

T.C.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

P₂ PURİNERJİK RESEPTÖR ANTAGONİSTİ SURAMİN'İN

İZOLE SIÇAN UTERUSUNA ETKİSİ

SELMA ALAKUŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman: Doç.Dr.Yüksel KESİM

TEZ
YÜK LİS
A317p
1993

Samsun

Mart-1993

T.C.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Bu çalışma jürimiz tarafından Farmakoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan :

Üye :

Üye :

ONAY

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim Üyelerine ait olduğunu onaylarım. / / 1993

Prof.Dr.Cafer MARANGOZ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarımın planlanması ve yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen değerli hocam ve danışmanım Doç. Dr. Yüksel KESİM başta olmak üzere fikir ve yardımlarıyla bana destek olan Prof. Dr. Süleyman ÇELİK'e çalışmalarımda yardımlarını gördüğüm Araş. Gör. Mehmet KURT'a ve tezin Bilgisayarda yazılmasında emeği geçen Sevil DÜNDAR'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	4
MATERYAL VE METOD	21
BULGULAR	27
TARTIŞMA	33
TÜRKÇE ÖZET	38
İNGİLİZCE ÖZET	39
KAYNAKLAR	40

GİRİŞ

Purinerjik sinir sisteminin varlığı 1970'li yıllara kadar yapılan çalışmalar sonucu ortaya atılmış olup bu sinirlerin ucundan salgılanan ana transmitterlerin purin nükleotidler olduğu anlaşılmıştır. Bunlar adenozin ve adenozin trifosfat (ATP)'tir (Burnstock,1971; Burnstock, 1972).

Purinerjik sinirlerin yalnız memelilerde değil, kuşlar, sürüngenler, balıklar ve omurgalıların gastrointestinal traktuslarında da varlığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Burnstock,1975).Yapılan çalışmalarda mesanede purinerjik eksitator sinir (Kasakov ve ark. 1983; Moss ve ark. 1985; Katsuragi ve ark. 1986; Fujii, 1988) varken, tenya kolide purinerjik inhibitör sinir olduğu iddia edilmektedir (Hoyle ve ark. 1989).

1978'de Burnstock purinerjik reseptörleri birçok kriterre dayanarak P_1 ve P_2 olmak üzere iki alt gruba ayırmıştır. Daha sonra P_1 purinoreseptörlerin de homojen olmadığı anlaşılmış ve bu reseptörler 1979'da Van Calker ve ark.tarafından A_1 ve A_2 ; Londos ve ark. (1980) tarafından R_1 ve R_2 alt tiplerine ayrılmışlardır. P_2 purinerjik reseptörleri Burnstock ve Kennedy (1985) bir çok dokuda göstermişler ve onları P_{2x} ve P_{2y} olmak üzere iki alt gruba ayırmışlardır.Liu ve ark. (1989) P_2 reseptörlerin dağılımının tür ve çeşitli damar yataklarına göre farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar in vitro pulmoner arter preparatlarında her iki tip purinerjik reseptörün varlığını göstermişlerdir. P_1

purinoreseptörler adenozeine duyarlıdır. Presinaptik reseptörlerdir. P_2 purinerjik reseptörler postsinaptik membranda olup ATP'ye duyarlı olduğu ve ATP'nin postsinaptik etkilerinden sorumlu olduğu, P_{2x} alt tipinin aktivasyonunda düz kaslarda kontrak-siyon P_{2y} alt tipinin aktivasyonunda ise relaksasyon meydana geldiği açıklanmıştır (Burnstock,1981). Burnstock ve Kennedy (1985) çalışmalarında kobay mesanesinde P_{2x} reseptörlerinin kontraksiyona, kobay tenya kolisinde P_{2y} reseptörlerinin relaksasyona aracılık ettiğini göstermişlerdir. Bir başka çalışmada mesanede P_{2x} , barsaklarda P_{2y} reseptörlerinin olduğu bildirilmiştir (Cusack,Hourani,Loizou, Welford,1987). izole tavşan mezenterik arterlerinde de P_{2x} purinoreseptörlerin kontraksiyon, P_{2y} purinoreseptörlerin relaksasyon meydana getirdiğini gösteren çalışmalar yapılmıştır (Burnstock ve ark. 1987). Benzer çalışmalar başka dokularda da yapılmıştır. Kobay vas deferensi, sıçan mesanesi, perfüze pankreas damar yatağı, sıçan aorta ve femoral arteri, tavşan kulak arterlerinde P_2 purinoreseptörlerin P_{2x} alt tipi kontraksiyona aracılık ederken, tavşan portal veni, kobay ve sıçan aortası, sıçan femoral arterinde, kobay tenya kolisinde P_2 purinoreseptörlerin P_{2y} alt tipleri relaksasyona aracılık etmişlerdir (Burnstock, Warland, 1987). Bailey ve ark. (1989) yaptıkları çalışmada sıçan kolonunda P_{2x} reseptörlerinin bulunduğunu ve bunun da relaksasyona aracılık ettiğini göstermişlerdir.

P_1 purinoreseptörlerin aktivasyonu ile oluşan cevapların metilksantinlerden teofilin ve onun etilen diamin türevi aminofilin tarafından antagonize edildiği insan ve kobay

atriyumunda gösterilmiştir (Şadan, Aynacıoğlu, 1991). P_2 purinerjik reseptörlerin oluşturdukları cevaplar ise kinidin, apamin, arilazida-aminopropionil - ATP (ANAPP₃) maddesi reaktif blue 2 (RB₂), suramin tarafından bloke edilirler (Dunn ve ark. 1988). Perfüze sıçan kalbi (Hopwood ve ark. 1987) ve sıçan çekumunda (Manzını ve ark.1986) yapılan çalışmalarda reaktif blue 2 (RB₂)'nin selektif P_{2x} antagonisti olduğu belirlenmiştir. Arilazida-aminopropronil-ATP (ANAPP₃) (Hegabaan ve ark. 1980) ve suramin P_{2x} reseptör antagonistidir. Suramin ATP'azın inhibitörüdür (Hoyle ve ark. 1990). Suramin'in P_{2x} reseptörleri antagonize ettiği 1988'de Dunn ve Blakeley tarafından kobay vaz deferensinde gösterilmiştir. Ayrıca suramin'in P_{2x} reseptörlerinin de antagonisti olduğu 1989 da Den Hertog ve ark. tarafından kobay tenya kolisinde gösterilmiştir.

Sonuç olarak şimdiye kadar yapılan çalışmalarda çeşitli hayvan dokularında purinerjik reseptör agonistleri cevaplarına suramin'in antagonistik etkisi gösterilmiştir. Diğer dokulara göre uterusu, purinerjik sistem çalışmaları çok daha azdır. Bundan dolayı bu konuda daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır. Biz de sıçan uterusunda ekzojen ATP'nin kontraksiyonları üzerine purinoreseptör çalışmalarında tercih edilen bir ilaç olan suramin'in etkisini araştırmak için bu çalışmayı gerçekleştirdik. Böylece sıçan uterusunda purinerjik reseptörlerden birinin varlığı ve purinerjik uyarı hakkında fikir elde etmeye çalıştık.

GENEL BİLGİLER

Organların ve yapıların istek dışı (otonom) çalışmalarının sinirsel kontrolünün sadece kolinerjik ve adrenerjik sınırlar aracılığı ile yapıldığı uzun süre kabul edildi. Son zamanlarda bu sınırlara ilave olarak, fakat onlar kadar yaygın ve kapsamlı olmayan, sinir çeşitlerinin de bu tür kontrole katılıp bir çok organları innerve ettikleri saptanmıştır. Gerçekte bunlara peptiderjik, dopaminerjik ve purinerjik sinirler adı verilmiştir (Kayaalp, 1983). Burnstock (1972) otonom sinir sisteminin klasik olarak bilinen (adrenerjik ve kolinerjik) iki komponentine ek olarak adrenerjik ve kolinerjik özellik göstermeyen purinerjik sistem hipotezini ortaya atmıştır. Bu hipotezden sonra purinerjik sistem bir çok araştırmacının ilgi odağı haline gelmiştir.

Purinerjik sinirler periferde gastrointestinal kanalı, trakea, göz, kalp, karaciğer, pankreas, uterus, mesane, vezikulo seminalis ve santral sinir sisteminin çeşitli bölgelerinde bulunurlar (Koşay, 1978). Purinerjik sinir uçlarından salınan purin bileşiklerinin iç organların çalışmasını etkilediği, mide, barsak sisteminin normal çalışmasına katkıda bulunduğu sanılmaktadır (Williams, 1987).

Otonom sinir sistemine ait aksonların ucunda noradrenalin (NA) (Çapı:250-600 Å) ve asetilkolin (Ach) (Çapı:1000Å) in depolandığı veziküllerde purinlerin bulunduğu bildirilmiştir (Holman, 1977) Veziküllerde adenin nükleotitlerinin % 83'ü ATP, % 15'i Adenozin di fosfat (ADP) ve % 2'si

Adenozin monofosfat (AMP) dır (Zimmerman, 1978). Purinerjik sinirlerin nöromedyatör maddeleri olan purin nükleotidleri (Adenozin ve ATP) ayrıca adrenerjik sinirlerin ucunda noradrenalin (NA) ile, kolinerjik sinirlerin ucunda asetilkolin (Ach) ile birlikte ko-transmitter olarak bulunur ve salgılanırlar (Blakeley ve ark., 1988).

ADENOZİN

Yüksek enerjili fosfatların bir yıkım ürünü olan adenozin, 5'-adenozin monofosfatın (5-AMP) 5-nükleotidaz enzimi ile defosforilasyonu sonucu oluşmaktadır. 5-nükleotidaz enziminin adenozin oluşumundan primer olarak sorumlu olduğuna inanılmaktadır (Sparks ve ark., 1986). Adenozin oluşumu ile ilgili ikinci bir yol ise 5-adenozilhemosteininden (SAH), 5-adenozilhemostein hidroksilaz enzimi aracılığıyla adenozin oluşumudur (Sparks ve ark., 1986; Schrader ve ark., 1981). Nahatsu ve Drummond (1984) şiddetli hipoksi durumları hariç endotel hücrelerinin adenozin oluşumundan sorumlu primer bölge olabileceğini bildirmişlerdir. Hipoksi, iskemi, β -adrenerjik reseptör aktivasyonu ve Ca^{++} , insan ve hayvan kalbinde adenozin yapımını artırır (Sparks ve ark., 1986; Perssan ve ark., 1983). β -adrenerjik stimülasyon sadece adenozinin doku düzeyini artırmakla kalmamakta aynı zamanda kalbi bu nükleotidin etkilerine daha duyarlı kılmaktadır (Perssan ve ark., 1983). Solunum yetmezliği ile birlikte olan stres ve hipoksi durumunda da adenozin yapımı artar (Clemo ve ark., 1986). Adenozin ve diğer doğal pürin bileşikleri vücutta her

yerde oluşabilirler, sinir dışı hücrelerden de salıverilirler.

Adenozin oluştuktan sonra kısmen inaktif ürünlere dönüşürken, kısmen de purinerjik sinir ucu tarafından uptake'e uğrayarak tekrar ATP sentezinde kullanılır (Kayaalp, 1989). Adenozin yıkımından sorumlu enzimler adenozin deaminaz ve adenozin kinaz'dır. Adenozin deaminaz aracılığıyla deaminasyona uğrayan adenozinden inaktif bir ürün olan inozin oluşur. Bu enzim kalp ve endotel hücrelerinde saptanmıştır. Adenozin fosforilasyonundan sorumlu enzim adenozin kinazdır (Sparks ve ark., 1986). Koformisin, adenozin deaminazı spesifik olarak inhibe ederek adenozin etkisini güçlendiren bir maddedir. Dipridamol adenozin uptake'ini ve adenozin deaminaz enzimini inhibe ederek adenozinin fizyolojik etkilerini güçlendirmektedir (Szegei ve ark., 1985).

Son 20 yıl içinde adenozin önce periferde sonra beyinde önemli bir nöromodülatör olduğunu gösteren deneysel kanıtlar elde edilmiştir (Kayaalp, 1989). Adenozin presinaptik ve postsinaptik etkilere sahiptir. Presinaptik etkileri, diğer nörotransmitterlerin açığa çıkışı ile ilgili direkt etkileridir. Bu modülatör etkisi ile adenozin, noradrenalin (NA), asetilkolin (Ach), dopamin, serotonin (5HT) gama amino butirik asid (GABA), aspartat ve glutamat açığa çıkışını inhibe eder. Postsinaptik etkileri ise hücre uyarılması üzerine olan direkt etkileridir (Dunwiddie, 1985; Kayaalp, 1989). Presinaptik etkinlik postsinaptik etkinlikten fazladır ve adenozinin depresör etkilerinden sorumludur (Williams, 1987). Adenozin ve analogları presinaptik P₁ reseptörlerini stimüle

ederek adrenerjik ve kolinerjik aşırımı azaltırlar (Londos ve ark., 1977).

Adenozin ve analogları ilk kez Phillis ve ark.(1974) tarafından mikroiyoforesle sıçan beyin korteksine verildiğinde inhibisyon gözlenmiştir. Direkt beyin içine veya periferden verildiğinde spontan motor aktiviteyi azalttığı, güçlü sedatif etki yaptığı bildirilmiştir (Williams, 1987). Bu etki A_1 reseptör aracılığıyla meydana gelir ve metilksantinler tarafından önlenir (Aram ve ark., 1987). Schwabe ve ark. (1991) adenozinin sedatif ve antikonvulsan özelliklerini göstermişler ve genel bir inhibitör düzenleyicisi olduğunu bildirmişlerdir. Adenozin ve analogları güçlü serebral vazodilatördürler (Jozeph ve ark., 1986). Öwal ve ark. (1988) adenozinin kontrollü hipotansiyon oluşturmada yararlı olduğunu bildirmişlerdir. Adenozin kalpte güçlü bir ekstraselüler ulak olarak kabul edilmekte ve koroner damarların düz kaslarında gevşeme, atrioventriküler düğümün iletim hızında azalma, negatif inotrop, negatif kronotropik etkiler oluşturmaktadır (Leung ve ark. 1988). Adenozinin adenilat siklazı inhibe ve aktive edici etkisi açıklanmıştır, inhibe edici etkisine en az 3G protein, aktive edici etkisine ise 1G protein dahildir (Holgate ve ark., 1990). Son zamanlarda adenozinin fonksiyonlarına $Na^+ - K^+$ kanallarının da aracılık edebileceği ileri sürülmüştür (Ulugöl, Dökmeci, 1988). Adenozin cAMP oluşumunu nanomolar konsantrasyonlarda inhibe, mikromolar konsantrasyonlarda stimüle eder (Marmo ve ark,1986). Adenozin böbreklerden sodyum atılımını artırır,glomerül filtrasyonu azaltır.

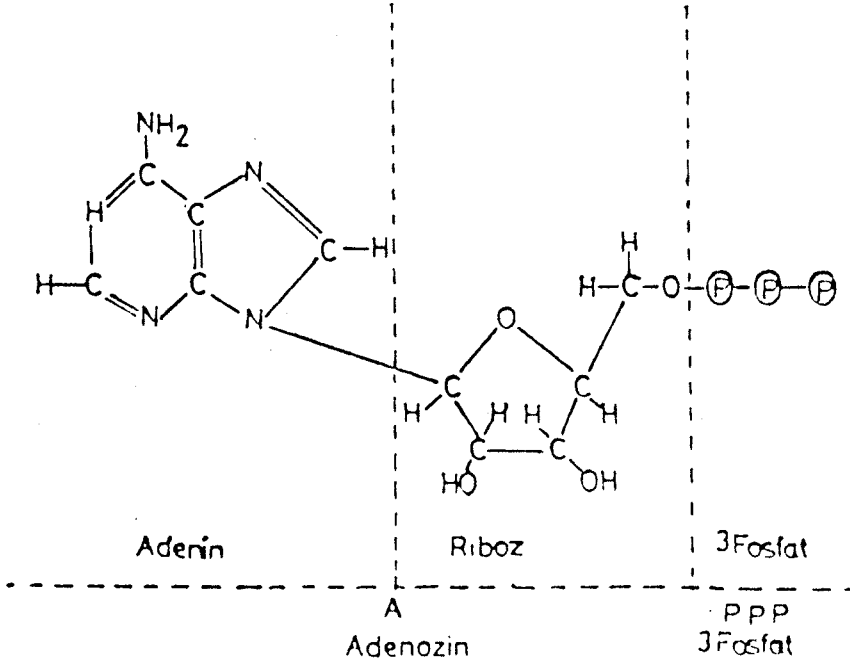
Sodyum birikiminde makula densa hücrelerinde salgılanan adenzin renin salgılanmasını modüle eder (Williams, 1987). Barsum ve Gaddum (1935) adenzinin kedi, tavşan ve köpeklerin uterusunda relaksasyona sebep olduğunu bulmuşlardır.

ATP

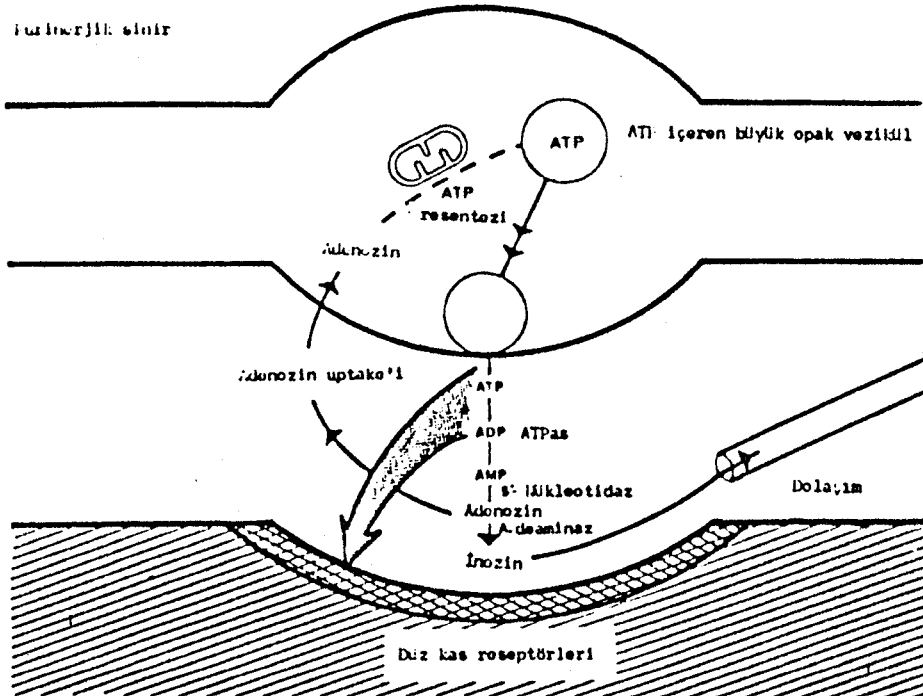
Bir pürin nükleotidi olan ATP (adenzin trifosfat)'nin uzun süredir hücrelerin ana enerji kaynağı olduğu bilinmektedir. ATP ve onun hidroliz ürünleri olan adenzin difosfat (ADP), adenzin monofosfat (AMP) ve adenzin'in otonomik innervasyona sahip bazı düz kaslı organlarda (gastrointestinal kanal ve mesane gibi) kalpte, purinerjik otonomik sinirlerin ucundan nörotransmitter olarak salıverildiği ileri sürülmüştür (Williams, 1987). ATP'ye bağlanan fluoresan bir madde olan mepakrinle yapılan histokimyasal incelemelerde atriyum, kardiyak gangliyonlar, portal ven, safra kesesi, barsak ve mesane gibi yapılarda ATP içeren purinerjik sinirlerin bulunduğu şeklinde sonuçlar elde edilmiştir (Kayaalp, 1983).

1972'de Burnstock, gastrointestinal kanal ve mesanede bulunun sinirlerden salıverilen transmitterin ATP olduğunu düşündüren kanıtlar elde etmiş ve bu non-adrenerjik, non-kolinergik sinirlerin bir kısmında ATP'nin nörotransmitter olabileceğini ileri sürmüştür. Burnstock'a (1981) göre ATP memelilerde bazı sinir hücrelerinde ana transmitter, bazı sinir hücrelerinde ise ko-transmitter olarak görev yapmaktadır. Ko-transmitter olduğu zaman ana transmitter maddenin salgılanmasını ve postsinaptik etkilerini presinaptik veya

postsinaptik safhada düzenlemektedir. Sneddon ve Burnstock 1985; ile Sneddon ve Westfall 1984'a göre ATP sempatik nöro-müsküler kavşakta noradrenalin ile birlikte bir ko-transmitter olarak rol oynayabilir. ATP'nin adrenerjik sinir uçlarında noradrenalin ile birlikte ko-transmitter olarak saliverilmesi ve bundan oluşan adenozinin saliverilmeyi bir (-) feedback mekanizması ile inhibe etmesi mümkündür (Kayaalp, 1983). Purinerjik nöronlarda ATP sentezlemeye yarayan bir enzim sistemi mevcuttur (Burnstock, 1981). Purinler aktif olarak hücre içine alınırlar ve hızlı bir şekilde nükleotidlere dönüşürler (Şekil 1). ATP, meydana gelip salındıktan sonra süratle Mg'a bağlı ATP'az ve 5-nükleotidaz enzimleri tarafından hidroliz olur, en son adenozine dönüşür. Adenozin kısmen inaktif ürünlere dönüşürken kısmen de purinerjik sinir ucu tarafından geri alınarak tekrar ATP sentezinde kullanılır (Kayaalp, 1986). Sinaptik aralığa salınan ATP için böyle bir geri alınma mekanizması gösterilmemiştir (Burnstock, 1981). Muhtemelen ATP sinaptik aralığa salınıp etkisini gösterdikten sonra tamamen adenozin ve inozine yıkılmaktadır (Prokopczuk ve ark., 1988) (Şekil 2).



Şekil 1. Adenin, adenozin ve ATP'nin yapısal formülü.



Şekil 2. Purinerjik nöromusküler kavşakta ATP'nin sentezi, depolanması, salınımı ve inaktivasyonu.

ATP ve diğer doğal pürin bileşikleri, prostoglandinler gibi vücutta her yerde oluşabilirler, bu arada sinir dışı hücrelerden de salıverilirler. P_2 purinoreseptörlerin ATP tarafından uyarılması prostaglandin sentez ve salıverilmesini artırır, hücre membranının iyonlara permeabilitesini değiştirir (Kayaalp, 1983). Enerji deposu olarak bilinen ATP ilk kez 1929'da Drury ve Sezent Györgyi anestezi edilmiş hayvanlara adenozin enjekte ettiklerinde kalp hızında yavaşlama, kan basıncında düşme, vazodilatasyon ve barsak hareketlerinde inhibisyon olduğunu göstermişlerdir. Bu gözlemden sonra ATP ve adenozinin farmakoloji ve fizyolojik etkileri üzerine yapılan çalışmaların sayısı hızla artmıştır. Sıçan ve köpek izole perfüze pankreasında ATP'nin glukagon salgılanmasını stimüle ettiği gösterilmiştir (Chapal ve ark. 1985; Bertrand ve ark. 1989). ATP hepatositlerde fosforilaz aktivasyonuna neden olur ve Ca^{2+} 'suz ortamda ATP'nin etkisi oluşmaz (Keppens ve ark. 1986). ATP hipersekresyonu ile migren arasında önemli bir ilişki olduğu ve migren riskinin bu durumda arttığı gözlenmiştir (Joseph ve ark. 1986). P_2 reseptör agonisti olarak bilinen ATP bazı dokularda etkisini adenozine dönüşerek P_1 reseptörleri aracılığı ile gösterebilmektedir (Marmo ve ark. 1986).

Adenil bileşikleri düz kaslarda kasılmaya neden olurlar. Bunlar içinde ATP'nin etkisi en fazladır, AMP daha az etkili adenozin ise en az etkilidir (Burnstock, 1972). İzole sıçan uterus kası üzerine de ATP'nin oldukça kasıcı etkisi olduğu bildirilmiştir (Burnstock, 1975).

Purinerjik Reseptörler

Purinerjik sinirler gibi reseptörlerinin dağılımı da bir çok dokuda aydınlatılmıştır. Örneğin; mide fundusu, gastrik asit sekresyonu, pankreatik sekresyonu modüle eden purinerjik reseptörlerin varlığı gösterilmiştir (Williams, 1987).

Purinerjik reseptörlerin Burnstock (1978) tarafından P_1 ve P_2 olmak üzere iki alt gruba ayrılmasından sonra yapılan farmakolojik, biyokimyasal ve ligand bağlama çalışmaları sonucu iki grubunda homojen olmadığı ve her birinin en az iki alt gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Ribeiro ve Sebastiao (1985, 1986) ikiden fazla P_1 reseptör alt tipi (A_1 ve A_2) olduğunu ileri sürmüşlerdir. Burnstock ve Kennedy (1985) P_2 purino reseptörlerini P_{2x} ve P_{2y} olmak üzere iki alt gruba ayırmışlardır.

P_1 Purinoreseptörler

A_1 Purinoreseptör alt tipi :

Purinoreseptörlerin P_1 ve P_2 alt gruba ayrılmalarından kısa bir zaman sonra 1979'da Van Calker ve ark. bu reseptörleri A_1 ve A_2 , Londos ve ark. (1980) R_i ve R_a olarak iki alt tipe (R = Riboz, i = ihnibisyon ; a = aktivasyon) ayırmışlardır. Bu iki araştırmacının belirttiği P_1 purinoreseptör alt tiplerinin birbirinin analoğu olduğu anlaşılmıştır ($A_1 R_i$, $A_2 R_a$) ve literatürde daha yaygın olarak A_1/A_2 alt tipi kullanılmaya başlanmıştır (Kennedy, 1990). Bu reseptörler yüksek derecede stereospesifite göstermektedirler (Van Calker ve

ark. 1979; Londos ve ark. 1980). A_1 reseptörleri presinaptik yerleşim gösterirler, en fazla adenezine, en az adenezin trifosfat'a (ATP) duyarlıdır (Kayaalp, 1983). Adenezinin presinaptik etkilerini iletirler (Burnstock, 1981). A_1 reseptörü Gi ile etkileşerek adenilsiklazı inhibe eder (Schwabe ve ark. 1991). Adenilat siklazı inhibe eden A_1 reseptörlerini etkileyen adenezin analoglarının güçlülük sırası; L-fenil izopropil adenezin (L-PIA) - N6 silohegzil adenezin (CHA) > 2 kloro adenezin (2-CIA) > D-PIA - 5'-N-etil karboksamido adenezin (NECA)'dır (Blakeley ve ark. 1988). Evans ve ark. (1982) kobay atriumunda oluşan negatif inotrop etkide agonist güçlülük sırasının "L-PIA > NECA > adenezin" şeklinde olduğunu gösterdiler. Brown ve Collis (1983) tavşan portal veninde nörojenik kontraksiyonları inhibe edici etkide agonist güçlülük sırasının "L-PIA = NECA > adenezin" olduğunu, Fredholin ve ark. (1983) perfüze tavşan böbreğinde kavşak öncesi noradrenalin salınımını inhibe edici etkide aynı sıralamanın "L-PIA > NECA > adenezin" şeklinde olduğunu belirttiler.

P_1 reseptörlerinin aktivasyonu genellikle düz kasların gevşemesine neden olur. Bazı hayvan türlerinde periferik adrenerjik sinir uçlarında presinaptik P_1 tipi purinerjik reseptörler bulunmaktadır (Kayaalp, 1983). Sıçan pankreas ve beta hücrelerinde P_1 purinerjik reseptörlerinin varlığı gösterilmiş ve insülin salgılanmasının A_1 reseptör aktivasyonu ile inhibe edildiği bildirilmiştir (Buys ve ark. 1987; Chapal ve ark. 1984). İleumda kobay vas deferens ve sertoli hücrelerinde, tavşan portal veni, pulmoner arterlerinde (Marmo ve

ark. 1986; Buys ve ark. 1987; Borea ve ark. 1989) renin salgılayan jugstaglomerüler hücreler (JGH)'de A₁ adenozin reseptörlerini ve bu reseptörlerin aktivasyonu renin salgılanmasında inhibisyona neden olur (Churchill ve ark. 1988). Adenozin santral sinir sistemindeki nöronlara depresan etkilidir ve bu etki genellikle A₁ reseptör aracılığıdır (Marmo ve ark. 1986). Purinoreseptörlerin dağılımı ile ilgili çalışmalarda kobay atriumunda P₁ reseptörlerin varlığı gösterilmiştir (Jahnel ve ark. 1989; Brown ve ark.1990). Adenozin A₁ reseptör aracılığıyla negatif inotrop, negatif kronotrop etki oluşturur (Marmo ve ark.1986).Yapılan çalışmalar insan atriumunda purinerjik bir inhibisyon olabileceğini ve bunun P₁ (A₁) reseptörleri aracılığı ile gerçekleştiğini göstermiştir (Marmo ve ark. 1986). Metilksantinler her iki reseptör alt tipinin kompetatif antagonisti, 1,3-dipropil-8-siklopentilksantin (DPCPX) ise A₁ reseptörlerinin selektif antagonistidir (Bruns ve ark. 1987).

P₁ reseptör agonistleri, eksitator kavşak potansiyelini inhibe ederler. Bu etki, P₁ reseptör aktivasyonuna bağlı olup metil ksantinler tarafından antagonize edilir (Blakeley ve ark. 1988).In vitro vas deferensinde P₁ agonisti 2-kloro adenozinin inhi bitör etkisi, 8-fenil teofilin tarafında antagonize edilmiştir.

A₂ Purinoreseptör Alt Tipi

Otoradyografik çalışmalar santral sinir sisteminde A₂ reseptörlerinin sitriatum ve olfaktör tüberkülda lokalize

olduğunu göstermiştir. A_2 reseptörü A_1 'den farklı olarak adenil siklazı Gs ile etkileşerek inhibe eder (Schwabe ve ark. 1991). A_2 reseptörleri için selektif bir antagonist bulunmasına karşın 1-3 dipropil (2-amino-4-klorofenil) ksantin (PACPX) bu reseptörlere oldukça yüksek selektivite göstermektedir (Bruns ve ark. 1983). A_2 adenozin reseptörlerinin sıçan beyin mikro damarları, kobay trakeası, tenya koli, koroner damarları, trombositler, karaciğer, pankreas alfa hücreleri, adrenal bezler, leyding hücreleri gibi bir çok dokuda varlığı gösterilmiştir (Chapal ve ark. 1985; King ve ark. 1990). Renin salgılayan jugstaglomerüler hücreler A_2 adenozin reseptörlerini de içerirler (Churchill ve ark. 1988). Adenozinin trombositlerdeki adenilat siklaz A_2 reseptörlerinin aktivasyonu sonucu trombosit agregasyonu oluşturarak inhibe ettiği gösterilmiştir (Edvinsson ve ark. 1986).

P_2 Purinoreseptörler

P_2 reseptörleri postsinaptik yerleşim gösterirler ve ATP ye duyarlıdırlar. Purinoreseptörlerin P_1 ve P_2 alt gruplarına ayrılmalarından sonra P_2 purinoreseptörlerinin alt tipleri üzerine bir çok agonist Fedan ve ark. (1982a) Kasakou ve ark. (1983), Burnstock ve ark. (1984a) ve antagonist (Hogaboam ve ark. 1980; Meldrum ve ark. 1983) çalışmaları yapılmıştır. Bütün bu çalışmaları toparlayan Burnstock ve ark. (1985) agonist güçlülük sırası ANAPP₃ (arilazido-aminopropil ATP) ile antagözizma ve α - β - metilen ATP ile desensitizasyon kriterlerine dayanarak P_2 reseptörlerini P_{2x} ve P_{2y} iki alt grubuna

ayırmışlardır. Diğer taraftan Gordon (1986) P₂ reseptörlerinin ikiden fazla alt tipi olduğunu ileri sürerek aktivasyonu platelet agregasyonuna neden olan reseptörlerin P_{2_u} ve sıçan mast hücrelerinde histamin salınımına yol açan reseptörlerin P_{2_x} reseptörleri olduğunu iddia etmiştir. 1988'de Wiklund ve Gustafsson kobay ile umundaki kontraktıl etkilere sahip purinerjik reseptörlerin α - β - metilen ATP ile desensitize edilmediğini göstererek bu reseptörlere P_{2_x} reseptörleri adını vermiştir.

P_{2x} Purinoreseptör Alt Tipi

P₂ reseptörlerinin aktivasyonu bazı dokularda kontraksiyona bazılarında relaksasyona sebep olur (Burntock, 1981). Kontraksiyona aracılık ettiği ileri sürülen P_{2_x} reseptörlerinin sıçan ve kobay vas deferensi ve mesanesi ile bazı kardiyovasküler dokularda bulunduğu bildirilmiştir (Bailey ve ark. 1990). P_{2_x} purinoreseptörler damarlarda örn: tavşan kulak arterlerinde Kennedy ve ark. (1985) ve düz kaslarda örn: kobay mesanesinde Cusack ve ark. (1984) kasılmaya neden olurlar. Visseral ve düz kas kontraksiyonu ile pozitif inotrop ve pozitif kronotrop etkilere neden olan P_{2_x} reseptörlerinin agonist güçlülük sırası " α - β -metilen ATP > 2 metil S ATP (2-metiltiyo ATP " şeklindedir.

P_{2_x} reseptör antagonisti Suramin, Na⁺, K⁺ - ATP az inhibitörüdür (Dunn ve ark. 1988). Arilazido -aminopropionil -ATP (ANAPP₃) maddesi de P_{2_x} purinoreseptör antagonisti olup P_{2_x} alt tipine etkisi yoktur.

P_{2x} Purinoreseptör Alt Tipi

P_{2Y} reseptörlerinin aktivasyonu düz kaslarda gevşemeye ve endotel bağımlı vazodilatasyona neden olmaktadır. Bu reseptörlerin agonist güçlülük sırası 2-metil S ATP >> ATP > α, β -metilen ATP şeklindedir. ANAPP₃ ile zayıf derecede antagonize edilirler (Cusack ve ark. 1984). ADP- β -F (adenozin 5-2-florodifosfat) P_{2x} agonisti olarak bulunmuştur (Hourani ve ark. 1988). Relaksasyona aracılık ettiği ileri sürülen P_{2x} reseptörlerinin tavşan portal veni ve kobay tenya çekumu gibi dokularda bulunduğu, sıçan kolonunda P_{2x} reseptörler aracılığıyla relaksasyon olduğu ileri sürülmüştür (Bailey ve ark. 1990). P_{2x} reseptör antagonisti reaktif blue 2 (RB₂), antra kinon sülfirik asid derivesidir. Selektif nonkompetatif antagonist olup P_{2x} reseptör tipine etkisizdir. Kobay kolonu, kobay internal anal sfinkteri, sıçan duodenum ve jejunumda ATP'nin inhibitör etkisini irreversible bir şekilde antagonize ederken sıçan üriner sisteminde purinerjik kontraksiyonları inhibe edemez (Burnstock ve ark. 1987). Perfüze sıçan kalbi (Hopwood ve ark. 1987), perfüze kobay kalbi (Hopwood ve ark. 1989, tavşan mezenterik arteri (Burnstock ve ark. 1987), tavşan portal veni (Reilly ve ark. 1987), sıçan çekumunda (Manzını ve ark. 1986) yapılan çalışmalarda da reaktif blue 2'nin (RB₂) selektif P_{2x} antagonisti olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak pürinlerin santral sinir sisteminde ve periferde düzenleyici, değiştirici ve kontrol edici rolleri olduğu düşünülmektedir. Adenozin ve analoglarının antilipolitik, antiagregan, glikojenolitik, antikonvulsif, hipotansif etkin-

lik ile koroner vazodilatasyon gibi, ATP'nin glukagon salgılanmasını stimüle etmesi, prostoglandin sentez ve salınımını artırması, hücre membranının iyonlara permeabilitesini değiştirmesi gibi önemli fonksiyonlarının olduğu görülmektedir.

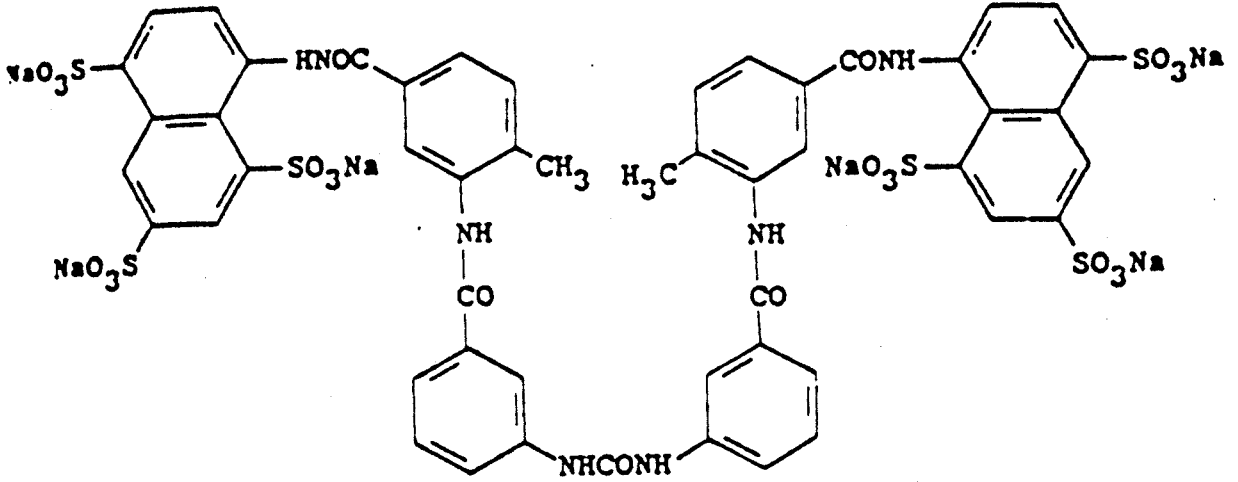
Suramin

Suramin olarak bilinen Sym-bis (m-aminobenzayl-m-aminop-methyl benzayl-1 nophthylamino-4,6,8-trisulphanate) carbamid.

Kimyasal formülü = $C_{51}H_{34}N_6O_{23}S_6$:

İçeriği = C=42,86%, H=2,40%, N=5,88%, Na=9,65%,
O=25,75%, S=13,46%.

1971'de O.Diessel ve R.Kathe tarafından bulunmuştur. Beyaz, hafif pembe ya da krem renkli bir tuzdur. Tadı hafif acıdır. Suda ve fizyolojik tuzlu suda serbest olarak çözünür. Benzen eter ve kloroformda çözünmez. Sudaki solusyonları turnosol kağıdı ile nötr reaksiyon gösterir. Farelerdeki LD₅₀ değeri 40 mg/kg (i.v.). Antitripanozomal ve antifilorial olarak kullanılır (Martha Windholz, 1976).



Şekil 3. Suraminin yapısal formülü

Suramin metal içermeyen ve tripan mavisinde türetilen organik bir boyadır. İlginç farmakokinetik özelliği vardır. Intra venöz uygulanır. Plazmada tamamiyle proteinlere bağlanır, diğer sıvı kompartmanlarına geçemez. Suramin tek dozdan sonra, dolaşan kanda uzun süre kalır ve yavaş olarak proteinden salıverilerek itrah edilir. Afrika tripanozomiyazisinin tedavisi ve proflaksisinde kullanılır. Infeksiyon etkeni olarak tripanozomlar proteine bağlı ilacı pinositoz suretiyle alırlar ve biriktirirler. Tripanozomiyazisten başka onkoserkiyazis tedavisinde de kullanılır, parazitin olgun şekillerini

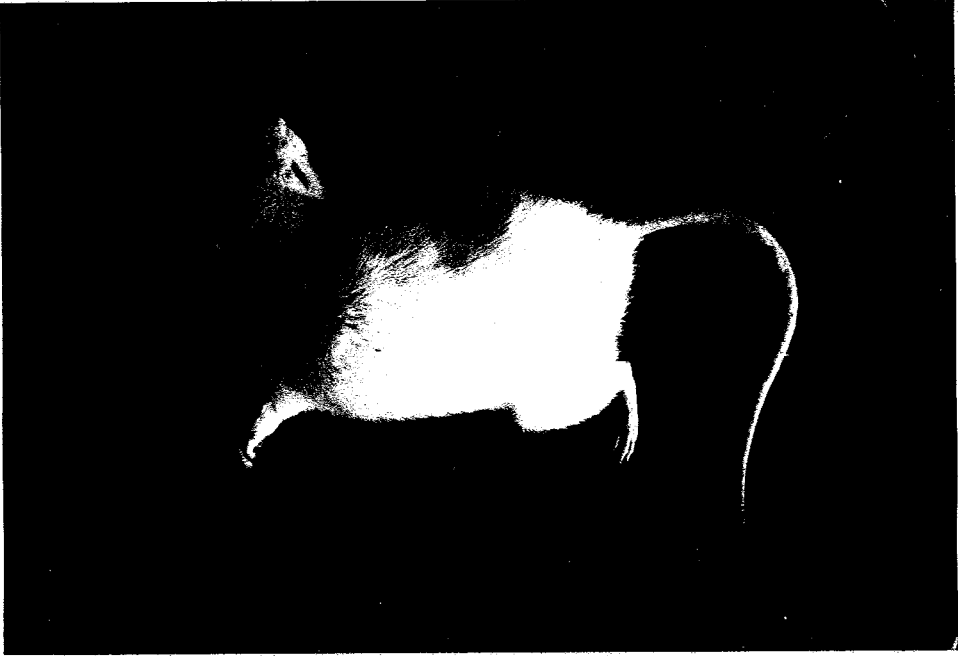
yok eder. Nörotoksik ve nefrotoksik etkinliği bulunan ve ciltte sık olarak kaşıntı ve ürtikere neden olan fazla toksik bir ilaçtır (Kayaalp, 1981).

Suramin çok sayıda hidrolitik ve oksidatif enzimlerin güçlü bir inhibitörüdür ve ATP'yi bağlayarak membran Na K-ATP'azı inhibe eder (Fortes ve ark.1973; Calcaterra ve ark. 1988). Suramin trombosit growth faktörünün ve fibroblast faktörünün reseptörlerine bağlanmasını inhibe eder (Williams ve ark. 1984; Neufald ve ark. 1988; Sturani ve ark. 1988).

Spesifik bir P₂ purinoreseptör blokörü olan suraminin son zamanlarda çeşitli dokularda [fare vas deferensinde (Dunn ve ark. 1988) tavşan kulak arteri, kobay mesanesi] ATP'nin etkisini P_{2x} reseptörleri aracılığı ile kobay tenya kolisinde P_{2x} reseptörleri aracılığı ile non kompetatif olarak antagoneze ettiği bildirilmiştir (Burnstock ve ark. 1985). Suramin mesane preparatlarında aşık bir etkiye sahip değildir. Spontan aktivitede ve tonüste herhangi bir değişiklik yapmamıştır (Hoyle ve ark.1990).

MATERYAL VE METOD

Çalışmamızı Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirdik. Deneylerde kullanılan tüm hayvanlar Üniversitemizin Cerrahi Araştırma Merkezinden temin edildi. Deney süresince kullanılan malzemeler ise kendi laboratuvarımızdan sağlandı. Çalışmamızda 20 adet dişi sıçanın her iki kornusunu kullandık. Hayvanların ağırlıkları 116-241 gr. arasında değişti. Sıçanların ağırlıkları Mettler PM 600 marka hassas terazide tartıldı. Her sabah bir tanesine olmak üzere 1 cc'lik enjektörle Subcutaneous (SC) yoldan östrojen (estradiol benzoat 0,5 mg/kg) injekte edilerek 24 saat bekletildi (Resim 1).



Resim 1. İnjesiyondan sonra bekletilen hayvanın genel görünüşü.

Deneye başlamadan önce sıçan servikal bir darbe ile sersemletilip boynundan kesilerek öldürüldü (Resim 2).



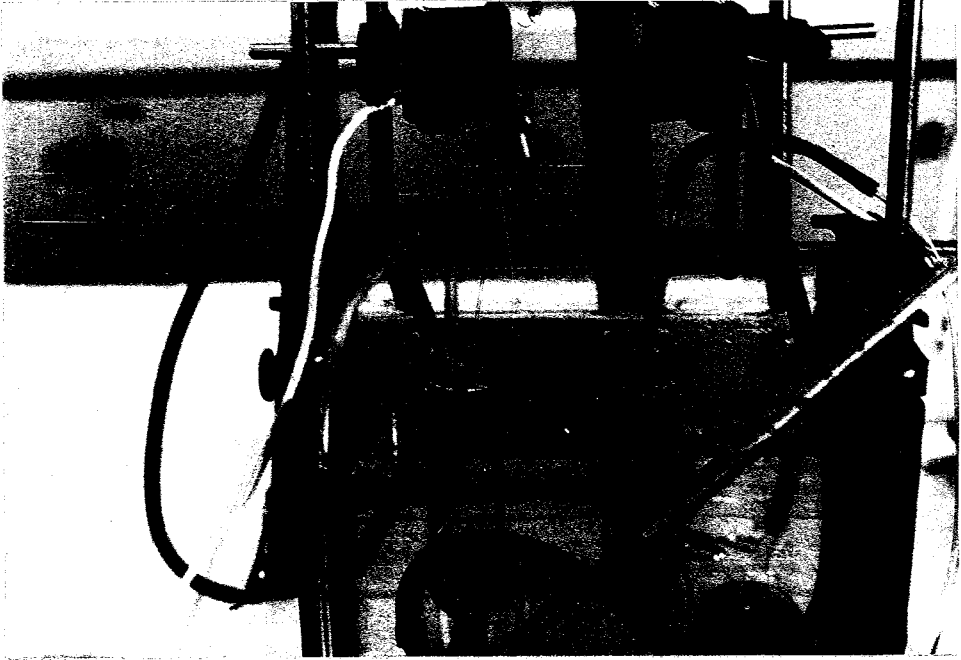
Resim 2. Servikal darbe sonucu boyun ve karın bölgesinden kesilen hayvanın görünüşü.

izole edilen 0,4 mm genişliğinde, 1,5 cm uzunluğundaki uterus stripleri içinde kreps solusyonu bulunan petri kutusunda her bir ucu iplik ile bağlanarak izole organ banyosuna asılmaya hazırlandı (Resim 3).

Bu stripler mekanik aktivitelerin izotonik kaydı için organ banyosundaki (Organ Bath 6300) kreps solusyonu içeren 60 ml'lik iki adet rezervuarlara vertikal olarak asıldı (Resim 4).



Resim 3. izole organ banyosuna asılmaya hazırlanan uterus stripleri.

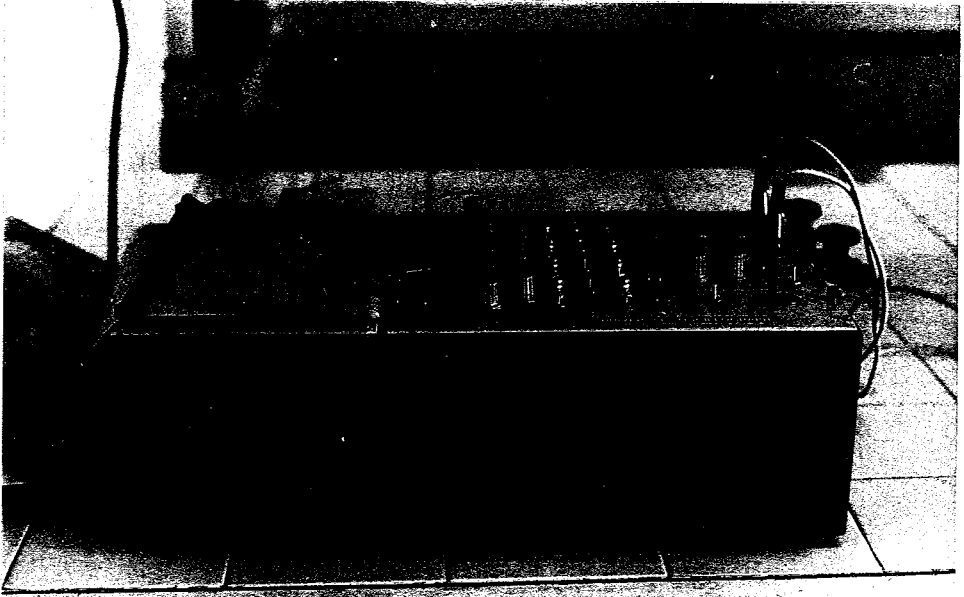


Resim 4. izotonik kayıt için organ banyosuna asılan uterus stripleri.

Kreps Solusyonunun Bileşimi (mM) ve Hazırlanışı

NaCl 6,9 gr; NaHCO₃ 2,9 gr; KCl 0,35 gr; CaCl₂ 0,28 gr; MgSO₄ 0,14 gr; KH₂PO₄ 0,16 gr; Glukoz 1,09 gr. Bu maddeler S-200 Kern Marka hassas terazide tartılıp bir litre distile su-
da çözümlenerek solusyon hazırlandı.

Banyo ısısı 29-31°C de sabit tutulup % 95 O₂ + % 5 CO₂ karı-
şımı ile sürekli gazlandırılarak pH=7 ile 7,5 da muhafaza
edildi. Preparatların stabil hale gelmesi için 30' beklendi.
Cevaplar 1 gr gerilim altında izotonik olarak osilografıtan
(Harvard Universal Oscilograph) kayıt edildi (Resim 5).



Resim 5. izotonik olarak kayıtların alındığı osilografın genel görünüşü.

Agonist (ATP) uygulamalar arasında 30 dakikalık inter-
valler bırakıldı. Desensitizasyona karşı ve taşıflaksiden ka-
çınmak için ilaç uygulamalarından sonra doku 10 kez yıkandı.

Suramin çalışmalarında solusyona nonspesifik peptidaz inhibitörü Basitrasin ($2000 \mu\text{l}^{-1}$ lt'ye 1 disk 0,04 ü) ilave edildi. Böylece suramin'in peptid bağlarının parçalanması önlendi. Antagonist (suramin) ATP'den 5 dakika önce verildi. Elektriki uyarı paralel platin elektrotlarla 30 Volt 1 m. Sec 4-8 Hz. 19 sn devamlı yapılarak izotonik olarak kaydedildi. Platin elektrotların birisi doku ile direkt, diğeri ise sıvı ile temas halindeydi. Değerlendirme uterus hareketlerinin amplitüd ve bazı durumlarda hem amplitüd hem de frekans üzerinden yapıldı. 30 dakikalık dinlenme periyodundan sonra spontan hareketleri takiben agonist cevabı alındı. Doku 10 kez kreps solusyonu ile yıkandı. Sonra antagonist + agonist verildi. 15 dakika sonra doku 10 kez kreps solusyonu ile yıkandı ve tekrar agonist verildi. Bu şekilde 1-10-100 μM ATP'ye cevapların her birisi 1-10-100 μM ve 1 mM suramin mevcudiyetinde izlendi. Diğer bir grupta elektriki uyarılardan önce değişik konsantrasyonlarda antagonistler verilerek elektriki uyarıdaki değişiklikler izlendi.

İlaç ve Solusyonlar

İlaç olarak 1,02 mg adenzin trifosfat (ATP) (Disodium tuzu) içeren flakonlar kullanıldı (Adenzin 5'- trifosfat standart - Sigma). ATP'nin molekül ağırlığı (MA = 507,21) ve rezervuarın hacmine (60 ml) göre hesap yapılarak değişik konsantrasyonlarda ilaç dokuya uygulandı.

Suramin (Germanin - Bayer)

S - 200 Kern marka hassas terazide suraminin molekül ağırlığına (MA = 1429,21) göre 85,8 mg tartılıp 1 ml distile suda çözülerek 1 µM suramin elde edildi. Bu solusyonun kendisi ve seyreltilmesiyle elde edilen diğer konsantrasyonlar rezervuarın hacmine (60 ml) göre hesap yapılarak dokuya uygulandı.

Östrojen (östradiol benzoat) (Organon)

Kg'a 0,5 mg olarak uygulandı.

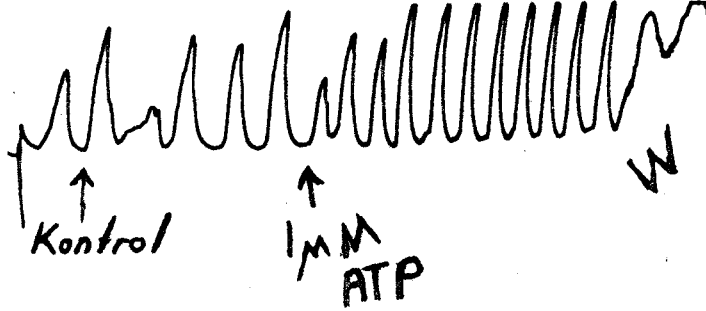
Basitrasin

Kreps solusyonu içine Lt'ye 1 disk atılarak kullanıldı.
(BBL and Taxo trademarks of Becton Dickinson and Company).

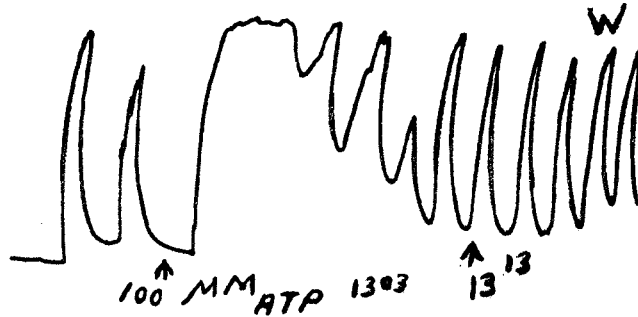
Çalışmamızda elde edilen tüm veriler bilgisayar programı ile değerlendirildi. Sonuçlar ortalama ± standart hata (SH) şeklinde verildi. Ortalamalar arası farkın önemi " Student t testi " (Paired t testi)' ne göre istatistikî analize tabi tutuldu.

BULGULAR

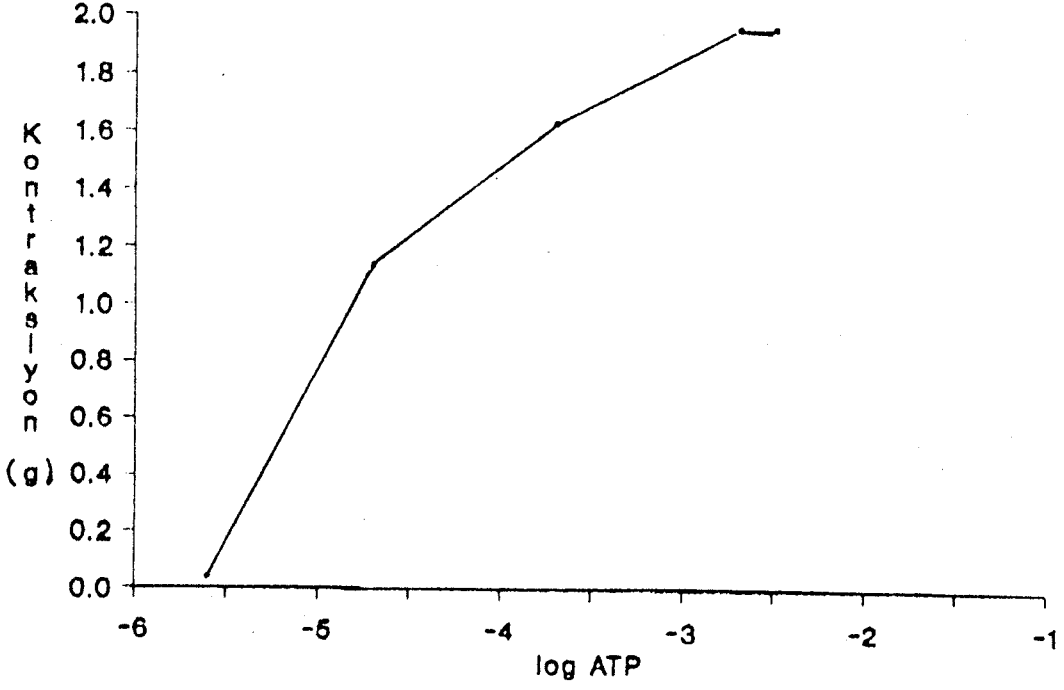
Bu çalışmada ATP (1 μM /100 μM) konsatrasyonuna bağı olarak izole sıçan uterus striplerinde kontraksiyona sebep oldu. 10 saniyede spontan hareketlerinin amplitüd ve frekansı artışı meydana getirdi. Sonra hızla kontrol değerlere dönüş oldu. 100 μM ATP ile max. cevap elde edildi (Şekil 1,2, 3,4).



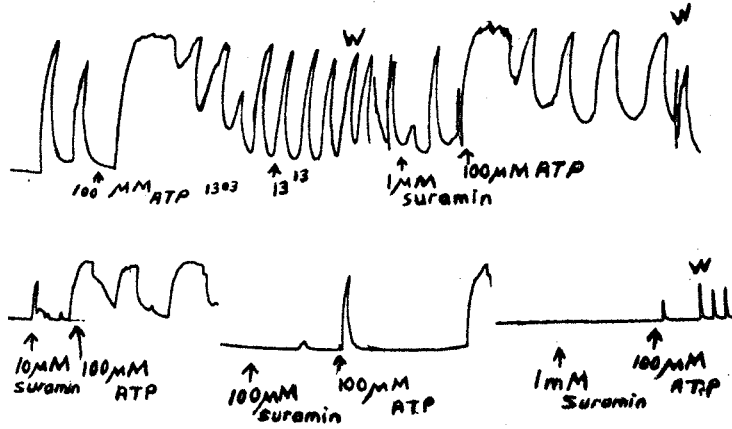
Şekil 1. ATP'nin (1 μM) uterus stripleri üzerine kontraktıl etkisi



Şekil 2. ATP'nin (100 μM) uterus stripleri üzerine max. kontraksiyon etkisi.

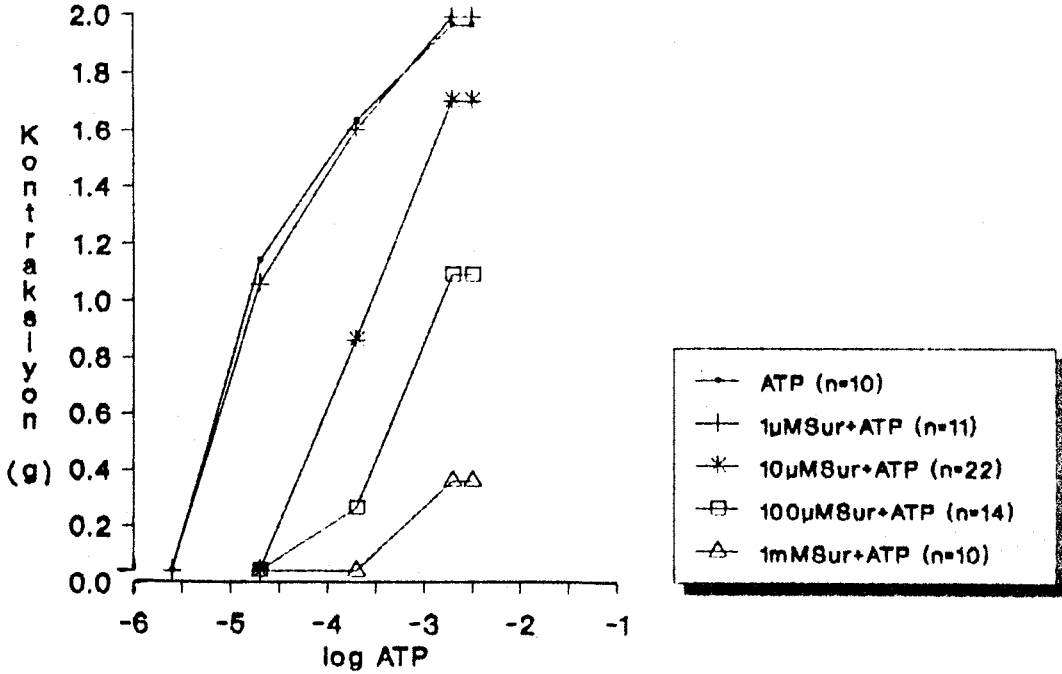


Şekil 3. izole sıçan uterusunda ATP'nin log-doza cevap eğrisi.



Şekil 4. 10 μM - 100 μM ve 1 mM suramin'in 100 μM ATP'nin kontraksiyonuna inhibitör etkisi.

Şekil 5'de ATP'nin log-doza cevap eğrisinde Suramin ($1\mu\text{M}$) mevcudiyetinde max. cevapta hafif bir artış oldu (Bu artış istatistikî açıdan önemsizdi). Suramin ($10\mu\text{M}$) mevcudiyetinde eğri sağa kayd, max. cevap azaldı ama bu istatistikî açıdan önemsizdi. Suramin ($100\mu\text{M}$ ve 1mM) mevcudiyetinde ATP'nin cevabında antagonizma belirgindi. Bu durumda ATP'nin log-doza cevap eğrisi sağa kayd ve max. cevapta azalma oldu (Şekil 5).

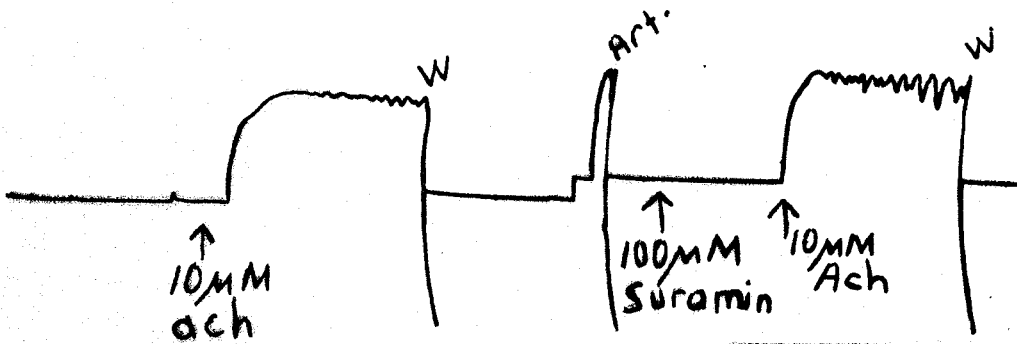


Şekil 5. İzole sıçan uterusunda Suramin yokluğunda ve mevcudiyetinde ATP'ye cevaplar.

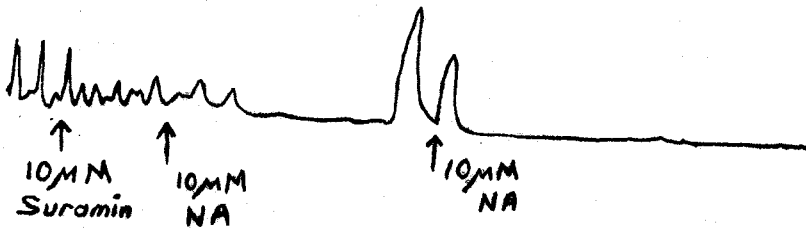
Tablo 1'de görüldüğü gibi Suramin (10 - 100 μ M ve 1 mM) mevcudiyetinde ATP (1 μ M)'nin ve yine Suramin (1 mM) mevcudiyetinde ATP (10 μ M)'nin kontraktıl etkileri tamamen ortadan kalktı. Ancak Suramin (1 μ M) mevcudiyetinde ATP (1 μ M)'nin, Suramin (1-10-100 μ M) mevcudiyetinde ATP (10 μ M)'nin, Suramin (1-10-100 μ M ve 1 mM) mevcudiyetinde ATP (100 μ M) 'nin kontraktıl etkilerini ortadan kaldıramadı.

4 ve 8 Hz'lik elektriki uyarılar Suramin (1-10-100 μ M ve 1 mM) mevcudiyetinde Tablo 2'de görüldüğü gibi inhibe oldular. Suramin (1 mM) konsantrasyonda 4 Hz'lik uyarıya karşı oluşan cevabı tamamen ortadan kaldırdı. Ancak Suramin (1-10-100 μ M) 4 Hz'lik elektriki uyarıya karşı oluşan cevabı ortadan kaldıramadı.

Diğer taraftan 9 deneyde Suramin (100 μ M) mevcudiyetinde asetilkolin (10 μ M) 'nin kasıcı etkisini (Şekil 6) ve Suramin (10 μ M) mevcudiyetinde, noradrenalin (10 μ M)'nin gevşetici etkisini (Şekil 7) değiştirmedi.



Şekil 6. İzole sıçan uterusunda Ach'nin kontraksiyonuna suraminin etkisi.



Şekil 7. İzole sıçan uterusunda NA relaksasyonuna suraminin etkisi.

Tablo 1. İzole Sıçan Uterusunda ATP Kontraksiyonları Üzerine Suramin'in Etkisi

ATP (µM)	Kontrol	Suramin + ATP			
		1 µM	10 µM	100 µM	1 mM
1 (n=11)	1.14±0.21	1.06±0.21	0**	0**	0**
10 (n=22)	1.63±0.44	1.60±0.43	0.86±0.33	0.26±0.13**	0**
100 (n=14)	1.96±0.26	1.99±0.31	1.70±0.27	1.09±0.34*	0.36±0.21

* P < 0.05

** P < 0.001

Tablo 2. İzole Sığan Uterusunun Elektriki Uyarısının Suramin Tarafından İnhibisyonu

Suramin + Elektriki Uyarı

Elektriki Uyarı	1 μ M	10 μ M	100 μ M	1 mM
4 Hz (n=13)	1.19 \pm 0.11	0.75 \pm 0.14*	0.54 \pm 0.11**	0.34 \pm 0.14**
8 Hz (n=11)	1.43 \pm 0.10	1.12 \pm 0.09*	0.96 \pm 0.16	1.09 \pm 0.15* 1.00 \pm 0.007**

* P < 0.05

** P < 0.001

TARTIŞMA

Araştırmamızda izole sıçan uterusunda P_2 reseptör agonisti ATP'nin 1-10-100 μM ve 1 mM konsantrasyonları ile P_2 reseptör antagonisti Suramin'in 1-10-100 μM ve 1 mM konsantrasyonlarının etkileri denendi. Elde edilen bulgular düz kas ta ATP ve Suramin etkisi ile ilgili bilgiler göz önünde bulundurularak tartışıldı. Yaptığımız bu çalışmada P_2 purinoreseptör agonisti ATP (1 μM - 100 μM) konsantrasyonuna bağlı olarak izole sıçan uterus striplerinde spontan hareketlerin hem amplitüdünde hem de frekansında artış meydana getirdi . 1972 yılında Burnstock ATP'nin uterus düz kasını pek çok türde kastığını, sıçan uterus kası üzerinde oldukça kasıcı etkisi olduğunu bildirmiştir. Bu sonuçlar ATP'nin kasıcı etkisini P_{2x} reseptörleri aracılığı ile yaptığı kanısını vermektedir. Çünkü P_{2x} reseptörleri aktivasyonu ile ilgili benzer çalışmalar bazı dokularda da yapılmış ve karşılaştırmalı agonist etkisi sırasıyla tartışılmıştır (Burnstock, Kennedy, 1985).Örn: Kobay vas deferens (Fedon ve ark. 1982; Burnstock ve ark. 1983; 1985) sıçan ve kobay mesanesi (Brown ve ark. 1979; Burnstock ve ark. 1983), tavşan izole mesenterik arterleri (Burnstock ve ark. 1987), perfüze pankreas damar yatağı (Chapal ve ark. 1983), sıçan aorta ve femoral arteri (Kennedy ve ark. 1985; While ve ark. 1985), tavşan kulak arteri (Kennedy ve ark. 1985a) ve bazı vasküler dokularda P_2 purino reseptörlerin P_{2x} alt tiplerinin kontraksiyona aracılık ettikleri gösterilmiştir.

İnsan uterus membranında da P_2 purinerjik reseptörlerin

bulunduğu radyoligand bağlama yöntemi ile gösterilmiştir (Ronca ve ark. 1984).

Çalışmamızda kullandığımız P_2 reseptör antagonisti Suramin ATP'nin oluşturduğu bu kasıcı etkiyi antagonize etti. Meydana gelen antagonizmanın non-kompetatif olduğunu izledik. Suramin ATP'nin log-doza eğrisini sağa kaydırды ancak maksimum cevapta azalma meydana getirdi. P_2 reseptör blokörü olan Suramin'in çeşitli dokularda örn: tavşan kulak arteri (Connor ve ark.1990), kobay mesanesinde (Burnstock ve ark.1987) ATP'nin etkisini P_{2x} reseptörleri aracılığı ile non-kompetatif olarak antagonize ettiği bildirilmiştir (Hoyle ve ark.1990). Suramin'in fare vas deferensinde de P_{2x} purinoreseptörler üzerinde spesifik reversibl bir antagonist olduğu gösterilmiştir (P.M.Dunn ve ark. 1988). Suramin 100 μ M konsantrasyonlar üzerinde kobay mesanesinde P_{2x} purinoreseptörler aracılığı ile bloke edici etki meydana getirmiştir ve bu etkinin P_2 reseptörler için spesifik olduğu bildirilmiştir (Hoyle ve ark. 1990). Den Hertog ve ark. (1989) tarafından yapılan çalışmada kobay tenya kolisinde Suramin'in non-kompetatif antagonist olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda yukarıdaki literatürlerle uyum içerisindedir. Suramin'in P_{2x} reseptörlerinin de antagonisti olduğu 1989'da Den Hertog ve ark. tarafından kobay tenya kolisinde gösterilmiştir. Hoyle ve ark. (1990) Suramin'in P_{2x} ve P_{2y} reseptörler arasında ayırım yapmadığını açıklamışlar ve Suramin'in 10 μ M konsantrasyonların üzerinde kobay mesanesinde P_{2x} ve tenya kolide P_{2x} purinoreseptörlerin antagonisti olarak rol oynadığını bildir-

mişlerdir. Kerr ve ark.1979; Crema ve ark.1983 adlı araştırmacılar RB2'nin P_{2Y} reseptörlerinin spesifik blokörü olduğunu açıklamışlardır. P_{2Y} reseptörlerinin relaksasyona aracılık ettiğini ve gastrointestinal kanalda ATP'nin gevşetici etkilerine karşı non-kompetatif antagonist aktivitesinin olduğunu bildirmişlerdir.Sıçan çekumu (Manzını ve ark. 1986), tavşan mezenterik arteri (Burnstock ve ark. 1987), sıçan portal veni (Redyl ve ark.1987),perfüze sıçan kalbi (Hopwood ve ark.1987), perfüze kobay kalbinde (Hopwood ve ark.1989) yapılan çalışmalarda reaktif blue 2'nin selektif P_{2Y} antagonisti olduğu belirlenmiştir.Bailey ve Haurani (1989) sıçan kolon mukozasında kontraktıl etkilere aracılık eden P_{2Y} reseptörlerinin varlığını gösterdiler. Hoyle ve ark. (1990) yapmış oldukları bir çalışmada ATP'nin sıçan gastrik fundusun daki gevşetici etkinin Suramin ile bloke edilmediğini kobay tenya kolisinde ATP'nin relaksan cevabını antagonize ettiğini bildirmişlerdir. Lefebre ve Burnstock (1990) gastrik fundusun daki bu etkinin P_{2X} ve P_{2Y} reseptörlerinden farklı reseptör ler üzerinden oluştuğunu iddia etmişlerdir. Çalışmamızın amacı uterusu P_{2X} reseptörlerin mevcudiyetini araştırmaktı. P_{2Y} reseptör çalışmaları konuya daha açıklık getirecektir. İleride bunu araştıracağız.

Hoyle ve ark. (1989) kobay mesanesinde yapmış oldukları bir çalışmada 1 mM Suramin'in 10 μ M ATP'nin etkisini potansiyelize ettiğini bildirmişlerdir. Bizim sonuçlarımızda da benzer durumu izledik. 1 mM Suramin'in mevcudiyetinde 100 μ M ATP'nin etkisi potansiyelize oldu. Ancak bu istatistiki açı-

dan önemlilik derecesinde değildi.

Kobay tenya kolisinde yapılan çalışmalarda elektriki stimülasyona karşı oluşan kontraktıl cevaplar, ATP ile oluşan kontraktıl cevaplarla paralellik göstermiştir. 1- 10 μM Suramin bu cevaplara etki göstermezken, 100 μM ve 1mM Suramin konsantrasyonuna bağılı olarak inhibisyon meydana getirmiştir (Hoyle ve ark. 1990). Bizim çalışmamızda da Suramin izole sıçan uterusunun elektriki uyarılara olan cevabını ATP'ye paralel bir şekilde inhibe etti. Purinerjik sinirler, perifer de uterus dahil çeşitli dokularda göz, özofagus, trakea, kalp, karaciğer, pankreas, gastrointestinal kanal, vezikülo seminalis ve santral sinir sisteminin değişik bölgelerinde bulunurlar (Koşay, 1978). Endojen ATP ile eksojen ATP'nin aynı reseptörleri etkiledikleri bildirilmiştir (Kasakov ve ark. 1983). Suraminin bu etkisi bizim yaptığımız çalışma ile birlikte diğer araştırmacılar tarafından desteklenmektedir.

Suramin asetilkolin ve noradrenalinin izole sıçan uterusuna karşı olan cevaplarını değiştirmedir. Suramin kolinerjik, adrenerjik ve histaminerjik reseptörler aracılığı ile oluşan etkilerden ziyade selektif P_2 purinoreseptörler aracılı aktivite oluşturmaktadır (Hoyle ve ark. 1990). Bu etki diğer dokularda gösterilmiştir. Fare vas deferensinin P_2 purinoreseptörlerinde Suramin'in antagonist olabileceği test edilmiş ve 100 μM konsantrasyonda noradrenalin ve karbakol'ün cevaplarına etkisiz kaldığı açıklanmıştır (Dunn ve ark. 1988). Hoyle ve ark. (1990) tenya kolide de noradrenaline (EC_{50} konsantrasyonda) relaksiyon cevaplara veya 10 nM karbakol'e kontraktıl cevapla

ra Suramin'in etki etmediğini göstermişlerdir. Mesane detrisör preparatlarında 10 μM karbakol ve 10 μM histaminin oluşturduğu cevapların, 1 μM ve 1 mM Suramin' in herhangi bir konsantrasyonundan etkilenmediği bildirilmiştir (Bu araştırmacılar Suramin'in etkisinin mesanede P_2 purinoreseptörler için spesifik olduğunu ileri sürmüşlerdir). Kasakov ve ark. (1983) histamin ve karbakol'e cevaplarda Suramin'in herhangi bir değişiklik oluşturmadığını bildirmişlerdir. Bu literatürlerden de anlaşıldığı üzere ATP'nin uterusdaki kontraktıl etkisi asetilkolin açığı çıkararak (ko-transmitter) değil de direkt kendi etkisidir.

Çalışmamızda izole sıçan uterus kası üzerine Suramin tek başına (1 μM mevcudiyetinde) geçici bir süre kontraktıl cevapta artış meydana getirdi. Bu etki ANAPP₃ (Arilazida-aminopropionil - ATP) maddesinde de görülmektedir. Bu madde de P_{2x} reseptör antagonistidir. Başlangıçta reseptörü aktive eden bir antagonisttir (Dunn ve ark. 1988).

Sonuç olarak sıçan uterusunda Suramin'in 10 μM ve üzeri konsantrasyonlarda P_{2x} reseptörü antagonisti olabileceği kanısına varıldı. Çalışmamız bu hipotezi destekleyen çalışmalarla uyum içerisindedir. Suramin, purinoreseptörler aracılı araştırmalar için farmakolojik bir ajandır. P_2 purinoreseptör antagonistlerinin çalışmalarında anahtar rolü oynayabilir. Purinerjik sistemi etkileyen ilaçlar henüz klinikte rutin kullanıma girmemelerine karşın, fizyolojik ve patofizyolojik birçok olaya karışan bu sistemi etkileyen ilaçların ileride kullanılması tedaviye yeni yaklaşımlar sağlayacaktır.

**P₂ PURİNERJİK RESEPTÖR ANTAGONİSTİ SURAMİN'İN İZOLE
SIÇAN UTERUSUNA ETKİSİ**

ÖZET

Tripanosidal bir ilaç olan suramin'in P_{2x} purinerjik reseptörlerde antagonistik etkisi bildirilmiştir. Bu çalışmada sıçan uterusunda suramin'in muhtemel P₂ purinerjik reseptör bloke edici etkisi araştırıldı.

24 saat önceden estrogen verilen sıçanların izole uterusları Krebs solusyonu içeren organ banyosuna konuldu. Cevaplar Igr gerilim altında izotonik olarak kayıt edildi. Uterus preparatlarında ATP'nin 1-100 µM konsantrasyondaki kontraktıl etkisi suramin 1-100µM-1mM tarafından antagonize oldu (Suramin ATP'nin doz-cevap eğrisini sağa kaydırıldı). Diğer taraftan suramin dokuların elektriki stimülasyonuna bağlı kontraksiyonları da benzer şekilde azalttı. Sıçan uterusunda asetilkolin 10 µM kasıcı etkisi ve noradrenalinin 10µM gevşetici etkisi suramin tarafından etkilenmedi.

Bu sonuçlara göre Suramin'in izole sıçan uterusunda, diğer bazı dokularda olduğu gibi P₂ purinerjik reseptörler aracılığı ile etkili olabileceği kanısına varıldı. Dolayısı ile sıçan uterusunda P_{2x} purinerjik reseptörlerin varlığı düşünüldü.

THE EFFECTS OF SURAMIN, ANTAGONIST OF THE P₂ PURINERGIC
RECEPTORS, ON THE ISOLATED RAT UTERUS

SUMMARY

It has been noted that suramin, which is a tropanosidal drug, has antagonistic effects on the P₂ purinergic receptors.

In this study possible inhibitory effects of Suramin on P₂ purinergic receptors were investigated in the rat uterus. 24 hours after the estrogen administration, the rat isolated uterus strips of the rat was placed into the organ bath which was including Kreb's solution. All data were observed under 1 g stretch. Concentration of 1-100 μM ATP had contractive effect, and this was inhibited by suramin (1-100 μM-1mM), (dose-response curve of ATP moved to the right) On the other hand, suramin decreased the contraction which electrical stimulation was caused. The contractive effects of ACh (10μM) and relaxing effect of Noradrenaline (10μM) were not affected by suramin. Therefore it has been concluded that suramin may be effective through the P₂ purinergic reseptor in the rat uterus as it is in the other tissues. In addition, the presence of P_{2x} purinergic receptors in the rat uterus was assumed.

KAYNAKLAR

1. Aram, J.A., Lodge, D.G. and O'Shaughnessy, C.T., Adenosine inhibits NMA receptor mediated epileptiform activity in rat cortical slices, Br.J.Pharmacol., 90, 11, 1987.
2. Bailey, S.J., Hourani, S.M.O., A Novel population of purinoreceptors in rat colon in: Abs.Meeting " Purine nucleosides and nucleotides in cell signalling : Targets for New Drugs" Washington, 1989.
3. Bailey, S.J., Hourani, S.M.O., A study of the purinoceptors mediating contraction in the rat colon, Br.J.Pharmacol., 100, 753-756, 1990.
4. Barsum, G.S., and Gaddum, H.J., The pharmacological estimation of adenosine and histamine in blood, J.Physiol (London)., 85, 1-14, 1935.
5. Bertrand, G., Gross, R., Petit, P., and Loubatieres - Mariani, M.M. , An A₂ - purinoceptor agonist, NECA, potentiates acetylcholine - induced glucan secretion, Br. J.Pharmacol., 96, 500-502, 1989.
6. Blakeley, A.G.H., Dunn, P.M., and Petersen, S.A., A study of the actions of P₁-purinoceptor agonists and antagonist in the mouse vas deferens in vitro. Br.J.Pharmacol., 94, 37-46, 1988.

7. Borea, Andrea Pier., Caparotta Laura., De Biasi Moriella., Fassina Giulima., Froidi, Guglielmina., Pandolfo Loisa., and Ragazzi Eugenio., Effect of selective agonists and antagonists an atrial adenosine receptors and their interaction with Bay K 8644 and [³H] - nitrendipine, Br.J. Pharmacol., 96, 372-378, 1989.
8. Brown, C., Burnstock, G., and Cocks, T., Effects of adenosine 5' - Triphosphate (ATP) and β - - methylene ATP an the rat urinary bladder, Br. J. Pharmacol., 65, 97-102, 1979.
9. Brown, M., Christine, and Collis, M., Michael., Adenosine A₁ receptor mediated inhibition of nerve stimulation - induced contractions of the rabbit portal vein, European Journal of Pharmacology, 93, 277-282, 1983.
10. Brown, L.A., Humphrey, S.M., and Harding, S.E., The anti-adrenergic effect of adenosine and its blockade pertusus toxin: a comparative study in myocytes isolated from quinea-pig, rat and failing human hearts, Br.J.Pharmacol, 101, 484-488, 1990.
11. Bruns, F., Robert., Daly, W., John., and Snyder., Adenosine receptor binding : Structure - activity analysis generates extremely potent xanthine antagonist, Neurobiology, 80, 2077 - 2080, 1983.

12. Bruns, F., Roberts., Fergus, H. James., Badger, W. Edward., Bristol, A. James., Santay, A. Lisa., Hartman, D. Jan., Hays, J. Sheryl., and Huang, C. Che., Binding of the A₁ -selective adenosine antagonist 8-cylopentyl-1,3 -dipropylxanthine to rat brain membranes, Nauyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 335, 59-63, 1987.
13. Burnstock, G., Neurol nomenclature, Nature London , 229, 282-283, 1971.
14. Burnstock, G., Purinergic nerves, Pharmacological Reviews, 24, 509-581, 1972.
15. Burnstock, G., Comparative studies of purinergic nerves, J. Exp. Zool, 194 (1), 103-134, 1975.
16. Burnstock, G., A basis for distinguishing two types of purinergic receptor, In Cell membrane receptors for drugs and hormones; A multidisciplinary, approach, ed. Straub, R. W. Bolis New York, Raven Press, 107-118, 1978.
17. Burnstock, G., Neurotransmitter and trophic factors in the autonomic nervous system, J. Physiol. London, 313, 1-35, 1981.
18. Burnstock, G., Cusacks, N. J., Hilss, J. M., Mackenzie, I., and Meghji, P., Studies on the stereoselectivity of the P₂ - purinocereptor, Br. J. Pharmacol, 79, 907-913, 1983.

19. Burnstock, G., Cusack, N.J., Meldrum, L.A., Effects of phosphorothioate analogues of ATP, ADP and AMP on guinea-pig taenia coli and urinary bladder, Br.J.Pharmacol, 82, 369-374, 1984a.
20. Burnstock, G., Cusack, N.J., and Meldrum, L., Studies on the stereoselectivity of the P₂ - purinoceptor on the guinea - pig vas deferens, Br.J.Pharmac, 84, 431-434, 1985.
21. Burnstock, G., and Kennedy, C., Is there a basis for distinguishing two types of P₂-purinoceptor, Gen.Pharmacol, 16 (5), 433 - 440, 1985.
22. Burnstock, G., and Warland, J.I. Jennifer., Pharmacological study of the rabbit saphenous artery in vitro : a vessel with a large purinergic contractile response to sympathetic nerve stimulation, Br.J.Pharmac, 90, 111-120, 1987.
23. Buys, D.H., Bertrand, G., Gross, R., Laubatières-Mariani, M.M., Evidence for an inhibitory A₁ subtype adenosine receptor on pancreatic insulin-secreting cells, Eur.J.Pharmacol, 136, 109-112, 1987.
24. Calcaterra, N.B., Vicario, L.R., and Roveri, O.A., Inhibition by suramin mitochondrial ATP synthesis. Biochem.Pharm. 37, 2521-2527, 1988.

25. Chapal, Jeannie and Morie-Madeleine Loubatieres -Mariani., Evidence for purinergic receptors on vascular smooth muscle in rat pancreas, European Journal of Pharmacology, 87, 423-430, 1983.
26. Chapal, J., Mariani - Loubatieres, M.M., Roye, M., and Zerbib, A., Effects of adenosine, adenosine triphosphate and structural analogues on glucagon secretion from the perfused pancreas of rat in vitro, Br.J.Pharmacol, 83, 927 - 933, 1984.
27. Chapal, J., Mariani - Loubatieres, M.M., Petit, P., Roye, M., Evidence for an A₂ - subtype adenosine receptor on pancreatic glucagon secreting cells, Br.J.Pharmacol, 86, 565 -569, 1985.
28. Churchill, P.C., Churchill, M.C., Effects of adenosine on renin secretion, ISI.Atlas of Science, Pharmacology, 367 - 373, 1988.
29. Clemon, F. Henry, and Belardinelli, Luiz., Effect of adenosine on atrioventricular conduction, I: Site and characterization of adenosine action in the guinea - pig atrioventricular node, Circulation Research, 59(4), 427 - 436, 1986.
30. Crema, A., Frigo, G.M., Lecchini, S., Manzo, L., Onori, L.

- and Tonini, M., Purinoceptors in the guinea-pig internal anal sphincter, Br.J.Pharmac, 78,599-603, 1983.
- 31.Connor'S.E.O., Wood,B.E., and Leff, P., Relative agonist potencies of methylene substituted ATP analogues for P_{2x} purinoceptors in the rabbit ear artery, Br.J.Pharm. 100, 341, 1990.
- 32.Cusack, N.J., Hourani, S.M.O., Some pharmacological and biochemical interactions of the enantiomers of adenyly 5'-(β - methylene) -diphosphonate with the guinea-pig urinary bladder, Br.J.Pharmacol, 82, 155-159, 1984.
- 33.Cusack, N.J., Hourani, M.O., Susanna., Loizou,D., George Welforc A., Laurance., Pharmacological effects of isopolar phosphonate analogues of ATP on P₂ - purinoceptors in guinea-pig taenia coli and urinary bladder,Br.J.Pharmacol, 70, 791-795, 1987.
- 34.Den, Hertog, A., Nelemans, A., Van Der Akker, J., The inhibitory action of suramin on the P₂ purinoceptor response in smooth muscle cells of guinea-pig taenia caeci, Br.J.Pharmacol, 166, 531 - 534, 1989.
- 35.Drury, A.N.,Szent - Gyorgy, A., The physiological activity of adenosine compounds with special reference to their action upon the mammalian heart, J.Physiol.London, 68, 213 -237, 1929.

36. Dunn, P.M., Blakeley, A.G.H., Suramin : a reversible P₂ purinoceptor antagonist in the mouse vas deferens, Br.J. Pharmacol, 93, 243 - 245, 1988.
37. Dunwiddie, T.V., The physiological roles of adenosine in the central nervous system, Int. Rev. Neurobiol, 27, 63-139, 1985.
38. Edvinsson, L., Kumm-Ikonen, J., and Montuori, M., Microcolorimetric studies on the effect of adenosine receptor agonists and xanthine derivatives on overall metabolism in human platelets, Br.J. Clin. Pharmacol, 22, 685 - 689, 1986.
39. Evans, D.B., Schenden, J.A., Bristol, J.A., Adenosine receptors mediating cardiac depression Life. Sci, 31, 2425-2432, 1982.
40. Fedan, J.S., Hogaboom, G.K., Westfall, D.P., O'Donnell, J. P., Comparison of contractions of the smooth muscle of the guinea-pig vas deferens induced by ATP and related nucleotides, European J. Pharmacol, 81, 193-204, 1982a.
41. Fortes, P.A.G., Ellory, J.C., and Lew, V.L., Suramin : potent ATPase inhibitor which acts on the inside surface of the sodium pump Biochim. Biophys. Acta, 318, 262-272, 1973.
42. Fredholm, B.B., Gustaffsson, L.E., Hedqvist, P., Sollevi,

A., Adenosine in the regulation of neurotransmitter release in peripheral nervous system. In: Berne, R.M., Rall, T.W., Rubio, R. (Eds.) Regulatory function of adenosine, 479-495, Martinus Nishoff, the Hague Boston / London, 1983.

43. Fuji, K., Evidence for adenosine triphosphate as an excitatory transmitter in guinea-pig, rabbit and pig urinary bladder, J. Physiol. London, 404, 39-52, 1988.
44. Gordon, L., John., Review article extracellular ATP: effects sources and fate, Biochem. J., 333, 309-319, 1986.
45. Hogaboom, G.K., O'Donnell, J.P., Fedan, S.J., Purinergic receptors: Photoaffinity analog of adenosine triphosphate is a specific adenosine triphosphate antagonist, Science, 208, 1273-1276, 1980.
46. Holgate, S.T., Finnerty, J.P., and Polosa, R., Mechanisms of purine induced bronchoconstriction in asthma, Arc. Int. Pharmacodyn, 303, 122-131, 1990.
47. Holman, M.E., Hirst, G.D.S., Junctional transmission in smooth muscle and the autonomic nervous system, the nervous system I. volume: Cellular biology of neurons, Kamdel, E.R., Ed. Physiological Society, Washington, 1977.
48. Hopwood, A.M., Burnstock, G., ATP mediates coronary vasocons

triction via P_{2x} -purinoceptors and coronary vasodilation via P_{2y} -purinoceptors in the isolated perfused rat heart, Europ.J. Pharmacol, 136, 49-54 , 1987.

49. Hopwood, M. Alexandra., Lincoln, J., Kirkpatrick, A.K., and Burnstock, G., Adenosine 5'-triphosphate, adenosine and endothelium-derived relaxing factor in hypoxic vasodilatation of the heart, European Journal of Pharmacology , 165 , 323-326, 1989.
50. Hourani, S.M.O., Welford, A.L., Loizou, D.G., and Cusack, N.J., Adenosine 5'- (2-fluorodiphosphate) is a selective agonist of P_2 -purinoceptors mediating relaxation of smooth muscle, European Journal of Pharmacology, 147, 131-136 , 1988.
51. Hoyle, C.H.V., and Burnstock, G., Neuromuscular transmission in the gastrointestinal tract. In Handbook Physiology , section 6: The gastrointestinal system, Vol. 1. Motility and circulation ed. Wood, J.D., American Physiological Society , 435-464 , 1989 .
52. Hoyle, C.H.V., Kinight, G.E., Burnstock, G., Suramin antagonizes responses to P_2 -purinoceptor agonists and purinergic nerve stimulation in the guinea-pig urinary bladder and taenia coli, Br.J.Pharmacol, 99 , 617-621 , 1990.
53. Jahnel, U., Hermann, N., Characterization of adenosine recep-

tors in guinea-pig isolated left atria, Br.J.Pharmacol, 97, 1182-1190 , 1989.

54. Joseph, M.D., Welch, K.M.A., Giovanni D'Andrea, M.D., and Steven, R., Levine, M.D., ATP hyposecretion from platelet dense bodies-evidence for the purinergic hypothesis and a marker of migraine, Headache , 26 , 403-410 , 1986 .
55. Kasakov, L., and Burnstock, G., The use of the slowly degradable analog, α, β -methylene ATP, to produce desensitisation of the P_2 purinoceptor: effect on non-adrenergic, non-cholinergic responses of the guinea-pig urinary bladder, European Journal of Pharmacology , 86 , 291-294 , 1983 .
56. Katsuragi, T., Kuratomi, L., and Furukawa, T., Clonidine-evoked selective P_1 -purinoceptor antagonism of contraction of guinea-pig urinary bladder, European Journal of Pharmacology 121 , 119-122 , 1986.
57. Kayaalp, S.O., Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 2. baskı, Ankara, Nüve matbaası, 1. cilt, 659, 1981.
58. Kayaalp, S.O., Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 2. baskı, Ankara , Nüve matbaası, 3. cilt, 1669-1670, 1983 .
59. Kayaalp, S.O., Purinerjik otonomik sinirler, cilt 3 , Tıbbi farmakoloji, 4. baskı, Feryal matbaası , 2125-2126 , 1989.

60. Kennedy, C., and Burnstock, G., Evidence for two types of P₂ purinoceptor in longitudinal muscle of the rabbit portal vein, European Journal of Pharmacology, 111, 49-56, 1985(b).
61. Kennedy, C., P₁- and P₂-purinoceptor subtypes - An update, Arch. Int. Pharmacodyn, 303, 30-50, 1990.
62. Keppens, S., and Wulf, De, H., Characterization of the liver P₂-purinoceptor involved in the activation of glycogen phosphorylase, Biochem. J., 240, 367-371, 1986.
63. Kerr, D. I. B., Krantis, A. A., A new class of ATP antagonist, Proc. Aust. Physiol. Pharmacol. Soc., 10, 156, 1979.
64. King, A. D., Krizman - Milavec., Schweinitzer - Müller, E., Characterization of the adenosine receptor in porcine coronary arteries, Br. J. Pharmacol, 100, 483-486, 1990.
65. Koşay, S., Purinerjik sistem ve metoklopramid, Ege Univ. Tıp Fak. Dergisi, 17 (4), 705-722, 1978.
66. Lefebvre, R. A., and Burnstock, G., Effect of adenosine triphosphate and related purines in the rat gastric fundus, Arch. Int. Pharmacodyn, 303, 199-215, 1990.
67. Leung, E., Kwatra, M. M., Hosey, M. M., Green, R. D., Characterization of cardiac A₁ adenosine receptors by

- ligand binding and photoaffinity labeling, J.Pharmacol. Exp.Ther. 244, 1150-1156, 1988.
68. Liu, S.F., Carmack Mc, D.G., Ewans, T.W., and Bornes, P.J., Evidence for two P₂-purinoceptor subtypes in human small pulmonary arteries, Br.J.Pharmacol, 98, 1014-1020, 1989.
69. Londos, C., and Wolff,J., Two distinct adenosine sensitive sites on adenylate cyclase Biochemistry,74 (12) 5482-5486, 1977.
- 70.Londos,C., Cooper,F.M.D., and Wolff,J., Subclasses of external adenosine receptors, Biochemistry, 77 (5) 2551-2554, 1980.
- 71.Manzini, S., Hoyle, H. V. C., Burnstock, G., An electrophysiological analysis of the effect of reactive Blue 2, a putative P₂ - purinoceptor antagonist, on inhibitory junction potentials of rat caecum, European Journal of Pharmacology, 127, 197-204, 1986.
- 72.Marmo, E., Filippelli, A., Larussi, D., Matera, C., Lampa, E., Acampora, R., Soreca, S., Tortora, G., Experimental documentation of presence of purinergic receptors at human atria, Int.J.Tiss.Reac., VIII (5), 411-419, 1986.

73. Meldrum, A.L., Burnstock, G., Evidence that ATP Acts as a co-transmitter with noradrenaline in sympathetic nerves supplying the guinea - pig vas deferens, European Journal of Pharmacology, 92, 161-163, 1983.
74. Moss, H.E., and Burnstock, G., A comparative study of electrical field stimulation of the guinea-pig, ferret and marmosed urinary bladder, European Journal of Pharmacology, 114, 311-316, 1985.
75. Nahatsu, K., Drummond, G.I., Adenylate metabolism and adenosine formation in the heart, Am.J.Physiol., 223, 1119 - 1127, 1972.
76. Neufeld, G., and Gaspodarowicz, D., Identification of the fibroblast growth factor receptor in human vascular endothelial cells, J.Cell.Physiol., 136, 537-542, 1988.
77. Martha Windholz, Suramin, The Merck Index, Rahway, N.J. USA, 1167, 1976,
78. Öwal, A.M.D., Per-Olof, Janberg, M.D., Ph.D. + Lars - Ake Brodin, M.D., + Alf Sollevi, M.D., Ph.D. + Effects of adenosine - induced hypotension Myocardial hemodynamics and metabolism in fentanyl anesthetized potiens with peripheral vascular, Anesthesiology, 68, 416-421, 1988.

79. Persson, C.G.A., Erjefalt, I., Andersson, K.E., Positive inotropic and chronotropic effects and coronary vasodilation in vitro by two antiasthmatic xanthines with different abilities to antagonize adenosine, J. Cardiovasc. Pharmacol, 5, 778-785, 1983.
80. Phillis, J.W., Kostopoulos, G.K., Limacher, J.J., Depression of corticospinal cells by various purines and pyrimidines, Can. J. Physiol. Pharmacol, 52, 1226-1229, 1974.
81. Prokopczok - Karwatowska, E., Ciabattani, G., Wennmalm, A., Effect of adenosine on the formation of prostacyclin in the rabbit isolated heart, Br. J. Pharmacol, 94, 721-728, 1988.
82. Reilly, M.W., Saville, L.V., and Burnstock, G., An assessment of the antagonistic activity of reactive blue 2 at P₁ and P₂ purinoceptors : Supporting evidence for purinergic innervation of the rabbit portal vein, European Journal of Pharmacology, 140, 47-53, 1987.
83. Ribeiro, J.A., and Sebastiao, A.M., On the type of receptor involved in the inhibitory action of adenosine at the neuromuscular junction, Br. J. Pharmac. 84, 911-918, 1985.
84. Ribeiro, J.A., and Sebastiao, A.M., Adenosine receptors and calcium; Basis for proposing a third (A₃) adenosine receptor, Progress in Neurobiology, 26, 179-209, 1986.

85. Ronca, T.S., Galbani, P., Gambacciani, M., Some properties of a purinergic receptor solubilized from human uterus membranes, Febs.Lett, 172(2), 335-338, 1984.
86. Scharader, J., Schutz, W., Bardenheuer, H., Role of adenosyl- homocysteine hydrolase in adenosine metabolism in mammalian heart, Biochem.J., 196, 65-70, 1981.
87. Schwabe, U., Lorenzen, A., and Grun, S., Adenosine receptors in the central nervous system, J.Neurol.Transm. 34, 149-155, 1991.
88. Sneddon, P.By., and Westfall, D.P., Pharmacological evidence that adenosine triphosphate and noradrenaline are co-transmitters in guinea-pig vas deferens, J.Physiol., 347, 561-580, 1984.
89. Sneddon, P., and Burnstock, G., ATP as a co-transmitter in rat tail artery, European Journal of Pharmacology, 106, 149 - 152, 1985.
90. Spark, H.V., Bardenheuer, H., Regulation of adenosine farmation by the heart, Circ.Res. 58 (2), 193-201, 1986.
91. Sturani, E., Zippel, R., Morello, L., Brombillo, R., Alberghina, L., Dissociation of the ligand and

- dephosphorylation of the platelet-derived growth factor receptor, Febs.Lett. 233, 371-374, 1988.
- 92.Szegi, J., Szentmiklasi, A.J., Cseppento, A., Purinergic receptors in the adrenergic neurotransmission of the heart Neuropharmacology, 289-294, 1985.
- 93.Şadan,G., Aynacıoğlu, Ş., P₁ - purinoreseptör agonistlerinin kobay sağ atrium kontraksiyonlarında oluşturduğu inhibisyona Klonidin'in etkisi, Akdeniz Üniv.Tıp Fak.Dergisi, 8 (3-4), 35-49, 1991.
- 94.Ulugöl, A., Dökmeci, İ., Purinerjik reseptörler, Trakya Üniv.Tıp Fak.Dergisi, 567, 441-447, 1989-1990.
- 95.Van Calker, D., Müller, M., Homprecht, P., Adenosine regulates via two different types of receptors, the accumulation of cyclic AMP in cultured brain cells, J.Neurosci, 33, 999 - 1005, 1979.
- 96.Zimmerman, H., Turnover of adenosine nucleotides in cholinergic synaptic vesicles of the torpedo electric organ, Neuroscience, 3, 827-836, 1978.
- 97.White,T.D., Chaudhry,A., Vohra,M.M., Webb, D., and Lessie A.R., Characteristics of P₂ (nucleotide) receptors mediating contraction and relaxation of rat aortics

strips: Possible Physiological relevance, European Journal of Pharmacology, 118, 37-44, 1985.

98. Wiklund, P.N., and Gustafsson, E.L., Indications for P₂ - purinoceptor subtypes in guinea-pig smooth muscle, European Journal of Pharmacology, 148, 361-370, 1988.

99. Williams, T.L., Tremble, M.P., Lavin, F.M., and Sunday, E.M., Platelet - derived growth factor receptors form a high affinity state in membrane preparations, The Journal of Biological Chemistry, 259 (8), 5287-5294, 1984.

100. Williams, M., Purino receptors in mammalian tissues: Pharmacology and functional significance, Ann. Rev. Pharmacol Toxicol, 27, 315-345, 1987.

ÖZGEŞMİŞ

1960 yılında Tokat'ın Erbaa ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Erbaa'da yaptım. 1978 yılında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne girdim. Aynı Fakülteden 1982 yılında mezun oldum. 1984 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesinde biyolog olarak çalışmaya başladım. 1985 yılında Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladım. 1988 yılında Bilim Uzmanlığı aldım. Halen Farmakoloji Anabilim Dalı'nda görevimi sürdürmekteyim.