

24573

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

GONADAL STEROİD TEDAVİSİ YAPILAN
OVARIKTOMİLİ SIÇANLARDA
NİTREN...DİPİN VE RİTODRİN'İN TOKOLİTİK
ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr.H.Ekme1 OLCAY
Uzmanlık Tezi

Danışman Öğretim Üyesi
Prof.Dr.Necdet DOĞAN

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

KONYA - 1992

ÖNSÖZ

Bu tezi hazırlamamda konu seçiminden yazımına kadar her aşamada bana yol gösteren, destek olan ve yardımlarını esirgemeyen değerli Hocam Prof.Dr. Necdet DOĞAN'a saygı ve şükranlarımı sunarım.

Ayrıca araştırmam için gerekli deney hayvanlarının sağlanmasında yardımcı olan Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr.İsmail Hakkı ULUS'a teşekkürü bir borç bilirim.

İ Ç İ N D E K İ L E R

BÖLÜM I	
Giriş ve Genel Bilgiler	1
BÖLÜM II	
Materyal ve Metod	9
II.1. Gruplandırma	9
II.2. Biyolojik preparatların hazırlanması	9
II.3. Deneysel prosedür	10
II.4. Besleyici solüsyonlar ve ilaçlar	13
II.5. İstatistiksel yöntemler	13
BÖLÜM III	
Bulgular	15
BÖLÜM IV	
Tartışma ve Sonuç	24
BÖLÜM V	
Özet	29
BÖLÜM VI	
Literatür	31

B Ö L Ü M I

GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

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

Bilindiği gibi, tokolitik (uterus düz kasını gevşeten) ilaçlar pratikte prematür doğum eylemini durdurmak ve gebeliği miyadına kadar sürdürmek amacıyla kullanılırlar. Tokolitik ajan olarak klinikte daha ziyade etilalkol, magnezyum sülfat, prostaglandin sentez inhibitörleri kullanılmakta olup, son yıllarda, bu ilaçların yerine selektif etkili β_2 -adrenerjik reseptör agonistleri ve bu gruptan özellikle ritodrin uygulanmaktadır. Ritodrin'in uterus düz kası üzerine olan etkisinin bu grubun diğer iki üyesi olan terbutalin ve salbutamol'a göre daha selektif olduğu dikkati çekmekte ise de, bu ilacın uterus dışındaki diğer düz kaslı yapıları ve bazı metabolik olayları da belirgin olarak etkilediği bilinmektedir. Nitekim pulsasyon basıncının artması, diastolik basınçta düşme, pulmoner ödem, taşikardi, tremor, kan glukoz ve insülin düzeylerinde artış ve hipopotasemi ritodrin uygulanmasında karşılaşılan en önemli yan tesirler arasında sayılabilir (8,17,18). Bu yan tesirler akut ritodrin uygulaması ile yapılacak olan tedaviyi engelleyen önemli faktörler olarak kabul edilmektedir. Ayrıca ritodrinin tekrarlanan dozları ile ortaya çıkan ve esas olarak β -adrenerjik reseptörler düzeyinde oluşan bazı önemli sakıncalar da görülmektedir.

β -adrenerjik reseptör agonistlerinin temel etkileri miyometriyumda β -adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu üzerinden olmaktadır. Bu ago-

nistlerle kenetlenen reseptör, guanin nukleotidi düzenleyici proteinle yüksek afiniteli kompleks oluşturur. Oluşan bu kompleks membrana bağlı adenilat siklaz enzimini aktive ederek adenosin trifosfat tan siklik adenosin monofosfat (c - AMP) oluşmasını sağlar. Bu son ürün intraselüler bir seri biyokimyasal olay sonucu intraselüler kalsiyum düzeyini düşürür ve uterus düz kasının kasılmasını önler. Ancak, bu ilaçların sık kullanımı β - adrenerjik reseptör fonksiyonları üzerinde önemli değişikliklere neden olur. Başlangıçta aktive reseptör guanin nukleotidi regülatör protein kompleksinde ayrışma (desensitizasyon) oluşur ve böylece adenilat siklaz enzimi aktivasyonu gerçekleşemez. Ayrıca, ritodrin uygulanmasına devam edildikçe miyometriumdaki β -adrenerjik reseptörlerin sayısı da azalmaya başlar (Down regulation) (12).

β_2 -adrenerjik reseptör agonisti olan ilaçların ve bu gruptan ritodrin'in yukarıda açıklanan sakıncaları yüzünden, daha uygun tokolitik ilaçların geliştirilmesi üzerine olan çalışmalara son yıllarda önem verilmiştir. Bu konuda yapılan çalışmaların özellikle kalsiyum kanal bloörleri üzerinde yoğunlaştığı dikkati çekmektedir. Kalsiyum kanal bloörleri (kalsiyum antagonistleri) temel etkilerini hücreye kalsiyum girişini bloke ederek gösterirler ve bu etkileri nedeniyle tedavide antihipertansif, antianginal ve antiaritmik ilaç olarak kullanılırlar.

Kalsiyum düz kaslı yapılarda depolarizasyondan sorumlu temel katyondur. Uyarılabilir hücreler dinlenme döneminde bu iyon pek geçirgen değildirler. Dinlenme döneminde ekstraselüler sıvıdaki kalsiyum konsantrasyonu (1 mM) intraselüler sıvıdaki konsantrasyona (0.1 μ M) nazaran 10.000 kez daha yüksektir. Eksitasyon - kontraksiyon kenetinin sağlanabilmesi için sitoplazmik kalsiyum düzeyinin artması gerekir. Kalsiyum iyonunun ekstraselüler ortamdan intraselüler ortama geçişi makromolekü-

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

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

Bu çalışmada kasıcı ajan olarak kullanılan asetilkolin memeli dokularında muskarinik ve nikotinik tipteki reseptörleri aktive eden koli-

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

Bu çalışmada kullanılan diğer bir uterus kasıcı ajan (uterotonik) olan oksitosin ise uterusunda kendisine özgü reseptörleri aktive ederek kasılma oluşturur. Kasılmaların frekans ve amplitüdünü arttırır. İnsanda yapılan çalışmalar uterusunda oksitosin reseptör sayısının gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak arttığını ortaya koymuştur. Reseptör aktivasyonu sonucu gerçekleşen ritmik aktivite ve kasılma amplitüdü artışında rol oynayan intraselüler ara mekanizmalar henüz kesin olarak bilinmemektedir. Asetilkolin için belirtildiği gibi, oksitosine bağlı kasılmalarda da intraselüler kalsiyum düzeyinin artması temel olay niteliğindedir. Oksitosine bağlı kasıcı etkide bu ajanın fosfoinositid hidrolizini arttırıcı etkisinin ve buna bağlı olarak gerçekleşen intraselüler kalsiyum rilizinin payı nisbeten azdır. Buna karşın, kasıcı etkideki temel mekanizmanın voltaja duyarlı kalsiyum kanallarından kalsiyum influx'ına bağlı olduğu savunulmaktadır (15).

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

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

Sıçanda uterus dokusunun oksitosin'e verdiği kasılma tarzındaki cevapların derecesinin hayvanın fizyolojik durumuna göre değiştiği bilinmektedir. Miyometriyum dokusunun oksitosin'e duyarlılığı siklusun di-östrus ve metöstrus dönemlerinde zayıftır. Buna karşın proöstrus ve östrus fazlarında duyarlılık artmaktadır. Yapılan birçok çalışmada estrogen verilmesinin uterus düz kasında oksitosin reseptör sayısını artırdığı ve buna paralel olarak oksitosin'e verilen kasıcı cevabın da belirgin olarak güçlendiği bildirilmiştir (9,16,19,22). Estrogen uygulanmasından sonra oluşan oksitosin cevaplarındaki artışın kalsiyum iyonu ile ilişkisine yönelik çalışmalarda, estrogen'in uterus düz kasında kalsiyum influx'ını artırdığı ve bu etkinin muhtemelen kalsiyum kanal sayısındaki artma sonucu olduğu saptanmıştır (2). Nitekim sıçan uterusu izole plazma membranında yapılan bu çalışmada estrogenin nitrendipin'in bağlanma yeri sayısını artırdığı, bu etkinin uterus dokusu için spesifik olduğu ve bu nedenle uretra ve sidik kesesinde böyle bir etkinin gözlen-

mediği belirtilmiştir. Bu bulguyu destekleyen diğer bir çalışma da Batra ve Sjörgen (3) tarafından yapılmış olup estrogen'in uterus düz kasında ekstraselüler kalsiyum influx'ını 2 kez artırdığı gösterilmiştir.

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

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

rojen uygulanan grupta ise kasılma tarzında cevap elde edildiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu bulguya dayanarak projesteron'un intraselüler organellere Ca^{++} bağlanmasını artırdığını savunmuşlardır. Kalsiyum içeren yüksek K^+ 'lu ortam veya kalsiyumsuz yüksek K^+ 'lu ortam kullanılarak yürütülen yukarıdaki çalışmalar değerlendirildiğinde; estrogenin esasen ekstraselüler Ca^{++} girişini artırdığını, buna karşın projesteron'un intraselüler kalsiyumun salıverilmesi ile ilgili mekanizmaları etkilediğini söylemek mümkündür.

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

Literatürde, hormonal duruma göre ritodrin ve kalsiyum antagonistlerinin tokolitik etkinliklerinin değişimi ve bu ilaçların etkinliklerinin karşılaştırılması konusunda herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Buna ilaveten, nispeten yeni sayılan ve bir dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokörü olan nitrendipin'in tokolitik etkisi konusunda da yeterli bilgi bulunmadığı ve uterus dokusunda kalsiyum kanal blokörleri

ile yapılan çalışmaların daha ziyade nifedipin, diltiazem ve verapamil üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Bu nedenle sunulan bu çalışmada gonadal steroidlerle tedavi edilen ovariectomili sıçanlardan alınan uteruslarda kasıcı ajan olarak asetilkolin, oksitosin ve KCl kullanılmış olup, bu ilaçlara bağlı kasılmalarda nitrendipin ve ritodrin'in tokolitik etkileri araştırılmıştır.



B Ö L Ü M II

MATERYAL VE METOD

II. 1. Gruplandırma

Bu çalışmada 180-230 g ağırlığında dişi sıçanlar kullanılmış olup, asetilkolin ve oksitosine bağlı uterus düz kası kasılmalarında ritodrin ve nitrendipin'in tokolitik etkileri mukayese edilmiştir. Gebelik ve emzirme dönemlerinde bulunan hayvanlar çalışmaya dahil edilmemişlerdir. Östrus siklusu gözetilmeksizin seçilen hayvanlar kontrol ve deneme (ovarietomili grup) grubu şeklinde gruplandırılmışlardır.

KONTROL GRUBU

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

DENEME GRUBU

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

II. 2. Biyolojik preparatın hazırlanması :

Kontrol ve deneme grubu olarak hazırlanan sıçanlar çalışma günü başlarına vurularak sersemletilmiş ve a. carotis'leri kesilerek öldürülmüşlerdir. Karın boşluğu açılarak, Cornu uteri'ler besleyici solüsyon konulmuş bir petri kutusu içerisine alınmıştır. Burada çevre dokulardan temizlenen her iki Cornu % 95 O₂ - % 5 CO₂ karışımı ile sürekli olarak

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

II. 3. Deneysel prosedür :

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

1. Bölüm :

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

Çalışmalarda asetilkolin kümülatif tarzda uygulandı. Maksimum kararlı amplitüde ulaştıktan sonra, bir sonraki konsantrasyona geçilerek kontrol konsantrasyon-cevap eğrileri elde edildi. Bu aşamadan sonra, dozu belirli aralıklarla yıkandı. Bazal düzeye inildikten sonra ortama ritodrin veya nitrendipin ilave edilerek 20 dakika süreyle beklenildi. Bu sürenin bitiminde asetilkolin' le tekrar konsantrasyon-cevap eğrisi alındı. Çalışma yukarıda belirtilen şekilde ritodrin ve nitrendipin'in 3 farklı konsantrasyonu (10^{-8} - 10^{-7} - 10^{-6} M) denenerek sürdürüldü. Asetilkolin-ritodrin ve asetilkolin-nitrendipin etkileşmelerine ayrı dokularda bakıldı.

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

Bir diğer agonist olan oksitosin'in kullanıldığı çalışmalarda da sabit doz yöntemi seçildi. 1.5 saat dinlenme periyodunun bitiminde 100 mU/ml konsantrasyonda uygulanan oksitosin'le 30 dakika arayla, iki kontrol cevap alındı. Değerlendirmelerde ikinci kontrol cevap kullanıldı. Bu işlemden sonra ortama 10^{-8} M konsantrasyonda ritodrin veya nitrendipin ilave edilerek 20 dakika süreyle beklenildi ve belirtilen dozda uygulanan oksitosin'e verilen cevap gözlemlendi. Aynı işlem 10^{-7} - 3×10^{-7} ve 10^{-6} M ritodrin veya nitrendipin varlığında tekrarlandı. Oksitosin-ritodrin ve oksitosin-nitrendipin etkileşmelerine ayrı dokularda bakıldı.

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

2. Bölüm :

Uterus kasıcı ajan olarak KCl'nin kullanıldığı bu bölümde ise nitrendipin'in ekstraselüler ortamdaki kalsiyum'un intraselüler ortama geçişini ne şekilde etkiledi araştırılmıştır. Normal besleyici solüsyonda yıkanarak 1.5 saat süreyle dinlendirilen preparatlar 0.77 mM Na_2 -EDTA içeren kalsiyum'suz ortamda 1 saat süreyle inkübe edildiler. Bu sürenin bitiminde kalsiyum'suz yüksek K^+ (80 mM)'lu solüsyonla muamele edilen dokuya kümülatif konsantrasyonlarda kalsiyum (10^{-4} - 2.5×10^{-3} M) ilave

edilerek oluşan cevap yazdırıldı. Daha sonra, normal solüsyonla yıkılarak gevşetilen preparatta, aynı işlem kümülatif dozda kalsiyum ilavesinden önce ortamda 10^{-8} M nitrendipin varlığında tekrarlandı. Nitrendipin dokuyla 20 dakika süreyle temasta bırakıldı.

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

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

3. Bölüm :

Çalışmanın bu aşaması submaksimal konsantrasyonda uygulanan asetilkolin (3×10^{-5} M)'le oluşan kasılma cevabı üzerine ritodrin ve nitrendipin'in gevşetici etkilerini incelemek için düzenlenmiş olup deneme, belirtilen konsantrasyonda uygulanan asetilkolin'e verilen cevap maksimum kararlı amplitüde ulaştıktan sonra ortama kümülatif tarzda ritodrin veya nitrendipin ilave edilerek sürdürölmüştür.

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

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

II.4. Besleyici solüsyon ve ilaçlar :

Deneylerde kullanılan de Jalon solüsyonunun içeriği mM olarak şöyledir :

NaCl		153
KCl		5.63
CaCl ₂		0.54
NaHCO ₃		5.90
Glukoz		2.77

Deneylerde aşağıda belirtilen ilaçlar kullanıldı :

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

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

Nitrendipin'le yürütülen çalışmalarda banyonun ışıktan korunmasına özen gösterilmiştir.

II. 5. İstatistiksel yöntemler :

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

Eşleştirilmiş t testi :

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

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

Eşleştirilmemiş t testi :

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

S = standard sapma

x = aritmetik ortalama

n = deneme sayısı

P değerinin 0.05'den küçük bulunması anlamlı kabul edilmiştir.

B Ö L Ü M III

BULGULAR

III.I.1. Asetilkolin-ritodrin ve asetilkolin-nitrendipin etkileşmesi:

Asetilkolin'in kümülatif konsantrasyonlarının verilmesi sonucunda kontrol ve deneme gruplarında konsantrasyona bağımlı bir şekilde kasılma oluştu (Şekil 1). Asetilkolin için hesaplanan pD_2 değeri kontrol ve deneme grubunda sırasıyla 7.09 ± 0.35 ve 6.37 ± 0.19 olarak bulundu. Her iki grup için hesaplanan bu değerler mukayese edildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı saptandı ($p > 0.05$).

Asetilkolin'le elde edilen maksimum kasılma cevabının, gerek kontrol gerekse deneme grubunda 3 farklı konsantrasyonda uygulanan ritodrin ve nitrendipin (10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} M) ilavesiyle inhibisyonu verilen doza bağımlı ve oluşan inhibisyon anlamlıdır ($p < 0.05$) (Şekil 2,3). Asetilkolin'le elde edilen kasılma cevabında ritodrin ve nitrendipin uygulaması ile saptanan % maksimum inhibisyon değerleri tablo 1'de de gösterilmiştir. Kontrol ve deneme gruplarında ritodrin'le elde edilen maksimum inhibisyon değerleri mukayese edildiğinde ritodrin'in deneme grubunda kullanılan her üç konsantrasyonunda da daha etkin olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). Buna karşın nitrendipin kullanılan çalışmalarda ise, asetilkolin'e bağlı maksimum kasılma cevabının inhibisyonunda kontrol ve deneme grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$).

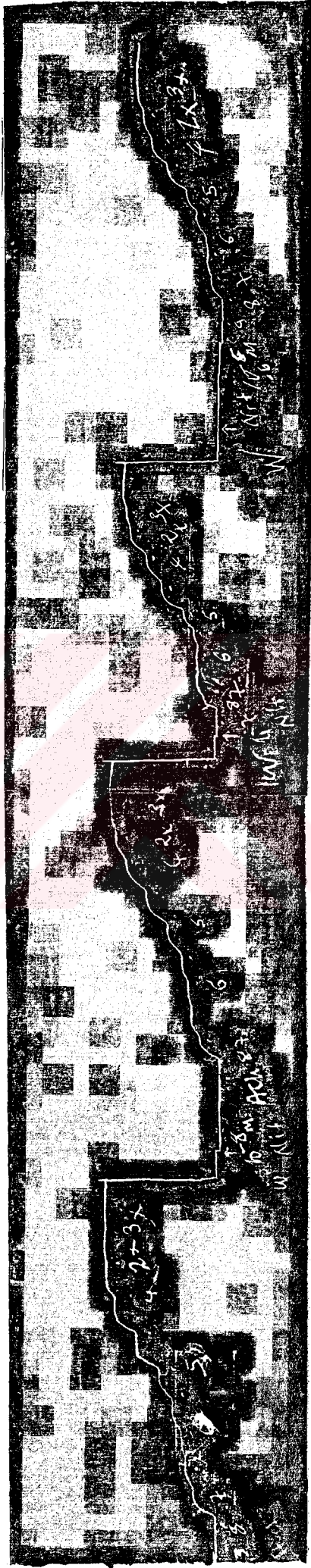
III.1.2. Oksitosin-ritodrin ve oksitosin-nitrendipin etkileşmesi:

Kontrol grubunda, 100 mU/ml oksitosin'in neden olduğu maksimum kasılma cevaplarının ritodrin'le inhibisyonu değerlendirildiğinde; 10^{-8} M ritodrin etkisiz olduğu halde denenen diğer üç ritodrin dozu maksimum

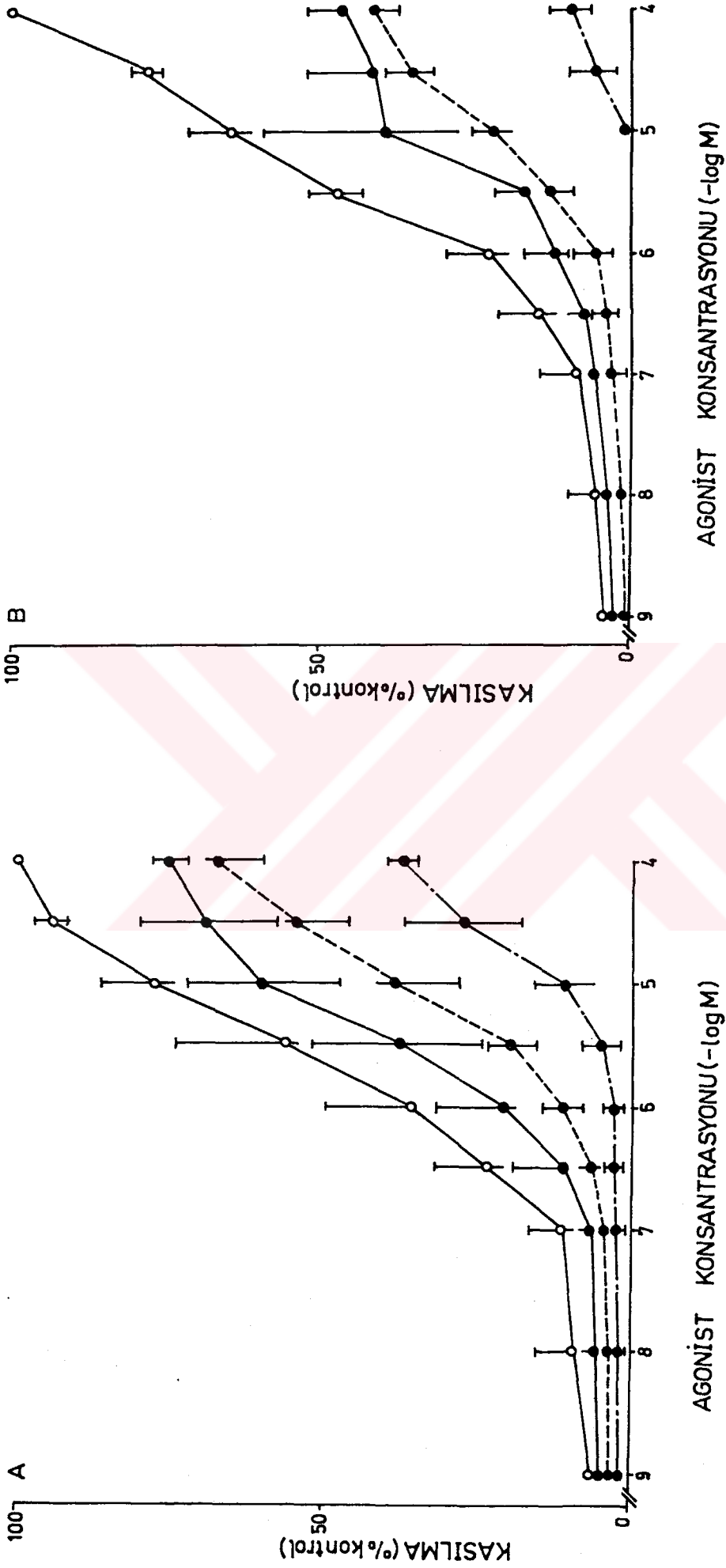
A



B



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

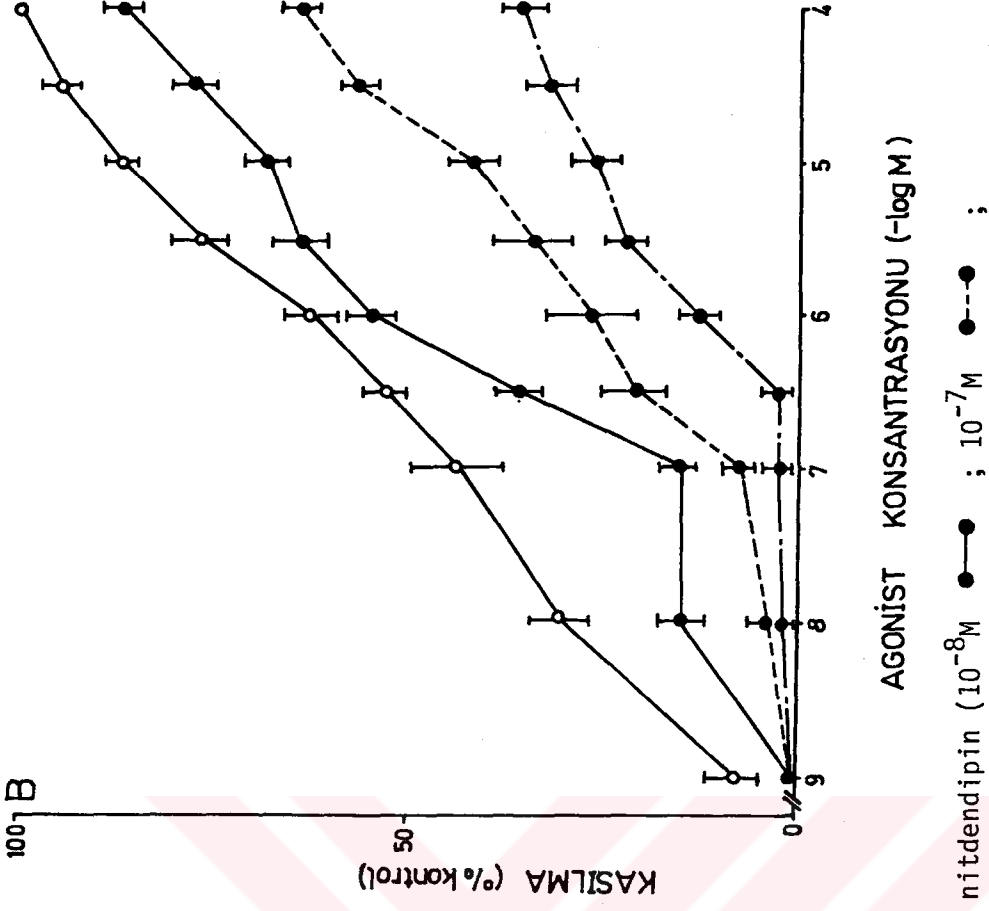
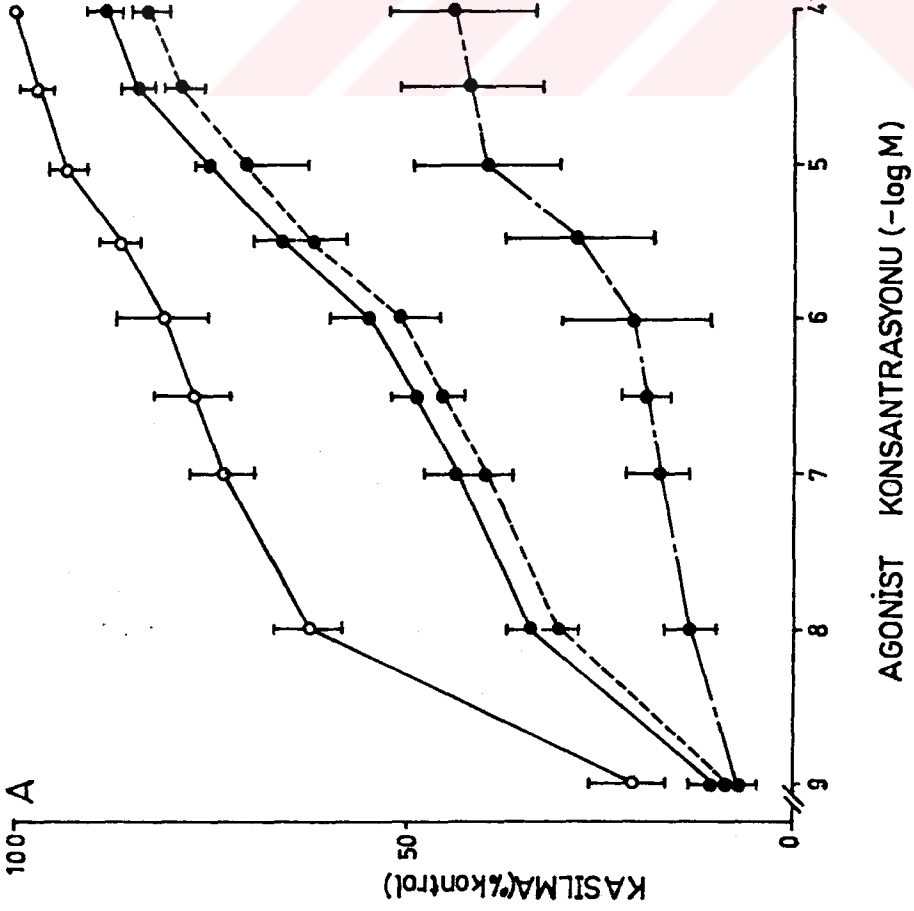


ŞEKİL 2- Rat uterusunda asetilkolin'in etkisi (o-o) ve ritodrin ($10^{-8}M$ ●—● ; $10^{-7}M$ ●---● ;

$10^{-6}M$ ●---●)'le etkileşimi.

A-Kontrol grubu
B-Deneme grubu

Bu ve diğer şekillerde dikey çubuklar standart hatayı yansıtmaktadır.



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

A-Kontrol grubu
B-Deneme grubu

<u>ANTAGONİST</u>	<u>KONSANTRASYON (M)</u>	<u>KONTROL GRUBU</u>	<u>n</u>	<u>DENEME GRUBU</u>	<u>n</u>
Ritodrin	10^{-8}	25.2 $\pm$ 3.96	8	55.5 $\pm$ 12.12	7
	10^{-7}	31.4 $\pm$ 7.01	8	59.5 $\pm$ 5.73	7
	10^{-6}	60.4 $\pm$ 3.18	8	90.25 $\pm$ 1.43	7
Nitrendipin	10^{-8}	11.5 $\pm$ 2.66	7	14.34 $\pm$ 1.63	7
	10^{-7}	17.75 $\pm$ 2.66	7	37.13 $\pm$ 2.12	7
	10^{-6}	56.0 $\pm$ 10.24	7	62.34 $\pm$ 1.45	7

TABLO 1- Asetilkolin'e bağımlı maksimum kasılma cevabının ritodrin ve nitrendipin ile % inhibisyonu.

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

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

III.2. Nitrendipin'in KCl'e bağlı kasılmalar üzerine olan inhibitory etkisi:

Kontrol grubunda, yüksek K^+ (80 mM)'lu - Ca^{++} 'suz ortama 10^{-4} - 2.5×10^{-3} M aralığında ilave edilen kalsiyum'la elde edilen uterus kasılmaları 10^{-8} M nitrendipin varlığında % 67.17 ± 4.17 oranında inhibe olmuştur. Buna karşın deneme grubunda aynı dozda uygulanan nitrendipin'le % 83.0 ± 1.44 oranında inhibisyon elde edilmiş olup, bu değer kontrol grubunda elde edilen değere göre anlamlı olarak yüksektir ($p < 0.05$).

III.3. Asetilkolin'le elde edilen kasımlarda ritodrin ve nitrendipin'in gevşetici etkilerinin karşılaştırılması :

Kontrol ve deneme gruplarında submaksimal konsantrasyon (3×10^{-5} M)'da uygulanan asetilkolin'le oluşan kasımlarda ritodrin ve nitrendipin'in gevşetici etkisi karşılaştırılmış ve IC_{50} , $t_{1/2}$ ve % maksimum inhibisyon değerleri tablo 3'de gösterilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi ritodrin ve nitrendipin için hesaplanan IC_{50} değerleri deneme grubunda kontrol grubuna nazaran daha düşük bulunmuştur ($p < 0.05$). Ben-

<u>ANTAGONİST</u>	<u>KONSANTRASYON (M)</u>	<u>KONTROL GRUBU</u>	<u>n</u>	<u>DENEME GRUBU</u>	<u>n</u>
Ritodrin	10^{-8}	4.84±4.05	8	26.0±5.18	8
	10^{-7}	11.0±3.26	8	36.80±4.31	8
	3×10^{-7}	11.67±5.53	8	52.40±6.88	8
	10^{-6}	28.0±6.65	8	65.4±7.09	8
Nitrendipin	10^{-8}	25.34±2.27	7	42.0±2.87	6
	10^{-7}	35.67±2.80	7	66.2±2.84	6
	3×10^{-7}	50.0±3.15	7	77.80±3.72	6
	10^{-6}	72.67±4.36	7	90.60±1.21	6

TABLO 2- Oksitosin'e bağımlı maksimum kasılma cevabının ritodrin ve nitrendipin'le % inhibisyonu.

	ANTAGONİST	IC ₅₀ (M)	t (1/2 (dok)	% MAKSİMUM GEVŞEME	n
KONTROL GRUBU	Ritodrin	$2.30 \times 10^{-8} \pm 0.51$	2.59 ± 0.58	90.67 ± 3.29	7
	Nitrendipin	$5.64 \times 10^{-6} \pm 0.32$	11.91 ± 1.07	93.34 ± 5.08	7
DENEME GRUBU	Ritodrin	$2.58 \times 10^{-9} \pm 0.58$	0.93 ± 0.11	82.67 ± 3.09	7
	Nitrendipin	$6.4 \times 10^{-9} \pm 1.90$	4.21 ± 0.36	84.67 ± 0.98	7

TABLO 3- Asetilkolin'e bağılı kasılmaların ritodrin ve nitrendipin'le inhibisyonunda IC₅₀ t 1/2 ve % maksimum gevşeme değerleri.

zer durum ritodrin ve nitrendipin'e ait $t_{1/2}$ değerleri içinde geçerlidir ($p < 0.05$). Buna karşın, kontrol ve deneme grublarında ritodrin ve nitrendipin'le elde edilen % maksimum gevsme cevapları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$).

Deneme grubunda hormon tedavisinin uterus büyümesi üzerine olan etkisini belirlemek amacıyla, her çalışmanın bitiminde Cornu uteri'ler tartılarak kontrol ve deneme grublarında elde edilen tartım sonuçları karşılaştırılmıştır. Cornu ağırlıkları kontrol ve deneme grublarında, sırasıyla 138 ± 0.23 ve 182.3 ± 0.57 mg olarak bulunmuştur. Bu iki değer birbirinden anlamlı olarak farklıdır ($p < 0.05$).

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

B Ö L Ü M IV

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sunulan bu çalışmada östrojen tedavisi yapılmış kontrol grubuyla östrojenle birlikte progesteron uygulaması yapılan sıçanlardan alınan uterusların ağırlıklarının farklı olduğu görülmüştür. Bu fark estrojenle yapılan tedavinin süresiyle ilişkilidir. Nitekim, estrojenin intraselüler estrojen reseptörleri aracılığıyla uterusu büyümeyi hızlandırıcı etki oluşturduğu bilinmektedir (11).

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

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

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

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

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

Literatürde gonadal steroid uygulamasının asetilkolin ve kalsiyum antagonistlerinin tokolitik etkinliklerinin değişimi üzerine ve bunların karşılaştırılması konusunda herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Sıçan izole uterus düz kasında yapılan bu çalışmada asetilkolin'e bağlı cevapların nitrendipin'le inhibisyonunda, her ne kadar deneme grubunda

nitrendipin'e ait IC_{50} ve $t_{1/2}$ değerleri daha dūřuk bulunmuşsa da, nitrendipin'le elde edilen % maksimum inhibisyon değerleri açısından kontrol ve deneme grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu bulgu yukarıda da belirtildiği gibi asetilkolin'e bağlı kasılmaların hormonal durumdan etkilenmediğini desteklemekte olup, ayrıca asetilkolin'e bağlı cevapların nitrendipin'le inhibisyonunda hormonal değişimlerin bir farklılığa neden olmadığını ortaya koymaktadır.

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

lan kalsiyum antagonistinin türüne göre de değişmektedir. Nitekim gebe uterusu diğeri bir kalsiyum antagonisti olan diltiazem'le elde edilen bulgular, bu ajanın tokolitik etkisindeki değişimlerin ovarium steroidleri dışındaki bazı faktörlere de bağlı olabileceğini göstermektedir.

Sunulan bu çalışmada nitrendipin'in ekstraselüler kalsiyumun intraselüler ortama geçişini (influx) ne şekilde etkilediğini araştırmak amacıyla 0.77 mM Na₂-EDTA içeren kalsiyum'suz yüksek K⁺ (80 mM)'lu solüsyon kullanılmıştır. Solüsyona ilave edilen Na₂-EDTA'nın hücre membranına zayıf bir şekilde bağlı bulunan kalsiyum'u mobilize ederek bağladığı bilinmektedir (14). Yukarıda belirtilen ortamda inkübe edilen dokuda kasılma oluşmamıştır. Buna karşın kümülatif tarzda kalsiyum ilavesi kontrol ve deneme grubunda kalsiyum konsantrasyonu ile ilişkili olarak cevap oluşturmuştur. Ortama 10⁻⁸ M nitrendipin konulması her iki grupta da kalsiyum ilavesiyle elde edilen kasılmaları inhibe etmiş ve deneme grubunda nitrendipin daha etkin bulunmuştur.

Gonadal steroid uygulaması yapılmış olan deney hayvanlarından alınan uteruslarda kalsiyum antagonistlerinin ekstraselüler kalsiyum influx'ını hangi derecede inhibe ettikleri konusunda birçok çalışma yapılmıştır. Yüksek K⁺'lu ortam kullanılarak yapılan bir çalışmada, estrogen veya estrogen'le birlikte projesteron uygulanması KCl'e bağlı kasılmaların amplitüdünde artma oluşturmuştur (13). Buna karşın, aynı çalışmada sadece projesteron verilmesinin kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılığa neden olmadığı savunulmuştur. Bu bulgu estrogen tedavisinin ekstraselüler kalsiyum influx'ını stimüle ettiğini ve böylece intraselüler serbest kalsiyum düzeyinde yükselme oluşturduğunu ortaya koymakta olup bu özellik diğeri bazı araştırmacılar (3,26) tarafından da doğrulanmıştır. Ancak izole sıçan uterusunda yapılan bu çalışmada nitrendipin'in

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

Nitrendipin-KCl etkileşmesinin gonadal steroid tedavisiyle ne şekilde değiştiği konusunda herhangi bir literatür bilgisi bulunmamaktadır. Sunulan bu çalışmada, bir 1-4 dihidropiridin grubu kalsiyum antagonisti olan nitrendipin'in KCl'e bağlı cevapları deneme grubunda daha güçlü bir şekilde inhibe ettiği saptanmıştır.

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

B Ö L Ü M V

ÖZET

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

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

Kontrol ve deneme grubundaki sıçanlardan alınan Cornu uteri'ler temperaturü 37 °C'de sabit tutulan ve % 95 O₂-% CO₂ karışımı ile sürekli gazlandırılan de Jalon solüsyonu içerisine alınarak agonist ve antagonist ilaçlara verilen cevaplar izotonik olarak kaydedilmiştir.

Asetilkolin'e ait pD₂ değerlerinin karşılaştırılmasında gerek kontrol gerekse deneme grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Asetilkolin'le elde edilen kasılmaların üç farklı konsantrasyonda (10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶ M) ritodrin ve nitrendipin'le inhibisyonunda, ritodrin deneme grubunda daha etkin bulunmuştur. Submaksimal konsantrasyonda (3x10⁻⁵ M) uygulanan asetilkolin'e bağlı kasılma cevaplarında ritodrinle elde edilen % maksimum gevşeme cevapları farksız olduğu halde deneme grubunda ritodrin için hesaplanan IC₅₀ ve t_{1/2} değerleri daha düşük bulunmuştur. Benzer durum nitrendipin-asetilkolin etkileşmesi içinde geçerlidir.

Deneme gurubunda kontrol grubuna göre, ritodrin ve nitrendipin'in oksitosin'le elde edilen kasılma cevaplarını daha güçlü bir şekilde antagonize ettiği saptanmıştır. Benzer şekilde potasyum klorür'le elde edilen kasılma cevaplarının inhibisyonunda nitrendipin deneme grubunda daha etkin bulunmuştur.

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

B Ö L Ü M VI

LİTERATÜR

1. Aucelio, J.G., Calixto, J.B. and Jurkiewicz, A. (1985) Evidence for multiple sources of calcium involved on the contractile effects of agonists in the dog uterus, *Gen. Pharmac.*, 16, 3, 241-245.
2. Batra, S. (1987) Increase by oestrogen of calcium entry and calcium-channel density in uterine smooth muscle, *Br. J. Pharmacol.*, 92, 389-392.
3. Batra, S. and Sjörgen, C. (1983) Effect of oestrogen treatment on calcium uptake by the rat uterine smooth muscle, *Life Sci.*, 32, 315-319.
4. Bolton, T.B. (1979) Mechanisms of action of transmitters and other substance on smooth muscle, *Pharmacol. Rev.*, 59, 606-718.
5. Brading, A.F. and Sneddon, P. (1980) Evidence for multiple sources of calcium for activation of the contractile mechanism of guinea-pig tenia coli on stimulation with carbachol, *Brit. J. Pharmacol.*, 70, 229.
6. Downing, S.J., Hollingsworth, M. and Miller, M. (1988) The influence of oestrogen and progesterone on the actions of two calcium entry blockers in the rat uterus, *J. Endocr.*, 118, 251-268.
7. Fleckenstein, A. (1977) Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers and vascular smooth muscle, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 17, 149-166.
8. Forman, A., Anderson, K.E. and Ulmsten, U. (1981) Inhibition of myometrial activity by calcium antagonists, *Sem. Perinat.*, 5, 288-294.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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