

Izole sıçan pulmoner damar yatagında serotoninin neden olduğu bifazik etkinin mekanizması.

Coskun SILAN¹, Cihat KÜÇÜKHÜSEYİN²

¹ Düzce Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Yrd. Doç. Dr.

² İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Prof. Dr.

ÖZET

Bu çalışmada izole perfüze sıçan akciğer preparatında serotoninin etkileri, serotonin-lidoflazin etkileşmesi ve altta yatan olası mekanizmaların ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Deneylerde serotonin yanıtına karşı nükleozid transportunu inhibe ederek endojen adenosini arttıran ve kalsiyum kanal blokleri olan lidoflazin, adenosin antagonisti teofilin, guanilat-siklaz inhibitörü metilen-mavisi (MM) ve siproheptadin kullanılmıştır.

Sonuçlarımız serotoninin pulmoner arter perfüzyon basıncında doza-bağımlı bifazik bir artma yaptığını gösterdi. Erken pressör yanıt faz-I (F₁) ve bundan sonraki düşmeyi izleyen pressör yanıt faz-II (F₂) olarak isimlendirildi. Lidoflazin, serotonine bağlı F₁'de dozla orantılı bir artma ve F₂'de inhibisyon oluşturduğu belirlendi. Siproheptadin ise; serotoninin hem F₁'de hemde F₂ yanıtlarında doza bağlı inhibisyon oluşturdu. Deneylerimizde lidoflazin F₁'de yaptığı potansiyalizasyonun siproheptadin ile anlamlı bir şekilde antagonize edildiği görüldü. Lidoflazin-siproheptadin kombinasyonu, serotoninin F₁ yanıtlarını anlamlı bir şekilde deprese etti. Lidoflazin F₂'ye inhibitör etkisi siproheptadin ile potansiyelize edildi. Teofilin F₁'de anlamlı olmayan bir artma oluşturdu ve lidoflazin F₁ yanıtlarında yaptığı potansiyalizasyonu antagonize etti; F₂'de ise anlamlı olmayan bir azalmaya neden oldu ve lidoflazin bu faza olan inhibitör etkisini güçlendirdi. MM hem F₁ hem de F₂ de inhibitör etki yaptı ve lidoflazin F₁ fazında neden olduğu artmayı engelledi.

Serotonin yanıtlarının bifazik olması sıçan pulmoner vasküler sistemde çeşitli serotonin reseptörlerin bulunduğunu düşündürmektedir. Lidoflazin F₁ arttırması, adenosini arttırması yoluyla olabilir. F₂'nin deprese edilmesi, lidoflazin F₂'yi oluşturan serotonin reseptörleri üzerine muhtemelen nonspesifik antagonistik etkisi olduğunu telkin etmektedir. Siproheptadinin F₂ üzerine olan inhibitör etkisinin F₁'den daha güçlü olması, F₁'in F₂'den daha farklı bir reseptör aracılığı ile oluşabileceğini düşündürmektedir. Teofilinin F₁ yanıtlarında lidoflazin yaptığı artışı inhibe etmesi, bu yanıtta adenosinin rolü olduğunu akla getirmektedir. MM ile yapılan deneyler serotonin yanıtlarında damar endotelinin de önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Lidoflazin, Metilen Mavisi, Pulmoner Vazokonstriksiyon, Serotonin, Siproheptadin,

The mechanism of serotonin induced biphasic effect on pulmonary vessels in the isolated perfused rat lungs.

SUMMARY

The aim of this work is detect to serotonin effect, serotonin lidoflazine interactions and possible mechanisms of these effect at isolated perfused rat pulmonary preparation. Lidoflazine, theophylline, methylene blue (MB) and cyproheptadine used in experiments. Lidoflazine is a calcium channel blocker, inhibits nucleoside transport and increase to endogenous adenosine. Theophylline antagonize to adenosine, methylene blue inhibits to guanylate cyclase.

Our results show that serotonin caused a biphasic, dose related increase at pulmonary artery perfusion pressure. Early pressure response named as phase-I (F₁) and late pressure response named as phase-II (F₂). Lidoflazine, causes a dose dependent increase at F₁ and inhibition at F₂. Cyproheptadine causes a dose related inhibition at both F₁ and F₂ serotonin responses. Our experiments show that, lidoflazine related potentiation of F₁ was significantly antagonized by cyproheptadine. Lidoflazine-cyproheptadine combination significantly inhibits to F₁ serotonin responses. Cyproheptadine potentiated to lidoflazine's inhibitory effect to F₂. Theophylline increased to F₁ but this effect isn't significant. Theophylline antagonized to lidoflazine's potentiation of F₁, nonsignificantly inhibited to F₂ and potentiated to lidoflazine's effect to this phase. MB inhibited both F₁ and F₂ and prevent from lidoflazine's effect to F₁.

Due to serotonin responses are biphasic, different serotonin receptors may have at pulmonary vascular bed. Lidoflazine's stimulant effect of F₁ may have related to adenosine increase. Due to F₂ depression, lidoflazine may have nonspecific antagonistic effect to serotonin receptors which related to F₂. Due to cyproheptadine's inhibitory effect to F₂ is stronger than F₁, F₁ may have related a different receptor compared to F₂. Theophylline's inhibition of lidoflazine's F₁ increases, indicate that adenosine have a role at this responses. MB experiments show that vascular endothelia have an important role at serotonin responses.

Key words: Lidoflazine, methylene blue, pulmonary vasoconstriction, serotonin, cyproheptadine.

GİRİŞ

Serotonin, düz kas kasilmasını kendine özgü çeşitli reseptörler aracılığıyla uyaran güçlü vazokonstriktör bir nörotransmitterdir (1). Farmakoloji yönünden önemi gittikçe artan serotoninin etki mekanizmalarının, agonist ve antagonistlerinin tanımlanması önem tasımaktadır. Lidoflazin (4-[4,4-Bis(4-florofenil)bütül]-N-(2,6-dimetilfenil)-1-piperazin asetamid) esas olarak anjina pektoris tedavisi için geliştirilmiş, damar düz kasi üzerine selektif etkili difenilalkilamin grubundan kalsiyum kanal blokeridir (2). Kalsiyum antagonisti etkisini sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salarak veya direkt olarak kontraktıl elemanları inhibe ederek göstermektedir (3). Degisik çalışmalarda lidoflazinin negatif inotropik, koroner dilatatör ve negatif kronotropik etkileri gösterilmiştir (3-5). Ayrıca adenzin metabolizmasına olan etkileri nedeniyle bir dönem adenzin regüle edici ajan olarak da siniflandırılmıştır (6, 7). Bu çalışmada, endojen adenzini potansiyalize eden lidoflazın, pürinerjik adenzin reseptörlerin spesifik antagonisti teofilin ve guanilat siklaz inhibitörü metilen mavisi kullanarak, serotoninin pulmoner damar yatagındaki etkilerine katılan süreçlerin açığa çıkarılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneylerde her iki cinsten 200-250g. ağırlığındaki Wistar Albino cinsi siçanlar kullanıldı. Hayvanlar 35 mg/kg intraperitoneal nembotal ile uyutulduktan sonra trakea kanüle edildi. Intravasküler koagülasyonu önlemek için batin açılıp, 5 mg/kg sodyum heparin vena porta içine enjekte edildi. Akcigerler Bakhle ve ark. (1969)'nin metoduna göre izole edildi (8). Trakea kanülasyonundan sonra 23 lomber vertebra hizasında abdominal aorta kesilerek kanatıldı. Göğüs bosluguna girilerek, pulmoner arter kalbe en yakın seviyede kanüle edildi. Kalp pulmoner kanülün hemen altından kesildikten sonra, akcigerler trakea ve pulmoner arter kanülüyle birlikte göğüs boslugundan çıkarıldı. Pulmoner kanül 37°C'de 5 % CO₂ - 95 % O₂ ile gazlandırılmış Krebs Hensenheit solüsyonu (NaCl 6.552, CaCl₂ 0.371, KCl 0.373, MgCl₂ 0.101, NaH₂PO₄ 0.12, NaHCO₃ 2.1, Glukoz 2.28 g/L) ile perfüzyon sistemine bağlandı. Perfüzyon hizi bir peristaltik pompa (Harvard, Model 55-

1796) ile 10 ml/dk olacak şekilde sabit tutuldu. Perfüzyonun iyi olması için akcigerler trakea yolundan 5-7 ml hava ile sisirildi. Perfüzyon basıncı Grass Model P23XL basınç transduseri üzerinden poligraf sistemine (Grass, Model 79H) kaydedildi.

Perfüzyon basıncının stabilize olması ve pulmoner yataktaki kanın tamamen temizlenmesi için 30 dakika bekleddikten sonra, serotonin logaritmik olarak artan dozlarda (0.3, 1, 3, 10, 30 µg/ml), 5 dakika aralarla ve yakın intraarteriyel enjeksiyonla uygulandı. Intraarteriyel uygulanan bütün ilaç dozları, 0.1 ml Krebs Hensenheit solüsyonu içinde eritilerek verildi. Vasküler reaktivite, 0.01µg/ml intraarteriyel noradrenalin enjeksiyonları ile kontrol edildi. Akciger ödemi gelisen preparatlar deney disi bırakıldı.

Serotonin kontrol yanıtları alındıktan sonra, içinde 0.1, 0.3, 1µg/ml lidoflazın bulunan Krebs'le perfüzyona geçildi. 10 dakika bekleddikten sonra, lidoflazınli ortamdaki serotonin yanıtları alındı. (serotonin antagonisti) siproheptadin, (adenzin antagonisti) teofilin, (guanilat siklaz inhibitörü) metilen mavisi ve bunların kombinasyonları ile yapılan deneylerde de ilaç uygulaması aynı şekilde yapıldı.

A. Deney protokolümüz aşağıdaki parametreleri değerlendirmek üzere planlanmıştır:

1. Pulmoner vasküler yatak üzerinde serotoninin etkisi (kontrol: 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30µg/ml):

2. Lidoflazının (0.1, 0.3, 1µg/ml) serotonin yanıtları üzerine etkisi

3. Siproheptadinin (0.3, 0.6, 1.2µg/ml) serotonin yanıtları üzerine etkisi.

4. Teofilinin (10⁻⁴M) serotonin yanıtları üzerine etkisi

5. Metilen mavisinin (1 µg/ml) serotonin yanıtları üzerine etkisi

6. Lidoflazın (0.3 µg/ml) varlığında siproheptadinin (0.3 µg/ml) serotonin yanıtları üzerine etkisi

7. Lidoflazın (0.3 µg/ml) varlığında teofilinin (10⁻⁴M) serotonin yanıtları üzerine etkisi

8. Lidoflazin (0.3 µg/ml) varlığında metilen mavisinin (1µg/ml) serotonin yanitlari üzerine etkisi

Teofilin, metilen mavisi ve kombine tedavilerde doz seçimi; yapılan ön çalismalarda, ilaçların pulmoner vasküler yatakta submaksimal etki gösterdiği doz seçilerek yapılmıştır.

B. İstatistiksel değerlendirme:

Pulmoner damar yatağının ilaçlara verdiği yanitlar (perfüzyon basinci degismeleri) intraarteriyel verilen 0.1 ml Krebs solüsyonunun perfüzyon basincında yaptığı sapmanın yüzdesi alınarak ifade edildi. Sonuçlar aritmetik ortalama ± standart hata olarak hesaplandı. Ortalamalar arasındaki farkın anlamlılığını belirlemek için Student t-testi ile ANOVA kullanıldı ve P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

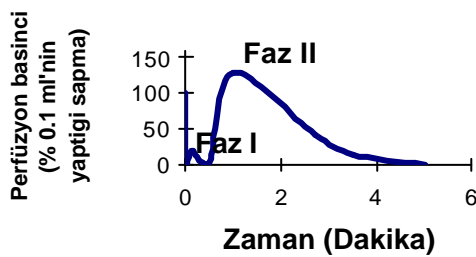
BULGULAR

A. Pulmoner arter damar yatağı üzerine serotoninin etkisi:

Sabit hızla perfüze edilen siçan pulmoner arter yatağı içine intraarteriyel olarak tatbik edilen serotonin (0.3, 1, 3, 10, 30 µg) perfüzyon basincında doza bağımlı bir artma ve pulmoner vasküler vazokonstriksiyon meydana getirdi. Etki geçici olduğu ve 30 µg dozda bile yanitlar 5 dakika içinde geri döndüğü için dozlar arası süre 6-7 dakika dolayında tutuldu (şekil-1A).

Deneylerde serotoninin perfüzyon basincında doza bağımlı bifazik pressör yanit oluşturdugu görüldü. Başlangıçtaki küçük ve erken gelişen pressör yanita faz-I (F₁) ve çok daha büyük ve geç gelişen pressör yanita ise faz-II (F₂) denildi (şekil-1A, 1B). Ayrıca, F₁ ve F₂ arasında perfüzyon basincının düştüğü vazodepresör bir faz da dikkat çekiciydi (şekil-1A).

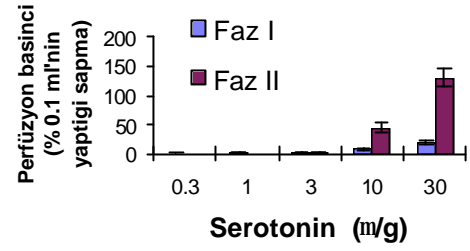
Şekil 1 A.



Şekil 1A. 30 µg intraarteriyel serotonin'den sonra pulmoner arter perfüzyon basincındaki fazik degismelerin zamana göre degisimi. F₁

başlangıçtaki küçük pressör (vazokonstriktör) faz, F₂ geç gelişen daha büyük pressör-faz.

Şekil 1B.



Şekil 1B. Logaritmik artan dozlarda intraarteriyel uygulanan serotoninin siçan pulmoner arter perfüzyon basinci üzerindeki etkisi. Her histogram 28 deneyin aritmetik ortalaması ± SH'i temsil etmektedir

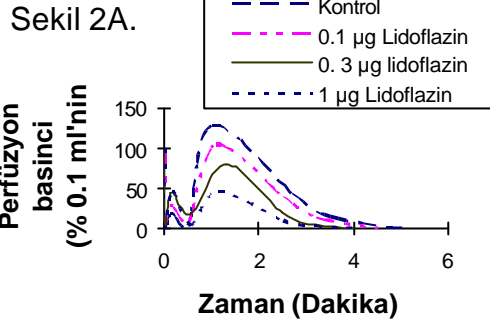
B. Lidoflazin serotonin yanitlarına etkisi:

Serotonin (0.3, 1, 3, 10, 30 µg/ml) yanitlari (şekil 1B) alındıktan sonra, içinde 0.1, 0.3 ve 1 µg/ml lidoflazin içeren Krebs ortamına geçildi. Bu yeni ortamla sürekli perfüzyonun 10. dakikasından itibaren, serotonin artan dozlarda 6-7 dakika aralarla intraarteriyel enjekte edilerek, lidoflazin serotonine bağımlı fazik yanitlar yaptığı degismeler izlendi. F₁ yanitlari doza bağımlı artis gösterirken F₂ yanitlari azalma göstermektedir (şekil 2A).

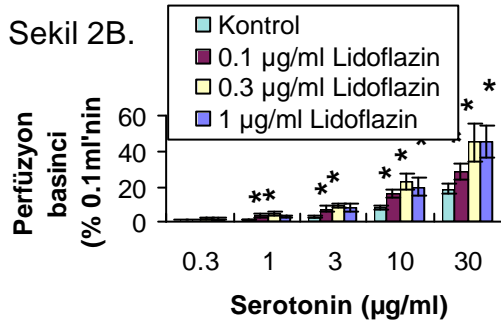
a) Faz-1 ve Faz-2 yanitlari:

Lidoflazin serotonine bağımlı F₁ yanitlari doza orantili bir artma oluşturdugu belirlendi. 0.1 ve 0.3 µg/ml lidoflazinden sonra F₁ yanitlari bu artma istatistiksel bakımdan anlamlıdır (P<0.05). Lidoflazin 1.0 µg/ml konsantrasyondaki F₁ yanitlari ise, 0.3 µg/ml lidoflazini ortamındaki yanitlara yakındır. Sadece 10 ile 30 µg serotonin yanitlari artışı anlamlı bulundu (P<0.05) (şekil 2A ve 2B).

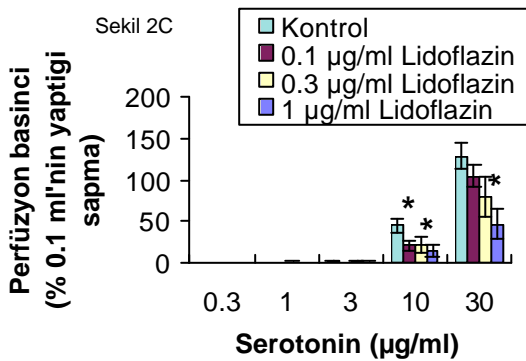
Lidoflazin (0.1, 0.3, 1.0 µg/ml) serotonine bağımlı F₁ serotonin yanitlari tersine, F₂ yanitlari konsantrasyona bağımlı bir inhibisyon oluşturmamıştır (şekil 2C). Sadece 0.1 µg/ml lidoflazini ortamında 10 µg serotonin ve 1.0 µg/ml lidoflazini ortamında 10 ve 30 µg serotoninin oluşturdugu F₂ yanitlari, kontrole göre olan azalma, istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P<0.05).



Sekil 2A. İzole sıçan pulmoner arter yatağında 30 µg serotoninin oluşturduğu F₁ ve F₂ yanıtları üzerine lidoflazin (0.1, 0.3, 1 µg/ml) etkileri



Sekil 2B. Değişik lidoflazin konsantrasyonlarının F₁ serotonin yanıtları üzerine etkisi. Herbir histogram 6-28 deneyin aritmetik ortalaması ± SH'i temsil etmektedir. *: P<0.05, kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir.



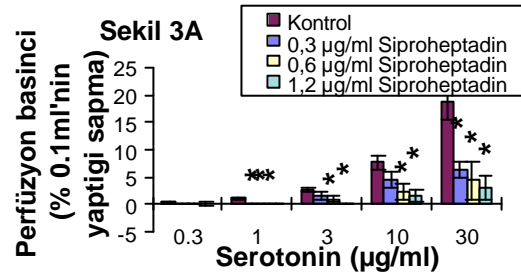
Sekil 2C. İzole sıçan pulmoner arter yatağında serotonine bağlı F₂ yanıtları üzerinde lidoflazin (0.1, 0.3, 1 µg/ml)in etkisi. Herbir histogram 6-28 deneyin aritmetik ortalaması ± SH'i temsil etmektedir. *: P<0.05, kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir.

C. Siproheptadinin serotonin yanıtlarına etkileri: Serotonin yanıtları (şekil 1B.) alındıktan sonra, içinde 0.3, 0.6 ve 1.2 µg/ml siproheptadin bulunan Krebs solüsyonu ile perfüzyona geçildi. Bu yeni ortamda, sürekli perfüzyonun 10. dakikasından itibaren serotonin artan dozlarda 6-7 dakika aralarla, intraarteriyel yolla enjekte edilerek, lidoflazin serotonin'e bağlı fazik kontrol yanıtlarında yaptığı değişimler izlendi (şekil 3A, 3B).

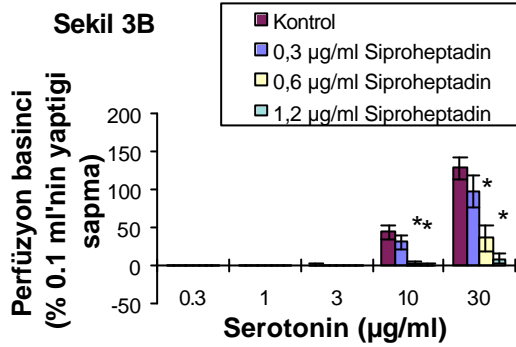
a) Faz-1 ve Faz-2 yanıtları :

Siproheptadin, F₁ serotonin yanıtlarında dozla uyumlu bir inhibisyon saptandı (şekil-3A). Üç farklı siproheptadin konsantrasyonunda (0.3, 0.6, 1.2 µg/ml), serotoninin F₁ yanıtlarında doza bağlı, anlamlı bir inhibisyon görüldü (P<0.05).

Siproheptadin (0.3, 0.6 ve 1.2 µg/ml) serotoninin F₁ yanıtlarındaki benzer şekilde, F₂ yanıtlarında da doza bağlı bir inhibisyon oluşturdu (şekil 3B). Siproheptadinin 0.3 µg/ml dozunda uygulandıktan sonra, tüm serotonin dozlarına bağlı F₂ yanıtlarda, kontrole göre anlamsız bir azalma görülürken 0.6 ve 1.2 µg/ml siproheptadin esliğinde elde edilen yanıtlardaki inhibisyon ise, 10 ve 30 µg/ml serotonin dozları için anlamlı bulundu (P<0.05).



Sekil 3A. İzole sıçan pulmoner arter yatağında F₁ serotonin yanıtları üzerinde siproheptadin (0.3, 0.6, 1.2 µg/ml)in etkisi. Her bir histogram, 5-28 deneyin aritmetik ortalaması ± SH'i temsil etmektedir. *: P<0.05, kontrole göre anlamlılık belirtmektedir.



Sekil 3B. İzole sıçan pulmoner arter yatağında F₂ serotonin yanıtları üzerine siproheptadinin etkisi. Her bir histogram, 5-28 deneyin aritmetik ortalaması ± SH'i temsil etmektedir. * P<0.05, kontrole göre anlamlılık belirtmektedir.

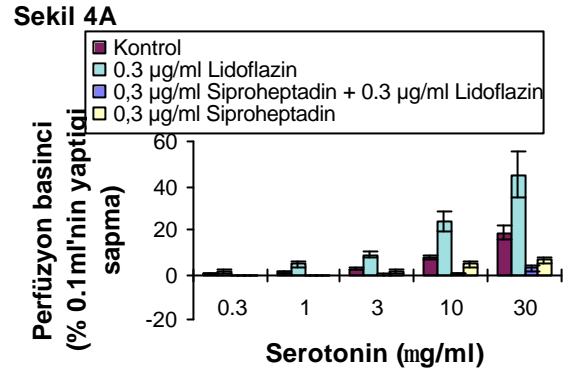
D. Serotonin yanıtları üzerinde siproheptadin lidoflazin etkileşmesi:

Serotonin yanıtları alındıktan sonra, önce içinde 0.3µg/ml siproheptadin ve arkasından 0.3 µg/ml siproheptadin + 0.3 µg/ml lidoflazin bulunan Krebs solüsyonu ile perfüzyona geçildi. Bu yeni ortamlarla sürekli perfüzyonun 10. dakikasından itibaren, serotonin belirlenen dozlarda intraarteriyel uygulanarak, F₁ ve F₂ yanıtlarındaki değişimler saptandı (sekil 4A, 4B).

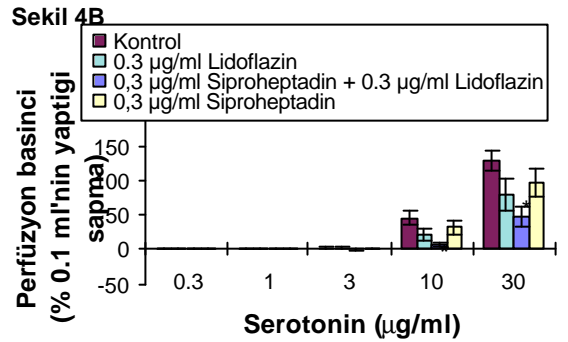
a) Faz-1 ve Faz-2 yanıtları:

Sekil 2'te görüldüğü gibi 0.3 µg/ml lidoflazin F₁ serotonin yanıtlarında anlamlı bir potansiyalizasyon yaptı (sekil 4A). Lidoflazin F₁ yanıtlarında yaptığı bu potansiyalizasyon 0.3 µg/ml siproheptadin ile anlamlı bir şekilde antagonize edildi. Lidoflazin ve siproheptadin kombinasyonu serotoninin F₁ yanıtlarını da anlamlı bir şekilde deprese etti.

0.3 µg/ml lidoflazin, F₁ serotonin yanıtlarının tersine, F₂ yanıtlarında anlamlı bir inhibisyon oluşturdu (sekil 4B). Lidoflazin F₂ serotonin yanıtlarında yaptığı bu inhibisyon, 0.3 µg/ml siproheptadin esliğinde daha da güçlendi ve bu, 10 ve 30 µg serotoninin oluşturduğu kontrol yanıtlarına göre de anlamlı bulundu (P<0.05). Tek başlarına lidoflazin ve siproheptadinin F₂ serotonin yanıtları üzerine olan inhibitör etkilerinin, bu iki bileşik kombine edildiği zaman, potansiyelize edildiği görüldü (sekil 4B).



Sekil 4A. İzole sıçan pulmoner arter yatağında F₁ serotonin yanıtları üzerine lidoflazin (0.3µg/ml), lidoflazin + siproheptadin (0.3 µg/ml) ve 0.3 µg/ml siproheptadinin etkileri. Her bir histogram, 6-28 deneyin aritmetik ortalaması ± SH'i temsil etmektedir. Kontrol yanıtlarına göre *: P<0.05 Lidoflazin yanıtlarına göre †: P<0.05



Sekil 4B. İzole sıçan pulmoner arter yatağında F₂ serotonin yanıtları üzerine lidoflazin (0.3 µg/ml), lidoflazin + siproheptadin (0.3 µg/ml) ve 0.3 µg/ml siproheptadinin etkileri. Her bir histogram, 6-28 deneyin aritmetik ortalaması ± SH'i temsil etmektedir. Kontrol yanıtlarına göre *: P<0.05

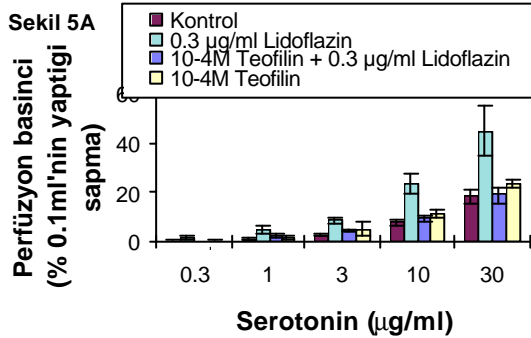
E. Serotonin yanıtları üzerinde teofilin ve teofilin + lidoflazin etkileşmesi:

Serotonin yanıtları alındıktan sonra, önce içinde 10⁻⁴M teofilin ve arkasından içinde 10⁻⁴M teofilin + 0.3 µg/ml lidoflazin bulunan krebs solüsyonu ile perfüzyona geçildi. Bu yeni ortamlarla sürekli perfüzyonun 10. dakikasından itibaren serotonin belirlenen dozlarda intraarteriyel uygulanarak, kontrol F₁ ve F₂ serotonin yanıtlarındaki değişimler saptandı (sekil 5A, 5B).

a) Faz-1 ve Faz-2 yanıtları:

Teofilin (10^{-4} M), F_1 serotonin yanıtlarında anlamlı olmayan hafif bir artma oluşturdur (şekil 5A). Lidoflazın ($0.3 \mu\text{g/ml}$) ise, şekil 2 de görüldüğü gibi, bu yanıtlarda anlamlı bir potansiyalizasyona neden oldu ($P<0.05$). Teofilin'li ortamda, lidoflazının F_1 serotonin yanıtlarında yaptığı bu potansiyalizasyon, bütün serotonin dozlarında anlamlı olarak antagonize edildi ($P<0.05$). Bu bulgu F_1 serotonin yanıtlarında endojen adenosinin ve P_1 -pürinoseptörlerin bir rol oynadığını akla getirmektedir.

Teofilin (10^{-4} M), F_2 serotonin yanıtlarında, $10 \mu\text{g/ml}$ serotonin yanıtları dışında anlamlı olmayan bir azalmaya neden oldu (şekil 5B). Lidoflazın ($0.3 \mu\text{g/ml}$)'de benzer şekilde, bu yanıtları inhibe etti. Teofilin lidoflazın kombinasyonu ise bu bileşiklerin tek başlarına F_2 serotonin yanıtları üzerine olan inhibitör etkilerinde güçlenmeye neden oldu ve bu inhibisyon kontrol yanıtlarına göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P<0.005$).



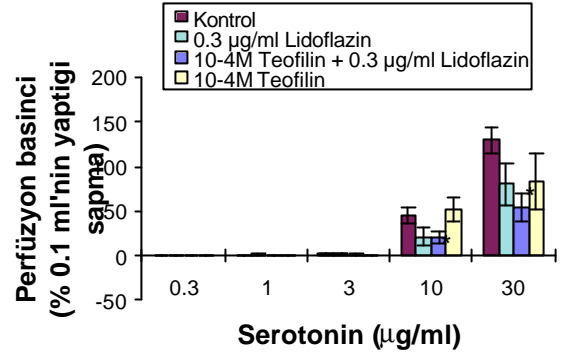
Şekil 5A. İzole siçan pulmoner arter yatagında F_1 serotonin yanıtları üzerine 10^{-4} M teofilin, $0.3 \mu\text{g/ml}$ lidoflazın ve lidoflazın + teofilinin etkileri.

Her bir histogram, 5-28 deneyin aritmetik ortalaması \pm SH'i temsil etmektedir.

Kontrol yanıtlarına göre *: $P<0.05$

Lidoflazın ($0.3 \mu\text{g/ml}$) yanıtlarına göre +: $P<0.05$

Şekil 5B



Şekil 5B. İzole siçan pulmoner arter yatagında F_2 serotonin yanıtları üzerine 10^{-4} M teofilin, $0.3 \mu\text{g/ml}$ lidoflazın ve lidoflazın + teofilinin etkileri.

Her bir histogram, 5-28 deneyin aritmetik ortalaması \pm SH'i temsil etmektedir.

Kontrol yanıtlarına göre *: $P<0.05$

F. Serotonin yanıtları üzerinde metilen mavisi ve metilen mavisi + lidoflazın etkileşmesi:

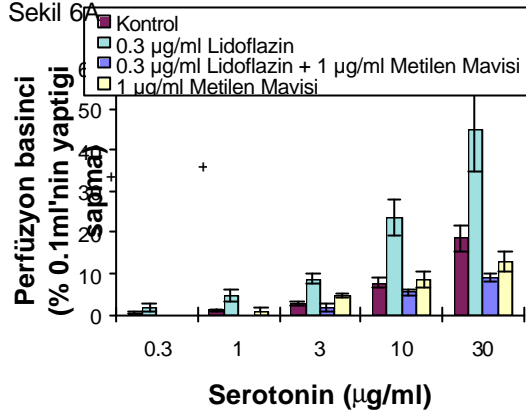
Kontrol serotonin yanıtları alındıktan sonra, önce içinde $1 \mu\text{g/ml}$ metilen mavisi ve arkasından $1 \mu\text{g/ml}$ metilen mavisi + $0.3 \mu\text{g/ml}$ lidoflazın bulunan Krebs solüsyonu ile perfüzyona geçildi. Bu yeni ortamla sürekli perfüzyonun 10. dakikasından itibaren serotonin belirlenen dozlarda intraarteriyel enjekte edilerek, kontrol F_1 ve F_2 serotonin yanıtlarındaki değişimler saptandı (şekil 6A, 6B).

a) Faz-1 ve Faz-2 yanıtları:

Metilen mavisi ($1 \mu\text{g/ml}$) F_1 serotonin yanıtlarında anlamlı olmayan bir azalma yaptı. Lidoflazının ($0.3 \mu\text{g/ml}$) F_1 yanıtlarında oluşturduğu potansiyalizasyon lidoflazın + metilen mavisi içeren ortama geçildiğinde, metilen mavisi tarafından, bütün serotonin dozlarında anlamlı bir şekilde deprese edildi ($P<0.01$) (şekil 6A).

Metilen mavisi ($1 \mu\text{g/ml}$) F_2 serotonin yanıtlarında, sadece $10 \mu\text{g}$ serotonin dozunda anlamlı olmak üzere dozla uyumlu bir azalma oluşturdur (şekil 6B). Metilen mavisi ($1 \mu\text{g/ml}$) + lidoflazın ($0.3 \mu\text{g/ml}$), F_2 serotonin yanıtlarında kontrole göre, 10 ve $30 \mu\text{g}$ serotonin dozlarında istatistiksel bakımdan anlamlı bir azalma yaptı; yine bu kombinasyon,

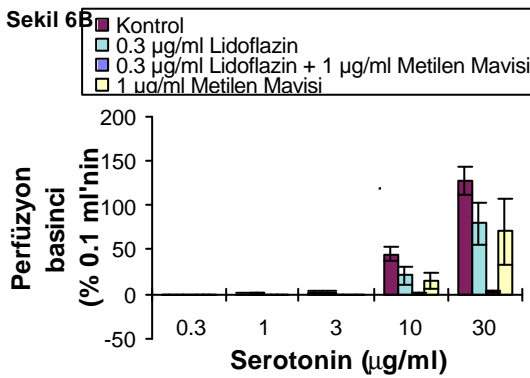
lidoflazin'li ortamdaki F_2 yanıtlarında, 10 ve 30 μg serotonin dozlarında anlamlı bir azalmaya neden oldu. Pulmoner arter damar yatagında serotoninin oluşturduğu F_1 ve F_2 yanıtları üzerine metilen mavisinin bu inhibitör etkileri, serotoninin vasküler etkilerinde damar endotelinin de bir role sahip olduğunu telkin eder.



Sekil 6A. İzole siçan pulmoner arter yatagında F_1 serotonin yanıtları üzerine 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ metilen mavisi, 0.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ lidoflazin ve metilen mavisi + lidoflazin etkileri. Her bir histogram, 5-28 deneyin aritmetik ortalaması \pm SH'i temsil etmektedir.

Kontrol yanıtlarına göre *: $P < 0.05$

Lidoflazin yanıtlarına göre +: $P < 0.05$



Sekil 6B. İzole siçan pulmoner arter yatagında F_2 serotonin yanıtları üzerine 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ metilen mavisi, 0.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ lidoflazin ve metilen mavisi + lidoflazin etkileri.

Her bir histogram, 5-28 deneyin aritmetik ortalaması \pm SH'i temsil etmektedir.

Kontrol yanıtlarına göre *: $P < 0.05$

Lidoflazin yanıtlarına göre +: $P < 0.05$

TARTISMA

Son zamanlarda damar düz kasi tonusunun düzenlenmesinde damar endoteli ve buradan saliverilen yerel vazoaaktif maddelerin önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Bu aktif maddeler arasında AII, NO, Endotelin, PGI_2 , TXA_2 , PAF, 5HT ve Adenozin bulunmaktadır (9-13). Vasküler düz kasin kontraktilitesini etkileyen maddelerden bir kısmının, bu etkilerini kısmen ya da tümüyle endotel üzerinden indirek yolla yaptigina ilişkin inandırıcı deliller elde edilmiştir. Bu temel bilgilerin ışığında, kendine özgü çeşitli reseptörler aracılığıyla uyarıcı güçlü vazokonstriktör bir nörotransmitter olan serotoninin pulmoner damar yatagi üzerine etkilerini değerlendirirken, düz kas üzerindeki çeşitli reseptör tipleri ile etkileşim yanında, endotel üzerine olabilecek etkileride göz önünde tutulması gerekmektedir (1).

Lidoflazin esas olarak anjina pectoris tedavisi için geliştirilmiştir, damar düz kasi üzerine selektif etkili difenilalkilamin grubundan kalsiyum kanal blokeridir (2). Kalsiyum antagonisti etkisini sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salarak veya direkt olarak kontraktıl elemanları inhibe ederek göstermektedir (3). Değişik çalışmalarda lidoflazinın negatif inotropik (3, 4), koroner dilatör (3, 5) ve negatif kronotropik (5) etkileri gösterilmiştir. Ayrıca adenozin metabolizmasına olan etkileri nedeniyle bir dönem adenozin regüle edici ajan olarak da sınıflandırılmıştır (6, 7).

Bu çalışmada, endojen adenozini potansiyalize eden lidoflazin, pürinerjik adenozin reseptörlerin spesifik antagonisti teofilin ve guanilat siklaz inhibitörü metilen mavisi kullanarak, serotoninin pulmoner damar yatagındaki etkilerine katılan süreçlerin açığa çıkarılması amaçlanmıştır.

Siçan pulmoner damar yatagında serotoninin neden olduğu vazokonstriksiyonun F_1 ve F_2 fazından 5-HT_{1D} ve $5\text{-HT}_{2A, 2B}$ birlikte sorumlu olabilir (14-18).

F_1 'den sonraki gevşeme ise 5-HT_1 'e bağlı vazodilatasyonla ilişkili olabilir. Muhtemelen 5-HT_1 aktivasyonu ve buna bağlı EDRF salgısı sonucu olan vazodilatasyon (10, 13, 14, 16, 19), F_1 'i oluşturan reseptör ya da reseptörlerin aktivasyonundan daha yavaş ve aktivasyondaki bu faz farkı serotoninin vazokonstriktör etkisinde dalgalanmaya neden olmaktadır.

Siproheptadin 5-HT_2 'yi daha selektif hem F_1 ve hem de F_2 'de doza bağımlı olmak üzere

deprese eder ve F_2 üzerine olan inhibitör etkisi daha güçlüdür. Bu durum, F_1 'in F_2 'den daha farklı bir reseptör aracılığı ile oluşabileceğini (5-HT_{1D}) ve siproheptadinin 5-HT₂ için tam selektif olmadığını telkin eder. Belki de her iki fazın oluşmasında, bu reseptörlerin müsterek bir rolü vardır (20).

Lidoflazin F_1 'i doza bağımlı olarak arttırırken F_2 'yi deprese eder. Bilindiği gibi lidoflazin endojen adenozinin uptake ve metabolizmasını deprese ederek indirek yolla düz kas kasılmasını etkiler (21). Adenozin pulmoner yatakta vazokonstriksiyon yaptığına göre, lidoflazin de bu damar yatağında vazokonstriksiyon yapması beklenir. Lidoflazin F_1 serotonin yanıtlarını potansiyelize etmesi bu yolla olabilir. Ancak her iki fazın lidoflazin ile aynı yönde etkilenmemesi ve tersine F_2 'in deprese edilmesi, lidoflazin F_2 'yi oluşturan serotonin reseptörleri üzerine muhtemelen nonspesifik antagonistik bir etkisi olduğunu telkin eder (22). Bu durum daha ileri düzeyde araştırmaya açıktır. Lidoflazin F_1 üzerine olan etkisi siproheptadinle tersine çevrilmiş ve normal serotonin etkisi antagonize edilmiştir. F_2 yanıtlarında ise siproheptadinin antagonistik etkisi, lidoflazin ile daha da güçlenmiştir. Bu bulgu, lidoflazin serotonin reseptörleri ile etkileşiminin bir göstergesi olabilir. Ayrıca serotoninin uptake üzerinde bir etkisi de olası görülmemektedir, çünkü her iki faz zıt yönde etkilenmektedir.

Teofilinin, F_1 yanıtlarında lidoflazin yaptığı artmayı inhibe etmesi, bu yanıtta adenozinin rolünü akla getirmektedir. Burada muhtemelen lidoflazinle endojen adenozin artısına bağlı vazokonstriktör pürinoseptör

aktivasyonunun P_1 -pürinoseptör spesifik teofilin ile antagonizması söz konusudur (12). Teofilinin F_2 serotonin yanıtlarını antagonize etmesi ise bu ksantin türevinin fosfodiesteraz inhibisyonu ile düz kas hücrelerinde cAMP düzeylerini arttırması ve bu yolla vazodilatasyon oluşturmaya ile açıklanabilir.

Metilen mavisi ile yapılan deneyler, serotonin yanıtlarında damar endotelinin önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Guanilat siklazi inhibe ederek NO'nin vazodilatatör etkisini antagonize eden ve muhtemelen tüm endotel fonksiyonlarını bozan metilen mavisi (23, 24) gerek serotoninin F_1 yanıtlarını ve gerekse F_1 yanıtlarında lidoflazine bağlı artmayı deprese etmektedir. Benzer şekilde F_2 yanıtları da antagonize olmaktadır. Ancak lidoflazin ve metilen mavisi kombinasyonu, F_2 yanıtlarında bu bileşiklerin tek başlarına yaptığı inhibisyonu belirgin şekilde güçlendirmektedir. Metilen mavisinin bu etkisini salt NO inhibisyonu ile açıklamak yeterli değildir. Çünkü serotoninin etkisinde damar endotelinden salıverilen PGF_{2 α} , TXA₂ endotelin, PAF ve PGI₂ gibi aktif endojen maddelerin de bir rolü vardır (20, 23, 25, 26). Metilen mavisi ile damar endotelinin bozulması bunlardan vazokonstriktör olanlarının salgısını azaltarak pasif vazodilatasyona ve dolayısı ile yukarıda sözü edilen inhibitör etkilere neden olabilir.

Yazisma Adresi: Yrd. Doç. Dr. C. SILAN,
Düzce Üniversitesi, Düzce Tıp Fakültesi,
Farmakoloji Anabilim Dalı, 81500 Konuralp-Düzce,
Türkiye. email: csilan@hotmail.com

KAYNAKLAR

1. Süzer Ö: Serotonin, serotonin reseptörlerinin baslıca etki yerleri ve fonksiyonları: Süzer Farmakoloji. 3. baskı: İstanbul. Klinisyen Tıp Kitabevleri. 150-4, 2005.
2. Ridley JM, Dooley PC, Milnes JT, Witchel HJ, Hancox JC: Lidoflazine is a high affinity blocker of the HERG K(+) channel. J Mol Cell Cardiol. 36:701-5, 2004.
3. Hugtenburg JG, Mathy MJ, Boddeke HW, Beckeringh JJ, Van Zwieten PA: Differences between negative inotropic and vasodilator effects of calcium antagonists acting on extra and intracellular calcium movements in rat and guinea-pig cardiac preparations. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 340:567-75, 1989.
4. Barry WH, Horowitz JD, Smith TW: Comparison of negative inotropic potency, reversibility, and effects on calcium influx of six calcium channel antagonists in cultured myocardial cells. Br J Pharmacol. 85:51-9, 1985.
5. Boddeke HW, Wilffert B, Heynis JB, Van de Haar Keuken V, Jonkman FA, Van Zwieten PA: A comparison of the cardiac and vasodilatory effects of some calcium entry blockers in perfused isolated guinea-pig hearts. Arch Int Pharmacodyn Ther. 288:175-85, 1987.

6. Engler RL, Gruber HE: Adenosine: An autocooid, in Fozzard HA, Haber E, Jennings RB, et al (eds): *The Heart: An Cardiovascular System*, New York, Raven Press. pp: 1745-1764, 1992.
7. Chang-Chun C, Masuda M, Szabo Z, Szerafin T, Szecsi J, Van Belle H, Flameng W: Nucleoside transport inhibition mediates lidoflazine-induced cardioprotection during intermittent aortic crossclamping. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 104:1602-9, 1992.
8. Bakhle YS, Reynard AM, Vane JR: Metabolism of the angiotensins in isolated perfused tissues. *Nature.* 222:956-9, 1969.
9. Burkhalter A, Julius D, Frick OL: Serotonin. *Pharmacology* (edited by Katzung BG) Appleton & Lang. (USA) sixth edition 262-266, 1995.
10. Cohen RA, Shepherd JT, Vanhoutte PM: Inhibitory role of the endothelium in the response of isolated coronary arteries to platelets. *Science.* 221:273-4, 1983.
11. Humphrey PP, Feniuk W, Perren MJ, Connor HE, Oxford AW, Coates LH, Butina D: GR43175, a selective agonist for the 5-HT₁-like receptor in dog isolated saphenous vein. *Br J Pharmacol.* 94:1123-32, 1988.
12. Küçük Hüseyin C: Purinergic sinir sistemi. *Cerrahpaşa Tıp Fak. Derg.* 22:161-170, 1991.
13. Van Zwieten PA: Conclusions on the position of uradipil. *Am. J. Cardiol.* 64:38-39D, 1989.
14. Eder V, Gautier M, Boissiere J, Girardin C, Rebocho M, Bonnet P. Gamma irradiation induces acetylcholine-evoked, endothelium-independent relaxation and activates K-channels of isolated pulmonary artery of rats. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 60:1530-7, 2004.
15. Neely CF, Haile D, Matot I: Tone dependent responses of 5-hydroxytryptamine in the feline pulmonary vascular bed are mediated by two different 5-hydroxytryptamine receptors. *J Pharmacol Exp Ther.* 264:1315-26, 1992.
16. Morecroft I, MacLean MR: 5-hydroxytryptamine receptors mediating vasoconstriction and vasodilation in perinatal and adult rabbit small pulmonary arteries. *Br J Pharmacol.* 125:69-78, 1998.
17. Saxena PR, Verdouw PD: 5-Carboxamide tryptamine, a compound with high affinity for 5-hydroxytryptamine₁ binding sites, dilates arterioles and constricts arteriovenous anastomoses. *Br J Pharmacol.* 84: 533-44, 1985.
18. Verdouw PD, Jennewein HM, Heiligers J, Duncker DJ, Saxena PR: Redistribution of carotid artery blood flow by 5-HT: effects of the 5-HT₂ receptor antagonists ketanserin and Wal 1307. *Eur J Pharmacol.* 102: 499-509, 1984.
19. Lipton HL, Hao Q, Hyman A: L-NAME enhances pulmonary vasoconstriction without inhibiting EDRF-dependent vasodilation. *J Appl Physiol.* 73:2432-9, 1992.
20. Yildiz O, Tuncer M: 5HT₁-like and 5HT_{2A} receptors mediate 5-hydroxytryptamine-induced contraction of rabbit isolated mesenteric artery. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch-Pharmacol.* 352:127-131, 1995.
21. Engler RL: Lidoflazine in the treatment of comatose survivors of cardiac arrest [letter]. *N Engl J Med.* 325:1046-7, 1991.
22. Turker MN, Turker RK: Analgesic action of lidoflazine (R 7904). *Eur J Pharmacol.* 11: 90-5, 1970.
23. Emori T, Hirata Y, Kanno K, Ohta K, Eguchi S, Imai T, Shichiri M, Marumo F: Endothelin-3 stimulates production of endothelium-derived nitric oxide via phosphoinositide breakdown. *Biochem Biophys Res Commun.* 174:228-235, 1991.
24. Haluzik M, Nedvidkova J, Schreiber V: Methylene blue an endocrine modulator. *Sb Lek.* 96:319-22, 1995.
25. Golino P, Piscione F, Willerson JT, Cappelli Bigazzi M, Focaccio A, Villari B, Indolfi C, Russolillo E, Condorelli M, Chiariello M: Divergent effects of serotonin on coronary-artery dimensions and blood flow in patients with coronary atherosclerosis and control patients. *N Engl J Med.* 324:641-8, 1991.
26. Hadj Kaddour K, Michel A, Chevillard C: Endothelin-1 and Endothelin-3 relax isolated guinea pig trachea through different mechanisms. *J Cardiovasc Pharmacol. Suppl* 3:115-6, 1995.