



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FLURALANERİN SIÇAN İNCE BAĞIRSAK DOKULARI  
(DUODENUM, JEJUNUM VE İLEUM) ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
*İN VİTRO* OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**ATILLA BAŞKURT**

**FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI (VETERİNER)  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Ebru YILDIRIM**

**II. DANIŞMAN  
Prof. Dr. Emine BAYDAN**

**KIRIKKALE - 2023**





**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FLURALANERİN SIÇAN İNCE BAĞIRSAK DOKULARI  
(DUODENUM, JEJUNUM VE İLEUM) ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
İN VİTRO OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**ATILLA BAŞKURT**

**FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI (VETERİNER)  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Ebru YILDIRIM**

**II. DANIŞMAN  
Prof. Dr. Emine BAYDAN**

**Bu tez, Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi tarafından  
2020-33 numaralı proje ile desteklenmiştir.**

**KIRIKKALE - 2023**

## ETİK BEYANI

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ° Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi
- ° Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ° Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi
- ° Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı
- ° Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi durumda aleyhime doğabilecek hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

**Atilla BAŞKURT**

**16.01.2023**

## ÖZET

### FLURALANERİN SIÇAN İNCE BAĞIRSAK DOKULARI (DUODENUM, JEJUNUM VE İLEUM) ÜZERİNE ETKİLERİNİN *İN VİTRO* OLARAK ARAŞTIRILMASI

Kırıkkale Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Ebru YILDIRIM

Ortak Danışman: Prof. Dr. Emine BAYDAN

Ocak 2023, 82 sayfa

Fluralaner, köpeklerde ağız ve deri yolu ile kullanılan bit ve keneler üzerine etkili izoksazolin türevi yeni bir ektoparaziter ilaçtır. Fluralanerin memeliler üzerinde oldukça güvenli bir ilaç olduğu bildirilmektedir. Kaydedilen en önemli yan etkileri kusma ve ishaldir. Fluralaner ile ilgili izole sıçan bağırsak kasılmaları üzerine yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı fluralanerin ince bağırsak (duodenum, jejunum ve ileum) dokuları üzerine etkilerinin sıçanda *in vitro* olarak araştırılmasıdır.

Bu amaçla 6 protokol uygulanmış; ve fluralanerin dozunu belirleyebilmek için yapılan ön çalışmalarla birlikte toplamda 60 hayvan kullanılmıştır. 1. Protokolde fluralaner ve çözücüsü olan dimetilsülfoksit çözeltisi (DMSO) organ banyosuna asılan dokular üzerinde etkisi, 2. Protokolde 80 mM KCl ile prekontrakte edilen dokular üzerine fluralanerin ve DMSO'nun etkisi değerlendirilmiştir. 3. Protokolde  $3 \times 10^{-6}$  M GABA ile 15 dk. inkübe edilen dokularda fluralaner derişimleri ( $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M) değerlendirilmiştir. 4. Protokolde fluralaner ( $10^{-6}$  ve  $10^{-4}$  M) inkübasyonu ile birlikte asetilkolin derişimleri ( $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M) kümülatif olarak uygulanmıştır. 5. Protokolde fluralaner ( $10^{-5}$  M) inkübasyonu serotonin derişimleri ( $3 \times 10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $3 \times 10^{-5}$  M) uygulanmıştır. 6. Protokolde GABA antagonisti olan bikukulin ( $3 \times 10^{-6}$  M) inkübasyonunda fluralanerin ( $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M) derişimleri uygulanmıştır. Duodenum, jejunum ve ileumun ölçülen % gevşeme, % kasılma, frekans değerleri karşılaştırılmıştır.

Yapılan istatistiksel ölçümlere göre, 2. Protokolde KCl ile prekontrakte edilmiş jejunum ve ileumda, % gevşeme cevapları kontrol ile karşılaştırıldığında,  $10^{-4}$  M fluralaner derişiminde daha fazla gevşeme cevabı elde edilmiştir. 3. protokolde  $3 \times 10^{-6}$  M GABA ile inkübe edilen dokularda fluralanerin  $10^{-4}$  M derişiminin DMSO'ya göre dokularda hem % kasılmayı hemde dokuların frekans değerlerini azalttığı bulunmuştur. GABA + fluralaner uygulamasının fluralanerin tek başına uygulamasına göre fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimleri uygulanmasında bütün dokularda frekans sayılarının daha az olduğu saptanmıştır. Asetilkolin ile yapılan 4. protokolde fluralanerin  $10^{-4}$  M derişimi ile inkübe edilen jejunum ve ileumda Ak'ne bağlı % kasılmaları azalttığı bulunmuştur. Bikukulin ile yapılan 6. protokolde  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulin ile inkübe edilen dokularda yine fluralanerin  $10^{-4}$  M derişiminin DMSO'ya

göre hem dokularda kasılmayı azalttığı hemde dokuların frekans sayılarını azalttığı bulunmuştur. Fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin dokulara uygulanması ile fluralanerin aynı derişimlerinin  $3 \times 10^{-6}$ M bikukulin inkübasyonu altında uygulanması arasında frekans hesaplamaları yapıldı ve karşılaştırıldı. Yapılan istatistiki ölçümlerde bikukulin + fluralaner uygulamasının bütün derişimlerinin tek başına fluralaner uygulamasına göre duodenumda frekansları daha az olduğu, jejunumda bikukulin + fluralaner uygulamasının fluralaner uygulamasına göre  $10^{-6}$  M daha az, ve  $10^{-4}$  M derişimde ise daha az frekans değerine sahip olduğu bulunmuştur. İleumda ise bikukulin + fluralaner uygulamasının bütün derişimlerinin sadece fluralaner uygulamasına göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Çalışmanın sonuçları fluralanerin ince bağırsak dokuları üzerine etkili olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Duodenum, fluralaner, ileum, *in vitro*, jejunum, kasılma, sıçan



## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF FLURALANER ON RAT SMALL INTESTINE TISSUES (DUODENUM, JEJUNUM AND ILEUM) *IN VITRO*

Kırıkkale University

Graduate School of HealthSciences

Department of Pharmacology and Toxicology

Supervisor: Prof. Dr. Ebru YILDIRIM

Co- Supervisor: Prof. Dr Emine BAYDAN

January 2023, 82 pages

Fluralaner is a new isoxazoline derivative ectoparasitic drug that is effective on lice, ticks and is used orally and dermally in dogs. Fluralaner is reported to be a very safe drug for mammals. The most important recorded side effects are vomiting and diarrhea. No studies were found on isolated rat intestinal contractions with fluralaner. This study aimed to investigate the effects of fluralaner on small intestine (duodenum, jejunum and ileum) tissues *in vitro* in rats.

For this purpose 6 protocols were applied; and a total of 60 animals were used together with the preliminary studies to determine the dose of fluralaner. In the 1st protocol, the effect of fluralaner and its solvent, dimethylsulfoxidesolution (DMSO) on the tissues suspended in the organ bath, and in the 2th protocol, the effects of fluralaner and DMSO on the tissues precontracted with 80 mM KCl were evaluated. In the 3rd protocol, fluralaner concentrations ( $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ , and  $10^{-4}$  M) were evaluated in the tissues incubated with  $3 \times 10^{-6}$  M GABA for 15 minutes. In the 4th protocol, cumulative acetylcholine concentrations ( $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  and  $10^{-3}$  M) with fluralaner ( $10^{-6}$  and  $10^{-4}$  M) incubation has been studied. In the 5th protocol, fluralaner ( $10^{-5}$  M) incubation and serotonin concentrations ( $3 \times 10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  and  $3 \times 10^{-5}$  M) were studied. In the 6th protocol concentrations of fluralaner ( $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  and  $10^{-4}$  M) were applied with bicuculine, GABA antagonist, ( $3 \times 10^{-6}$  M) incubation. The % relaxation, % contraction, and frequency values measured from the duodenum, jejunum, and ileum were compared.

According to the statistical analysis, more relaxation response was obtained at  $10^{-4}$  M fluralaner concentration in the jejunum and ileum precontracted with KCl, compared to the control % relaxation response in Protocol 2. In the 3rd protocol with GABA incubation, it was found that the  $10^{-4}$  M concentration of fluralaner both decreased the % contraction and the frequency values in the tissues when compared with the DMSO application. It was also determined that the frequency of GABA + fluralaner application was lower in all tissues at  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  and  $10^{-4}$  M concentrations of fluralaner compared to the application of fluralaner alone. In the 4th protocol with acetylcholine, it was found that the fluralaner incubated with a concentration of  $10^{-4}$  M reduced acetylcholine-induced % contractions in the jejunum and ileum. In the 6th protocol with bicuculine, it was found that the  $10^{-4}$  M concentration of fluralaner significantly decreased the % contraction and the frequencies in all tissues when compared to

DMSO. Frequencies were calculated and compared between the application of  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  and  $10^{-4}$  M concentrations of fluralaner to the tissues and the application of the same concentrations of fluralaner under  $3 \times 10^{-6}$  M bicuculline incubation. According to the statistical analysis, it was found that the frequencies of all concentrations of bicuculline + fluralaner application were lower in the duodenum compared to fluralaner applications alone, the application of bicuculline + fluralaner in the jejunum had lower frequencies than the fluralaner application at  $10^{-6}$  M, and fewer frequency values at  $10^{-4}$  M concentrations. In the ileum, it was determined that all concentrations of bicuculline + fluralaner application were higher than only fluralaner application. The results of the study showed that fluralaner was effective on small intestine tissues.

**Keywords:** Contraction, duodenum, fluralaner, ileum, jejunum, *in vitro*, rat





## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca çalıőmamın her aőamasında bilgi ve deneyimlerini ve zamanını benimle paylaşan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ebru YILDIRIM'a, ayrıca ikinci danışman hocam Sayın Prof. Dr. Emine BAYDAN'a, aldığım eğitim aőamasında bilgilerini benimle paylaşan Sayın Prof. Dr. Ender YARSAN'a, Sayın Prof. Dr. Aytül KÜRÜM'e, Sayın Doç. Dr. Hüsamettin EKİNCİ'ye ve ayrıca aileme çok teşekkür ederim.



# İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>viii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>ix</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>xiv</b>
<b>SİMGELER DİZİNİ</b> .....	<b>xvi</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>xvii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Ektoparazit İlaçları .....	4
1.2. İzoksazolin Grubu Ektoparaziter İlaçlar.....	5
1.3. Fluralaner.....	6
1.3.1. Fluralanerin Kimyasal Yapısı .....	6
1.3.2. Fluralanerin Etki Şekli .....	7
1.3.3. Fluralanerin Etkisi.....	8
1.3.4. Fluralanerin Farmakokinetik Özellikleri.....	10
1.3.5. Fluralanerin Kullanılması .....	11
1.3.6. Fluralanerin Yan Etkileri .....	12
1.4. Asetilkolin .....	13
1.5. Serotonin (5-Hidroksitriptamin, 5HT) .....	14
1.6. Gama aminobutirik asit (GABA) .....	14
1.7. Bikukulin .....	15
1.8. Sıçan İnce Bağırsağının Morfolojisi, Fizyolojisi ve Farmakolojisi .....	16
1.9. İnce Bağırsağın (Duodenum, Jejunum ve İleum) Kasılmasının Önemi.....	16
1.10. Çalışmanın Amacı .....	17
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>18</b>
2.1. Kullanılan Deneysel Araçları ve Malzemeler.....	18
2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	19
2.3. Deneysel Kullanılan Tyrode Çözeltisi Bileşenleri.....	20
2.4. Kullanılan Deneysel Hayvanları .....	20
2.5. Yöntem .....	21
2.5.1. Sıçan İnce Barsağının Bölümlerinin (Duodenum, Jejunum ve İleum) İzole Edilmesi.....	21

2.6. Çalışmada Uygulanacak Derişimlerin Belirlenmesi .....	25
2.6.1. Birinci Protokol: Fluralanerin Tek Başına İnce Bağırsak Bölümleri (Duodenum, Jejunum, İleum) Üzerine Etkisinin Araştırılması.....	26
2.6.2. İkinci Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) KCl Kasılmalarının Üzerine Etkisi .....	27
2.6.3. Üçüncü Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) GABA Kasılmalarının Üzerine Etkisi .....	29
2.6.4. Dördüncü Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) Asetilkolin ile Beraber Etkisinin Ölçülmesi .....	31
2.6.5. Beşinci Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) Serotonin ile Beraber Etkisinin Ölçülmesi .....	32
2.6.6. Altıncı Protokol: Fluralane Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) Bikukulin ile Beraber Etkisinin Ölçülmesi.....	33
2.7. Protokollerde Uygulanan Deney Verilerinin Değerlendirilmesi.....	34
<b>3. BULGULAR .....</b>	<b>36</b>
3.1. Birinci Protokol: Fluralanerin Tek Başına İnce Bağırsak Bölümleri (Duodenum, Jejunum, İleum) Üzerine Etkisinin Araştırılması.....	36
3.2. İkinci Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) KCl Kasılmalarının Üzerine Etkisi .....	38
3.3. Üçüncü Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) Gaba Kasılmalarının Üzerine Etkisi.....	42
3.4. Dördüncü Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) Asetilkolin ile Beraber Etkisinin Ölçülmesi .....	50
3.5. Beşinci Protokol: Fluralaner Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) Serotonin ile Beraber Etkisinin Ölçülmesi.....	55
3.6. Altıncı Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) Bikukulin ile Beraber Etkisinin Ölçülmesi .....	58
<b>4. TARTIŞMA.....</b>	<b>64</b>
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>70</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>71</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>79</b>
Ek-1: Etik Kurul onayı .....	79
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>82</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
2.1. Fluralanerin sıçan ince bağırsak bölümleri (duodenum, jejunum ve ileum) üzerine etkisinin araştırılmasında yapılan protokoller .....	21
3.2. DMSO ve fluralaner'in $10^{-11}$ , $10^{-10}$ , $10^{-9}$ , $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ M derişimlerinin duodenum, jejunum ve ileuma kümülatif olarak % gevşeme üzerine etkisi .....	38
3.3. Fluralaner'in $10^{-9}$ , $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ M derişimlerinin duodenum, jejunum, ileum KCl % kasılmaları üzerine etkisi (% gevşeme cevapları).....	40
3.4. KCl kasılması altında DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerde duodenum % üzerine etkisi .....	41
3.5. KCl kasılması altında DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerde jejunum % üzerine etkisi .....	41
3.6. KCl kasılması altında DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerde ileum % üzerine etkisi .....	42
3.7. $3 \times 10^{-6}$ M GABA ile inkübe edilen duodenuma DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ M derişimlerinin % etkisi .....	43
3.8. $3 \times 10^{-6}$ M GABA ile inkübe edilen jejunuma DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ M derişimlerinin % etkisi .....	43
3.9. $3 \times 10^{-6}$ M GABA ile inkübe edilen ileuma DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ M derişimlerinin % olarak etkisi .....	43
3.10. DMSO ve Fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerinin $3 \times 10^{-6}$ M GABA inkübasyonu altında duodenumda 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması .....	44
3.11. DMSO ve Fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerinin $3 \times 10^{-6}$ M GABA inkübasyonu altında jejunumda 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması .....	45
3.12. DMSO ve Fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerinin $3 \times 10^{-6}$ M GABA inkübasyonu altında ileuma 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması .....	45
3.13. DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişim olarak duodenum % üzerine etkisi .....	46

<b>3.14.</b> DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişim olarak jejunum % kasılmaları üzerine etkisi.....	46
<b>3.15.</b> DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişim olarak ileum% kasılmaları üzerine etkisi.....	47
<b>3.16.</b> DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerinin duodenumdaki ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması .....	49
<b>3.17.</b> DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerinin jejunumdaki ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması .....	49
<b>3.18.</b> DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerinin ileumdaki ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması .....	49
<b>3.19.</b> Fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerinin spontan kasılmalara ve $3 \times 10^{-6}$ M GABA ile inkübe edilen dokulardaki duodenum, jejunum ve ileumdaki ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması .....	50
<b>3.20.</b> DMSO ve $10^{-6}$ M fluralaner inkübasyonunda Ak'nin $10^{-9}$ , $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ ve $10^{-3}$ M derişimlerinin duodenum, jejunum ve ileum % kasılmalar üzerine etkisi .....	52
<b>3.21.</b> DMSO ve $10^{-4}$ M fluralaner inkübasyonunda Ak'nin $10^{-9}$ , $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ ve $10^{-3}$ M derişimlerinin duodenum, jejunum ve ileum % kasılmalar üzerine etkisi .....	53
<b>3.22.</b> Spontan kasılma, 5 $\mu$ l DMSO ve 50 $\mu$ l DMSO inkübasyonu üzerine Ak'nin $10^{-9}$ , $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ ve $10^{-3}$ M derişimlerinin duodenum % kasılmalar üzerine etkisi.....	54
<b>3.23.</b> Spontan kasılma, 5 $\mu$ l DMSO ve 50 $\mu$ l DMSO inkübasyonu üzerine Ak'nin $10^{-9}$ , $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ ve $10^{-3}$ M derişimlerinin jejunum % kasılmalar üzerine etkisi.....	54
<b>3.24.</b> Spontan kasılma, 5 $\mu$ l DMSO, ve 50 $\mu$ l DMSO inkübasyonu üzerine Ak'nin $10^{-9}$ , $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ ve $10^{-3}$ M derişimlerinin ileum % kasılmalar üzerine etkisi.....	55
<b>3.25.</b> DMSO'nun ve fluralanerin $10^{-5}$ M inkübasyonunda serotoninin $3 \times 10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $3 \times 10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $3 \times 10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $3 \times 10^{-5}$ M derişimlerinin duodenumda % olarak kasılmaları üzerine etkisi.....	57
<b>3.26.</b> DMSO'nun ve fluralanerin $10^{-5}$ M inkübasyonunda serotoninin $3 \times 10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $3 \times 10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $3 \times 10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $3 \times 10^{-5}$ M derişimlerinin jejunuma % olarak kasılmaları üzerine etkisi.....	57

<b>3.27.</b> DMSO'nun ve fluralanerin $10^{-5}$ M inkübasyonunda serotoninin $3 \times 10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $3 \times 10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $3 \times 10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $3 \times 10^{-5}$ M derişimlerinin ileuma % olarak kasılmaları üzerine etkisi.....	57
<b>3.28.</b> DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerinin $3 \times 10^{-6}$ M bikukulin inkübasyonu altında duodenum % kasılmaları üzerine etkisi.....	59
<b>3.29.</b> DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerinin $3 \times 10^{-6}$ M bikukulin inkübasyonu altında jejunum % kasılmaları üzerine etkisi.....	60
<b>3.30.</b> DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M, derişimlerinin $3 \times 10^{-6}$ M bikukulin inkübasyonu altında ileum % kasılmaları üzerine etkisi.....	60
<b>3.31.</b> DMSO ve fluralanerin $3 \times 10^{-6}$ M bikukulin inkübasyonu altında $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M, derişimlerinin duodenumda ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması .....	61
<b>3.32.</b> DMSO ve fluralanerin $3 \times 10^{-6}$ M bikukulin inkübasyonu altında $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M, derişimlerinin jejunumda ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması .....	61
<b>3.33.</b> DMSO ve fluralanerin $3 \times 10^{-6}$ M bikukulin inkübasyonu altında $10^{-6}$ , $10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M, derişimlerinin ileumda ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması .....	62

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
1.1. Fluralanerin kimyasal yapısı .....	7
1.2. Asetilkolinin kimyasal yapısı .....	13
1.3. Serotoninin kimyasal yapısı .....	14
1.4. GABA'nın kimyasal yapısı .....	15
1.5. Bikukulinin kimyasal yapısı.....	15
2.1. Denedeyde kullanılan, izole organ banyosu, Biopac Systems MP 35 (Commat, Türkiye), Polygraph sistem, izometrik gerim ileticisi, bilgisayar, tüp (% 95 O <sub>2</sub> ve %5 CO <sub>2</sub> içeren gaz karışımı).....	19
2.2. Anestezi altındaki sıçanın görünümü .....	23
2.3. Anestezi altındaki karın duvarı açılmış olan sıçanın iç organlarının görünümü .....	23
2.4. Sıçanda duodenumun izole edilmesi .....	24
2.5. Sıçanda jejunumun izole edilmesi.....	24
2.7. Sıçan ince bağırsak bölümlerinin izole organ banyosundaki görünümü.....	25
3.1. Sıçan duodenumuna KCl uygulaması .....	36
3.2. Sıçan jejunumuna KCl uygulaması .....	37
3.3. Sıçan ileumuna KCl uygulaması .....	37
3.4. Duodenuma DMSO ve fluralanerin sırasıyla 10 <sup>-9</sup> ,10 <sup>-8</sup> ,10 <sup>-7</sup> ,10 <sup>-6</sup> ,10 <sup>-5</sup> ,10 <sup>-4</sup> M uygulaması öncesi KCl ile kastırılması (Her derişim uygulanmasından sonra dokular 3'er kez 5 dakika aralıklarla yıkanmıştır).....	39
3.5. Jejunuma DMSO ve fluralanerin sırasıyla 10 <sup>-9</sup> ,10 <sup>-8</sup> ,10 <sup>-7</sup> ,10 <sup>-6</sup> ,10 <sup>-5</sup> ,10 <sup>-4</sup> M uygulaması öncesi KCl ile kastırılması (Her derişim uygulanmasından sonra dokular 3'er kez 5 dakika aralıklarla yıkanmıştır).....	39
3.6. İleuma DMSO ve fluralanerin sırasıyla 10 <sup>-9</sup> ,10 <sup>-8</sup> ,10 <sup>-7</sup> ,10 <sup>-6</sup> ,10 <sup>-5</sup> ,10 <sup>-4</sup> M uygulaması öncesi KCl ile kastırılması (Her derişim uygulanmasından sonra dokular 3'er kez 5 dakika aralıklarla yıkanmıştır).....	39
3.7. Jejunuma KCl kasılması sonrası 10 <sup>-4</sup> M derişiminin fluralaner uygulaması....	40
3.8. Jejunuma KCl kasılması sonrası DMSO derişimlerinin uygulaması .....	41
3.9. 3x 10 <sup>-6</sup> M GABA ile inkübe edilen jejunuma 10 <sup>-4</sup> M fluralaner uygulaması .....	42

<b>3.10.</b> Fluralanerin $10^{-4}$ M derişiminin $3 \times 10^{-6}$ M GABA inkübasyonu altında duodenum (A), jejunum (B) ve ileum (C) dokularının frekansları üzerine etkisi .....	44
<b>3.11.</b> Jejunuma $10^{-6}, 10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M fluralaner uygulaması.....	47
<b>3.12.</b> Jejunuma DMSO'nun farklı derişimleri uygulaması .....	47
<b>3.13.</b> Fluralanerin $10^{-4}$ M derişiminin duodenum (A), jejunum (B) ve ileum (C) dokularının frekansları üzerine etkisi .....	48
<b>3.14.</b> Fluralanerin $10^{-6}$ M inkübasyonunda Ak'nin $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$ M derişimlerinin duodenum üzerindeki kasılma etkisi .....	52
<b>3.15.</b> Fluralanerin $10^{-6}$ M inkübasyonunda Ak'nin $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$ M derişimlerinin jejunum üzerindeki kasılma etkisi .....	52
<b>3.16.</b> Fluralanerin $10^{-6}$ M inkübasyonunda Ak'nin $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$ M derişimlerinin ileum üzerindeki kasılma etkisi .....	53
<b>3.17.</b> Fluralaner $10^{-5}$ M inkübasyonunda serotoninin $3 \times 10^{-8}, 10^{-7}, 3 \times 10^{-7}, 10^{-6}, 3 \times 10^{-6}, 10^{-5}$ ve $3 \times 10^{-5}$ M derişimlerinin duodenuma kasılma etkisi.....	56
<b>3.18.</b> Fluralaner $10^{-5}$ M inkübasyonunda serotoninin $3 \times 10^{-8}, 10^{-7}, 3 \times 10^{-7}, 10^{-6}, 3 \times 10^{-6}, 10^{-5}$ ve $3 \times 10^{-5}$ M derişimlerinin jejunuma kasılma etkisi .....	56
<b>3.19.</b> Fluralaner $10^{-5}$ M inkübasyonunda serotoninin $3 \times 10^{-8}, 10^{-7}, 3 \times 10^{-7}, 10^{-6}, 3 \times 10^{-6}, 10^{-5}$ ve $3 \times 10^{-5}$ M derişimlerinin ileuma kasılma etkisi .....	56
<b>3.20.</b> $3 \times 10^{-6}$ M bikukulin inkübasyonundaki fluralanerin $10^{-6}, 10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerinin duodenum üzerindeki kasılma etkisi.....	58
<b>3.21.</b> $3 \times 10^{-6}$ M bikukulin inkübasyonundaki fluralanerin $10^{-6}, 10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerinin jejunum üzerindeki kasılma etkisi .....	59
<b>3.22.</b> $3 \times 10^{-6}$ M bikukulin inkübasyonundaki fluralanerin $10^{-6}, 10^{-5}$ ve $10^{-4}$ M derişimlerinin ileum üzerindeki kasılma etkisi .....	59
<b>3.23.</b> Fluralanerin $10^{-4}$ M derişiminin $3 \times 10^{-6}$ M bikukulin inkübasyonu altında duodenum (A), jejunum (B) ve ileum (C) frekansları üzerine etkisi .....	61



## SİMGELER DİZİNİ

A	Alfa
$\gamma$	Gama
$\mu$	Mikro
°C	Santigrad derece



## KISALTMALAR

W	Ağırlık
Ak	Asetilkolin
AkE	Asetilkolin Esteraz
EMA	Avrupa İlaç Ajansı
MDR1	Çoklu İlaç Direnci Geni
DDT	Diklorodifeniltrikloroetan
DMSO	Dimetilsülfoksit
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
GABA	Gama aminobütirik asit
GİS	Gastrointestinal sistem
G	Gram
V	Hacim
pH	Hidrojen İyonları Yoğunluğu
Kg	Kilo gram
L	Litre
m <sup>2</sup>	Metrekare
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
Mg	Miligram
mL	Mililitre
Mmol	Milimol
M	Molar
MAO	Monoamin Oksidaz
NO	Nitrit Oksit
Cm	Santimetre
%	Yüzde

# 1. GİRİŞ

Günümüzde hayvanlar, önemli besin maddelerinin kaynağını oluşturmakta, ayrıca kedi köpek gibi evcil hayvanlarinsanlara bir yoldaş, bir arkadaş olarak psikolojik anlamda hizmet etmektedir. Yapılan araştırmalarda özellikle yaşlı insanların pet hayvanlarıyla yaşaması (kedi, köpek, kuş vb.) onların psikolojik ve sosyolojik sağlıklarına faydalı olduğunu göstermiştir. Ayrıca insanların hayatlarındaki hayvan varlığı onların kardiovasküler (kalp damar) hastalık risklerini azaltabilmektedir (Cherniack ve Cherniack, 2014). Köpek sahibi olanların olmayanlara göre geceleri uyuyamama şikayetlerinin azaldığı, hastalanma oranlarının daha az olduğu ve daha az sıklıkla doktora gittikleri ortaya çıkmıştır (Headey, Na ve Zheng, 2008).

Ayrıca çobanlık yapmak, avlanmakgibi çeşitli hizmetler sunmaktadır. Çoban köpekleri tarihin eski çağlarından beri insanoğlunun koyun ve keçi sürülerini hem vahşi hayvanlara karşı hemde hırsızlara karşı korumada hizmet etmiştir (Karatay, 2007). Hayatın içinde bu kadar önemli bir yer tutan hayvanların en önemli sorunlarından biri dış parazitlerdir. Memelilerde enfestasyona sebep olan dış parazitler çoğunlukla sinekler, keneler, bitler, pireler, uyuz etkenleridir (İça, İnci ve Yıldırım, 2008).

Bit, pire, sinekler, uyuz etkenleri ve akarlar ektoparazitlerin önemli kısımlarını teşkil eder. Hayvanlara ve insanlara zarar vermesi ile bu ektoparazitler daha da ön plana çıkmaktadır. Artropoda yeryüzündeki bilinen hayvanların yaklaşık %75'ni teşkil eder. Bazı bilim insanlarına göre 30 milyona kadar farklı tür artropoda bulunmaktadır. Bunlardan bir kısmı insan hekimliği, bir kısmı veteriner hekimliğibir kısmıda ziraati ilgilendirir (Dik, 2003).

Dış parazitler dünyanın hemen hemen birçok ülkesinde iklim ve coğrafi durumun uygunluğuna göre çeşitlilik ve dağılım gösterirler. Hayvanlarda deri lezyonlarına ve paraziter, bakteriyel, viral ve riketsiyal kökenli hastalıkların yayılmasına sebebiyet verirler (Taylor, Coop ve Wall, 2007).

Vektörler ve vektörlerle bulaşan hastalıklar son yıllarda küresel ısınmaya bağlı meydana gelen iklimsel değişiklikler ve azalan kaynaklar, ilaçlara karşı direnç gelişmesi, patojenlerin genetiklerindeki değişiklikler, kontrolsüz insan ve hayvan hareketleri, gibi sebeplerden dolayı tekrar önem kazanmaya başlamıştır. Yeryüzünde teşhisi yapılan ve sistematikteki yeri belirlenen canlıların %80'den fazlasını arthropodalar oluşturmaktadır. Arthropoda en büyük sınıfını oluşturan *İnsecta* ise yeryüzünde bilinen canlıların %50'den (~900.000 tür) fazlasını oluşturur (İnci ve Düzlü, 2009). “*İnsecta*” sınıfına ait artropodlar dünya da tarımsal verim düşüklüğüne neden olan en büyük sorunlardan biridir (Panda ve Kush, 1995). Bu sorunla mücadele için tarımsal pestisidlerin kullanımı ve üretilen ürünler çiftçiler üzerine ek bir maliyet getirmektedir. Avrupa Birliği ülkeleri tarımsal ve bahçesel üretimleri için her yıl yaklaşık 360 milyon kg pestisid kullanmaktadırlar (Santos vd., 2017).

Çeşitli ektoparazitler, çiftlik hayvanları, evcil hayvanlar, laboratuvar hayvanları, kümes hayvanları, balıklar ve arılar dahil olmak üzere birçok evcil hayvan türünde önemli enfestasyonlara neden olur (Hopla, Durden ve Keirans, 1994). Sineklerden bazıları at vebası, tripanosoma, mavi dil gibi hastalıkların yayılmasına yolaçarlar, (Kaya vd., 2013).

Kanatsız parazitler olan bitler konakçının kanını emerler, bu esnada kanın pıhtılaşmasını bozan maddeleri konakçıya bulaştırırlar ve kaşıntıya sebep olurlar (Kaya, Pirinççi ve Bilgili, 2013). Bitler hayvanlarda kılların birbirlerine yapışmasına, karışmasına, kepeklenmesine, kaşıntıya, anemi ve zayıflamasına, yol açarlar. Bitler konakçıda tahrişe, kansızlığa veya dermatite neden olurlar (Hopla, Durden, Keirans, 1994).

Pireler jeolojik çağlardan beri bilinen insanları ve hayvanları rahatsız eden ve dünya çapında evcil hayvanların en sık görülen dış parazitlerdir. Birçok zoonotik hastalığıntaşıyıcısı oldukları bilinmektedir. Tarihsel olarak pireler, insanların en önemli ektoparazitlerinden biri olarak kabul edilmektedir (İannino vd., 2017). Yetişkin pireler, dünya genelinde memelilerin ve kuşların ektoparazitleridir. Yaklaşık 2525 tür tespit edilmiş olup, %96'sı memelileri ve %4'ü kuşları enfeste ederler (Rust, 2016). Pirelerin sadece olgunları hayvanların üzerinde bulunurlar. Köpek pireleri *Dipylidium caninum*'a ara konakçılık yaparlar (Kaya vd, 2013). Veteriner hekimlere başvuran dermatolojik vakaların %50'den fazlasını ve toplam ektoparazitler vakalarının %35'ini pire enfestasyonlarının oluşturduğu bildirilmiştir. Pire tedavilerinin maliyetide

yüksektir, evcil hayvan sahiplerinin yalnızca pireye karşı geliştirilen ürünlere dünya genelinde yılda 2 milyar dolardan fazla harcadıkları tahmin edilmektedir (Becskei vd., 2016).Sadece Avrupa ülkelerinde kedi ve köpeklerdeki pire enfestasyonları %5-10 arasındadır (Beugnet ve Franc, 2012).

Keneler, tıbbi açıdan en önemli eklembacaklı gruplarından biridir. Bunlar çok önemli birkaç hastalığın vektörüdür ve kene felcine neden olabilirler(Mathison vePritt,2014). Keneler konakçının kanını emerek beslenirler ve bu sırada Brucella, Listeria, Q-humması, Babesiyoz, Theilerioz, Spikoketoz, Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi hastalığı gibi pek çok hastalığın bulaşmasına aracılık ederler (Kaya vd., 2013).Keneler, köpekler, kediler ve insanlar dahil olmak üzere çeşitli omurgalı konakçıları kolayca istila eden, hem beşeri hem de veteriner hekimlik için önemi olan yaygın kan emici ektoparazitlerdir ve kanla beslenmeden kaynaklanan doğrudan etkilere ek olarak, çoğu zoonotik olan çeşitli patojenlere vektörlük ederler(Saleh, Allen, Lineberry, Little ve Reichard,2021). Keneler, patojenik protozoa (örneğin Babesia vb.), viral (örneğin kene kaynaklı ensefalit virüsü, Kırım-Kongo Kanamala Ateşi, vb.), riketsiyal ve bakteriyel olan hastalıkların bulaşmasına aracılık ederler (Becskei vd., 2016). Kenelerle mücadelede hayvanların kene istilasına karşı tam olarak korunması için yetişkinleriile olduğu kadar kenelerin olgunlaşmamış evreleriylede mücadele etmek önemlidir (Allen vd.,2020).

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre insanlarda bu tip ektoparazitlerle bulaşan sıtma, Leishmaniasis, Kırım-kongo Kanamalı Ateşi hastalığı, hantavirüs, Tatarcık ateşi, Batı Nil Ateşi, gibi vektörel hastalıklardan her yıl yüzbinlerce insan ölmektedir (WHO, 2020).

Ektoparazitler evcil hayvanlarda deri irritasyonları ve sekonder bakteriyel enfeksiyonlar gibi yaygın ve ciddi olarak deri bozukluklarına ve alerjik reaksiyonlara sebep olur. Ayrıca ektoparazitler birçok bulaşıcı hastalığın insanlar ve hayvanlar arasında yayılmasından da sorumludur (Shoorijeh, Ghasrodashti, Tamadon, Moghaddar ve Behzadi, 2008). Genel olarak ektoparazitler, anemiye, bağışıklık reaksiyonlarına (aşırı duyarlılık, anafilaksi vb.), dermatitislere, cilt nekrozlarına, özellikle çiftlik hayvanlarında önemli görülen kilo kayıplarına, ikincil enfeksiyonlara, kanamalara, deliklerin tıkanmasına (kulaklar, vb.), toksinlerin vücuda girmesine sebep olurlar (Hopla vd., 1994). Veteriner hekimlikte ektoparazit kaynaklı enfeksiyonların kontrolü büyük ölçüde eklembacaklı sinir sistemini hedef alan kimyasalların

kullanımına dayanmaktadır. Bu tür bileşikler, direnç gelişimi insan ve çevre güvenliği ile ilgili endişeler dahil olmak üzere birçok olumsuz faktörü beraberinde getirmektedir (Taylor, 2001).

## 1.1. Ektoparazit İlaçları

Ektoparaziter ilaç sektörü 2001 yılından bu yana yıllık %5 ile %10 arasında değişen büyüme oranı ile en hızlı büyüyen sektördür ve hayvan sağlığı sektöründeki ilaçlarda antiparazitik ilaçlar en büyük paya sahiptir (Beugnet ve Franc, 2012). Günümüzde ektoparazitlere karşı etkili birçok ilaç bulunmaktadır. Ektoparaziter ilaçlar, etki şekilleri veya etki yerlerine, etki hızlarına, kimyasal yapı ve kaynaklarına göre sınıflandırılırlar (Üstüner, 2016). İnsektisidlerin etki şekilleri birbirlerinden oldukça değişkenlik gösterirler. DDT (diklorodifeniltrikloroetan) ve analogları, piretrinler iyon kanalları üzerine, avermektin nöromusküler madde benzeri etki oluşturarak, organik fosforlu (OF) ve karbamat bileşikler AkE (Asetilkolin esterase)'nin etkinliğinin önleyerek, diflubenzuron, metopren gibi maddeler kitin sentezinin önleyerek, kumarin türevleri kanın pıhtılaşmasını önleyerek, siyanür, karbon monoksit, rotenon gibi maddeler solunum zehiri olarak, ağır metaller ve asitler protoplazma zehiri olarak etki ederler (Kaya, 2013).

Kedi ve köpeklerde en çok kullanılan bazı ektoparaziter ilaçlar ve etki şekilleri Beugnet ve Franc (2012)'ye göre OF'ler kimyasal grubundan fenitoin ve diazinon AkE enzim etkinliğini dönüşümsüz olarak engeller, karbamatlar grubundan karbaril AkE üzerine etkiyerek Ak etkisini artırır, formamidinler grubundan amitraz oktopamin reseptörlerine etkiyerek, adenilat siklaz ve G protein'in aktivasyonuna yol açar, piretroidler grubundan permetrin, deltametrin, flumetrin sodyum (Na<sup>+</sup>) iyon kanallarına etki ederek sinir hücrelerini aşırı uyarılmasını sağlar, fenil pirazoller grubundan fipronil ve piriprol GABA (Gama amino bütirik asit) ve glutamat reseptörlerine etkiyerek sinir hücrelerinde klor (Cl<sup>-</sup>) girişini engeller, neonicotinoidler grubundan imidaklopril dinotefuran ve nitenpiram nikotinik Ak reseptörler agonisti olarak etkisini gösterir, avermektinler/milbemisiner makrosiklik laktonlar kimyasal grubundan moksidektin, selamektin ve milbemisinoksim GABA benzeri etkileri vardır ve glutamat reseptörlerine etki ederek, Cl<sup>-</sup> iyon kanallarını uyararak etki gösterir.

Günümüzde kullanılan ekto paraziter ilaçların güvenilirliği insanlar için başka bir sorun oluşturmaktadır. Günümüze kadar ekto parazitlerle mücadelede birçok ilaç kullanılmış bunlardan lindandünya genelinde 1970'lerde, DDT ise 1972 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde aşırı toksik ve karsinojen oldukları için yasaklanmıştır (Roos, Roos, Merk ve Bickers, 2001). Türkiye'de ise DDT 1985 yılından itibaren yine benzer sebeplerle yasaklanmıştır (Arıkan, 2022).

Nikotin benzeri pestisidlerin kullanılmasıyla ilgili tarımda yararlı organizmalara ve onların ekolojik fonksiyonlarına karşı ciddi zarar verdiğine dair çok sayıda kanıtlar bulunmaktadır (Furlan ve Kreuzweiser, 2015). Bu ekto paraziter ilaçların aşırı kullanımı sahada ekto parazitlere karşı direnç gelişmesine sebep olmuştur ve birçok ülkede 600 haşere türüne karşı direnç geliştiği bildirilmiştir (McNair, 2015). Kedi ve köpeklerde kullanılan ekto paraziter ilaçlar ise tüm kullanılan ekto paraziter ilaçların yaklaşık %75'ni oluşturur (Beugnet ve Franc, 2012).

## **1.2. İzoksazolin Grubu Ekto Paraziter İlaçlar**

İzoksazolinler, omurgasızların sinir sistemindeki GABA reseptör ve glutamat kapılı klorür kanallarını güçlü bir şekilde inhibe eden ekto paraziter ilaçlardır (Gaens, Rummel, Schmidt, Hamann ve Geyer, 2019; Rufener, Danelli, Bertrand ve Sager, 2017).

İzoksazolin grubu ilaçlar hayvanlara ağızdan uygulanan, bit ve keneleri öldürerek etki eden, uzunca bir süre etkinliği olan, kedilerin ve köpeklerin parazit enfestasyonlarının önlenmesi ve korunmasında önemli avantajlar sağlayan yeni sınıf ekto paraziter ilaçlardır. Bu sınıfın üç temsilcisi olan afoksolaner, sarolaner ve lotilaner aylık olarak uygulama gerektirirken, fluralaner'in etkisi ise 12 hafta sürmektedir (Ranjan, Young, ve Sun, 2018). İzoksazolinler; poliklorosikloalkanlar (αendosulfanlar gibi), fibroles (fipronil) ve avermektinler, birçok çeşit haşerenin GABA klor kanalları ve GABA reseptörlerini hedef alarak etkiler, diğerlerinden farklı olarak izoksazolinler, tarım zararlıları ve evcil hayvan zararlılarına karşı kullanılabilinen ve düşük memeli toksisitesine sahip özellikte bir ilaç grubudur (Zhao ve Casida, 2014).

İzoksazolinler ekto parazitlere karşı kullanılan diğer ilaçlardan hızlı emilimleri, uzun süren etkileri, bit, pire kene gibi ekto parazitlere daha geniş spektrumlu etki göstermeleri gibi eşsiz özellikleri sayesinde ön plana çıkmaktadırlar. İzoksazolinler

insektlere karşı mücadelede yüksek etkinin yanısıra, konakçıya çok az yan etkisi olması sebebiyle geleneksel ektoparaziter ilaçların yerini alabilir (Zhou, Hohman ve Hsu,2021). Hatta izoksazolinler direnç gelişiminden etkilenmedikleri için Lyme hastalığı, kene kaynaklı ensefalit gibi eklem bacaklılardan kaynaklanan hastalıklar, insan Afrika Tripanozomiyazı (uyku hastalığı), Leishmaniasis ve sıtma gibi hastalıkların yayılmasını engelleyebilme özelliğine sahiptirler (Weber ve Selzer, 2018).

### **1.3. Fluralaner**

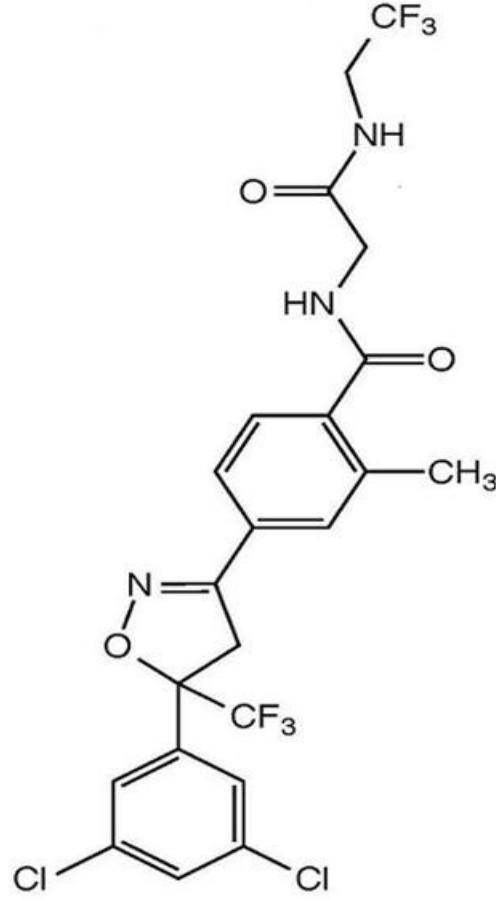
Fluralaner, afoksolaner, lotilaner ve sarolaner ile birlikte izoksazolin sınıfına ait olan yeni sistemik ektoparaziterdir (Gaens vd, 2019).Fluralaner çiğnenebilir tablet olarak ağız yoluyla uygulanabilen, köpeklerin birçok bit, pire ve kene enfestasyonlarında 12 haftaya kadar etkilidir (Kilp, Ramirez, Allan, Roepke ve Nuernberger, 2014).Fluralaner, duyarlı omurgasızlarda nöronal GABA ve glutamat kapılı klorür kanallarına bağlanma mekanizması yoluyla güçlü akarisit ve böcek öldürücü aktivite gösterir. Ayrıca fluralaner, eklem bacaklılar için yüksek seçiciliğe ve köpekler dahil omurgalılarda geniş bir güvenlik profiline sahiptir (Williams, Young, Qureshi, Zoller ve Heckerroth 2014).

ABD Gıda ve İlaç dairesi (FDA), Mayıs 2014'te köpeklerde pire tedavisi için Bravecto® ticari ismi altında onaylamıştır. Avrupa Birliği ise bu ilacı Şubat 2014'te onaylamıştır (EMA, 2014).

#### **1.3.1. Fluralanerin Kimyasal Yapısı**

Fluralaner, temel bir özellik olarak izoksazolin yapısına sahiptir.5.35'lik bir log Pow'a (oktanol/su bölme katsayısı, yağı sevme katsayısı) sahiptir ve plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır(Kilp vd, 2014). Fluralanerin kimyasal şekli Şekil 1.1.'de gösterilmiştir.





**Şekil 1.1.** Fluralanerin kimyasal yapısı (Jiang, Tsikolia, Bernier ve Bloomquist, 2017)

### 1.3.2. Fluralanerin Etki Şekli

Fluralaner etkisiz ve kenelerde GABA klor kanallarını ve daha az olarak da glutamat klor kanallarını inhibe ederek oluşturur. Ligand bağlı iyon kanalları hayvanlarda ve haşerelerde sinirsel uyarının ve inhibisyonun düzenlenmesinde hayati rol oynar. Bu kanallar ya bir aksiyon potansiyeli başlatmaya karşı post sinaptik membranın depolarizasyonunu sağlayan katyon seçici kanalları, yada membran hiperpolarizasyonunu sağlayan veya katyon kanalları tarafından meydana getirilen depolarizasyonu baskılayan anyon kanallarıdır (Nakata vd.,2017).

Gamma amino butirik asit hem memelilerde hem de omurgasız hayvanlarda bulunan baskıcı nitelikte bir nöromediyatördür. GABA reseptörlerinin birçok değişik tipleri arasında GABA reseptör-klor kanal bileşiği lindan ve fibronil gibi insektlerin önemli bir hedef bölgesidir. İzoksalin türevi insektisidler ikinci nesil GABAerjik

bileşikler olarak piyasaya sürülmüşlerdir (Jiang, Tsikolia, Bernier ve Bloomquist, 2017). Sadece omurgasızlarda bulunan, inhibitör etkili glutamat reseptörleri Cys-loop ligand (5 protein subünitesinden oluşmuş, nikotinik asetilkolin, GABA<sub>A</sub>, glisin, serotonin ve çinko ile aktive edilen reseptörlerin üst ailesi) kapılı iyon kanalları ailesi üyesidir (Nakata vd., 2017). Fluralaner etkisini GABA klor kanalları (GABA<sub>Cl</sub>s) ve l-glutamat-klor kanalları (GluCl<sub>s</sub>)'nı güçlü bir şekilde inhibe ederek gösterir (Gassel, 2014). Fluralaner omurgalı reseptörlerine bağlanmada daha düşük ilgi duyar (Gaens vd., 2019). Nakata vd. (2017) fluralanerin seçiciliğinin belirlenmesinde, *Musca domestica* türlerinde glutamata bağlı iyon kanallarında amino asit Leu 315' in önemli rol oynadığını göstermişlerdir.

Organofosfat direnci sitokrom P450 CYP6D1 geninde mutasyonlara sahiptir. Fluralanerin etki şeklinin piretroidler, karbamatlar ve OF'lardan farklı olduğu göz önüne alındığında, fluralaner bu oluşabilecek dirence karşı alternatif olarak kullanılabilir (Burgess vd.,2020).

### **1.3.3. Fluralanerin Etkisi**

Fluralaner sistemik olarak kullanılabilen, uzun etkili, bitlere, kenelere karşı inseksidal ve akarisidal bir ilaçtır (Rohdich, Roepke ve Zschiesche, 2014). Tek doz ağızdan uygulanan fluralanerin 12 hafta boyunca köpekleri dış parazit enfestasyonlarından koruduğu bildirilmiştir. Yine kedilerde yapılan bir çalışmada (Bosco vd.,2019) topikal uygulanan fluralanerin tedaviden 84. güne kadar kulak akarı ve insektlere karşı %100 etkili olduğu gösterilmiştir (Taenzler, Vos, Roepke, Frenais ve Heckerroth, 2017). Köpek ve kedilerde *Otodectes cynotis* enfestasyonlarına karşı fluralanerin etkinliğini araştıran bir çalışmada, köpeklere 25 mg/kg tek doz ağızdan ve topikal, kedilere ise 40 mg/kg fluralaner ağızdan ve topikal yapılan uygulama sonunda, tedaviden 28 güne kadar topikal uygulanan fluralanerin kedilerde ortalama akar sayısının %100' e varan oranda azalttığı saptanmıştır. Köpeklerde bu oran topikal ve ağız yolu ile uygulama sonrası tedaviden 28 gün sonra %99,8 olarak saptanmıştır. Yapılan araştırmada konakçılarda herhangi bir yan etki bulunamamıştır (Gomez vd.,2018).

Köpeklerde *Ixodes ricinus* kenelerine karşı fluralanerin (Bravecto®) öldürme hızını araştıran bir çalışmada, fluralanerin zaman içinde artan etkinlikle keneleri hızla öldürdüğünü ve 12 haftalık etkinlik süresinin tamamı için 12 saatte tam etkinliğe ulaştığı gösterilmiştir. Tedaviden sonraki 12 haftalık gözlem döneminde, fluralaner ile

tedavi edilen 24 köpeğin hiçbirinde tedaviyle ilgili yan etki gözlemlenmemiş. Kene öldürme etkinliği, tedaviden 4 saat sonra %89,6, 8. saatte %97,9 ve tedaviden 12 ve 24 saat sonra %100 olmuştur. Fluralaner, tedaviden 4 saat sonra keneleri hızla öldürmüştür ve 12 haftalık etkinlik süresinin tamamı boyunca, kene istilasından sonraki 12 saat içinde tam bir öldürme etkisine ulaşmıştır (Wengenmayer vd., 2014).

Fluralanerin köpeklere çiğnenebilir tablet (Bravecto®) olarak formüle edilmiş tek ağız yolu uygulaması, tedaviden 1 saat sonra başlayan bir pire öldürme aktivitesinin başlamasına ve tedaviden 8 saat sonra 12 haftalık tedavi boyunca enfestasyonun %98-100'lük bir pire etkinliği azalmasına yol açar (Taenzler, Liebenberg, Roepke, Frenais ve Heckerroth, 2015). Ayrıca insektisite toleranslı suşlar, özellikle dieldrin dirençli karasinekler (*Musca domestica*) ile çapraz direnç göstermediği için fluralanere olan ilgi artmıştır (Zhao ve Casida, 2014).

Yapılan çalışmalarda fipronile dirençli zararlıların, fluralaner ve fipronilin GABA-R üzerindeki farklı etkileri nedeniyle fluralanere çapraz direnç göstermediği ortaya konulmuştur (Asahi, Kobayashi, Matsui ve Nakahira, 2015). Fluralaner, diğer klasik GABAerjik bileşiklere kıyasla çeşitli böcek türlerine karşı hem *in vivo* hem de *in vitro* çalışmalarda çapraz direnç göstermez (Jiang vd., 2017).

Fluralaner, 14 gün içinde uyuz akarlarını ortadan kaldırmada etkili olmuş ve tek bir dozdan sonra 21 gün içinde sarkoptik uyuz ile ilişkili klinik belirtileri önemli ölçüde çözmüştür (Romero vd., 2016).

Bravecto çiğneme tabletlerinin tek doz olarak ağız yolu ile uygulaması, generalize olmuş demodikozise karşı oldukça etkilidir. İlk tedaviden 12 hafta sonra cilt lezyonlarında belirgin bir azalma ve tüylerin yeniden büyümesinde artış sağladığı görülmüştür (Fourie vd., 2015).

Köpeklerde *Sarcoptes scabiei*'e karşı ağız yoluyla veya topikal olarak uygulanan fluralaner tam etki sağladığı bildirilmiştir. Bu iki uygulama yönteminin etkilik bakımından fark oluşturmadığı saptanmıştır (Taenzler, Liebenberg, Roepke, Frenais ve Heckerroth, 2016). Kedilere tek doz topikal fluralaner uygulaması iyi tolere edilir ve tipik ev koşullarında uygulamayı takiben 12 hafta boyunca kedilerde pire istilasını kontrol etmede oldukça etkili bulunmuştur (Meadows, Guerino ve Sun, 2017).

Tek doz, ağız yolu ile kullanılan fluralaner (Bravecto®), aynı süre içinde uygulanan üç doz topikal fipronil (Frontline) karşısında keneler için hemen hemen aynı olup, pire ve

bitler içinse daha etkili olduğu anlaşılmıştır (Rohdich vd., 2014). Fluralaner çiğneme tabletlerinin (Bravecto®), köpeklere tek doz ağız yolu uygulaması, *Dermacentor reticulatus* keneleri tarafından *Burucella canis* bulaşmasını %100 engellemiş ve 12 haftanın sonunda kenelerin %99,2 ile %100 arasında yok olduğu görülmüştür. Fluralaner çiğneme tabletlerinin tedavi aralığı, aylık kene kontrol tedavilerinde daha fazla kolaylık sağlamıştır (Taenzler vd., 2015).

Dünya çapında tarım alanında böcek haşerelerinde pestisid direnci geliştiğinden fluralaner hali hazırda kullanılan diğer pestisidlere bir alternatif olarak araştırılmaya başlanmıştır (Liu vd.,2021). Afrika cüce kirpilerinde ektoparazitlere karşı yapılan tedavide, tedaviden sonraki 7. günde, yetişkin akarlar gözlenmiş, 14. günde sadece ölü akarlar gözlemlenmiş 21. günden sonra akarlara ve onlara ait hiçbir yaşam evresi gözlemlenmemiştir (Romero vd.,2017).

*Psoroptes cuniculi* ile doğal olarak oluşan enfestasyon nedeniyle otitisli onbeş dişi Yeni Zelanda tavşanı fluralaner ile tedavi edilmiş, hayvanların kulak yolundan 4., 8., 12., 16., 20., 40. ve 90. günlerde toplanan örnekler incelenmiş olup, 4. günde akar oranı %13,3'e düşmüş, 12. gün de ise tüm tavşanlarda parazit görülmemiştir. Yani tek dozağız yolu ile fluralaner uygulanması, tavşanlarda doğal olarak meydana gelen *Psoroptes cuniculi*'ye karşı 90 gün boyunca etkili olmuştur (Sheinberg vd.,2017).

Fluralaner, genelde kahverengi köpek kenesi olarak bilinen *rhhipicephalus sanguineus*'un tüm yaşam evrelerine karşı güçlü akarisit *in vitro* aktivite gösterir. İnsanlarda bir eklem rahatsızlığı olan Lyme hastalığına juvenil kenelerin sebep olduğu düşünülmektedir ve juvenil evrelerinin fluralanere yetişkin kenelerden daha duyarlı olduğu gerçeği göz önüne alındığında, bu molekül, yaşam döngüleri boyunca keneleri daha da etkili bir şekilde kontrol etme fırsatı sunmaktadır (Williams, Zoller, Roepke, Zschiesche ve Heckerroth, 2015).

#### **1.3.4. Fluralanerin Farmakokinetik Özellikleri**

Fluralaner tek doz olarak ağız yolu ile uygulanmasından sonra kolayca emilir, bir gün içinde plazmada maksimum konsantrasyona ( $C_{max}$ ) ulaşır, uzun yarılanma ömrü, nispeten yüksek görünür dağılım hacmi ve enterohepatik yeniden dolaşım ile düşük klirens özelliği gösterir (Gaensvd., 2019). Fluralanerin farmakokinetik özellikleri, tek

bir topikal uygulamadan sonra hem köpeklerde hem de kedilerde pire ve kenelere karşı uzun süreli etkinliğini göstermiştir (Kilp, Ramirez, Allan ve Reopke, 2016).

Fluralanerin kedi ve köpeklerde topikal yada intravenöz uygulanarak farmakokinetiğinin karşılaştırıldığı bir araştırmada; kedi ve köpeklerde uygulama yerinden hızlı bir şekilde absorbe edildiği görülmüş ve köpeklerde plazma konsantrasyonunun en belirgin şekilde 7 ile 63. günler arası ortaya çıktığı görülürken kedilerde, plazmada  $C_{max}$ 'a ulaşması 3. ile 21. günler arasında olduğu belirtilmiştir. Köpeklerde intravenöz veya ağız yoluyla ve tek doz olarak yapılan çalışmada maksimum plazma konsantrasyonuna ortalama bir gün de ortaya çıktığı, yarılanma süresinin 12-15 gün olduğu, dağılım hacminin 3.1 L/kg ve klirensinin 0.14 L/kg/gün olduğu belirtilmiştir (Kilp vd., 2016).

Farmasötik şekli çiğnenebilir tablet olan fluralanerin yiyeceklerle beraber verilmesi biyoyararlanımını önemli şekilde artırdığı görülmüştür (Walther, Allan, Reopke ve Nuernberger, 2014).

Fluralanerin ağız yoluyla uygulamadaki güvenliğinin araştırıldığı bir çalışmada genetik olarak MDR1 (çoklu ilaç direnci-1) geni noksanlığı bulunan Coli ırkı köpeklerde beklenen klinik dozdan 3 kat daha fazla, sağlıklı Beagle ırkı köpeklerde ise ağızdan verilmek suretiyle 5 katı kadar aşırı dozlamada güvenli olduğu saptanmıştır (Walther, Paul, Allan, Roepke ve Nuernberger, 2014).

### **1.3.5. Fluralanerin Kullanılması**

Fluralanerin köpeklerde ve 6 aydan büyük köpek yavrularında kullanılabilir. Önerilen doz 25 mg/kg'dır (Taenzler, 2016). Etkinliğinin uzun sürmesi aylarca kene ve bitlere karşı hayvanların korunmasının sağlayıp, vektör geçişli hastalıkların önlenmesi ve azaltılması içinde bir avantaj sağlamaktadır (Walther, Allan, Roepke ve Nuernberger, 2014).

Fluralaner, geniş insektisidal spektruma sahip yeni bir alternatif insektisit adaydır ve sadece veteriner ilacı olarak değil, daha başka alanlarda da yaygın olarak kullanılmaktadır (Sheiberg vd., 2017). Prohaczik, Menge, Huyghe, Flochlay-Sigognault ve Traon (2017) yumurtacı tavuklara 1 hafta arayla iki kez 0.5 mg/kg içme suyu yoluyla verilen fluralanerin iyi tolere edildiğini, yumurtacı tavuklar için fluralanerin akar tedavisinde güvenli olduğunu ve yumurta kaliteleri ve üretimleri

üzerinde olumsuz bir etkisinin olmasının beklenmediğini bildirmişlerdir. Sarı vd. (2021), yumurtacı tavuklarda yem alımının veya su sertliğinin fluralanerin farmakokinetiğini değiştirmediğini, bu bakımdan yemlemeden önce veya sonra kullanılabileceğini öngörmüşlerdir.

### **1.3.6. Fluralanerin Yan Etkileri**

Fluralaner genel olarak iyi bir güvenlik profiline sahip olup nörolojik yan etkiler sadece çok nadir durumlarda meydana gelir. Köpeklerde kene ve pireenfestasyonlarının tedavisi için çiğnenebilir tablet olarak temin edilebilen Bravecto® ile ilgili köpeklerde yapılan klinik çalışmalarda iyi tolere edilmiş olsa da, Bravecto® uygulamasından sonra birkaç bireyde titreme, ataksi ve nöbetler gibi ciddi nörolojik yan etkileri rapor edilmiştir (Gaens vd., 2019).

Bravecto®, fluralanerin moleküler farmakolojisine dayalı olarak köpeklerde genellikle iyi tolere edilmektedir. Ancak omurgalıların sinir sistemindeki farmakodinamik etkiler tamamen göz ardı edilemez. Bir vakada, Kooikerhondje ırkı bir köpek, tavsiye edilen dozda Bravecto® ile tedavi edilmiş ve nörolojik toksisite belirtilerinin başlangıcında fluralaner  $C_{max}$  civarında olduğu tespit edilmiştir. Bu durum ilaç tedavisi ile nörolojik işlev bozukluğu arasında olası bir nedensel ilişkiyi göstermektedir (Gaens vd., 2019). Kedi ve köpeklerden başka yumurta tavukçuluğunda ekonomik kayıplara yol açan kanatlı akarlarına karşı fluralanerin ağız yolu solüsyonu kullanılarak yapılan çalışmada fluralaner tedavisiyle ilgili olarak, hem klinik patolojik parametreler ve hem hayvanların kesildikten sonra post mortem muayenesinde iç organları ve ağırlıklarıyla ilgili hiçbir olumsuz bulguya rastlanılmamıştır (Prohaczik vd., 2017).

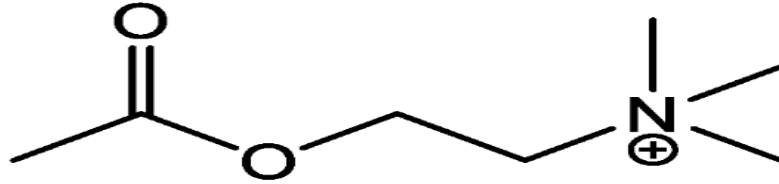
Fluralanerin sağaltım güvenliğiyle ilgili olarak köpeklere ağız yoluyla tek doz yapılan çalışmada 56 mg/kg dozuna kadar tolere edilebildiği anlaşılmıştır (Walther vd.,2014). Zhao ve Casida (2014), çalışmasında fluralaner sıçan beyin membranında %34 inhibisyona neden olmuştur. Aynı çalışmada fibronil ve heptaklorepoksid beyine çok daha büyük afinite göstermiştir.

Fluralanerin sıçanlarda ağız yoluyla akut tek doz yapılan toksisite çalışmasında öldürücü doz 50 (ÖD<sub>50</sub>) değeri 2000 mg/kg'dan yüksek bulunmuştur. Çalışmada karışık tüy dokusu dışında bir yan etkiye rastlanmamıştır. Tekrarlanan doz çalışmalarında, 20, 40 ve 400 mg/kg 90 günlük çalışmada en çok etkilenen organ

karaciğer olarak tespit edilmiştir. Yine 30, 60 ve 600 mg/kg 28 gün boyunca fluralaner verilen hayvanlarda karaciğer, timüs ve adrenallerin etkilendiği saptanmıştır (EMA, 2017).

#### 1.4. Asetilkolin

Asetilkolin enterik sinir sisteminin önemli bir nörotransmitter maddesidir (Davis, Masella ve Blennerhassett, 1998). Asetilkolin, sinapsın diğer tarafındaki bir alıcıya bağlanmak için sinaptik boşluk boyunca hareket ederek bir elektrik uyarısını iletir. Kolinin asetik asit esteridir ve bir kuaterner amonyum bileşiğidir, dayanıksız bir madde olan asetilkolin özellikle alkali ortamlarda hızlı bir şekilde kolin ve asetik asite ayrışır (Şanlı, 1999). Nöral iletimin yanında kolinejik uyarıcı olarak hem düz kasların hemde salgı hücrelerinin çalışması için parasempatik sinir sisteminin önemli uyarıcı nöromediyatörüdür ve bağırsak hareketlerinin düzenlenmesinde de önemli rol oynamaktadır (Davis vd.,1998). Asetilkolin sıçan trakea, deri ve bağırsak epitelinde biraz daha yüksek miktarlarda bulunur (Klapproth vd.,1997). Ak'nın kimyasal yapısı Şekil 1.2.'da gösterilmiştir.

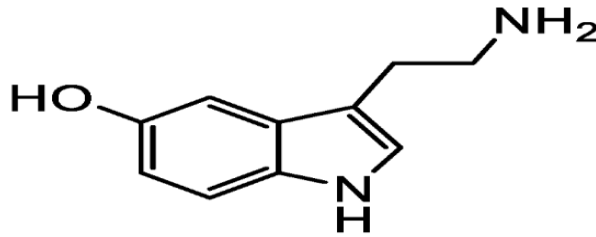


**Şekil 1.2.** Asetilkolinin kimyasal yapısı (González-Gutiérrez vd., 2019)

Asetilkolin etkisinin sinaptik bağlantıda sona ermesi, Ak'nin hedef hücrenin yüzeyindeki reseptöründen ayrılması ve daha sonra AkE tarafından kolin ve asetata parçalanması ile meydana gelir (Sam ve Bordoni, 2022).Gastrointestinal kanalda ve diğer birçok iç organda, Ak'nin salınması, muskarinik Ak reseptörleri aktive ederek düz kasın uyarılmasını ve kasılmasına neden olur. Muskarinik reseptörlerin beş alt tipinin hepsini kodlayan mRNA'lar gastrointestinal sistem düz kaslarında tespit edilmiştir (Tanahashi, Komori, Matsuyama, Kitazawa ve Unno, 2021).

### 1.5. Serotonin (5-Hidroksitriptamin, 5HT)

Serotonin gastrointestinal ve santral sinir sisteminde bulunan nörotransmitter ve yerel etkili bir hormondur. Psikolojik duygu durumu, öğrenme gibi bilişsel işlevlerin yanısıra kusma, vazokonstriksiyon gibi fizyolojik işlevleri gibi birçok görevi bulunmaktadır (Hall ve Hall, 2020). Serotonin, MSS'de serotonerjik sinir uçlarında esansiyel bir aminoasit olan triptofandan sentezlenir. Sinir uçlarında veziküllerde depolanır, sinir uyarısıyla sinaptik aralığa salınır ve önemli bir kısmı sinir ucunda bulunan amin pompasıyla geri alınır. Sinir ucuna giren serotoninin bir kısmı burada bulunan monoaminoksidaz (MAO) ile 5- hidroksiindolasetik asite çevrilir (Kaya, 2013). Vücuttaki serotoninin %95'i gastrointestinal sistemde (GİS) bulunmaktadır, kandaki serotonininde buradan kaynaklanmaktadır (Sikander, Rana ve Prasad, 2009). Serotonin ince bağırsak mukozasına emilimden sorumlu epitel hücrelerinin ve bağırsak mukozasının yenilenmesini sağlayan kript epitelyum hücrelerinin bölünmesini uyarır (Muise, Gandotra, Tackett, Bamdad ve Cowles, 2016). Serotoninin kimyasal yapısı Şekil 1.3.'de gösterilmiştir.



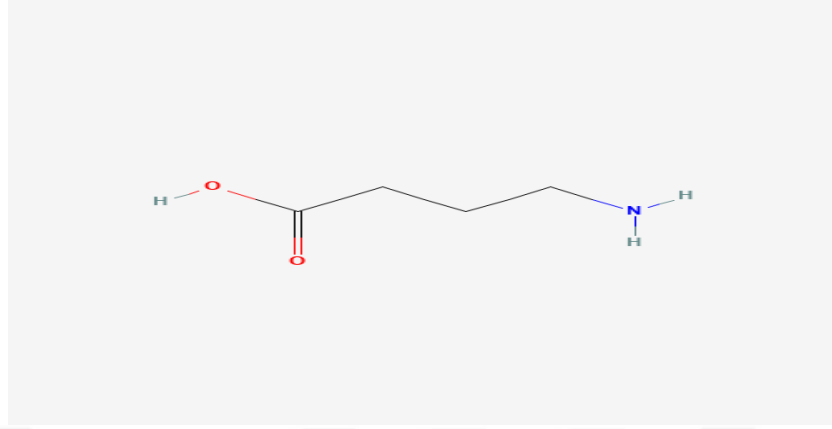
Şekil 1.3. Serotoninin kimyasal yapısı (González-Gutiérrez vd.,2019).

### 1.6. Gama aminobutirik asit (GABA)

GABA memelilerin periferik dokularında bulunmuş olup, birçok dokuda GABA konsantrasyonları serebral seviyenin %1'inden daha azdır. Fakat tuba uterina, pankreas hücreleri,bağırsak myenterik pleksusu ve sıçan overleri gibi dokularda serebral seviyeden daha yoğun şekilde bulunur (Sandor, 1985).GABA'nın GİS' de bir nöro-transmitter olabileceğine dair görüşler,enterik sinir sisteminde GABA'nın immuno-histokimyasal metotlarla gösterilmesi ile kesinleşmiştir (Jessen, Hills ve Saffrey, 1986).GABA bağırsakta kolinerjik,postgangliyonik nöronlarda modülatör bir rol oynamaktadır.



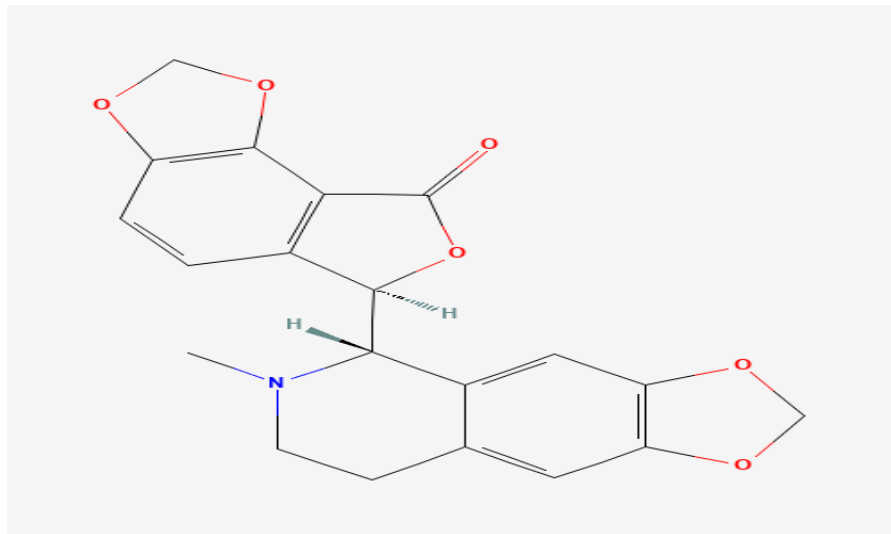
GABA'nın ince bağırsak üzerine etkisi hayvan türlerine göre değiştiği için tam olarak anlaşılamamıştır(Auteri, Zizzo ve Serio, 2015). GABA'nın kimyasal yapısı Şekil 1.4'de gösterilmiştir.



Şekil 1.4. GABA'nın kimyasal yapısı (Pubchem, 2023a).

## 1.7. Bikukulin

Alkoloid bir yapıda olan ve GABA antagonisti olarak görev yapan bikukulin GABA ve GABA agonistlerinin GABA-R bağlanmasını yarışmalı şekilde önler. Böylelikle GABA-R uyarılmasıyla oluşacak Cl<sup>-</sup> kanallarının açılmasının önüne geçer (Kaya, 2013). Bikukulinin, omurilikte, merkezi sinir sisteminde, omurgasızların nöronlarda, kaslarda ve ganglion nöronlarında GABA yanıtlarını antagonize ettiği görülmüştür (Nowak, Young ve Macdonald, 1982). Bikukulinin kimyasal yapısı Şekil 1.5.'de gösterilmiştir.



Şekil 1.5. Bikukulinin kimyasal yapısı (Pubchem, 2023b)

## **1.8. Sıçan İnce Bağırsağının Morfolojisi, Fizyolojisi ve Farmakolojisi**

Sıçan ince bağırsağı midenin pars pilorika ventrikülü kısmından başlar sekumda (kör bağırsak) son bulur. En uzun bölümünü orta bölüm olan jejunum oluştururken en kısa bölüm ise ligamentum ileosekale ile sekum arasındaki bölümü oluşturan ileumdur. Bağırsak bölümleri arasında en geniş olan ve çok sayıda villi içeren duodenum ise, ince bağırsağın ilk bölümünü oluşturur. Bu kısım iyi gelişmiş tübüler bezler içerir. Evcil memeli hayvanlarda submukozal bezler çoğunlukla bu bölümde oluşur ve mideden gelen gıdaların bazı hormon ve kimyasal maddelerle parçalanıp jejunumda emilmeye hazır hale getirilen ince barsağın ilk bölümüdür (Samuelson, 2007).

Desesso ve Jacobson (2001)'e göre sıçanlarda duodenum uzunluğu 9,5-10 cm olup toplam ince bağırsağın % 8'ni, jejunum uzunluğu 90-135 cm olup toplam ince bağırsağın % 90'nı ve ileumun ise uzunluğu 2,5-3,5 cm olup toplam ince bağırsağın %2'ni oluşturmaktadır. Sıçanlarda vücut alanı 0,04 m<sup>2</sup> olup ince bağırsağın yüzey alanı yaklaşık olarak 1m<sup>2</sup> civarındadır ve önemli bir fark olarak da sıçanlarda safra kesesi bulunmaz.

## **1.9. İnce Bağırsağın (Duodenum, Jejunum ve İleum) Kasılmasının Önemi**

Gastrointestinal sistemin birçok hayati görevi vardır. Emilimden ve salgılamadan sorumludur, zengin bir lenfatik dolaşıma sahiptir ve maddeleri bir miktar biotransformasyondan sonra karaciğere taşır (Thomazini ve Dolder, 2017).

Sindirim kanalının en önemli görevi vücutta devamlı olarak su, elektrolit ve besin sağlamaktır. Bu fonksiyonun sağlanabilmesi içinde vücuda alınan besin maddelerinin bağırsak kanalında emilime ve sindirime uğrayabileceği uygun bir hızla ilerlemesi gerekmektedir (Guyton, 1986).

İnce bağırsak hareketleri, bağırsak içeriğinin karıştırılması, öğütülmesi ve taşınmasını sağlar. Gastroenteroloji uzmanları, insanlarda Crohn hastalığının bireylerde gastroenterik bir tehlikesi olup olmadığını belirlemek için genellikle motilite verilerini gözlemler (Wu, Zhonga, Guo ve Fujita 2020).

İnce ve kalın bağırsak motilitesi, bağırsakta sindirilemeyen maddelerin hareketini destekleyen bir takım gastrointestinal kasılmaların sonucu meydana gelir (Maurer, 2016).

İnce bağırsağın başlıca iki tip hareketi vardır. Bunlardan birincisi segmentasyon fonksiyonu, kimüs (bağırsak içeriği) ile ince bağırsak sekresyonunun karıştırılması ve kimusun bağırsak yüzeyi ile temasını sağlayarak absorpsiyonu kolaylaştırmaktır. Sinirsel bir kontrol altında olmayan bu tip hareket sadece düz kas aktiviteleri sonucu meydana gelir (miyojenik). İkinci tip hareket ise peristaltik ve kimusun ince bağırsak boyunca ilerlemesini sağlar. Sinirsel kontrol altında olan bu tip hareketin intrinsik ağında meydana gelen lokal refleks ile başlatılır (Noyan, 2004).

İnce bağırsağın en önemli hareketlerinden biride peristaltik hareketlerdir. Peristaltik dalgalanmanın yönü önden arkaya doğrudur ve peristaltik dalganın bir bölgeden geçişinden sonra o bölge 10-25 saniye arası kasılabilir. Bu kasılma sonucu besin içeriği bağırsak içinde yol almaya devam eder. Peristaltik hareketler ileum sonunda durur ve kalın bağırsağa geçmez, böylece kalın bağırsakta oluşabilecek ishal olayı önlenmiş olur (Bölükbaşı, 1989).

## **1.10. Çalışmanın Amacı**

Gastrointestinal sistem, dışardan vücuda alınan gıdaları işleyen, suyu ve besinleri özümseyen ve atıkları yok eden bir dizi tübüler organı içerir. Bağırsak duvarının dış katmanları, bağırsak içeriğini karıştırmak, yiyecek, su ve atıkları boru biçimli bölmelerden geçirmek için gereken kuvvetleri sağlayan kas dokularıdır (tunicamascularis). Fluralaner sistemik olarak kullanılabilen uzun etkili bir dış parazit ilacıdır. Yan etkileri normal dozlarda görülmesi de saptanan en önemli yan etkileri kusma ve ishaldir. Ayrıca karaciğeri de etkiler. Yani en önemli etkilerini GİS üzerine göstermektedir. Yapılan literatür taramalarında fluralanerin izole organ banyo sisteminde bağırsak üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı fluralanerin *in vitro* sıçan ince bağırsak (duodenum, jejunum ve ileum) dokusu üzerine etkilerinin sıçan araştırılmasıdır. Çalışmanın sonuçları bir ektoparaziter ilaç olan fluralanerin ince bağırsak dokuları (duodenum, jejunum ve ileum) üzerine etkisi olup olmadığını gösterecektir.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Kullanılan Deney Araçları ve Malzemeler

- Distile Su Cihazı (Tetra - Zeneer RO180)
- Hassas Terazı (Precisa XB 220 A-İsviçre)
- -20°C Buzdolabı (Beko BK9610)
- Cerrahi malzemeler (İnce ve dişli uçlu pensler, penset, ince, kalın ve küt uçlu makaslar)
- Otomatik pipetler (Eppendorf 100-1000 $\mu$ l, 20-200 $\mu$ l, Socorex 0,5-10 $\mu$ l)
- Petri kutuları
- Cam tüpler
- Eppendorf tüp (2 $\mu$ l)
- pH metre (OHAUS)
- İzole organ banyosu, Biopac Systems MP 35 (Commat, Türkiye, Şekil 2.1.)
- Polygraphs sistem, izometrik gerim ileticisi, bilgisayar
- Tüp (% 95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> içeren gaz karışımı )
- Vorteks (IKA MS3 Basic)



**Şekil 2.1.** Deneyde kullanılan, izole organ banyosu, Biopac Systems MP 35 (Commat, Türkiye), Polygraph sistem, izometrik gerim ileticisi, bilgisayar, tüp (% 95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> içeren gaz karışımı).

## 2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Ksilazin (Xylazinbio, Bioveta)
- Ketamin (Vetaketam, Vetagro)
- Fluralaner (Medkoo Biosciences, 864731-61-3):  $2 \times 10^{-2}$  M olacak şekilde -20°C'de stok çözelti halinde saklanmıştır. Stok çözelti deneylerde izole organ banyosuna ya direk uygulanarak ya da homojen bir şekilde distile su ile bulanıklık oluşturmayan derişimi ayarlanarak çözdürölüp kullanılmıştır.
- Dimetil süfoksit (DMSO) (Carlo Erba, 445103): Direk olarak ya da distile suda çözdürölüp, fluralanerin hazırlama şekline göre kontrol grubu olarak kullanılmıştır.
- Asetilkolin (Sigma A 6625): Distile suda çözdürölümü,  $10^{-1}$  M olarak -20°C'de saklanmış, deney esnasında dilüe edilerek farklı molarlarda kullanılmıştır.
- Serotonin (Boston USA Chemistry, BBE-010484): Distile suda çözdürölümü,  $10^{-2}$  M olarak -20°C'de saklanmış, deney esnasında dilüe edilerek farklı derişimlerde kullanılmıştır.

- GABA (Boston USA Chemistry, BAA-104201): Distile suda çözdürülmüş,  $10^{-1}$  M olarak  $-20^{\circ}\text{C}$  de saklanmış, deney esnasında dilüe edilerek kullanılmıştır.
- Bikukulin (Boston USA Chemistry, BBM-802701): DMSO da çözdürülüp olarak  $-20^{\circ}\text{C}$  de saklanmış olup deney esnasında dilüe edilerek kullanılmıştır.
- KCl (Merck, 1049361000): Distile suda çözdürülüp deney esnasında 80 mM olarak kullanılmıştır.

### 2.3. Deneyde Kullanılan Tyrode Çözeltisi Bileşenleri

Çözütünün pH sı yaklaşık 7,4 olacak şekilde ayarlanmış olup;

- Potasyum klorür (KCl) (Merck, 1049361000): 2,7 mM
- Sodyum klorür (NaCl) (Merck, 1064041000): 136,9 mM
- Sodyum bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ) (Merck, 1063295000): 11,9 mM
- Glikoz ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) (Merck, 1083375000): 5mM
- Magnezyum klorür ( $\text{MgCl}_2$ ) (Merck, 1058325000): 1 mM
- Sodyum dihidrojen fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) (Merck, 1063451000): 0,4mM
- Kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2$ ) (Merck, 1023825000): 1,8 Mm

### 2.4. Kullanılan Deney Hayvanları

Yapılan deneylerde ağırlıkları 450-500 gram (g) arası değişen, yaşları da 5-6 ay arası değişen Wistar albino ırkı 60 adet erkek sıçanlardan izole edilen ince bağırsak bölümleri (duodenum, jejunum ve ileum) kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan sıçanlara yem ve su kısıtlaması yapılmamış olup bu sıçanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde aynı kafeslerde tutulmuşlardır. Deneylerin tamamı Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yürütülmüştür. Yürütülen bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 18.09.2019 tarihli 2019/07 toplantı sayılı 43 no'lu kararı ile onaylanmıştır.

## 2.5. Yöntem

Çalışmada 60 adet sıçandan izole edilerek alınan ince bağırsak bölümlerine (duodenum, jejunum ve ileum) fluralanerin etkisini araştırmak üzere Çizelge.2.1’de belirtilen protokoller uygulanmıştır.

**Çizelge 2.1.** Fluralanerin sıçan ince bağırsak bölümleri (duodenum, jejunum ve ileum) üzerine etkisinin araştırılmasında yapılan protokoller

PROTOKOLLER	UYGULAMALAR
<b>I. PROTOKOL</b>	DMSO ve fluralanerin farklı derişimlerinin tek başına ince bağırsak bölümlerine $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$ M derişimde uygulanması.
<b>II. PROTOKOL</b>	80mM KCL ile kasılma oluşturulan dokularda DMSO ve fluralanerin derişimlerinin uygulanması.
<b>III. PROTOKOL</b>	DMSO ve fluralanerin $10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$ M derişimlerinin $3 \times 10^{-6}$ M GABA ile inkübe edilen dokularda beraber uygulanması.
<b>IV. PROTOKOL</b>	DMSO ve fluralanerin $10^{-6}$ veya $10^{-4}$ M derişimleri ile inkübe edilen dokularda $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}$ M asetilkolin derişimlerinin uygulaması.
<b>V. PROTOKOL</b>	DMSO ve fluralanerin $10^{-5}$ derişimleri ile inkübe edilen dokularda serotonin, $3 \times 10^{-6}, 10^{-5}, 3 \times 10^{-5}, 10^{-4}, 3 \times 10^{-4}, 10^{-3}, 3 \times 10^{-3}$ M derişimlerinin uygulaması.
<b>VI. PROTOKOL</b>	DMSO ve fluralanerin $10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$ M derişimlerinin $3 \times 10^{-6}$ M bikukulinile inkübe edilen dokularda beraber uygulanması.

### 2.5.1. Sıçan İnce Barsağının Bölümlerinin (Duodenum, Jejunum ve İleum) İzole Edilmesi

Deneylerde kullanılan ağırlıkları 450-500 g arası, yaşları da 5-6 ay arası olan 60 adet erkek sıçanları anesteziye almak için önce 10 mg/kg dozda ksilazin sonrada 50 mg/kg dozda ketamin kas içi olarak uygulandı. Sıçanlar Şekil2.2. gibi anestezi altındayken karın duvarı, sternumun procesus xiphoideus’un bittiği yerden önce vertikal ensizyon

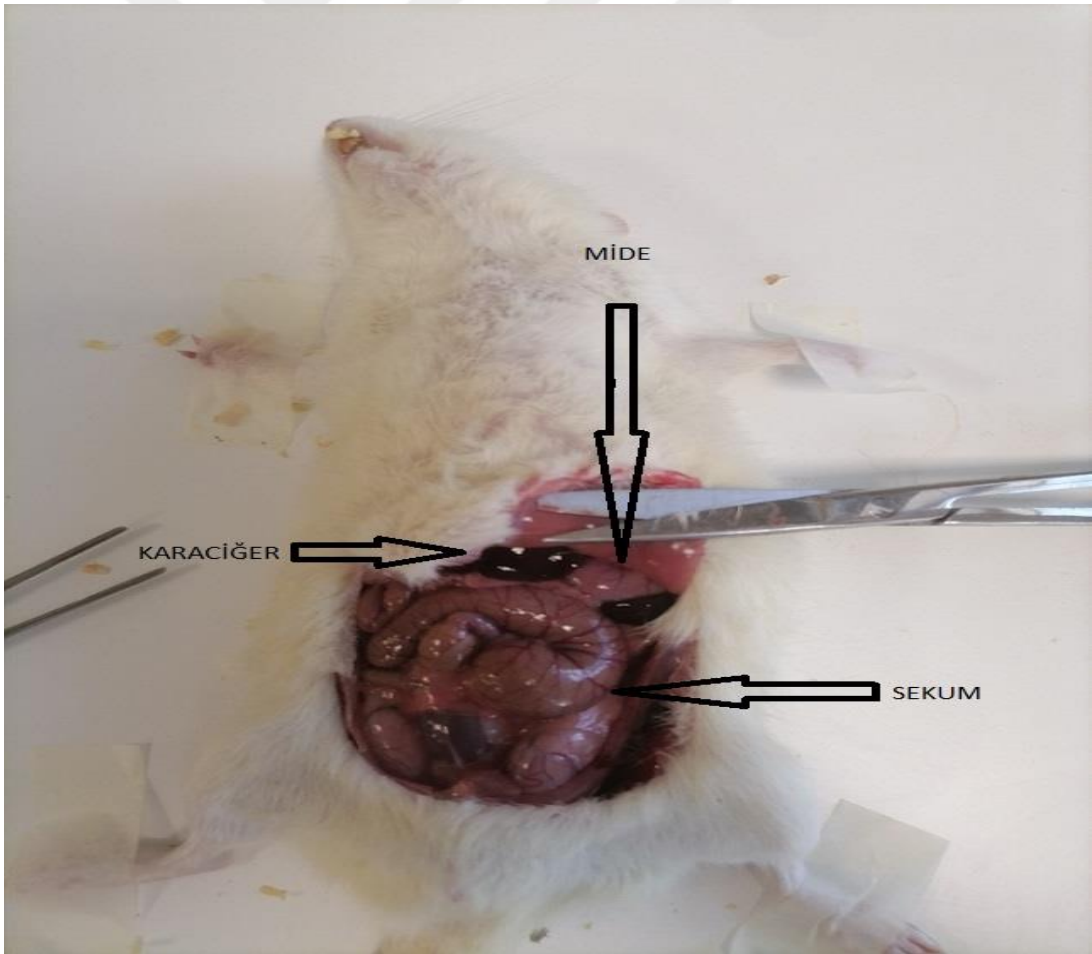
yapılarak, sonrada transversal ensizyon yapılarak Şekil 2.3.'deki gibi açılmıştır. İnce bağırsağın ilk bölümü olan duodenum midenin çıkış kısmından Şekil 2.4.'deki gibi, ikinci ve en uzun bölümü olan jejunum yaklaşık olarak orta kısmından Şekil 2.5.'deki gibive ince bağırsağın son ve en kısa bölümü olan ileum ise önce plica iliocaecalis gibi tespit edilerek sekuma kadar olan kısım Şekil 2.6.'deki gibi izole edildi. İzole edilen ince bağırsağın bölümleri +4 °C de hemen Tyrode çözeltisi içeren petri kutularına ayrı ayrı alındı. İnce uçlu makas yardımıyla çevresindeki dokulardan ve yağlardan arındırılan ince bağırsağın bölümleri yaklaşık 1'er cm uzunluğunda kesitler şeklinde tamamen izole edilip içerisinde 10 ml Tyrode çözeltisi bulunan ve sıcaklığı vücut 37 °C'ye ayarlanan izole organ banyosuna 1000 mg ön gerilim verilerek Şekil 2.7.'deki gibi asıldı. Deneylerin tamamında, deney süreleri boyunca % 95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> içeren gaz karışımı uygulandı.

Organlar izole organ banyosuna asılmadan önce izole organ banyosu kalibrasyon işlemine tabi tutuldu. Asılan bağırsak bölümleri (duodenum, jejunum ve ileum) deneye başlanmadan önce 37 °C deki Tyrodeçözeltisi bulunan kadehlerde 15' er dakikalık sürelerle 3 defa kadehlerdeki Tyrodeçözeltisi boşaltılıp doldurularak toplamda 45 dakika yıkama işlemine maruz bırakılarak dengelendi. Dengeleme sonrası deney protokolleri sırasıyla uygulanarak izole edilen bu dokulardaki gerilim değişiklikleri izometrik gerim ileticisi (transduser) vasıtasıyla ölçülerek bağlı bulunan bilgisayara daha sonra analiz edilmek üzere kaydedildi.

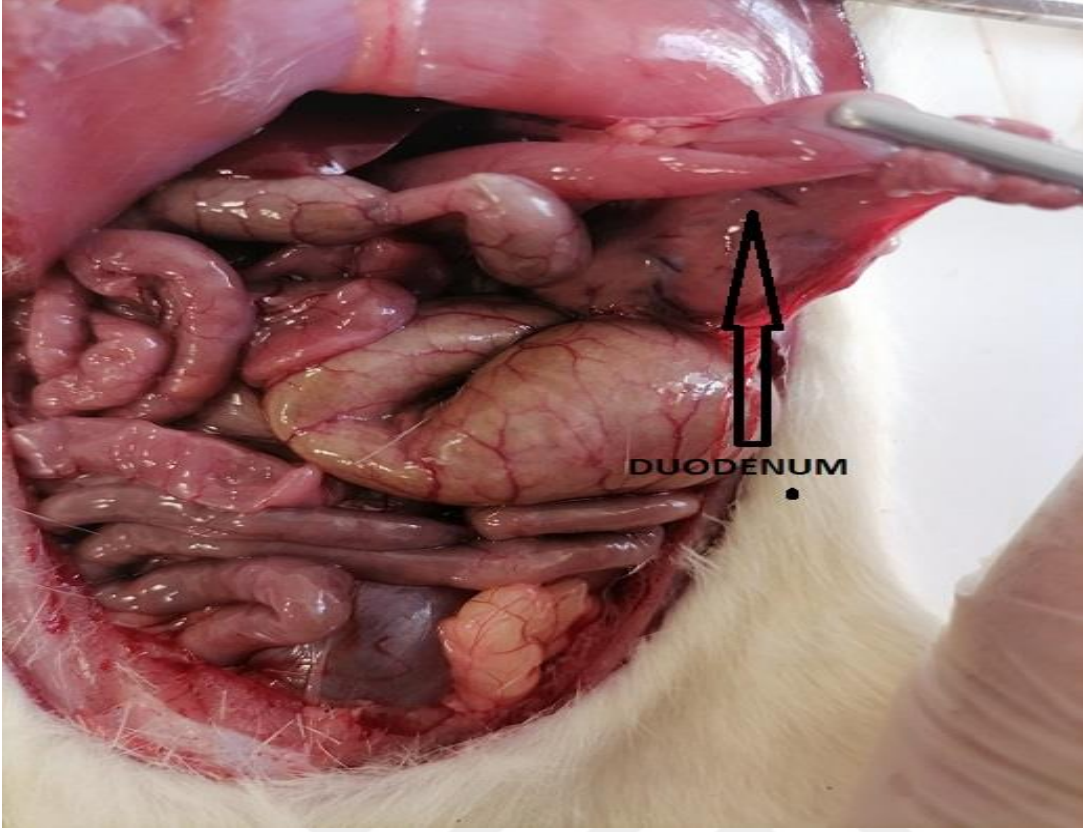




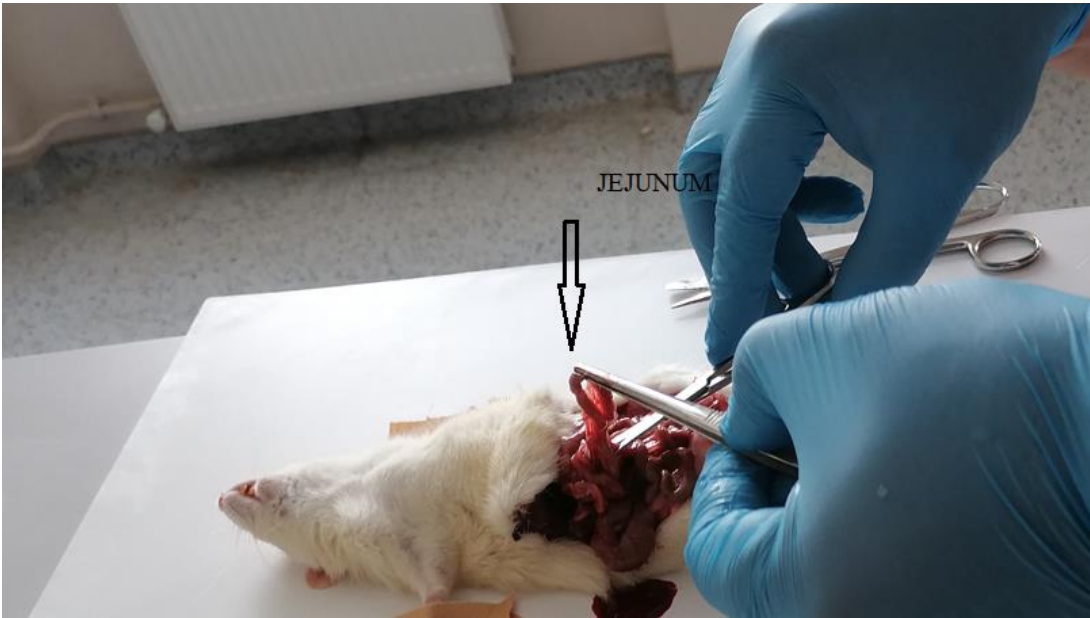
**Şekil 2.2.** Anestezi altındaki sıçanın görünümü



**Şekil 2.3.** Anestezi altındaki karın duvarı açılmış olan sıçanın iç organlarının görünümü



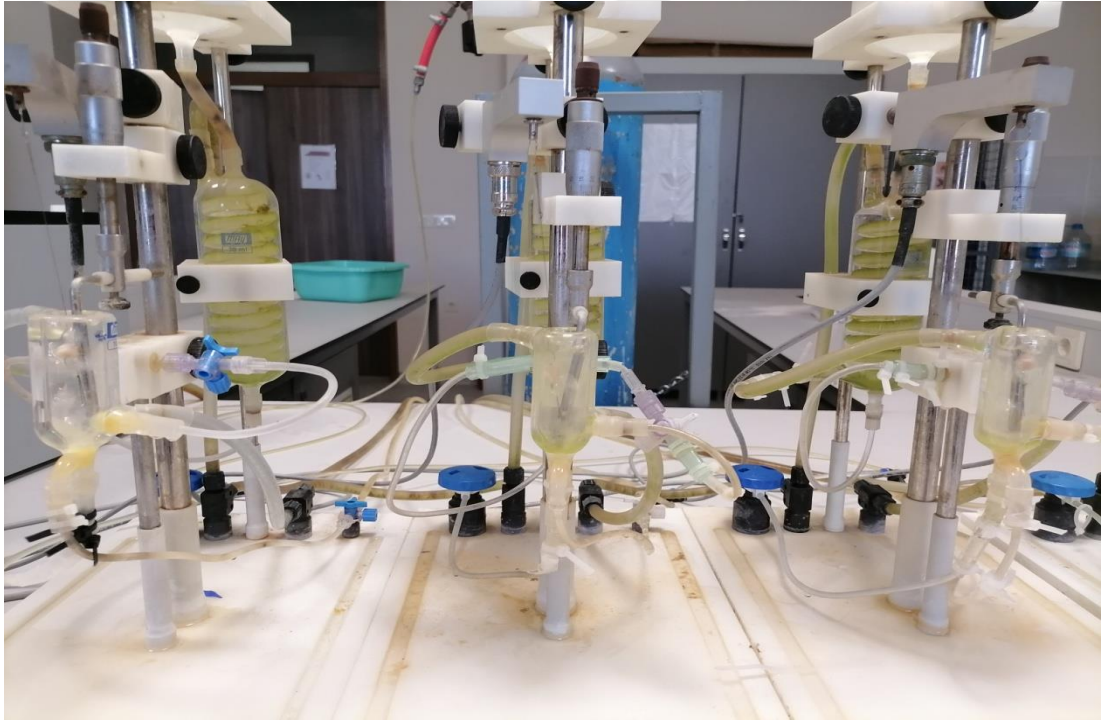
Şekil 2.4. Sıçanda duodenumun izole edilmesi



Şekil 2.5. Sıçanda jejunumun izole edilmesi



**Şekil 2.6.** Sıçanda ilemunizole edilmesi



**Şekil 2.7.** Sıçan ince bağırsak bölümlerinin izole organ banyosundaki görünümü

## **2.6. Çalışmada Uygulanacak Derişimlerin Belirlenmesi**

Deneylerde uygulanan bazı protokollerde derişimleri belirlemek için 4-6 sıçan kullanılmış ve bu protokollerin tamamında az veya çok cevap alınması üzerine değişik sayılarda olmak üzere protokollerde toplam 60 hayvan kullanılmıştır.

### **2.6.1. Birinci Protokol: Fluralanerın Tek Başına İnce Başırsak Bölümleri (Duodenum, Jejunum, İleum) Üzerine Etkisinin Araştırılması**

DMSO içinde çözdürülen fluralaner etkisinin araştırmak için DMSO kontrol olacak şekilde sırasıyla fluralanerın  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M derişimleri tek başına ince başırsak kısımlarına (duodenum, jejunum ve ileum) non-kümülatif olarak uygulandı. Bu deneyde toplam 4 adet sıçan kullanılarak aşağıdaki protokol gerçekteştirildi.

- 15'er dakika arayla 3 defa dengelemek için Tyrode çözeltisi değiştirildi.
- Dokuların canlılığını test etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Dokuları prekontrike etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Kontrol olarak %1'lik DMSO ile 5 dakika inkübe edildi.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- $10^{-9}$  M fluralaner ile 5 dakika inkübe edildi.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- $10^{-8}$  M fluralaner ile 5 dakika inkübe edildi.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- $10^{-7}$  M fluralaner ile 5 dakika inkübe edildi.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- $10^{-6}$  M fluralaner ile 5 dakika inkübe edildi.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.

- $10^{-5}$  M fluralaner ile 5 dakika inkübe edildi.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- $10^{-4}$  M fluralaner ile 5 dakika inkübe edildi ve deney sonlandırıldı.

### 2.6.2. İkinci Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) KCl Kasılmalarının Üzerine Etkisi

DMSO kontrol grubu olacak şekilde dokularda KCl'ye bağlı kasılmalarda oluşan gevşemenin etkisini ölçmek için fluralaner sırasıyla  $10^{-11}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M derişimde kümülatif olarak uygulandı. Toplam 5 adet sıçan kullanılarak aşağıdaki protokol gerçekleştirildi.

- 15'er dakika arayla 3 defa dengelemek için Tyrode çözeltisi değiştirildi.
- Dokuların canlılığını test etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Dokuları prekontrike etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- KCl bağlı kasılma platoya ulaşınca 3'er dakikalık aralıklarla kümülatif olarak fluralanere benzer şekilde seyreltilen DMSO uygulamaları yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Dokuları prekontrike etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- KCl'ye bağlı kasılma platoya ulaşınca 3'er dakikalık aralıklarla kümülatif olarak sırasıyla  $10^{-11}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M fluralaner altı farklı derişim olarak uygulandı ve deney sonlandırıldı.

DMSO ve fluralanerin KCl'ye bağlı kasılmaları nasıl etkilediğini (gevşetme cevabı) tespit etmek için non-kümülatif olarak fluralanerin  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M derişimleri uygulandı. (non kümülatif çalışmalarda derişimler DMSO ile seyreltildi) toplamda 6 adet sıçan kullanılarak aşağıdaki protokol gerçekleştirildi.

- 15'er dakika arayla 3 defa dengelemek için Tyrode çözeltisi değiştirildi.



- Dokuların canlılığını test etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Dokuları prekontrike etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- KCl kasılması platoya ulaşınca DMSO uygulaması (Kontrol) yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Dokuları prekontrike etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- KCl kasılması platoya ulaşınca  $10^{-9}$  M fluralaner uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Dokuları prekontrike etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- KCl kasılması platoya ulaşınca  $10^{-8}$  M fluralaner uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Dokuları prekontrike etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- KCl kasılması platoya ulaşınca  $10^{-7}$  M fluralaner uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Dokuları prekontrike etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- KCl kasılması platoya ulaşınca  $10^{-6}$  M fluralaner uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Dokuları prekontrike etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- KCl kasılması platoya ulaşınca  $10^{-5}$  M fluralaner uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Dokuları prekontrike etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.

- KCl kasılması platoya ulaşınca  $10^{-4}$  M fluralaner uygulaması yapıldı ve deney sonlandırıldı.

DMSO ve fluralaner'in KCl'ye bağlı kasılmaları nasıl etkilediğini (gevşetme cevabı) tespit etmek için ikinci bir kümülatif deney uygulandı (seyreltmeler distile su ile yapıldı). Toplamda 6 adet sıçan kullanılarak aşağıdaki protokol gerşekleştirildi.

- 15'er dakika arayla 3 defa dengelemek için Tyrode çözeltisi değiştirildi.
- Dokuların canlılığını test etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Dokuları prekontrike etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı ve 5' er dakika arayla toplamda 15 dakika olacak şekilde KCl'ye bağlı spontan kasılmalar ölçüldü.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Dokuları prekontrike etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- KCl' ye bağlı kasılmaların üzerine DMSO'nun etkilerini ölçmek için, KCl kasılması platoya ulaşınca banyodaki çözeltiye 5 dakika arayla sırasıyla DMSO % 0,005, % 0,05, % 0,5 olacak şekilde uygulandı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Dokuları prekontrike etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- KCl' ye bağlı kasılmaların üzerine fluralaner'in etkilerini ölçmek için, KCl kasılması platoya ulaşınca banyodaki çözeltiye 5'er dakika aralıklarla  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimde fluralaner uygulandı ve deney sonlandırıldı.

### **2.6.3. Üçüncü Protokol: Fluralaner'in Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) GABA Kasılmalarının Üzerine Etkisi**

Bu deneyde  $3 \times 10^{-6}$  M GABA ile inkübe edilen dokulara fluralaner ile aynı şekilde seyreltilen DMSO ve fluralaner'in  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimleri uygulanarak gerilim

gevşeme cevapları ölçüldü. Bu deneyde toplamda 7 adet sıçan kullanılarak aşağıdaki protokol uygulandı.

- 15'er dakika arayla 3 defa dengelemek için Tyrode çözeltisi değiştirildi.
- Dokuların canlılığını test etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- $3 \times 10^{-6}$  M GABA ile tüm dokular 15 dakika boyunca inkübe edildi ve 5'er dakikalık periyotlarda işatelenerek toplamda 15 dakika boyunca spontan kasılmalar ölçüldü.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- $3 \times 10^{-6}$  M GABA ile tüm dokular 15 dakika boyunca inkübe edildi ve 5' er dakika arayla (fluralaner ile benzer şekilde seyreltilen) DMSO % 0,005, % 0,05, % 0,5 olacak şekilde kümülatif uygulandı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- $3 \times 10^{-6}$  M GABA ile tüm dokular 15 dakika boyunca inkübe edildi ve daha sonra 5' er dakika arayla sırasıyla  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M fluralanerin derişimleri kümülatif olarak uygulandı ve deney sonlandırıldı.

Bu protololde yapılan başka bir deneyde  $10^{-4}$  M fluralaner uygulamasından sonra dokular eski haline gelmedikleri için DMSO % 0,005, % 0,05, % 0,5 ve fluralanerde  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M'derişimde olacak şekilde dokulara GABA kullanmaksızın uygulandı. Toplamda 6 adet sıçan kullanılarak aşağıdaki protokol gerçekleştirildi.

- 15'er dakika arayla 3 defa dengelemek için Tyrode çözeltisi değiştirildi.
- Dokuların canlılığını test etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- 5'er dakikalık periyotlarda işatelenerek toplamda 15 dakika boyunca spontan kasılmalar ölçüldü.
- 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.



- 5' er dakika arayla (fluralaner ile benzer şekilde seyreltilen) DMSO % 0,005, % 0,05, % 0,5 olacak şekilde kümülatif uygulandı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- 5' er dakika arayla sırasıyla kümülatif olarak  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M fluralanerin derişimleri uygulandı ve deney sonlandırıldı.

#### **2.6.4. Dördüncü Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) Asetilkolin ile Beraber Etkisinin Ölçülmesi**

DMSO ve fluralanerin farklı derişimleriyle inkübe edilen dokuların asetilkolin'e bağlı kasılmaların farkını ortaya çıkarmak için iki adet deney yapıldı. Yapılan ilk deneyde toplam 4 adet sıçan kullanılmış olup DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}$  M derişiminde inkübe edilen dokulara aşağıdaki protokol uygulandı.

- 15'er dakika arayla 3 defa dengelemek için Tyrode çözeltisi değiştirildi.
- Dokuların canlılığını test etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Fluralaner ( $10^{-6}$  M) ile aynı şekilde seyreltilen DMSO ile 15 dakika inkübasyon edilen dokulara kümülatif olarak sırasıyla  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  M Akuygulandı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Daha sonra fluralanerin  $10^{-6}$  M derişimi ile 15'er dakika inkübe edilerek kümülatif olarak sırasıyla  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  M derişimde Ak uygulandı ve deney sonlandırıldı.

Yapılan ikinci deneyde ise toplamda 6 adet sıçan kullanıldı ve birinci deneydeki protokoller uygulandı.

- 15'er dakika arayla 3 defa dengelemek için Tyrode çözeltisi değiştirildi.
- Dokuların canlılığını test etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.

- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Fluralaner ( $10^{-6}$ M) ile aynı şekilde seyreltilen DMSO ile 15 dakika inkübasyon edilen dokulara kümülatif olarak sırasıyla  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}$  M Ak uygulandı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Daha sonra fluralanerin  $10^{-6}$  M derişimi ile 15'er dakika inkübe edilerek kümülatif olarak sırasıyla  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}$  M derişimde Ak uygulandı ve deney sonlandırıldı.

Bu protokolde yapılan protokolde üçüncü deneyde ise toplam 5 adet sıçan kullanıldı. Bu deney DMSO'nun Ak'nın cevaplarını kontrol etmek için aşağıdaki deney protokolü uygulandı.

- 15'er dakika arayla 3 defa dengelemek için Tyrode çözeltisi değiştirildi.
- Dokuların canlılığını test etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- 15 dakika spontan kasılma beklenildi ve üzerine sırasıyla kümülatif olarak  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}$  M derişimde Ak uygulandı.
- Kontrol grubu olan saf DMSO'dan 5  $\mu$ l ilave edilerek tüm dokular 15 dakika inkübe edildi ve dokulara sırasıyla kümülatif olarak  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}$  M derişimde Ak uygulandı.
- Daha sonrada saf DMSO'dan 50  $\mu$ l ilave edilerek tüm dokular 15 dakika inkübe edildi ve dokulara sırasıyla kümülatif olarak  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}$  M derişimde Ak uygulandı ve deney sonlandırıldı.

#### **2.6.5. Beşinci Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) Serotonin ile Beraber Etkisinin Ölçülmesi**

Serotonine bağlı kasılmaların fluralaner ve DMSO ile inkübe edilen dokulardaki etkisini ortaya çıkarmak için fluralanerin ayrı ayrı olacak şekilde  $10^{-5}$  M derişiminde

DMSO kontrol olacak şekilde 15'er dakika inkübasyonu altında serotoninin,  $3 \times 10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $3 \times 10^{-5}$  M derişimleri uygulanarak serotonine bağı kasılmalar karşılaştırıldı. Toplamda 6 adet sıçan kullanılarak aşığıdaki protokol gerçekleştirildi.

- 15'er dakika arayla 3 defa dengelemek için Tyrode çözeltisi değiştirildi.
- Dokuların canlılığını test etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Dokuları fluralaner ile aynı şekilde seyreltilen DMSO iletüm dokular 15'er dakika inkübe edilip üzerlerine kümülatif olarak serotoninin  $3 \times 10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $3 \times 10^{-5}$  M derişimleri uygulandı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Bu kez de dokular  $10^{-5}$  M fluralaner 15 dakika inkübe edilip üzerine kümülatif olarak serotoninin  $3 \times 10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $3 \times 10^{-5}$  M derişimleri uygulandı ve deney sonlandırıldı.

#### **2.6.6. Altıncı Protokol: Fluralane Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) Bikukulin ile Beraber Etkisinin Ölçülmesi**

Bikukulinin dokuları nasıl etkilediğini ve bikukulinle inkübe edilen dokularda fluralaner'in ve DMSO'nun kasılmalara etkisinin nasıl olduğı araştırıldı. Bunun için toplamda 6 adet sıçan kullanılarak aşığıdaki protokol gerçekleştirildi.

- 15'er dakika arayla 3 defa dengelemek için Tyrode çözeltisi değiştirildi.
- Dokuların canlılığını test etmek için 80 mM KCl uygulaması yapıldı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5'er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Bikukulinin tek başına dokulardaki etkisini ölçmek için  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulin ile inkübe edilen dokular 5'er dakika ara ile toplamda 15 dakika ölçüldü.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5'er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.

- $3 \times 10^{-6}$  M bikukulinle 15 dakika inkübe edilen dokulara %0,005, %0,05, %0,5 DMSO's' er dakika ara ile uygulandı.
- Dokuları spontan kasılmalarına geri getirmek için 5' er dakika arayla en az 3 kez banyo çözeltisi değiştirildi.
- Sonra,  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulinle 15 dakika inkübe edildikten dokulara fluralanerinsırasıyla 5 dakika arayla  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimleriuygulandı ve deney sonlandırıldı.

## 2.7. Protokollerde Uygulanan Deney Verilerinin Değerlendirilmesi

İzole organ banyosundayapılan deneyler kullanılan dokulardaki gerilim değişiklikleri izometrik gerim ileticisi (transduser) vasıtasıyla ölçülerek bilgisayara kaydedildi. Daha sonra Biopac Systems MP 35 programında hesaplamalar yapıldı.

Protokollerde kümülatif (birikimli) ve non-kümülatif (birikimsiz) olarak fluralanerin etkisini araştırmak için DMSO ile spontan (kendiliğinden normal olan) kasılmalar kontrol grubu olarak alınmıştır. Hesaplamalar ise temel hat (base line)'dan ulaşılan pig değerler (ulaşabildikleri en yüksek tepe noktası) değerlendirilerek tek tek ölçüldü. KCl kasılmalarının pik seviyesi 100 kabul edilerek fluralanerin ve DMSO'nun dokulardaki kasılmaları oranlanarak hesaplandı. KCl ile prekontrakte edilen dokularda ise base line'dan prekontraksiyonun ulaştığı en yüksek plato seviyesi 100 kabul edildi. Daha sonra ikinci bir madde ile elde edilen cevaplar prekontraksiyona göre 100'de artış yada azalma şeklinde hesaplandı.

Ayrıca bazı denemelerin frekans değerleride ölçüldü. Frekans değerleri belli bir sürede oluşan kasılmaların tepe noktaları sayılarak hesaplandı.

## 2.8. İstatistikler ve Analizler

Hesaplanan verilerin "SPSS 25 Windows" istatistik paket programında değerlendirildi. Elde edilen veriler aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde verildi. İlk olarak bağımlı gruplarda verilere normalite testi uygulandı, normal dağılım gösteren verilerde ikili gruplar arasında "eşli gruplar t testi",normal dağılım gösteremeyenlereise "Wilcoxon Singed Ranks non-parametrik test" uygulandı. Bağımsız gruplar arasında parametrik dağılım gösteren verilere "student t" parametrik olmayan şekilde dağıldığılan verilere Mann Whitney U testi yapıldı ve  $p < 0,05$  değeri

de istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirildi. Bağımlı üçlü gruplar arasında parametrik dağılım gösteren verilere“ Repeated Measures” non parametrik dağılım gösteren verilerde “Friedman” testi yapıldı ve yapılan 3’lü testlerde “Benforoni” düzeltmesi (P/3) yapıldı. Yapılan testlerde gruplar arası önemlilik bulunduğunda her bir grup 2’li olarak parametrik olarak “Paired Simle” non-parametrik olarakta “Wilcoxon Singed Ranks”testi uygulandı.  $p < 0,016$  değeri istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirildi.

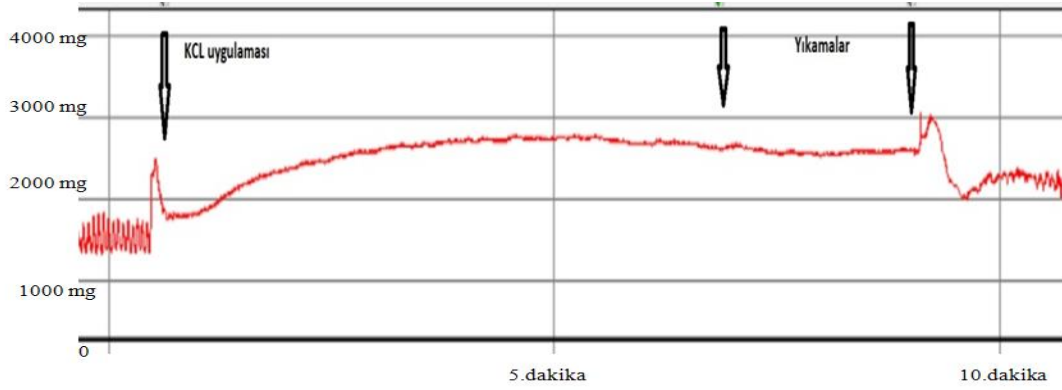


### 3. BULGULAR

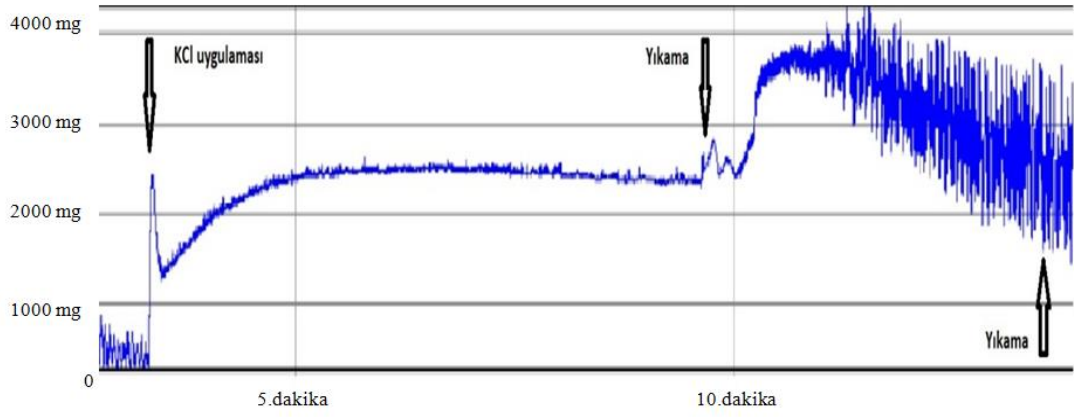
#### 3.1. Birinci Protokol: Fluralanerin Tek Başına İnce Bağırsak Bölümleri (Duodenum, Jejunum, İleum) Üzerine Etkisinin Araştırılması

Fluralanerin bağırsak bölümleri (duodenum, jejunum, ileum) üzerine etkisinin araştırılması için ön deneme amaçlı olarak fluralanerin  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$  M derişimleri birikimsiz (non-kümülatif) olarak uygulandı.

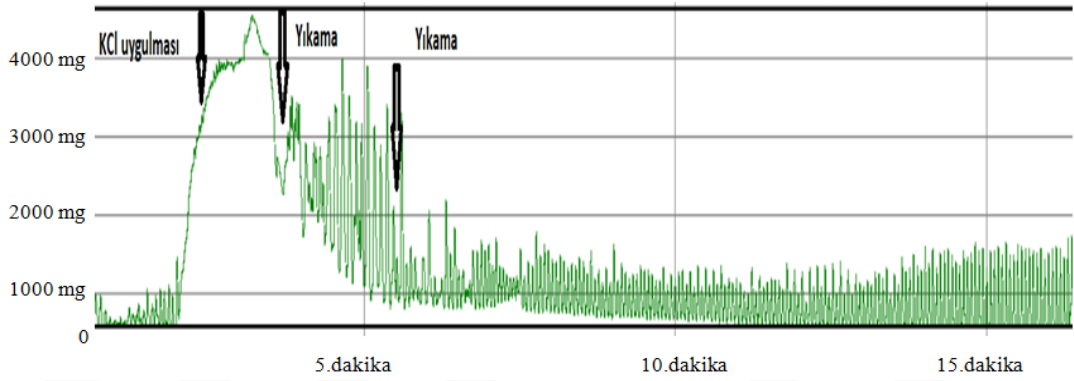
Yapılan istatistiki ölçümlerde hiçbir dokuda, fluralanerin hiçbir derişimde önemlilik bulunmadı ( $p > 0,05$ ). KCl'ye bağılı kasılmalar duodenumda Şekil 3.1.'de jejunumda Şekil 3.2.'de ve ileumda Şekil 3.3.'de sunulmuş olup yapılan deneyde KCl kasılmasının cevabı 100 kabul edilip elde edilen verilerin ortalama  $\pm$  standart hata (SH)'ları Çizelge 3.1.'de sunulmuştur.



Şekil 3.1. Sıçan duodenumuna KCl uygulaması



Şekil 3.2. Sıçanjejunumuna KCl uygulaması



Şekil 3.3. Sıçanileumuna KCl uygulaması

Çizelge 3.1. %1 DMSO ve fluralanerin  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M derişimlerinin duodenum, jejunum ve ileum % kasılmaları üzerine etkisi

			FLURALANER (M)					
	n	%1 DMSO	$10^{-9}$	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$
Duodenum	3	15,64±3,26	21,44±6,21	19,03±2,20	26,8±11,2	16,9±6,59	23,43±6,95	17,05±2,73
Jejunum	4	12,26±6,09	34,4±20,7	9,23±5,46	22,6± 12,8	15,12±5,34	9,92±2,78	8,79± 3,25
İleum	4	13,24±5,64	23,4±10,3	22,2±13,8	8,41±2,48	18,76±5,01	8,79±2,81	16,49±8,97

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. n: Hayvan sayısı, fluralanerin  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M derişimleri ayrı ayrı olarak % DMSO ile karşılaştırıldı ve hiçbir dokuda hiçbir fluralaner derişiminde önemlilik bulunamadı ( $p>0,05$ ).

### 3.2. İkinci Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) KCl Kasılmalarının Üzerine Etkisi

KCl ile ön kasılma (prekontrakte) oluşturulan dokulara fluralanerin  $10^{-11}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M derişimleri kümülatif olarak 3'er dakika ara ile uygulanması yapıldı. Yapılan istatistiki ölçümlerde sıçan ince bağırsak bölümlerinden duodenum ve jejunumda istatistiki açıdan hiçbir fark bulunamadı ( $p>0,05$ ), fakat ileumda fluralanerin  $10^{-10}$  M derişiminde ( $p=0,047$ ) önemlilik bulundu. KCl kasılmasının cevabı 100 kabul edilip elde edilen verilerin ortalama  $\pm$  standart hata (SH)'ları Çizelge 3.2.'de sunulmuştur.

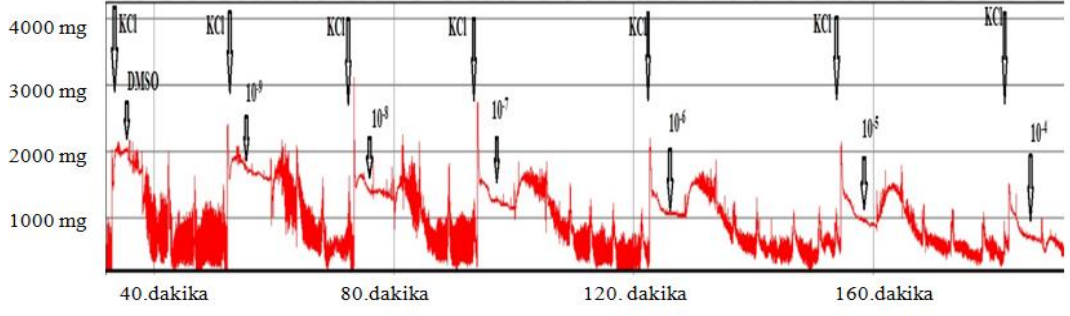
**Çizelge 3.2.** DMSO ve fluralaner'in  $10^{-11}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M derişimlerinin duodenum, jejunum ve ileuma kümülatif olarak % gevşeme üzerine etkisi

DERİŞİM	DUODENUM		JEJENUM		İLEUM	
	Fluralaner	DMSO	Fluralaner	DMSO	Fluralaner	DMSO
$10^{-11}$	9,00 $\pm$ 1,95	8,66 $\pm$ 1,43	7,64 $\pm$ 2,44	7,37 $\pm$ 3,53	4,98 $\pm$ 4,46	7,38 $\pm$ 3,3,19
$10^{-10}$	5,58 $\pm$ 2,58	6,34 $\pm$ 3,56	9,48 $\pm$ 2,37	9,59 $\pm$ 4,66	12,98 $\pm$ 1,62*	4,89 $\pm$ 2,35*
$10^{-9}$	4,53 $\pm$ 1,37	4,74 $\pm$ 1,07	10,83 $\pm$ 4,36	11,30 $\pm$ 4,46	6,23 $\pm$ 2,39	15,05 $\pm$ 4,90
$10^{-8}$	16,77 $\pm$ 3,20	16,49 $\pm$ 1,95	6,72 $\pm$ 61,85	6,92 $\pm$ 3,63	21,10 $\pm$ 2,44	21,68 $\pm$ 7,45
$10^{-7}$	10,92 $\pm$ 3,87	10,27 $\pm$ 3,63	22,73 $\pm$ 5,08	25,34 $\pm$ 2,85	31,03 $\pm$ 0,99	15,21 $\pm$ 6,01
$10^{-6}$	34,48 $\pm$ 5,38	33,12 $\pm$ 7,09	26,77 $\pm$ 4,86	24,67 $\pm$ 3,95	29,08 $\pm$ 8,26	12,30 $\pm$ 11,16

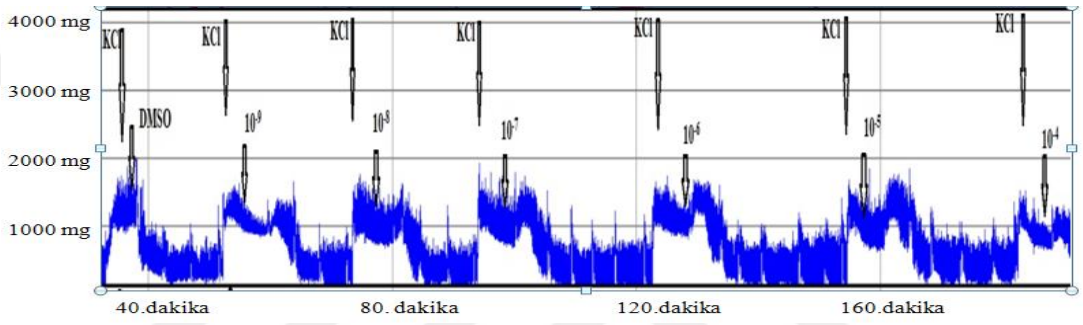
Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak verilmiştir. Duodenum n=4, jejunum n=5 ve ileum n=5, ileumda  $10^{-10}$  M ( $p=0,047$ ) derişiminde önemlilik vardır. (Her doku kendi arasında değerlendirilmiş olup \* aynı satırda aralarında önemlilik bulunan derişimleri ifade eder. n: Kullanılan hayvan sayısı).

Yapılan non-kümülatif deneyde dokulara  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M derişimlerinde fluralaner uygulamasından her bir derişimin uygulanmasından önce duodenumda Şekil.3.4.'de, jejunumda Şekil.3.5.'de ve ileumda Şekil.3.6.'da sunulduğu gibi 80 mM KCl uygulanıp dokular kastırıldı. KCl kasılmasının cevabı 100 kabul edilip elde edilen verilerin ortalama  $\pm$  standart hata (SH)'ları Çizelge 3.3'de sunuldu. Yapılan istatistiki analizlerde duodenumda önemlilik bulunamadı ( $p > 0,05$ ). Fluralanerin Jejunumda  $10^{-4}$  M ( $p=0,028$ ) derişiminin, ileumunda  $10^{-9}$  M ( $p=0,028$ ) ve  $10^{-6}$  M ( $p=0,044$ ) derişimlerinde önemlilik bulundu.

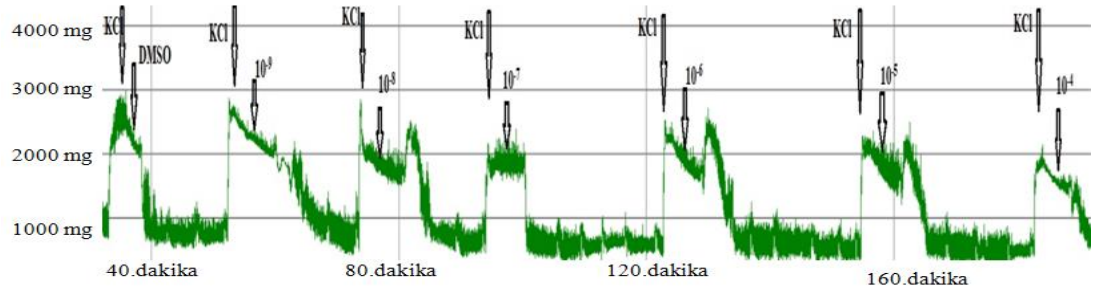




**Şekil 3.4.** Duodenuma DMSO ve fluralanerın sırasıyla  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$  M uygulaması öncesi KCl ile kastrılması (Her derişim uygulanmasından sonra dokular 3'er kez 5 dakika aralıklarla yıkanmıştır)



**Şekil 3.5.** Jejunuma DMSO ve fluralanerın sırasıyla  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$  M uygulaması öncesi KCl ile kastrılması (Her derişim uygulanmasından sonra dokular 3'er kez 5 dakika aralıklarla yıkanmıştır)



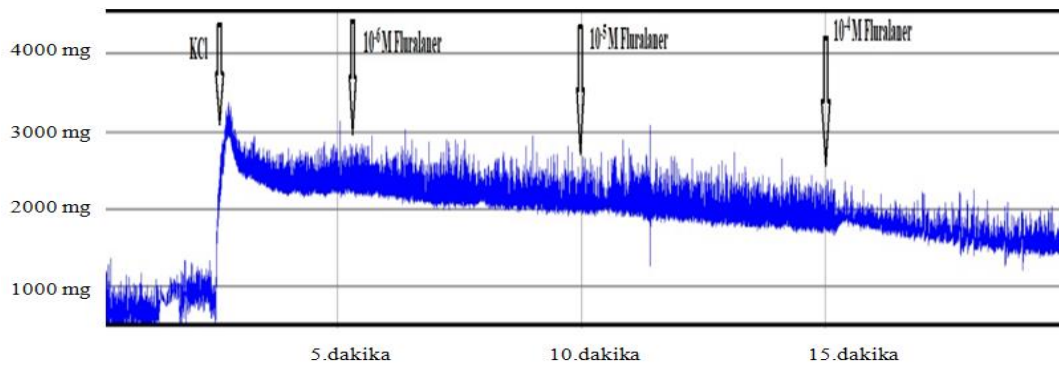
**Şekil 3.6.** İleuma DMSO ve fluralanerın sırasıyla  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$  M uygulaması öncesi KCl ile kastrılması (Her derişim uygulanmasından sonra dokular 3'er kez 5 dakika aralıklarla yıkanmıştır)

**Çizelge 3.3.** Fluralaner'in  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$  M derişimlerinin duodenum, jejunum, ileum KCl % kasılmaları üzerine etkisi (% gevşeme cevapları)

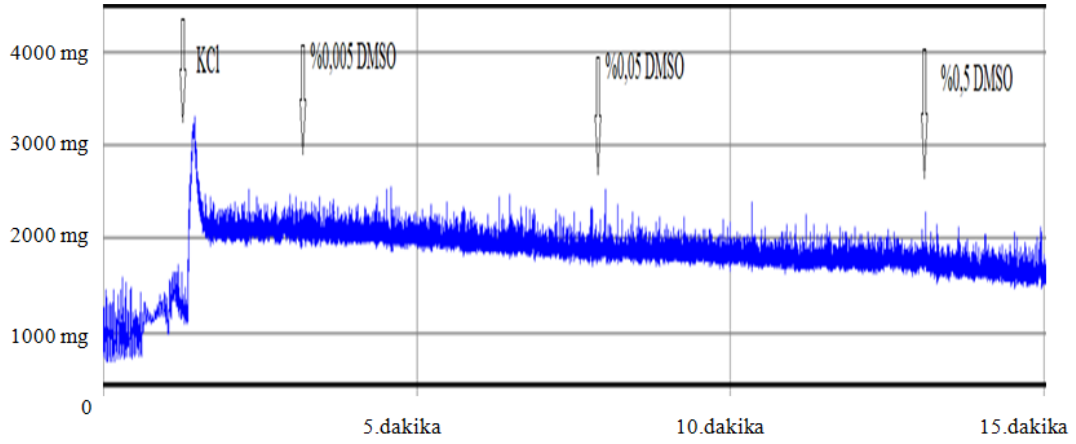
			FLURALANER (M)					
	n	DMSO	$10^{-9}$	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$
Duodenum	6	22,30±6,1	29,91±6,57	24,92±6,35	20,91±3,18	33,63±8,45	23,85±5,76	30,81±7,78
Jejunum	6	14,20±5,1*	30,76±9,40	18,30±7,82	24,63±6,22	29,2±12,6	37,3±10,9	45,1±10,4*
İleum	6	13,81±4,32	30,4±11,4*	21,64±5,40	23,16±7,82	26,16±6,6*	20,58±3,36	26,37±6,02

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. n: Kullanılan hayvan sayısı, aynı satırda \* işaretli fluralaner derişimleri ile DMSO arasında önemlilik vardır (duodenumda  $p > 0,05$ , Jejunumda  $10^{-4}$  M  $p = 0,028$ , ileumunda  $10^{-9}$  M  $p = 0,028$  ve  $10^{-6}$  M  $p = 0,044$ ).

Bu protokolda ikinciyapılan kümülatif deneyde yapılan istatistiki analizlerde duodenum derişimler arasında önemlilik bulunamadı ( $p > 0,05$ ), fakat Şekil 3.7.'de sunulduğu gibi jejunuma uygulanan  $10^{-4}$  M fluralaner derişimi ile KCl'ye bağlı sapontan kasılma arasında ( $p = 0,008$ ) ve % 0,5 DMSO uygulaması ile yine KCl'ye bağlı spontan kasılma arasında ( $p = 0,004$ ) önemli bir azalma bulundu. Jejunuma DMSO derişimlerinin uygulanması Şekil 3.8.'de gösterilmiştir. İleumda ise  $10^{-5}$  M fluralaner derişimi ile KCl'ye bağlı sapontan kasılma arasında ( $p = 0,008$ ) ve % 0,5 DMSO uygulaması ile yine KCl'ye bağlı spontan kasılma arasında ( $p = 0,004$ ) önemli bir azalma bulundu. Ayrıca yine ileumda  $10^{-4}$  M fluralaner derişimi ( $p = 0,043$ ) ve % 0,5 DMSO uygulaması ( $p = 0,043$ ) ve KCl'ye bağlı spontan kasılmalarında önemlilik bulundu. KCl kasılmasının cevabı 100 kabul edilip elde edilen verilerin ortalama ± standart hata (SH)'ları duodenumda Çizelge 3.4'de, jejunumda Çizelge 3.5'de ve ileumda ise Çizelge 3.6'da sunulmuştur.



**Şekil 3.7.** Jejunuma KCl kasılması sonrası  $10^{-4}$  M derişiminin fluralaner uygulaması



**Şekil 3.8.** Jejunuma KCl kasılması sonrası DMSO derişimlerinin uygulaması

**Çizelge 3.4.** KCl kasılması altında DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerde duodenum % üzerine etkisi

DUODENUM			
SPONTAN KASILMA	İlk 5 dk.	İkinci 5 dk.	Üçüncü 5 dk.
DMSO	86,71±15,05	80,34±14,33	80,30±18,74
	%0,005	%0,05	%0,5
	87,79±12,41	81,28±15,24	71,58±10,00
FLURALANER	$10^{-6}$ M	$10^{-5}$ M	$10^{-4}$ M
	69,07±6,20	67,48±11,82	51,91±9,10

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 4,  $p > 0,05$ .

**Çizelge 3.5.** KCl kasılması altında DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerde jejunum % üzerine etkisi

JEJUNUM			
SPONTAN KASILMA	İlk 5 dk.	İkinci 5 dk.	Üçüncü 5 dk.
DMSO	64,77±7,05	70,51±7,72	67,16±7,04 <sup>a</sup>
	%0,005	%0,05	%0,5
	60,39±18,13	57,18±8,13	44,14±8,13 <sup>b</sup>
FLURALANER	$10^{-6}$ M	$10^{-5}$ M	$10^{-4}$ M
	53,64±5,09	41,40±7,18	24,43±6,91 <sup>b</sup>

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 5, <sup>a,b</sup> Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.  $10^{-4}$  M fluralaner derişimi ile 3. spontan kasılma arasında ( $p=0,008$ ), % 0,5 DMSO uygulaması 3. spontan kasılma arasında ( $p=0,004$ ) önemlilik vardır.

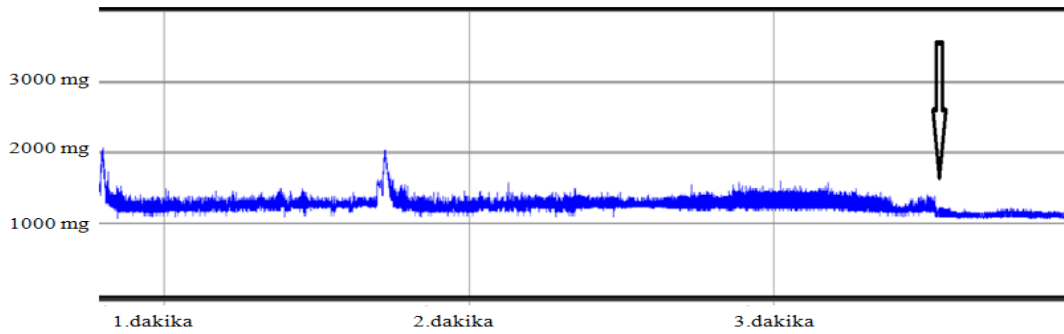
**Çizelge 3.6.** KCl kasılması altında DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerde ileum % üzerine etkisi

İLEUM			
SPONTAN KASILMA	İlk 5 dk.	İkinci 5 dk.	Üçüncü 5 dk.
DMSO	72,8±11,3	68,4±10,3 <sup>a</sup>	72,1±11,5 <sup>a</sup>
	%0,005	%0,05	%0,5
FLURALANER	61,0±11,6	53,6±13,3 <sup>b</sup>	40,63±9,36 <sup>b</sup>
	$10^{-6}$ M	$10^{-5}$ M	$10^{-4}$ M
	60,84±8,51	43,7±11,7 <sup>b</sup>	25,26±8,69 <sup>c</sup>

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 5, <sup>a,b,c</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.  $10^{-5}$  M fluralaner derişimi ile 2. spontan kasılma arasında (p=0,008) ve % 0,05 DMSO uygulaması ile 2. spontan kasılma arasında (p=0,004),  $10^{-4}$  M fluralaner derişimi uygulaması, % 0,5 DMSO uygulaması ve 3. spontan kasılma aralarında önemlilik vardır. (tüm uygulamalarda farklılık vardır ve tüm uygulamalar arasında p= 0,043).

### 3.3. Üçüncü Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) Gaba Kasılmalarının Üzerine Etkisi

$3 \times 10^{-6}$  M GABA ile 15 dakika inkübe edilen deneyde KCl kasılmasının cevabı 100 kabul edilip elde edilen verilerin ortalama ± standart hata (SH)'ları duodenumda Çizelge 3.7.'de, jejunumda Çizelge 3.8.'de ve ileumda Çizelge 3.9.'da sunulmuştur. Yapılan istatistiksel ölçümlerde duodenumda fluralanerin  $10^{-4}$  M derişiminin hem spontan kasılmaya göre (p=0,028) hem de DMSO uygulamasına göre (p=0,028) arasında önemlilik bulundu. Jejunumda aynı şekilde fluralanerin  $10^{-4}$  M derişiminin Şekil 3.9.'da sunulduğu gibi hem spontan kasılmaya göre (p=0,005) hem de DMSO uygulamasına göre (p=0,026) arasında önemlilik bulundu. İleumda ise derişimler arasında önemlilik bulunamadı (p>0,05).



**Şekil 3.9.**  $3 \times 10^{-6}$  M GABA ile inkübe edilen jejunuma  $10^{-4}$  M fluralaner uygulaması

**Çizelge 3.7.**  $3 \times 10^{-6}$  M GABA ile inkübe edilen duodenuma DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$  M derişimlerinin % etkisi

<b><math>3 \times 10^{-6}</math> M GABA ile inkübasyonu altında DUODENUM</b>			
<b>SPONTAN KASILMA</b>	<b>İlk 5 dk.</b>	<b>İkinci 5 dk.</b>	<b>Üçüncü 5 dk.</b>
<b>DMSO</b>	20,62±6,22	28,82±7,99	21,37±7,50 <sup>a</sup>
	<b>%0,005</b>	<b>%0,05</b>	<b>%0,5</b>
	26,41±6,50	25,97±7,97	20,29±9,65 <sup>a</sup>
<b>FLURALANER</b>	<b><math>10^{-6}</math></b>	<b><math>10^{-5}</math></b>	<b><math>10^{-4}</math></b>
	20,40±8,86	16,65±8,61	8,56±5,42 <sup>b</sup>

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6, <sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.  $10^{-4}$  M fluralaner derişimi uygulamasının, % 0,5 DMSO uygulaması (p=0,028) ve 3. sapontan kasılma arasında (p=0,028) önemlilik vardır.

**Çizelge 3.8.**  $3 \times 10^{-6}$  M GABA ile inkübe edilen jejunuma DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$  M derişimlerinin % etkisi

<b><math>3 \times 10^{-6}</math> M GABA ile inkübasyonu altında JEJUNUM</b>			
<b>SPONTAN KASILMA</b>	<b>İlk 5 dk.</b>	<b>İkinci 5 dk.</b>	<b>Üçüncü 5 dk.</b>
<b>DMSO</b>	23,63±6,69	24,37±6,48	23,91±4,41 <sup>a</sup>
	<b>%0,005</b>	<b>%0,05</b>	<b>%0,5</b>
	25,83±6,53	24,55±5,75	18,79±4,85 <sup>a</sup>
<b>FLURALANER</b>	<b><math>10^{-6}</math></b>	<b><math>10^{-5}</math></b>	<b><math>10^{-4}</math></b>
	22,21±7,42	10,76±2,59	1,79±0,52 <sup>b</sup>

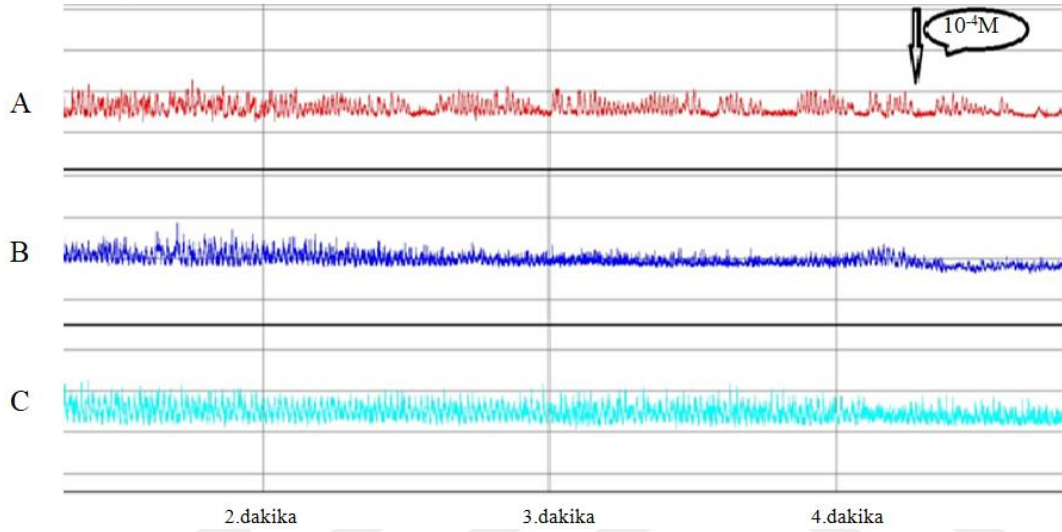
Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 7, <sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.  $10^{-4}$  M fluralaner derişimi uygulamasının, % 0,5 DMSO uygulaması (p=0,026) ve 3. sapontan kasılma arasında (p=0,005) önemlilik vardır.

**Çizelge 3.9.**  $3 \times 10^{-6}$  M GABA ile inkübe edilen ileuma DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$  M derişimlerinin % olarak etkisi

<b><math>3 \times 10^{-6}</math> M GABA ile inkübasyonu altında İLEUM</b>			
<b>SPONTAN KASILMA</b>	<b>İlk 5 dk.</b>	<b>İkinci 5 dk.</b>	<b>Üçüncü 5 dk.</b>
<b>DMSO</b>	29,47±9,08	26,18±5,36	29,74±9,09
	<b>%0,005</b>	<b>%0,05</b>	<b>%0,5</b>
	25,09±6,14	20,27±5,64	18,76±6,23
<b>FLURALANER</b>	<b><math>10^{-6}</math></b>	<b><math>10^{-5}</math></b>	<b><math>10^{-4}</math></b>
	17,04±5,30	13,51±2,39	6,42±2,87

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 7, fluralanerin tüm derişimlerinde önemlilik bulunmadı (p>0,05).

Aynı deneyde dokuların frekansları 5 dakika/frekans olacak şekilde ölçümü yapılarak karşılaştırıldı. Elde edilen verilerin ortalama  $\pm$  standart hata (SH)'ları duodenumda Çizelge 3.10.'de, jejunumda Çizelge 3.11.'de ve ileumda Çizelge 3.12.'de sunulmuştur. Yapılan istatistik sonuçlarda bağırsağın tüm dokularında fluralanerin  $10^{-5}$  M ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin hem spontan kasılmalara göre hemde DMSO derişimlerine göre Şekil 3.10. de sunulduğu gibi frekansları azalttığı görüldü (tüm dokular için  $p < 0,001$ ).



**Şekil 3.10.** Fluralanerin  $10^{-4}$  M derişiminin  $3 \times 10^{-6}$  M GABA inkübasyonu altında duodenum (A), jejunum (B) ve ileum (C) dokularının frekansları üzerine etkisi

**Çizelge 3.10.** DMSO ve Fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin  $3 \times 10^{-6}$  M GABA inkübasyonu altında duodenumda 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması

3x10 <sup>-6</sup> GABA inkübasyonunda DUODENUM			
SPONTAN KASILMA	İlk 5 dk.	İkinci 5 dk.	Üçüncü 5 dk.
DMSO	142,33 $\pm$ 4,47	131,33 $\pm$ 5,54 <sup>a</sup>	135,33 $\pm$ 4,19 <sup>a</sup>
	%0,005	%0,05	%0,5
FLURALANER	146,5 $\pm$ 3,71	144,83 $\pm$ 4,6 <sup>a</sup>	137,67 $\pm$ 4,2 <sup>a</sup>
	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-4</sup>
	136,67 $\pm$ 2,75	105 $\pm$ 8.01 <sup>b</sup>	38,5 $\pm$ 6,83 <sup>b</sup>

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6. <sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M fluralaner derişimleri uygulamasının, % 0,05, % 0,5 DMSO uygulaması ve 2. sapontan, 3. sapontan kasılma arasında ( $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M fluralaner derişimleri için  $p < 0,001$ ) önemlilik vardır.

**Çizelge 3.11.** DMSO ve Fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin  $3 \times 10^{-6}$  M GABA inkübasyonu altında jejunumda 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması

<b><math>3 \times 10^{-6}</math> GABA inkübasyonunda JEJUNUM</b>			
<b>SPONTAN KASILMA</b>	<b>İlk 5 dk.</b>	<b>İkinci 5 dk.</b>	<b>Üçüncü 5 dk.</b>
<b>DMSO</b>	136,14±2,57	139,86±1,9 <sup>a</sup>	132±2,83 <sup>a</sup>
	<b>%0,005</b>	<b>%0,05</b>	<b>%0,5</b>
	138,71±2,38	138,43±3,22 <sup>a</sup>	137,86±3,6 <sup>a</sup>
<b>FLURALANER</b>	<b><math>10^{-6}</math></b>	<b><math>10^{-5}</math></b>	<b><math>10^{-4}</math></b>
	139±2,65	114,29±3,36 <sup>b</sup>	52,29±7,59 <sup>b</sup>

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 7. <sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M fluralaner derişimleri uygulamasının, % 0,05, % 0,5 DMSO uygulaması ve 2. sapontan, 3. sapontan kasılma arasında ( $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M fluralaner derişimleri için  $p < 0,001$ ) önemlilik vardır.

**Çizelge 3.12.** DMSO ve Fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin  $3 \times 10^{-6}$  M GABA inkübasyonu altında ileuma 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması

<b><math>3 \times 10^{-6}</math> GABA inkübasyonunda İLEUM</b>			
<b>SPONTAN KASILMA</b>	<b>İlk 5 dk.</b>	<b>İkinci 5 dk.</b>	<b>Üçüncü 5 dk.</b>
<b>DMSO</b>	124,2±3,71	128,8±2,13 <sup>a</sup>	130,2±1,62 <sup>a</sup>
	<b>%0,005</b>	<b>%0,05</b>	<b>%0,5</b>
	130,4±3,31	122,6±4,02 <sup>a</sup>	121,2±2,35 <sup>a</sup>
<b>FLURALANER</b>	<b><math>10^{-6}</math></b>	<b><math>10^{-5}</math></b>	<b><math>10^{-4}</math></b>
	110,4±12,40	72±19,40 <sup>b</sup>	48±17,10 <sup>b</sup>

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 7. <sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M fluralaner derişimleri uygulamasının, % 0,05, % 0,5 DMSO uygulaması ve 2. sapontan, 3. sapontan kasılma arasında ( $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M fluralaner derişimleri için  $p < 0,001$ ) önemlilik vardır.

Yapılan ikinci deneyde GABA kullanılmadı. Tüm dokulara önce 80 mM KCl ile kastırıldıktan sonra spontan kasılmalar, % 0,005 % 0,05, % 0,5 DMSO uygulaması ile fluralanerin  $10^{-6}$  M,  $10^{-5}$  M ve  $10^{-4}$  M derişimleri uygulaması karşılaştırıldı.

KCl kasılmasının cevabı 100 kabul edilip, elde edilen verilerin ortalama ± standart hata (SH)'ları duodenumda Çizelge 3.13.'de, jejunumda Çizelge 3.14.'de ve ileumda Çizelge 3.15.'de sunulmuştur. Yapılan istatistiklerde duodenumda fluralanerin  $10^{-4}$  M derişimi uygulaması, % 0,5 DMSO uygulaması ve 3. Spontan kasılmalar (hepsi) arasında önemlilik bulundu (hepsi için  $p = 0,028$ ). Jejunumda fluralanerin  $10^{-6}$  M derişimi uygulaması ile % 0,005 DMSO arasında ( $p = 0,028$ ),  $10^{-5}$  M derişimi uygulamasının % 0,05 DMSO ile ( $p = 0,028$ ) spontan kasılma arasında ( $p = 0,028$ ),  $10^{-4}$



M derişimi uygulamasının Şekil 3.11. ve Şekil 3.12.'de sunulduğu gibi % 0,5 DMSO ile (p=0,001) spontan kasılma arasında (p=0,036) arasında önemlilik bulundu. ileum da ise sadece fluralanerin  $10^{-5}$  M derişiminin spontan kasılmayla arasında (p=0,043) ve % 0,05 DMSO uygulaması ve yine spontan kasılma arasında (p=0,028) önemlilik bulundu.

**Çizelge 3.13.** DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişim olarak duodenum % üzerine etkisi

DUODENUM			
SPONTAN KASILMA	İlk 5 dk.	İkinci 5 dk.	Üçüncü 5 dk.
DMSO	24,57±6,99	22,17±6,94	26,37±6,16 <sup>a</sup>
	%0,005	%0,05	%0,5
FLURALANER	24,85±6,99	19,5±5,92	18,54±5,86 <sup>b</sup>
	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$
	17,21±3,87	11,69±4,47	8,39±4,37 <sup>c</sup>

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6.<sup>a,b,c</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.  $10^{-4}$  M fluralaner derişimi, 3. sapontan kasılma, % 0,5 DMSO uygulaması aralarında (hepsinin birbiriyle arasında) önemlilik vardır. (tüm uygulamalarda farklılık vardır ve tüm uygulamalar arasında p= 0,028).

**Çizelge 3.14.** DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişim olarak jejunum % kasılmaları üzerine etkisi

JEJUNUM			
SPONTAN KASILMA	İlk 5 dk.	İkinci 5 dk.	Üçüncü 5 dk.
DMSO	29,49±6,98 <sup>ab</sup>	26,13±6,22 <sup>a</sup>	25,02±6,59 <sup>a</sup>
	%0,005	%0,05	%0,5
FLURALANER	32,49±7,26 <sup>a</sup>	29,11±5,73 <sup>a</sup>	23,16±3,42 <sup>a</sup>
	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$
	19,41±5,60 <sup>b</sup>	9,18±2,14 <sup>b</sup>	4,6±2,14 <sup>b</sup>

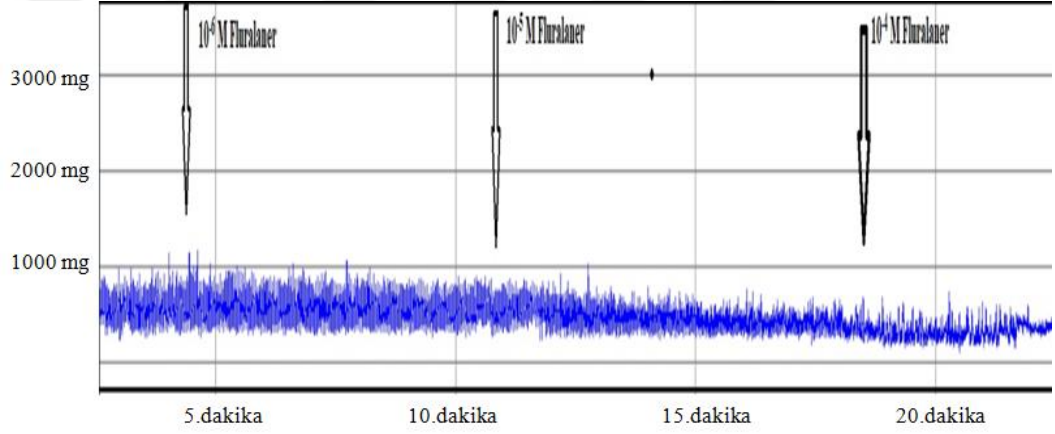
Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6.<sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.  $10^{-6}$  M fluralaner derişimi %0,005 DMSO ile arasında (p=0,028),  $10^{-5}$  M fluralaner derişimi hem 2. sapontan kasılma (p=0,028) hemde % 0,05 DMSO uygulaması (p=0,028) arasında,  $10^{-4}$  M fluralaner derişimi hem 3. sapontan kasılma (p=0,036) hemde % 0,5 DMSO uygulaması (p=0,001) arasında önemlilik vardır.



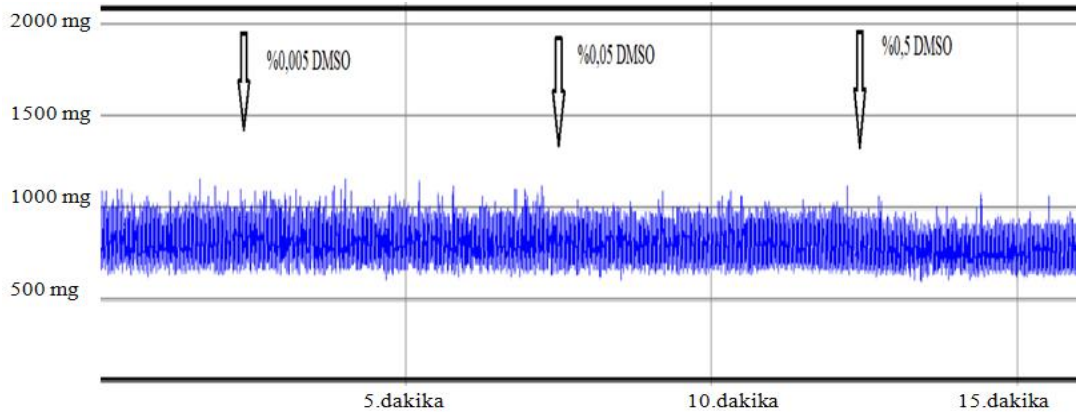
**Çizelge 3.15.** DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişim olarak ileum% kasılmaları üzerine etkisi

İLEUM			
SPONTAN KASILMA	İlk 5 dk.	İkinci 5 dk.	Üçüncü 5 dk.
DMSO	21,85±3,61	22,00±3,26 <sup>a</sup>	19,35±2,96
	%0,005	%0,05	%0,5
	19,77±4,84	16,28±3,56 <sup>b</sup>	15,71±5,69
FLURALANER	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$
	17,88±5,52	11,11±4,4 <sup>b</sup>	7,38±3,70

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6.<sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.  $10^{-5}$  M fluralaner derişimi ile 2. spontan kasılma arasında ( $p=0,043$ ), %0,05 DMSO uygulaması ile 2. spontan kasılma arasında ( $p=0,028$ ) ile arasında arasında önemlilik vardır.



**Şekil 3.11.** Jejunuma  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M fluralaner uygulaması

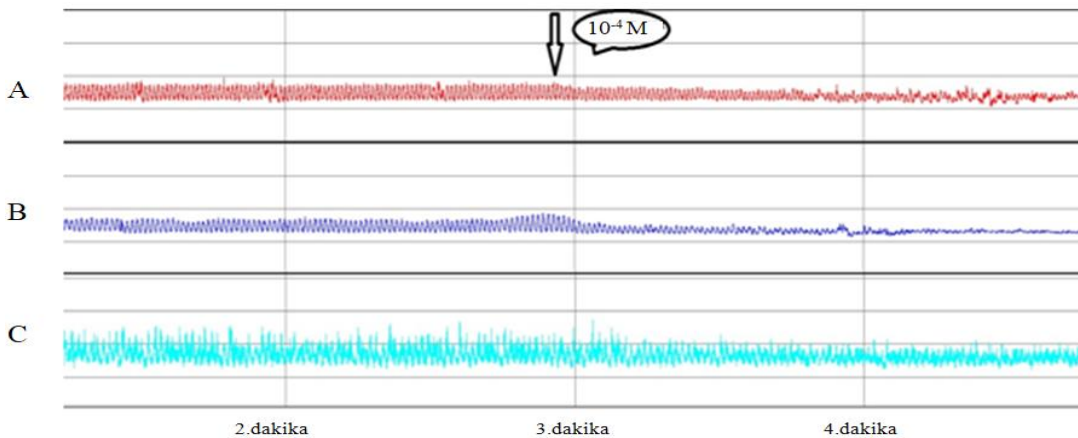


**Şekil 3.12.** Jejunuma DMSO'nun farklı derişimleri uygulaması

Aynı deneyde fluralanerin dokulara tek başına etkisi ve  $3 \times 10^{-6}$  M GABA inkübasyonu altındaki etkileri karşılaştırılacaktı. Fakat dokular fluralanerin en yoğun derişimi olan  $10^{-4}$  M derişimine maruz bırakıldıktan sonra troyde çözeltilisi sürekli değiştirilmense rağmen hiçbir zaman eski spontan kasılmalarına geri dönmediler. Bu sebepten dolayı hesaplanmaların doğru cevap vermeyeceği düşünülerek fluralanerin dokulara tek başına etkisi ve  $3 \times 10^{-6}$  M GABA inkübasyonu altındaki etkileri aynı deneyde bağımlı olarak araştırılmadı. Ama fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M derişimi GABA inkübasyonu ile yapılan birinci deneyde ve GABA kullanmaksızın yapılan ikinci deneyde elde edilen sonuçlar karşılaştırıldı. Yapılan istatistiklerde fluranerin hiçbir derişiminde hiçbir dokuda fark bulunamadı ( $p > 0,05$ ).

GABA kullanmadan yapılan ikinci deneyde frekans ölçümleri yapıldı. Bağırsak bölümlerinde (duodenum, jejunum, ileum) spontan oluşan frekanslar, DMSO'nun değişik derişimdeki frekansları ve fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M derişiminde oluşan frekansları 5 dakika/frekans olacak şekilde sayılarak karşılaştırıldı. Fluranerin  $10^{-4}$  M derişimi bağırsak frekans sayılarını bütün dokularda oldukça düşürdüğü görüldü. Yapılan istatistiklerde fluranerin  $10^{-4}$  M derişimihem spontan kasılmalarda oluşan frekanslara hemde DMSO uygulaması altında oluşan frekanslara göre frekans sayılarını Şekil 3.13. de sunulduğu gibi önemli derecede düşürdüğü görüldü ve oldukça önemli bulundu (duodenum  $p=0,005$ , jejunumda  $p < 0,001$  ve ileumda  $p < 0,001$ ).

Elde edilen verilerin ortalama  $\pm$  standart hata (SH)'ları duodenumda Çizelge 3.16'da, jejunumda Çizelge 3.17'de ve ileumda ise Çizelge 3.18'de sunulmuştur.



**Şekil 3.13.** Fluralanerin  $10^{-4}$  M derişiminin duodenum (A), jejunum (B) ve ileum (C) dokularının frekansları üzerine etkisi

**Çizelge 3.16.** DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin duodenumdaki ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması

DUODENUM			
SPONTAN KASILMA	İlk 5 dk.	İkinci 5 dk.	Üçüncü 5 dk.
DMSO	150,33±2,94	155,67±3,53	150,17±3,31 <sup>a</sup>
	%0,005	%0,05	%0,5
	156,17±3,53	156,33±2,6	155,67±2,8 <sup>a</sup>
FLURALANER	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$
	164,17±1,51	164±1,98	109,83±9,57 <sup>b</sup>

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6.<sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.  $10^{-4}$  M fluralaner derişimi ile 3. spontan kasılma arasında ( $p=0,005$ ) ve %0,5 DMSO uygulaması arasında ( $p=0,005$ ) önemlilik vardır.

**Çizelge 3.17.** DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin jejunumdaki ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması

JEJUNUM			
SPONTAN KASILMA	İlk 5 dk.	İkinci 5 dk.	Üçüncü 5 dk.
DMSO	146±2,25	144,83±2,57	139,17±2,6 <sup>a</sup>
	%0,005	%0,05	%0,5
	146,67±1,69	143,67±1,99	144±1,75 <sup>a</sup>
FLURALANER	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$
	147±1,55	133,33±3,28	52,5±3,13 <sup>b</sup>

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6.<sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.  $10^{-4}$  M fluralaner derişimi ile 3. spontan kasılma arasında ( $p<0,001$ ) ve %0,5 DMSO uygulaması arasında ( $p<0,001$ ) önemlilik vardır.

**Çizelge 3.18.** DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin ileumdaki ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması

İLEUM			
SPONTAN KASILMA	İlk 5 dk.	İkinci 5 dk.	Üçüncü 5 dk.
DMSO	126,17±2,44	134,67±1,76	133,5±4,01 <sup>a</sup>
	%0,005	%0,05	%0,5
	130,17±2,24	123,67±1,41	127±1,75 <sup>a</sup>
FLURALANER	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$
	122,67±1,98	133,33±2,11	63,67±2,38 <sup>b</sup>

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6.<sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.  $10^{-4}$  M fluralaner derişimi ile 3. spontan kasılma arasında ( $p<0,001$ ) ve %0,5 DMSO uygulaması arasında ( $p<0,001$ ) önemlilik vardır.

Yapılan bir diğer frekans testinde GABA protokolünde uygulanan birinci deney ve ikinci deneyde (GABA inkübasyonu olan ve GABA kullanılmayan) fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin uygulandığı dokular arasında 5 dakika/frekans değerleri sayılarak karşılaştırıldı. Elde edilen verilerin ortalama  $\pm$  standart hata (SH)'ları tablo 3.13.'de sunulmuş olup yapılan bağımsız ikili istatistik analizlerde ise GABA inkübasyonu altındaki fluralanerin duodenumda  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin ( $10^{-6}$  M p= 0,003,  $10^{-5}$  M p= 0,003,  $10^{-4}$  M p= 0,001), jejunumda  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M derişimlerinin ( $10^{-6}$  M p= 0,001,  $10^{-5}$  M p= 0,007), ileumda ise sadece  $10^{-5}$  M derişiminin (p=0,006) frekans sayılarını önemli ölçüde azalttığı görüldü.

**Çizelge 3.19.** Fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin spontan kasılmalara ve  $3 \times 10^{-6}$  M GABA ile inkübe edilen dokulardaki duodenum, jejunum ve ileumdaki ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması

		10 <sup>-6</sup> M fluralaner	10 <sup>-5</sup> M fluralaner	10 <sup>-4</sup> M fluralaner
<b>Duodenum</b>	Spontan kasılma	167,5 $\pm$ 1,7*	165 $\pm$ 1,29*	120,83 $\pm$ 13,31*
	GABA ink.	136,66 $\pm$ 2,75*	105 $\pm$ 8*	38,5 $\pm$ 6,83*
<b>Jejunum</b>	Spontan kasılma	145,83 $\pm$ 0,83*	130,83 $\pm$ 3,74*	59,33 $\pm$ 0,88
	GABA ink.	139 $\pm$ 7,00*	114,28 $\pm$ 3,36*	52,28 $\pm$ 7,58
<b>İleum</b>	Spontan kasılma	120 $\pm$ 00	116,66 $\pm$ 1,66*	62,83 $\pm$ 1,92
	GABA ink.	110 $\pm$ 12,37	72 $\pm$ 19,4*	48 $\pm$ 17,13

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak verilmiştir. n: Kullanılan hayvan sayısı \* Aynı dokulardaki aynı sütundaki ikili karşılaştırmada önemlilikleri ifade eder. (duodenum n=12,  $10^{-6}$  M p= 0,003,  $10^{-5}$  M p= 0,003,  $10^{-4}$  M p= 0,001, jejunum n=13,  $10^{-6}$  M p= 0,001,  $10^{-5}$  M p= 0,007 ve ileum n=11,  $10^{-5}$  M p=0,006).

### 3.4. Dördüncü Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) Asetilkolin ile Beraber Etkisinin Ölçülmesi

Dokuların DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}$  M inkübasyonu altında Ak'nin  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  M derişimlerinin uygulanmasıyla yapılan deneyin istatistiksel analizinde, Ak'nin duodenumda Şekil 3.14'de sunulduğu gibi  $10^{-5}$  M (p=0,024),  $10^{-4}$  M (p=0,025),  $10^{-3}$  M (p=0,025) derişimleri arasında önemlilik bulundu. Jejunumda uygulanan Ak'nin Şekil 3.15'de sunulduğu gibi hiçbir derişiminde herhangi bir önemlilik bulunamadı (p>0,05). İleumda ise Ak'nin Şekil 3.16'da sunulduğu gibi  $10^{-8}$  M (p=0,033) derişiminde farklılık bulundu. KCl kasılmasının cevabı 100 kabul edilip, elde edilen verilerin ortalama  $\pm$  standart hata (SH)'ları Çizelge 3.20.'de sunulmuştur.

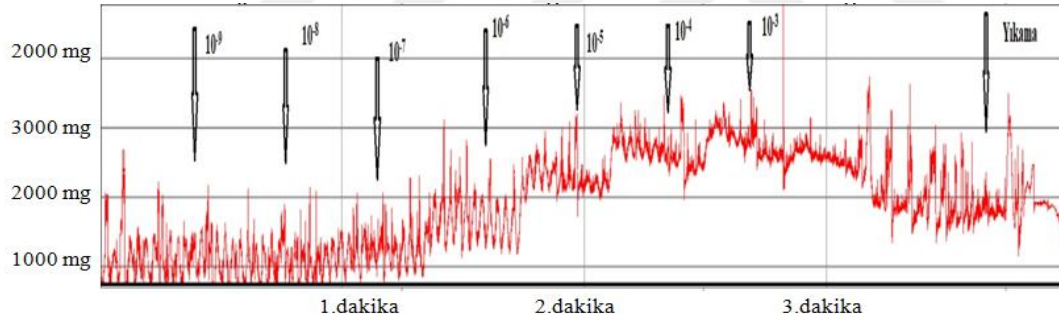
Dokuların DMSO ve fluralanerin  $10^{-4}$  M inkübasyonu altında Ak'nin  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}$  M derişimlerinin uygulanmasıyla yapılan deneyin istatistiksel analizinde, Ak'nin duodenumda  $10^{-6}$  M ( $p < 0,001$ ),  $10^{-4}$  M ( $p = 0,025$ ) derişiminde, jejunumda uygulanan Ak'nin  $10^{-6}$  M ( $p = 0,023$ )  $10^{-5}$  M ( $p = 0,028$ )  $10^{-4}$  M ( $p = 0,028$ ) ve ileumda ise Ak'nin  $10^{-6}$  M ( $p = 0,037$ )  $10^{-5}$  M ( $p = 0,014$ )  $10^{-4}$  M ( $p = 0,003$ )  $10^{-3}$  M ( $p = 0,045$ ) derişiminde önemlilik bulundu. KCl kasılmasının cevabı 100 kabul edilip, elde edilen verilerin ortalama  $\pm$  standart hata (SH)'ları Çizelge 3.21.'de sunulmuştur.

Ak ile yapılan üçüncü deneyde ise sadece spontan kasılmalar, 5  $\mu$ l DMSO ve 50  $\mu$ l DMSO ile inkübe edilen dokulara Ak'nin  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}$  M derişimleri uygulanarak Ak'nin dokulardaki kasma etkileri karşılaştırıldı. Yapılan istatiski analizlerde duodenuma uygulanan Ak'nin  $10^{-9}$  M derişiminde 50  $\mu$ l DMSO inkübasyonu ile spontan kasılma arasında ( $p = 0,043$ ) ve 50  $\mu$ l DMSO inkübasyonu ile 5  $\mu$ l DMSO inkübasyonu arasında ( $p = 0,043$ ), Ak'nin  $10^{-7}$  M derişiminde 50  $\mu$ l DMSO inkübasyonu ile spontan kasılma arasında ( $p = 0,002$ ) ve 50  $\mu$ l DMSO inkübasyonu ile 5  $\mu$ l DMSO inkübasyonu arasında ( $p = 0,043$ ), Ak'nin  $10^{-6}$  M derişiminde 50  $\mu$ l DMSO inkübasyonu ile spontan kasılma arasında ( $p = 0,043$ ) ve 50  $\mu$ l DMSO inkübasyonu ile 5  $\mu$ l DMSO inkübasyonu arasında ( $p = 0,043$ ), Ak'nin  $10^{-4}$  M derişiminde 5  $\mu$ l DMSO inkübasyonu ile spontan kasılma arasında ( $p = 0,043$ ), arasında önemlilik bulundu. KCl kasılmasının cevabı 100 kabul edilip elde edilen verilerin ortalama  $\pm$  standart hata (SH)'ları Çizelge 3.22.'de sunulmuştur. Jejunuma uygulanan Ak'nin  $10^{-9}$  M derişiminde 50  $\mu$ l DMSO inkübasyonu ile spontan kasılma arasında ( $p = 0,043$ ) ve 50  $\mu$ l DMSO inkübasyonu ile 5  $\mu$ l DMSO inkübasyonu arasında ( $p = 0,043$ ),  $10^{-6}$  M derişiminde 50  $\mu$ l DMSO inkübasyonu ile spontan kasılma arasında ( $p = 0,043$ ),  $10^{-7}$  M derişiminde spontan kasılma ile 50  $\mu$ l DMSO inkübasyonu arasında ( $p = 0,043$ ), spontan kasılma ile 5  $\mu$ l DMSO inkübasyonu arasında ( $p = 0,043$ ) önemlilik bulundu. KCl kasılmasının cevabı 100 kabul edilip elde edilen verilerin ortalama  $\pm$  standart hata (SH)'ları Çizelge 3.23.'de sunulmuştur. İleumda ise Ak'nin hiçbir derişiminde önemlilik bulunamadı ( $p > 0,05$ ). KCl kasılmasının cevabı 100 kabul edilip elde edilen verilerin ortalama  $\pm$  standart hata (SH)'ları Çizelge 3.24.'de sunulmuştur.

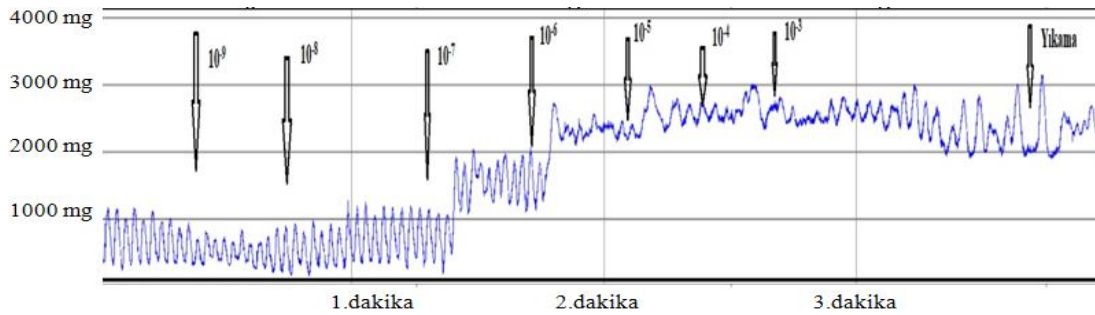
**Çizelge 3.20.** DMSO ve  $10^{-6}$  M fluralaner inkübasyonunda Ak'nin  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M derişimlerinin duodenum, jejunum ve ileum % kasılmalar üzerine etkisi

Ak DERİŞİMİ	DUODENUM		JEJENUM		İLEUM	
	$10^{-6}$ fluralaner	DMSO	$10^{-6}$ fluralaner	DMSO	$10^{-6}$ fluralaner	DMSO
$10^{-9}$	19,53±6,78	29,97±8,61	14,86± 2,10	23,30±2,55	16,09±4,73	10,58±3,18
$10^{-8}$	22,33±7,54	29,24±8,99	19,14±2,22	36,34±8,61	21,03±4,60*	12,07±3,84*
$10^{-7}$	40,2±15,70	57,8±23,40	35,40±8,79	55,7±16,00	27,49±7,09	29,76±9,42
$10^{-6}$	70,9±25,00	89,5± 27,3	68,40± 13,20	89,5± 27,30	51,4±11,3	48,2±12,2
$10^{-5}$	73,4±27,80*	89,4±28,70*	97,80± 20,10	110,6±25,10	79,3± 18,5	92,7±12,4
$10^{-4}$	70,1±24,0*	93,1±26,80*	97,00±14,00	105,1±22,80	71,31±9,97	85,9±16,1
$10^{-3}$	69,9±25,80*	103,2±18,10*	86,5±13,60	112,3±19,20	78,4±14,3	98±15,50

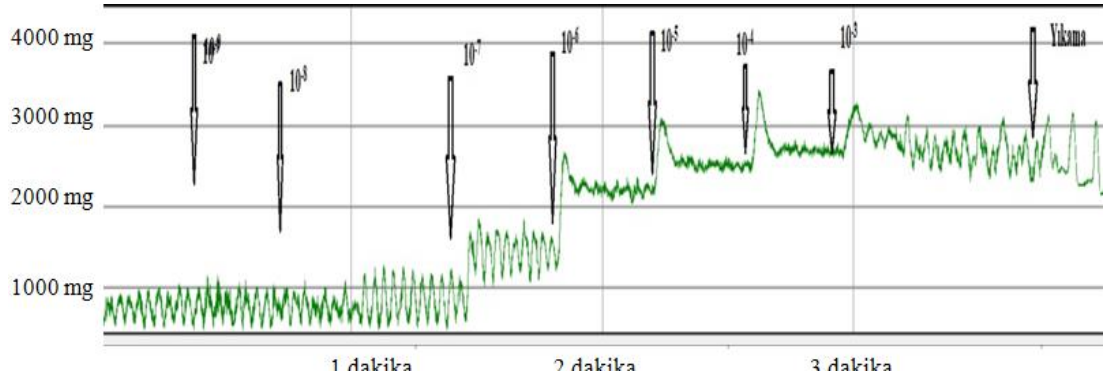
Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. n: Kullanılan hayvan sayısı \* Aynı dokulardaki aynı satırdakiiki karşılaştırma önemlilikleri ifade eder. Duodenum n=4,  $10^{-5}$ M p= 0,024,  $10^{-4}$ M p= 0,025,  $10^{-3}$ M p= 0,025, jejunum n=4, p>0,05 ve ileum n=4,  $10^{-8}$  M p=0,033.



**Şekil 3.14.** Fluralanerin  $10^{-6}$  M inkübasyonunda Ak'nin  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$  M derişimlerinin duodenum üzerindeki kasılma etkisi



**Şekil 3.15.** Fluralanerin  $10^{-6}$  M inkübasyonunda Ak'nin  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$  M derişimlerinin jejunum üzerindeki kasılma etkisi



**Şekil 3.16.** Fluralaner'in  $10^{-6}$  M inkübasyonunda Ak'nin  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$  M derişimlerinin ileum üzerindeki kasılma etkisi

**Çizelge 3.21.** DMSO ve  $10^{-4}$  M fluralaner inkübasyonunda Ak'nin  $10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M derişimlerinin duodenum, jejunum ve ileum % kasılmalar üzerine etkisi

Ak DERİŞİM	DUODENUM		JEJENUM		İLEUM	
	$10^{-4}$ fluralaner	DMSO	$10^{-4}$ fluralaner	DMSO	$10^{-4}$ fluralaner	DMSO
$10^{-9}$	19,3±10,3	25,37±7,23	10,73±2,73	25,9±11,0	16,31±2,0	17,10±2,93
$10^{-8}$	15,81±6,04	24,80±4,32	20,49±6,25	27,9±11,4	18,57±3,58	26,72±5,31
$10^{-7}$	22,72±4,36	31,78±6,18	18,82±6,15	46,7±20,5	20,77±4,48	28,12±4,79
$10^{-6}$	23,61±5,90	50,17±6,75*	29,3±11,2*	83,1±32,0*	24,34±2,79*	53,6±10,3*
$10^{-5}$	40,20±8,35	61,85±9,00	38,7±11,8*	121,7±36,6*	29,59±5,04*	71,1±10,6*
$10^{-4}$	45,67±7,07	62,00±9,05	41,2±10,7*	115,3±32,6*	38,48±4,70*	90,5±12,9*
$10^{-3}$	60,0±12,9	70,97±7,99	69,47±9,76	112,1±25,3	59,61±8,24*	90,0±11,3*

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. n: Kullanılan hayvan sayısı \* Aynı dokulardaki aynı satırdaki ikili karşılaştırma önemlilikleri ifade eder. Duodenum n=6,  $10^{-6}$  M p<0,001, jejunum n=6,  $10^{-6}$  M p=0,023,  $10^{-5}$  M p=0,028,  $10^{-4}$  M p=0,028, ileum n=6,  $10^{-6}$  M p=0,037,  $10^{-5}$  M p=0,014,  $10^{-4}$  M p=0,003,  $10^{-3}$  M p=0,045.



**Çizelge 3.22.** Spontan kasılma, 5 µl DMSO ve 50 µl DMSO inkübasyonu üzerine Ak'nin  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M derişimlerinin duodenum % kasılmalar üzerine etkisi

**DUODENUM**

Ak (M)	SPONTAN KASILMA	5 µl DMSO	50 µl DMSO
$10^{-9}$	33,46±7,30 <sup>a</sup>	52,0±20,50 <sup>a</sup>	9,57±5,69 <sup>b</sup>
$10^{-8}$	49,79±10,88	48,98±17,25	19,09±7,72
$10^{-7}$	69,46±12,59 <sup>a</sup>	62,18±16,97 <sup>a</sup>	30,04±7,27 <sup>b</sup>
$10^{-6}$	97,94±10,15 <sup>a</sup>	74,18±7,05 <sup>a</sup>	56,53±8,93 <sup>b</sup>
$10^{-5}$	113,13±7,32 <sup>a</sup>	88,67±8,29 <sup>b</sup>	81,45±8,35 <sup>b</sup>
$10^{-4}$	121,40±6,94 <sup>a</sup>	103,75±9,09 <sup>b</sup>	95,19±8,94 <sup>ab</sup>
$10^{-3}$	117,55±11,32	101,85±8,14	92,17±10,96

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 5.<sup>a,b</sup> Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir. Ak'nin  $10^{-9}$  M derişiminde 50 µl DMSO ile spontan kasılma arasında (p=0,043), 50 µl DMSO ile 5 µl DMSO arasında (p=0,043), Ak'nin  $10^{-7}$  M derişiminde 50 µl DMSO ile spontan kasılma arasında (p=0,002), 50 µl DMSO ile 5 µl DMSO arasında (p=0,032), Ak'nin  $10^{-6}$  M derişiminde 50 µl DMSO ile spontan kasılma arasında (p=0,043), 50 µl DMSO ile 5 µl DMSO arasında (p=0,043), Ak'nin  $10^{-5}$  M derişiminde spontan kasılma ile 5 µl DMSO arasında (p=0,043) ve spontan kasılma ile 50 µl DMSO arasında (p=0,043), Ak'nin  $10^{-4}$  M derişiminde spontan kasılma ile 5 µl DMSO arasında (p=0,043) önemlilik vardır.

**Çizelge 3.23.** Spontan kasılma, 5 µl DMSO ve 50 µl DMSO inkübasyonu üzerine Ak'nin  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M derişimlerinin jejunum % kasılmalar üzerine etkisi

**JEJUNUM**

Ak (M)	SPONTAN KASILMA	5 µl DMSO	50 µl DMSO
$10^{-9}$	14,32±3,91 <sup>a</sup>	34,65±12,14 <sup>a</sup>	7,33±1,04 <sup>b</sup>
$10^{-8}$	24,16±6,47	49,68±19,79	13,95±4,27
$10^{-7}$	64,04±17,62	48,81±15,32	27,82±5,50
$10^{-6}$	92,37±16,08 <sup>a</sup>	73,64±10,83 <sup>ab</sup>	63,78±12,93 <sup>b</sup>
$10^{-5}$	101,48±17,62	87,54±7,14	75,40±9,99
$10^{-4}$	118,77±28,53	83,26±9,42	77,31±11,88
$10^{-3}$	106,60±17,11 <sup>a</sup>	79,57±8,60 <sup>b</sup>	91,25±18,47 <sup>b</sup>

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 5.<sup>a,b</sup> Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir. Ak'nin  $10^{-9}$  M derişiminde 50 µl DMSO ile spontan kasılma arasında (p=0,043), 50 µl DMSO ile 5 µl DMSO arasında (p=0,043), Ak'nin  $10^{-6}$  M derişiminde 50 µl DMSO ile spontan kasılma arasında (p=0,043), Ak'nin  $10^{-3}$  M derişiminde spontan kasılma ile 5 µl DMSO arasında (p=0,043) ve spontan kasılma ile 50 µl DMSO arasında (p=0,043), önemlilik vardır.



**Çizelge 3.24.** Spontan kasılma, 5 µl DMSO, ve 50 µl DMSO inkübasyonu üzerine Ak'nin  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M derişimlerinin ileum % kasılmalar üzerine etkisi

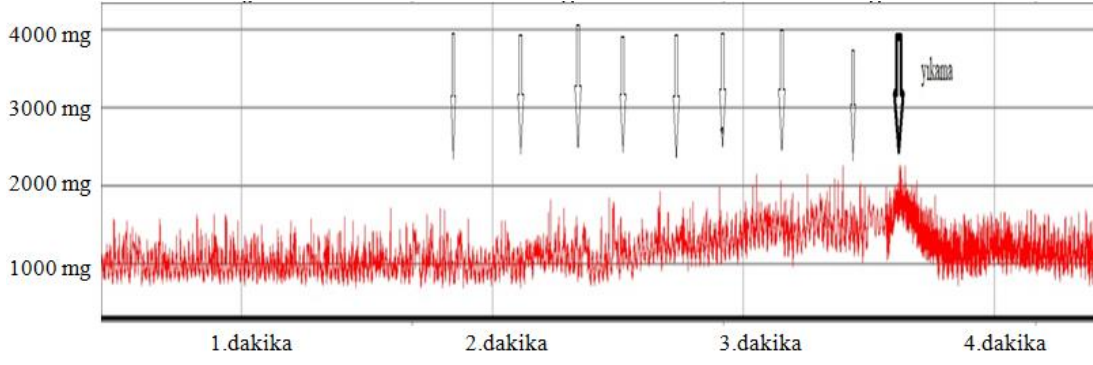
**İLEUM**

Ak (M)	SPONTAN KASILMA	5 µl DMSO	50 µl DMSO
$10^{-9}$	24,72±6,74	33,19±11,14	16,69±3,85
$10^{-8}$	28,30±2,61	40,76±14,12	46,26±22,66
$10^{-7}$	36,36±7,00	49,92±13,14	55,95±17,23
$10^{-6}$	63,38±7,80	64,97±10,51	56,33±9,41
$10^{-5}$	85,49±13,60	73,57±12,33	73,61±10,52
$10^{-4}$	121,61±13,98	98,13±13,29	73,05±9,96
$10^{-3}$	113,04±14,13	100,55±14,97	84,05±11,29

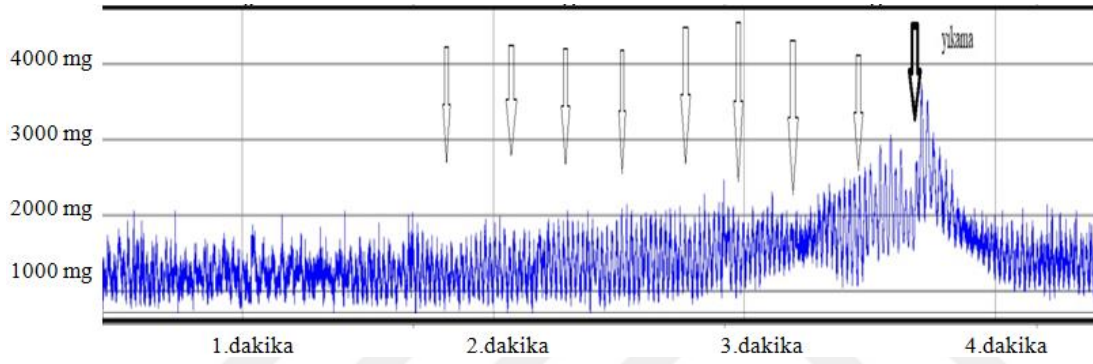
Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 5,  $p > 0,05$ .

### 3.5. Beşinci Protokol: Fluralaner Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) Serotonin ile Beraber Etkisinin Ölçülmesi

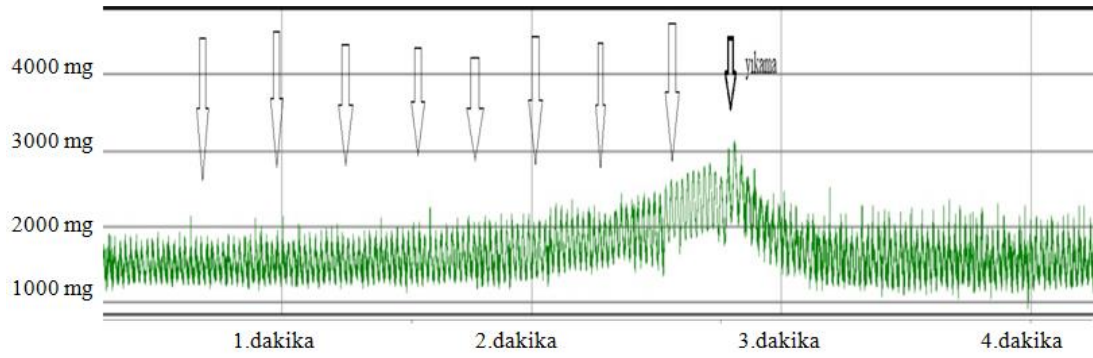
Fluralanerin  $10^{-5}$  M derişimi ve fluralaner gibi derişimi hazırlanan DMSO ile ayrı ayrı inkübe edilerek dokuların üzerine serotoninin  $3 \times 10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $3 \times 10^{-5}$  M derişimleri duodenuma Şekil 3.17.'de, jejunuma Şekil 3.18.'de ve ileuma Şekil 3.19.'de belirtildiği gibi uygulanıp, dokulardaki kasılma farkları araştırıldı. Yapılan istatistiksel analizlerde duodenumda fluralaner inkübasyonunda serotoninin DMSO inkübasyonu arasında  $10^{-7}$  M ( $p=0,040$ ),  $10^{-6}$  M derişimlerinde ( $p=0,007$ ) önemlilik vardır. Jejunumda serotoninin hiç bir derişiminde önemlilik görülmedi ( $p > 0,05$ ). İleumda ise fluralaner inkübasyonunda serotoninin DMSO inkübasyonu arasında  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p=0,049$ ),  $10^{-5}$  M derişimlerinde ( $p=0,043$ ) önemlilik vardır. KCl kasılmasının cevabı 100 kabul edilip elde edilen verilerin ortalama ± standart hata (SH)'ları duodenum için Çizelge 3.25.'de, jejunum için Çizelge 3.26.'de ve ileum için Çizelge 3.27.'de sunulmuştur.



**Şekil 3.17.** Fluralaner  $10^{-5}$  M inkübasyonunda serotoninin  $3 \times 10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $3 \times 10^{-5}$  M derişimlerinin duodenum kasılma etkisi



**Şekil 3.18.** Fluralaner  $10^{-5}$  M inkübasyonunda serotoninin  $3 \times 10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $3 \times 10^{-5}$  M derişimlerinin jejunum kasılma etkisi



**Şekil 3.19.** Fluralaner  $10^{-5}$  M inkübasyonunda serotoninin  $3 \times 10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $3 \times 10^{-5}$  M derişimlerinin ileum kasılma etkisi

**Çizelge 3.25.** DMSO'nun ve fluralanerin  $10^{-5}$  M inkübasyonunda serotoninin  $3 \times 10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $3 \times 10^{-5}$  M derişimlerinin duodenumda % olarak kasılmaları üzerine etkisi

DUODENUM							
Serotonin (M)	$3 \times 10^{-8}$	$10^{-7}$	$3 \times 10^{-7}$	$10^{-6}$	$3 \times 10^{-6}$	$10^{-5}$	$3 \times 10^{-5}$
Spontan kasılma	28,67±8,20	32,26±8,75 <sup>ab</sup>	30,49±8,68	43,36±9,72 <sup>ab</sup>	42,68±12,37	56,46±15,28	57,79±13,97
DMSO İnk.	29,56±8,56	39,68±8,77 <sup>a</sup>	39,90±9,31	48,90±9,51 <sup>a</sup>	57,94±11,91	67,26±16,54	78,57±19,00
$10^{-5}$ Fluralaner İnk.	22,98±10,52	25,01±10,19 <sup>b</sup>	34,12±12,63	32,75±10,59 <sup>b</sup>	39,38±11,10	49,86±16,23	61,42±17,73

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6.<sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir. Serotonin uygulamasının fluralaner ve DMSO inkübasyonu arasında  $10^{-7}$  M ( $p=0,040$ ),  $10^{-6}$  M derişimlerinde ( $p=0,007$ ) önemlilik vardır.

**Çizelge 3.26.** DMSO'nun ve fluralanerin  $10^{-5}$  M inkübasyonunda serotoninin  $3 \times 10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $3 \times 10^{-5}$  M derişimlerinin jejunuma % olarak kasılmaları üzerine etkisi

JEJUNUM							
Serotonin (M)	$3 \times 10^{-8}$	$10^{-7}$	$3 \times 10^{-7}$	$10^{-6}$	$3 \times 10^{-6}$	$10^{-5}$	$3 \times 10^{-5}$
Spontan kasılma	9,60±2,41	15,35±3,01	18,70±4,12	22,03±3,98	23,32±2,26	26,41±3,88 <sup>a</sup>	34,81±4,90
DMSO İnk.	20,17±5,22	22,01±4,69	23,85±7,11	30,17±7,53	29,07±5,42	44,15±6,07 <sup>b</sup>	53,96±10,53
$10^{-5}$ Fluralaner İnk.	21,16±7,88	18,43±6,63	19,01 6,15	21,79±6,21	20,32±6,48	49,87±16,23 <sup>ab</sup>	29,30±8,30

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6.  $p>0,05$ .

**Çizelge 3.27.** DMSO'nun ve fluralanerin  $10^{-5}$  M inkübasyonunda serotoninin  $3 \times 10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $3 \times 10^{-5}$  M derişimlerinin ileuma % olarak kasılmaları üzerine etkisi

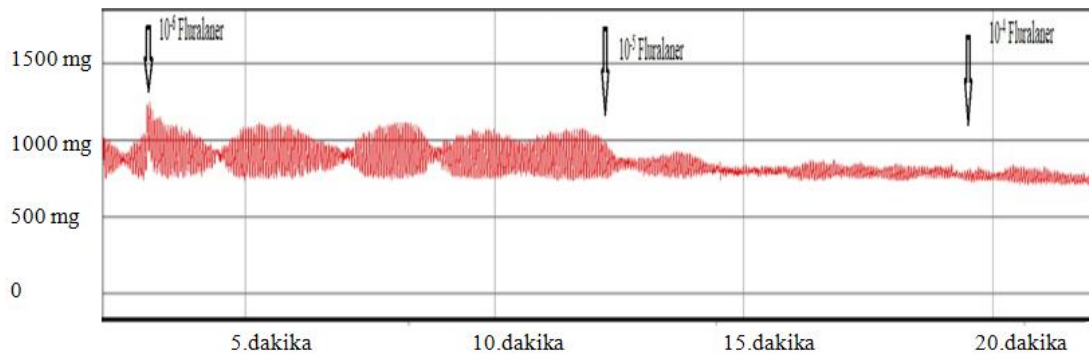
İLEUM							
Serotonin (M)	$3 \times 10^{-8}$	$10^{-7}$	$3 \times 10^{-7}$	$10^{-6}$	$3 \times 10^{-6}$	$10^{-5}$	$3 \times 10^{-5}$
Spontan kasılma	21,78±6,86	21,86±6,84	21,34±6,66	18,58±4,83	22,82±5,03 <sup>ab</sup>	29,87±10,22 <sup>a</sup>	31,19±10,14
DMSO İnk.	14,60±3,55	26,32±8,86	28,38±7,61	27,78±6,69	32,48±7,32 <sup>a</sup>	44,86±7,93 <sup>a</sup>	49,35±7,42
$10^{-5}$ Fluralaner İnk.	18,62±5,88	25,07±7,69	25,70±9,02	25,32±8,05	27,44±8,26 <sup>b</sup>	33,35±9,04 <sup>b</sup>	38,39±11,06

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6.<sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir. Serotonin uygulamasının fluralaner ve DMSO inkübasyonu arasında  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p=0,049$ ),  $10^{-5}$  M derişimlerinde ( $p=0,043$ ) önemlilik vardır.

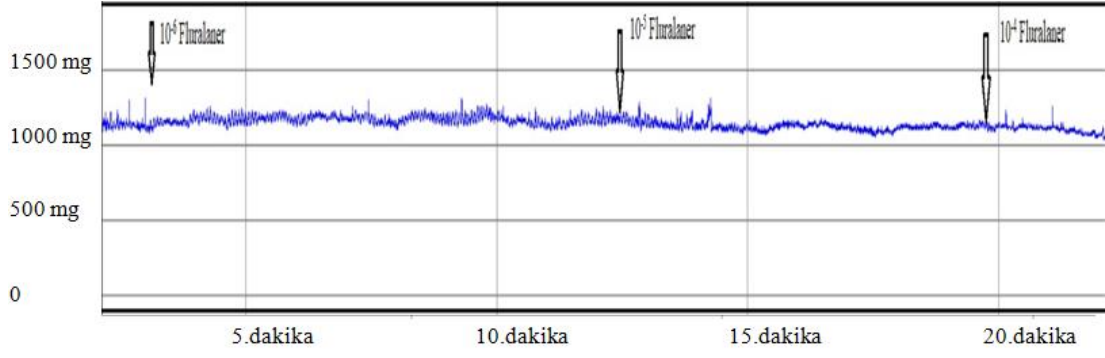
### 3.6. Altıncı Protokol: Fluralanerin Bağırsak Bölümlerinde (Duodenum, Jejunum, İleum) Bikukulin ile Beraber Etkisinin Ölçülmesi

$3 \times 10^{-6}$  M bikukulin ile inkübe edilen dokulardaki DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M uygulamaları duodenumda Şekil 3.20’de, jejunumda Şekil 3.21’de ve ileumda Şekil 3.22’de sunulduğu gibi uygulandı. KCl kasılmasının cevabı 100 kabul edilip elde edilen verilerin ortalama  $\pm$  standart hata (SH)’ları duodenum için Çizelge 3.28.’de, jejunum için Çizelge 3.29.’da ve ileum için Çizelge 3.30.’da sunulmuştur. Yapılan istatistiksel ölçümlerde duodenum ve jejunumda derişimler arasında önemlilik bulunamadı, fakat ileuma uygulanan fluralanerin  $10^{-4}$  M lik derişimi ile hem spontan kasılma hemde %0,5 DMSO uygulaması arasında önemlilik bulundu ( $p=0,016$ ).

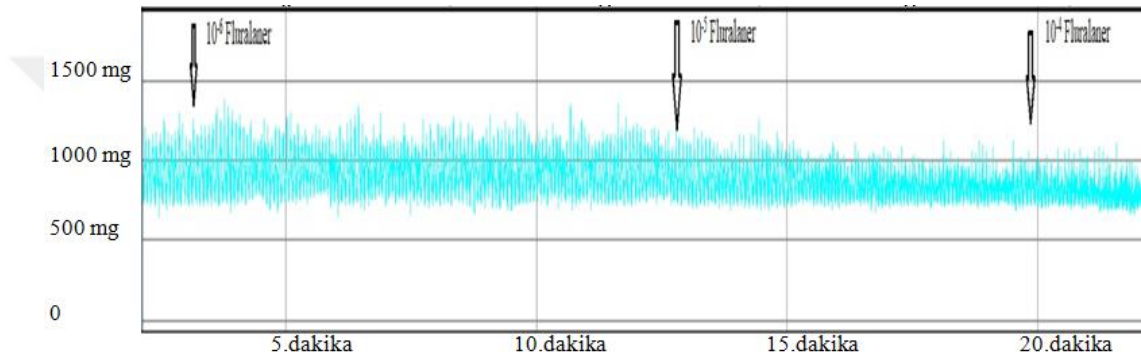
Yapılan diğeri bir deneyde ise fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin bikukulin  $3 \times 10^{-6}$  inkübasyonu ve DMSO  $3 \times 10^{-6}$  inkübasyonundaki farkları araştırılacaktı fakat tüm dokular fluralanerin en yoğun derişimi olan  $10^{-4}$  M derişimine maruz kaldıktan sonra defalarca çözeltileri değıştirilmesine rağmen dolukar hiçbir zaman eski spontan kasılmalarına geri dönmediler bu sebeple deneyde yapılan ölçümlerin sağlıklı sonuç vermeyeceğini düşünülerek bu deneyin hesaplamalarından vazgeçildi.



Şekil 3.20.  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulin inkübasyonundaki fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin duodenum üzerindeki kasılma etkisi



**Şekil 3.21.**  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulin inkübasyonundaki fluralaner'in  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin jejunum üzerindeki kasılma etkisi



**Şekil 3.22.**  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulin inkübasyonundaki fluralaner'in  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin ileum üzerindeki kasılma etkisi

**Çizelge 3.28.** DMSO ve fluralaner'in  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulin inkübasyonu altında duodenum % kasılmaları üzerine etkisi

<b><math>3 \times 10^{-6}</math> bikukulin inkübasyonunda DUODENUM</b>			
<b>SPONTAN KASILMA</b>	<b>İlk 5 dk.</b>	<b>İkinci 5 dk.</b>	<b>Üçüncü 5 dk.</b>
<b>DMSO</b>	44,40± 6,24	41,37± 6,74	44,13± 6,85
	<b>%0,005</b>	<b>%0,05</b>	<b>%0,5</b>
<b>FLURALANER</b>	42,64± 8,61	36,73±6,88	40,99±6,39
	<b><math>10^{-6}</math></b>	<b><math>10^{-5}</math></b>	<b><math>10^{-4}</math></b>
	39,07± 8,34	30,62± 9,19	26,8± 10,2

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6.  $p > 0,05$ .

**Çizelge 3.29.** DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulin inkübasyonu altında jejunum % kasılmaları üzerine etkisi

<b><math>3 \times 10^{-6}</math> bikukulin inkübasyonunda JEJUNUM</b>			
<b>SPONTAN KASILMA</b>	<b>İlk 5 dk.</b>	<b>İkinci 5 dk.</b>	<b>Üçüncü 5 dk.</b>
<b>DMSO</b>	52,5±11,4	46,50± 9,83	51,9± 10,6
	<b>%0,005</b>	<b>%0,05</b>	<b>%0,5</b>
	44,88± 9,26	40,98± 7,90	44,44± 7,55
<b>FLURALANER</b>	<b><math>10^{-6}</math></b>	<b><math>10^{-5}</math></b>	<b><math>10^{-4}</math></b>
	42,44± 9,85	40,8± 12,1	30,0±10,5

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6.  $p > 0,05$ .

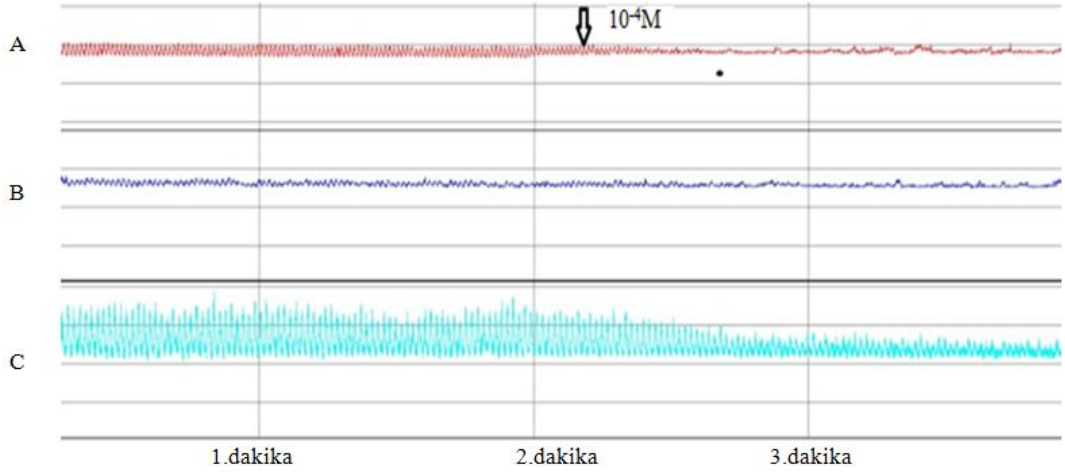
**Çizelge 3.30.** DMSO ve fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M, derişimlerinin  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulin inkübasyonu altında ileum % kasılmaları üzerine etkisi

<b><math>3 \times 10^{-6}</math> bikukulin inkübasyonunda İLEUM</b>			
<b>SPONTAN KASILMA</b>	<b>İlk 5 dk.</b>	<b>İkinci 5 dk.</b>	<b>Üçüncü 5 dk.</b>
<b>DMSO</b>	27,13± 2,39	30,48± 5,63	30,85± 5,83 <sup>a</sup>
	<b>%0,005</b>	<b>%0,05</b>	<b>%0,5</b>
	29,78± 4,12	28,98± 3,62	28,30± 3,36 <sup>a</sup>
<b>FLURALANER</b>	<b><math>10^{-6}</math></b>	<b><math>10^{-5}</math></b>	<b><math>10^{-4}</math></b>
	24,27± 5,86	20,90± 6,51	11,03±5,46 <sup>b</sup>

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6. <sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir. Fluralanerin  $10^{-4}$  M derişiminin hem 3. spontan kasılma hemde %0,5 DMSO uygulaması arasında (iki uygulama için  $p=0,016$ ) önemlilik vardır.

Daha sonra bikukulin deneyinde GABA protokol deneyinde olduğu gibi frekans hesaplamaları yapıldı.

Yapılan  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulin ile inkübe edilmiş deneyde dokuların önce spontan kasılmadaki frekansları, sonra DMSO uygulaması sonrası ve fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M derişimlerini uygulaması sonrası frekanslar 5 dakika/frekans olacak şekilde ölçümü yapılarak karşılaştırıldı. Elde edilen verilerin ortalama ± standart hata (SH)'lar duodenum için Çizelge 3.31.'da, jejunum için Çizelge 3.32.'da ve ileum için Çizelge 3.33.'da sunulmuş olup yapılan istatistik sonuçlarda fluralanerin sadece  $10^{-4}$  M derişiminin Şekil 3.23'de sunulduğu gibi bütün bağırsak bölümlerinde hem spontan kasılmaya göre hemde DMSO inkübasyonundaki kasılmaya göre frekans ölçümlerini düşürdüğü görüldü (tüm dokular için  $p < 0,001$ ).



**Şekil 3.23.** Fluralaner'in  $10^{-4}$ M derişiminin  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulin inkübasyonu altında daduodenum (A), jejunum (B) ve ileum (C) frekansları üzerine etkisi

**Çizelge 3.31.** DMSO ve fluralaner'in  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulin inkübasyonu altında  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M, derişimlerinin duodenumda ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması

<b><math>3 \times 10^{-6}</math> bikukulin inkübasyonunda DUODENUM</b>			
<b>SPONTAN KASILMA</b>	<b>İlk 5 dk.</b>	<b>İkinci 5 dk.</b>	<b>Üçüncü 5 dk.</b>
<b>DMSO</b>	137,33±1,17	138±1,67	135,5±1,41 <sup>a</sup>
	<b>%0,005</b>	<b>%0,05</b>	<b>%0,5</b>
<b>FLURALANER</b>	137,5±1,48	136,33±1,76	136,67±0,98 <sup>a</sup>
	<b><math>10^{-6}</math></b>	<b><math>10^{-5}</math></b>	<b><math>10^{-4}</math></b>
	137±1,13	137,67±1,31	55,83±3,10 <sup>b</sup>

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6.<sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir. Fluralaner'in  $10^{-4}$  M derişiminin hem %0,5 M-DMSO ile hem de 3. spontan kasılma arasında ( $p < 0,001$ ) önemlilik vardır.

**Çizelge 3.32.** DMSO ve fluralaner'in  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulin inkübasyonu altında  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M, derişimlerinin jejunumda ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması

<b><math>3 \times 10^{-6}</math> bikukulin inkübasyonunda JEJUNUM</b>			
<b>SPONTAN KASILMA</b>	<b>İlk 5 dk.</b>	<b>İkinci 5 dk.</b>	<b>Üçüncü 5 dk.</b>
<b>DMSO</b>	134,67±1,76	135,83±1,82	137,83±1,56 <sup>a</sup>
	<b>%0,005</b>	<b>%0,05</b>	<b>%0,5</b>
<b>FLURALANER</b>	133±0,894	136,17±1,33	131,67±1,86 <sup>ab</sup>
	<b><math>10^{-6}</math></b>	<b><math>10^{-5}</math></b>	<b><math>10^{-4}</math></b>
	134,33±2,11	134,33±1,31	77±2,96 <sup>c</sup>

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6.<sup>a,b</sup>Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir. Fluralaner'in  $10^{-4}$  M derişiminin hem %0,5 M-DMSO ile hem de 3. spontan kasılma arasında ( $p < 0,001$ ) önemlilik vardır.



**Çizelge 3.33.** DMSO ve fluralanerin  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulin inkübasyonu altında  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M, derişimlerinin ileumda ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması

3x10 <sup>-6</sup> bikukulin inkübasyonunda İLEUM			
SPONTAN KASILMA	İlk 5 dk.	İkinci 5 dk.	Üçüncü 5 dk.
DMSO	134,83±2,1	134,67±3,0	134±0,258 <sup>a</sup>
	%0,005	%0,05	%0,5
FLURALANER	136±2,24	131,5±2,73	130,17±0,792 <sup>ab</sup>
	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-4</sup>
	133,67±1,89	131,33±2,74	77,83±2,37 <sup>c</sup>

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Kullanılan hayvan sayısı (n): 6.<sup>a,b</sup> Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir. Fluralanerin  $10^{-4}$  M derişiminin hem %0,5 M-DMSO ile hem de 3. spontan kasılma arasında ( $p < 0,001$ ) önemlilik vardır.

Bu protokolde fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M derişiminin bikukulin inkübasyonudaki verileri ile 3. protokolde GABA kullanmaksızın fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M derişiminin verileri bağımsız ikili gruplar olacak şekilde hesaplandı ve karşılaştırıldı.

Bunlardan ilki, fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin uygulandığı dokularda oluşan kasılma ve gevşeme değerleri hesaplanıp karşılaştırıldı. Yapılan bağımsız ikili istatistiki analizlerde hiçbir dokuda önemlilik görülmedi ( $p > 0,05$ ).

Yapılan ikinci testte ise fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin uygulandığı dokularda oluşan frekans sayıları 5 dakika/frekans olacak şekilde sayılarak karşılaştırıldı. Elde edilen verilerin ortalama ± standart hata (SH)'ları Çizelge 3.34.'de sunulmuş olup yapılan bağımsız ikili istatistiki analizlerde ise duodenumda fluralanerin bikukulin inkübasyonu altında  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin ( $10^{-6}$  M  $p=0,003$ ,  $10^{-5}$  M  $p=0,002$ ,  $10^{-4}$  M  $p=0,004$ ), frekansları azalttığı, jejunumda fluralanerin bikukulin inkübasyonu altında  $10^{-6}$  M derişiminin frekansları azalttığı ama  $10^{-4}$  M derişiminin frekans sayılarını artırdığı, ( $10^{-6}$  M  $p=0,001$ ,  $10^{-4}$  M  $p=0,000$ ), ileumda ise fluralanerin bikukulin inkübasyonu altındabütün derişiminin ( $10^{-6}$  M  $p=0,001$ ,  $10^{-5}$  M  $p=0,002$ ,  $10^{-4}$  M  $p=0,001$ ) frekans sayılarını artırdığı görüldü.



**Çizelge 3.34.** Fluralanerin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M derişimlerinin spontan kasılmalara ve  $3 \times 10^{-6}$  M bikukulin ile inkübe edilen dokulardaki duodenum, jejunum ve ileumdaki ortalama 5 dakikadaki frekans sayılarının ortalaması

		<b><math>10^{-6}</math> M fluralaner</b>	<b><math>10^{-5}</math> M fluralaner</b>	<b><math>10^{-4}</math> M fluralaner</b>
<b>Duodenum</b>	Spontan kasılma	167,5±1,7*	165±1,29*	120,83±13,31*
	Bikukulin ink.	143,33±1,05*	140±00*	55,83±3,10*
<b>Jejunum</b>	Spontan kasılma	145,83±0,83*	130,83±3,74	59,33±0,88*
	Bikukulin ink.	130±00*	130±0	75,66±2,15*
<b>İleum</b>	Spontan kasılma	120±00*	116,66±1,66*	62,83±1,92*
	Bikukulin ink.	125±00*	125±00*	77,83±2,37*

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. n: Kullanılan hayvan sayısı \* Aynı dokulardaki aynı sütundaki ikili karşılaştırma önemlilikleri ifade eder. Duodenum için n=12,  $10^{-6}$ M (p=0,003),  $10^{-5}$  M (p=0,002),  $10^{-4}$  M (p=0,004), jejunum için n=12,  $10^{-6}$ M(p=0,001),  $10^{-4}$  M(p<0,001) ve ileum için n=12,  $10^{-6}$ M(p=0,001),  $10^{-5}$  M(p= 0,002),  $10^{-4}$  M(p= 0,001) derişimlerinde önemlilik vardır.

## 4. TARTIŞMA

Canlı için gerekli besinlerin emilip, sindirildiği ve aynı zamanda iç ve dış ortam arasında bir bariyer görevi gördüğü için ince bağırsak vücut sistemlerinin devamlılığı için hayati öneme sahiptir (Mey ve Freund, 2013). Canlıların yaşamı boyunca, ince bağırsak kısımlarında ışık ve gıda olmak üzere dış etkenlerden son derece etkilenirler (Soares, Okada, Ayub ve Gomes, 2009). Gastrointestinal sistemin motilite bozuklukları sistemik hastalığa yol açabildikleri için klinik olarak son derece önemlidir (Ohama, Hori ve Ozaki, 2007).

İnce bağırsak hareketlerinin disfonksiyonu, kronik karın ağrısı, hazımsızlık, irritabl bağırsak sendromu, kronik intestinal yalancı obstrüksiyon, florada bakteri sayısında artışa veya ileus gibi çeşitli klinik semptomlara veya patolojilere neden olabilir. Bu nedenle, ince bağırsak motilitesi büyük önem taşımaktadır (Wu vd., 2020).

İnce bağırsak motilitesi çalışmaları, gastroparezide (midenin tam işlevini yerine getirememesi durumu) ince bağırsak kasılmaları ile semptomların şiddeti arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (Maurer, 2015). Tanaka ve Sarr (1988), köpeklerde duodenektomi oluşturduğu bir modelde, duodenumun gastrik motor kompleksinin başlatılmasında ve muhtemelen motilin salınımı ile gastrointestinal motor aktivitenin koordinasyonunda önemli bir rol oynadığını belirtmişlerdir. Duodenektomi mide motor aktivitesinin tamamen düşürmüştür. Sunulan tez çalışmada fluralaner motiliteyi azaltması gastrointestinal sistemin bu ilaçtan etkilenebileceğini ortaya koymaktadır. Mide-bağırsak hareketlerinde azalma kedi ve köpeklerde aspirasyon pnömonisi, reflüks ösafagit, bakterilerin aşırı üremesi ve buna bağlı bağırsak mukozasında lokalize olması, ve besinlerin geçişinin gecikmesi gibi etkiler oluşturmaktadır (Whitehead vd., 2016).

Fluralaner genel olarak iyi bir güvenlik profiline sahip ve nörolojik yan etkiler sadece çok nadir durumlarda meydana gelen köpeklerde yapılan klinik çalışmalarda iyi tolere edilmiş bir ilaç olarak kabul edilmektedir. Ancak ilaçla ilgili olumsuz raporlarda bulunmaktadır (Gaens vd., 2019). Şöyle ki 2018 yılında Amerika Birleşik

Devletleri İlaç ve Gıda Dairesi (FDA, 2018) tarafından yayınlanan raporda fluralanerin yan etkileri kusma, iştah azalması, ishal, uyuşukluk, polidipsi, şişkinlik, epilepsi nöbetleri olarak genişletilmiştir. Ocak 2013- Ocak 2017 yılları arasında fluralanerin köpeklerde yan etkileri FDA tarafından %2,5 ölüm, %3,6 titreme ve sinirsel ataksi, %43,6 kusma, %9,1 ishal, %11,7 iştahsızlık olarak yayınlanmıştır. Aynı dönemlerde Avrupa İlaç Dairesi (EMA) ise %23,56 ölüm, %6,3 titreme ve sinirsel ataksi, %29,37 kusma, %19,86 ishal, %22,29 iştahsızlık olarak açıklanmıştır (Palmieri vd, 2020). Sunulan tez çalışmasının sonuçlarında fluralanerin özellikle  $10^{-4}$  M derişimde spontan kasılmaların frekanslarını azalttığı görülmekle birlikte sonuçların *in vivo* çalışmalarla ve köpek gibi hedef hayvanlarda yapılacak çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Fluralaner, fipronil, ivermektin gibi yapısal olarak “Cys-loop” reseptörleri sınıfına ait olan eklem bacaklı glutamat kapılı klorür kanallarını (GluCl<sub>s</sub>) ve GABA-kapılı klorür kanallarını (GABA<sub>Cl</sub>s) inhibe eder fakat fluralaner omurgalı reseptörlerine bağlanmada daha düşük ilgi duyduğu belirtilmiştir (Gaens vd, 2019). Bu çalışmada fluralaner  $10^{-4}$  M derişimde duodenum, jejunum ve ileum bağırsak kasılmalarını azaltmıştır. Özellikle oluşan frekanslar kaybolmuştur. Bu da sadece eklem bacaklılarda değil başka türlerde de fluralanerin etkisi olabileceğini göstermektedir. Başka türlerde yapılacak ya da farklı agonistler ve antagonistlerle yapılacak çalışmalarla bu durum daha ayrıntılı şekilde ortaya konulabilecektir.

Gastro intestinal sistemde GABA reseptörleri üzerine yapılan bir araştırmada kedi ileumunda GABA<sub>A</sub> ve GABA<sub>B</sub> reseptörler bölgeye bağlı kasılma ve gevşetici etkilere sebep olurken köpeklerde tüm ince bağırsak boyunca GABA<sub>A</sub> ve GABA<sub>B</sub> reseptörler kolinerjik sinyal üzerinde uyarıcı ve gevşetici etkiye sebep olurlar (Auteri vd.,2015). Sıçan duodenumunda M<sub>1</sub> muskarinik reseptörün aktivasyonu, GABA'yı ve muhtemelen ATP'yi miyenterik nöronlardan salarak gevşemeyi indükler (Micheletti, Schiavone ve Giachetti, 1988).

Gasel, Wolf, Noack, Williams ve İlg, (2014) WS-1 hücreleri kullanarak yaptıkları çalışmada fluralanerin sıçan WS-1 hücrelerinde eksprese edilen GABA-Cl üzerine inhibe edici bir etkisi olmadığını göstermişlerdir. Sunulan tez çalışmasında fluralanerin GABA ve bir GABA antagonisti olan bikukulin ile birlikte yapılan deneylerde fluralanerin bağırsak kasılmalarının frekanslarını azalttığı görülmüştür. Bu farklılığın hücre hattı ile bağırsak doku farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Birçok mekanizma bağırsak düz kasların gevşeme cevabını etkilemektedir. Gevşeme cevabının sebebi antikolinergik, antihistaminergik maddeler ya da adrenergik, purinerjik, GABAerjik etki gibi baskıcı agonistlerin etkisi olabilir (Hejazian, Dashti, Mahdavi, Qureshi, 2019). Enterik nöronlar, düz kas üzerindeki nörotransmitter, mukoza normal bağırsak fonksiyonunda önemli bir rol oynar (Davis vd., 1998).

İnsan ve kemirgenlerin bağırsağının mukozası, mide antrumundan distal kolona kadar GABA içerir ve GABA'nın bağırsak duvarındaki bu nöral ve endokrin hücre lokalizasyonu, 5-hidroksitriptamin (5-HT, serotonin), enkefalin, vazoaaktif bağırsak peptidi (VIP), somatostatin ve ‘‘P’’ maddesi gibi diğer enterik transmitterlerin bir özelliğidir (Krantis, 2000).

Sıçan duodenumunda GABA<sub>A</sub> reseptör, pürinlerin neden olduğu gevşeme, nitrik oksit (NO) kaynaklı gevşeme ve vazoaaktif peptitinin modülasyonu, jejunumda kolinerjik kasılmanın modülasyonu ve non-adrenergik, non kolinerjik gevşemeyi, ileumda ise non-adrenergik, hem non-kolinerjik hemde kolinerjik nörotransmisyon üzerinde uyarıcı etkiyi sağlamaktadır. GABA<sub>B</sub> reseptör ise sıçan jejunumu ve ileumunda elektirikle uyarılmış kolinerjik kasılmalarda azalma sağlamaktadır (Auteri vd., 2015). Yapılan bir çalışmada, GABA sıçan duodenumunda hızlı ve geçici gevşeme sağladığı saptanmıştır. GABA kaynaklı gevşeme tetrodotoksin tarafından neredeyse tamamen inhibe edildiği, ancak atropinden etkilenmediği saptanmıştır (Maggi, Manzini ve Meli, 1984). Yine başka bir araştırmada duodenum, jejunum ve ileumdan uzunlamasına kas şeritlerini, GABA ve bir GABA<sub>A</sub> reseptörü agonisti olan muskimolun, duodenum ve jejunumu önemli ölçüde gevşettiğini gösterilmiştir, ancak bu kas şeritlerinde baklofenin neden olduğu gevşeme ihmal edilebilir düzeyde olduğu görülmüştür. GABA ve muskimolun çeşitli bölgelerdeki etkinliği duodenumda jejunuma ve ileuma göre fazla olarak görülmüş ve rekabetçi bir GABA<sub>A</sub> reseptörü antagonisti olan bikukulin ve rekabetçi olmayan bir GABA<sub>A</sub> reseptörü antagonisti olan pikrotoksin ile antagonize edilmiştir. GABA ve muskimol tarafından indüklenen duodenal gevşeme, heksametonyumdan etkilenmediği, ancak tetrodotoksin tarafından önlendiği görülmüştür. Bu sonuçlar, GABA'nın düz kasın kontraktilesini belirgin bölgesel etkinlik farkıyla inhibe ettiğini ve inhibitör etki bölgesinin, postgangliyonik eksitator sinirlerin presinaptik membranında bulunan GABA<sub>A</sub> reseptörü olduğunu göstermektedir (Huh, Kwon, Ha, Lee ve Kim, 1991).

GABA ve GAD 65 (glutamat dekarboksilazın iki isoformu) sıçanların jejunal epitelinde olgunlaşmaya neden olur ve fonksiyonel bölgede eksprese edilmektedir. Bu da bize GABA'nın epitel hücrelerinin farklılaşmasının ve olgunlaşmasının düzenlenmesinde rol oynadığını düşündürür (Wang, Watanabe, Zhu ve Maemura, 2004). Enterik motor nöronların GABA tarafından hedeflenmesi, bağırsak motilitesinin refleks kontrolünde önemli bir paya sahiptir (Krantis, Mattar ve Glasgow, 1998). Sunulan tez çalışmasında GABA ile fluralanerin etkisini daha iyi değerlendirmek için GABA'nın düşük derişimi ile inkübe edilerek çalışma yapılmıştır. GABA inkübasyonu + fluralaner derişimlerinin inkübasyonu ve fluralanerin tek başına derişimlerinin frekans değerleri karşılaştırıldığında duodenumda, jejunumda ve ileumda her derişimde ( $10^{-6}$  M,  $10^{-5}$  M,  $10^{-4}$  M), derişimde GABA inkübasyonunda istatistiksel olarak daha düşük frekans değerleri elde edilmiştir. Kasılma cevaplarında ince bağırsak dokularının hiçbirinde farklılık bulunmamıştır.

Bikukulin, GABA<sub>A</sub> reseptörleri için seçici bir antagonisttir. GABA<sub>B</sub>, GABA<sub>C</sub>, glisin ve 5-HT<sub>3</sub> reseptörleri üzerinde çok az etkiye sahipken, etkisi büyük ölçüde GABA<sub>A</sub> alt birim bileşiminden bağımsızdır. GABA<sub>A</sub> reseptörleri için seçicilik, bikukulini güçlü bir deneysel araç haline getirir, ancak tüm GABA<sub>A</sub> reseptör alt tiplerine bağlanmanın seçici doğası nedeniyle herhangi bir terapötik potansiyele sahip değildir (Hinton ve Johnston, 2018). Bikukulin ile yapılan protokoldeki deneyler incelendiğinde DMSO (kontrol) ile karşılaştırıldığında fluralanerin  $10^{-4}$  M derişiminin bağırsağın tüm bölümlerinde kasılma ve frekansları düşürdüğü görülmüştür. Bikukulin ( $3 \times 10^{-6}$  M) inkübasyonu + fluralaner derişimleri, tek başına fluralaner derişimleri ile karşılaştırıldığında duodenumda kasılmalar arasında önemli bir fark bulunmazken, frekans değerleri incelendiğinde bikukulin inkübasyonunun bütün derişimlerde fluralaner frekansları azalttığı saptanmıştır ( $10^{-6}$  M,  $10^{-5}$  M,  $10^{-4}$  M). jejunumda fluralanerin  $10^{-6}$  M derişiminde azalma, fluralanerin  $10^{-4}$  M derişiminde daha fazla frekans değerleri saptanmıştır. İleum frekans değerleri karşılaştırıldığında ise bikukulin inkübasyonunun fluralanerin oluşturduğu frekans değerlerinin tek başına fluralaner uygulamasındaki frekans değerlerine göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır ( $10^{-6}$  M,  $10^{-5}$  M,  $10^{-4}$  M). Bu durum ince bağırsak dokularında reseptör cevaplarının farklı olabileceğini işaret etmektedir. Nitekim Tobin, Giglio ve Lundgren, (2009), reseptör dağılımı dokularda değişiklik gösterdiğini örneğin bağırsağın iç parankimal dokusunda genellikle M<sub>1</sub> ve M<sub>3</sub> reseptörlerinin, bağırsak düz

kas dokusunda ise M<sub>2</sub> ve M<sub>3</sub> alt tiplerinden oluştuğunu belirtmişlerdir. Meerveld ve Barron, (1998) sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada tek başına GABA reseptörü antagonisti bikukülinin dorsal vagal komplekse mikroenjeksiyonunun, spontan ince bağırsak ve kolonik motiliteyi azalttığını göstermişlerdir. Maggi, Manzini, ve Meli, (1986) araştırmalarında damar içi 0,1-3 mg/kg GABA uygulanan sıçanlarda duodenumda geçici gevşeme cevabı almışlardır. GABA'nın etkisi, bikukülin tarafından antagonize edilen *in vivo* çalışmada GABA<sub>A</sub> reseptörlerinin bu tür bir yanıtta yer aldığı öne sürmüştür. Demuro, Palma, Eusebi, ve Miledi (2001) yabancı (nikotinik asetilkolin reseptörlerini (nAk-R'leri) eksprese eden *Xenopus* oositlerinde bikukülinin heteromerik sıçan ve fare nAk-R'leri veya homomerik insan nAk-R'leri tarafından üretilen Ak akımlarını hızlı ve geri dönüşümlü olarak inhibe ettiğini saptamışlardır. Araştırmacılar *Xenopus* oositlerinin doğal nAk-R'lere sahip olmadığını bu nedenle bu etkinin açıkça bikukülinin heterolog reseptörler üzerindeki doğrudan etkisinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Görüldüğü üzere bikukülinin selektif etkisinin yanı sıra farklı etkileri de görülebilmektedir. Sunulan tez çalışmasında bikukülinin duodenum ve ileumda oluşan frekanslar üzerindeki farklı cevaplar hayvan türü ve doku farklılıklarına bağlı olabilir (Demuro vd., 2001).

Bağırsakta serotonin nörotransmitter ve parakrin sinyal molekülü olarak çalışır. Mukozadaki enterokromaffin hücreler vücuttaki 5-HT'nin %90'ını içermesine rağmen, artık 5-HT'nin gastrointestinal sistemdeki içsel nöronlarda da bulunduğu kabul edilmektedir (De Ponti, 2004). Kimusun gastrointestinal yol boyunca koordineli hareketi, 5-HT aracılı düz kas tonusu, peristaltizm, mukozal salgı ve iç enterik ve dış afferent nöronlar, Cajal'ın interstisyel hücreleri, düz kas ile bir etkileşim yoluyla visseral algıya bağlıdır (Beattie ve Smith, 2008). Sıçanlarda, izole mide fundusu doğumda serotonine karşı aşırı duyarlıdır; duyarlılık 29 güne kadar kademeli olarak artar (Klinger, 1983). Serotonin sıçan ileumu üzerine de doza bağlı kasılmalar yapmaktadır. Duodenumda 5-HT çoğunlukla indolalkilaminler ve gut motilite kas reseptörleri üzerinde etki gösterirken, ileumda nöronal reseptörlerin yanı sıra kas yoluyla da etki eder. Serotonin, miyenterik plexusun nöronlarının yanı sıra kaslarda lokalize olan özelleşmiş 5-HT reseptörlerine etki ederek, bağırsak kaslarının kasılmasında görev yapar (Bubenik, 1986). Sunulan tez çalışmasında serotonin tek başına bağırsak düz kaslarında az kasılma oluşturmuştur, 10<sup>-5</sup> M fluralaner inkübasyonunda 10<sup>-7</sup> M, 10<sup>-6</sup> M serotonin derişimin duodenumda kasılmaları azalttığı,

ileumda ise  $10^{-5}$  M serotonin derişimin kasılmaları azalttığı saptanmıştır. Bu sebeple fluralanerın sıçan ince bağırsağında serotonerjik mekanizmayı etkileyebileceği öngörülmüştür.

Sıçan izole bağırsağı, sıçan 2 haftalıkkenkolinomimetiklere duyarlılık gösterir. Yetişkin sıçanlardaki etkisinin aksine, nikotin yenidoğan sıçanlarda, özellikle küçük konsantrasyonlarda uygulandığında bağırsakta gevşemeye neden olur. Atropin, karbokolün etkisini yetişkin farelerin bağırsaklarında yaptığından daha etkili bir şekilde antagonize eder(Klinger,1983). Asetilkolin bağırsaktaki en önemli transmitter maddedir. Bağırsak kasları, epiteli, pariyetal hücreler bazı bağırsak endokrin hücreleri, sinir sinapslarında birincil uyarıcı madde olarak bilinmektedir (McConalogue ve Furness, 1994). Sindirim sisteminde hemen hemen her fonksiyon muskarinik reseptör etkilerini içerir. Ancak, reseptör dağılımı dokularda değişiklik gösterir. Bağırsağın iç parankimal dokusu genellikle  $M_1$  ve  $M_3$  reseptörlerinin bir karışımından, bağırsak düz kas dokusunda  $M_2$  ve  $M_3$  alt tiplerinden, kan damarlarında  $M_1$ ,  $M_3$ ,  $M_4$  ve  $M_5$ 'ten ve nöronal hücrelerde  $M_1$  ve  $M_4$  alt tiplerinden oluşur. NO üretimi, inflamasyon ve proliferasyon üzerindeki etkileri muskarinik  $M_1$ ,  $M_3$ ve  $M_5$  reseptörlerini içerebilir (Tobin vd., 2009). Stadelmann, Walgenbach-Telford, Telford ve Koch, (1998) sıçan ince bağırsaklarında en sık rastlanan muskarinik reseptör tipinin  $M_1$  olduğunu  $M_3$  ve  $M_2$  daha az olduğunu ilk kez ortaya koyan araştırmacılarıdır. Sunulan tez çalışmasında Ak kasılmaları fluralaner inkübasyonu altında azalmıştır. Szabo, Varro ve Vilagi (2009), Sıçan izole ileumu üzerine dünyada yaygın olarak kullanılan bir insektisit olan ve GABA ile düzenlenen klorür kanallarının bloke edilmesi yoluyla böceklerin merkezi sinir sisteminin güçlü bir şekilde bozan fibronilin etkisini araştırmışlar, Ak kaynaklı kontraksiyonun tonisitesi fipronil tarafından azaldığını ve ayrıca kontraksiyon amplitüdünü kontrol segmentlerine göre önemli şekilde azalttığını saptamışlardır. Bu sonuçlar, fipronilin muskarinik Ak reseptörlerinin aracılık ettiği yanıtları etkileyebileceğini gösterdiğini belirtmişlerdir. Sunulan tez çalışmasında GABA inhibitörü olan fluralaner ile elde edilen Ak cevaplarındaki azalma bulguları Szabo vd., (2009) çalışması ile uyum içindedir. Sunulan çalışmada da fluralanerın muskarinik Ak reseptörlerinin aracılık ettiği yanıtları etkileyebileceği görülmüştür.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan tez çalışmasının sonuçları fluralanerin sıçan izole duodenum, jejunum ve ileumu üzerinde özellikle  $10^{-4}$  M derişimde etkisi olduğunu göstermiştir. Bağırsak motilitesinin midenin işlevselliği, bağırsaktaki mikrobiyota faaliyetlerini etkilemesi, besin geçişinin yavaşlaması gibi faaliyetleri değiştirebileceği değerlendirildiğinde fluralanerin kullanılırken bu durum dikkate alınmalıdır. Birçok mekanizma bağırsak düz kasların gevşeme cevabını etkilemektedir. Bağırsaklarda gevşeme cevapları antikolinergik, antihistaminergik maddeler ya da adrenergik, purinerjik, GABAergik etki gibi baskıcı agonistlerin etkisi altında gerçekleşebilir. Daha destekleyici sonuçlar için *in vivo* deneysel modeller ve köpek gibi hedef hayvanlarda yapılacak çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Fluralanerin özellikle omurgalı reseptörlerine bağlanmada daha düşük ilgi duyduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada fluralaner  $10^{-4}$  M derişimde duodenum, jejunum ve ileum bağırsak kasılmalarını azaltmıştır. Özellikle oluşan frekanslar kaybolmuştur. Bu da sadece eklem bacaklılarda değil başka türlerde de fluralanerin etkisi olabileceğini göstermektedir. Başka türlerde yapılacak ya da farklı agonistler ve antagonistlerle yapılacak çalışmalarla bu durum daha ayrıntılı şekilde ortaya konulabilecektir.

Fluralaner ayrıca Ak cevaplarını da azaltmıştır. Bu cevaplar fluralanerin Ak reseptörlerinin aracılık ettiği yanıtları etkileyebileceğini gösterebilir. Sıçan ince bağırsaklarında en sık rastlanan reseptör tipi muskarinik reseptörlerdir. Başka karbamilkolin ve betanekol gibi kolinerjik agonistlerle birlikte çalışılması mekanizmanın açıklanmasında yardımcı olabilir. GABA ve bikukulin ile beraber kullanıldığında fluralanerin oluşturduğu kasılmaların özellikle frekansları değişkenlik göstermiştir. Bu da GABAergik mekanizmayla ilişkiyi işaret etmektedir.

Sonuç olarak fluralanerin kullanılan derişime bağlı olarak sıçan izole duodenum, jejunum ve ileumu etkilediği ortaya konulmuştur.



## KAYNAKLAR

- Allen, K., Little, S., Petersen, M., Gruntmeir, J., Barrett, A., Herrin, B., Starkey, L., Sun, F., Guerino, F. (2020). Evaluation of oral fluralaner (Bravecto®) for efficacy against nymphs of *Amblyomma americanum* and *Rhipicephalus sanguineus* (sensu lato). *Parasites & Vectors*, 13(1), 1-8.
- Arıkan, B.,(2022). P,P'-Ddt Ve Metabolitleriyle Kirlenmiş Bir Saha İçin Ekolojik Risk Değerlendirilmesi, YÖKTEZ, <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp>, Erişim tarihi: 09.12.2022.
- Asahi, M., Kobayashi, M., Matsui, H., & Nakahira, K. (2015). Differential mechanisms of action of the novel  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor antagonist ectoparasiticide fluralaner (A1443) and fipronil. *Pest Management Science*, 71(1), 91-95.
- Auteri, M., Zizzo, M. G., & Serio, R. (2015). GABA and GABA receptors in the gastrointestinal tract: from motility to inflammation. *Pharmacological Research*, 93, 11-21.
- Beattie, D.T., ve Smith, J.A.M. (2008). Serotonin pharmacology in the gastrointestinal tract: a review. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 377(3), 181-203.
- Becskei, C., De Bock, F., Illambas, J., Mahabir, S. P., Farkas, R., & Six, R. H. (2016). Efficacy and safety of a novel oral isoxazoline, sarolaner (Simparica™) in the treatment of naturally occurring flea and tick infestations in dogs presented as veterinary patients in Europe. *Veterinary Parasitology*, 222, 49-55.
- Beugnet, F., ve Franc, M. (2012). Insecticide and acaricide molecules and/or combinations to prevent pet infestation by ectoparasites. *Trends in Parasitology*, 28(7), 267-279.
- Bosco, A., Leone, F., Vascone, R., Pennacchio, S., Ciuca, L., Cringolii, G., Rinaldi, L.(2019).Efficacy of fluralaner spot-on solution for the treatment of *Ctenocephalides felis* and *Otodectes cynotis* mixed infestation in naturally infested cats. *BMC VetRes*. 16;15(1):28. doi: 10.1186/s12917-019-1775-2.
- Bölükbaşı, F.(989). Fizyoloji ders kitabı (vücut ısı ve sindirim), Ankara üniversitesi veteriner fakültesi yayınları (413), Cilt 1, syf:233
- Bubenik, G. A. (1986). The effect of serotonin, N-acetylserotonin, and melatonin on spontaneous contractions of isolated rat intestine. *Journal of Pineal Research*, 3(1), 41-54.
- Burgess, E. R., Geden, C. J., Lohmeyer, K. H., King, B. H., Machtinger, E. T., ve Scott, J. G. (2020). Toxicity of fluralaner, a companion animal insecticide, relative to industry-leading agricultural insecticides against resistant and susceptible strains of filth flies. *Scientific Reports*, 10(1), 1-8.

- Cherniack, E. P., ve Cherniack, A. R. (2014). The benefit of pets and animal-assisted therapy to the health of older individuals. *Current Gerontology and Geriatrics Research*, 2014, 623203
- Davis, K. A., Masella, J., ve Blennerhassett, M. G. (1998). Acetylcholine metabolism in the inflamed rat intestine. *Experimental Neurology*, 152(2), 251-258.
- Demuro, A., Palma, E., Eusebi, F., ve Miledi, R. (2001). Inhibition of nicotinic acetylcholine receptors by bicuculline. *Neuropharmacology*, 41(7), 854-861.
- DeSesso, J. M., ve Jacobson, C. F. (2001). Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. *Food and Chemical Toxicology*, 39(3), 209-228.
- De Ponti, F. (2004). Pharmacology of serotonin: what a clinician should know. *Gut*, 53(10), 1520-1535
- Dik, B.,(2003).Veteriner Entemoloji ders kitabı,S.Ü. Basimevi,s.:1,Konya.
- EMA (2017) European Medicine Agency, Bravecto Summary of Product Characteristics. Alıntılama: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR - Product Information/veterinary/002526/WC500164067.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/veterinary/002526/WC500164067.pdf), Alıntılama Tarihi: 6.05.2019
- Fourie, J. J., Liebenberg, J. E., Horak, I. G., Taenzler, J., Heckerroth, A. R., & Frénais, R. (2015). Efficacy of orally administered fluralaner (Bravecto™) or topically applied imidacloprid/moxidectin (Advocate®) against generalized demodicosis in dogs. *Parasites & Vectors*, 8(1), 1-7.
- Furlan, L., ve Kreuzweiser, D. (2015). Alternatives to neonicotinoid insecticides for pest control: case studies in agriculture and forestry. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 135-147.
- Gaens, D., Rummel, C., Schmidt, M., Hamann, M., ve Geyer, J.(2019). Suspected neurological toxicity after oral application of fluralaner (Bravecto®) in a Kooikerhondje dog, *BMC Veterinary Research*, 15:283 <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2016-4>.
- Gassel, M., Wolf, C., Noack, S., Williams, H., ve Ilg, T. (2014). The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: selective inhibition of arthropod  $\gamma$ -aminobutyric acid- and L-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 45, 111-124.
- Gomez, S. A., Lucientes, J., Castillo, J. A., Peris, M. P., Delacour, S., Ortega, P., ... & Picado, A. (2018). A randomized, blinded, controlled trial to assess sand fly mortality of fluralaner administered orally in dogs. *Parasites & Vectors*, 11(1), 1-6.
- González-Gutiérrez, J. P., Pessoa-Mahana, H. A., Iturriaga-Vásquez, P. E., Reyes-Parada, M. I., Guerra-Díaz, N. E., Hodar-Salazar, M., Viscarra, F., et al. (2019). Synthesis of Novel Nicotinic Ligands with Multimodal Action: Targeting Acetylcholine  $\alpha 4\beta 2$ , Dopamine and Serotonin Transporters. *Molecules*, 24(20), 3808. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24203808>
- Guyton, A. (1986).Textbook of Medical Physiology 7. Edition, Nobel Tıp Kitap evi İstanbul, s.: 1085.

- Headey, B., Na, F., Zheng, R.(2008). Pet Dogs Benefit Owners' Health: A 'Natural Experiment' in China, *Soc Indic Res.* 87:481–493 , DOI10.1007/s11205-007-9142-2.
- Hejazian-Y, S. H., Dashti-R, M. H., Mahdavi, S. M., ve Qureshi, M. A. (2009). The effect of *Carum Copticum* extract on acetylcholine induced contraction in isolated rat's ileum. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 2(1), 75-78.
- Hinton, T.ve Johnston, G. A. (2018). Antagonists of ionotropic receptors for the inhibitory neurotransmitter GABA: therapeutic indications. *GABA And Glutamate: New Developments In Neurotransmission Research*.
- Hopla, C. E., Durden, L. A., & Keirans, J. E. (1994). Ectoparasites and classification. *Revue scientifique et technique-Office international des epizooties*, 13(4), 985-1034.
- Huh, J. Y., Kwon, O. C., Ha, J. H., Lee, K. Y., ve Kim, W. J. (1991). Effect of GABA on the Contractility of Small Intestine Isolated from Rat. *Journal of Yeungnam Medical Science*, 8(2), 95-105.
- Iannino, F., Sulli, N., Maitino, A., Pascucci, I., Pampiglione, G., Salucci1,S., (2017). Fleas of dog and cat: species, biology and flea-borne diseases, *Veterinaria Italiana*, 53 (4), 277-288.
- İça, A., İnci, A., Yıldırım, A ve Düzlü, Ö. (2008). Memelilerin (Yabani) parazitler hastalıkları-II: Artropod enfestasyonları. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 5(2), 93-106.
- İnci, A ve Düzlü, Ö. (2009). Vektörler ve Vektörlerle Bulaşan Hastalıklar, *Erciyes Üniv Vet Fak. Derg.* 6(1) 53-63.
- Jessen, K. R., Hills, J. M., ve Saffrey, M. J. (1986). Immunohistochemical demonstration of GABAergic neurons in the enteric nervous system. *Journal of Neuroscience*, 6(6), 1628-1634.
- Jiang, S., Tsikolia, M., Bernier, U., Bloomquist, J. (2017). Mosquitocidal activity and mode of action of the isoxazoline fluralaner. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 6;14(2):154. doi: 10.3390/ijerph14020154.
- Kaputlu, I., Ozdem, S., Sadan, G., Gökalp, O. (1999). Effects of diabetes on non-adrenergic, non-cholinergic relaxation induced by GABA and electrical stimulation in the rat isolated duodenum. *Clin. Exp. Pharmacol Physiol.* 26(9):724-8. doi: 10.1046/j.1440-1681.1999.03118.x.
- Karatay, D. (2007). *Türk Çoban Köpeği Kangal* (4. Baskı). s.: 24, 84, 215, İlya İzmir Yayınevi, İzmir
- Kaya, S., Pirinçci, İ. ve Bilgili, A. (2014). Pestisidler, *Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji*, s:301-392, Medisan yayın evi, Ankara.
- Kilp, S., Ramirez, D., Allan, M. J., & Roepke, R. K. (2016). Comparative pharmacokinetics of fluralaner in dogs and cats following single topical or intravenous administration. *Parasites & Vectors*, 9(1), 1-7.
- Kilp, S., Ramirez, D., Allan, M. J., Roepke, R. K., & Nuernberger, M. C. (2014). Pharmacokinetics of fluralaner in dogs following a single oral or intravenous administration. *Parasites & Vectors*, 7(1), 1-5.
- Klapproth, H., Reinheimer, T., Metzen, J., Münch, M., Bittinger, F., Kirkpatrick, C.J., Höhle, K.D., Schemann, M., Racke, K., Wessler, I. (1997). Non-neuronal

acetylcholine, a signalling molecule synthesized by surface cells of rat and man. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 355:515–523.

Klinger, W. (1983). Pharmacology of the developing digestive system. *Pharmacology & Therapeutics*, 22(1), 41-51.

Krantis, A. (2000). GABA in the mammalian enteric nervous system. *Physiology*, 15(6), 284-290.

Krantis, A., Mattar, K., Glasgow, I. (1998). Rat gastroduodenal motility in vivo: interaction of GABA and VIP in control of spontaneous relaxations. *The American Journal Physiology*. 275(5):G897-903. doi: 10.1152/ajpgi.1998.275.5.G897.

Liu, Z., Khan, M. M., Fajar, A., Chen, S., Guo, M., Chen, Y., Yang, C., Wu, J., Qiu, B., Zhou, X., ve Pan, H. (2021). Toxicity of fluralaner against vegetable pests and its sublethal impact on a biocontrol predatory ladybeetle. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 225, 112743.

Maggi, C. A., Manzini, S., ve Meli, A. (1984). Evidence that GABA<sub>A</sub> receptors mediate relaxation of rat duodenum by activating intramural nonadrenergic-noncholinergic neurones. *Journal of autonomic pharmacology*, 4(2), 77-85.

Maggi, C. A., Manzini, S., ve Meli, A. (1986). GABA A receptor mediated neurogenic inhibition of motility in the small intestine of urethane-anaesthetized rats. *General Pharmacology*, 17(2), 167-171.

Mathison, B. A., & Pritt, B. S. (2014). Laboratory identification of arthropod ectoparasites. *Clinical microbiology reviews*, 27(1), 48-67.

Maurer, A. H. (2016). Gastrointestinal motility, part 2: small-bowel and colon transit. *Journal of Nuclear Medicine Technology*, 44(1), 12-18.

McConalogue, K., ve Furness, J. B. (1994). 3 Gastrointestinal neurotransmitters. *Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism*, 8(1), 51-76.

McNair, C. M. (2015). Ectoparasites of medical and veterinary importance: drug resistance and the need for alternative control methods. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 67(3), 351-363.

Meadows, C., Guerino, F., ve Sun, F. (2017). A randomized, blinded, controlled USA field study to assess the use of fluralaner topical solution in controlling feline flea infestations. *Parasites & Vectors*, 10(1), 1-9.

Meerveld, B.G. ve Barron, K. W. (1998). Tonic GABA receptor-mediated neurotransmission in the dorsal vagal A complex regulates intestinal motility in rats, *European Journal of Pharmacology*, 346(2-3), 197-202. doi: 10.1016/s0014-2999(98)00071-5.

Micheletti, R., Schiavone, A., ve Giachetti, A. (1988). Muscarinic M1 receptors stimulate a nonadrenergic noncholinergic inhibitory pathway in the isolated rat duodenum. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 244(2), 680-684.

Nakata, Y., Fuse, T., Yamato, K., Asahi, M., Nakahira, K., Ozoe, F., Ozoe, Y. (2017). A single amino acid substitution in the third transmembrane region has opposite impacts on the selectivity of the parasiticides fluralaner and ivermectin for ligand-gated chloride channels. *Molecular Pharmacology*, 92 (5) 546-555.

- Nowak, L.M., Young, A.B., Macdonald, R.L. (1982). GABA and bicuculline actions on mouse spinal cord and cortical neurons in cell culture, *Brain Research*, 244 155-164. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(82\)90913-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(82)90913-1).
- Noyan, A. (2004). Yaşamda ve hekimlikte fizyoloji, s.:889-890, Meteksan Yayınevi a.ş., Ankara
- Ohama, T., Hori, M., & Ozaki, H. (2007). Mechanism of abnormal intestinal motility in inflammatory bowel disease: how smooth muscle contraction is reduced?. *Journal of Smooth Muscle Research*, 43(2), 43-54.
- Palmieri, V., Dodds, W. J., Morgan, J., Carney, E., Fritsche, H. A., Jeffrey, J., ... ve Kimball, J. P. (2020). Survey of canine use and safety of isoxazoline parasiticides. *Veterinary medicine and science*, 6(4), 933-945.
- Panda, N.ve Kush, GS. (1995). Host Plant Resistance: Concept And Significance, Host Insect İnteractions, bölüm: 4,syf :83,Wallingford, Oxon, CABInternational.
- Prohaczik, A., Menge, M., Huyghe, B., Flochlay-Sigognault, A., ve Traon, G. L. (2017). Safety of fluralaner oral solution, a novel systemic antiparasitic treatment for chickens, in laying hens after oral administration via drinking water. *Parasites & Vectors*, 10(1), 1-7.
- Pubchem (2023a). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/119#section=Structures>. Erişim tarihi: 19.01.2023.
- Pubchem (2023b). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10237#section=2D-Structure>. Erişim tarihi: 19.01.2023.
- Ranjan, S., Young, D., Sun, F. (2018). A single topical fluralaner application to cats and to dogs controls fleas for 12 weeks in a simulated home environment, *Parasites & Vectors*, 11:385 <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2927-0>.
- Rohdich, N., Roepke, R. K., ve Zschiesche, E. (2014). A randomized, blinded, controlled and multi-centered field study comparing the efficacy and safety of Bravecto™(fluralaner) against Frontline™(fipronil) in flea-and tick-infested dogs. *Parasites & vectors*, 7(1), 1-5.
- Romero, C., Sheinberg Waisburd, G., Pineda, J., Heredia, R., Yarto, E., ve Cordero, A. M. (2017). Fluralaner as a single dose oral treatment for *Caparinia tripilis* in a pygmy African hedgehog. *Veterinary dermatology*, 28(6), 622-e152.
- Romero, C., Heredia, R., Pineda, J., Serrano, J. A., Mendoza, G. D., Trapala, P., ve Cordero, A. M. (2016). Efficacy of fluralaner in 17 dogs with sarcoptic mange. *Veterinary Dermatology*, 27(5), 353-e88.
- Roos, T. C., Roos, S., Merk, H. F., ve Bickers, D. R. (2001). Pharmacotherapy of ectoparasitic infections. *Drugs*, 61(8), 1067-1088.
- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acetylcholine>
- Rufener, L., Danelli, V., Bertrand, D., ve Sager, H. (2017). The novel isoxazoline ectoparasiticide lotilaner (Credelio™): a non-competitive antagonist specific to invertebrates  $\gamma$ -aminobutyric acid-gated chloride channels (GABA<sub>Cl</sub>s). *Parasites & Vectors*, 10(1), 1-15.
- Rust, M. K. (2016). Insecticide resistance in fleas. *Insects*, 7(1), 10.

Saleh, M. N., Allen, K. E., Lineberry, M. W., Little, S. E., ve Reichard, M. V. (2021). Ticks infesting dogs and cats in North America: Biology, geographic distribution, and pathogen transmission. *Veterinary Parasitology*, 294, 109392.

Sam, C.ve Bordoni, B. (2022). Physiology, Acetylcholine. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.

Sandor, L.E. (1985). Peripheral GABAergic Mechanisms, *TIPS*,;205-208.

Sarı, A. B., Gunes, Y., Anlas, C., Ustun Alkan, F., Guncum, E., Ustuner, O., & Bakirel, T. (2021). Effects of feed intake and water hardness on fluralaner pharmacokinetics in layer chickens. *Journal of Veterinary Science*, 23.

Santos, P.,Ribeiro, A., Quintanilla, C.F., Granados, F.L., Brandstoetter, M., Tomic, S., Pedrazzi, S., Peruzzi, A., Pajares, G., Kaplanis, G., Ruiz, M.P.,Valero, C., Cerro, J., Vieri, M., Rabatel, G., Debilde, B. (2017). Fleets of robots for environmentally-safe pest control in agriculture. *Precision Agriculture*, 18(4), 574-614.

Sheinberg, G., Romero, C., Heredia, R., Capulin, M., Yarto, E., & Carpio, J. (2017). Use of oral fluralaner for the treatment of *Psoroptes cuniculi* in 15 naturally infested rabbits. *Veterinary Dermatology*, 28(4), 393-e91.

Shoorijeh, S.J., Ghasrodashti, A.R., Tamadon, A., Moghaddar, N., Behzadi, M.A. (2008). Seasonal Frequency of Ectoparasite Infestation in Dogs from Shiraz, Southern Iran. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*,Sci.32(4): 309-313

Soares, M. A. M., Okada, M. A., Ayub, C. L. S. C., Gomes, J. R. (2009). Effects of fasting at different stages of lighting regimen on the proliferation of jejunal epithelial cells during rat pupweaning. *The Anatomical Record*,292, 955–959, doi: 10.1002/ar.20926.

Stadelmann, A. M., Walgenbach-Telford, S., Telford, G. L., ve Koch, T. R. (1998). Distribution of muscarinic receptor subtypes in rat small intestine. *Journal of Surgical Research*, 80(2), 320-325.

Szabó E, Varro P and Vilagi I (2009). The effects of fipronil on isolated rat ileum. *Front. Syst. Neurosci. Conference Abstract: 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society*. doi: 10.3389/conf.neuro.01.2009.04.077

Şanlı, Y. (1999). *Veteriner Klinik Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım İlkeleri*,3. Baskı, syf: 243, Ankara.

Taenzler, J., de Vos, C., Roepke, R. K., Frénais, R., ve Heckerroth, A. R. (2017). Efficacy of fluralaner against *Otodectes cynotis* infestations in dogs and cats. *Parasites & Vectors*, 10(1), 1-6.

Taenzler, J., Liebenberg, J., Roepke, R. K., ve Heckerroth, A. R. (2015). Prevention of transmission of *Babesia canis* by *Dermacentor reticulatus* ticks to dogs treated orally with fluralaner chewable tablets (Bravecto™). *Parasites & vectors*, 8(1), 1-6.

Taenzler, J., Liebenberg, J., Roepke, R. K., Frénais, R., ve Heckerroth, A. R. (2016). Efficacy of fluralaner administered either orally or topically for the treatment of naturally acquired *Sarcoptes scabiei* var. *canis* infestation in dogs. *Parasites & Vectors*, 9(1), 1-5.

Tanaka, M.,ve Sarr, M. G. (1988). Role of the duodenum in the control of canine gastrointestinal motility. *Gastroenterology*, 94(3), 622-629.

- Tanahashi, Y.; Komori, S.; Matsuyama, H.; Kitazawa, T.; Unno, T. (2021). Functions of Muscarinic Receptor Subtypes in Gastrointestinal Smooth Muscle: A Review of Studies with Receptor-Knockout Mice. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 926.
- Taylor, M. A. (2001). Recent developments in ectoparasiticides. *The Veterinary Journal*, 161(3), 253-268.
- Taylor, M.A., Coop, R.L., Wall, R.L.,(2007). Veteriner Parazitoloji, 3. baskı, Malatya, Medipres, sayfa: 1- 781
- Thomazini, B. F., ve Dolder, M. A. H. (2017). Dose dependent treatment with isotretinoin induces more changes in the ileum than in the duodenum and jejunum in Wistar rats. *Tissue and Cell*, 49(2), 203-208.
- Tobin, G., Giglio, D., ve Lundgren, O. (2009). Muscarinic receptor subtypes in the alimentary tract. *Acta Physiologica Polonica*, 60(1), 3.
- Traş, B., Elmas, M., Yazar, E. (2009). Farmakoterapi ve doğru ilaç kullanımı, Alındı: Veteriner İlaç, Ed, Yazar, E., s.1, Nobel Matbaacılık, İstanbul.
- Üstüner, O. (2016). İstanbul üniversitesi veteriner fakültesi yayını, Veteriner hekimlikte kullanılan antiparaziter ilaçlar, İstanbul.
- Walther, F. M., Allan, M. J., Roepke, R. K., ve Nuernberger, M. C. (2014). The effect of food on the pharmacokinetics of oral fluralaner in dogs. *Parasites & Vectors*, 7(1), 1-4.
- Walther, F. M., Allan, M. J., Roepke, R. K., ve Nuernberger, M. C. (2014). Safety of fluralaner chewable tablets (Bravecto™), a novel systemic antiparasitic drug, in dogs after oral administration. *Parasites & Vectors*, 7(1), 1-7.
- Walther, F. M., Allan, M. J., Roepke, R. K., Nuernberger, M.C. (2014). Safety of fluralaner, a novel systemic antiparasitic drug, in MDR1(-/-) Collies after oral administration. *Parasites Vectors* 7, 86. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-86>
- Wang, F.Y., Watanabe, M., Zhu, R.M., ve Maemura, K. (2004). Characteristic expression of gamma-aminobutyric acid and glutamate decarboxylase in rat jejunum and its relation to differentiation of epithelial cells. *World J. Gastroenterol*, 10, 3608–3611, doi: 10.3748/wjg.v10.i24.3608.
- Weber, T., ve Selzer, P. M. (2018). Isoxazolines: a novel chemotype highly effective on ectoparasites. *Ectoparasites: Drug Discovery Against Moving Targets*, 243-258..
- Wengenmayer, C., Williams, H., Zschiesche, E., Moritz, A., Langenstein, J., Roepke, R. K., ve Heckerth, A. R. (2014). The speed of kill of fluralaner (Bravecto™) against Ixodes ricinus ticks on dogs. *Parasites & Vectors*, 7(1), 1-5.
- Whitehead, K., Cortes, Y., & Eirmann, L. (2016). Gastrointestinal dysmotility disorders in critically ill dogs and cats. *Journal of veterinary emergency and critical care*, 26(2), 234-253.
- WHO (2020). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>, Erişim tarihi: 02.03.2020.
- Williams, H., Young, D.R., Qureshi, T., Zoller, H., Heckerth, A.R. (2014). Fluralaner, a novel isoxazoline, prevents flea (*Ctenocephalides felis*) reproduction in vitro and in a simulated home environment, *Parasites & Vectors*, 7:275.

Williams, H., Zoller, H., Roepke, R.A., Zschiesche, E., Heckerroth, A. (2015). Fluralaner activity against life stages of ticks using *Rhipicephalus sanguineus* and *Ornithodoros moubata* in vitro contact and feeding assays, *Parasites & Vectors*,8:90doi:10.1186/s13071-015-0704-x.

Wu, X., Zhonga, M., Guo, Y. ve Fujita, H. (2020). The assessment of small bowel motility with attentive deformable neural network, *Information Sciences*, 508,22–32, <https://doi.org/10.1016/j.ins.2019.08.059>.

Zhao, C. ve Casida, E. J. (2014). Insect  $\gamma$ -aminobutyric acid receptors and isoxazoline insecticides: toxicological profiles relative to the binding sites of [<sup>3</sup>H]fluralaner, [<sup>3</sup>H]-4'-ethynyl-4-n-propylbicycloorthobenzoate, and [<sup>3</sup>H]ivermectin, *J. Agric. Food Chem.* 62, 5, 1019–1024, <https://doi.org/10.1021/jf4050809>.

Zhou, X., Hohman, A.E., Hsu, W.H. (2021). Current review of isoxazoline ectoparasiticides used in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 45(1):1-15, <https://doi.org/10.1111/jvp.12959>.





# ÖZGEÇMİŞ

