

# Köpeklerde İzole Safen Vende Alfa-Adrenerjik Reseptör Agonist ve Antagonistleri Arasındaki Etkileşme

## INTERACTION BETWEEN ALPHA-ADRENERGIC RECEPTOR AGONISTS AND ANTAGONISTS IN CANINE ISOLATED SAPHENOUS VEIN

Hülagü BARIŞKANER\*, Necdet DOĞAN\*

\*Dr., Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD, KONYA

### Özet

Köpek v. saphena şeritlerinde postsinaptik alfa-adrenerjik reseptör alt-tiplerini saptamak amacıyla yapılan bu in vitro çalışmada alfa-adrenerjik reseptör agonistlerinden fenilefrin (FE), noradrenalin (NA), klonidin, UK 14304 ve B-HT 933 ve alfa-adrenerjik reseptör antagonistlerinden de prazosin, yohimbin ve fluparoksan kullanılmıştır.

Ven şeritleri temperatürü 37°C de sabit tutulan ve %95 O<sub>2</sub>-%5 CO<sub>2</sub> karışımı ile sürekli olarak gazlandırılan Krebs-Henseleit solüsyonu içeren 25 ml'lik organ banyosuna alınmıştır. Kümülatif tarzda ilave edilen a-adrenerjik reseptör agonistleri ile elde edilen kasılma cevapları üzerine, iki farklı konsantrasyonda uygulanan a-adrenerjik reseptör antagonistlerinin inhibitör etkinlikleri araştırılmıştır. Tüm cevaplar izotonik olarak isli kağıda yazdırılmıştır.

V. saphenada denenen beş α-adrenerjik reseptör agonistin de doza bağımlı olarak kasılmaya neden olduğu ve afinitelerinin UK 14304 > klonidin = B-HT 933 = FE > NA şeklinde sıralandığı saptanmıştır. Köpek v. saphena dokusunda klonidin-yohimbin, UK 14304-fluparoksan, B-HT 933-yohimbin ile FE-prazosin etkileşmesinin kompetitif, buna karşın, NA-prazosin etkileşmesinin de non-kompetitif antagonizma tipine uyduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, köpek v. saphenasında postsinaptik yerleşim gösteren α-adrenerjik reseptörlerin α<sub>1</sub>- ve α<sub>2</sub>-adrenerjik reseptör alt-tiplerine uyduğu görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Postsinaptik alfa-adrenerjik reseptör, Köpek safen ven

T Klin Tıp Bilimleri 1998, 18:314-321

**Geliş Tarihi:** 22.07.1998

**Yazışma Adresi:** Dr.Hülagü BARIŞKANER  
Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Farmakoloji AD, KONYA

314

### Summary

In this in vitro study, α-adrenergic receptor agonists phenylephrine (FE), noradrenaline (NA), clonidine, UK 14304 and B-HT 933 and α-adrenergic receptor antagonists, prazosin, yohimbine and fluparoxan have been used to investigate alpha-adrenergic receptor subtypes in canine isolated saphenous vein.

The strips have been suspended in 25 ml organ bath containing Krebs-Henseleit solution which was maintained at a constant temperature of 37°C and bubbled with a gas mixture containing 95% O<sub>2</sub> and 5% CO<sub>2</sub>. The contractile responses of cumulative concentrations of a-adrenergic receptor agonists have been obtained. Then, the inhibitory potencies of a-adrenergic receptor antagonists applied in two different concentrations have been investigated. All responses have been recorded isotonicly on a smoked paper.

It has been concluded that five α-adrenergic receptor agonists used in canine saphenous vein caused dose-dependent contraction and their affinities are UK 14304 > clonidine = B-HT 933 = FE > NA, respectively. It has been established that in canine saphenous vein clonidine-yohimbine, UK 14304-fluparoxan, B-HT 933-yohimbine and FE-prazosin interaction suited to competitive and contrarily NA-prazosin interaction suited to non-competitive antagonism type.

In conclusion it has been found out that postsynaptic α-adrenergic receptors in canine saphenous vein suited to α<sub>1</sub>- and α<sub>2</sub>-adrenergic receptor subtypes.

**Key Words:** Postsynaptic alpha-adrenoceptor, Canine saphenous vein

T Klin J Med Sci 1998, 18:314-321

Adrenerjik sinir ucundan saliverilen noradrenalinle aktive edilen alfa-adrenerjik reseptörlerin α<sub>1</sub>- ve α<sub>2</sub>-adrenerjik reseptörler şeklinde iki ana alt gruba ayrıldıkları bilinmektedir. Düz kaslı yapıların

T Klin Tıp Bilimleri 1998, 18

çoğunda bu iki tip reseptörün daha ziyade postsinaptik yerleşim gösterdiği saptanmıştır. Vasküler düz kaslı yapılarda postsinaptik yerleşim gösteren a-adrenerjik reseptörlerden hakim reseptör tipi türe ve dokuya göre değişmektedir. Bu nedenle vasküler düz kaslı yapılarda a-adrenerjik agonist ve antagonistleriyle elde edilen cevaplar da farklı olabilmektedir.

Amino asit dizileri ve radyoligand bağlama bölgelerindeki membran alanlarının farmakolojik özellikleri bakımından birkaç alt tipe ayrılmalarına rağmen (1) alt tiplere özgü antagonistlerin bulunmaması nedeniyle fonksiyonel deneylerde  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ -reseptörlerin detaylı olarak sınıflandırılmasını yapmak oldukça zordur (2).Günümüzde gen klonlama tekniği kullanılarak  $\alpha_1$ - adrenerjik reseptörlerin  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$  ve  $\alpha_{1C}$  şeklinde üç alt tipinin (3)  $\alpha_2$  adrenerjik reseptörlerin de  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$ ,  $\alpha_{2C}$  ve  $\alpha_{2D}$  olmak üzere dört alt tipinin varlığı gösterilmiştir (4). Bunlara ilaveten son yıllarda yapılan bir çalışmada (5)  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörlerin  $\alpha_{1D}$ - şeklinde bir diğer alt tipinin de bulunabileceği bildirilmiştir.  $\alpha$ -Adrenerjik reseptörler ve bunların alt tiplerinin belirlenmesinde fonksiyonel ve radyoligand bağlama çalışmalarına ilave olarak moleküler klonlama tekniği de kullanılmakta olup, bu metod reseptör alt tiplerinin belirlenmesinde en son aşamayı oluşturmaktadır

İn vivo ve in vitro çalışmalarda  $\alpha$ -adrenerjik reseptörleri daha selektif olarak etkileyen agonist ve antagonist ilaçların geliştirilmesine çalışılmıştır. Bu çalışmalarda aynı zamanda reseptör alt tiplerinin belirlenmesi de amaçlanmış, fonksiyonel ve radyoligand bağlama çalışmalarında özellikle antagonistlerin etkinliklerini gösteren  $pA_2$ ,  $IC_{50}$  ve  $EC_{50}$  gibi değerler mukayese edilmiştir.

Yukarıda belirtildiği gibi, türe ve damar segmentine göre oldukça farklı lokalizasyon gösteren  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin uygun ligandlarla aktive edilmesi de reseptör alt-tipine göre farklı sinyal transdükleme mekanizmalarının stimüle edilmesine neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucu  $\alpha_{1A}$ -alt tipi adrenerjik reseptörlerin sığır beyni hücre kültürlerinde, sıçan dalağı, aortası ve serebral korteksin de (1),  $\alpha_{1B}$ -alt tipinin hamster vas deferens hücre kültürlerinde (6) ve  $\alpha_{1C}$ -alt tipi ise sığır beyni hücre kültürlerinde gösterilmiştir (7). Bununla beraber  $\alpha_{2A}$ -alt tipi adrenerjik reseptörlerin insan

trombosit, tavşan dalağı ve rat submandibular bezinde (4),  $\alpha_{2B}$ -alt tipinin neonatal sıçan akciğeri, sıçan böbreğinde (8,9) ve  $\alpha_{2D}$ -alt tipi adrenerjik reseptörlerin ise sığır pineal bezinde (10) bulunduğu belirlenmiştir. Yürütülen in vitro farmakodinami çalışmalarında bir çok vasküler düz kaslı yapının  $\alpha_1$ -tipi adrenerjik reseptör içerdiği, buna karşın,  $\alpha_2$ -alt tipinin bir kaç dokuda örneğin, köpek, kobay ve tavşan safen veni ile kobayda femoral vende bulunduğu gösterilmiştir (11). Birçok farklı dokuda çeşitli agonist ve antagonist kullanılarak postsinaptik  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin alt-tipleri belirlenmeye çalışılmıştır. Önemli bazı örnek çalışmalar Tablo 1'de gösterilmiştir.

Sunulan bu in vitro çalışmada, köpek safen veninde a-adrenerjik reseptör alt-tiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada klasik a-adrenerjik reseptör agonistleri olarak bilinen NA (Noradrenalin), FE (Fenilefrin) ve klonidine ilaveten, nispeten yeni sayılabilecek ve daha az araştırılmış olan B-HT 933 ve UK-14304 de kullanılmıştır. Belirtilen agonistlerle elde edilen cevapların bloke edilebilirliğini belirlemek amacıyla da  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör blokörü prazosin ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör blokörü yohimbin denenmiştir. Bu iki antagoniste ilaveten hakkında yeterince bilgi bulunmayan fluparoksan da çalışmaya dahil edilmiştir.

## Materyel ve Metod

Deneylerde 10-25 kg. ağırlığında her iki cinsiyetten köpekler kullanıldı. Hayvanlar sodyum pentobarbital ile anestezi edildiler. Anestezi altında izole edilen vena saphena magna'dan spiral kesi ile 2-3 mm genişliğinde, 15-18 mm boyunda şeritler hazırlandı. Damar şeridi 25 ml'lik Krebs-Henseleit solüsyonu içeren, sıcaklığı 37°C derecede sabit tutulan ve %95 O<sub>2</sub>-%5 CO<sub>2</sub> karışımı ile sürekli olarak gazlandırılan organ banyosuna alındı. 1 gr'lık istirahat gerilimi uygulandı. Preparatlar 15 dakika aralıklarla besleyici solüsyonla yıkanarak en az bir saat süreyle dinlenmeye bırakıldı. Agonist ilaçların verilmesiyle elde edilen kasılmalar kimograf tamburuna sarılı isli kağıda izotonik olarak yazdırıldı.

Etkileşme denemelerinde aynı dokuda bir agonist, çalışılan antagonistlerden sadece birinin iki farklı konsantrasyonuna karşı denendi. Agonistlerin intrinsik aktivitelerinin saptanmasında ise,

**Tablo 1.** Postsinaptik alfa-adrenerjik reseptör alt-tiplerinin çeşitli dokulardaki dağılımı

DOKU	AGONİST	ANTAGONİST	RESEPTÖR TİPİ	REFERANS
İnsan trombosit, Tavşan trombosit	UK 14304	Rovolsin	$\alpha_2$	Grant-Scrutton, (1980) <sup>31</sup>
Köpek safen veni	NA, FE, UK 14304	Prazosin, Rovolsin	$\alpha_1, \alpha_2$	Alabester ve ark, (1985) <sup>30</sup>
Tavşan safen veni	NA, FE, UK 14304	Prazosin, Rovolsin	$\alpha_2$	Alabester ve ark, (1985) <sup>30</sup>
Tavşan aortası, Tavşan kulak arteri, Tavşan sol renal veni	FE, NA, UK 14304	Prazosin, Rovolsin, Korinantin	$\alpha_1$	Daly ve ark, (1988) <sup>11</sup>
Tavşan safen veni, Tavşan planter veni	FE, NA, UK 14304	Prazosin, Rovolsin, Korinantin	$\alpha_1, \alpha_2$	Daly ve ark, (1988) <sup>11</sup>
Tavşan aortası	NA, Metoksamin	Prazosin, Yohimbin	$\alpha_2$	Ruffolo ve ark, (1981) <sup>32</sup>
Sıçan aortası	NA, Metoksamin	Prazosin, Yohimbin	$\alpha_1, \alpha_2$	Ruffolo ve ark, (1981) <sup>32</sup>
Domuz digital arteri	NA	Rovolsin, Prazosin, YM-12617, CH-38083	$\alpha_1, \alpha_2$	Blaylock ve Wilson, (1995) <sup>2</sup>
Domuz metakarpal veni	NA	Rovolsin, Prazosin, YM-2617, CH-38083	$\alpha_2$	Blaylock ve Wilson, (1995) <sup>2</sup>
Köpek safen veni	M-7, NA, B-HT920 SK&F89748-A	Prazosin, Fenoksibenzamin, Rovolsin	$\alpha_1, \alpha_2$	Fowler ve ark, (1984) <sup>33</sup>

aynı dokuya agonistlerin verilmiş sırası değiştirilerek yürütülen bu denemelerde kasılma amplitüdünü büyük olan agonistin intrinsik aktivitesi 1 olarak kabul edilip, diğerlerinin intrinsik aktivitesi bu değerin %'si şeklinde ifade edildi. Agonistlerin afinitelerinin saptanmasında da agonistlerin kontrol konsantrasyon- cevap eğrilerinden elde edilen  $-\log EC_{50}$  ( $pD_2$ ) değerleri karşılaştırılmıştır.

Deneylerde kullanılan Krebs-Henseleit solüsyonunun içeriği mM olarak şöyledir; NaCl 119.00, KCl 4.70, CaCl<sub>2</sub> 2.50, MgSO<sub>4</sub> 1.50, NaHCO<sub>3</sub> 25.00, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.20, glukoz 11.00. Kullanılan ilaçlar: Noradrenalin (BDH), Fenilefrin hidroklorür (Sigma), Klonidin hidroklorür (Sigma), B-HT 933 (Boehringer), UK-14304 (Sigma). Antagonistler; Prazosin hidroklorür (Pfizer), Yohimbin hidroklorür (Sigma), Fluparoksan (Glaxo Group Research Ltd.). Prazosin'in stok solüsyonu ( $10^{-4}$  M) Dimetil sülfoksit (DMSO)'le, alt konsantrasyonları ise distile su ile hazırlandı.

Agonist ilaçların oluşturduğu kasılmalar maksimum cevabın %'si olarak ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde belirtilmiştir. Ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel anlamlılık derecesi Student "t" testi ile belirlenmiştir. Grup içi analizlerde eşleştiri-

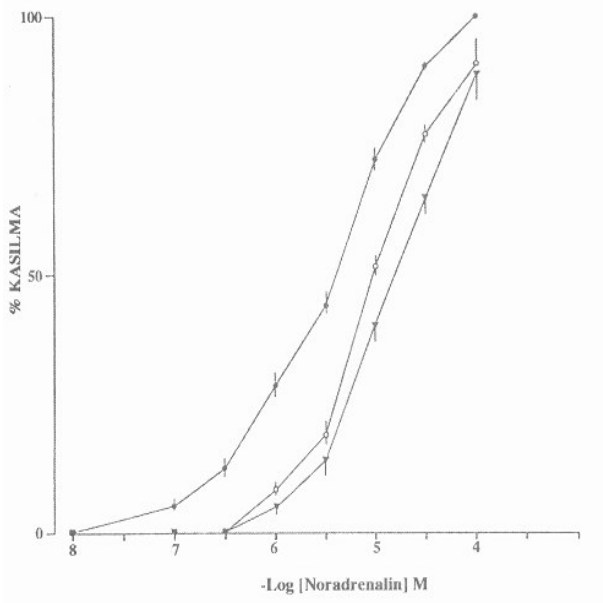
rilmiş ve gruplar arası analizlerde de eşleştirilmemiş test uygulanmıştır. P değerinin 0.05'den küçük bulunması durumunda ortalamalar arasındaki fark anlamlı kabul edilmiştir.

Agonist ilaçların oluşturduğu maksimum cevabın %50'sini sağlayan konsantrasyonlar ( $EC_{50}$ ) her deneyin log konsantrasyon- cevap eğrilerinden elde edilip  $pD_2$  ( $-\log EC_{50}$ ) değerleri şeklinde verildi. Antagonistlerin etkinliklerini gösteren,  $pA_2$  değerleri Arunlakshana-Schild metoduna göre hesaplanmıştır.

### Bulgular

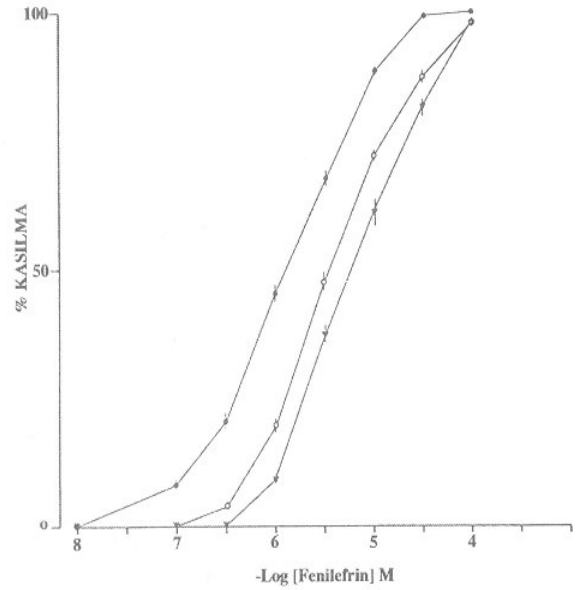
İzole köpek safen ven şeritlerinde NA konsantrasyona bağımlı olarak kasılmaya neden olmuştur. Ortamda  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör antagonisti prazosin ( $10^{-8}$ ,  $3 \times 10^{-8}$  M) bulunduğu NA konsantrasyon-cevap eğrisinin sağa kaydığı,  $pD_2$  değerinin azaldığı, maksimum cevabın değişmediği fakat Schild metoduna göre eğim 1'den farklı olduğu bulunmuştur (Şekil 1, Tablo 2). NA-prazosin ikilisi için saptanan  $pA_2$  değeri  $8.413 \pm 0.342$  olup Tablo 3'de gösterilmiştir.

FE ise konsantrasyona bağımlı olarak kasılma oluşturmuştur. Ortama  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörler



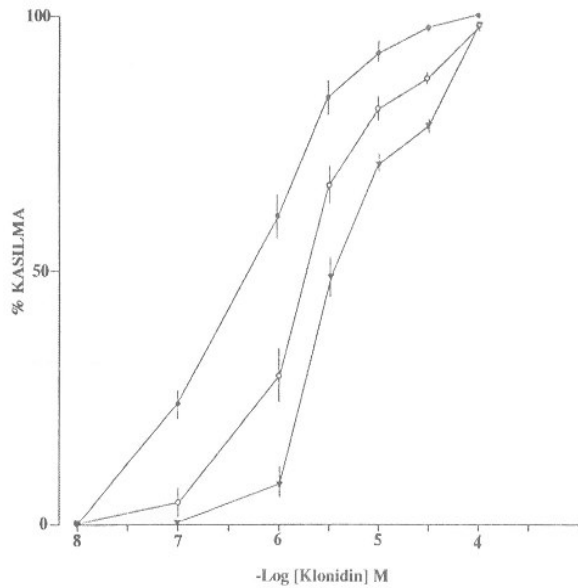
**Şekil 1.** Köpek safen ven noradrenalin'in (● ●) yapmış olduğu kasılma cevapları üzerine prazosin'in ( $10^{-8}$  M o o;  $3 \times 10^{-8}$  M s s) etkisi (n=6).

blokörü prazosin ( $3 \times 10^{-9}$ ,  $3 \times 10^{-8}$  M) ilave edildiğinde, kontrol konsantrasyon- cevap eğrisi paralel şekilde sağa kaydırmış ve pD<sub>2</sub> değeri de anlamlı olarak azalmıştır (Şekil 2, Tablo 2). FE-prazosin ikilisi için hesaplanan pA<sub>2</sub> değeri  $8.28 \pm 0.200$ , Tablo 3'de gösterilmiştir.

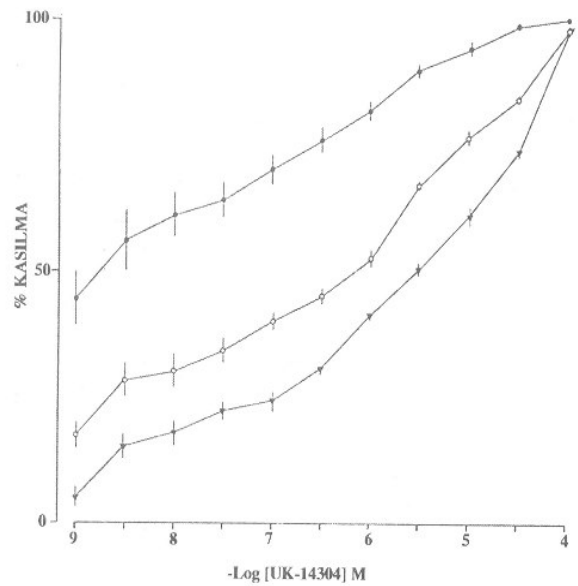


**Şekil 2.** Köpek safen veninde fenilefrin'nin (● ●) yapmış olduğu kasılma cevapları üzerine prazosin'in ( $3 \times 10^{-9}$  M o o;  $3 \times 10^{-8}$  M s s) etkisi (n=6).

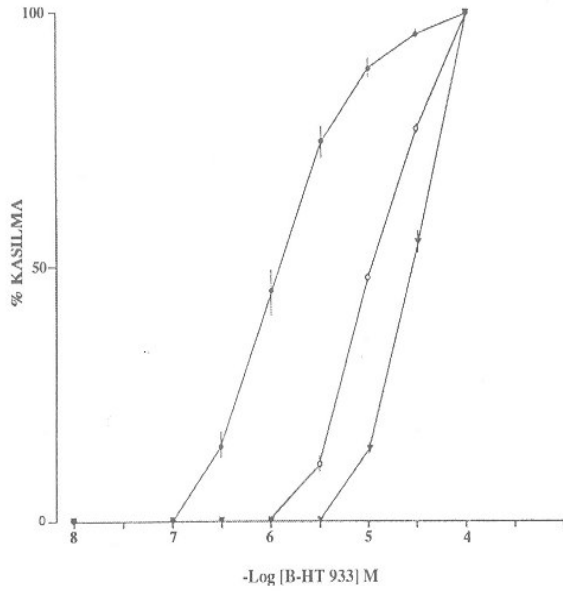
Klonidin konsantrasyona bağımlı olarak kasılmaya neden olmuştur. Ortama  $\alpha_2$ - adrenerjik reseptör antagonisti yohimbin ( $10^{-8}$ ,  $3 \times 10^{-8}$  M) konulduğunda klonidin konsantrasyon- cevap eğrisini paralel olarak sağa kaydırmış ve pD<sub>2</sub> değerinde anlamlı olarak azaltmıştır (Şekil 3, Tablo 2).



**Şekil 3.** Köpek safen veninde klonidin'in (●—●) yapmış olduğu kasılma cevapları üzerine yohimbin'in ( $10^{-8}$  M o—o;  $3 \times 10^{-8}$  M s—s) etkisi (n=6).



**Şekil 4.** Köpek safen veninde UK 14304'ün (●—●) yapmış olduğu kasılma cevapları üzerine fluparoksan'in ( $10^{-8}$  M o—o;  $3 \times 10^{-8}$  M s—s) etkisi (n=6).



**Şekil 5.** Köpek safen veninde B-HT 933'ün (●—●) yapmış olduğu kasılma cevapları üzerine yohimbin'in ( $10^{-9}$  M ○—○;  $3 \times 10^{-9}$  M □—□) etkisi (n=6).

Klonidin-yohimbin ikilisi için  $pA_2$  değeri  $8.126 \pm 0.088$  olarak bulunmuş ve Tablo 3'de gösterilmiştir.

Aynı dokuda UK-14304'de, konsantrasyona bağımlı olarak kasılma oluşturmuştur. Ortama  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör antagonisti fluparoksan ( $10^{-8}$ ,  $3 \times 10^{-8}$  M) konulduğunda kontrol konsantrasyon-cevap eğrisini paralel şekilde sağa kaydırmış ve  $pD_2$  değeri de anlamlı olarak azalmıştır (Şekil 4, Tablo 2). UK-14304-fluparoksan ikilisi için hesaplanan  $pA_2$  değeri  $9.530 \pm 0.657$  olup Tablo 3'de gösterilmiştir.

B-HT 933'de, konsantrasyona bağımlı olarak kasılmaya neden olmuştur (Şekil 5).  $\alpha_2$ -Adrenerjik reseptör antagonisti yohimbin ( $10^{-9}$ ,  $3 \times 10^{-9}$  M) kontrol konsantrasyon-cevap eğrisini paralel olarak sağa kaydırmış ve  $pD_2$  değerini de anlamlı olarak azaltmıştır (Tablo 2). V. saphena şeritlerinde B-HT 933-yohimbin ikilisi için  $pA_2$  değeri  $8.60 \pm 0.242$  olup Tablo 3'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Köpek safen veninde agonist-antagonist etkileşmesinde elde edilen  $pD_2$  (-log  $EC_{50}$ ) değerleri

AGONİST	KLONİDİN (n=6)	UK-14304 (n=6)	B-HT 933 (n=6)	NORADRENALİN (n=6)	FENİLEFRİN (n=6)
KONTROL	$6.294 \pm 0.189$	$8.635 \pm 0.371$	$5.948 \pm 0.120$	$5.440 \pm 0.083$	$5.893 \pm 0.065$
ANTAGONİST VARLIĞINDA	Yohimbin ( $10^{-8}$ M) $5.787 \pm 0.155^*$	Fluparoksan ( $10^{-8}$ M) $6.392 \pm 0.265^*$	Yohimbin ( $10^{-9}$ M) $4.986 \pm 0.013^*$	Prazosin ( $10^{-8}$ M) $5.006 \pm 0.068^*$	Prazosin ( $3 \times 10^{-9}$ M) $5.435 \pm 0.067^*$
	Yohimbin ( $3 \times 10^{-8}$ M) $5.480 \pm 0.148^*$	Fluparoksan ( $3 \times 10^{-8}$ M) $5.416 \pm 0.140^*$	Yohimbin ( $3 \times 10^{-9}$ M) $4.555 \pm 0.033^*$	Prazosin ( $3 \times 10^{-8}$ M) $4.605 \pm 0.127^*$	Prazosin ( $3 \times 10^{-8}$ M) $5.213 \pm 0.109^*$

\*  $p < 0.05$  (kontrol  $pD_2$  değerine göre)

n: Deneme sayısı

Köpek safen veninde kullanılan farklı alfa-adrenerjik reseptör agonistlerinden elde edilen  $pD_2$

değerlerini göstermektedir.

**Tablo 3.** Köpek safen veninde agonist-antagonist etkileşmesinde elde edilen  $pA_2$  değerleri

AGONİST	ANTAGONİST	$pA_2$	EGİM
KLONİDİN	YOHİMBİN (n=6)	$8.126 \pm 0.088$	$0.936 \pm 0.085$
B-HT 933	YOHİMBİN (n=6)	$8.600 \pm 0.242$	$0.963 \pm 0.076$
UK 14304	FLUPAROKSAN (n=6)	$9.530 \pm 0.657$	$1.550 \pm 0.467$
FENİLEFRİN	PRAZOSİN (n=6)	$8.280 \pm 0.200$	$0.981 \pm 0.038$
NORADRENALİN	PRAZOSİN (n=6)	$8.413 \pm 0.342$	$0.600 \pm 0.095^*$

\* 1'den farklı ( $p < 0.05$ )

Köpek safen veninde alfa-adrenerjik reseptör agonistlerine bağlı kasılmalara karşı alfa-adrenerjik reseptör antagonistleri için schild metoduna göre eğim ve  $pA_2$  değerlerini göstermektedir.

$\alpha_1$ -Adrenerjik reseptör agonistleri olan NA ve FE intrinsik aktivitesinin farksız olduğu bulunmuştur. Buna karşın,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonistleri için sıralamanın UK 14304=klonidin> B-HT 933 şeklinde olduğu saptanmıştır. Kontrol konsantrasyon-cevap eğrilerinden hesaplanan  $pD_2$  değerleri karşılaştırıldığında (Tablo 2) V.saphena şeritlerinde agonistlerin afinitelerinin UK14304 > klonidin = B-HT933 = FE > NA şeklinde sıralandığı bulunmuştur.

### Tartışma

Sunulan bu in vitro çalışmada, köpek safen veninde, postsinaptik  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin alt tiplerinin belirlenmesi amaçlanmış ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonistleri olarak klonidin (12), B-HT 933 (13) ve UK 14304 (14,15) kullanılmıştır. Çalışmada  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör agonisti olarak FE (14) ve ayrıca non-spesifik  $\alpha$ -adrenerjik reseptör agonisti olarak da NA (15) denenmiştir. Belirtilen agonistlere bağlı cevapların antagonize edilmesinde de  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör antagonistleri yohimbin (16) ve fluparoksan (17) ve ayrıca selektif etkili bir  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör antagonistisi olan prazosin (5) kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan tüm alfa-adrenerjik reseptör agonistleri v. saphenada konsantrasyona bağımlı olarak kasılma oluşturmuşlardır. Agonistlerin afinitelerine göre UK-14304> klonidin= B-HT 933= fenilefrin> noradrenalin şeklinde ve intrinsik aktivitesine göre fenilefrin= noradrenalin ve UK-14304=klonidin>B-HT 933 şeklinde sıralandıkları saptanmıştır.

Köpekte v. saphenada gerçekleştirilen bu çalışmada, klonidin doza bağımlı bir şekilde ve tekrarlanabilir nitelikte kasılma oluşturmuştur. Ortama iki farklı konsantrasyonda yohimbin ilave edilmesi, klonidine ait kontrol konsantrasyon- cevap eğrilerini paralel bir şekilde ve anlamlı olarak sağa kaydırmış ve klonidinle elde edilen maksimum kasılma cevaplarını değiştirmemiştir. Schild çiziminde eğim 1'den farksız bulunmuş, klonidin-yohimbin ikilisine ait  $pA_2$  değeride 8.126±0.088 olarak hesaplanmıştır.

Klonidin-yohimbin etkileşmesiyle ilgili olarak köpekte v. saphena da yapılan bir çalışmada (5) yohimbin için  $pA_2$  değeri 8.20 olarak hesaplanmıştır. Belirtilen değer, sunulan bu çalışmada elde

edilen değerlerin %95 güvenilirlik sınırları arasında yer almaktadır. Constantine ve arkadaşları (18)'nin çalışmasında da 8.20 olarak hesaplanmıştır.

V. saphena şeritlerinde B-HT 933, doza bağımlı bir şekilde kasılma oluşturmuştur. Ortama iki farklı konsantrasyonda yohimbin ilave edilmesi, kontrol- B-HT 933 konsantrasyon-cevap eğrilerini paralel bir şekilde ve anlamlı olarak sağa kaydırmıştır. Yohimbin, B-HT 933'le elde edilen maksimum kasılma cevaplarını değiştirmemiştir. Schild çiziminde eğim 1'den farksız bulunmuş, B-HT 933-yohimbin ikilisine ait  $pA_2$  değeride 8.60±0.242 olarak hesaplanmıştır.

Literatürde B-HT 933- yohimbin etkileşmesiyle ilgili olarak kobay ileumunda yapılan bir çalışmada (19) yohimbin için  $pA_2$  değeri 7.84 olarak hesaplanmış ve %95 güvenilirlik sınırlarının ise 7.13- 8.64 olduğu belirtilmiştir. Köpekte v. saphenada  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonisti olarak B-HT 920'nin denendiği çalışmaların birinde (20) yohimbin için  $pA_2$  değeri 8.60 olarak bulunmuş, yine aynı dokuda gerçekleştirilen bir diğer çalışmada (21) ise bu değer 8.77 olarak hesaplanmıştır. Belirtilen değerler bu çalışmadaki değerlerle uyumludur.

Sunulan bu çalışmada, klonidin-yohimbin ve B-HT 933-yohimbin etkileşmelerinde hesaplanan  $pA_2$  değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonistleri klonidin ve B-HT 933'ün bu dokuda aynı reseptörler üzerinden etkili olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada klonidin ve B-HT 933 ile yohimbin arasındaki etkileşmenin, kompetitif antagonizma tipine uyduğu da saptanmıştır.

UK 14304-fluparoksan etkileşmesinin çalışıldığı bölümde de fluparoksan, UK 14304'e ait kontrol konsantrasyon-cevap eğrisini anlamlı olarak ve paralel bir şekilde sağa kaydırmış UK 14304'le oluşan maksimum kasılma cevabı değişmemiştir. UK 14304'le elde edilen cevapların fluparoksanla inhibisyonunda  $pA_2$  değeri 9.530±0.657 olarak hesaplanmıştır. Literatürde, damar düz kaslarında  $\alpha_2$ -adrenerjik agonisti UK 14304'le oluşan kasılma cevaplarının inhibisyonunda fluparoksanın kullanıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Sadece sıçan vaz deferensinde UK 14304 - fluparoksan etkileşmesini inceleyen bir çalışmada (17)  $pA_2$  değeri 7.87±0.05 olarak hesaplanmış ve UK

14304'le oluşan kasılma cevaplarının fluparoksan varlığında anlamlı olarak ve paralel bir şekilde sağa kaydığı ve maksimum kasılma cevabının da etkilenmediği belirtilmiştir. Sunulan bu çalışmada da UK 14304 ile fluparoksan arasındaki etkileşmenin kompetitif antagonizma tipine uyduğu görülmektedir.

FE diğer vasküler düz kaslı yapılarda olduğu gibi, bu dokuda da doza bağımlı olarak kasılma oluşturmuştur. Ortama iki farklı konsantrasyonda prazosin ilave edilmesi, FE'in kontrol-konsantrasyon cevap eğrilerini paralel bir şekilde ve anlamlı olarak sağa kaydırmış ve FE'le elde edilen maksimum kasılma cevapları değişmemiştir. Schild çiziminde eğim 1'den farksız bulunmuş, FE-prazosin ikilisine ait  $pA_2$  değeride  $8.28 \pm 0.200$  olarak hesaplanmıştır. Köpekte v. saphenada FE-prazosin etkileşmesini inceleyen bir çalışmada (22)  $pA_2$  değeri 8.15 olarak hesaplanmıştır. Bir diğer çalışmada ise Shepperson ve Langer (23) yukarıda belirttiğimiz değeri bulmuşlardır. FE-prazosin etkileşmesinin araştırıldığı diğer bazı çalışmalarda da örneğin, tavşan portal veninde (24) bu değer 8.10, köpek safen veninde (25) de 8.41 olarak hesaplanmış olup, sunulan bu çalışmada elde edilen değerlerle uyumlu oldukları görülmüştür.

NA, safen vende konsantrasyona bağımlı bir tarzda kasılma oluşturmuş ve ortama iki farklı konsantrasyonda ilave edilen prazosinle kontrol cevap paralel olmayan bir şekilde sağa kaymıştır. Schild çiziminde eğim 1'den farklı bulunmuştur. Vasküler düz kaslı yapılarda NA-prazosin etkileşmesinin araştırıldığı bir çok çalışma bulunmaktadır. Sunulan bu çalışmada da gösterildiği gibi, araştırmacılar etkileşmenin non-kompetitif antagonizma tipine uymasının nedenini, NA  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörleri birlikte aktive etme özelliğinin olması ve bu nedenle ortamda  $\alpha_1$ - veya  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör blokörlerinden sadece birisinin bulunması ile açıklamışlardır. Literatürde bu iki ilaç arasındaki etkileşmenin non-kompetitif tarzda olduğunu gösteren çok önemli araştırmalar bulunmaktadır: Örneğin, köpek safen veninde ve femoral arterinde (26), tavşan safen veni ve kulak veninde (27), insan safen veninde (28) ve insanda cilt arterlerinde (29) yapılan çalışmalar sayılabilir.

Köpek safen veninde postsinaptik  $\alpha$ -adrenerjik reseptör alt tiplerinin belirlenmesi amacıyla gerçek-

leştirilen bu in vitro çalışmada, klasik a-adrenerjik reseptör agonist ve antagonistlerine ilaveten, UK 14304, B-HT 933 ve fluparoksan gibi nisbeten yeni sayılabilecek bazı ilaçlar da kullanılmış ve belirtilen dokuda  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerin birlikte bulunduğu gösterilmiştir. Bu dokuda klonidin-yohimbin, UK 14304-fluparoksan, B-HT 933-yohimbin ve FE-prazosin etkileşmesinin kompetitif, buna karşın, NA-prazosin etkileşmesinin de non-kompetitif antagonizma tipine uyduğu saptanmıştır.

### KAYNAKLAR

1. Lomasney JW, Cottechia S, Lorenz W, Leung W, Schwinn Y and Caron MG. Molecular cloning and expression of the cDNA for the  $\alpha_1A$ - adrenergic receptor. J Biol Chem 1991; 266: 6365-69.
2. Blaylock NA, Wilson VG. Pharmacological characterization of noradrenaline - induced contractions of the porcine isolated palmar lateral vein and palmar common digital artery. Br J Pharmacology 1995; 114: 694-702.
3. Delbarre B and Schmitt H. A further attempt to characterize sedative receptors activated by clonidine in chickens and mice. Eur J Pharmacol 1973; 22: 355-9.
4. Bylund DB. Subtypes of  $\alpha_1$  - and  $\alpha_2$  - adrenergic receptors. FASEBJ 1992; 6: 832-9.
5. Daniel EE, Low AM, Gaspar V, Lu Chao H, Green J, Akrong J, Duerksen S, Soyka C. Unusual  $\alpha$ -adrenoceptor subtype in canine saphenous vein: comparison to mesenteric vein. Br J Pharmacol 1996; 117: 1535-43.
6. Cottechia S, Schwinn DA, Randall RR, Lefkowitz RJ, Caron MG and Kobilka BK. Molecular cloning and expression of the cDNA for hamster  $\alpha_1$  - adrenergic. Proc Natl Acad Sci USA 1988; 85: 7159-63.
7. Schwin DA, Lomasney JW, Lorenz W, Szklut PJ, Fremereau RT, Yang-Feng T, Caron MG and Lefkowitz RJ. Molecular cloning and expression of the cDNA for a novel adrenergic receptor subtype. J Biol Chem 1990; 265: 8181-89.
8. Bylund DB, Ray-Prenger C. Alpha 2A and alpha 2B adrenergic receptor subtypes: attenuation of cyclic AMP production in cell lines containing only one receptor subtype. JPET, (1989) ; 251: 640-4.
9. Smith K, Connaughton S And Docherty JR. Investigation of prejunctional  $\alpha_2$ -adrenoceptors in rat atrium, vas deferens and submandibular gland. Eur J Pharmacol 1992; 211: 251-6.
10. Simonneau V, İbadi M and Bylund DB. Identification and characterization of alpha-2d adrenergic receptors in bovine pineal gland. Mol Pharmacol 1991; 40: 235-41.
11. Daly CJ, McGrath JC, Wilson VG. An examination of the postjunctional  $\alpha$  - adrenoceptor subtypes for (-) - noradrenaline in several isolated blood vessels from the rabbit. Br J Pharmacol 1988; 95: 473-84.

12. Starke K, Montel H, Gayk W and Merker P. Comparison of the effects of clonidine on pre- and postsynaptic adrenoceptors in the rabbit pulmonary artery. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1974; 285: 133-50.
13. Mabajoye A, Oriowo J, Hieble P And Ruffolo RR. Evidence for heterogeneity of prejunctional alpha-2-adrenoceptors. *Pharmacology* 1991; 43: 1-13.
14. Flavahan NA, Vanhoutte PM. Alpha-1 and Alpha-2 Adrenoceptor: Response Coupling in Canine Saphenous and Femoral Veins. *JPET* 1986; 238: 131-8.
15. Flavahan NA, Vanhoutte PM. Effect of Cooling on Alpha-1 and Alpha-2 Adrenergic Responses in Canine Saphenous and Femoral Veins. *JPET* 1986; 238:139-47.
16. Docherty JR, Starke K. Postsynaptic alpha-adrenoceptor subtypes in rabbit blood vessels and rat anococcygeus muscle studied in vitro. *J Cardiovasc Pharmacol* 1981; 3: 854.
17. Halliday CA, Jones BJ, Skingle M, Walsh DM, Wise H. The pharmacology of fluparoxan: a selective alpha-2 adrenoceptor antagonist. *Br J Pharmacol* 1991; 102: 887-95.
18. Constantine JW, Lebel W, Archer R. Functional postsynaptic  $\alpha_2$  - but not  $\alpha_1$  - adrenoceptors in dog saphenous vein exposed to phenoxybenzamine. *Eur J Pharmacol* 1982; 85: 325-9.
19. Akers I, Coates J, Drew GM, Sullivan AT.  $\alpha_2$ -Adrenoceptor blocking profile of SK&F 104078: further evidence for receptor subtypes. *Br J Pharmacol* 1991; 102: 943-9.
20. Docherty JR, Ruffolo RR. Evidence that the dog pulmonary artery contains a homogeneous population of  $\alpha_1$ -adrenoceptors. *Br J Pharmacol* 1988; 93: 22-8.
21. Furuta T. Precontraction- induced contractile response of isolated canine portal vein to alpha-2 adrenoceptor agonists. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1988; 337: 525-30.
22. Sullivan AT, Drew GM. Pharmacological characterisation of pre- and postsynaptic alpha-adrenoceptors in dog saphenous vein. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1980; 314: 249-58.
23. Shepperson NB, Langer SZ. The effects of 2-amino - tetrahydronaphthalene derivative a selective  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonist in vitro. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1981; 318: 10-3.
24. Docherty JR, Madjar H, Starke K. An investigation of pre and postsynaptic  $\alpha$ -adrenoceptors in the rabbit hindlimb. *Br J Pharmacol* 1980; 72:120.
25. Doğan N. Köpekte Femoral Arter ve Safen Vende Postsinaptik Alfa Adrenergik Reseptörlerin Karşılaştırmalı İncelenmesi 1982. Doçentlik Tezi, Ankara.
26. Mey DJ, Vanhoutte PM. Uneven Distribution of Postjunctional Alpha-1 and Alpha-2 like Adrenoceptors in Canine Arterial and Venous Smooth Muscle. *Cir Res* 1981; 48: 875-84.
27. Daly CJ, McGrath JC, Wilson VG. Evidence that the population of postjunctional - adrenoceptors mediating contraction of smooth muscle in the rabbit isolated ear vein is predominantly  $\alpha_2$ . *Br J Pharmacol* 1988; 94: 1085-90.
28. Steen S, Sjöberg T, Skarby T, Norgren L, Andersson KE. The Postjunctional  $\alpha$ -Adrenoceptors of the Human Saphenous Vein. *Acta Pharmacol et Toxicol* 1984; 55: 351-7.
29. Barbujo J, Villalan ALG, Valle J, Gomez B, Diequez G. Postjunctional Alpha-1 and Alpha-2 Adrenoceptors in Human Skin Arteries. An in Vitro Study. *JPET*, (1988); 249: 284-87.
30. Alabaster VA, Keir RF, Peters CJ. Comparison of activity of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in dog and rabbit saphenous vein. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol* (1985); 330: 33-6.
31. Grant JA, Scrutton MC. Interaction of selective alpha-adrenoceptor agonists and antagonists with human and rabbit blood platelets. *Br J Pharmacol* 1980; 71: 121.
32. Ruffolo RR, Waddell JR, Yaden EL. Postsynaptic alpha adrenergic receptor subtypes differentiated by yohimbin in tissues from the rat. Existence of alpha2-adrenergic receptors in rat aorta. *JPET* 1981; 217: 35.
33. Fowler PJ, Grous M, Price WD, Matthews W. Pharmacological Differentiation of Postsynaptic Alpha Adrenoceptors In The Dog Saphenous Vein. *JPET* 1984; 299: 712-18.