanan bir reseptör grubudur. Bağlanma yerleri

5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} ve 5-HT_{2C} reseptörlerinin bağlanma yerlerinden belirgin olarak ayırd edilebilse de, en az iki alt türü olan 5-HT_{1D} reseptörlerinin bağlanma yerlerinden ayırd edilememektedir. Sebebi; bu yerler için selektif olan agonist ve antagonistlerin henüz elde edilememiş olması ve radyoligand bağlama çalışmalarının periferik dokularda bulunan 5-HT_{1benzeri} reseptörler için ayrıntılı olarak yapılamamasıdır.

5-HT_{1benzeri} reseptörler, düz kas kontraksiyonu, sempatik sinir uçlarından noradrenalin salınımında azalma ve bazı santral etkilere aracılık eder.

Düz kas kontraksiyonuna aracılık eden 5-HT_{1benzeri} reseptörlerin 5-HT_{1D} reseptörleri ile benzer olduğu ancak 5-HT_{1benzeri} reseptörlerin metergolin ile zayıf bloke edilmesi nedeniyle farklılık gösterdiği ileri sürülmektedir (3).

Periferik 5-HT_{1benzeri} reseptörler için tamamen selektif agonist ve antagonist henüz yoktur.

b) Serotonin 5-HT₂ Reseptörleri

Serotonin 5-HT₂ reseptörlerinin bugün kabul edilmiş 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} ve 5-HT_{2C} reseptörleri olmak üzere üç subtipi vardır. Bu sınıflandırmadaki 5-HT_{2A} reseptörü, önceden bilinen klasik 5-HT₂ reseptörüne 5-HT_{2B} reseptörü, yeni bulunan fare mide fundusundaki 5-HT_{2F} reseptörüne; 5-HT_{2C} reseptörü ise 5-HT_{1C} reseptörüne karşılık gelmektedir (3,4).

i. Serotonin 5-HT_{2A} Reseptörleri:

Bu reseptörler periferel dokuda yaygın olarak bulunmaktadır (22). Bir çok damar düz kas preparatlarında; bronş, uterus ve mesane düz kasında, kobay ileumunun bazı bölümlerinde bu reseptörler aracılığı ile kontraktıl yanıtın meydana geldiği gösterilmiştir (28). Ayrıca trombosit agregasyonunun ve kapiller permeabiledaki artışın bu reseptörler aracılığı ile olduğu ileri sürülmüştür. SSS'de ise, korteksin bir çok bölgesinde de bu reseptörlerin yoğun olarak bulunduğu, öğrenmeden sorumlu olduğu ve ayrıca nöroendokrin fonksiyonları bulunduğu gösterilmiştir.

5-HT_{2A} reseptörlerinin agonistleri:

alfa-metil-5-HT, DOM (1-(2,5-Dimetoksi-4-metilfenil)-2-aminopropan), DOI (1-(2,5-Dimetoksi-4-iodofenil)-2-aminopropan) ve DOB (1-(2,5-Dimetoksi-4-bromofenil)-2-aminopropan). Günümüzde bu agonistlere ait daha ayrıntılı bilgilere ihtiyaç vardır (3).

5-HT_{2A} reseptörlerinin antagonistleri:

Ketanserin ve pirenperon selektivitesi yüksek; siproheptadin, sinanserin, spiperon, pizotifen ve mianserin ise selektivitesi düşük olan antagonistlerdir (17).

Ketanserin, Raynaud sendromunda ve hipertansiyonda; siproheptadin, migren profilaksisinde, karsinoid sendromda ortaya çıkan barsak belirtilerinde ve dumping sendromunda; pizotifen ise migren nöbetinin önlenmesi için profilaktik olarak kullanılmaktadır. Siproheptadin ayrıca iştahı arttırdığından anoreksia nervosa olgularının tedavisinde de yararlı bulunmuştur (1).

ii. Serotonin 5-HT_{2B} Reseptörleri:

Sıçan mide fundusunda serotonerjik reseptörlerin bulunduğu ve fundus düz kasında kontraksiyon oluşturduğu uzun yıllardan beri bilinmekteydi (22,29). Bu kontraktıl yanıtın 5-HT_{2B} reseptörleri aracılığı ile meydana geldiği bugün kabul edilen görüştür (3). Ancak, diğer fonksiyonları ve dağılımı konusundaki bilgiler oldukça kısıtlıdır.

5-HT_{2B} reseptörlerinin agonistleri:

sıçan mide fundus şeritleri ile yapılan çalışmaların sonuçlarına göre agonistlerin etki gücüne göre sıralanması;

5-HT= alfa-metil-5-HT> 5-MeOT (5-Metoksitriptamin)> TFMPP> 5-CT> quipazin> 2-metil-5-HT> sumatriptan >8-OH-DPAT (3)

5-HT_{2B} reseptörlerinin antagonistleri:

antagonistlerin etki gücüne göre sıralanması;

1-NP (1-(1-Naftil)piperazin) = ORG GC 94 (1,3,4,14b-Tetrahidro-2,7-dimetil-2H-dibenzo(b,f)pirazino(1,2-d)(1,4)oksazepin) = rovolisin = yohimbin > pizotifen > propranolol mianserin > pirenperon > sinanserine = spiperon. Son zamanlarda 5-HT_{2C} reseptör antagonistisi olarak tanımlanan SB 200646 (N-(1-Metil-5-indolil)-N-(3-piridil)üre) 'nın 5-HT_{2B} reseptörlerine afinitesinin daha fazla olduğu gösterilmiştir. Metiserjid, metergolin ve LY 53857 (4-Isopropil-7-metil-9-(2-hidroksi-1-metilpropoksi karbonil)-4,6,6A,7,8,9,10,10A-oktahidroindolo(4,3-FG)kuinolon) 'ye de 5-HT_{2A} ve 5-HT_{2C} reseptörlerinden fazla afinitesi olduğu bildirilmiştir (3).

iii. Serotonin 5-HT_{2C} Reseptörleri

Bu reseptörlerin koroid pleksus epitel hücrelerinde yoğun olarak bulunduğu ve serebrospinal sıvının miktarının düzenlenmesinde rol oynadığı ileri sürülmüştür. Ayrıca, davranışların düzenlenmesinde, yemek yeme düzeninde, adrenokortikotropik hormon salınımında, migrende, obsesif kompulsif hastalıklarda, anksiyetede ve penis ereksiyonunda da rol oynadığı ileri sürülmüştür (3).

5-HT_{2C} reseptörlerinin agonistleri:

alfa-metil-5-HT, DOI (3,12).

5-HT_{2C} reseptörlerinin antagonistleri:

SB 200646, metergolin, ritanserin, ICI 169369 (2-(2-Dimetilaminoetiltio)-3-fenilkuinolin) , siproheptadin, LY 53857, metiserjid, mianserin ve mesulerjin (17).

Mianserin, günümüzde depresyon tedavisinde; metiserjid ise migren ve diğer tip baş ağrılarında profilaktik olarak, ayrıca karsinoid sendromlu hastalarda görülen ishal ile buna bağlı malabsorpsiyonu önlemek amacıyla kullanılmaktadır (1).

c) Serotonin 5-HT₃ Reseptörleri

5-HT₃ reseptörleri SSS'deki ve periferdeki nöronal yapılarda yoğun olarak bulunur.

Periferdeki 5-HT₃ reseptörleri otonomik sinirlerin pre ve post ganglionlarında ayrıca duysal ve enterik sinir sistemi nöronlarında bulunmaktadır.

5-HT₃ reseptörlerinin kardiyovasküler sistem üzerindeki esas etkileri kalp üzerinedir, lokal ve refleks etkilerin kombinasyonu ile inhibisyon veya stimülasyon yapabilir. Damarlar üzerinde refleks etki ile vazodilatasyon yapar. Gastrointestinal sistem tonus ve sekresyonu üzerinde de farklı etkilere yol açabilir (30). Duyusal sinir sistemindeki 5-HT₃ reseptörlerinin aktivasyonu ağrıya ve nosiseptiv nöronlarda duyarlılığa, ayrıca kanser kemoterapisi ve radyoterapi sırasında ortaya çıkan bulantı ve kusmaya neden olur. SSS'de 5-HT₃ reseptör antagonistleri hayvan davranışları üzerinde önemli etkiler göstermiştir. Bu da 5-HT₃ reseptörlerinin psikoz, anksiyete, yemek yeme ve kavrama yeteneği üzerinde rolü olduğunu düşündürmektedir (3).

5-HT₃ reseptörlerinin agonistleri:

2-metil-5-HT, fenilbiguanid, m-klorofenilbiguanid. Bunlar parsiyel agonisttir (3).

5-HT₃ reseptörlerinin antagonistleri:

MDL 72222 (1alfaH,3alfa,5alfaH-Tropan-3-il-3,5-dikloobenzoat), tropisetron, ondansetron, granisetron. μ M düzeyde tropisetronun 5-HT₄ reseptörlerini de bloke edici etkisi vardır (12).

Tropisetron, ondansetron, granisetron; kanser ilaçlarının ve radyoterapinin yol açtığı bulantı, kusmanın tedavisinde kullanılmaktadır (1).

d) Serotonin 5-HT₄ Reseptörleri

5-HT₄ reseptörlerinin çeşitli dokularda yaygın olarak bulunduğu gösterilmiştir.

SSS'de bulunan 5-HT₄ reseptörleri afektif bozukluklar, psikoz, motor koordinasyon, görsel algılama, öğrenme ve hafızada rol oynamaktadır.

5-HT₄ reseptörleri sindirim kanalında nöronlar, düz kas hücreleri ve sekretuar hücrelerde bulunur. Elektrofizyolojik çalışmalar bu reseptörlerin presinaptik sinir uçlarından asetilkolin salınımı yolu ile enterik ganglionlarda nikotik nörotransmisyonu artırdığını göstermiştir (31). 5-HT₄ reseptörlerinin sindirim kanalında sekresyonları ve peristaltik refleksi stimüle ettiğini gösterir kanıtlar vardır. Peristaltik refleks üzerine etki, sirküler düz kas nöronal uyarımının düzenlenmesi ile ortaya çıkar. Bu, 5-HT₄ reseptör agonisti olarak etki eden metoklopromid ve diğer gastrokinetik ajanların prokinetik etkilerini açıklamaktadır (32). Bu reseptörler aracılığı ile izole kalpte pozitif kronotrop ve inotrop etki meydana geldiği gösterilmiştir.

5-HT₄ reseptörlerinin agonistleri:

5-MeOT, alfa-metil-5-HT, ile parsiyel agonist olan substitue benzamid türevleri (sisaprid, (R) zakoprid, renzaprid, metoklopromid) ve bezimidazoller (BIMU1 (Endo-N-(8-metil-8-azabisiklo(3.2.1)okt-3-il)-2,3-dihidro-3-etil-2-okso-1H-benzimidazol-1-karboksamid) , BIMU8 (Endo-N-(8-metil-8-azabisiklo(3.2.1)okt-3-il)-2,3-dihidro-1-metil-2-okso-1H-benzimidazol-1-karboksamid)) (33) dir. Yeni bulunmuş olan benzamid türevi SC 53116 (Ekso-(1S,8S)-2-metoksi-4-amino-5-kloro-N-((hekshidro-1H-pirrolizin-1-il)metil)benzamid)'nın sıçan özofagusunda potent etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Sisaprid, metoklopromid; antiemetik ve gastrokinetik olarak günümüzde kullanıma girmiştir (1).

5-HT₄ reseptörlerinin antagonistleri:

SDZ 205557 (2-Metoksi-4-amino-5-klorobenzoik asid 2-(diethylamino)etil ester) , DAU 6285 (Endo-6-metoksi-8-metil-8-azabiosiklo(3.2.1)okt-3-il-2,3-dihidro-2-okso-1H-benzimidazol-1-karboksilat) (34), tropisetron. Yeni geliştirilmiş olan GR 113808 ((1-(2-Metilsulfonil)amino)etil)-4-piperidinil)metil 1-metil-1H-indol-3-karboksilat) ve SB 204070 ((1-Butil-4-piperidinilmetil)-8-amino-7-kloro-1,4-benzodioxan-5-karboksilat) (35) ise selektif antagonisttir.

f) Serotonin 5-HT₅, 5-HT₆ ve 5-HT₇ Reseptörleri

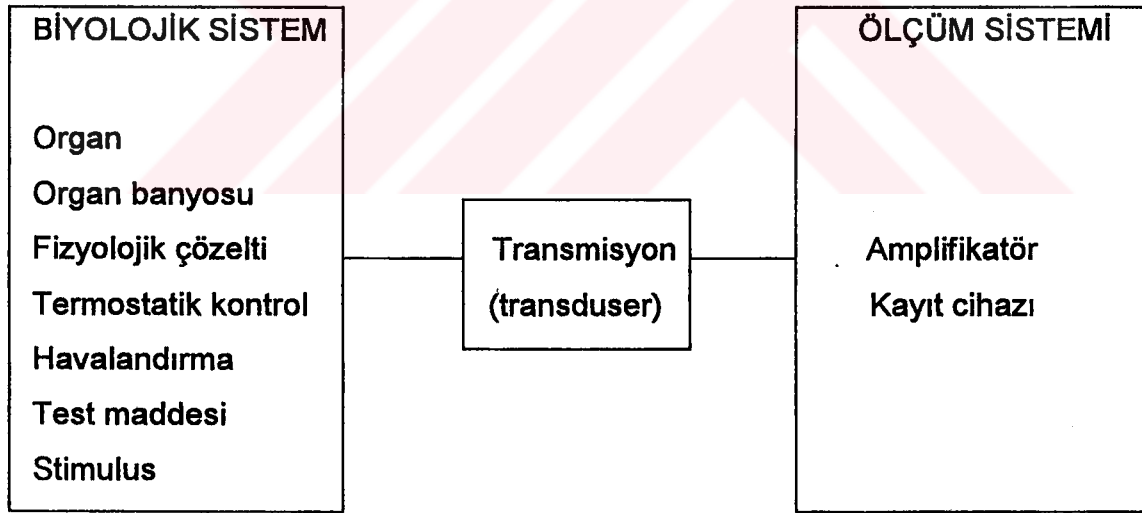
Bugün 5-HT₅, 5-HT₆ ve 5-HT₇ reseptörleri klonlanmış ve aminoasid dizilimleri belirlenmiş olmasına rağmen bunlarla ilgili bilgiler henüz çok azdır. Güvenle isimlendirilebilmeleri için selektif agonist ve antagonistleri ile ve transmembranal sinyal transdükleme mekanizmaları ile ilgili daha fazla bilgilere ihtiyaç vardır.

III- GEREÇ VE YÖNTEM

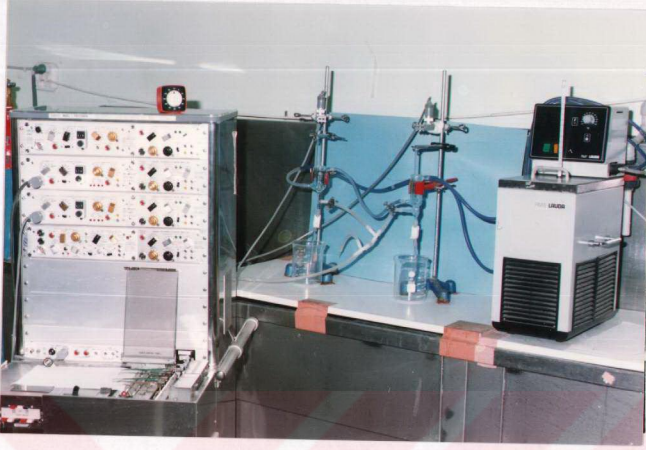
A- ORGAN BANYOSU

İzole düz kas preparatlarında organın vücut dışına çıkarılarak uygun bir ortamda canlı tutulması; ortamın kimyasal yapısının düzenlenmesi, ortam sıcaklığının denetlenmesi ve optimum oksijenasyonun sağlanması suretiyle yapılır.

İzole organ preparatlarının incelenmesi için kullanılan tekniklerden birisi organ banyosu sistemidir. Bu sistemde bir üçüncüyle aralarında bağlantının sağlandığı iki temel öge vardır. Bunlardan ilki, preparata optimal in vitro şartları sağlayan biyolojik sistem; ikincisi ise, ölçme sistemidir. Bu iki sistem arasında mekaniksel bağlantıyı sağlayan transmisyon (aktarım) da üçüncü sistemi oluşturmaktadır (şekil 3, resim 1).



Şekil 3: İzole organ preparatlarının incelenmesinde kullanılan sisteme ait diyagram.



Resim 1: İzole organ preparatlarının incelenmesinde kullanılan sistem

Vücut dışına çıkarılmış bir organın canlı kalmasındaki koşullardan en önemlisi kuşkusuz organın bulunduğu ortamdır. En iyi ortamın kan olduğu tartışılmaz. Özellikle aynı türden elde edildiği zaman, gerekli gazları taşıma özelliği açısından temel bileşimi çok uygundur. Ancak, kanın yeterli miktarda sağlanması zor ve pahalıdır. Ayrıca içerdiği aktif maddeler spontan aktivitelere neden olabilir ve incelenen ilacın etkinliğini değiştirebilir. Bunlar da istenmeyen özelliklerdir. Bu nedenlerle kan kompozisyonuna yakın fizyolojik tuzlu su çözeltileri uygulama alanına girmiştir (36).

Tuz çözeltilerinin bileşiminde Na^+ , K^+ , Mg^{++} ve Cl^- iyonlarının bulunması gerekmektedir. Bu iyonlar proteinlerin (enzimler, reseptörler, vd.) işlevleri için gereklidir. Hücrelerdeki fonksiyonel proteinlerin H^+ iyonuna karşı duyarlı olmaları ve bunlar üzerinden oluşan yanıtların ancak dar bir pH aralığında ortaya çıkması nedeniyle bazı kimyasal maddeler (H_2PO_4 , HCO_3 , albümin ve aminoasitler, tris ve benzeri organik tamponlar) fizyolojik tuz çözeltilerinin tamponlanmasında kullanılır.

Tamponlama ile elde edilen pH nötral (7.4) düzeydedir. Yine kullanılması gereken en önemli maddelerden birisi de glikozdur (37).

Dokuya gerekli oksijen iletimi fizyolojik tuz çözeltilerinin kullanılması durumlarında oldukça güçtür. Bu yüzden deney süresince fizyolojik tuz çözeltisi O_2+CO_2 gaz karışımı ile havalandırılır.

Organ banyolarında, canlılardan elde edilen dokuların fizyolojik yanıtlarının sağlanması için, oda sıcaklığının üzerinde, 37° civarında sıcaklıklar kullanılmalıdır. Bu amaç için ceketli sistem kullanılmakta, banyo çeperindeki ceketten ısıtılmış su geçirilmektedir.

İzole düz kas preparatına taze fizyolojik çözelti sağlamak ve çalışma sırasında eklenen test bileşiklerini uzaklaştırmak için preparatlar belirli aralarla yıkanır. Bu çalışmada kullanılan yıkama şeklinde, banyo önce tamamen boşaltılır ve sonra boşaltma musluğu kapatılarak taze, uygun ısıdaki çözelti ile doldurulur.

İzole düz kas preparatının organ banyosuna asılabilmesi için organ askısına ihtiyaç vardır. Önce organ bu askıya bağlanır ve sonra organ banyosunun içine yerleştirilir.

Preparat ve transduser arasındaki bağlantı iple sağlanır. Dokuya ait cevaplar transduser aracılığı ile amplifikatöre oradan da kaydediciye iletilir ve hareketli kağıt üzerine yazdırılır

B- KONSANTRASYON-CEVAP EĞRİLERİ

Konsantrasyon-cevap eğrisi, bir maddenin organ banyosundaki konsantrasyonu ile onun preparat üzerindeki etki şiddetini göstermektedir.

a) Agonistlerin test edilmesi:

İzole organa başka herhangi bir madde verilmeksizin sadece test maddesinin uygulanmasıdır. Bir agonist test edilirken doz kademeli olarak yükseltilir. Bu

yükseltme işlemi en küçük cevabın elde edildiği konsantrasyondan başlar ve maksimum etki elde edilinceye kadar sürdürülür. Organ banyosundaki konsantrasyon M (mol/L) olarak ifade edilir ve onar onar (10,20,30,...), aritmetik olarak (1,2,4,8,...) veya logaritmik olarak (1,3,10,...) arttırabilir.

b) Antagonistlerin test edilmesi:

İzole düz kas preparatı önce antagonist test maddesi ile karşı karşıya bırakılır ve daha sonra standart agonist banyoya ilave edilir. Eğer test maddesinin antagonist aktivitesi var ise agonistin preparat üzerindeki bilinen aktivitesi azalacak veya tamamen bloke edilecektir.

Organa ait cevapların amplitüdüleri milimetre veya gram cinsinden hesaplanır. Bulunan maksimum cevap değeri %100 kabul edilir. Maksimum değer dışında kalan diğer tüm değerler bu maksimum değer yüzdesine dönüştürülerek ifade edilir.

Konsantrasyon-cevap eğrisi bir maddenin farmakolojik aktivitesini tanımlar. Standart konsantrasyon-cevap eğrilerinde banyodaki ilaç konsantrasyonu X ekseninde, etki (maksimum cevabın yüzdesi olarak) ise Y ekseninde gösterilir. Konsantrasyon ile etki arasındaki ilişkinin grafiği çizilirken kural; konsantrasyonun logaritmasının alınmasıdır. Bunun amacı, grafiğin enini yani yatay eksenini daraltmak ve eğrinin daha büyük bir bölümünün lineer duruma gelmesini sağlamaktır.

c) Çalışmada geçen konsantrasyon-cevap eğrisine ilişkin başlıca terimler:

Maksimum konsantrasyon (E_{max}): Preparata zarar vermeksizin onun verebileceği maksimum cevabı oluşturan konsantrasyondur. Maksimum doz, artan konsantrasyonda uygulanan test maddesine maksimum cevap alındıktan sonra konsantrasyonun artırılmasına karşın doku cevabının azalmaya başladığı konsantrasyondur.

Medyan efektif konsantrasyon (EC₅₀ veya ED₅₀): Maksimum etkinin %50'sini oluşturan konsantrasyondur. Çeşitli ilaçların aktivitelerinin karşılaştırılmasında kullanılan bir parametredir. pD₂ (-logEC₅₀) olarak da gösterilebilir.

pA₂: Ortama antagonistin girmesinden sonra, aynı miktar etkiyi elde edebilmek için agonistin 2 katı dozda verilmesini gerektiren antagonist molar konsantrasyonunun negatif logaritmasıdır. Antagonistin reseptöre karşı afinitesini gösterir.

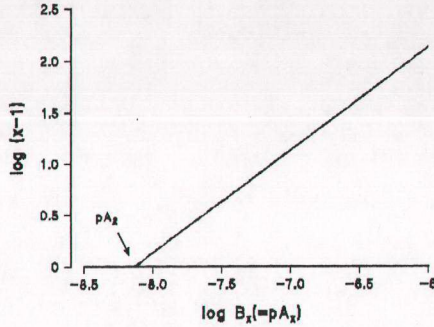
Deneysel farmakolojide pA₂'nin önemi:

* pA₂ değeri aynı tür reseptör üzerine etki yapan antagonist ilaçların gravimetrik etki gücünü gösterir.

* Bu değerler çeşitli dokularda belirli bir agoniste ait reseptörlerin aynı tipte olup olmadıklarını saptamaya yarar. Bunun için agonist ilaç, kendisinin kompetitif antagonisti olan belirli bir ilaçla çeşitli dokularda denenir. Eğer antagonistin pA₂ değeri aynı bulunursa, bu dokularda agonistin etkilediği reseptörler aynı tiptedir.

* Ayrıca bu değerler çeşitli agonistlerin belirli bir dokuda aynı tip reseptörlere etki yapıp yapmadıklarını saptamaya ve onların sınıflandırılmasına yardım eder. Bunun için belirli bir dokuda çeşitli agonistlere karşı, inceleme konusu olan reseptörü bloke eden bir kompetitif antagonist kullanılarak deney yapılır. Elde edilen sonuçlar pA₂ değerinin bütün agonistler için aynı olduğunu gösterirse, bu agonistlerin aynı reseptörlere etki yaptığı sonucuna varılır (13).

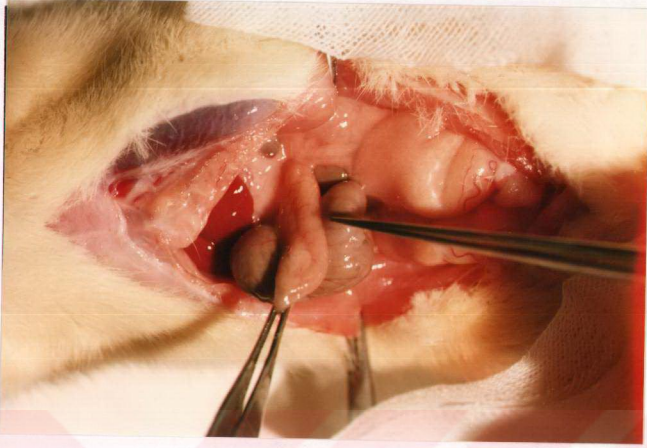
Kompetitif antagonistlerin pA₂ değerleri, deneysel verilerle Schild grafiği çizilerek bulunur. Bu grafiğin çizilmesi şöyledir: Deneysel preparata antagonist ilaç, artan konsantrasyonlarda ilave edilir ve her bir konsantrasyonda agonistin doz oranı (X) ölçülür. Bulunan değerlere göre, log(X-1) dikey ekseninde ve -log[B_x]=pA_x yatay ekseninde gösterilmek suretiyle grafik çizilir. Eğer agonist ilaç ile antagonist ilaç arasındaki ilişki kompetitif antagonizma şeklinde ise bu iki değer arasındaki ilişki lineerdir ve çizginin eğimi 1'dir (şekil 4). Bu grafikte çizginin yatay eksenini kesiş noktası pA₂ değerini verir.



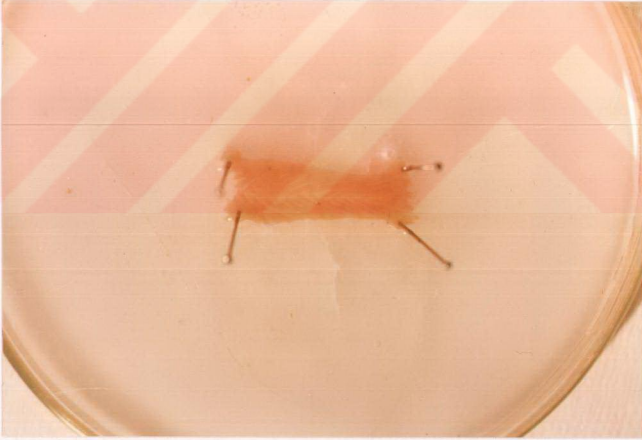
Şekil 4: Schild grafiği ve pA₂'nin çizimle bulunuşu.

C- ARAŞTIRMA YÖNTEMİ

Çalışmada, aynı laboratuvar koşullarında yetmişmiş, 180-200 gr ağırlığında, erkek Wistar sıçanları kullanıldı. Longitudinal düz kasta bulunan serotonin reseptörlerinin serotonine afinitesinin yaşa göre değiştiğinin bildirilmesi nedeniyle (25) sıçanların aynı yaşta olmasına özellikle dikkat edildi. 18 saat önceden aç bırakılan sıçanların sadece su içmesine izin verildi. Sıçanlar, düz kas motilitesini değiştirebileceğinden, herhangi bir anesteziik madde kullanılmadan, servikal dislokasyon ile öldürüldü. Batın açılarak 1.5-2 cm uzunluğunda proksimal kolon (çekumun bitiminden, kolonun en dar olan ve gaitanın şekillenmeye başladığı transvers kolona kadar olan kısım) (38) çıkarılarak Tyrode Solüsyonu (mM olarak NaCl:136.8; KCl:2.7; MgCl₂:1.1; CaCl₂:1.8; NaH₂PO₄: 0.4; NaHCO₃:11.9; Glikoz:5.6 içermektedir ve pH 7.4'tür) içeren petri kutusuna alındı (*resim 2*). Kolonik segment mezenterik hat boyunca açıldı (*resim 3*). Mukoza tabakası, solüsyon ile ıslatılmış pamuk aracılığı ile sıyrıldı. Longitudinal düz kas liflerine paralel olarak kesilip, hazırlanan kas şeritleri (1.5x0.3 cm) ; 37 derecede, %95 O₂ + %5 CO₂ ile gazlandırılmış olan Tyrode Solüsyonu içeren 20 ml'lik organ banyosuna asıldı (*resim 4*). 1 gr istirahat gerilimi uygulandıktan sonra 60 dakika dinlenmeye bırakıldı. Doku, dinlenme döneminde 15 dakika ara ile yıkandı. Dokunun verdiği cevaplar Grass 7F Poligraf'a bağlı Grass 7PT 03E force-displacement transducer aracılığı ile yazdırıldı (37).



Resim 2: Siçan proksimal kolonunun çıkartılması



Resim 3: Siçan proksimal kolonunun mezenterik hat boyunca açılmış görünümü



Resim 4: Sıçan proksimal kolon longitudinal kas şeridinin organ banyosu içinde görünümü

Dengelenme süresinden sonra desensitizasyon gelişmesini önlemek amacıyla nonkümülatif olarak uygulanan serotonin (10^{-10}M - 10^{-5}M) ile kontrol serotonin konsantrasyon-cevap eğrisi elde edildi. Nonkümülatif uygulamada, banyoya eklenen her farklı serotonin konsantrasyonu ile preparat en fazla 2 dakika temasta bırakıldı. Uygulamalar arasında en az 5 kez yıkama yapılarak, 15 dakika beklendi. Serotoninin son konsantrasyonu uygulandıktan sonra doku 60 dakika dinlenmeye bırakıldı ve bu süre içinde 15 dakika aralarla yıkandı. Daha sonra serotonin yine nonkümülatif olarak denendi. Bir dokuya en fazla iki agonist uygulandı ve agoniste karşı desensitizasyon gelişip-gelişmediği, cevapların önceki cevaplar ile uygunluğuna bakılarak kontrol edildi.

Kontrol konsantrasyon-cevap eğrisi çizilirken serotonin ile elde edilen maksimum cevaba göre % değerler hesaplandı.

Antagonistler ile yapılan çalışmalarda, doku antagonist ile 15 dakika maruz bırakıldıktan sonra agonist denendi (25). Herbir doku için sadece bir antagonist kullanıldı.

Sonuçlar ortalama \pm SH (standart hata) şeklinde gösterildi. Ortalamalar arası fark için Student'in t testi kullanıldı. $p < 0.05$ olması durumunda aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirildi.

Deneyde Kullanılan İlaçlar:

Çalışmaya başlamadan önce stok ilaç solüsyonu deiyonize distile su ile hazırlandı ve kullanılacağı gün Tyrode solüsyonu ile dilüe edildi. Kullanılan ilaçların elde edildiği kaynaklar:

5-Hydroxytryptamine creatinine sulphate (Sigma, St Louis)

Atropine sulphate (Sigma, St Louis),

Tetrodotoxin (Sigma, St Louis).

1- phenylbiguanide (Research Biochemicals Incorporated, USA)

Tropisetron (Sandoz Pharma, Basle/Switzerland, hediye)

Ketanserin tartarate (Janssen Pharmaceutica, Belgium, hediye)

Renzapride (Smith Kline Beecham Pharmaceuticals, UK, hediye),

5-Carboxamidotryptamine (Glaxo, UK, hediye),

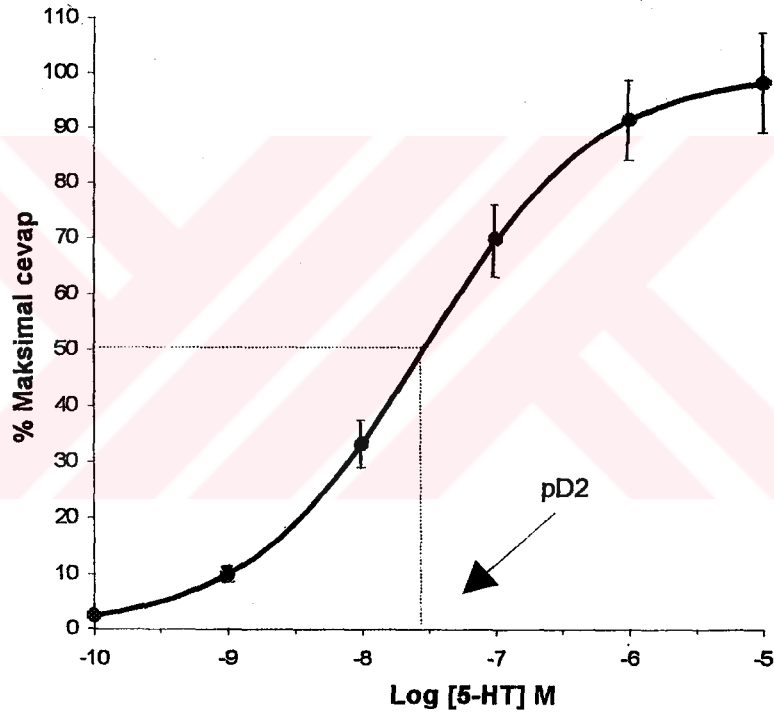
Methiothepin mesylate (Research Biochemicals Incorporated, USA, hediye)

DAU 6285 hydrochloride (Boehringer Ingelheim, Italy, hediye)

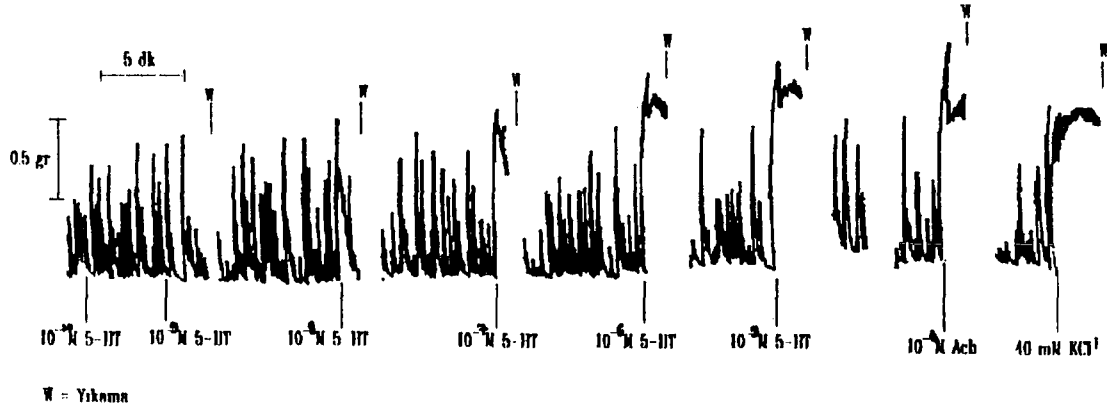
IV- BULGULAR

A. Serotonin Cevapları

Sıçan proksimal kolon longitudinal kas segmentinde serotonin (10^{-10} M- 10^{-5} M), konsantrasyona bağılı kasılma cevabı oluşturdu (şekil 5). Maksimum cevap 10^{-5} M serotonin ile elde edildi. pD_2 değeri 7.45 ± 0.20 olarak hesaplandı (n=24). Serotonin cevaplarına ait trase resim 5 'de gösterilmiştir.



Şekil 5: Artan konsantrasyonda uygulanan serotonine (10^{-10} M- 10^{-5} M) sıçan proksimal kolon longitudinal kas şeridinin cevabı. Sonuçlar serotoninin maksimum cevabının yüzdesi olarak belirtilmiştir. (●) kontrol serotonin konsantrasyon-cevap eğrisi



Resim 5: Serotonin ile elde edilmiş cevaplar

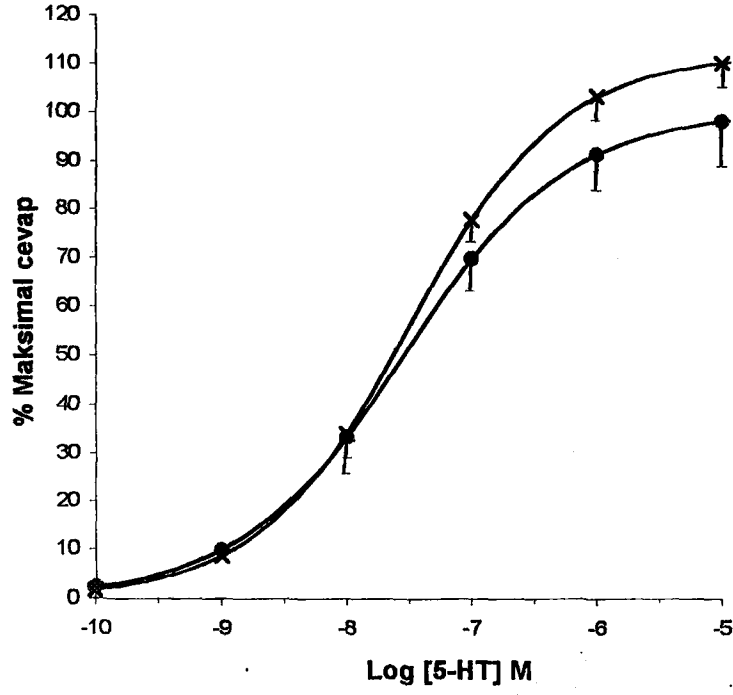
B. Serotonin Yanıtlarına Antagonistlerin Etkileri

i. Atropin sülfat:

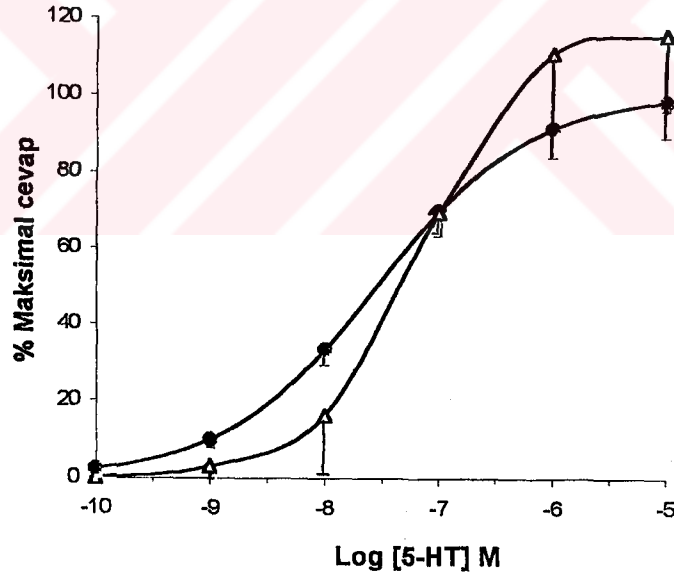
Muskarinik reseptörleri bloke eden atropin, kolinerjik nöronlar aracılığı ile bir cevabın var olup-olmadığını araştırmak amacıyla denenmiştir. Çalışmamızda $10^{-6}M$ atropin varlığında elde edilmiş olan serotonin konsantrasyon-cevap eğrisinin pD_2 ve $E_{maksimum}$ değerleri sırasıyla 7.5 ± 0.2 ve 110 ± 4.9 olarak bulundu ($n=9$). Bu konsantrasyon-cevap eğrisi ortamda atropin yokken elde edilmiş serotonin konsantrasyon-cevap eğrisinden istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklı değildir (şekil 6).

ii. Tetrodotoksin (TTX)

TTX, sodyum kanallarını bloke ederek nöronal depolarizasyonu inhibe eder. Böylece presinaptik uçtan nörotransmitter salınımını engellenir. Oluşmuş olan cevabın presinaptik uçtan salınan nörotransmitter aracılığı ile meydana gelip gelmediğini araştırmak amacıyla denenmiştir. Çalışmamızda, $10^{-6}M$ TTX varlığında varlığında elde edilen serotonin konsantrasyon-cevap eğrisinin pD_2 ve $E_{maksimum}$ değerleri 7.23 ± 0.5 ve 117.4 ± 20 olarak bulunmuştur ($n=5$). Elde edilen bu eğri ile kontrol serotonin konsantrasyon cevap eğrisi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur (şekil 7).



Şekil 6: Serotoninin proksimal longitudinal kas şeridi üzerinde oluşturduğu cevaba atropinin etkisi. (●) serotonin, (x) 10^{-6} M atropin varlığında serotonin



Şekil 7: Serotoninin proksimal longitudinal kas şeridi üzerinde oluşturduğu cevaba TTX'in etkisi. (●) serotonin, (Δ) 10^{-6} M TTX varlığında serotonin

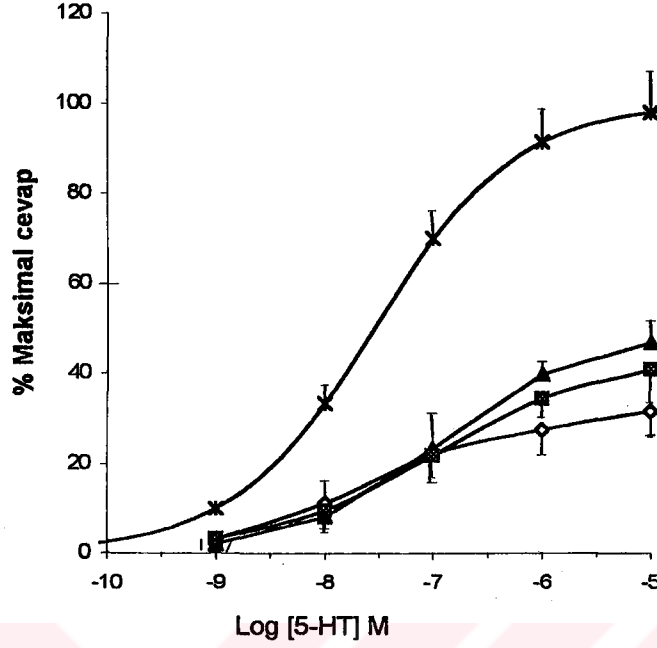
iii. Metiotepin mesilat

Serotonin 5-HT₁ ve 5-HT₂ reseptör antagonisti olan metiotepinin (10⁻⁷M, 10⁻⁸M ve 10⁻¹⁰M), serotonin konsantrasyon-cevap eğrisini non-kompetitif olarak inhibe ettiği gözlemlendi (şekil 8). 10⁻¹⁰M metiotepin varlığında elde edilen serotonin konsantrasyon-cevap eğrisinin pD₂ ve E_{maksimum} değerleri sırasıyla 6.4±0.26 ve 54.06±9.5; 10⁻⁸M metiotepin varlığında elde edilen eğrinin pD₂ ve E_{maksimum} değerleri 7.04±0.15 ve 52.15±10.5; 10⁻⁷M metiotepin varlığında elde edilen eğrinin pD₂ ve E_{maksimum} değerleri ise 7.82±0.3 ve 28.28±7.8 olarak hesaplanmıştır (n=4-6). 10⁻⁷M, 10⁻⁸M ve 10⁻¹⁰M metiotepin varlığında elde edilen bu serotonin konsantrasyon-cevap eğrileri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık yoktur. Ancak kontrol serotonin konsantrasyon cevap-eğrisi ile karşılaştırıldığında her üç eğrinin de E_{maksimum} değerleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalmıştır (p< 0.05). Ayrıca 10⁻⁸M ve 10⁻¹⁰M metiotepin varlığında elde edilmiş serotonin konsantrasyon-cevap eğrilerinin pD₂ değerleri de kontrol konsantrasyon-cevap eğrisinin pD₂ değerinden istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalmış bulunmuştur (p<0.05). Sonuçlar *tablo II* 'de toplu olarak gösterilmiştir.

Tablo II: Serotonin cevabı üzerine metiotepinin etkisi

İlaç	E _{maksimum} (%)	pD ₂
Serotonin (kontrol)	100±9.10	7.45±0.20
10 ⁻¹⁰ M Metiotepin + 5-HT	54.6±9.50*	6.40±0.26*
10 ⁻⁸ M Metiotepin + 5-HT	52.15±10.50*	7.04±0.15*
10 ⁻⁷ M Metiotepin + 5-HT	28.28±7.80*	7.82±0.30

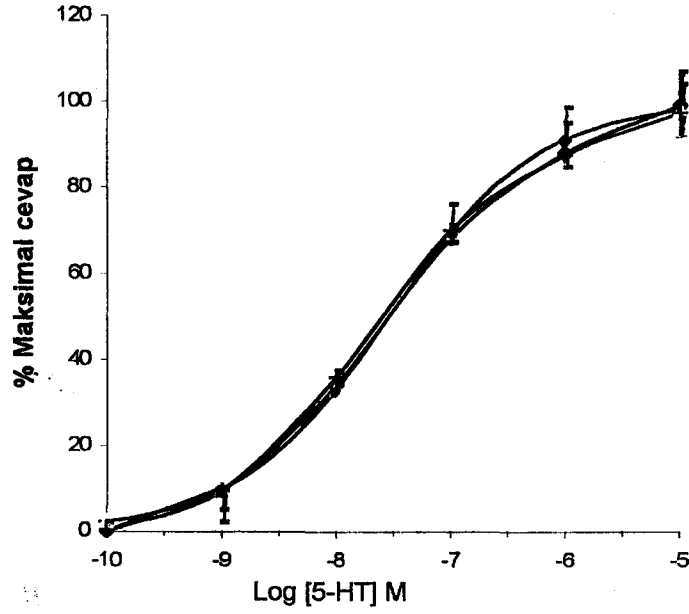
* Kontrole göre p< 0.05



Şekil 8: Serotoninin proksimal longitudinal kas şeridi üzerinde oluşturduğu cevaba metitepinin etkisi. (x) serotonin, (◇) 10^{-7} M metitepin, (■) 10^{-8} M metitepin ve (▲) 10^{-10} M metitepin varlığında serotonin

iv. Ketanserin tartarat

Serotonin $5-HT_2$ reseptör antagonisti ketanserin (10^{-6} M ve 10^{-7} M) varlığında elde edilen serotonin konsantrasyon-cevap eğrisi ile kontrol serotonin konsantrasyon-cevap eğrisi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (n=3-5). 10^{-6} M ketanserin varlığında elde edilen serotonin konsantrasyon-cevap eğrisinin pD_2 ve $E_{maksimum}$ değerleri sırasıyla 7.54 ± 0.2 ve 99.35 ± 4.1 ; 10^{-7} M ketanserin varlığında elde edilen eğrinin pD_2 ve $E_{maksimum}$ değerleri ise 7.50 ± 0.15 ve 101.3 ± 3.0 olarak hesaplanmıştır (şekil 9).



Şekil 9: Serotoninin proksimal longitudinal kas şeridi üzerinde oluşturduğu cevaba ketanserinin etkisi. (●) serotonin, (+) 10^{-6} M ketanserin ve (◆) 10^{-7} M ketanserin varlığında serotonin

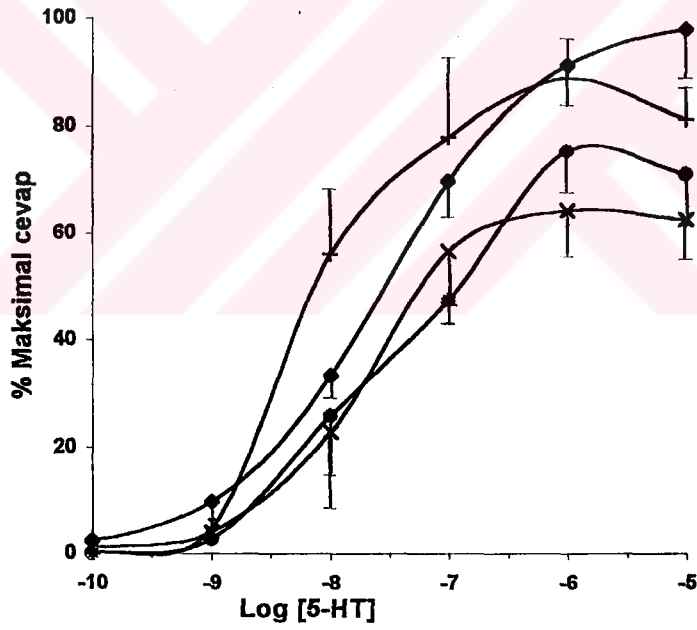
v. Tropisetron

Serotonin 5-HT_3 reseptör antagonisti tropisetronun (10^{-10}M ; 10^{-11}M ve 10^{-13}M), serotonin konsantrasyon-cevap eğrisini nonkompetitif olarak inhibe ettiği gözlemlendi (Şekil 10). 10^{-10}M tropisetron varlığında elde edilen serotonin konsantrasyon-cevap eğrisinin pD_2 ve E_{maksimum} değerleri sırasıyla 7.46 ± 0.38 ve 85.2 ± 8.3 ; 10^{-11}M tropisetron varlığında elde edilen eğrinin pD_2 ve E_{maksimum} değerleri 7.15 ± 0.19 ve 82.6 ± 9.7 ; 10^{-13}M tropisetron varlığında elde edilen eğrinin pD_2 ve E_{maksimum} değerleri ise 7.38 ± 0.38 ve 66.6 ± 11.59 olarak hesaplandı ($n=5-6$). 10^{-10}M , 10^{-11}M ve 10^{-13}M tropisetron varlığında elde edilen bu üç serotonin konsantrasyon-cevap eğrisi arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık yoktur. Ancak kontrol serotonin konsantrasyon-cevap eğrisi ile karşılaştırıldığında sadece 10^{-13}M tropisetron varlığında elde edilen serotonin konsantrasyon-cevap eğrisinin E_{maksimum} unun istatistiksel açıdan anlamlı olarak azaldığı görülmüştür ($p < 0.05$). pD_2 değerlerinde ise anlamlı farklılık bulunmamıştır (tablo III).

Tablo III: Serotonin cevabı üzerine tropisetronun etkisi

İlaç	E _{maksimum} (%)	pD ₂
Serotonin (kontrol)	100±9.10	7.45±0.20
10 ⁻¹³ M Tropisetron + 5-HT	66.6±11.59*	7.38±0.38
10 ⁻¹¹ M Tropisetron + 5-HT	82.6±9.70	7.15±0.19
10 ⁻¹⁰ M Tropisetron + 5-HT	85.2±8.37	7.46±0.38

* Kontrole göre p< 0.05

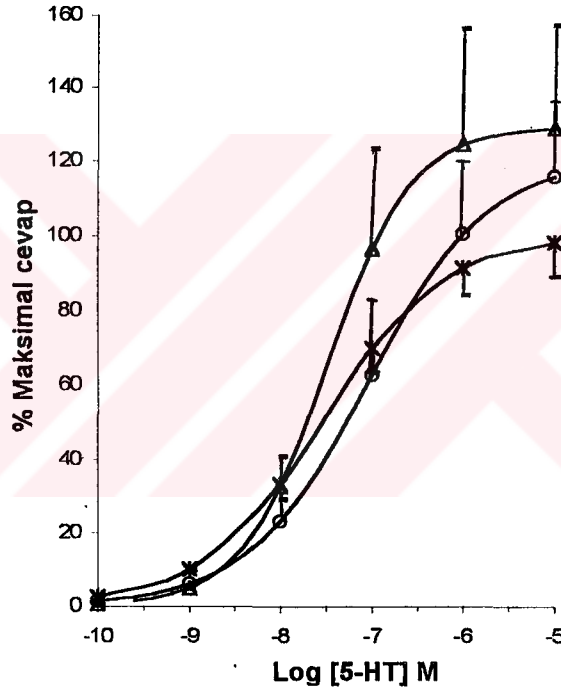


Şekil 10: Serotoninin proksimal longitudinal kas şeridi üzerinde oluşturduğu cevaba tropisetronun etkisi. (◆) serotonin, (+) 10⁻¹⁰M tropisetron, (●) 10⁻¹¹M tropisetron ve (x) 10⁻¹³M tropisetron varlığında serotonin

vi. DAU 6285 hidroklorid

Serotonin 5-HT₄ reseptör antagonisti DAU 6285 HCl (10^{-6} M ve 10^{-5} M) serotonin konsantrasyon-cevap eğrisinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadı (şekil 11).

10^{-6} M DAU 6285 HCl varlığında elde edilen serotonin konsantrasyon-cevap eğrisinin pD_2 ve $E_{maksimum}$ değerleri sırasıyla 7.05 ± 0.45 ve 115.5 ± 21.1 ; 10^{-5} M DAU 6285 HCl varlığında elde edilen eğrinin pD_2 ve $E_{maksimum}$ değerleri ise 7.5 ± 0.28 ve 128.4 ± 29.2 olarak bulunmuştur (n=5).

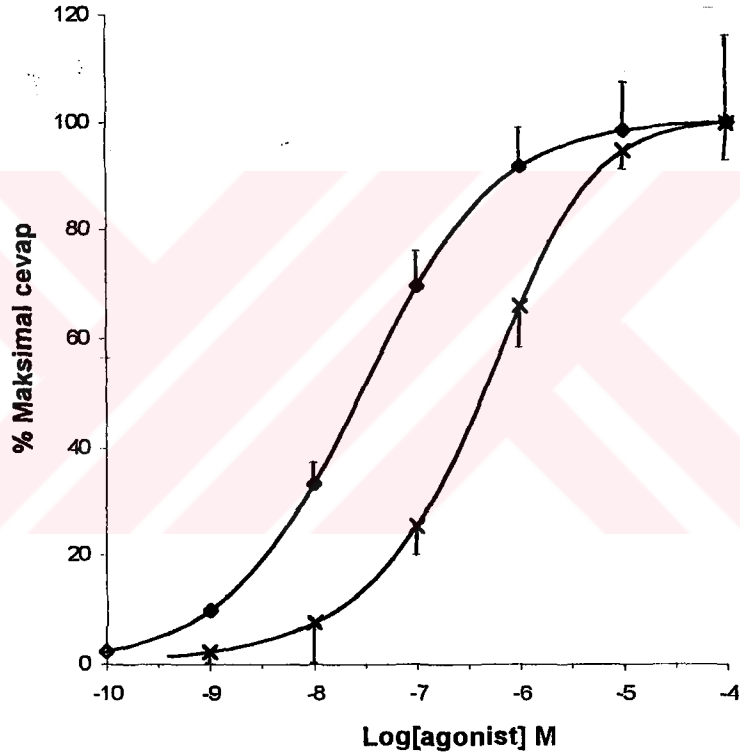


Şekil 11: Serotoninin proksimal longitudinal kas şeridi üzerinde oluşturduğu cevaba DAU 6285 HCl'nin etkisi. (*) serotonin, (o) 10^{-6} M DAU 6285 HCl ve (Δ) 10^{-5} M DAU 6285 HCl varlığında serotonin

C. Serotonin Agonistlerine Yanıtlar

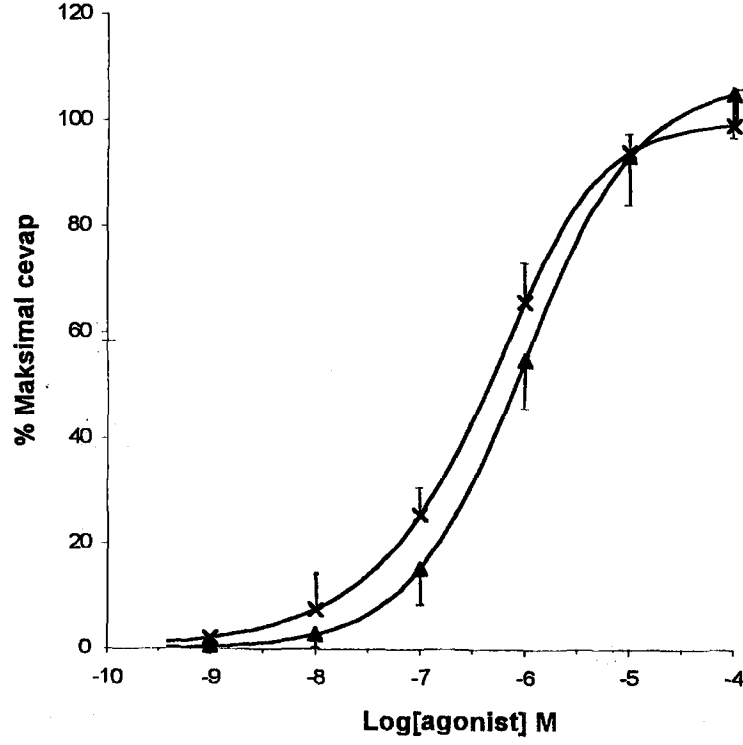
i. 5-Karboksamidotriptamin (5-CT)

5-HT₁ reseptör agonisti 5-CT (10^{-10} M- 10^{-4} M) uygulanan konsantrasyona bağımlı kasılma cevabı oluşturdu (şekil 12). Hesaplanan pD_2 5.93 ± 0.27 'dir. Bu değer kontrol serotonin konsantrasyon-cevap eğrisi değeri ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalmış bulundu. Grafikte de görüldüğü gibi 5-CT'nin etki gücü serotoninin etki gücünden yaklaşık olarak 100 kat düşük, efikasitesi ise serotonine eşittir.



Şekil 12: Sıçan proksimal kolon kas şeritlerine 5-CT'nin etkisi (♦) serotonin, (x) 5-CT

10^{-6} M atropin varlığında 5-CT konsantrasyon-cevap eğrisinde anlamlı bir değişiklik meydana gelmedi (şekil 13). Elde edilen eğriye ait pD_2 ve $E_{maksimum}$ değerleri sırasıyla 6.02 ± 0.26 ve 107.6 ± 8.5 olarak bulundu ve bu değerler ile kontrol 5-CT eğrisinin değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık yoktur ($n=5$).



Şekil 13: Atropinin 5-CT üzerine etkisi (x) 5-CT, (▲) 10⁻⁶M atropin varlığında 5-CT

ii. 1-Fenilbiguanid

Serotonin 5-HT₃ reseptör agonisti fenilbiguanid (10⁻¹³-10⁻⁵M) ile kasıcı bir cevap elde edilmedi (n=3).

iii. Renzaprid

Serotonin 5-HT₄ reseptör agonisti renzaprid (10⁻¹³-10⁻⁵M) ile de kasıcı bir cevap elde edilmedi (n=4).

V- TARTIŞMA

Gastrointestinal düz kas kontraktilesinde serotoninin rolü henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bunda, gerek aynı gerekse değişik türlerde, gastrointestinal kanalın farklı alanlarında ve hatta aynı bireyde zaman içerisinde serotoninin oldukça belirgin etki farklılıkları göstermesi rol oynamaktadır (12,39). Buna rağmen serotoninin gastrointestinal motiliteyi düzenlediği, absorpsiyon ve sekretuar aktivite üzerinde etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır (40,41).

Yaptığımız bu çalışmada, serotonin ile konsantrasyona bağlı kasılma cevabı elde edildi. Farklı araştırmacılar tarafından kobay ileumu (24,25,42,43) ve kobay distal kolonu (44) ile yapılan çalışmalarda da serotonin konsantrasyona bağımlı kasıcı cevap oluşturmuştur. Elde edilen serotonin konsantrasyon-cevap eğrisinin pD_2 değeri 7.45 ± 0.20 olarak bulundu. Bu sonuç; NG ve arkadaşlarının (1991), tavşan proksimal ve distal kolon sirküler kas segmentinde (8); Elswood ve arkadaşlarının (1991) ise kobay proksimal kolonunda yaptıkları çalışmaların sonuçları ile uyumludur (45).

Yaptığımız çalışmada atropin ve TTX'in, serotonin ile elde edilmiş olan konsantrasyon-cevap eğrisinde değişiklik yapmaması, presinaptik uçtan asetilkolin veya farklı bir nörotransmitter salınımının serotoninine ait kasıcı cevapta rol oynamadığını göstermektedir. Tam ve arkadaşlarının (1994), insan izole kolonik kas segmentleri ile yaptıkları çalışmada, çalışmamızda elde edilen sonuçlara benzer şekilde TTX'in serotonin konsantrasyon-cevap eğrisinde çok az bir sağa kaymaya neden olduğu ve maksimumunu değiştirmedeği gösterilmiştir (46).

Kobay ileumu (24,25,42,43,47), kobay proksimal kolonu (45) ve tavşan kolonu (8) ile yapılmış olan çalışmalarda, deneyimizde elde edilen sonuçların aksine, atropin ve TTX ile serotoninine ait kasıcı cevabın ya tamamen ortadan kalktığı ya da önemli derecede inhibe olduğu gösterilmiştir.

Kadowaki ve arkadaşları (1993) ile Kishibayashi ve arkadaşlarının (1993) in vivo sıçan kolonu ile yaptıkları çalışmalarda, serotoninin kolonun itici hareketlerini, dolayısıyla defekasyonu arttırdığı gösterilmiş (41,48). Başka bir çalışmada ise, sıçanlarda ileo-kolonik geçişi arttırmış fakat bu dozda kolonik geçişi ve ileal sıvı transportunu etkilemediği gösterilmiştir (49). Serotoninin, gerek kolonun itici hareketleri gerekse ileo-kolonik geçiş üzerine olan etkisi atropin ile anlamlı şekilde inhibe edilmiştir (41,48,49). Bu da serotoninin etkisinde kolinerjik nöronların rol oynadığını göstermektedir ve sonuçlarımız ile çelişmektedir. Ancak bu çelişki in vivo ve in vitro çalışma farkına bağlanabilir (13).

Serotonin 5-HT₁ reseptör agonisti olan 5-karboksamidotriptamin ile elde etmiş olduğumuz kasıcı cevap, sıçan proksimal kolonunda serotoninin oluşturduğu kasıcı cevapta 5-HT₁ reseptörlerinin rol oynadığını göstermektedir. 5-HT₁ ve 5-HT₂ reseptör antagonisti olan metiotepin ile serotonin konsantrasyon-cevap eğrisinin nonkompetitif inhibisyonu, ancak 5-HT₂ reseptör antagonisti olan ketanserin ile serotonin konsantrasyon-cevap eğrisinde herhangi bir değişiklik oluşmaması metiotepinin etkisini sadece 5-HT₁ reseptörlerini bloke ederek oluşturduğunu ve cevapta serotonin 5-HT₂ reseptörlerinin rolü olmadığını düşündürmektedir.

Tavşan proksimal ve distal kolon sirküler kas preparatları ile yapılan çalışmalarda da serotonin ile elde edilen kontraktıl yanıtın hem enterik nöronlardaki hem de kolonik düz kaslardaki 5-HT_{1benzeri} reseptörler aracılığı ile meydana geldiği gösterilmiştir (8).

Atropin, ketanserin, guanetidin varlığında (50) ve ketanserin, ondansetron (51) varlığında, izole kobay proksimal kolonu ile yapılan çalışmalarda da, serotoninin 5-HT_{1benzeri} reseptörler aracılığı ile gevşeme cevabı oluşturduğu ve bu inhibitör cevabın TTX ile inhibe edildiği gösterilmiştir. Çalışmamızda, önceden asetilkolin ile kasılmış doku üzerine 5-karboksamidotriptamin denendiğinde gevşeme cevabı elde edilmediği için sıçan proksimal kolonunda gerek nöronal gerekse dokuda yerleşmiş 5-HT₁ reseptörlerinin inhibitör etkiye aracılık etmediklerini düşündürmektedir.

Tropisetronun düşük konsantrasyonlarda (nanomolar) serotonin 5-HT₃ reseptörlerini, yüksek konsantrasyonlarda (mikromolar) serotonin 5-HT₄ reseptörlerini antagonize ettiği bildirilmiştir.

Çalışmamızda da buna paralel olarak, tropisetron konsantrasyonu azaldıkça serotonin konsantrasyon cevap eğrisinin maksimumunu düşürücü etkisi arttı. Bu sonuç, sıçan proksimal kolonunda da kobay ileumunda olduğu gibi (24,25,42,43) serotoninin yüksek konsantrasyonlarda oluşturduğu etkide 5-HT₃ reseptörlerinin rolü olabileceğini gösterdi. Ancak kobay ileumunda cevabın önemli bir kısmından nöronal yerleşimli serotonin 5-HT₃ reseptörlerinin sorumlu olduğu kabul edilirken, çalışmamızda serotonin ile elde edilen cevabın TTX ile inhibe olmaması nedeniyle sıçan proksimal kolonunda cevaba düz kas dokusundayerleşmiş 5-HT₃ reseptörlerinin aracılık ettiğini düşündürmektedir. 5-HT₃ reseptör agonisti fenilbiguanid denediğimizde kasıcı veya oluşmuş olan serotonin cevabını inhibe edici etki elde edilmemiştir. Benzer sonucun sıçan özofagusu ile yapılan çalışmada (39) bulunması ve bazı kobay dokularında da fenilbiguanidin 5-HT₃ reseptörlerine afinitesinin olmadığı bildirilmesi (44,52) bize sıçan gastrointestinal sisteminde serotonin 5-HT₃ reseptörlerine fenilbiguanidin afinitesinin olmayabileceğini yada 5-HT₃ reseptörlerinin subtiplerinin bulunabileceğini düşündürmektedir.

Serotonin 5-HT₄ reseptörlerinin identifikasyonu için izole kobay proksimal ve distal kolonu ile yapılan çalışmalarda ise 5-HT₁, 5-HT₂ ve 5-HT₃ reseptör antagonistleri varlığında serotonin doza bağımlı kasıcı cevap oluşturmuştur (35,45). Çalışmamızın sonuçları, izole sıçan proksimal kolonunda serotoninin kasıcı etkisine 5-HT₄ reseptörlerinin rolü olmadığını düşündürmektedir.

İzole insan kolon sirküler kas preparatları ile yapılan çalışmalarda ise serotonin ile spontan kontraksiyonların inhibe olduğu görülmüş ve bunda 5-HT₄ benzeri reseptörlerin aracılık edebileceği öne sürülmüştür (46).

Sonuç olarak; serotoninin sıçan proksimal kolonunda oluşturduğu kasıcı cevabın döz kasta yerleşmiş 5-HT₁ ve 5-HT₃ reseptörleri aracılığı ile meydana geldiği ve bu cevapta nöronal iletimin rolü olmadığı düşünölmektedir.



VI- SONUÇ

Serotonin, sıçan proksimal kolonunda konsantrasyona bağımlı kasıcı cevap oluşturmuştur. TTX ve atropin varlığında serotonine ait bu cevabın değişmemesi, presinaptik uçtan asetilkolin veya farklı bir nörotransmitter salınımının rolü olmadığını göstermektedir. Serotonin oluşturduğu kasıcı cevap 5-HT₂ reseptör antagonisti ketanserin ve 5-HT₄ reseptör antagonisti DAU 6285 HCl ile değişmezken; 5-HT₁ reseptör antagonisti metiotepin ve 5-HT₃ reseptör antagonisti tropisetron ile inhibe edilmesi bu cevabın 5-HT₁ ve 5-HT₃ reseptörleri aracılığı ile meydana geldiğini düşündürmektedir. 5-HT₁ reseptör agonisti 5-karboksamidotriptamin ile kasıcı cevap elde edilmesi cevapta 5-HT₁ reseptörlerinin rolünü desteklerken, 5-HT₃ reseptör agonisti fenilbiguanid ile herhangi bir cevabın elde edilememesi ise sıçan kolonundaki reseptörlerin fenilbiguanide duyarsız olabileceği ya da 5-HT₃ reseptörlerinin subtipleri bulunabileceği düşüncesini ortaya çıkarır.

VII- ÖZET

Serotonin; kolonik motilitede rol oynayan nörotransmitterlerden biridir ve gastrointestinal kanal üzerindeki etkileri oldukça karmaşıktır. Etkilerine aracılık eden dört tip reseptörünün (5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄) ve multipl subgruplarının varlığı günümüzde kabul edilen görüştür (3,4).

Serotoninin kolondaki karmaşık olan etkilerine açıklık getirebilmek amacıyla planlanan bu çalışmada; izole sıçan proksimal kolonu üzerine serotoninin etkisi ve bu etkiye aracılık eden reseptör tipleri araştırıldı.

Çalışmada, aynı laboratuvar koşullarında yetişmiş, 180-200 gr ağırlığında, erkek Wistar sıçanları kullanıldı. 18 saat önceden aç bırakılan sıçanlar, servikal dislokasyon ile öldürüldü. Batın açıldıktan sonra çıkarılan proksimal kolon, Tyrode Solüsyonu içeren petr kutusuna alındı; mezenterik hat boyunca açılarak, mukoza tabakası sıyrıldı. Longitudinal düz kas liflerine paralel olarak kesilip, hazırlanan kas şeritleri (1.5x0.3 cm) ; 37 derecede, %95 O₂ + %5 CO₂ ile gazlandırılmış olan Tyrode Solüsyonu içeren 20 ml'lik organ banyosuna asıldı . 1 gr istirahat gerilimi uygulandıktan sonra 60 dakika dinlenmeye bırakıldı. Dokunun verdiği cevaplar Grass 7F Poligraf'a bağlı Grass 7PT 03E force-displacement transduser aracılığı ile yazdırıldı.

Sonuç olarak; sıçan proksimal kolonunda serotoninin oluşturduğu kasıcı cevabın TTX ve atropin varlığında değişmemesi, serotoninin düz kasta bulunan reseptörleri aracılığı ile etki meydana getirdiğini göstermektedir. 5-HT₁ reseptör antagonisti metiotepin ve 5-HT₃ reseptör antagonisti tropisetron ile serotonine ait cevap inhibe olurken, 5-HT₂ antagonisti ketanserin ve 5-HT₄ antagonisti DAU 6285 HCl varlığında değişmedi. 5-HT₁ reseptör agonisti 5-CT kasıcı cevap oluşturdu, 5-HT₃ reseptör agonisti fenilbiguanid ise herhangi bir etki oluşturmadı. Bu sonuçlar cevabın 5-HT₁ ve 5-HT₃ reseptörleri aracılığı ile meydana geldiğini ve sıçan kolonundaki reseptörlerin

fenilbiguanide duyarsız olabileceği ya da 5-HT₃ reseptörlerinin subtipleri bulunabileceği düşüncesini ortaya çıkarmaktadır.



VIII- KAYNAKLAR

1. Prof.Dr.S.Oğuz Kayaalp: Serotonin ve Serotonin Agonist ve Antagonistleri. In: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Cilt 3, 6. baskı, 2941-2955, 1993 ANKARA
2. H.S. Ormsbee, J.D. Fondacaro: Action of Serotonin on the gastrointestinal tract. P S E B M 178:333-338, 1985
3. D. Hoyer, D.E.Clarke, J.R.Fozard, P.R.Hartig, G.R.Martin, E.J.Mylecharane, P.R.Saxena, P.P.Humprey: VII. International Union of Pharmacology Classification of Receptors for 5-Hydroxytryptamine (Serotonin). Pharmacological Reviews 46(2):157-203, 1994
4. P.P.Humprey, P.Hartig, D.Hoyer: A proposed new nomenclature for 5-HT receptors. TİPS 14:233-236, 1993.
5. Griffith S, Burnstock G: Serotonergic neurons in human fetal intestine: An immunohistochemical study. Gastroenterology 85:929-937, 1983
6. T. Scratcherd, D. Grundy, P.I. Collman: Evidence for a non-cholinergic excitatory innervation in the control of colonic motility. Arch Int Pharmacodyn 280:164-175, 1986
7. H. Abrahamsson: Non-adrenergic non-cholinergic nervous control of gastrointestinal motility patterns. Arch Int Pharmacodyn 280:50-61, 1986
8. NG. W.W, Jing J, Hyman P.E, Snape J.W: Effect of 5-Hydroxytryptamine and Its Antagonist on Colonic Smooth Muscle of the Rabbit. Digestive Diseases and Sciences 36:168-173, 1991
9. M.D. Gershon: Serotonin: Its role and receptors in enteric neurotransmission. In: R.Schwarcz: Kynurenine and Serotonin Pathways, New York, Plenum Press, 221-230, 1991
10. M.J. Ramirez, E. Cenarruzabeitia, J. Del Rio, B. Lasheras: Involvement of neurokinins in the non-cholinergic response to activation of 5-HT₃ and 5-HT₄ receptors in guinea-pig ileum. Br J Pharmacol 111:419-424, 1994

11. Yuan S.Y, Bornstein J.C, Furness J.B: Investigation of the role of 5-HT₃ and 5-HT₄ receptors in ascending and descending reflexes to the circular muscle of guinea-pig small intestine. *Br.J.Pharmacol.* 112:1095-1100,1994
12. Costall B, Naylor R.J: 5-Hydroxytryptamine: New Receptors and Novel Drugs for Gastrointestinal Motor Disorders. *Scand J Gastroenterol* 25: 769-787, 1990
13. Prof.Dr.S.Oğuz Kayaalp: Genel Farmakoloji. In: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Cilt 1, 7. baskı, 1-303, 1994 ANKARA
14. Prof.Dr.S.Oğuz Kayaalp: Otonom Sinir Sistemi ve İlaçları. In: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Cilt 3, 6. baskı, 2193-2441, 1993 ANKARA
15. A.P.D.W. Ford, G.S. Baxter, R.M. Eglen, D.E. Clarke: 5-Hydroxytryptamine stimulates cyclic AMP formation in the tunica muscularis mucosae of the rat oesophagus via 5-HT₄ receptors. *Eur J Pharmacol* 211:117-120, 1992
16. Garrison J.C: Histamine, Bradykinin, 5-Hydroxytryptamine, and their Antagonist. In: Gillman A.G, Rall T.W, Nies A.S: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, USA, Pergamon Press Inc, 8th edition, 592-596, 1990
17. Zifa E, Fillion G: 5-Hydroxytryptamine Receptors. *Pharmacological Reviews* 44(3):401-440, 1992
18. K. Gronstad, A. Dahlstrom, L. Florence, M.J. Zinner, J. Ahlman, B.M. Jaffe: Regulatory mechanisms in endoluminal release of serotonin and substance P from feline jejunum. *Digestive Diseases and Sciences* 32(4):393-400, 1987
19. Burkhalter A, Frick O.L: Histamine, Serotonin, and the Ergot Alkaloids. In: *Katzung B: Basic and Clinical Pharmacology*, USA, Prentice-Hall International Inc, 208-211, 1989
20. Meyers F, Jawetz E, Goldfien A: Histamine, Antihistamine, Serotonin. In: *Review of Medical Pharmacology*, USA, Lange Medical Publications, 4th edition, 177-191, 1974
21. Feniuk W: An analysis of 5-Hydroxytryptamine Receptors mediating contraction of isolated smooth muscle. *Neuropharmacology* 23(12B):1467-1472, 1984
22. Bradley P.B, Engel G, Feniuk W: Proposals for the classification and nomenclature of functional receptors for 5-Hydroxytryptamine. *Neuropharmacology* 25(6):563-576, 1986

23. Humphrey A.P.P: Peripheral 5-Hydroxytryptamine Receptors and their classification. *Neuropharmacology* 23(12B):1503-1510, 1984
24. Kilbinger H, Pfeuffer I.F: Two types of receptors for 5-Hydroxytryptamine on the cholinergic nerves of the guinea-pig myenteric plexus. *Br.J.Pharmac.* 85:529-539, 1985
25. Buchheit K.H, Engel G, Mutschler E: Study of the contractile effect of 5-hydroxytryptamine (5-HT) in the isolated longitudinal muscle strip from guinea-pig ileum. *Nauyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 329:36-41, 1985
26. J.J. Galligan, A. Surprenant, M. Tonini, R.A. North: Differential localization of 5-HT₁ receptors on myenteric and submucosal neurons. *Am J Physiol* 255:G603-G611, 1988
27. P.R. Saxena, C.M. Villalon: Cardiovascular effects of serotonin agonists and antagonists. *J Cardiovasc Pharmacol* 15:S17-S34, 1990
28. S.W. Watts, M.L. Cohen: Further evidence that the guinea pig tracheal contractile serotonergic receptor is a 5-hydroxytryptamine₂ receptor: Use of 5-methyltryptamine and dipropyl-5-carboxamidotryptamine. *J Pharmacol Exp Ther* 264(1):271-275, 1993
29. M.L.Cohen, L.A.Fludzinski: Contractile Serotonergic Receptor in Rat Stomach Fundus. *J Pharmacol Exp Ther* 243(1):264-269, 1987
30. S. Champaneria, B. Costall, R.J. Naylor, D.W.Robertson: Identification and distribution of 5-HT₃ recognition sites in the rat gastrointestinal tract. *Br J Pharmacol* 106:693-696, 1992
31. K. Taniyama, S. Nakayama, K. Takeda, S. Matsuyama, J. Shirakawa, I. Sano, C. Tanaka: Cisapride stimulates motility of the intestine via the 5-hydroxytryptamine receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 258(3):1098-1104, 1991
32. N. Yoshida, A. Mizumoto, Y. Iwanaga, Z. Itoh: Effects of 5-hydroxytryptamine₃ receptor antagonists on gastrointestinal motor activity in conscious dogs. *J Pharmacol Exp Ther* 256:272-278, 1991
33. G.S. Baxter, D.E. Clarke: Benzimidazolone derivatives act as 5-HT₄ receptor ligands in rat oesophagus. *Eur J Pharmacol* 212: 225-229, 1992

34. A. Schiavone, E. Giraldo, L. Giudici, M. Turconi, A. Sagrada: DAU 6285: A Novel antagonist at the putative 5-HT₄ receptor. *Life Sciences* 51:583-592, 1992
35. Wardle K.A, Ellis E.S, Baxter G.S, Kennett G.A, Gaster L.M, Sanger G.J: The effects of SB 204070, a highly potent and selective 5-HT₄ receptor antagonist, on guinea-pig distal colon. *Br J Pharmacol* 112:789-794, 1994
36. Üstünes L: İzole Kobay İleumu Preparatı. Türk Farmakoloji Derneği Eğitim Sempozyumları Dizisi. 1. Düz Käs Preparatları. Türk Farmakoloji Derneği Yayınları 65-117,1993, ANKARA.
37. W.L.M. Perry: Experiments with intestinal smooth muscle. In: *Pharmacological Experiments on Isolated Preparations*, Edinburg and London, Livingstone,58-86, 1968
38. N. Suthamnatpong, F. Hata, A. Kanada, T. Takenuchi, O. Yagasaki: Mediators of nonadrenergic inhibition in the proximal, middle and distal regions of rat colon. *Br J Pharmacol* 108:348-355, 1993
39. S.E. Ohia, Y.D. Cheung, D. Bieger, C.R. Triggle: Pharmacological profile of the 5-hydroxytryptamine receptor that mediates relaxation of rat oesophageal smooth muscle. *Gen Pharmac* 23(4):649-658, 1992
40. Talley N.J: Review article: 5-hydroxytryptamine agonists and antagonist in the modulation of gastrointestinal motility and sensation: clinical applications. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 6:273-289,1992
41. Kadowaki M, Nagakura Y, Tomoi M, Mori J, Kohsaka M: Effect of FK1052, a potent 5-hydroxytryptamine₃ and 5-hydroxytryptamine₄ receptor dual antagonist, on colonic function in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 266(1):74-79, 1993
42. R.M. Eglen, S.R. Swank, L.K.M. Walsh: Characterization of 5-HT₃ and 'atypical' 5-HT receptors mediating guinea-pig ileal contractions in vitro. *Br J Pharmacol* 101:513-520, 1990
43. G.J.Sanger, D.R.Nelson: Selective and functional 5-Hydroxytryptamine₃ receptor antagonism by BRL 43694 (granisetron). *Eur J Pharmacol* 159:113-124, 1989

44. Butler A, Elswood C.J, Burridge J, Ireland S.J, Bunce K.T, Kilpatrick G.J, Tyers M.B: The pharmacological characterisation of 5-HT₃ receptors in three isolated preparations derived from guinea-pig tissues. *Br J Pharmacol* 101:591-598, 1990
45. Elswood C.J, Bunce K.T, Humprey P.A: Identification of putative 5-HT₄ receptors in guinea-pig ascending colon. *Eur J Pharmacol* 196:149-155, 1991
46. Tam F, Hillier K, Bunce K.T: Characterization of the 5-Hydroxytryptamine receptor type involved in inhibition of spontaneous activity of human isolated colonic circular muscle. *Br J Pharmacol* 113:143-150, 1994
47. Craig D.A, Clarke D.E: Pharmacological Characterization of a Neuronal Receptor for 5-Hydroxytryptamine in Guinea Pig ileum with Properties Similar to the 5-Hydroxytryptamine₄ Receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 252:1378-1386, 1990
48. Kishibayashi N, Miwa Y, Hayashi H, Ishii A, Ichikawa S, Nonaka H, Okoyama T, Suzuki F: 5-HT₃ receptor antagonists. 3. Quinoline derivatives which may be effective in therapy of irritable bowel syndrome. *J Med Chem* 36:3286-3292, 1993
49. Oosterbosch L, von der Ohe M, Valdovinos MA, Kost LJ, Phillips SF, Camilleri M: Effects of serotonin on rat ileocolonic transit and fluid transfer in vivo: possible mechanisms of action. *Gut* 34:794-798, 1993
50. Kojima S : Characterization of 5-HT-Induced Relaxations of Guinea-Pig Proximal Colon. *Arch int Pharmacodyn* 313: 23-32, 1991
51. Elswood C.J, Bunce K.T: Investigation of the 5-HT receptor mediating relaxation in guinea-pig proximal colon. *J Pharm Pharmacol* 44:264-266, 1992
52. Newberry N.R, Cheshire S.H, Gilbert M.J: Evidence that the 5-HT₃ receptors of the rat and guinea-pig superior cervical ganglion may be different. *Br J Pharmacol* 102:615-620, 1991

T.C. YÜREKLERİN KURUMU
DOĞU ANKARA