

İntraserebroventriküler Yolla Enjekte Edilen Adrenomedüllin'in Kan Basıncı ve Kalp Hızına Etkisinde Sempatoadrenal Sistem ve Nitrik Oksitin Rolü*

Betül ÇAM-ETÖZ, Naciye İŞBİL-BÜYÜKCOŞKUN, Kasım ÖZLÜK

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

İntraserebroventriküler olarak uygulanan adrenomedüllinin (ADM) arteriyel kan basıncı ve kalp hızını yükseltici etkisinde sempatoadrenal sistemin ve santral nitrik oksit (NO)'nun rolü araştırıldı.

Sıçanlara eter anestezisi altında, kan basıncı ölçümleri için sıçanların sağ femoral arterleri ve intraserebroventriküler enjeksiyonlar için sağ lateral ventrikülleri kanüle edildi. ADM'nin arteriyel kan basıncı ve kalp hızını yükseltici etkisinde sempatoadrenal sistemin rolünü belirlemek amacıyla, ADM verilmeden önce intravenöz α -adrenoseptör antagonisti fentolamin veya intravenöz β -adrenoseptör antagonisti propranolol; otonom ganglion blokajının rolünü belirlemek amacıyla ADM enjeksiyonundan önce intraperitoneal heksametonium enjekte edildi. ADM'nin etkisinde santral NO'nun rolünü belirlemek amacıyla, ADM verilmeden önce nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME uygulandı. Fentolamin ve propranolol ADM'nin kardiyovasküler etkilerini önledi. Heksametonium ile oluşan hipotansiyon ADM enjeksiyonundan sonra kısmen düzeldi. L-NAME ise, ADM'nin sadece kan basıncına etkisini önledi.

Sonuçlarımıza göre santral uygulanan ADM, α ve β adrenerjik reseptörler aracılığıyla simpatik sistem stümlasyonu oluşturarak kan basıncı ve kalp hızını arttırmaktadır. ADM'nin santral kardiyovasküler etkisinde santral NO'nun rolü olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Adrenomedüllin. İntraserebroventriküler. Kan basıncı. Kalp hızı. Simpatik sistem. L-NAME.

Roles of Sympathoadrenal System and Nitric Oxide In The Effect of Adrenomedullin that is Injected Intracerebroventricularly on Blood Pressure and Heart Rate

ABSTRACT

In the study presented, we investigated the roles of sympathetic system and the central nitric oxide (NO) in the blood pressure and heart rate-increasing effects of adrenomedullin (ADM) applied intracerebroventricularly. The right lateral ventricles were cannulated under the ether anesthesia for measuring blood pressure of the right femoral artery of rats and for intracerebroventricular injections. To determine the role of sympathetic system in the increasing effects of ADM on blood pressure and heart rate, α -adrenoceptor antagonist phentolamine or β -adrenoceptor antagonist propranolol were administered before ADM. Moreover, intraperitoneal hexametonium was injected before ADM to identify the role of autonomic ganglionic blockage. Nitric oxide synthase inhibitor L-NAME was applied before ADM to find out the role of central NO in the effects of ADM. Phentolamine and propranolol prevented the cardiovascular effects of ADM. It is notable that the hypotension caused by hexametonium was partially recovered after ADM injection and L-NAME prevented the effects of ADM only on the blood pressure. Our findings revealed that the centrally applied ADM increased blood pressure and heart rate through leading to a sympathetic system stimulation via α and β adrenergic receptors. It is thought that the central NO could have a role in the central cardiovascular effects of ADM.

Key Words: Adrenomedullin. Intracerebroventricular. Blood pressure. Heart rate. Sympathetic system. L-NAME.

* 35. Ulusal Fizyoloji Kongresi'nde sunulmuştur.

Geliş Tarihi: 23.07.2012
Kabul Tarihi: 22.10.2012

Dr. Betül ÇAM-ETÖZ
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa.
Tel: 0 224 295 40 22
E-Mail: mbetul@uludag.edu.tr

Kardiyovasküler sistem regülasyonunda vazoaaktif maddeler önemli bir yer tutmaktadır. Dolaşımda bulunan çok sayıda vazoaaktif madde hücre büyümesi ve proliferasyonu, gen etkileşimleri ve çeşitli vücut sistemleri üzerinde farklı etkiler oluşturmaktadır. Kardiyovasküler hastalıkların oluşum mekanizmasını anlamak ve olası tedavi yöntemleri geliştirmek için vazoaaktif peptidler ile ilgili pek çok çalışma yapılmaktadır. Vazoaaktif peptidlerden biri olan adrenomedüllin (ADM) 1993'de Kitamura ve arkadaşları tarafından, sıçan trombositlerinde cAMP seviyesindeki değişik-

likler üzerinde araştırma yaparken keşfedilmiştir¹. Hem feokromasitoma dokusunda hem de normal adrenal medullada yoğun olarak bulunduğu için ADM adı verilen² bu peptid, adrenal medulla dışında santral ve periferik birçok dokuda da yaygın bir dağılım göstermektedir³. ADM, kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) ile yapısal homoloji gösterdiği için CGRP ailesinin bir üyesi olarak kabul edilmektedir⁴. Vazodilatör⁵, antiapoptotik⁶, anjiyolitik⁷, natriüretik, diüretik⁸ ve pozitif inotropik⁹ etkileri olan ADM hemodinamik sistemin regülasyonunda da önemli rol oynamaktadır. Ayrıca kardiyak hipertrofi, miyokard infarktüsü ve son dönem kalp yetmezliğinde yararlı etkilerinin olduğu tespit edilmiştir¹⁰.

ADM'nin temel karakteristik etkisi, intravenöz (i.v.) infüzyonu sonucu kan basıncını düşürerek kardiyak outputta artış ve refleks taşikardi oluşturmasıdır¹. ADM, vazodilatör etkisini vasküler yataklarda intrasellüler cAMP, NO-cGMP ve K⁺ kanallarının aktivasyonu ile oluşturmaktadır¹¹⁻¹⁴. Yapılan araştırmalarda peptidin periferik ve santral etkilerinin farklı olduğu, i.v. uygulandığında hipotansif etki yaratırken, santral uygulamada ise kan basıncı ve kalp hızı üzerine yaptığı etkiler peptidin santral sinir sistemine verildiği bölgeye göre değişkenlik göstermektedir¹⁵⁻¹⁷. İntrasebroventriküler (i.s.v.) ve intrasisternal olarak verildiğinde veya area postrema mikroyenjeksiyon yapıldığında kan basıncı ve kalp hızında stimülasyona neden olduğunu¹⁸⁻²⁰, paraventriküler nukleusa uygulandığında ise hipotansiyona yol açtığını ileri süren çalışmalar²¹ olduğu gibi, i.s.v. ADM'nin kan basıncını etkilemediği, sadece davranış üzerine etkisinin olduğunu kabul eden araştırmalar²² da bulunmaktadır. ADM'nin hipotalamik-hipofizial-adrenal aksın ve sempatik sinir sisteminin stimülasyonuna neden olduğu ileri sürülmektedir²³. Biz daha önceki çalışmamızda farklı dozlarda i.s.v. olarak verilen ADM'nin kan basıncı ve kalp hızını artırıcı etki gösterdiğini gözledik²⁴. ADM'nin vazodilatör etkisinde NO-cGMP yolağının rolü¹²⁻¹³ göz önüne alınarak santral etkilerinde de NO'nun aracılığı olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca ADM'nin PVN'da NO üreten nöronların aktivasyonuna sebep olduğu gösterilmiştir¹⁷.

ADM'nin kan basıncı ve kalp hızına etkisine aracılık eden mekanizmaların aydınlatılması kardiyovasküler hastalıklarda yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi açısından önem taşımaktadır. Bu nedenle çalışmamızda i.s.v. ADM'nin arteriyel kan basıncı ve kalp hızı üzerine etkisinde aracılığı olabileceğini düşündüğümüz mekanizmalardan sempatoadrenal sistem ve santral NO'nun rolünü araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen yetişkin, 250-300 gr ağırlığında Sprague

Dawley cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanların 4-6 tanesi bir kafeste olacak şekilde su ve yem alımları serbest bırakıldı. Deneylere U.Ü. Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesi tarafından izin alındıktan sonra başlandı.

Eter anestezisi altında sıçanların sağ femoral arterine, heparinli tuzlu su (100 U/ml) ile doldurularak hazırlanmış bir kateter (PE 50) ve intravenöz enjeksiyonlar için femoral vene aynı şekilde hazırlanmış başka bir kateter (PE 10) yerleştirildi. İ.s.v. enjeksiyonlar için denegin kafatasına orta hattın 1,5 mm sağ yanında ve bregmanın 1-1,5 mm arkasında olacak şekilde bir delik açılarak bu delikten sağ lateral ventriküle, dik olarak ve alt ucu kafatası yüzeyinden 4,2-4,5 mm kadar derinliğe incek şekilde 10 mm uzunluğunda bir kanül (20 numara hipodermik paslanmaz çelik iğne-den kesilerek hazırlanmış) yerleştirilip üstte kalan kısmı dental akrilik ile kafatasına tutturuldu.

Cerrahi işlemlerin sonunda sıçanlar tek tek kutulara yerleştirilerek anesteziden çıkmaları için 4-5 saat kadar beklendi. Bu sürenin bitiminde arteriyel kateter "volümetrik pressure transducer" a tutturularak kayıtlar alındı. Arteriyel kan basıncı ve kalp hızı, bu transducer'ın bağlandığı BIOPAC Data Acquisition Unit (MP30) aracılığıyla devamlı olarak kaydedildi. Ortalama arteriyel kan basıncı mmHg olarak, kalp hızı vuru/dakika olarak belirtildi. Sıçanlar arteriyel kateter, "volümetrik pressure transducer" ile aynı seviyede olacak şekilde, rahat hareket edebilecekleri bir kutuya yerleştirildikten sonra 30 dakika beklenerek stabilizasyonları sağlandı. İlaçların etkisi araştırılmadan önce 10-15 dakika süreyle bazal değerler kaydedildi.

Çalışmada i.s.v. ADM dozu olarak daha önceki çalışmamızda²⁴ elde ettiğimiz doz cevap eğrisine göre istatistiksel olarak anlamlı olan, en etkili doz olan 750 ng/10 µl kullanılarak i.s.v. ADM'nin kan basıncı ve kalp hızı üzerine etkileri tekrar değerlendirildi. Çalışmanın bundan sonraki aşamalarında bu dozda ADM kullanıldı.

Çalışma iki seri olarak planlandı. Birinci seri çalışmada, i.s.v. ADM'nin kan basıncı ve kalp hızı üzerine etkilerinde sempatik sinir sisteminin rolünü araştırmak amacıyla, nonselektif α adrenerjik reseptör antagonisti fentolamin (5 µg/kg;i.v.) veya nonselektif β adrenerjik reseptör antagonisti propranolol (0,5 mg/kg;i.v.) enjeksiyonları yapıldı. Enjeksiyonları takiben 10 dakika sonra i.s.v. ADM (750 ng/10 µl) veya serum fizyolojik (10 µl;i.s.v.) uygulandı. Ayrıca sempato-adrenal sistemin farmakolojik olarak gangliyonlar düzeyinde bloke edilmesiyle kan basıncı ve kalp hızında ortaya çıkan değişiklikler üzerine i.s.v. ADM'nin etkisini araştırmak amacıyla, sıçanlara gangliyonik transmisyonu bloke eden heksametonyum (15 mg/kg;i.p.) uygulandı. Enjeksiyondan 15 dakika sonra ADM (750 ng/10 µl;i.s.v) veya serum fizyolojik (10 µl;i.s.v.) enjekte edildi. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kan basıncı ve kalp hızları kaydedilerek bazale göre yüzde değişimleri belirlendi.

Santral Adrenomedüllinin Kardiyovasküler Etkileri

İkinci seri çalışmada; i.s.v ADM'nin kan basıncı ve kalp hızına etkisinde santral NO'nun aracılığı olup olmadığını araştırmak amacıyla, nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü L-NAME (5 µg/10 µl;i.s.v.) enjeksiyonunu takiben 5 dk sonra ADM (750 ng/10 µl;i.s.v.) veya serum fizyolojik (10 µl;i.s.v.) uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kan basıncı ve kalp hızları kaydedilerek bazale göre yüzde değişimleri belirlendi.

Her deney grubunda denek sayısı 7 idi. Deneylerin sonunda serebral ventriküle 5 µl metilen mavisi solüsyonu enjekte edildi. Dekapitasyondan sonra beyinler çıkartılarak i.s.v. kanülün yerleştirildiği yerin doğru olup olmadığı kontrol edildi.

Bu çalışmada kullanılan adrenomedüllin, fentolamin hidroklorür, propranolol hidroklorür, N_ω-Nitro-L-arginin metil ester hidroklorür (L-NAME), heksametoniyum klorür Sigma (Sigma Chem. Co., MO, ABD)'dan alındı. İlaçlar tuzlu su (%0,9 NaCl) içinde hazırlandı. İ.s.v. enjeksiyonlar için ilaçların metinde belirtilen dozları, 10 µl içinde verilecek şekilde hesaplandı ve enjeksiyonlar Hamilton mikroenjektörü kullanılarak yapıldı.

Elde edilen sonuçların istatistiksel analizi SPSS13.0 istatistik paket programında yapıldı. Verilerin tanımlayıcı istatistikleri

medyan(minimum ve maksimum) olarak belirtildi. Verinin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Normal dağılmayan veri için iki grup karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tekrarlı ölçümlerin analizinde bazal enjeksiyonu takiben 5., 10., 15., 20., 25. ve 30.dk lardaki ölçümlerin bazal değere göre yüzde değişim değerleri hesaplanmıştır. Grupların arasındaki farklılıklar yüzde değişim değerleri üzerinden yapılmıştır. Anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak belirlenmiştir.

Bulgular

Herhangi bir enjeksiyon yapılmadan önce, uyanık ve serbestçe hareket eden sıçanların bazal kan basıncı değeri ortalama 120±2 mmHg, bazal kalp hızı değeri ortalama 303±6 vuru/dakika idi (n=70). Bu değerler, enjeksiyonları takip eden 30 dakika süresince her 5 dakikada elde edilen değerler ile karşılaştırılarak aradaki fark belirlendi. Kullanılan 750 ng/10 µl;i.s.v. ADM kan basıncı ve kalp hızında 10. dk'da maksimum olan ve 30 dk süreyle hala bazal seviyeye inmeyen artış oluşturdu (Tablo IA ve IB).

Tablo I.

A

KAN BASINCI	Bazal	5. dk	10.dk	15.dk	20.dk	25.dk	30.dk
Serum Fizyolojik ¹	115 (101;125)	-1,74 (-2,63;1,98)	-0,87 (-3,23;2,97)	-2,4(-5,22;1,69)	-0,90 (-3,88;4,27)	-0,87 (-4,84; 0,99)	-0,85 (-3,20; 2,97)
Serum Fizyolojik+ ADM ²	121 (99;132)	12,40(8,33; 21,21)	13,20 (9,09; 17,17)	13,96(7,58; 16,81)	12,40 (7,58; 18,49)	10,74 (6,82; 13,45)	10,08 (6,06; 14,29)
Serum Fizyolojik+ Fentolamin ³	115 (103;124)	-0,89 (-3,25; 1,74)	0,0 (-4,07;0,97)	-4,84 (-6,50; 4,35)	-1,79 (-8,13; 6,09)	0 (-7,32; 1,79)	0 (-8,94; 2,68)
Fentolamin+ ADM ⁴	115 (107;123)	-1,74(-3,74; 4,46)	-2,61 (-3,33; 2,68)	-4,88 (-7,83; 6,25)	-1,63 (-5,61; 8,93)	-1,74 (-4,67; 3,57)	-2,44 (-4,35; 2,70)
Serum Fizyolojik+Propranolol ⁵	122 (117;137)	-1,63 (-2,54; -0,79)	-3,28 (-4,24;0,83)	-2,92 (-5,74; 1,65)	0,81 (-7,38; 1,46)	-1,66 (-6,56; 1,71)	-2,56 (-8,20; -0,85)
Propranolol+ ADM ⁶	120 (113;134)	0 (-2,48; 1,77)	-1,6 (-3,45; 2,52)	-0,75 (-4,96; 3,36)	0,84 (-7,44; 4,42)	-0,84 (-5,79; 5,31)	-1,49 (-7,44;0,88)
İkili karşılaştırmalar (P değerleri)							
1. ve 2. grup	p>0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
1. ve 3. grup	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
2. ve 4. grup	p>0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
1. ve 5. grup	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
2. ve 6. grup	p>0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

B

KALP HIZI	Bazal	5. dk	10.dk	15.dk	20.dk	25.dk	30.dk
Serum Fizyolojik ¹	330 (270; 415)	-0,92 (-5,90; 2,08)	0,35 (-6,27; 1,85)	-0,96 (-5,20; 1,52)	-0,59 (-5,19; ,92)	-0,24 (-5,20; 2,22)	1,20 (-1,39; 2,59)
Serum Fizyolojik+ ADM ²	322 (244,00; 376)	15,43 (11,80; 46,72)	15,42 (9,54; 40,98)	15,21 (6,12; 49,18)	15,08 (9,94; 47,13)	8,90 (3,46; 49,59)	9,13 (2,08; 41,39)
Serum Fizyolojik+ Fentolamin ³	329 (275; 400)	0,61 (-5,23; 3,61)	0,0 (-4,18; 6,09)	1,82 (-7,67; 5,80)	1,54 (-10,80; 4,06)	0,73 (-4,01; 5,80)	2,18 (-3,48; 5,22)
Fentolamin+ ADM ⁴	329 (265; 403)	0,61 (-4,91; 3,93)	1,40 (-3,47; 3,77)	0,35 (-4,33; 3,11)	1,21 (-3,40; 2,23)	1,49 (-4,02; 3,77)	2,54 (-3,35; 4,53)
Serum Fizyolojik+Propranolol ⁵	328 (268; 399)	0,93 (-6,90; 4,24)	0,56 (-2,51; 2,61)	0,00 (-3,43; 3,01)	1,22 (-4,48; 2,51)	2,74 (-4,48; 3,01)	0,91 (-4,48; 3,43)
Propranolol+ ADM ⁶	327 (270; 401)	0,37 (-2,48; 4,88)	1,11 (-2,99; 5,86)	0,61 (-4,92; 4,76)	0,92 (-4,44; 4,40)	1,99 (-4,92; 3,06)	0,73 (-5,19; 2,13)
İkili karşılaştırmalar (P değerleri)							
1. ve 2. grup	p>0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002
1. ve 3. grup	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
2. ve 4. grup	p>0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	p>0,05
1. ve 5. grup	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
2. ve 6. grup	p>0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

Tablo I. İntraserebroventriküler ADM'nin kan basıncı (A) ve kalp hızı (B) üzerine etkilerinde periferik adrenerjik reseptörlerin rolü. ADM (750 ng/10 µl;i.s.v.) veya serum fizyolojik (10 µl;i.s.v.) enjeksiyonundan 10 dakika önce α-adrenerjik reseptör antagonisti fentolamin (5 µg/kg;i.v.) veya β-adrenerjik reseptör antagonisti propranolol (0,5 mg/kg;i.v.) uygulandı. Tekrarlı ölçümlerin analizinde son enjeksiyonu takiben 5., 10., 15., 20., 25. ve 30.dk lardaki ölçümlerin bazal değere göre yüzde değişim değerleri hesaplanmıştır. Grupların arasındaki farklılıklar yüzde değişim değerleri üzerinden yapılmıştır. Anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak belirlenmiştir. Verilerin tanımlayıcı istatistikleri medyan(minimum ve maksimum) olarak belirtilmiştir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

Tablo II.**A**

KAN BASINCI	Bazal	5. dk	10.dk	15.dk	20.dk	25.dk	30.dk
Serum Fizyolojik ¹	115 (101;125)	-1,74 (-2,63;1,98)	-0,87 (-3,23;2,97)	-2,4(-5,22;1,69)	-0,90 (-3,88;4,27)	-0,87 (-4,84; 0,99)	-0,85 (-3,20; 2,97)
Serum Fizyolojik+ ADM ²	121 (99;132)	12,40(8,33; 21,21)	13,20 (9,09; 17,17)	13,96 (7,58; 16,81)	12,40 (7,58; 18,49)	10,74 (6,82; 13,45)	10,08 (6,06; 14,29)
Serum Fizyolojik+Hexametyonyum ⁷	119 (109;135)	-21,74 (-25,56; -10,91)	-21,00 (-28,89; -8,18)	-17,39 (-26,67; -6,36)	-19,39 (-25,76; -7,27)	-19,33 (-7,27; -11,82)	-19,13 (-25,93; -12,73)
Hexametyonyum+ ADM ⁸	119 (108;132)	-15,13 (-21,05; -5,45)	-12,17 (-17,78; -2,73)	-10,92 (-17,04; -0,91)	-11,30 (-15,79; -4,55)	-12,60 (-15,15; -5,45)	-10,08 (-17,42; -7,34)
İkili karşılaştırmalar (P değerleri)							
1. ve 2. grup	p>0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
1. ve 7. grup	p>0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
2. ve 8. grup	p>0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

B

KALP HIZI	Bazal	5. dk	10.dk	15.dk	20.dk	25.dk	30.dk
Serum Fizyolojik ¹	330 (270; 415)	-0,92 (-5,90; 2,08)	0,35 (-6,27; 1,85)	-0,96 (-5,20; 1,52)	-0,59 (-5,19; ,92)	-0,24 (-5,20; 2,22)	1,20 (-1,39; 2,59)
Serum Fizyolojik+ ADM ²	322 (244,00; 376)	15,43 (11,80; 46,72)	15,42 (9,54; 40,98)	15,21 (6,12; 49,18)	15,08 (9,94; 47,13)	8,90 (3,46; 49,59)	9,13 (2,08; 41,39)
Serum Fizyolojik+Hexametyonyum ⁷	321 (242; 375)	16,47 (4,50; 47,93)	15,47 (7,96; 42,15)	13,31 (4,84; 50,41)	14,86 (3,46; 48,35)	6,81 (0,00; 50,83)	7,20 (-6,9; 42,56)
Hexametyonyum+ ADM ⁸	322 (270; 344)	8,31 (6,10; 19,06)	12,22 (0,61; 18,99)	12,60 (0,92; 19,73)	11,49 (1,53; 22,07)	12,96 (0,29; 22,74)	7,14 (-3,49; 19,29)
İkili karşılaştırmalar (P değerleri)							
1. ve 2. grup	p>0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002
1. ve 7. grup	p>0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,004	0,017
2. ve 8. grup	p>0,05	0,017	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Tablo II. Otonom ganglion blokajının kan basıncı (A) ve kalp hızı (B) üzerine etkisinde intraserebroventriküler ADM'nin rolü. ADM (750 ng/10 µl;i.s.v.) veya serum fizyolojik (10 µl;i.s.v.) enjeksiyonundan 10 dakika önce ganglionik bloker heksametyonyum (15 mg/kg;i.p.) uygulandı. Tekrarlı ölçümlerin analizinde son enjeksiyonu takiben 5., 10., 15., 20., 25. ve 30.dk lardaki ölçümlerin bazal değere göre yüzde değişim değerleri hesaplanmıştır. Grupların arasındaki farklılıklar yüzde değişim değerleri üzerinden yapılmıştır. Anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak belirlenmiştir. Verilerin tanımlayıcı istatistikleri medyan(minimum ve maksimum) olarak belirtilmiştir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

Tablo III.**A**

KAN BASINCI	Bazal	5. dk	10.dk	15.dk	20.dk	25.dk	30.dk
Serum Fizyolojik ¹	115 (101;125)	-1,74 (-2,63;1,98)	-0,87 (-3,23;2,97)	-2,4(-5,22;1,69)	-0,90 (-3,88;4,27)	-0,87 (-4,84; 0,99)	-0,85 (-3,20; 2,97)
Serum Fizyolojik+ ADM ²	121 (99;132)	12,40(8,33; 21,21)	13,20 (9,09; 17,17)	13,96 (7,58; 16,81)	12,40 (7,58; 18,49)	10,74 (6,82; 13,45)	10,08 (6,06; 14,29)
Serum Fizyolojik+L-NAME ⁹	122 (118;127)	-0,82 (-3,36; 6,30)	-0,81 (-5,69; 5,51)	0 (-6,50; 4,24)	0,81 (-8,13; 9,45)	-0,82 (-6,50; 4,72)	-2,42 (-9,76; 3,15)
L-NAME+ ADM ¹⁰	120 (113;131)	-0,89 (-2,48;0,84)	-2,48 (-4,31; 2,52)	-2,50 (-5,17; 3,36)	0,83 (-7,44; 4,42)	-0,84 (-5,79; 5,31)	-1,67 (-7,44;0,88)
İkili karşılaştırmalar (P değerleri)							
1. ve 2. grup	p>0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
1. ve 9. grup	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
2. ve 10. grup	p>0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

B

KALP HIZI	Bazal	5. dk	10.dk	15.dk	20.dk	25.dk	30.dk
Serum Fizyolojik ¹	330 (270; 415)	-0,92 (-5,90; 2,08)	0,35 (-6,27; 1,85)	-0,96 (-5,20; 1,52)	-0,59 (-5,19; ,92)	-0,24 (-5,20; 2,22)	1,20 (-1,39; 2,59)
Serum Fizyolojik+ ADM ²	322 (244,00; 376)	15,43 (11,80; 46,72)	15,42 (9,54; 40,98)	15,21 (6,12; 49,18)	15,08 (9,94; 47,13)	8,90 (3,46; 49,59)	9,13 (2,08; 41,39)
Serum Fizyolojik+L-NAME ⁹	331 (269; 409)	0 (-3,48; 1,12)	0,30 (-5,13; 3,10)	-0,35 (-4,32; 2,82)	0 (-4,83; 1,85)	1,20 (-4,32; 3,38)	2,16 (-1,05; 2,97)
L-NAME+ ADM ¹⁰	321 (245; 376)	14,77 (11,84; 45,71)	15,43 (10,22; 40,41)	14,77 (6,12; 48,57)	14,41 (10,28; 46,53)	7,35 (3,46; 48,98)	9,03 (0,88; 40,82)
İkili karşılaştırmalar (P değerleri)							
1. ve 2. grup	p>0,05	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002
1. ve 9. grup	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
2. ve 10. grup	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Tablo III. İntraserebroventriküler ADM'nin kan basıncı (A) ve kalp hızı (B) üzerine etkilerinde santral NOS inhibisyonunun rolü. ADM (750 ng/10 µl;i.s.v.) veya serum fizyolojik (10 µl;i.s.v.) enjeksiyonundan 5 dakika önce NOS inhibitörü L-NAME (5 µg/10 µl;i.s.v.) uygulandı. Tekrarlı ölçümlerin analizinde son enjeksiyonu takiben 5., 10., 15., 20., 25. ve 30.dk lardaki ölçümlerin bazal değere göre yüzde değişim değerleri hesaplanmıştır. Grupların arasındaki farklılıklar yüzde değişim değerleri üzerinden yapılmıştır. Anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak belirlenmiştir. Verilerin tanımlayıcı istatistikleri medyan(minimum ve maksimum) olarak belirtilmiştir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

Santral Adrenomedüllinin Kardiyovasküler Etkileri

İ.s.v ADM'nin Kan Basıncı ve Kalp Hızına Etkisinde Sempatik Sinir Sisteminin Rolü

ADM'nin santral etkisine aracılık eden periferik adrenerjik reseptörleri araştırmak amacıyla ADM (750 ng/10 µl; i.s.v.) enjeksiyonundan 10 dakika önce nonselektif α adrenerjik reseptör antagonisti fentolamin (5 µg/kg;i.v.) veya nonselektif β adrenerjik reseptör antagonisti propranolol (0.5 mg/kg;i.v.) uygulandı. Fentolamin ve propranolol i.s.v. ADM'nin hem kan basıncı hem de kalp hızını arttırıcı etkisini bloke etti. Fentolamin ve propranolol belirtilen dozlarda yalnız başına kullanıldıklarında herhangi bir değişiklik göstermediler (Tablo IA ve IB).

İ.s.v ADM'nin Kan Basıncı ve Kalp Hızına Etkisinde Otonom Ganglion Blokajın Rolü

Sempato-adrenal sistemi gangliyonlar düzeyinde bloke etmek üzere heksametonyum (15 mg/kg;i.p.) enjekte edildiğinde heksametonyumun kan basıncını düşürücü, kalp hızını stimüle edici etkisi ADM ile istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldı (Tablo IIA ve IIB). İ.s.v ADM'nin kan basıncı ve kalp hızına etkisinde santral NO'nun rolü.

İ.s.v ADM'nin kan basıncı ve kalp hızına etkisinde santral NO aracılığı olup olmadığını araştırmak amacıyla, NOS inhibitörü L-NAME (5 µg/10µl;i.s.v.) enjeksiyonunu takiben 5 dk sonra ADM (750 ng/10 µl;i.s.v.) uygulandı. Santral uygulanan L-NAME i.s.v. ADM'nin kan basıncını stimüle edici etkisini önledi ancak kalp hızına etkisini değiştirmedi (Tablo IIIA ve IIIB). L-NAME tek başına uygulandığında aynı parametreler üzerinde herhangi bir değişiklik oluşturmadı.

Tartışma

ADM'nin santral kardiyovasküler etkileri ile ilgili yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar arasında farklılıklar bulunmaktadır¹⁵⁻²¹. ADM'nin beyin area postrema gibi bazı bölgelerine mikroenjeksiyon yapıldığında veya intrasisternal olarak verildiğinde kan basıncı ve kalp hızında stimülasyon yaptığı gösterilmiştir¹⁸⁻²⁰. ADM'nin paraventriküler nukleusa enjekte edilmesi halinde ise hipotansiyona yol açtığı gözlenmiştir²¹. Murphy ve arkadaşları çalışmalarında, i.s.v. ADM'nin kan basıncını etkilemediği, sadece davranış üzerine etkisinin olduğunu ileri sürmüşlerdir²². Biz önce yaptığımız çalışmamızda farklı dozlarda, i.s.v. yolla uygulanan ADM'nin kan basıncı ve kalp hızını stimüle ettiğini ve bu etkisinde santral reseptörlerinin aracılığı olduğunu gözledik²⁴. Bazı araştırmaların sonuçlarına göre ADM'nin hipotalamik-hipofizial-adrenal aksın ve sempatik sinir sisteminin stimülasyonuna neden olduğu ileri sürülmektedir²³. Kan basıncının santral regulasyonunda önemli olduğu bilinen sempatik sistem aktivasyonunun, i.s.v. ADM'nin kan

basıncı ve kalp hızını arttırıcı etkisine dahil olup olmadığını ve etkisini hangi reseptörlerinin aktivasyonu aracılığıyla yaptığını araştırmak amacıyla, α-adrenoseptör antagonisti fentolamin ve β-adrenoseptör antagonisti propranolol uyguladığımızda ADM'nin hem α hem de β reseptörlerinin aktivasyonu ile kardiyovasküler etkiler oluşturduğunu gözledik. Santral ADM'nin kardiyovasküler regülasyona dahil olan otonom merkezlerde bulunduğu, bu alanlarda sentezlendiği veya dolaşım yoluyla bu bölgelere gelebileceği ileri sürülmektedir¹⁷. İ.s.v. uygulanan ADM santral otonom bölgelerle yoğun projeksiyonlar yapan area postremaya etki ederek nöroendokrin ve otonom etkilerini oluşturmaktadır²⁰. Hem anestezi altında hem de uyanık sıçanlarda i.s.v. ADM'nin, etkilerini sempatik sistem aktivasyonu yoluyla yaptığı düşünülmektedir. Bulgularımız bu çalışmalarla uyum göstermektedir. Santral olarak uygulanan ADM'nin anestezili sıçanlarda abdominal sempatik deşarja neden olduğu, ayrıca renal sempatik aktivitede önce düşme ardından artma yarattığı ve bu ikili cevabın beyinde farklı ADM reseptörlerinin aktivasyonu ile gerçekleştiği ileri sürülmüştür¹⁵. Aynı çalışmada α-adrenerjik antagonist fentolamin i.s.v. ADM'nin kan basıncını yükseltici etkisini bloke etmiştir¹⁵. Bizim sonuçlarımız bu sonuçlarla paralellik göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda i.s.v. ADM'nin kan basıncı ve kalp hızında oluşturduğu artış β-adrenerjik reseptör antagonisinin de kısmen bloke ettiğini gözledik. Bu sonuçlara göre i.s.v. ADM'nin sempatik sistemi stimüle ederek α ve β adrenerjik reseptörler aracılığıyla kardiyovasküler etkilerini oluşturduğu düşünülmektedir.

Ayrıca sempato-adrenal sistem gangliyonlar düzeyinde bloke edildiğinde, i.s.v. ADM'nin etkilerini ne derece oluşturabileceğini araştırmak amacıyla ganglion bloke edici ajan olan heksametonyum uyguladığımızda, ADM'nin heksametonyumun yarattığı hipotansif etkiyi önlediği, kalp hızındaki artışın ise devam ettiği gözlendi. İ.s.v. ADM'nin ganglion blokajının oluşturduğu etkileri kısmen azalttığını gözlememiz, peptidin etkilerinin sadece sempatoadrenal sistem yoluyla olmadığını düşünmemize neden oldu. Daha önce yapılan çalışmalarda da ADM'nin direk kardiyak etkilerinin olduğu ve cAMP artışı oluşturarak pozitif inotropik etki gösterdiği gösterilmiştir²⁵⁻²⁸. Ayrıca miyositlerde geçici kalsiyum artışına neden olduğu ileri sürülmüştür²⁷. Ganglion blokajı yapılarak i.v. ADM verilen bir çalışmada ADM'nin yaptığı hipotansiyonun kontrol grubundan 2-3 kat daha fazla olduğu gözlenmiştir²⁸. Aynı çalışmada ADM'nin kalpte strok volümü arttırdığı gösterilmiştir. ADM'nin direk etkileri ile kardiyak kontraktiliteyi arttırmış olabileceği ileri sürülmüştür^{27,28}. Bizim çalışmamızda da i.s.v. ADM'nin ganglion blokajı sonrası oluşan hipotansiyonu kısmen düzeltmiş olması, ADM'nin sempatoadrenal sistem dışında direk kardiyak ve vasküler etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir.

ADM'nin periferik vazodilatör etkisinde NO'nun rolü olduğu²⁸, santral ADM'nin hipotalamusta NO üretimini stimüle ettiği ve PVN'de NO üreten nöronları aktive ettiği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir²⁹⁻³². Bu çalışmalarda ADM'nin hipotalamo-hipofizer-adrenal aksta ve/veya sempatik cevaplarında hipotalamik NO'nun rolü olduğu ileri sürülmektedir. Santral NO'nun etkilerini araştırmak amacıyla beynin farklı alanlarına direkt NO donörleri veya NOS inhibitörleri verilerek yapılan çalışmalar sonucunda NO'nun beynin farklı alanlarında farklı etkiler gösterdiği bulunmuştur³⁰. Elde edilen sonuçların bazıları hipotalamik NO'nun perifere sempatik deşarjı azalttığını³¹ bazıları ise otonom merkezlerde sempatik sistem stimülasyonuna neden olduğunu³² ileri sürmektedir. ADM'nin santral etkisine NO'nun aracılık edip etmediğini araştırmak amacıyla kullanılan NOS inhibitörü L-NAME'in, ADM'nin kan basıncına olan etkisini bloke ettiği, kalp hızına ise sadece enjeksiyondan hemen sonra etkisi olduğu gözlemlendi. Bu verilere göre otonom merkezlerde sempatik sistem stimülasyonu yaptığı düşünülen ADM'nin kan basıncını arttırıcı etkisinde santral NO'nun da rolü olduğu düşünülebilir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre, i.s.v. ADM'nin kan basıncını ve kalp hızını arttırıcı etkisinde sempatoadrenal sistemin ve santral NO'nun rolü olabileceği gibi, peptidin direk kardiyovasküler etkilerinin aracılığı olabileceği de düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, et al. Adrenomedullin: a Novel Hypotensive Peptide Isolated From Human Pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;192:553-60.
- Kapas S, Martinez A, Cuttitta F, Hinson JP. Local Production and Action of Adrenomedullin in The Rat Adrenal Zona Glomerulosa. *J Endocrinol* 1998;156:477-84.
- Sakata J, Shimokubo T, Kitamura K, et al. Distribution and Characterization of Immunoreactive Adrenomedullin In Rat Tissue and Plasma. *FEBS Letters* 1994;352:105-8.
- Wimalawansa SJ. Amylin, Calcitonin Gene-Related Peptide, Calcitonin, and Adrenomedullin: a Peptide Superfamily, *Crit Rev Neurobiol* 1997;11:167-239.
- Kangawa K, Kitamura K, Minamino N, Eto T, Matsuo H. Adrenomedullin: A New Hypotensive Peptide. *J Hypertens Suppl* 1996;14:S105-10.
- Kato H, Shichiri M, Marumo F, Hirata Y. Adrenomedullin As An Autocrine/Paracrine Apoptosis Survival Factor For Rat Endothelial Cells. *Endocrinology* 1997;138:2615-20.
- Limuro S, Shindo T, Moriyama N, et al. Angiogenic Effects of Adrenomedullin In Ischemia and Tumor Growth. *Circ Res* 2004;95:415-23.
- Israel A, Diaz E. Diuretic and Natriuretic Action Of Adrenomedullin Administered Intracerebroventricularly In Conscious Rats. *Regul Pept* 2000;89:13-8.
- Mukherjee R, Multani MM, Sample JA, et al. Effects of Adrenomedullin On Human Myocyte Contractile Function and Beta-Adrenergic Response. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2002;7(4):235-40.
- Nakamura R, Kato J, Kitamura K, et al. Beneficial Effects of Adrenomedullin On Left Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction In Rats. *Cardiovasc Res* 2002;56:373-80.
- Fung E, Fiscus RR. Adrenomedullin Induces Direct (Endothelium-Independent) Vasorelaxations and Cyclic Adenosine Monophosphate Elevations That are Synergistically Enhanced By Brain Natriuretic Peptide In Isolated Rings of Rat Thoracic Aorta. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003;41(6):849-55.
- Hirata Y, Hayakawa H, Suzuki Y, et al. Mechanisms of Adrenomedullin-Induced Vasodilation In The Rat Kidney. *Hypertension* 1995;25(4 Pt 2):790-5.
- Dematteo R, May CN. Direct Coronary Vasodilator Action of Adrenomedullin Is Mediated By Nitric Oxide. *Br J Pharmacol* 2003;140(8):1414-20.
- Terata K, Miura H, Liu Y, Loberiza F, Gutterman DD. Human Coronary Arteriolar Dilation to Adrenomedullin: Role of Nitric Oxide and K⁺ Channels. *J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279(6):H2620-6.
- Samson WK, Murphy T, Resch ZT. Central Mechanisms For The Hypertensive Effects of Proadrenomedullin-Derived Peptides In Conscious Rats. *Am J Physiol* 1998;274:R1505-9.
- Saita M, Shimokawa A, Unitake T, Kato K. Central Actions of Adrenomedullin On Cardiovascular Parameters and Sympathetic Outflow In Conscious Rats. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 1998;274:R979-84.
- Shan J, Stachniak T, Jhamandas JH, Krukoff TL. Autonomic and Neuroendocrine Actions of Adrenomedullin In The Brain: Mechanisms For Homeostasis. *Regul Pept* 2003;112(1-3):33-40.
- Takahashi H, Watanabe TX, Nishimura M, et al. Centrally Induced Vasopressor and Sympathetic Responses to A Novel Endogenous Peptide, Adrenomedullin, In Anesthetized Rats. *American Journal of Hypertension* 1994;7:478-82.
- Allen MA, Ferguson AV. In Vitro Recordings From Area Postrema Neurons Demonstrate Responsiveness to Adrenomedullin. *Am J Physiol* 1996; 270:R920-5.
- Allen MA, Smith PM, Ferguson AV. Adrenomedullin Microinjection Into The Area Postrema Increases Blood Pressure. *Am J Physiol* 1997;272:R1698-1703.
- Smith PM, Ferguson AV. Adrenomedullin Acts In The Rat Paraventricular Nucleus to Decrease Blood Pressure. *Journal of Neuroendocrinology* 2001;13:467-71.
- Murphy TC, Samson WK. The Novel Vasoactive Hormone, Adrenomedullin, Inhibits Water Drinking In The Rat. *Endocrinology* 1995;136:2459-63.
- Shan J, Krukoff TL. Intracerebroventricular Adrenomedullin Stimulates The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis, The Sympathetic Nervous System and Production of Hypothalamic Nitric Oxide, *J Neuroendocrin* 2001;13:975-84.
- Cam—Etoz B, Isbil-Buyukcoskun N, Ozluk K. Cardiovascular effects of the intracerebroventricular injection of adrenomedullin: roles of the peripheral vasopressin and central cholinergic systems. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2012;45(3):250-5.
- Rademaker MT, Charles CJ, Lewis LK, et al. Beneficial hemodynamic and renal effects of adrenomedullin in an ovine model of heart failure. *Circulation* 1997;96:1983-90.
- Kinnunen P, Szokodi I, Nicholls MG, Ruskoaho H. Impact of NO on ET-1- and AM-induced inotropic responses: potentiation by combined administration. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000;279:R569-75.
- Bisping E, Tenderich G, Barckhausen P, et al. Atrial myocardium is the predominant inotropic target of adrenomedullin in the human heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;293:H3001-7.

Santral Adrenomedüllinin Kardiyovasküler Etkileri

28. Hayakawa H, Hirata Y, Kakoki M. Role of Nitric Oxide-cGMP Pathway in Adrenomedullin-Induced Vasodilation in the Rat, *Hypertension* 1999;33:689-93.
29. Yanagawa B, Nagaya N. Adrenomedullin: molecular mechanisms and its role in cardiac disease. *Amino Acids* 2007;32(1):157-64.
30. Patel P, Li F, Hirooka Y. Role of Nitric Oxide in Central Sympathetic Outflow, *Exp Biol Med* 2001;226(9):814-24.
31. Marli C, Martins-Pinge M, Baraldi-Passy I, Lopes OU. Excitatory Effects Of Nitric Oxide Within The Rostral Ventrolateral Medulla Of Freely Moving Rats. *Hypertension* 1997;30:704-7.
32. Hirooka Y, Polson JW, Dampney RAL. Pressor And Sympathoexcitatory Effects Of Nitric Oxide In The Rostral Ventrolateral Medulla. *J Hypertens* 1996;4:1317-24.

