T.C
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ

SİKLİK AMP (DBcAMP)'NİN ARTER TANSİYONU ÜZERİNE REFLEKS ETKİLEŞİMLERİ

Arş. Gör. Figen TARAKÇI

Sağlık bilimleri enstitüsü
Fizyoloji Anabilim Dalı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Nuran EKERBİÇER

Manisa 2005

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU TEZ MERKEZİ
TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Tez No :

Yazar Adı / Soyadı: Figen TARAKÇI

T.C. Kimlik No: 60160127610

E- Posta Adresi : figentarakci@hotmail.com

Tezin Özgün Dili: Türkçe

Tezin Adı: Siklik AMP (DbcAMP)'nin Arter Tansiyonu Üzerine Refleks Etkileşimleri

Tezin Türkçe Adı: Siklik AMP (DbcAMP)'nin Arter Tansiyonu Üzerine Refleks Etkileşimleri

Tezin Yabancı Dildeki Adı: The reflex interaction of cyclic AMP (DBcAMP) on arterial pressure

Tezin Konu Başlığı : **1.** Dibütiril siklik AMP
2. İkincil haberciler
3. Refleks etkileşimler

Tezin Yapıldığı Yer:

Üniversite: Celal Bayar Üniversitesi

Enstitü: Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Fakülte: Tıp Fakültesi

AD / Bölüm: Fizyoloji Anabilim Dalı

Tez Türü: Yüksek Lisans

Tez Yılı: 2005

Sayfa Sayıları: 79

Giriş sayfaları: 15 **Ana bölüm:** 64

Tez Danışmanı:

Türkçe Dizin Terimleri	**İngilizce dizin terimleri**
Dibütiril siklik AMP	DBcAMP
İkincil haberciler	Sekonder messengers
Refleks etkileşimler	Reflex interaction
Hipertansiyon	Hypertansion

Proje No :

Tarih:23 /11/ 2005
İmza:

TUTANAK

Figen TARAKÇI'nın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı 'Siklik AMP (DBcAMP)'nin arter tansiyonu üzerine refleks etkileşimleri' başlıklı bu çalışma jürimizce Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

..../ .../ 2005

Üye:

Üye:

Üye:

Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .....gün ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü Vekili

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
Yayın ve Dökümantasyon Dairesi Başkanlığı
Tez Merkezi
TEZLERİN ÇOĞALTILMASI VE YAYIMI İÇİN İZİN BELGESİ

Tez yazarının:

Soyadı: TARAKÇI **Adı: Figen**
Uyruğu: T.C. **T.C. Kimlik No:** 60160127610

Üniversite: Celal Bayar Üniversitesi
Enstitü: Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Mezuniyet tarihi:
Tezin Başlığı: Siklik AMP (DbcAMP)'nin Arter Tansiyonu Üzerine Refleks Etkileşimleri

Tezin desteklendiği Proje No:

□ a) Enstitümüz bünyesinde hazırlanmış olan yukarıda başlığı, yazar adı ve proje numarası belirtilen tezin ilgilenenlerin incelemesine sunulmak üzere Yükseköğretim Kurulu Tez Merkezi tarafından arşivlenmesi, kağıt, mikroform veya elektronik formatta, internet dahil olmak üzere her türlü ortamda tamamen veya kısmen çoğaltılması, ödünç verilmesi dağıtım ve yayım için, tezle ilgili fikri mülkiyet hakları kurumumuzda saklı kalmak üzere hiçbir ücret ve erteleme talep etmeksizin Yükseköğretim Kurulu Tez Merkezine izin verilmiştir.

□ b) Enstitümüz bünyesinde hazırlanmış olan yukarıda başlığı, yazar adı ve proje numarası belirtilen tezin Yükseköğretim Kurulu Tez Merkezi tarafından çoğaltılması veya yayımının …….tarihine kadar ertelenmesini talep ederiz. Bu tarihten sonra (a) maddesindeki koşulların geçerli olacağını kabul ve beyan ederiz.(Erteleme süresi en az 2 yıldır.)

Enstitü Müdürü/Dekan/Başhekim İmza Tarih

…… …….. …….

TEŞEKKÜR

Fizyoloji eğitimim boyunca, bana çalışma disiplini ve sevgisi aşılayan, bilgi ve deneyimlerinden her zaman yararlandığım çok değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Mustafa Özbek'e, Sayın Yrd. Doç. Dr. Nuran Ekerbiçer'e, Sayın Yrd. Doç. Dr. Necip Kutlu'ya,

Tez çalışmam sırasında her konuda bana destek, teşvik ve yardımlarını esirgemeyen, hayat görüşüyle her zaman hayranlık duyduğum ve örnek aldığım danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Nuran Ekerbiçer'e,

Yüksek Lisans eğitimine beni teşvik eden ve her zaman beni özveriyle dinleyen, çok saygı ve minnettarlık duyduğum Prf. Dr. Ahmet Özbilgin'e, Doç. Dr. Kor Yereli'ye, Doç. Dr.Nogay Girginkardeşler'e, Arş. Gör. Dr. Özgür Kurt'a

Güler yüzleri ve samimiyetleri için değerli arkadaşlarım Uzm. Dr. Ceyda Hayretdağ'a, Arş. Gör. Serap Cilaker'e, Arş. Gör. Dr.Elçin Çöllü'ye, Arş. Gör. Dr Alp Tezcan'a, Arş. Gör.Dr. Ahenk Paksoy'a Arş. Gör. Fehmi Özel'e ve diğer asistan arkadaşlarıma,

Ve varlıklarıyla bana her zaman mutluluk veren ve destek olan canım aileme çok teşekkür ederim.

Figen TARAKÇI

ÖZET

Dibütiril siklik adenosin monofosfat (DBcAMP), ikincil haberci olan cAMP'nin bir türevidir. cAMP'den farklı olarak hücre içine kolayca penetre olabilmektedir. Bu nedenle DBcAMP'nin, cAMP'ye ait bilinen etkileri oluşturması beklenir. Gerçektende DBcAMP'nin ortalama arteriyal basınçta belirgin azalma yaptığı ve bu etkinin temel olarak vazodilatasyon yapıcı etkisine bağlı olduğu bildirilmiştir. DBcAMP'nin ortalama arter basıncı ve kalp hızında oluşturduğu azalma normal vagal tonüs varlığında gerçekleşmektedir. Bu azaltıcı etkinin doza bağlı ortaya çıkmaması, bir refleks cevabın olabileceğini akla getirmektedir. Çalışmamızda, bu refleks yanıtta parasempatik etkileşimi ortaya koyabilmek için; DBcAMP verilmesinin hemen ardından, unilateral olarak sol servikal vagotomi yapılması ve kan basıncı ve kalp hızı değişimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda deney hayvanı olarak 250-280 gram ağırlığındaki Sprague-Dawley türü sıçanlar kullanıldı. DBcAMP'ye ait doz-cevap eğrisi belirlendikten sonra, dört grup oluşturuldu (n=28). **İlk gruba** (kontrol grubu) 1 ml'lik serum fizyolojik (SF) femoral arterden bolus tarzında uygulandı. **İkinci gruba** 15 mg/kg DBcAMP, 1 ml'lik SF içinde ayni şekilde verildi. **Üçüncü gruba** sol vagus sinir kesisi uygulandı. Son gruba ise (**dördüncü grup**) hem DBcAMP verilip, hem de 3. dakikada servikal sol vagal sinir kesisi (vagotomi) uygulandı. Her hayvanda ortalama arter basıncı (MAP) ve kalp hızı (HR) değerleri 1 saat süre ile ölçüldü.

DBcAMP'nin doza bağlı etkilerinin sonucunda, HR ve MAP değerlerindeki azaltıcı etkisinin doza bağımlı olmadığı gösterilmiştir ve bu nedenle kompleks refleks mekanizmaların söz konusu olabileceği ileri sürülmüştür. DBcAMP uygulaması ile vagotomi birlikte etki ettiğinde, özellikle HR azalması daha belirgin olmuştur, yani bir potansiyalizasyon oluşmuştur. MAP değerlerinde bulunan benzerlik ise, DBcAMP'nin etkisini vagotominin nötralize edemediği kanısını yaratmaktadır. Sonuç olarak DBcAMP'nin kardiyovasküler depresif etkisinin; özellikle MAP düzeyinin, vagal refleksler dışında başka regülatör yada ikincil haberciler üzerinden düzenlenebileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: DBcAMP, İkincil haberciler, Refleks etkileşimler, Hipertansiyon

SUMMARY

Dibutiryl cyclic adenosine monophosphate (DBcAMP) is a derivative of cAMP, a second messenger. The difference between cAMP is its easy penetration into the cell. Therefore, DBcAMP is expected to show similar effects as cAMP. Indeed, DBcAMP causes significant decreases in mean arterial blood and this decrease is generally attributed to its vasodilatative effect. The decreasing effect in mean arterial blood pressure and heart rate of DBcAMP occurs in the presence of normal vagal tone. The fact that this decrease is not dose dependent suggests that this may be reflex response. In the present study, we have examined the blood pressure and heart rate following DBcAMP administration and left unilateral cervical vagotomy to reveal the role of parasympathetic interactions in this reflex response.

We used Sprague-Dawley rats weighing 250-280 g in the experiment. Once the dose-response curve of DBcAMP is established, four groups are formed (n=28). **First group** (control group) received 1 mL saline bolus through the femoral artery. **Second group** had 15 mg/kg DBcAMP in 1 mL saline. **Third group** underwent left vagotomy. **Fourth group** had 15 mg/kg DBcAMP and had left cervical vagotomy 3 minutes afterwards. Mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) were measured continuously for an hour on each animal and recorded digitally.

We have shown that decreases in HR and MAP secondary to DBcAMP were not dose dependent. Therefore involvement of complex reflex mechanisms has been implicated. DBcAMP in conjunction with vagotomy resulted in more pronounced decrease in HR, i.e. potentiation. The similarity in MAP suggests that vagotomy could not neutralize the effects of DBcAMP. As a result cardiovascular depressive effects of DBcAMP, especially on the MAP level, occurs through other regulators or secondary messengers other than vagal reflexes.

Key words: DBcAMP , Sekonder messengers, Reflex interaction, Hypertansion

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET ..... **VI**
SUMMARY ..... **VII**
KISALTMALAR DIZINI ..... **X**
ŞEKILLER DIZINI ..... **XII**
RESIMLER DIZINI ..... **XIII**
GRAFIKLER DIZINI ..... **XIV**
TABLOLAR DIZINI ..... **XVI**

1. GİRİŞ VE AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER 3
2.1 İkinci haberci sistemler 3
2.1.1 Adenil siklaz – Siklik AMP (cAMP) 5
2.1.2 Ca^{+2}- Kalmodulin 8
2.1.3 Fosfolipaz C- İnositol trifosfat (IP_3) - Diaçilgliserol (DAG) 10
2.1.4 Guanilat siklaz –Siklik GMP (cGMP) 12
2.1.5 NO sentaz- Nitrik oksit 13
2.1.6 Tirozin kinaz - Ras ve Raf proteini 14
2.2 Dibütiril siklik adenozin 3', 5' – monofosfat (DBcAMP) 15
2.2.1 Dibütiril cAMP'nin Kardiyovasküler Etkileri 16
2.2.1.1 Dibütiril cAMP'nin Uygulama Bölgesine Bağlı Etkileri 18
2.2.1.2 Dibütiril cAMP'nin Klinik Kullanımı 19
2.2.1.3 Dibütiril cAMP'nin Diğer Etkileri 21
2.3 Vagus 22

3. MATERYAL VE METOD 24

3.1 Femoral Arter ve Ven Kateterizasyonu 24

3.2 Vagus diseksiyonu 26

3.3 İstatistik 27

4. BULGULAR 28

5. SONUÇ – TARTIŞMA - ÖNERİLER 54

6. KAYNAKLAR 60

KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar	Açıklama
DBcAMP	: Dibütiril siklik adenosin monofosfat
c AMP	: Adenozin 3',5 siklik monofosfat
i.p	: İntraperitoneal
SF	: Serum fizyolojik
MAP	: Ortalama arter basıncı
HR	: Kalp hızı
c GMP	: Guanozin 3',5 siklik monofosfat
PDE	: Fosfodiesteraz
IP_3	: Fosfolipaz C – inositol trifosfat
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
TSH	: Tiroid uyarıcı hormon
MSH	: Melonosit uyarıcı hormon
ADH	: Antidiüretik hormon
PKA	: Protein kinaz A
DAG	: Diaçilgliserol
G_p	: G proteini
PLC	: Fosfolipaz C
PIP_2	: Fosfatidilinozitol 4,5 bi fosfat
ER	: Endoplazmik retikulum
IP_4	: İnozitol 1,3,4,5- tetrafosfat
PKC	: Protein kinaz C

NF-KB	: Nükleer faktör – KB
GTP	: Guanozintri fosfat
PKG	: Protein kinaz G
ANF	: Atriyal natriüretik faktör
NO	: Nitrik oksit
EDRF	: Endotelden türeyen gevşetici faktör
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü –1
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
GTPaz	: Guanozintri fosfataz
MAP	: Mitojenle aktive edilen protein
MEK	: Mitojenle aktive edilen protein kinaz kinazı
MAPK	: Mitojenle aktive edilen protein kinaz
mRNA	: Haberci ribonükleik asit
i.c.v	: İntraserebroventriküler
6-keto-$PGF_1\alpha$	: 6-keto-prostaglandin F_1 alfa
PGE_1	: Prostaglandin E
S-A	: Sinoatriyal düğüm
A-V	: Atrioventriküler düğüm
HR/MAP	: Şok indeks

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1.1 Sinyal iletiminde kullanılan bazı önemli ikinci haberciler 3

Şekil 2.1.2 Birinci, ikinci ve üçüncü habercilerin sinyal iletimindeki Rolü 4

Şekil 2.1.3 İkinci habercilerin G-proteini bağımlı reseptörleri 5

Şekil 2.1.4 İkinci haberci olarak Adenilat siklaz-cAMP sistemi 6

Şekil 2.1.5 İkinci haberci olarak Ca^{+2}- kalmodulin sistemi 9

Şekil 2.1.6 cAMP ile Ca^{+2} ilişkisi 10

Şekil 2.1.7 İkinci haberci olarak Fosfolipaz C–inositoltrifosfat (IP_3) – diaçilgliserol (DAG) sistemi 11

Şekil 2.1.8 İkinci habeci olarak NO sentaz-nitrik oksit sistemi 14

Şekil 2.2.1 Dibütiril siklik adenozin 3', 5' – monofosfat (DBcAMP)' ın molekül formülü 15

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 3.1.1 Femoral arter kateterizasyonu 25

Resim 3.1.2 Femoral arter kateterizasyonu 25

Resim 3.2.1 Vagus siniri..... 26

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa

Grafik 4.1 Farklı dozlarda (6, 10 ve 15 mg/kg) uygulanan DBcAMP'nin ortalama arter basıncı üzerine zamana bağlı etkisi 28

Grafik 4.2 Farklı dozlarda (6, 10 ve 15 mg/kg) uygulanan DBcAMP'nin ortalama kalp hızı değerlerinin zamana bağlı etkisi 29

Grafik 4.3 SF uygulanan grubun MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 30

Grafik 4.4 SF uygulanan grubun kalp hızı değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 31

Grafik 4.5 SF uygulanan grubun ortalama MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 32

Grafik 4.6 SF uygulanan grubun ortalama kalp hızı değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 33

Grafik 4.7 DBcAMP uygulanan grubun MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 34

Grafik 4.8 DBcAMP uygulanan grubun kalp hızı (HR) değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 35

Grafik 4.9 DBcAMP uygulanan grubun ortalama MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 36

Grafik 4.10 DBcAMP uygulanan grubun ortalama kalp hızı (HR) değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 37

Grafik 4.11 Vagus kesisi yapılan grubun MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 38

Grafik 4.12 Vagus kesisi yapılan grubun kalp hızı (HR) değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 39

Grafik 4.13 Vagus kesisi yapılan grubun ortalama MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 40

Grafik 4.14 Vagus kesisi yapılan grubun ortalama kalp hızı (HR) değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 41

Grafik 4.15 DBcAMP verilip sol servikal vagotomi yapılan grubunMAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 42

Grafik 4.16 DBcAMP verilip sol servikal vagotomi yapılan grubun kalp hızı (HR) değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 43

Grafik 4.17 DBcAMP verilip sol servikal vagotomi yapılan grubun ortalama MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 44

Grafik 4.18 DBcAMP verilip sol servikal vagotomi yapılan grubun ortalama kalp hızı (HR) değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 45

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 4.1 Tüm deney gruplarının ortalama arter basınç değerleri 46

Tablo 4.2 DBcAMP verilen grup ile vagus kesisi yapılan grupların ortalama arter basınç değerlerinin karşılaştırılması 47

Tablo 4.3 DBcAMP verilen grup ile, DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grupların ortalama arter basınç değerlerinin karşılaştırılması 47

Tablo 4.4 DBcAMP verilen grup ile konrol grubunun ortalama arter basınç değerlerinin karşılaştırılması..... 48

Tablo 4.5 Vagus kesisi yapılan grup ile, DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grupların ortalama arter basınç değerlerinin karşılaştırılması 48

Tablo 4.6 Vagus kesisi yapılan grup ile kontrol grubunun ortalama arter basınç değerlerinin karşılaştırılması 49

Tablo 4.7 DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grup ile, kontrol grubun ortalama arter basınç değerlerinin karşılaştırılması 49

Tablo 4.8 Tüm deney gruplarının ortalama kalp hızı değerleri 50

Tablo 4.9 DBcAMP verilen grup ile vagus kesisi yapılan grupların ortalama kalp hızı değerlerinin karşılaştırılması..... 51

Tablo 4.10 DBcAMP verilen grup ile DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grubun ortalama kalp hızı değerlerinin karşılaştırılması 51

Tablo 4.11 DBcAMP verilen grup ile konrol gruplarının ortalama kalp hızı değerlerinin karşılaştırılması..... 52

Tablo 4.12 Vagus kesisi yapılan grup ile DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grupların ortalama kalp hızı değerlerinin karşılaştırılması 52

Tablo 4.13 Vagus kesisi yapılan grup ile kontrol grubunun ortalama kalp hızı değerlerinin karşılaştırılması..... 53

Tablo 4.14 DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grup ile, kontrol grupların ortalama kalp hızı değerlerinin karşılaştırılması..... 53

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Siklik AMP (cAMP) nin katekolaminler için, bütün katekolamin etkilerini açıklayamasa da, ikincil haberci olduğu hipotezi yaygın olarak kabul edilmektedir (1,2,3). Siklik AMP kalbin adrenerjik uyarıma olan yanıtını, miyokard hücrelerinin Ca^{2+} aktivatörü miktarını arttırma ile sağlar. Bu etkinin kardiyak sarkoplazmik retikulum veziküllerinden Ca^{2+} transportunu stimüle eden kardiyak cAMP bağımlı protein kinazlar ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (4). Aktiflenen cAMP bağımlı protein kinazlar ise çeşitli hücre içi proteinlerin fosforilasyonunu sağlar. Sonuçta sağlıklı kalpte hem gevşeme, hem de kontraksiyon aktiflenmiş olur (5).

cAMP hücre içinde protein kinaz A'nın aktivasyonu yoluyla voltaja bağımlı Ca kanallarının fosforilasyonuna neden olup, onların daha uzun süre açık kalmasını sağlamaktadır. Böylece hücre içi Ca^{2+} yoğunluğunda artış olur. Ca kalmodulin ile bağlanır ve ortaya çıkan kompleks, miyozinin fosforilasyonunu katalizleyen bir enzim olan kalmoduline bağımlı miyozin hafif zincir kinaz' ını aktive eder. Bu olayın sonucunda aktin miyozin üzerinden kayarak kasılmayı meydana getirir (6).

Öte yandan cAMP ve cGMP' in indirekt olarak kasılmayı inhibe eden bazı enzimlerin fosforilasyon derecesini değiştirmek gibi etkileri vardır. Özellikle kalsiyum iyonlarını sarkoplazmadan sarkoplazmik retikuluma gönderen pompa ve hücreden dışarı çıkaran hücre membran pompası aktive edilir; bu etkiler hücreiçi kalsiyum konsantrasyonunu düşürerek kasılmayı inhibe eder (7).

Ancak cAMP eksojen olarak uygulandığında, hücre membranına zayıf penetrasyon göstermesi nedeniyle, katekolaminler gibi pozitif kardiyak etkiler oluşturamamaktadır (8). Diğer taraftan cAMP'nin N6-2'-O- dibütiril türevleri (DBcAMP) hücre membranlarını kolayca geçer ve hücrede cAMP ve monobütiril cAMP olarak birikir (9,10). Kukovetz' in dolaşımı sağlanmış memeli kalbinde DBcAMP' nin pozitif inotropik etkilerini göstermesinden sonra (10), DBcAMP 'nin inotropik etkileri izole kalpte de gösterilmiştir (11,12,13). Koroner akımda bildirilen

artış, DBcAMP ve katekolaminlerin kardiyak etkiler yönünden benzerliğini kuvvetle vurgulamaktadır (14). Ayrıca, cAMP türevlerinin, DBcAMP dahil, kedi kardiak dokusunda cAMP fosfodiesteraz (PDE)' ı inhibe edebildiği (15) ve DBcAMP' nin anestezi edilmiş köpeklerde periferik vasküler direnci düşürdüğü gösterilmiştir (16).

Klinik kullanımda Hashimoto (17) ile Matsui ve arkadaşları (18) tarafından konsestif kalp yetmezliğindeki hastalarda DBcAMP'nin yararlı vazodilatasyon oluşturucu etkileri bildirilmiştir. DBcAMP'nin ortalama arteriyal basınçta, ortalama pulmoner arter ve ortalama sağ atriyal basınçlarında belirgin azalma yaptığı ve bu etkinin temel olarak vazodilatasyon yapıcı etkisine bağlı olduğu bildirilmiştir (18). Dahası bu etki direkt effektör organ üzerine olabileceği gibi refleks yol ile de oluşabilir. Ayrıca DBcAMP uygulama yerine göre, intraarteriyal veya intravenöz gibi, farklı etkilere neden olmaktadır; bu da DBcAMP'nin refleks yollar üzerinden etki oluşturmasına bağlanmaktadır .

Bu çalışmada intraarteriyel uygulanan DBcAMP'nin kan basıncı ve kalp atım sayısı üzerine etkisini, sıçanlarda doza ve zamana bağlı olarak göstermeyi ve oluşan cevabın refleks bir olay olup olmadığını açıklamak üzere sol servikal vagotomi yaparak bulunan değerleri karşılaştırmayı amaçladık.

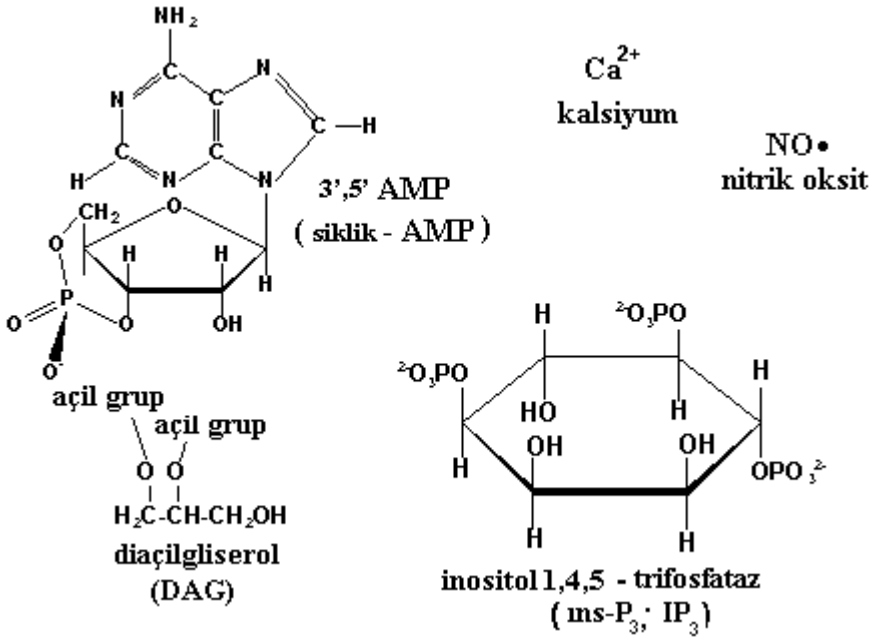
2. GENEL BİLGİLER

2. 1 İkinci haberci sistemler

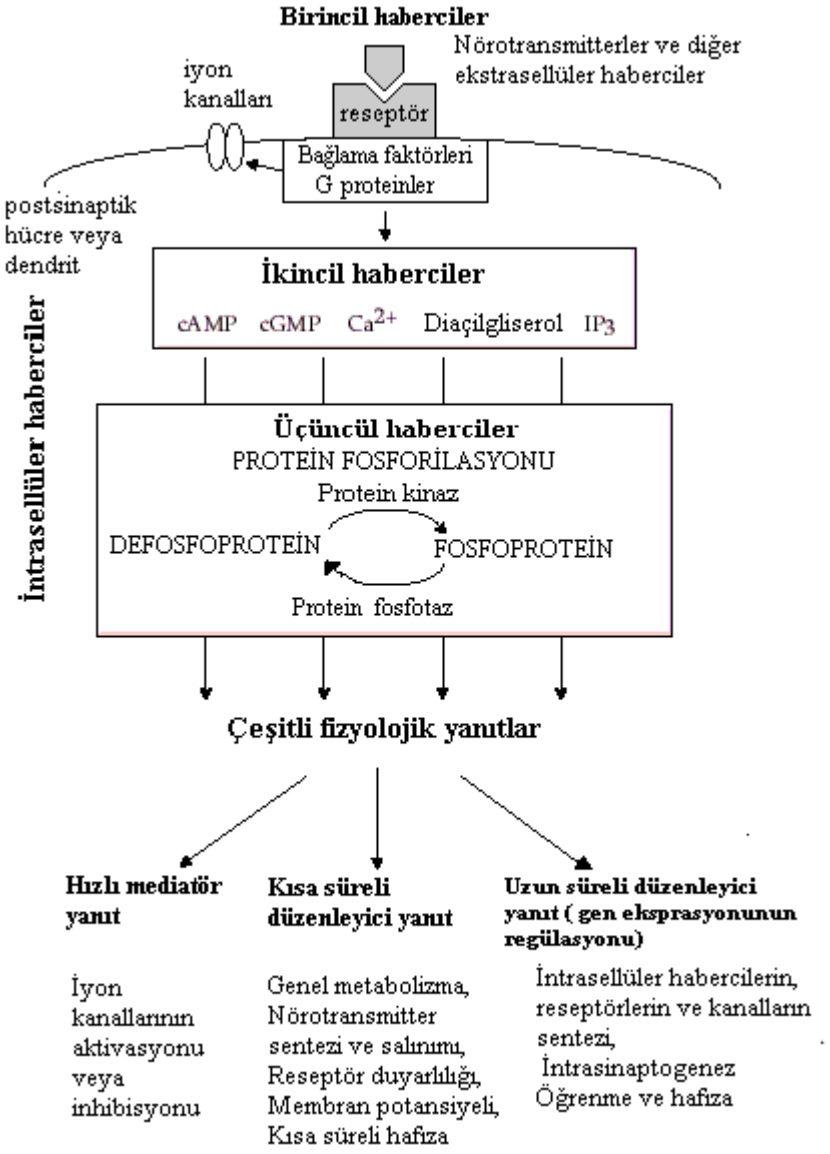
Suda çözünür hormonlar hedef hücrelerin sitoplazma membranının içinde veya yüzeyinde bulunan spesifik reseptörlerine bağlanarak etki gösterirler (Şekil 2.1.2).

İkinci haberci sistemler (Şekil 2.1.1) :

1- Adenil siklaz –siklik AMP (cAMP)
2- Ca^{+2}- kalmodulin
3- Fosfolipaz C – inositol trifosfat (IP_3)
4- Guanilat siklaz –siklik GMP (cGMP)
5- NO sentaz- nitrik oksit sentaz
6- Tirozin kinaz Ras ve Raf proteini



Şekil 2.1.1 Sinyal iletiminde kullanılan bazı önemli ikinci haberciler. (Index of /~koraiman/Zellbiologie/Secondmessenger.html



Şekil 2.1.2 Birinci, ikinci ve üçüncü habercilerin sinyal iletimindeki rolü. (http://www.chemistry.emory.edu/justice/seminar/second.htm , fig : 6.25)

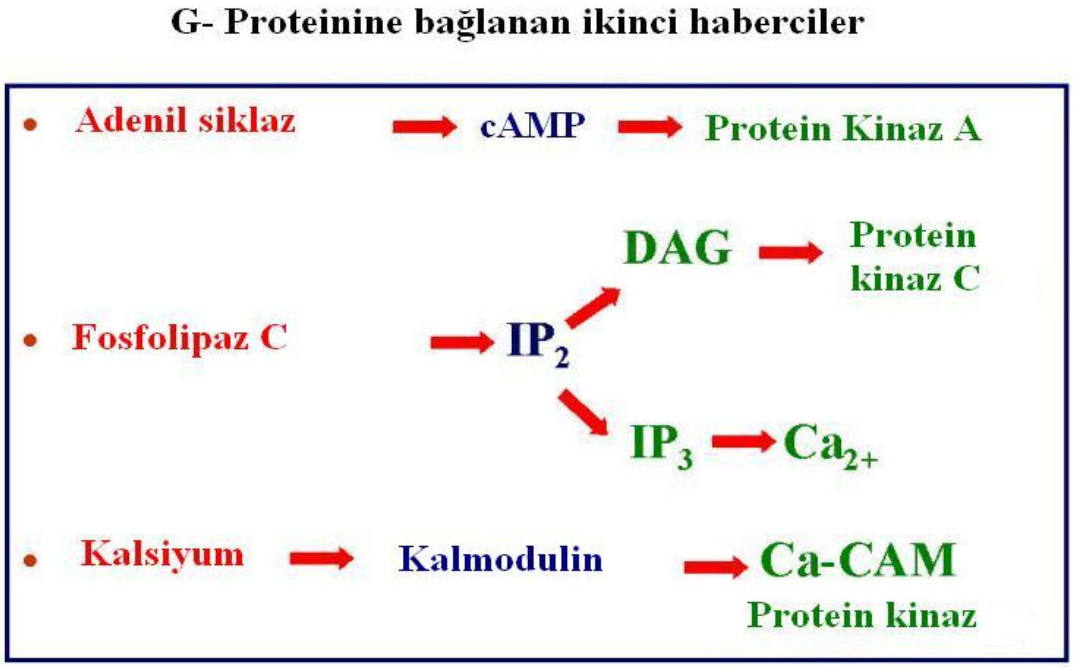
Hormonun reseptörüne bağlanmasıyla hücre içi enzim sistemi aktiflenmiş olur ve ikinci haberci sistemi devreye girer. Böylece çeşitli fizyolojik yanıtlar meydana gelir (Şekil 2.1.2).

2.1.1 Adenil siklaz – siklik AMP (cAMP)

cAMP, 1958'de Sutherland ve arkadaşları tarafından keşfedilmiştir (18). Siklik AMP, küçük bir döngüsel monofosfattır ve uyarılan adenilat siklaz enzimi ile ATP'den katalizlenir.

cAMP tarafından düzenlenen fosforilizasyon ilk olarak iskelet – kas hücrelerinde glikojen metabolizması ile ilgili çalışmalarla gösterilmiştir (19).

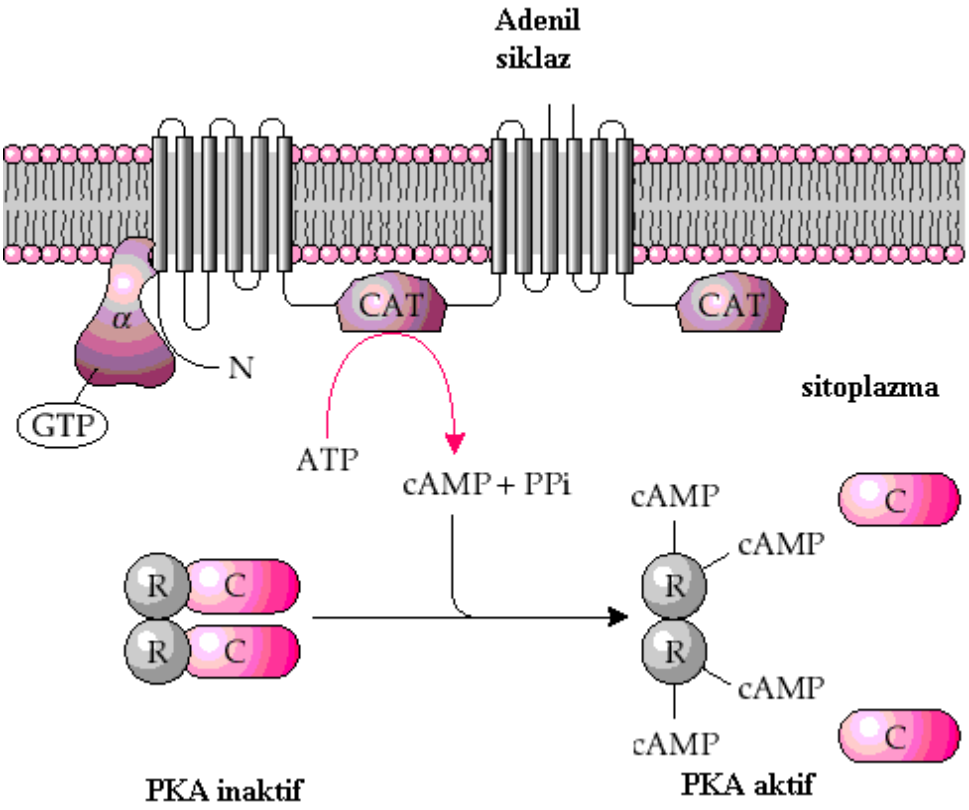
Hormonların spesifik reseptörüne bağlanmasıyla reseptör, bir G proteinine bağlanır (Şekil 2.1.3) (7).



Şekil 2.1.3 İkinci habercilerin G-proteini bağımlı reseptörleri.

G proteinleri membranın integral bileşenleri olmayıp, kovalent bağlı lipidler aracılığı ile membranın sitozolik yüzeyine bağlı bulunmaktadır (19). Eğer G proteini adenil siklaz - cAMP sistemini uyarırsa, buna G_s-proteini denir. G_s-proteini ile uyarılan

adenil siklaz Mg^{+2} varlığında az miktar ATP'nin cAMP dönüşümünü sağlar. Oluşan cAMP, hücrenin hormona yanıtına neden olan biyokimyasal reaksiyonları başlatan cAMP- bağımlı protein kinazı (protein kinaz A) aktive eder (7). Protein kinaz A hedef hücreye özgü bazı enzimleri fosfatlamak suretiyle, onları inaktif halden aktif hale getirir (Şekil2.1.4).



Şekil 2.1.4 İkinci haberci olarak Adenilat siklaz-cAMP sistemi. (http://www.chemistry.emory.edu/justice/seminar/second.htm, fig : 6.27)

Proteinlerin fosforilasyonu ile hücre yanıtı oluşur. Eğer bir hormonun reseptörlerine bağlanması inhibitör bir G proteinine (G_i proteini) bağlıysa, adenilaz siklaz inhibe olur ve cAMP oluşumu azalır. Bu da hücrede inhibitör bir yanıt oluşturur.

Böylece, reseptörün stimülatör veya inhibitör G proteinine bağlanmasıyla cAMP düzeyi arttırılır ve azaltılır (7,20). Protein kinaz A, molekülleri iki katalitik alt-birim ve iki düzenleyici alt-birimden oluşan tetramerik bir enzimdir. Bu alt birimler birbirine kenetlenmiş durumda iken enzim inaktiftir. Siklik AMP düzenleyici alt birim ile kombine olma özelliğindedir. Böyle bir kombinasyon oluştuğunda düzenleyici alt birimler molekülden koparlar ve enzim (katalitik alt-birim) etkinlik kazanır (20).

Siklik AMP aracılığı ile oluşan uyarının etkisinin farklı hedef hücrelerde değişik olmasında, çeşitli hücrelerde protein kinazların aktive ettiği enzimlerin farklı olması rol oynayabilir. Örneğin; adrenalin etkisi altında oluşan cAMP ve onun aktive ettiği protein kinaz A, karaciğer hücresinde inaktif fosforilazı aktif duruma dönüştürdüğü halde, yağ dokusu hücresinde inaktif lipazı aktif hale dönüştürür (20). Bazı dokularda çok sayıda hormon cAMP konsantrasyonunu etkilemektedir. Yağ dokusunda epinefrin, glukagon, ACTH, TSH, MSH ve ADH adenilat siklazı aktive etmektedir. Birbirlerinden bağımsız olarak etki gösteren uyaranlardan birine ait reseptörlerin hasar görmesi halinde diğer uyaranların etkileri devam etmektedir (19).

Siklik AMP aracılığı ile oluşan biyolojik yanıtlarda, membrandaki reseptörün aktivasyonundan, protein kinaz A'nın aktivasyonuna kadar olan basamaklar ortaktır ve tektir; membrandaki reseptörlerin türü değişiktir. Protein kinaz A basamağından sonra enzimatik olay yolu dallanır. Dallanmanın sayısı ve niteliği hücrede PKA'ya bağımlı enzim türlerinin sayısına bağlıdır (20).

Adenil siklaz - cAMP sistemi bir negatif feedback mekanizmasıyla kontrol edilir. Adenil siklazın hormon tarafından aktiflenmesi, membrandaki Ca^{+2} kanallarının fosforilasyonuna neden olarak $Ca^{+2'}$ un dışarıdan hücre içine girişini arttırır. Ca^{+2}, kalmodulin ile birleşerek onu aktive eder. Aktiflenmiş kalmodulin sitoplazmada fosfodiesteraz etkinliğini arttırarak cAMP düzeyini düşürür (20).

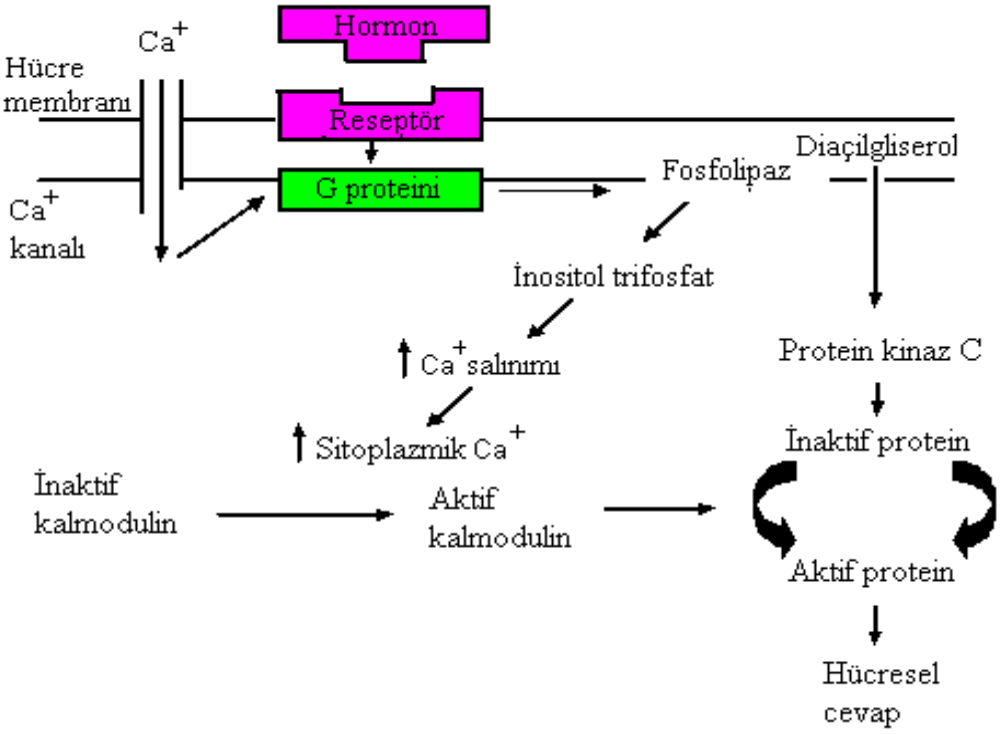
cAMP'nin etkisi iki şekilde sona erer; birincisinde, cAMP cAMP'ye bağımlı fosfodiesteraz tarafından yıkılmakta, ikincisinde PKA enzimleri ile fosforillenen proteinler, fosfoproteinfosfotazlar ile defosforillenmektedir.

2.1.2 Ca^{+2}- kalmodulin

Hücre membranı üzerindeki özel reseptörlerin bir ligand tarafından uyarılması sonucu; membrandaki kanallar aracılığı ile ekstrasellüler sıvıdan ve hücre içinden Ca^{+2} sitozole geçer. Hücre içinde yükselen bu serbest Ca^{+2} hücrede ikinci haberci olarak görev yapar (20). Kalsiyumun hücre içine girişi; membranda kalsiyum kanallarını açan membran elektriksel potansiyel değişikliği veya membran reseptörleriyle etkileşerek kalsiyum kanallarını açan hormonlar tarafından başlatılabilir (7). Böylece endokrin ve ekzokrin salgı hücrelerinde eksitasyon – salgılama, düz kaslarda ve kalp kasında eksitasyon–kontraksiyon, sinir uçlarından nöromediyatör salıverilmesinde eksitasyon-salıverilme mekanizmalarını meydana getirir (20).

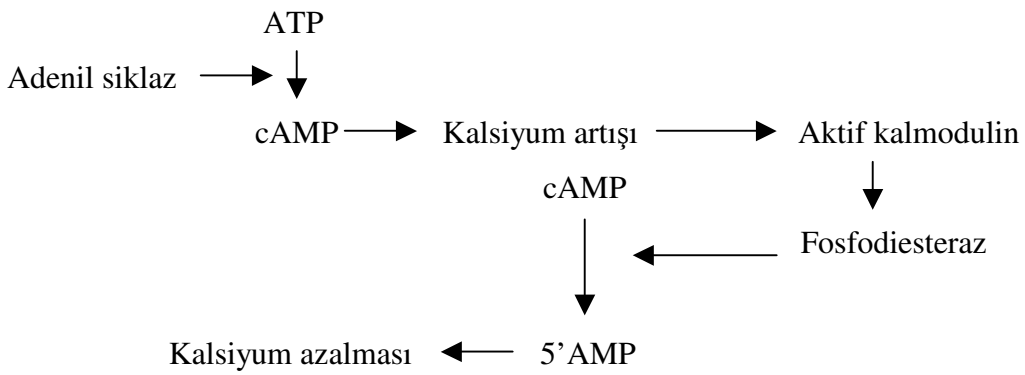
Hücre sitozolündeki Ca^{+2} konsantrasyonu, ekstraselüler sıvı ve hücre içi kalsiyum depolarındaki Ca^{+2} konsantrasyonuna oranla çok düşüktür. $Ca^{+2'}$ u harekete geçiren uyarı mekanizmasının çalışması için de hücre, sitozoldeki Ca^{+2} konsantrasyonunu düşük tutmak zorundadır (21); eksitasyon sırasında Ca^{+2} konsantrasyonu geçici olarak artar (20). Hücre, sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonunu sabit düzeyde tutmak için $Ca^{+2'}$ u dışarı pompalayan, ATP hidroliz enerjisini kullanan kalsiyum pompalarına (Ca^{+2} - ATPaz) sahiptir (21). İlaveten hücre içi Ca^{+2} depoları olarak görev yapan endoplazmik retikulum ve mitokondri gibi bazı organellerin zarlarında yer alan Ca^{+2} pompaları da sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonunu düşük tutmakta rol oynar (21).

Ca^{+2} iyonları hücresel metabolizma üzerine etkilerini proteinlere bağlanarak göstermektedir (19). Kalsiyum hücre içine girince, Ca^{+2} bağımlı bir düzenleyici protein olan kalmoduline (CaM) bağlanır (7) (Şekil2.1.5).



Şekil 2.1.5 İkinci haberci olarak Ca^{+2}- kalmodulin sistemi.

Kalmodulin (17kDa) asidik bir proteindir (19). Kalmodulin Ca^{+2}'suz inaktiftir. Aktive edilmiş kalmodulin, cAMP sistemi ile de etkileşme gösterir, yani bu iki sistem birbirinin etkinliğini değiştirebilir. Ca^{+2}/kalmodulin kompleksi, Ca^{+2} / kalmodulin'e bağımlı protein kinazları (Ca^{+2} / CaM kinaz II ve III gibi) ve kalmodulinle stimüle edilen fosfatazları aktive eder. Kalmodulin bazı enzimlerin molekülü içinde molekülün tamamlayıcı alt-birimi olarak bulunur ve onların Ca^{+2}'a duyarlı oluşunu sağlar; bu tip bir enzim fosforilaz kinaz'dır (20). Bu enzim glikojen fosforilazı fosforlar ve glikojen yıkılımını aktive eder (21). Başka bir durum ise Ca^{+2} / kalmodulin kompleksinin enzime geçici olarak bağlanıp onu aktive etmesidir. Bu tip enzim ise cAMP'ye bağımlı fosfodiesteraz'dır (Şekil 2.1.6). Bu enzim cAMP' yi yıkarak onun etkisini sonlandırır (20).



Şekil 2.1.6. cAMP ile Ca^{+2} ilişkisi

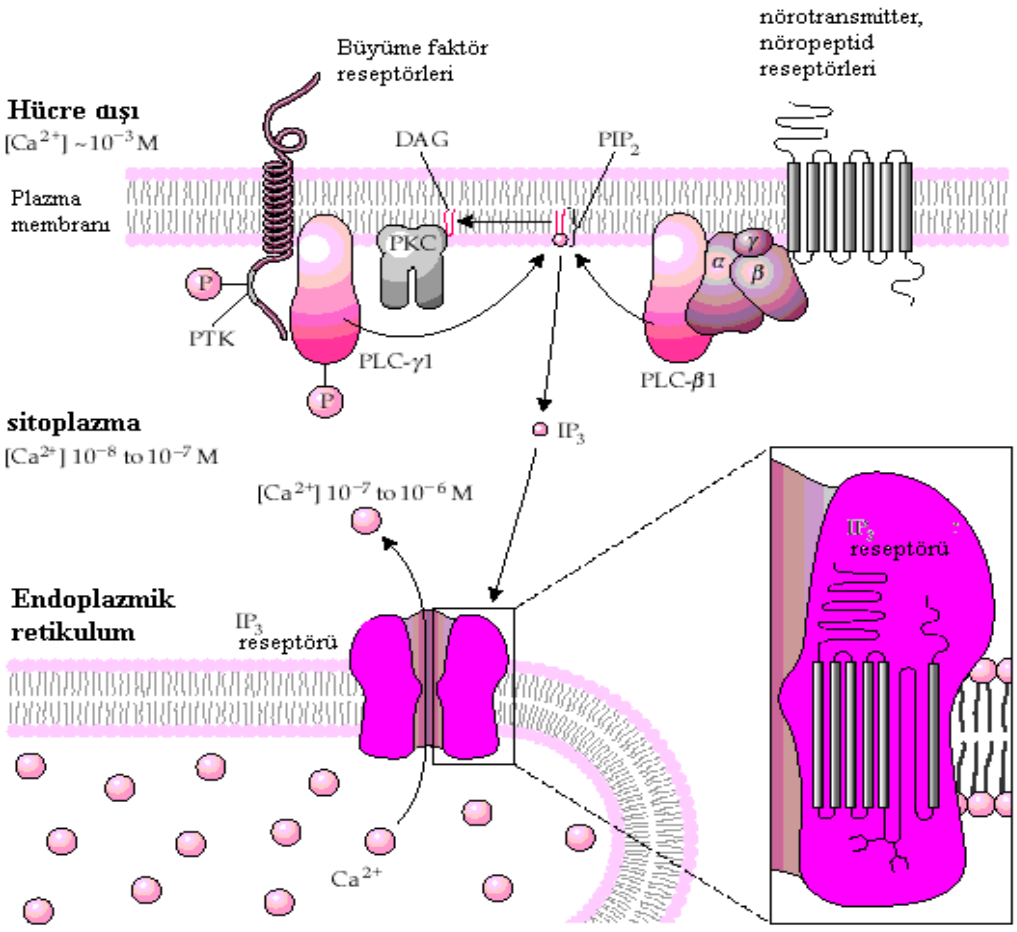
Kas kasılması, sinir hücreleri ve endokrin hücrelerden eksositoz, hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi, ameboid hareket, hücre füzyonu, hücre farklılaşması ve hücre çoğalması gibi birçok biyolojik olayda Ca^{+2} iyonları hücre içi haberci olarak görev yapmaktadır (19).

2.1.3 Fosfolipaz C – inositol trifosfat (IP_3) - diaçilgliserol (DAG)

Birçok reseptör, nörotransmitterlere veya hormonlara zarda bulunan G_p olarak bilinen bir G proteinini ve fosfolipaz C olarak tanımlanan membrana bağlı fosfodiesterazı aktive ederek cevap verir (22). Fosfolipaz C (PLC) enziminin substratı bir plazma membran fosfolipidi olan fosfatidilinozitol 4,5 bi fosfattır (PIP_2). Fosfolipaz C, substratının fosfodiester bağını hidroliz ederek ikincil haberci olan inozitol 1,4,5 trifosfat (IP_3) ve 1,2 diaçilgliserol (DAG) moleküllerinin oluşumunu sağlar (19).

IP_3 suda çözünen bir maddedir ve sitoplazmaya geçerek endoplazmik retikulum membranına ulaşır ve oradaki kendisine özgü reseptörü aktive eder ve ER'de depolanan $Ca^{+2'}$ u sitoplazmaya salıverir; böylece Ca^{+2} aracılığı ile bir dizi intraselüler etki oluşturulur (20). IP_3 hızlı bir şekilde defosforile olarak inaktive olur (20); eğer hücrede Ca^{+2} a bağlı olayın daha uzun süre devam etmesi isteniyorsa IP_3'ün bir kısmı fosforile olarak inozitol 1,3,4,5- tetrafosfata (IP_4) dönüşür (21). IP_4'de bir haberci olarak hücre

zarındaki Ca^{+2} kanallarını açar ve ekstrasellüler sıvıdan sitozole daha fazla Ca^{+2} girişini sağlar (21) ve böylece depolardan kaybolan Ca^{+2} 'u telafi eder (20) (Şekil 2.1. 7).



Şekil 2.1.7 İkinci haberci olarak Fosfolipaz C–inositoltrifosfat (IP_3) – diaçilgliserol (DAG) sistemi. (http//.wwwchemistryemory.edu/ justice/seminar/ second.htm, fig: 6.32)

DAG, sitoplazmada Ca^{+2}'a bağımlı olan protein kinaz C'nin çeşitli formlarını (alfa, beta, gama, delta vb.) aktive eder. Protein kinazı C'nin alfa izoformu bütün dokularda, gama izoformu sadece beyin ve omurilikte bulunur (20) (Şekil 2.1.7).

Protein kinaz C, normalde inaktif, suda çözünebilir bir sitozolik proteindir. Protein kinaz C, sitozolde hücre zarının sitoplazmik yüzüne taşınır, burada Ca^{+2},

diaçilgliserol ve negatif yüklü bir zar fosfolipidi olan fosfatidilserin kombinasyonu tarafından aktifleştirilir (21).

Ca^{+2} iyonları Protein kinaz C'nin hücre zarına tutunmasını sağlamaktadır (21). PIP_2'nin ayrışmasıyla meydana gelen DAG hızlıca metabolize olur. Bu nedenle protein kinaz C aktivitesi kısa sürer. Protein kinaz C'nin aktivitesinin uzun sürmesi ikinci bir diaçilgliserol üretimine bağlıdır. Bu olay fosfolipaz ile katalizlenir. PKC membrandaki ve sitoplazmadaki çeşitli efektör molekülleri fosforile ederek onların etkinliğini düzenlemekten başka, sitoplazmada inaktif şekilde bulunana nükleer faktör – KB (NF-KB)'yi fosforile ederek onu aktif şekline dönüştürür ve çekirdeğe translokasyonunu tetikler. Böylece PKC hücrede özgül genlerin transkripsiyonunu stimüle edebilir (20).

2.1.4 Guanilat siklaz –siklik GMP (cGMP)

Efektör molekül uyarısı sonucu aktifleşen guanilat siklaz, hücre içinde Mg^{+2} iyonları varlığında GTP molekülünden guanozin 3',5' siklik monofosfat (siklik GMP) oluşumunu sağlamaktadır. Guanilat siklaz hem hücre membranında hem de sitoplazmada bulunan hem'li bir enzimdir (20).

cGMP etkilerinin çoğunu, cGMP bağımlı protein kinaz (protein kinaz G, PKG) aracılığı ile göstermektedir. Tek bir polipeptid zinciri üzerinde katalitik ve düzenleyici bölgeleri taşıyan PKG enzimine bağlanan cGMP, inhibisyon yapan düzenleyici bölgenin substrat bağlama bölgesinden uzaklaşmasını sağlamaktadır. Protein kinaz G protein kinaz A ile benzerlik göstermektedir. Aktif PKG, substratlarında serin ve/veya treonin amino asitlerine ait hidroksil gruplarını fosforillemektedir (19).

cGMP'de cAMP gibi bazı peptid hormonlarının salınıverilmesinde ikincil haberci olarak rol oynar. Atriyal natriüretik faktör (ANF) böbrekte guanilat siklaz aktiviteli plazma membran reseptörlerine bağlanarak enzim aktivasyonunu sağlar (19). ANF'ler böbreği Na^+ ve su atılımını arttırması için uyarırlar ve kan damarlarının düz kaslarını gevşetirler. Bu iki etki kan basıncının düşmesini sağlar (21). Barsak peptidi

olan guanilin de barsak epitel hücrelerinin plazma membranlarında bulunan reseptör-guanilat siklazı aktifler. E.coli endotoksini barsak epitel hücrelerinde reseptör gaunilat siklazı aktive ederek su geri emiliminin azalmasına ve diyareye neden olmaktadır (19).

Guanilat siklaz, NO (nitrik oksit) tarafından da stimüle olmaktadır. Polar olmayan bir molekül olan NO sentezlendiği damar endotel hücrelerinden kolaylıkla difüze olmakta ve kalp kası ile damar düz kas hücrelerinde sitozolik guanilat siklazın hem yapısına bağlanarak enzimi aktifleştirmekte ve cGMP konsantrasyonunu artırmaktadır (19).

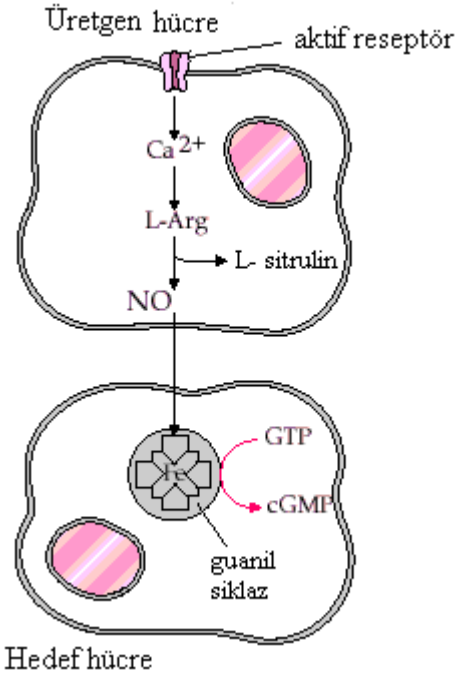
cGMP, Ca^{+2} iyonlarının sitozolden hücre dışına aktif taşıma mekanizmaları ile taşınmasını uyarmaktadır. Protein kinaz G miyozin hafif zinciri gibi bazı proteinlerin fosforillenmelerini sağlayarak düz kasların gevşemesine ve vazodilatasyona neden olur (19).

cGMP, trombosit agregasyonu ve görme olayında da etkili bir ikinci habercidir.

2.1.5 NO sentaz- nitrik oksit

NO, [(endotelden türeyen gevşetici faktör (EDRF)] eşleşmemiş elektronu bulunan iki atomlu yüksek reaktivitede bir gazdır.

NO, L-argininin terminal azot atomlarından veya guanido grubundan sentez edilmektedir (19). Tepkimeyi katalizleyen nitrik oksit sentaz enzimidir.



Şekil 2.1.8 İkinci habeci olarak NO sentaz-nitrik oksit sistemi. (http://www.chemistry.emory.edu/justice/seminar/second.htm, fig : 6.29)

Damar düz kas tonüsünün kontrolünde NO önemli bir aracıdır. Nitrik oksit guanilat siklazın sitozolik formunu aktive ettiği damar düz kas hücrelerine diffüze olur. Bunun sonucunda oluşan cGMP artışıyla kas gevşemesine neden olur (22) (Şekil2.1.8).

Ayrıca NO, makrofajların ve tümörosidal ve bakterisidal etkilerine aracılık eder, trombosit agregasyonunu önler ve beyinde nörotransmitter görevi yapar.

2.1.6 Tirozin kinaz - Ras ve Raf proteini

İnsülin, insülin benzeri büyüme faktörü –1 (IGF-1), epidermal büyüme faktörü (EGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi büyüme faktörlerinin reseptörlerinde tirozin kinaz aktivitesi bulunmaktadır (19). Bu efektörler intrasellüler bir G proteini türü olan ve GTPaz etkinliği gösteren Ras proteinleri ve intrasellüler bir serin/treonin kinaz olan Raf proteini üzerinden etki gösterirler. Bu peptidler tarafından büyüme faktörlerinin reseptörlerinin aktivitesi, Raf'ın fosforile edilerek

aktivasyonuna neden olur. Raf ayrıca, Ras proteinleri ve protein kinaz C-α izoformu tarafından da aktive edilir. Raf, MEK'i (MAP kinaz kinaz'ı), o da MAPK'yi (mitojenle aktive edilen protein kinazı) fosforillemek suretiyle aktive eder (20). Aktif MAPK, çekirdeğe girerek transkripsiyon faktörlerini fosforillemektedir (19).

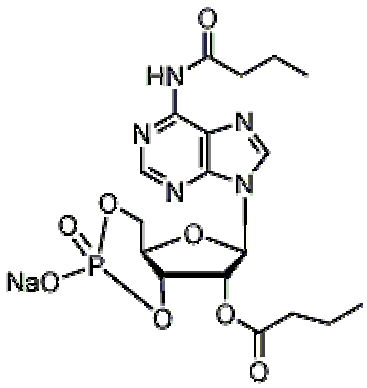
Bu kaskad aşağıdaki gibi özetlenebilir;

Ras ⟶ Raf ⟶ MEK ⟶ MAPK ⟶ Distal kinazlar ⟶ Genomik etki

Distal kinazlar, çekirdekte hücre bölünmesi için özgül genlerin transkripsiyonunu ve/veya ribozomlarda özgül mRNA' ların translokasyonunu stimüle ederler (20). Bu mekanizma ile hücre, insüline ve büyüme faktörlerine bölünme ve farklılaşma şeklinde yanıtlarını verir (19).

2.2 Dibütiril siklik adenozin 3', 5' – monofosfat (DBcAMP)

Dibütiril siklik AMP, bir cAMP türevi olup hücre membranından cAMP' ye göre kolayca geçebilme özelliğine sahiptir. Bu özelliği ile pozitif inotropik etki gösterir (23).



$C_{18}H_{23}N_5O_8PNa$

Şekil 2.2.1 Dibütiril siklik adenozin 3', 5' – monofosfat (DBcAMP)' ın molekül formülü (sigma-aldrich.com)

2.2.1 Dibütiril cAMP'nin kardiyovasküler etkileri

DBcAMP'nin akut hemodinamik etkileri araştırıldığında; DBcAMP'nin ortalama arteriyel basınçta, ortalama pulmoner kapiller wedge basıncında, ortalama pulmoner arter ve ortalama sağ atriyal basınçlarda belirgin azalma yaptığı, bununda vazodilatatör etkisinin sonucu olduğu bulunmuştur. DBcAMP'nin kardiyovasküler hemodinamiklerde yaptığı optimal değişim, temel olarak vazodilatasyon yapıcı etkisine bağlanmıştır (4).

Başka çalışmada sol ventrikülün ön yükü sabit tutulduğunda DBcAMP belirgin olarak; pozitif kronotropik, pozitif inotropik, vazodilatif ve diüretik aktiviteye sahip bulunmuştur. Bu etkileri adım adım ve sürekli oluşturur (24). İzole atriumun sinüs düğüm arterine DBcAMP'nin (3-30 mg) direkt enjeksiyonu doza bağlı pozitif kronotropik ve inotropik etkileri (başlangıçtaki kısa negatif etkiler sonrası) indükler. Sonuçlar; DBcAMP'nin sinüs hızında ve atriyal kontraktil güçte artışla birlikte sistemik arteriyel kan basıncında azalmayı aktive ettiğini göstermektedir (25, 26).

Koroner arter ligasyonu uygulanan sıçanlarda, ligasyondan sonraki 5 dakika içinde normal miyokardda hem siklik AMP hem de siklik GMP seviyeleri artar iken, iskemik dokuda sadece siklik AMP seviyesi artmaktadır. Aritmik aktivitenin pik oluşturması ve aritmilerin durmasından sonra, ör: ligasyon sonrası sırasıyla 10 ve 30 dakika sonra, normal dokuda değişmez iken; iskemik dokuda her iki nükleotidin de düştüğü görülmüştür. Sıçanlarda oklüzyonun indüklediği aritmiler, iskemik miyokardın siklik nükleotid içeriği ile ilişkili görünmese de miyokardın siklik AMP ve GMP düzeyini arttıran çeşitli ilaçlar böyle aritmileri aktifleyebilir (27).

Bir başka çalışmada tavşanlara, 2.5 mikrogram/kg/dak, i.v 90 dakika süreyle DBcAMP verilmiş ve siklik nükleotid sistemin aktivasyonunun miyokardiyal hasara neden olma ihtimali saptanmaya çalışılmıştır. İnfüzyondan 7 ila 14 gün sonra hayvanlar sakrifiye edilmiş ve elde edilen kalp dokuları ışık ve elektron mikroskopta incelenmiştir. Kardiyak lezyonlar yaygın olarak bütün kalplerde mevcuttur. Değişimlerin ayni derecede DBcAMP verilmesinden 2 hafta sonra da görüldüğü

saptanmıştır. Benzer bulgular, katekolamin kardiyomiyopatisi ve çeşitli patolojik durumlarda da saptanmıştır. Bu durum, siklaz sisteminin aşırı uyarımının, oldukça geniş uyaran aralığında miyokardiyal hasar patogenezinde genel bir mekanizma olabileceğini akla getirir (28).

Köpeklere 5mg/kg dozda i.v verilen DBcAMP ile ise şu sonuçlar elde edilmiştir:

1. DBcAMP atım volümünü ve kardiyak debiyi arttırmış ve hafifçe kalp hızını yükseltmiştir. Bu etkileri verilmesinden 3-5 dakika sonra gözlenmiştir.
2. Ortalama sistemik arteriyel basınç ve santral venöz basınç, doza bağımlı olmaksızın hafifçe düşmüştür.
3. Renal ve superiyor mezenterik arter kan akımı belirgin artmış, fakat karotid arter kan akımı değişmemiştir.
4. Kardiyak debinin renal ve superior mezenterik artere dağılımı değişmez iken, karotid artere dağılımı azalmıştır.
5. Total periferik direnç, renal arter damar direnci ve superiyor mezenterik arter damar direnci azalmış ve karotid arter damar direnci hafifçe düşmüştür(16).

Total periferal direncin dozla ilişkili olarak düşmesi DBcAMP'nin; doza bağlı periferal damar dilatasyonu yapabildiğini göstermektedir (29).

Bir diğer çalışmada DBcAMP'nin 0.1 mg/kg/dak. 30 dakika intravenöz infüzyonu öncesi ve sırasında hemodinamik değişiklikler, renal kan akımı ve plazma katekolamin düzeyleri incelenmiştir. DBcAMP kardiyak indeksi ve kalp hızını arttırmış ve ortalama aortik basınç ile sistemik vasküler direnci azaltmıştır. Renal kan akımı artarken, renal vasküler direnç azalmıştır. Plazma norepinefrin düzeyleri ise anlamlı olarak artmıştır. Bu sonuçlar; DBcAMP'nin ard yükteki azalma yoluyla kardiyak hemodinamikleri iyileştirdiğini ve renal vasküler yatakta sahip olduğu kuvvetli vazodilatatör etki ile konjestif kalp yetmezliğinin tedavisinde yararlı olduğunu göstermektedir (30).

DBcAMP, atrioventriküler iletime olan etkisi yönünden norepinefrinle karşılaştırıldığında ise; doza bağlı A-V iletim süresinde azalmaya neden olmuştur. Peak

etkisinin zamanlaması ve devamlılığı, norepinefrine göre DBcAMP'de daha uzun olmuştur (31). Muhtemelen bu nedenle DBcAMP, ventriküler taşikardi oluşturmada da kullanılmış ve ventriküler taşikardinin önlenmesinde hücre içi cAMP miktarını azaltmanın önemli olduğu vurgulanmıştır (32). Farklı olarak vagusun, bu elektrofizyolojik etkiler üzerine önemli bir düzenleyici olduğunu öne sürülmektedir. Ayrıca, ekstrasellüler adenosin kalp üzerinde vagusun depressan etkisini arttırabilmektedir (33).

2.2.1.1 Dibütiril cAMP'nin uygulama bölgesine bağlı etkileri:

DBcAMP uygulaması, uygulama bölgesine bağlı olarak da farklı sonuçları ortaya çıkarabilmektedir. Örneğin, intratekal yolla eksojen DBcAMP injeksiyonu (12.5, 25, 50 ve 100 mikrogram/mikrolitre) ortalama arteriyel kan basıncını arttırmakta ve kalp hızını belirgin düşürmektedir (34). Önceki çalışmalar DBcAMP'nin santral uygulanımının taşikardinin eşlik ettiği doza bağımlı kan basıncı artışına neden olduğunu göstermiştir. DBcAMP'nin 10 mikrogram dozda çeşitli beyin bölgelerine uygulanımı adrenerjik aktivasyon sonrası gözlenen kardiovasküler etkilerle benzerlik göstermektedir (35). Bu sonuçlar, siklik AMP'nin belirli santral kardiovasküler düzenleyici merkezlerin sekonder habercisi olduğunu kuvvetle akla getirmektedir (35). Ayni şekilde DBcAMP'nin üçüncü ventriküler bölgeye infüzyonu kan basıncını ve kalp hızını arttırmaktadır. ATP, 5'-AMP ve adenosin; DBcAMP'ye benzer değişiklikler oluştururlar (pressör yanıt farklı başlangıç ve sürelerle oluşsa da). Sonuçlar; adenosin ve adenosin nükleotidlerinin santral etkisinin kan basıncını arttırmak şeklinde olduğunu göstermektedir (36).

DBcAMP'nin santral alımı (intraserebroventriküler; i.c.v) sıçanlarda, doza bağımlı olarak kan basıncı artışı ve eşlik eden taşikardiye neden olmaktadır. Tek doz (350 mikrogram) DBcAMP'ye maksimal pressör yanıt injeksiyondan sonrası 25 dakikada gözlenmiş ve yanıtın süresi 60 dakika olmuştur. DBcAMP'nin i.c.v yoluyla verilmesinden sonraki pressör yanıtın santral katekolaminerjik yollar aracılığıyla olduğu

ve bunun sonucunda efferent sempatik çıkışda artış ve adrenal medulladan katekolamin salınımında artış olduğu düşünülmektedir (37, 38).

DBcAMP' in sıçan nukleus accumbens'ine uygulanması impuls iletiminde hiperpolarizasyon yanıtını aktive etmektedir (39). Ayni şekilde oluşan bu inhibisyon tablosu solunum yollarında oluşan postsinaptik inhibisyon ve duysal sinirler üzerinden gelişen presinaptik inhibisyon oluşumuyla da açıklanmaya çalışılmaktadır (40).

DBcAMP perfüze izole sıçan atrium preparatlarında da çalışılmış, tek doz olarak sinüs düğüm arterine verilmiştir. Doz 3 mg'ın üzerine çıktığında DBcAMP bifazik kronotropik ve inotropik yanıtları aktive etmiş; az miktarda ancak hızlı negatif kronotropik ve inotropik yanıtı takiben, uzun süreli pozitif kronotropik ve inotropik yanıt ortaya çıkmıştır. Pozitif etkilerin indüksiyonu yavaş olup, maksimum yanıtın oluşması 4-8 dakikayı almaktadır. Bu etkiler 20 ila 60 dakika sürmektedir. Pozitif inotropik etki/ pozitif kronotropik etki oranı, norepinefrinle indüklenen sonuçlara benzemektedir. Söz konusu çalışmada yüksek dozdaki DBcAMP'nin rat atriumunda pozitif kronotropik ve inotropik etkileri aktive ettiği bulunmuş olup, bununda muhtemelen kalbin kontraktil yanıtında ve pacemaker alanı üzerinde beta-adrenerjik aminlerin etkileri üzerinden olabileceği iddia edilmiştir (11).

2.2.1.2 Dibütiril cAMP'nin klinik kullanımı:

DBcAMP pek çok klinik patolojik yada deneysel ortamlarda denenmiş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin; DBcAMP'nin serbestçe hücre içine penetre olarak endotoksinin neden olduğu sistemik vazokonstriksiyonu düzeltip düzeltemeyeceği araştırılmıştır ve bu amaçla, endotoksinden önce tek doz DBcAMP injeksiyonu (10 mg/kg) ve endotoksin sonrası 0.1 mg/kg/dak., 180 dak. olacak şekilde infüzyonu sonrası, hemodinamik ve kimyasal mediyatörlere bakılmıştır. Kontrol grubundaki kardiyak debi ve üriner volümdeki azalma DBcAMP'li grupta belirgin inhibisyona uğramış, salınan 6-keto-$PGF_1\alpha$ ve tromboksan B_2'nin artan düzeyleri yine DBcAMP'li grupta anlamlı inhibisyona uğramıştır. DBcAMP'nin köpeklerde endotoksinin neden

olduğu sistemik vazokonstriksiyonu düzelttiği ve bununda muhtamelen tromboksan B_2'deki inhibisyona bağlı olduğu sonucuna varılmıştır (41, 42).

Ayni şekilde hemorajik şok, pek çok hormon için, hücre içi sekonder haberci olan cAMP 'nin metabolizmasında hasar oluşturma potansiyelindedir. Bu nedenle eksojen cAMP verilmesinin şoktaki kardiyovasküler hemodinamikler üzerine yararlı etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. DBcAMP'nin i.v bolus tarzındaki enjeksiyonu (2 mg/kg) hiperglisemiye neden olmuş, ancak kalp hızı, arteriyel basınç, kardiyak debi ve sol ventrikül basıncının ilk türevinde (dp/dt) herhangi bir değişim olmamıştır. Benzer sonuçlar bilinci açık ve anestezi altındaki köpeklerde ve de üç saatlik şok dönemi sonrası ve alınan kanın yeniden verildiği köpeklerde alınmıştır. DBcAMP'nin yada cAMP'nin yüksek dozdaki (10 mg/kg'dan büyük) enjeksiyonu sonrası tek değişiklik geçici hipotansiyon olmuştur (43).

Yine konjestif kalp yetmezliğindeki hastalarda DBcAMP 0.2 mg/kg 30 dakika süreyle verilerek etkisi gözlenmiştir. Sistolik arter basıncı düşmüş, ancak kardiyak debi ve sistemik vasküler direnç; diğer ajanlara göre daha belirgin olarak düşmüştür. Aritmi, DBcAMP ile artmamıştır (44).

Kardiyopulmoner bypass uygulanan hastalara vazodilataston yapıcı prostaglandin E_1 ve DBcAMP (7.25 mikrogram/kg/dak. infüzyon) uygulandığında ise, DBcAMP alan grupta; kontol grubu ile karşılaştırıldığında tüm parametreler açısından anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Bu açıdan açık göğüs cerrahisinde PGE_1 kullanımı, vazodilatatör ajan olarak daha avantajlı görünmektedir, ancak şiddetli hipotansiyona neden olabilir (45).

Şiddetli konjestif kalp yetmezliğindeki iki hastaya 300 mg / 40 dak. olacak şekilde DBcAMP infüzyonu yapıldığında, belirgin diürez ve hafifçe fiziksel aktivite artışı gözlenmiştir. Kardiyak indeks artarken, hem sistemik vasküler direnç, hem de pulmoner kapiller kenar basıncı azalmıştır. Kan glukozu ve plazma insülin seviyesi birlikte artarken, plazma serbest yağ asidi düzeyi infüzyon süresince azalmıştır. DBcAMP'nin

devamlı 300 mg/ 24 saat dozunda infüzyonu, diürezis ve artan fiziksel aktiviteye neden olmuş, bu açıdan DBcAMP'nin hemodinamik ve metabolik etkileri kalp yetmezliğinde yararlı görülmüştür (15).

Bir başka hasta grubunda, koroner reperfüzyon sonrası oluşan ventriküler fibrilasyonda DBcAMP 'nin etkisi araştırılmıştır. DBcAMP'nin ventriküler fibrilasyonun frekansını azalttığı ve ampiltüdünü arttırdığı saptanmıştır (46).

Atriyoventriküler bloklu köpeklerde ventriküler yaralanma üzerine DBcAMP'nin etkisi araştırıldığında ise; 0.1 mg/kg/dak. 30 dak. DBcAMP verilen köpeklerde ventriküler siklus uzunluğu anlamlı olarak kısalmıştır. QT intervali değişmediği halde, QTc intervali hafifçe uzamıştır. Ventriküler fibrilasyon eşiği, DBcAMP alımından sonra anlamlı olarak artmıştır. Böylece DBcAMP'nin eksperimental oluşturulmuş komplet atriyoventriküler blokta ventriküler yaralanma üzerine baskılayıcı olduğu gösterilmiştir (47).

2.2.1.3 Dibütiril cAMP'nin diğer etkileri:

DBcAMP'nin organizmada oluşturduğu farklı etkiler de söz konusudur. Örneğin DBcAMP'nin intravenöz enjeksiyonu plazma fibrinojen seviyesinde sadece küçük bir artışa neden olurken (48), endotelin-1 salınımında anlamlı değiimlere neden olmaktadır (49).

Ayrıca DBcAMP 5 mg/dak. dozunda plazma renin düzeyini anlamlı olarak artırırken; kan basıncında, kalp hızında, serum ve idrar elektrolitlerinde anlamlı bir değişiklik yapmamaktadır (50). DBcAMP'nin doğrudan jukstaglomerüler hücrelerden renin salınımını stimüle ettiği düşünülmektedir. Bu durum bir başka çalışmada sağlıklı ve primer aldosteronizm'li hastalarda araştırılmıştır. DBcAMP 0.33 mg/kg/dak dozda 20 dakika infüzyonla verildikten sonra sağlıklı erkekte plazma renin aktivitesi anlamlı olarak artmış, ancak aldosteronizm'li hastalarda bu düzey ancak düşük oranda

etkilenmiştir. DBcAMP'nin sağlıklı kişide ve hastalarda infüzyonu; kan basıncını ve serum sodyum ile potasyum düzeyini azaltmışır (51).

Kafein ve DBcAMP'nin, post sinaptik potansiyelin hiperpolarizan fazını arttırdığı saptanmıştır. Bunun temelde Ca^{+2} aracılı K^{+} kondüktansı artışıyla oluştuğu görülmüştür (52).

2.3 Vagus:

Kalbin parasempatik kontrölü n.vagus yolu ile sağlanır. N. vagus boyundan n. Laryngicus superior ve inferior'un ayrıldıkları yerler arasında kardiyak sinirleri verir. Bu pregangliyoner sinirler yüzeyel ve derin kardiyak pleksusları yapmak üzere stimülan sinirlerle karışırlar ve ganglion hücreleriyle sinaps yaparlar. Gangliyon hücrelerinden çıkan postgangliyoner efferent sinirler S-A(sinoatriyal), A-V(atrioventriküler) düğümlerine, His hüzmesi ve onun iki dalına, koroner damarlara ve orikül kasına dağılırlar. Vagus kalbden çıkan afferent lifler içerir. Sağ ve sol vaguslar kalbde farklı yerleri innerve eder (53). Sağ vagus daha çok S-A düğümünü, sol vagus da en çok A-V düğümünü ve His hüzmesini sinirlendirir. Onun için sağ vagusun uyarılmasında atriyum atımında yavaşlama, atriyum kasılmasında zayıflama ve bunların indirekt neticesi olarak ventriküler atımında yavaşlama görüldüğü halde, sol vagusun uyarılmasında kalb bloku meydana gelir ve ventrikül atımı yavaşlar veya durur. Vagusun birinin veya ikisinin çok kuvvetli uyarılması S-A düğümünün ritmik kasılmalarını tamamen durdurur veya uyaranların A-V den geçişini inhibe eder. Her iki halde de ritmik impluslar ventriküllere artık taşınamaz. Ventrikül 4-10 sn. durur, daha sonra kendi intrensek ritmiyle çalışmaya başlar (10-30 dk. içinde). Buna ventrikül kurtuluşu denir. Yani kalb vagus etkisinden kaçar, kurtulur. Bu durum ventriküllerdeki otonomi merkezlerinin faaliyete geçmiş olmasıyla açıklanır (53).

Deney hayvanlarında n. vagus kesilip distal ucundan uyarılırsa uyaranın hafif veya şiddetli oluşuna göre yavaşlama veya durma (negatif kronotrop etki), kısmi veya tam blok (negatif dromotrop etki), atriya kasılmada zayıflık (negatif inotrop etki),

oriküler kasın uyarılabilme eşiğinde yükselme (negatif batmotrop etki) ve oküler kas liflerinin refrakter periyodunda kısalma meydana gelir (53).

Vagus bu etkilerini S-A ve A-V düğümleri ve orikül kası yolu ile yapar. Vagusun ventriküllere direk etkisi yoktur. Ventrikül atımlarının yavaşlaması veya durması, orikül atımları yavaşlaması veya durmasının veya atrioventriküler iletimin etkisi altında kalmasının indirekt sonucudur. Vagus kalbte metabolizmaya da etkir. Anabolizmayı arttırarak kalbin daha ekonomik ve hesaplı çalışmasını temin eder. Kardio-inhibitör etkisini, serbestleştirdiği asetilkolin aracılığı ile yapar (53).

Asetilkolin; preganglioner ve postganliyoner parasempatik sinirlerin ve motor sinirlerin faaliyetleri sırasında uçlarında serbestleşen kimyasal aracıdır. Asetilkolin verilmesi kalbe sanki vagusun distal ucu uyarılmış gibi etki eder. Kalb kasında mevcut asetilkolini parçalayan kolinesteraz enzimi asetilkolinin bu etkisinin devamlı olmasını önler. Kalp vagus aracılığı ile devamlı bir frenleme altındadır. Buna vagal tonus denir. Bu durum vagusun kesilmesiyle gösterilebilir. Vagus kesilmesi kalbin hemen hızlanmasına sebep olur. Vagal tonusta artma veya azalma, yalnız başına kalb frekansını değiştirmeye yeterlidir (53).

Vagusun etkisi son zamanlarda mikroelektrodlarla ve radyoaktif K+ ile yapılan araştırmalarla şöyle açıklanmaktadır; vagusun uyarılması veya asetilkolin hücre membranının K+ iyonlarına olan permeabilitesinin arttırmaktadır. Bunun ise aksiyon potansiyelinin repolarizasyon safhasını çabuklaştırması gerekir. Nitekim elektrofizyolojik araştırmalar vagus uyarılmasında membranda hiperpolarizasyon, önder odağın aksiyon potansiyelinde inhibisyon meydana geldiğini göstermiştir. Vagusun atriyum kası refrakter periyodunda meydana getirdiği kısalma da, membranın K+ permeabilitesinde meydana getirdiği değişiklik ile açıklanabilir. Vagusun etkisiyle membranın K+ permeabilitesinde meydana gelen artma repolarizasyonu hızlandırır. Bu nedenle aksiyon potansiyeli süresi kısalır. Vagus etkisiyle aksiyon potansyeli süresinin kısalması refrakter periyodunun da kısalması anlamına gelir (53).

3. MATERYAL VE METOD

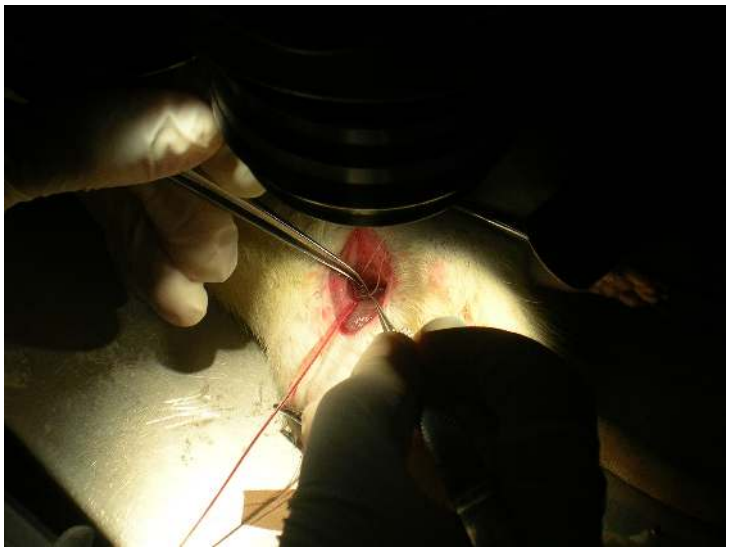
Bu çalışmalar Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı' nda yapılmıştır. Söz konusu çalışmamız Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunun 24 / 12 / 2003 tarih ve 2003 /63 nolu projesi olarak destek görmüştür. Araştırmamızın Üniversitemizin Lokal Hayvan Etik Komitesi onayı mevcuttur.

Çalışmamızda deney hayvanı olarak 250-280 gram ağırlığındaki Sprague- Dawley türü sıçanlar kullanıldı (n=28). Anestezi için 50 mg/kg Na-Pentobarbital intraperitoneal (i.p) uygulandı. Tamamlayıcı ve idame anestezi dozu 5 mg/kg Na-Pentobarbital (i.p) olarak kullanıldı.

Spontan solunum sırasında larinksin hemen altından trakea kanüle edildi. Trakeal sekresyonları sık sık aspire edilerek solunum yolunun açık olduğundan emin olundu. Ayrıca yine spontan solunum altında, femoral ven ve femoral arter kateterizasyonları yapıldı. Femoral venden hayvanın ihtiyacı olan elektrolit solüsyonu (4 ml/saat) verildi.

3.1 Femoral arter ve ven kateterizasyonu

Sıçanların ventral abdomen ve iç kalça alanı tıraşlandı. Palpe edilerek femoral damarların yeri tespit edildi ve makas abdomene paralel tutularak tek bir kesi (2cm) yapıldı (damarlar saphenous sinir ile paralel uzanmaktadırlar). İnce, dişsiz pensler yardımıyla damarlar dikkatlice diseke edildi. 3 adet 10 cm'lik ip; diseke edilen damarların proksimal, orta ve distal kısımlarının altından geçirildi ve gevşek düğümler atıldı. Proksimal ve distal kısımdaki ipler eğri uçlu klemp ile asıldı. Gerilmiş olan damarın distal ve orta kısımındaki ipler arasına bir yarık açıldı. Katater yarık içerisine yerleştirildi ve iliak artere kadar ilerletildi. Gevşek bağlanan ipler sıkıca bağlandı ve katater damar içine sabitlendi.



Resim 3.1.1 Femoral arter kateterizasyonu

Resim 3.1.2 Femoral arter kateterizasyonu

3.2 Vagus diseksiyonu

Boynun orta hattında, 2 cm'lik insizyon ile cilt, cilt altı açıldı. İnfrahyoid kaslar ile Sternocleidomastoid kası arasındaki üçgenden carotis diseksiyonu yapıldı. Carotis bifurkasyonu hizasından vagus transvers olarak kesildi.

Resim 3.2.1 Vagus siniri

Etkin dozun belirlenmesi için; yukarı belirtilen özelliklerdeki sıçanlara (her doz için n=3) 6, 10 veya 15 mg/kg DBcAMP; 1 ml'lik serum fizyolojik (SF) içerisinde femoral arterden bolus tarzında uygulandı.

Bu işlemleri takiben, dört grup oluşturuldu. **İlk gruba** (n=7) (kontrol grubu) 1 ml'lik serum fizyolojik (SF) femoral arterden bolus tarzında uygulandı. **İkinci gruba** (n=7) 15 mg/kg DBcAMP, 1 ml'lik SF içinde ayni şekilde verildi. **Üçüncü gruba** (n=7) sol vagus sinir kesisi uygulandı. Son gruba (n=7) ise (**dördüncü grup**) hem DBcAMP verilip, hem de 3. dakikada servikal sol vagal sinir kesisi (vagotomi) uygulandı. Her hayvanda ortalama arter basıncı (MAP) ve kalp hızı (HR) değerleri 1 saat süre ile ölçüldü. Kan basıncı ve kalp hızı sinyalleri transdüser amfisi (TBM4-WPI, USA) ile

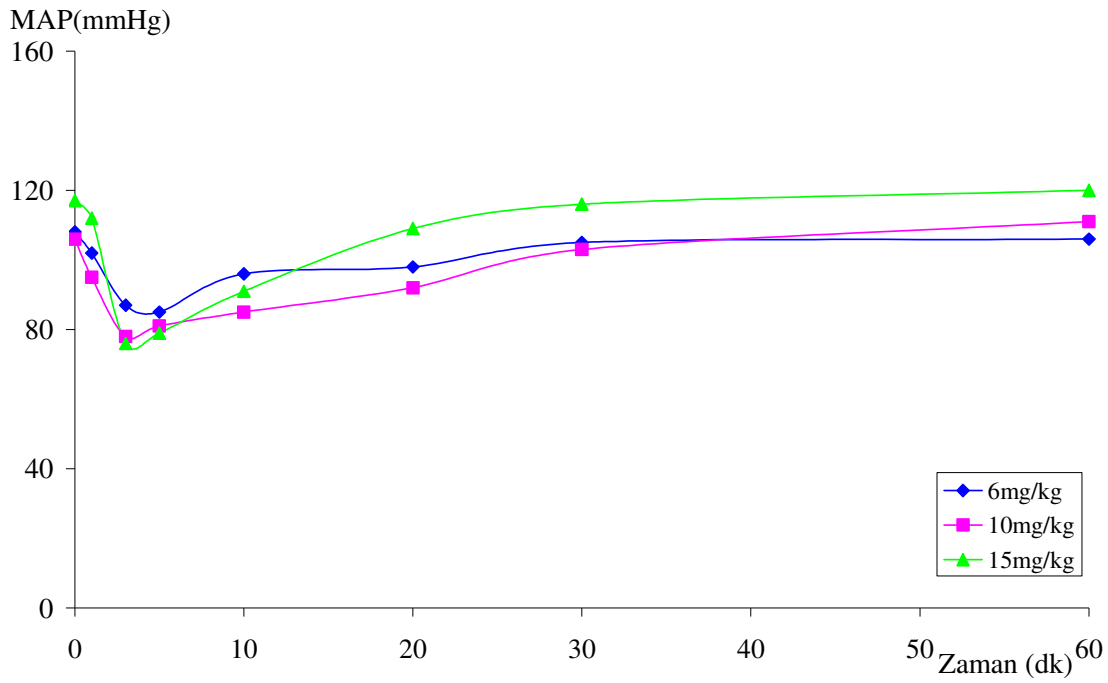
güçlendirildikten sonra sayısal olarak bilgisayar ortamında kayıt edildi (Power Lab/8SP, model: ML 785, Made in Australia).

3.3 İstatistik

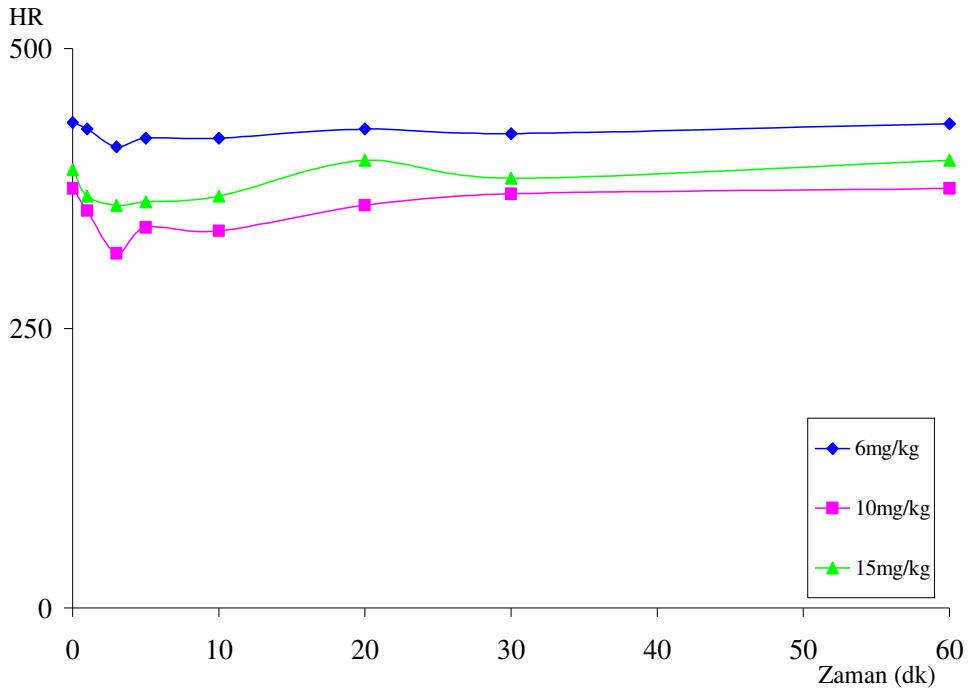
Bulunan değerler, SSPS istatistik programında ANOVA yöntemi ile karşılaştırılmış olup, $P<0.05$ olan değerler anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

DBcAMP'nin, HR ve MAP değerlerini azaltıcı etkisi (kardiyovasküler depresif etki), hemen ortaya çıkmamıştır; ancak 3 dakika sonra istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görülmüştür ve bu etki ilk 10 dakika içinde maksimum düzeyine ulaşmaktadır. Görülen etki geçici olup, yaklaşık 30 dakika içinde HR ve MAP başlangıç seviyelerine geri dönmektedir ve burada sabit kalmaktadır. DBcAMP'nin, MAP ve HR üzerine etkileri paralel seyretmektedir; bu nedenle şok indeks (HR/MAP) zaman içinde sabit kalmaktadır. Aşağıda verilen dozların(6, 10 ve 15 mg/kg) MAP ve HR üzerine depresif etkileri arasında belirgin bir fark gözlenmemektedir. Yani doz artıkça kardiyovasküler depressif etki artmamaktadır.

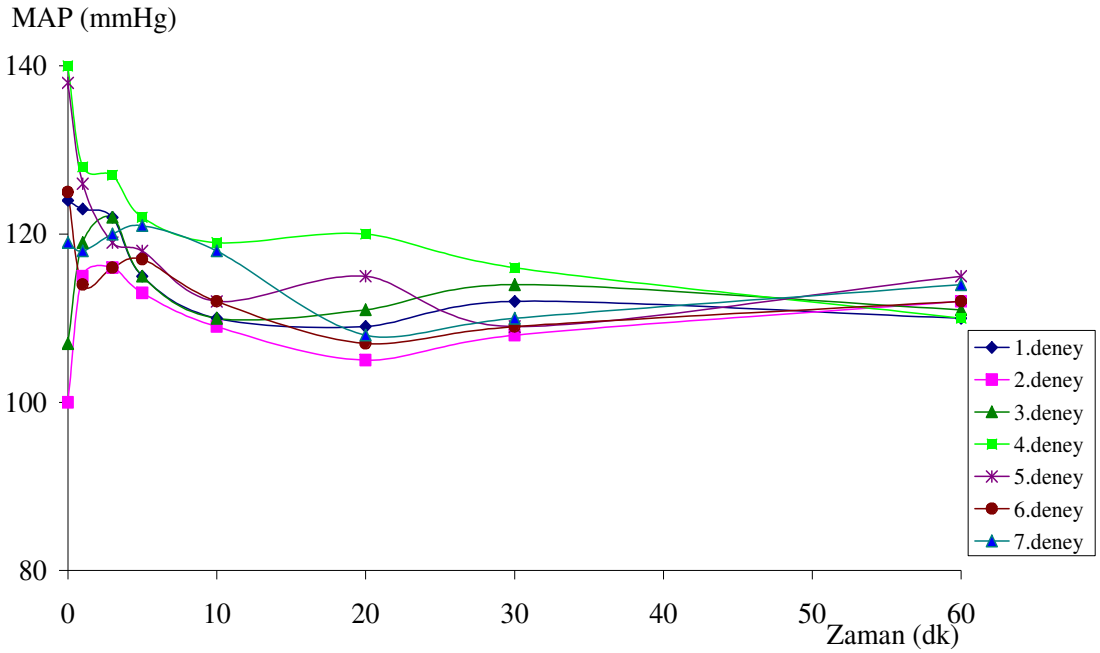


Grafik 4.1 Farklı dozlarda (6, 10 ve 15 mg/kg) uygulanan DBcAMP'nin ortalama arter basıncı üzerine zamana bağlı etkisi.

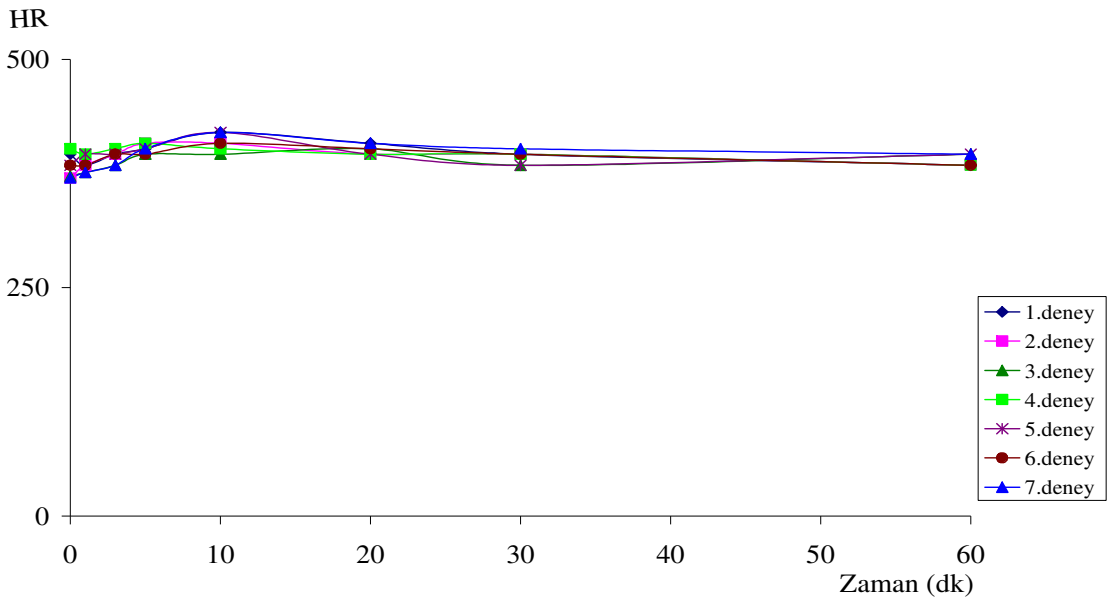


Grafik 4.2 Farklı dozlarda (6, 10 ve 15 mg/kg) uygulanan DBcAMP'nin ortalama kalp hızı değerlerinin zamana bağlı etkisi.

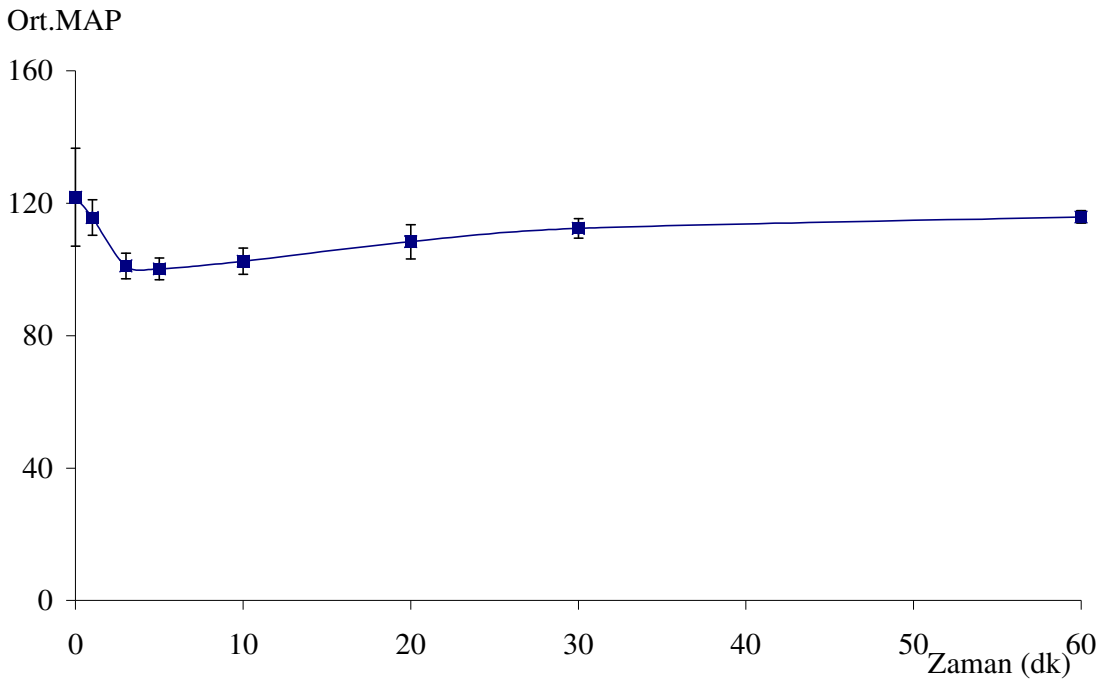
1. SF uygulanan grup: Serum fizyolojik ile yapılan kontrol deneylerinde HR ve MAP değerlerinde doza ve zamana bağlı anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. 1 saat boyunca stabil olarak HR ve MAP değerleri kayıt edilmiştir.



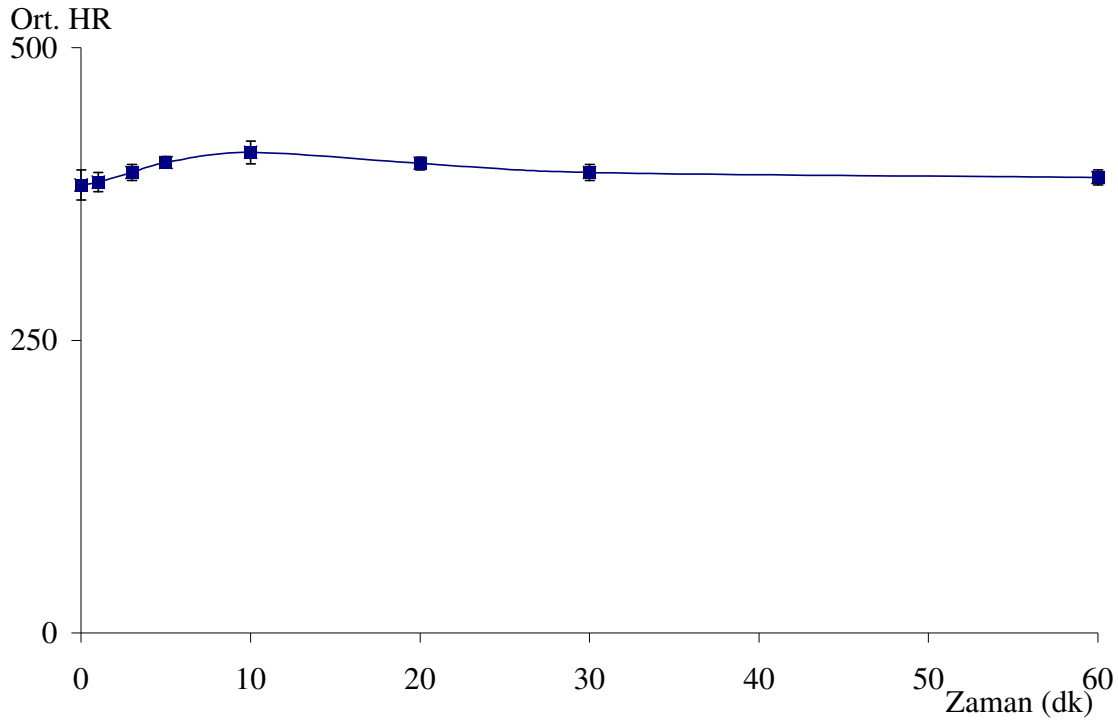
Grafik 4.1.3 SF uygulanan grubun MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.



Grafik 4.4 SF uygulanan grubun kalp hızı değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.

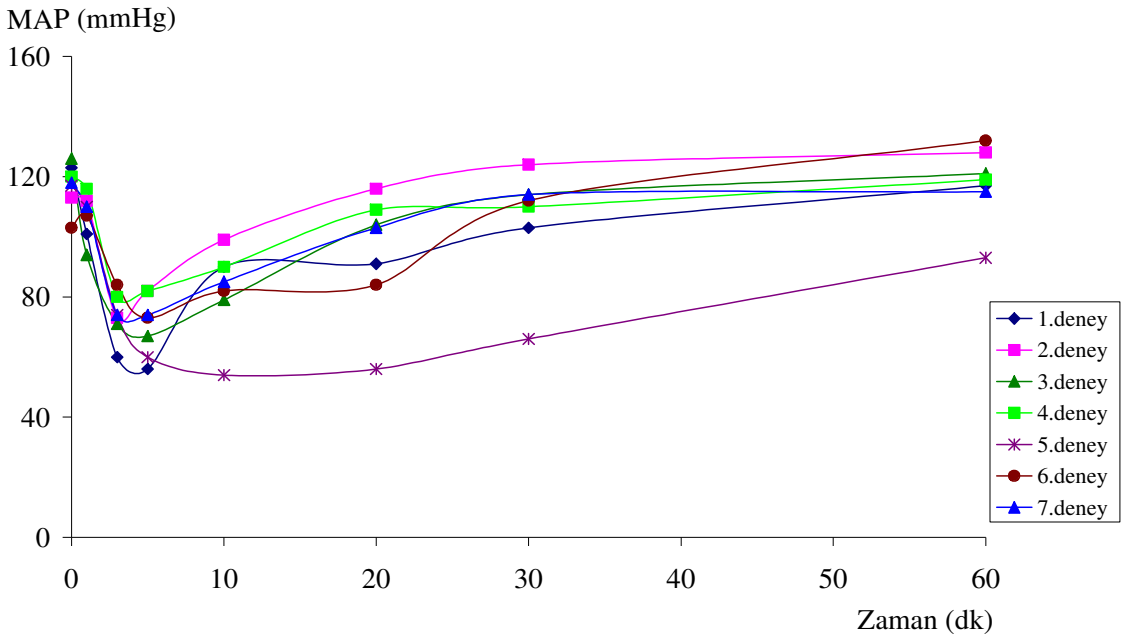


Grafik 4.5 SF uygulanan grubun ortalama MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.

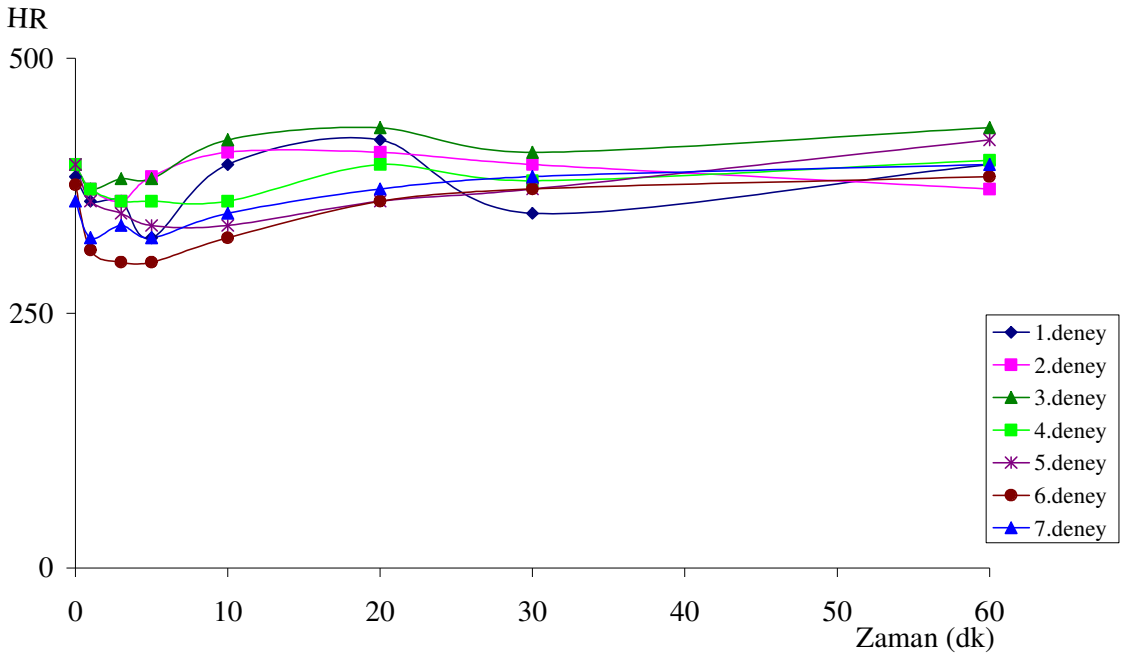


Grafik 4.6 SF uygulanan grubun ortalama kalp hızı değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.

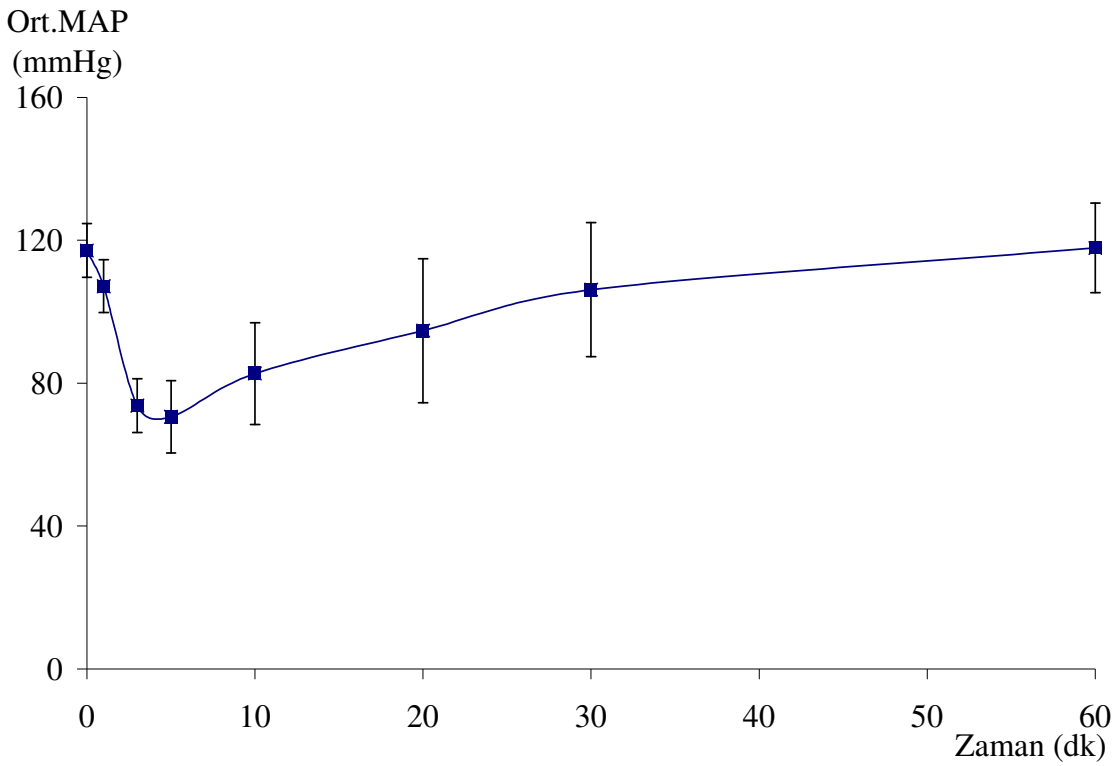
2. DBcAMP uygulanan grup: Stabil bir MAP kaydı alındıktan sonra uygulanan DBcAMP; MAP'da düşürücü bir etki oluşturdu. Bu etki DBcAMP'nin uygulanmasından 3 dk sonra görüldü ve bu etki ilk 10 dk. içinde maksimum düzeye ulaştı. Görülen bu etki geçici olup, yaklaşık 30 dk. içinde başlangıç seviyesine geri dönmektedir.



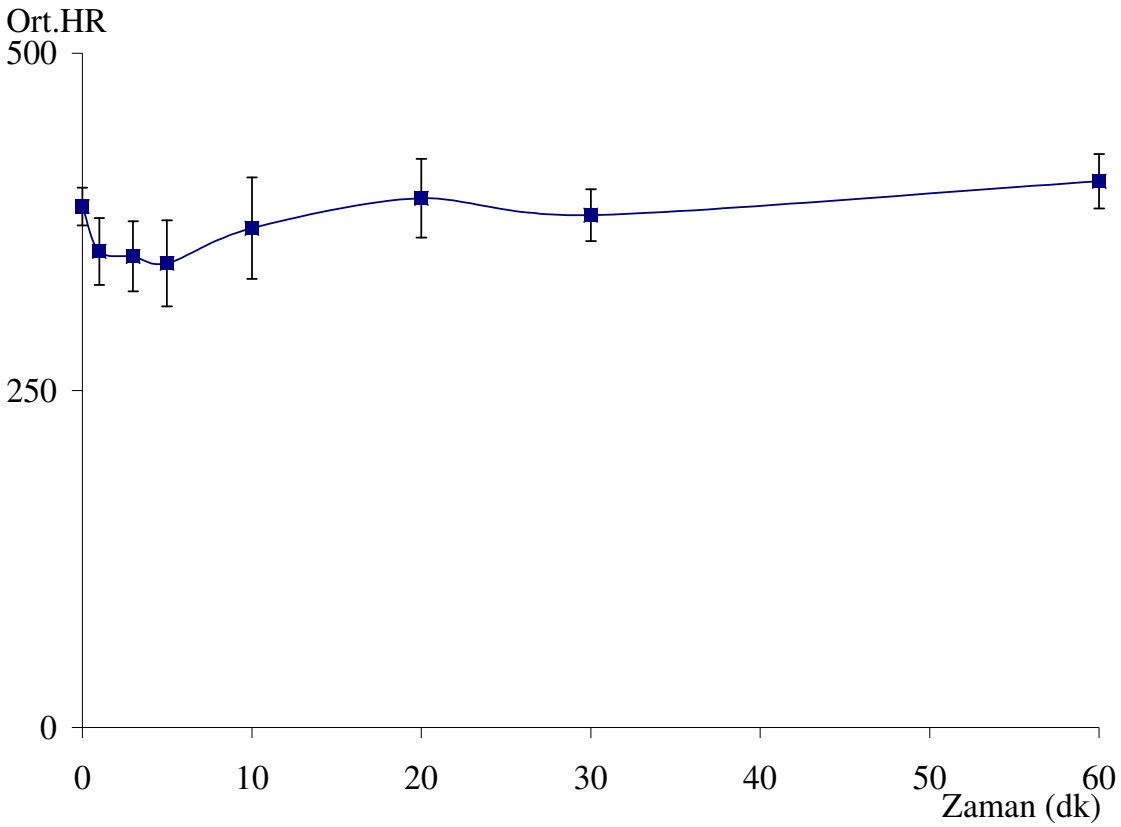
Grafik 4.7 DBcAMP uygulanan grubun MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.



Grafik 4.8 DBcAMP uygulanan grubun kalp hızı (HR) değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.

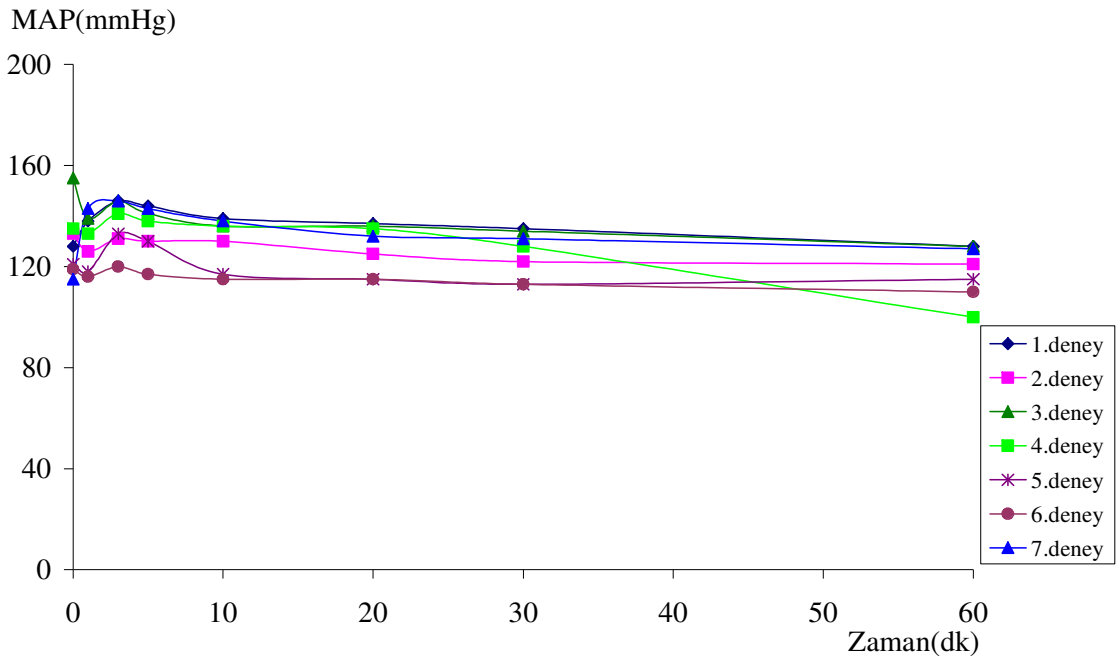


Grafik 4.9 DBcAMP uygulanan grubun ortalama MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.

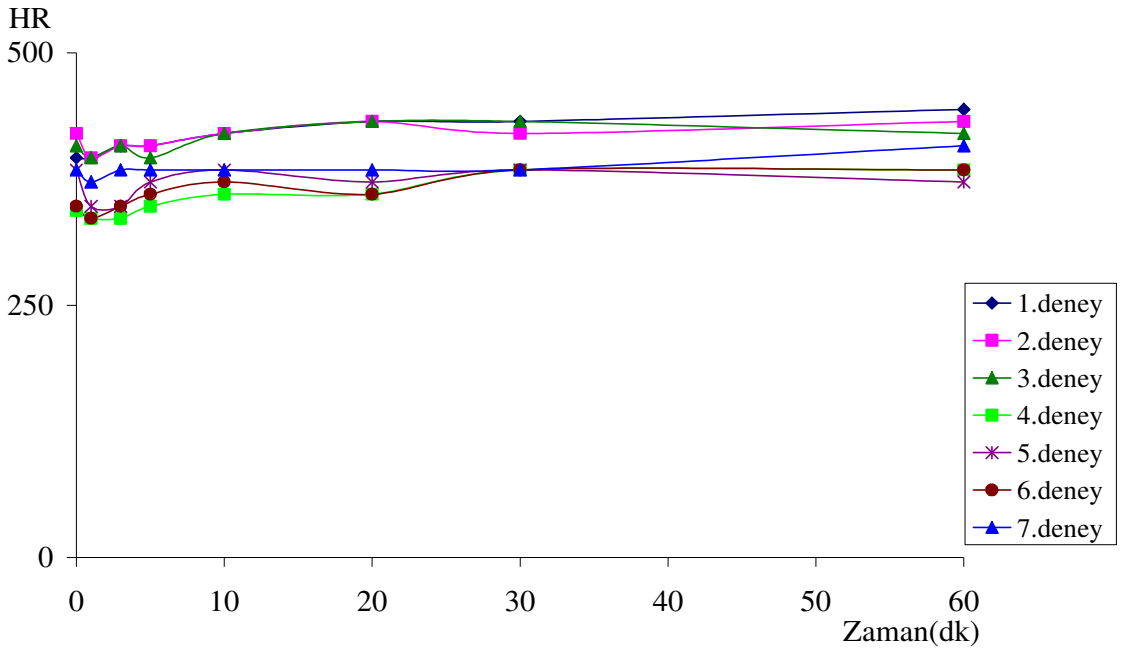


Grafik 4.10 DBcAMP uygulanan grubun ortalama kalp hızı (HR) değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.

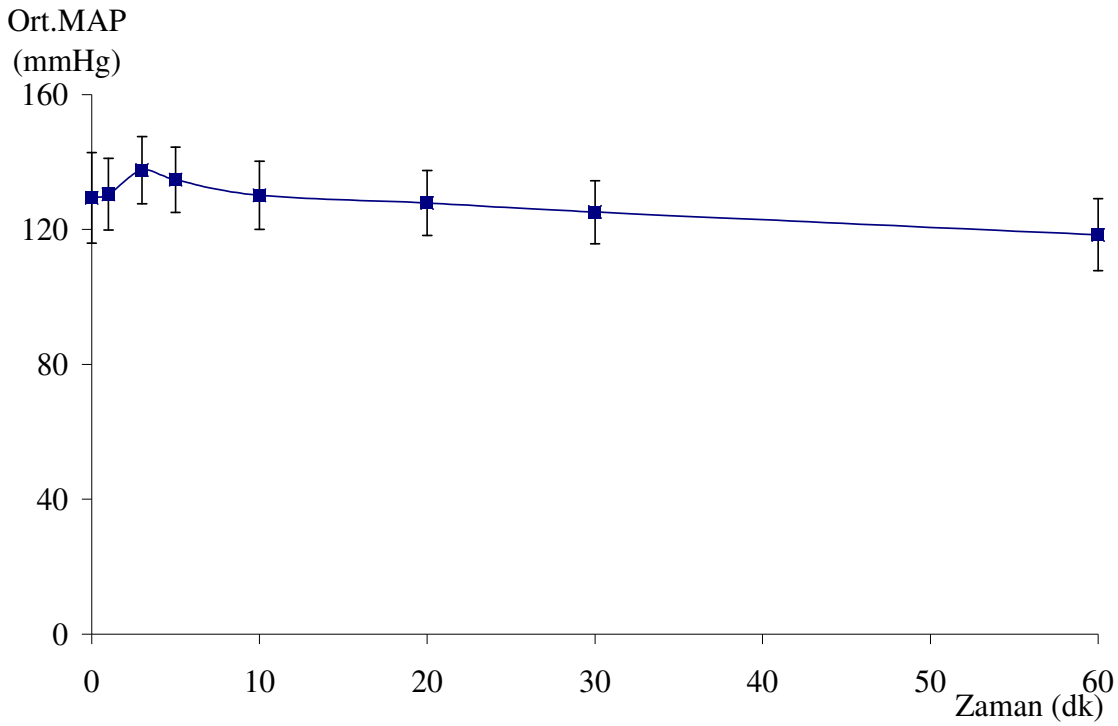
3. Vagus kesisi yapılan grup: Stabil bir MAP sonrası sol vagal kesisi uygulanan bu grupta MAP değerinde önce hafif bir artış, ardından bir azalma gözlenmiştir.



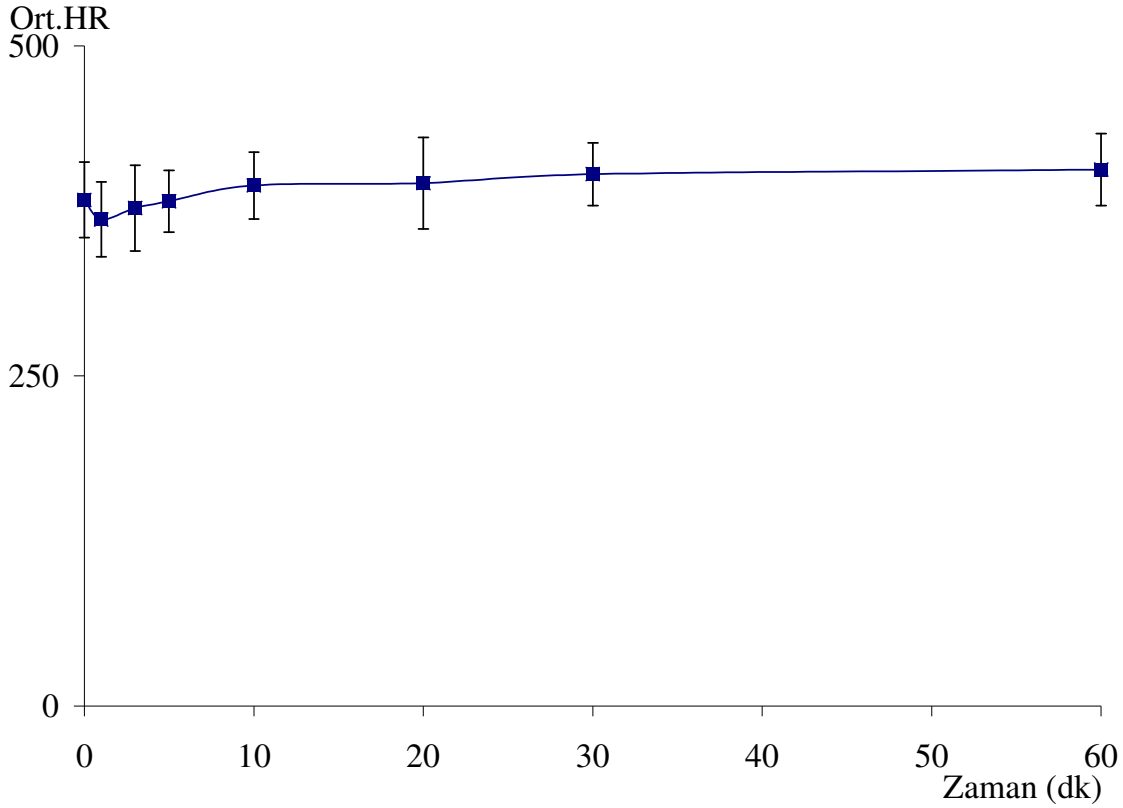
Grafik 4.11 Vagus kesisi yapılan grubun MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.



Grafik 4.12 Vagus kesisi yapılan grubun kalp hızı (HR) değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.

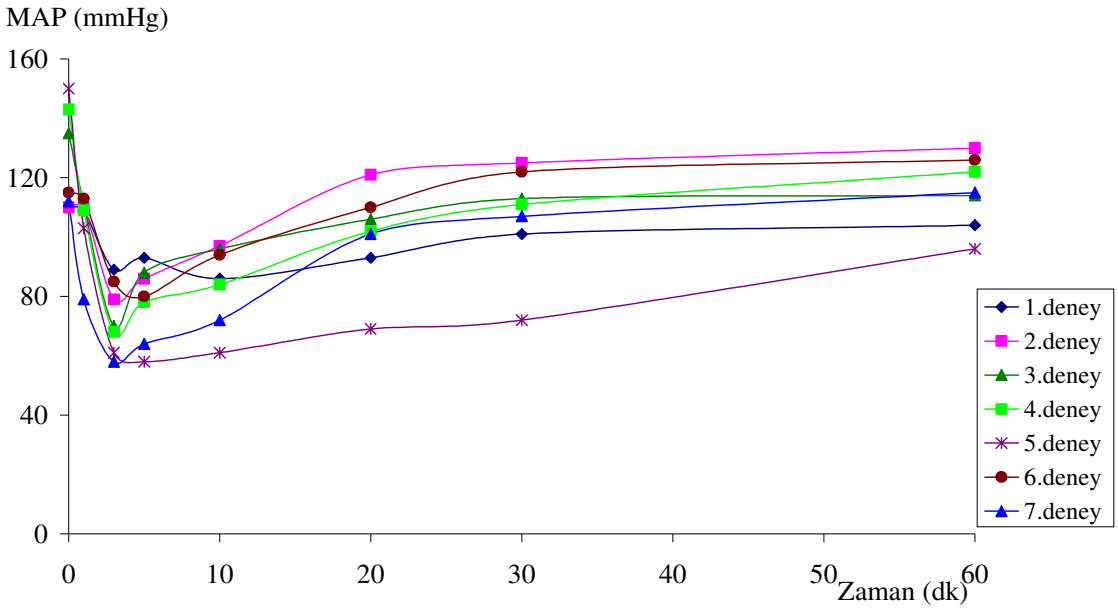


Grafik 4.13 Vagus kesisi yapılan grubun ortalama MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.

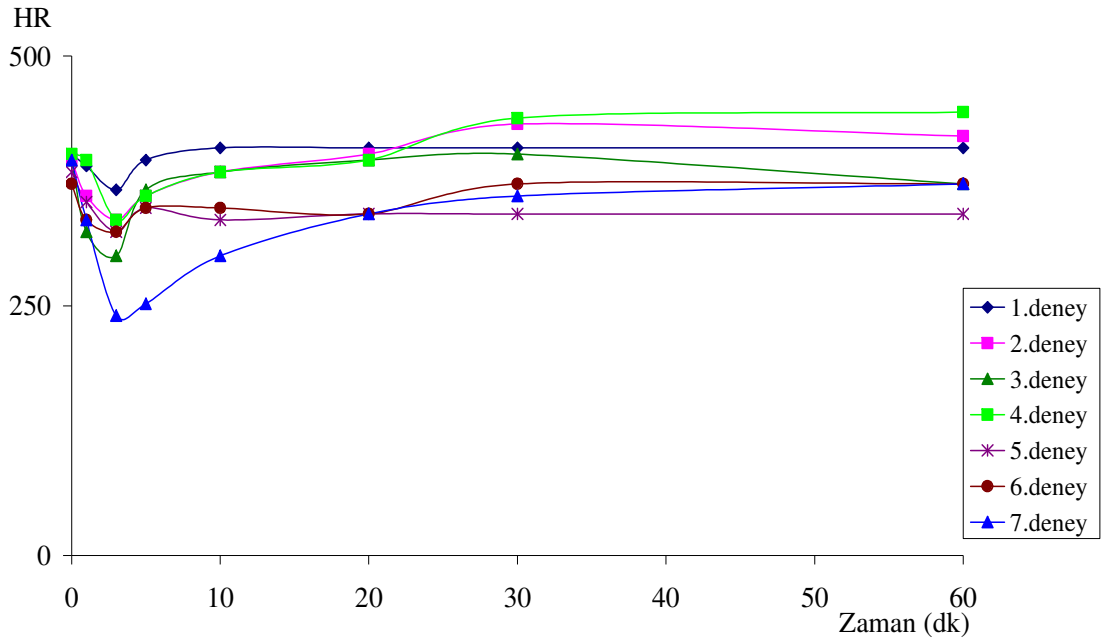


Grafik 4.14 Vagus kesisi yapılan grubun ortalama kalp hızı (HR) değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.

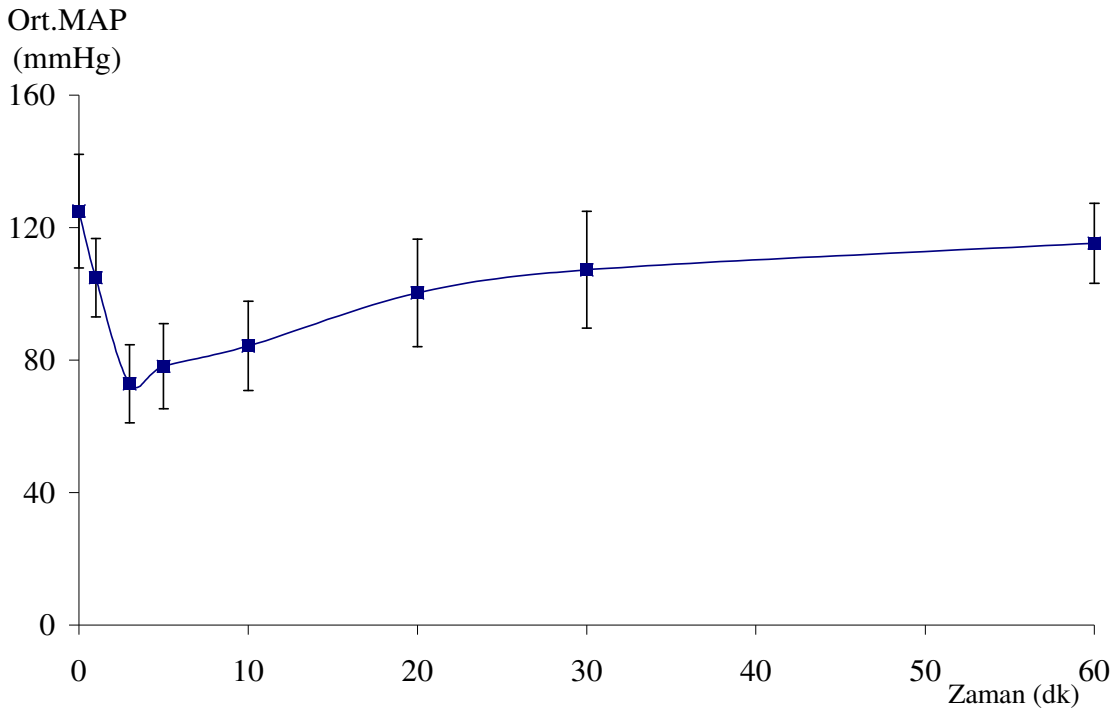
4. DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grup: Stabil bir MAP kaydı alındıktan sonra DBcAMP verilip 3.dk.'da uygulanan servikal vagotomi sonucu MAP değerinde yine anlamlı bir düşüş gözlendi.



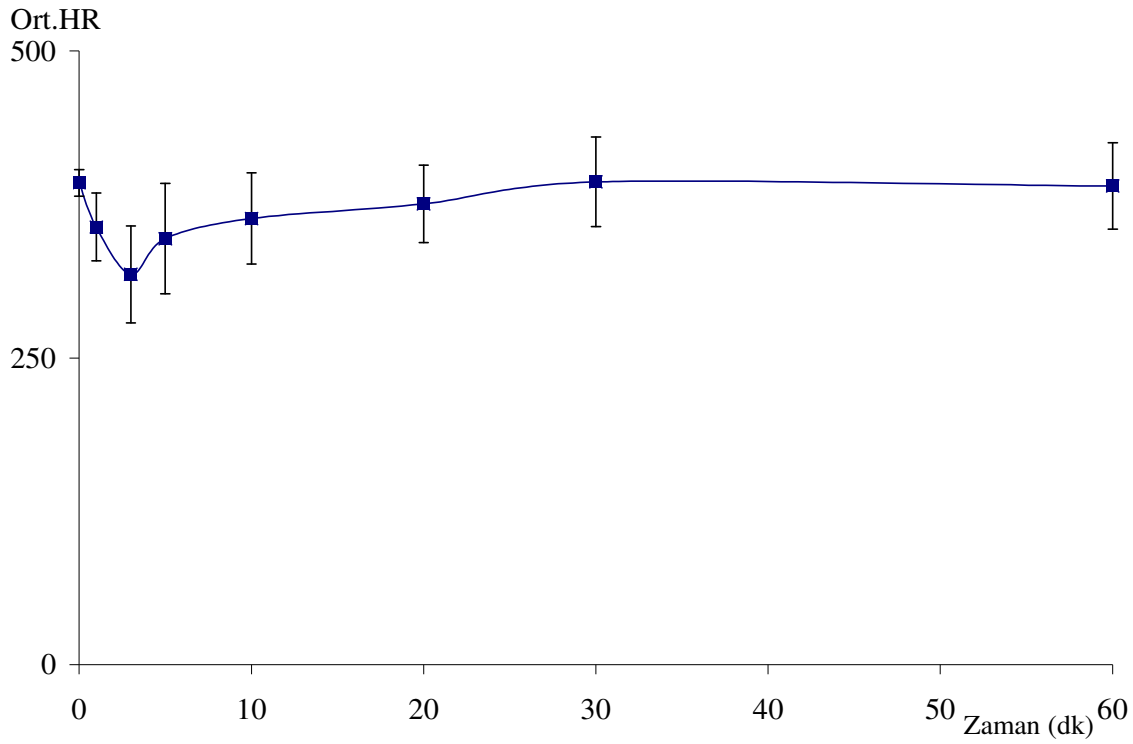
Grafik 4.15 DBcAMP verilip sol servikal vagotomi yapılan grubun MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.



Grafik 4.16 DBcAMP verilip sol servikal vagotomi yapılan grubun kalp hızı (HR) değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.



Grafik 4.17 DBcAMP verilip sol servikal vagotomi yapılan grubun ortalama MAP değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.



Grafik 4.18 DBcAMP verilip sol servikal vagotomi yapılan grubun ortalama kalp hızı (HR) değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği.

Tablo 4.1 Tüm deney gruplarının ortalama arter basınç değerleri

	DBcAMP	Vagus	DBcAMP+VAGUS	SF	
	ort ± sd	ort ± sd	ort ± sd	ort ± sd	p
0.dk	117,14 ± 7,52	129,29 ± 8,87	125,00 ± 17,17	121,86 ± 14,78	0,473
1.dk	107,15 ± 7,41	130,43 ± 10,63	104,86 ± 11,81	120,43 ± 5,38	0*
3.dk	73,72 ± 7,55	137,58 ± 9,99	72,86 ± 11,82	120,29 ± 3,86	0*
5.dk	70,58 ± 10,14	134,72 ± 9,69	78,14 ± 12,84	117,29 ± 3,30	0*
10.dk	82,72 ± 14,24	130,15 ± 10,09	84,29 ± 13,48	112,86 ± 4,02	0*
20.dk	94,72 ± 20,17	127,86 ± 9,64	100,29 ± 16,29	110,71 ± 5,19	0,002*
30.dk	106,15 ± 18,77	125,15 ± 9,34	107,29 ± 17,62	111,14 ± 2,97	0,031*
60.dk	117,86 ± 12,53	118,43 ± 10,69	115,29 ± 12,10	112,00 ± 1,91	0,235

* Tüm gruplar arasında 1.dk, 3.dk, 5.dk, 10.dk, 20.dk ve 30.dk' larda kaydedilen MAP değerleri açısından istatiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($P< 0.05$).

Tablo 4.2 DBcAMP verilen grup ile vagus kesisi yapılan grupların ortalama arter basınç değerlerinin karşılaştırılması.

	DBcAMP	Vagus	
	ort ± sd	ort ± sd	p
0.dk	117,14 ± 7,52	129,43 ± 13,46	0,073
1.dk	107,15 ± 7,41	130,43 ± 10,63	0,001*
3.dk	73,72 ± 7,55	137,58 ± 9,99	0,001*
5.dk	70,58 ± 10,14	134,72 ± 9,69	0,001*
10.dk	82,72 ± 14,24	130,15 ± 10,09	0,001*
20.dk	94,72 ± 20,17	127,86 ± 9,64	0,002*
30.dk	106,15 ± 18,77	125,15 ± 9,34	0,026*
60.dk	117,86 ± 12,53	118,43 ± 10,69	1,000

* DBcAMP verilen grup ile vagus kesisi yapılan grupların 1.dk, 3.dk, 5.dk, 10.dk, 20.dk ve 30.dk' larda alınan ortalama arter basınç değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark vardır (P< 0.05).

Tablo 4.3 DBcAMP verilen grup ile, DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grupların ortalama arter basınç değerlerinin karşılaştırılması.

	DBcAMP	DBcAMP+VAGUS	
	ort ± sd	ort ± sd	p
0.dk	117,14 ± 7,52	125,00± 17,17	0,902
1.dk	107,15 ± 7,41	104,86 ± 11,81	0,902
3.dk	73,72 ± 7,55	72,86 ± 11,82	0,805
5.dk	70,58 ± 10,14	78,14 ± 12,84	0,259
10.dk	82,72 ± 14,24	84,29 ± 13,48	0,805
20.dk	94,72 ± 20,17	100,29 ± 16,29	0,710
30.dk	106,15 ± 18,77	107,29 ± 17,62	1,000
60.dk	117,86 ± 12,53	115,29 ± 12,10	0,620

DBcAMP verilen grup ile, DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan gruplar arasında ortalama arter baıncı değerleri açısından istatiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (P > 0.05)

Tablo 4.4 DBcAMP verilen grup ile konrol grubunun ortalama arter basınç değerlerinin karşılaştırılması.

	DBcAMP	SF	
	ort ± sd	ort ± sd	p
0.dk	117,14 ± 7,52	121,86 ± 14,78	0,456
1.dk	107,15 ± 7,41	120,43 ± 5,38	0,002*
3.dk	73,72 ± 7,55	120,29 ± 3,86	0,001*
5.dk	70,58 ± 10,14	117,29 ± 3,30	0,001*
10.dk	82,72 ± 14,24	112,86 ± 4,02	0,001*
20.dk	94,72 ± 20,17	110,71 ± 5,19	0,053
30.dk	106,15 ± 18,77	111,14 ± 2,97	0,902
60.dk	117,86 ± 12,53	112,00 ± 1,91	0,026

* DBcAMP verilen grup ile konrol grubunun 1.dk, 3.dk, 5.dk, ve 10.dk' larda kaydedilen ortalama arter basınç değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark vardır (P <0.05).

Tablo 4.5 Vagus kesisi yapılan grup ile, DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grupların ortalama arter basınç değerlerinin karşılaştırılması.

	Vagus	DBcAMP+VAGUS	
	ort ± sd	ort ± sd	p
0.dk	129,29 ± 8,87	125,00 ± 17,17	0,456
1.dk	130,43 ± 10,63	104,86 ± 11,81	0,001*
3.dk	137,58 ± 9,99	72,86 ± 11,82	0,001*
5.dk	134,72 ± 9,69	78,14 ± 12,84	0,001*
10.dk	130,15 ± 10,09	84,29 ± 13,48	0,001*
20.dk	127,86 ± 9,64	100,29 ± 16,29	0,002*
30.dk	125,15 ± 9,34	107,29 ± 17,62	0,017*
60.dk	118,43 ± 10,69	115,29 ± 12,10	0,620

* Vagus kesisi yapılan grup ile, DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grupların 1.dk, 3.dk, 5.dk, 10.dk, 20.dk ve 30.dk' larda alınan ortalama arter basınç değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark vardır (P <0.05).

Tablo 4.6 Vagus kesisi yapılan grup ile kontrol grubunun ortalama arter basınç değerlerinin karşılaştırılması.

	Vagus	SF	
	ort ± sd	ort ± sd	p
0.dk	129,29 ± 8,87	121,86 ± 14,78	0,535
1.dk	130,43 ± 10,63	120,43 ± 5,38	0,097
3.dk	137,58 ± 9,99	120,29 ± 3,86	0,004*
5.dk	134,72 ± 9,69	117,29 ± 3,30	0,004*
10.dk	130,15 ± 10,09	112,86 ± 4,02	0,007*
20.dk	127,86 ± 9,64	110,71 ± 5,19	0,004*
30.dk	125,15 ± 9,34	111,14 ± 2,97	0,007*
60.dk	118,43 ± 10,69	112,00 ± 1,91	0,165

* Vagus kesisi yapılan grup ile kontrol grubunun 3.dk, 5.dk, 10.dk ve 20.dk ve 30.dk' larda alınan ortalama arter basınç değerleri karşılaştırıldığında, gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu bulunmuştur ($P < 0.05$).

Tablo 4.7 DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grup ile, kontrol grubun ortalama arter basınç değerlerinin karşılaştırılması.

	DBcAMP+VAGUS	SF	
	ort ± sd	ort ± sd	p
0.dk	117,14 ± 7,52	121,86 ± 14,78	0,805
1.dk	104,86 ± 11,81	120,43 ± 5,38	0,001*
3.dk	72,86 ± 11,82	120,29 ± 3,86	0,001*
5.dk	78,14 ± 12,84	117,29 ± 3,30	0,001*
10.dk	84,29 ± 13,48	112,86 ± 4,02	0,001*
20.dk	100,29 ± 16,29	110,71 ± 5,19	0,128
30.dk	107,29 ± 17,62	111,14 ± 2,97	0,902
60.dk	115,29 ± 12,10	112,00 ± 1,91	0,318

* DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grup ile, kontrol grubun 1.dk, 3.dk, 5.dk ve 10.dk' larda alınan ortalama arter basınç değerleri arasında anlamlı bir fark vardır ($P < 0.05$).

Tablo 4.8 Tüm deney gruplarının ortalama kalp hızı değerleri.

	DBcAMP	Vagus	DBcAMP+VAGUS	SF	
	ort ± sd	ort ± sd	ort ± sd	ort ± sd	p
0.dk	386,29 ± 14,02	383,43 ± 28,61	392,57 ± 10,86	382,57 ± 12,84	0,564
1.dk	353,14 ± 24,84	368,57 ± 28,32	356,57 ± 27,68	385,14 ± 8,23	0,055
3.dk	349,43 ± 25,89	377,14 ± 32,39	318,00 ± 39,65	393,43 ± 6,80	0,001*
5.dk	344,29 ± 31,88	382,29 ± 23,42	347,14 ± 44,96	402,00 ± 4,90	0,002*
10.dk	370,28 ± 37,58	394,29 ± 25,39	363,43 ± 37,13	410,57 ± 9,71	0,033*
20.dk	392,57 ± 29,16	396,00 ± 34,64	375,43 ± 31,53	401,14 ± 5,40	0,447
30.dk	380,00 ± 19,18	402,86 ± 23,86	393,43 ± 36,47	393,43 ± 6,80	0,366
60.dk	405,14 ± 20,23	406,29 ± 27,21	390,00 ± 35,16	389,14 ± 6,41	0,382

* 3.dk, 5.dk ve 10.dk'larda saptanan ortalama kalp hızı değerleri açısından tüm gruplar arasında anlamlı bir fark vardır ($P < 0.05$).

Tablo 4.9 DBcAMP verilen grup ile vagus kesisi yapılan grupların ortalama kalp hızı değerlerinin karşılaştırılması.

	DBcAMP	Vagus	
	ort ± sd	ort ± sd	p
0.dk	386,29 ±14,02	383,43 ± 28,61	1,000
1.dk	353,14 ± 24,84	368,57 ± 28,32	0,318
3.dk	349,43 ± 25,89	377,14 ± 32,39	0,209
5.dk	344,29 ± 31,88	382,29 ± 23,42	0,038*
10.dk	370,28 ± 37,58	394,29 ± 25,39	0,209
20.dk	392,57 ± 29,16	396,00 ± 34,64	0,805
30.dk	380,00 ± 19,18	402,86 ± 23,86	0,073
60.dk	405,14 ± 20,23	406,29 ± 27,21	1,000

* DBcAMP verilen grup ile vagus kesisi yapılan gruplar arasında, 5.dk'da alınan ortalama kalp hızı değerleri açısından farkın anlamlı olduğu bulunmuştur ($P < 0.05$).

Tablo 4.10 DBcAMP verilen grup ile DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grubun ortalama kalp hızı değerlerinin karşılaştırılması.

	DBcAMP	DBcAMP+VAGUS	
	ort ± sd	ort ± sd	p
0.dk	386,29 ±14,02	392,57 ± 10,86	0,318
1.dk	353,14 ± 24,84	356,57 ± 27,68	1,000
3.dk	349,43 ± 25,89	318,00 ± 39,65	0,097
5.dk	344,29 ± 31,88	347,14 ± 44,96	0,620
10.dk	370,28 ± 37,58	363,43 ± 37,13	0,710
20.dk	392,57 ± 29,16	375,43 ± 31,53	0,259
30.dk	380,00 ± 19,18	393,43 ± 36,47	0,535
60.dk	405,14 ± 20,23	390,00 ± 35,16	0,383

DBcAMP verilen grup ile, DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grupların ortalama kalp hızı değerleri açısından aralarında istatiksel olarak anlamlı fark yoktur ($P > 0.05$).

Tablo 4.11 DBcAMP verilen grup ile konrol gruplarının ortalama kalp hızı değerlerinin karşılaştırılması.

	DBcAMP	SF	
	ort ± sd	ort ± sd	p
0.dk	386,29 ±14,02	382,57 ± 12,84	0,620
1.dk	353,14 ± 24,84	385,14 ± 8,23	0,001*
3.dk	349,43 ± 25,89	393,43 ± 6,80	0,001*
5.dk	344,29 ± 31,88	402,000 ± 4,90	0,001*
10.dk	370,28 ± 37,58	410,57 ± 9,71	0,053
20.dk	392,57 ± 29,16	401,14 ± 5,40	0,710
30.dk	380,00 ± 19,18	393,43 ± 6,80	0,128
60.dk	405,14 ± 20,23	389,14 ± 6,41	0,073

* DBcAMP verilen grup ile kontrol gruplarının 1.dk, 3.dk, ve 5.dk'larda alınan ortalama kalp hızı değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark vardır (P <0.05).

Tablo 4.12 Vagus kesisi yapılan grup ile DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grupların ortalama kalp hızı değerlerinin karşılaştırılması.

	Vagus	DBcAMP+VAGUS	
	ort ± sd	ort ± sd	p
0.dk	383,43 ± 28,61	392,57 ± 10,86	0,620
1.dk	368,57 ± 28,32	356,57 ± 27,68	0,383
3.dk	377,14 ± 32,39	318,00 ± 39,65	0,007*
5.dk	382,29 ± 23,42	347,14 ± 44,96	0,073
10.dk	394,29 ± 25,39	363,43 ± 37,13	0,165
20.dk	396,00 ± 34,64	375,43 ± 31,53	0,318
30.dk	402,86 ± 23,86	393,43 ± 36,47	0,710
60.dk	406,29 ± 27,21	390,00 ± 35,16	0,318

* Vagus kesisi yapılan grup ile, DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grupların 3.dk' da alınan ortalama kalp hızı değerleri arasındaki farkın istatiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (P <0.05).

Tablo 4.13 Vagus kesisi yapılan grup ile kontrol grubunun ortalama kalp hızı değerlerinin karşılaştırılması.

	Vagus	SF	
	ort ± sd	ort ± sd	p
0.dk	383,43 ± 28,61	382,57 ± 12,84	0,710
1.dk	368,57 ± 28,32	385,14 ± 8,23	0,456
3.dk	377,14 ± 32,39	393,43 ± 6,80	0,805
5.dk	382,29 ± 23,42	402,000 ± 4,90	0,165
10.dk	394,29 ± 25,39	410,57 ± 9,71	0,318
20.dk	396,00 ± 34,64	401,14 ± 5,40	0,710
30.dk	402,86 ± 23,86	393,43 ± 6,80	1,000
60.dk	406,29 ± 27,21	389,14 ± 6,41	0,383

Vagus kesisi yapılan grup ile kontrol grubunun ortalama kalp hızı değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark yoktur (P > 0.05).

Tablo 4.14 DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grup ile, kontrol grupların ortalama kalp hızı değerlerinin karşılaştırılması.

	DBcAMP+VAGUS	SF	
	ort ± sd	ort ± sd	p
0.dk	392,57 ± 10,86	382,57 ± 12,84	0,165
1.dk	356,57 ± 27,68	385,14 ± 8,23	0,097
3.dk	318,00 ± 39,65	393,43 ± 6,80	0,001*
5.dk	347,14 ± 44,96	402,000 ± 4,90	0,001*
10.dk	363,43 ± 37,13	410,57 ± 9,71	0,004*
20.dk	375,43 ± 31,53	401,14 ± 5,40	0,165
30.dk	393,43 ± 36,47	393,43 ± 6,80	0,710
60.dk	390,00 ± 35,16	389,14 ± 6,41	0,710

* DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan grup ile kontrol grubunun 3.dk, 5.dk ve 10.dk' larında alınan ortalama kalp hızı değerleri arasında anlamlı bir fark vardır (P <0.05).

5. SONUÇ - TARTIŞMA

cAMP ilk kez Sutherland ve Rall tarafından farklı hormonların metabolizmasında bir mediatör olarak keşfedilmiştir. İkincil haberci teorisi ise cAMP ile katekolaminler arasındaki ilişki ile ortaya konulmuştur (18).

Siklik AMP, katekolaminler için ikincil haberci olarak kabul edilmektedir (1,2,3). Katekolaminler, adenil siklazın aktivasyonu ile intrasellüler siklik AMP seviyesinde bir artışın sonucu olarak pozitif inotropik etkiler meydana getirebilme özelliğine sahiptirler (4).

Siklik AMP kalbin adrenerjik uyarıma olan yanıtını, miyokard hücrelerinin Ca^{2+} aktivatörü miktarını arttırma ile sağlar. Bu etkinin kardiyak sarkoplazmik retikulum veziküllerinden Ca^{2+} transportunu stimüle eden kardiyak cAMP bağımlı protein kinazlar ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (4). Aktiflenen cAMP bağımlı protein kinazlar ise çeşitli hücre içi proteinlerin fosforilasyonunu sağlar. Sonuçta sağlıklı kalpte hem gevşeme, hem de kontraksiyon aktiflenmiş olur (5).

cAMP eksojen olarak uygulandığında, hücre membranına zayıf penetrasyon göstermesi nedeniyle, katekolaminler gibi pozitif kardiyak etkiler oluşturamamaktadır (6). cAMP'nin N6-2'-O- dibütiril türevleri (DBcAMP) ise hücre membranlarını kolayca geçer ve hücrede cAMP ve monobütiril cAMP olarak birikir (7,8). Kukovetz'in in-vivo ortamda perfüze edilmiş kalpte DBcAMP'nin pozitif inotropik etkilerini göstermesinden sonra (10), DBcAMP 'nin inotropik etkileri izole kalpte de gösterilmiştir (9, 10,11). Koroner akımda bildirilen artış, DBcAMP ve katekolaminlerin kardiyak etkiler yönünden benzerliğini kuvvetle vurgulamaktadır (12). Ayrıca, cAMP türevlerinin, cAMP fosfodiesteraz'ı inhibe edebildiği (13) ve periferik vasküler direnci düşürdüğü gösterilmiştir(14).

Son zamanlarda Hashimoto (17) ile Matsui ve arkadaşları (18) tarafından konjestif kalp yetmezliğindeki hastalarda DBcAMP'nin ortalama arteriyel basınçta,

ortalama pulmoner arter ve ortalama sağ atriyal basınçlarında belirgin azalma yaptığı ve bu etkinin temel olarak vazodilatasyon yapıcı etkisine bağlı olduğu bildirilmiştir (4,17). Dahası bu etki direkt effektör organ üzerine olabileceği gibi refleks yol ile de oluşabilir. Ayrıca DBcAMP uygulama yerine göre, intraarteriyal veya intravenöz gibi, farklı etkilere neden olmaktadır; bu da DBcAMP'nin refleks yollar üzerinden etki oluşturmasına bağlanmaktadır. Bütün bu bilgilerin ışığında bizde; intraarteriyel uygulanan DBcAMP'nin kan basıncı ve kalp atım sayısı üzerine etkisini, sıçanlarda doza ve zamana bağlı olarak göstermeyi ve muhtemel bu refleks yanıtın vagus siniri üzerinden gerçekleşip gerçekleşmediğini ortaya koymayı amaçladık.

DBcAMP' nin kardiak fonksiyon üzerine etkileri ilk kez 1965 yılında Rabinson ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir. Rabinson ve arkadaşlarının raporuna göre; Posternak ve grubu ilk olarak, anestezi edilmiş köpeklerde 4mg/kg dozda DBcAMP' yi i.v uygulamış ve bunun kardiyovasküler performans da sadece minimal ve kararsız değişimlere neden olduğunu bulmuştur (5).

Bu konuyla ilgili olarak, anestezi edilmiş köpeklerde metabolik asidoz sırasında DBcAMP' nin kardiovasküler değişimler ve plazma katekolaminleri üzerine etkisi araştırılmış ve şiddetli metabolik asidozla ilişkili dolaşım yetersizliği sırasında ihtiyaç duyulan tedavide, hemodinami üzerine DBcAMP' nin etkilerinin dopamine göre çok daha yararlı olduğu gösterilmiştir (23).

Yapmış olduğumuz çalışmada, DBcAMP'nin, HR ve MAP değerleri üzerindeki kardiyovasküler depresif etki, 3. dakika ortaya çıkmış ve söz konusu değerlerde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlenmiştir (Tablo 4.1 ve Tablo 4.8). Bu etki ilk 10 dakika içinde maksimum düzeyine ulaşmıştır. Görülen etki geçici olup, yaklaşık 30 dakika içinde HR ve MAP başlangıç seviyelerine geri dönmektedir ve burada sabit kalmaktadır. DBcAMP'nin, MAP ve HR üzerine etkileri paralel seyretmektedir; bu nedenle şok indeks (HR/MAP) zaman içinde sabit kalmaktadır. DBcAMP' nin uygulanan dozları (6, 10 ve 15 mg/kg) arasında, MAP ve HR düzeyleri açısından belirgin bir fark gözlenmemektedir (Grafik 4.1 ve Grafik 4.2). Yani doz artıkça

kardiyovasküler depressif etki artmamaktadır. Hashimoto ve ark. ile Furukawa ve ark.'nın sonuçları bu açıdan bulgularımızla benzerdir (25,26).

DBcAMP uygulaması, uygulama bölgesine bağlı olarak da farklı sonuçları ortaya çıkarabilmektedir. DBcAMP'nin çeşitli beyin bölgelerine uygulanımı, adrenerjik aktivasyon sonrası gözlenen kardiyovasküler etkilere benzer etkiler göstermektedir (35,36). O nedenle adenosin ve adenosin nükleotidlerinin santral etkisinin kan basıncını arttırmak şeklinde olduğunu ifade edilmektedir (37,38,39).

Yapmış olduğumuz çalışmayla uyumlu olarak Chiba ve arkadaşları, direkt sinüs nodu arterine uyguladıkları DBcAMP ile başlangıçta hızlı, ama kısa vadede (-) inotrop ve (-) kronotropik bulgular elde etmişler ve bu etkinin de 20 – 60 dk arasında devam ettiğini gözlemlemişlerdir (13). Maksimum yanıtın oluşması, bizim bulgularımızı da destekler tarzda, 4-8 dakikayı almaktadır (11). Yine Nozaki ve ark.'nın çalışmalarında köpeklere 5mg/kg dozda i.v DBcAMP uygulanmış ve ortalama sistemik arteriyel basınç ve santral venöz basınç doza bağımlı olmaksızın hafifçe düşmüştür (29).

Nozaki ve arkadaşları ile, Hashimoto ve arkadaşlarının çalışmalarında birbirleriyle uyumlu olarak DBcAMP' nin; total periferik rezistansı, renal arter vasküler rezistansı, süperior mesenter arter vasküler rezistansında ve pulmoner kapiller kenar basıncında belirgin, karotid arter vasküler rezistansında ise hafif bir azalma yaptığını gözlemlemişlerdir (16,17,29). Çalışmamızda da ortalama arteriyel basıncın 3.dk da maksimum düşüş göstermesi, Okuaki ve ark.'nın çalışmasıyla da desteklendiği gibi, periferik vasküler rezistansın azalmasına bağlanmıştır (30).

Farklı bir çalışmada, cAMP'nin yapısında yer alan adenosin'in i.v uygulamasının sinoatriyal düğüm üzerine inhibitör etkisi araştırılmış, bu etki normal vagal tonüsü olan bilinci açık köpekte gözlenmemiştir. Farmakolojik yada cerrahi parasempatik blokaj yapıldığında adenosin, kuvvetli negatif kronotropik etki göstermiştir. Bu çalışmanın sonucunda adenosinin oluşturduğu negatif kronotropik etkinin doğrudan bir kolinerjik inhibisyon olmadığı, daha çok sistemik uygulanan

adenosin'in sinoatriyal düğüm üzerindeki inhibitör etkisinin, adenosin verilmesinden sonraki arteriyel hipotansiyona yanıt oluşan vagal tonüsdeki geri çekilmeyle maskelendiği kanaatine varılmıştır (55). Bizim yaptığımız çalışmada da Belloni ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonuçlarıyla uyumlu olarak, DBcAMP'nin kardiyovasküler depresif etkisinin vagal reflekslerle kompleks etkileşim halinde olduğu düşünülmüştür.

Gerçektende çalışmamızda DBcAMP'nin HR ve MAP'de yaptığı azalma, doza bağlı olmadığı için bu etkinin refleks yolla oluştuğu düşüncesi desteklenmiştir. Bu olası refleks etkinin latent dönemi saniyelerle ifade edilemeyip, klasik reflekslerin latent döneminden daha uzundur. Bu da DBcAMP'nin kompleks bir santral sinir sistemi cevabına neden olduğunu işaret etmektedir. Bu nedenle DBcAMP'nin refleks yolla yapabileceği etkiyi araştırmak için vagal sinir inhibisyonu oluşturmanın uygun olabileceği düşünülmüştür ve bu amaçla çalışmamızda intraarteriyel uygulanan DBcAMP'nin; sol servikal vagotomi yapılan sıçanlarda kan basıncı ve kalp atım sayısı üzerine etkisi zamana bağlı olarak incelenmiştir.

cAMP'nin ve doğal olarak temel yapısında yer alan adenosin'in kardiyak afferent nöronların aktivasyonu üzerindeki elektrofizyolojik mekanizmaları bilinmemektedir. DBcAMP 'in sıçan nukleus accumbens'ine uygulanması impuls iletiminde hiperpolarizasyon yanıtını aktive etmektedir (40). Yapılan bir başka çalışma ile adenosin'in vagal afferent nöronlardaki yavaş afterhiperpolarizasyon (AHP) dalgalarını inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu etkininde, cAMP üretimi üzerinden A^2 reseptör aracılığında olması kuvvetle ihtimaldir (59). Yine adenosin ile ilişkili olmak üzere ekstrasellüler ATP'nin, akciğerlerdeki kemosensitif vagal C-sinir terminalleri üzerinden etkili olduğu, dolayısıyla pulmoner-kardiyak depressör refleksi meydana çıkardığı gözlenmiştir (56). Bu konuyla ilgili benzer çalışmalarda, vagal afferent terminallerin sadece akciğerde değil, kalpte de bu yol üzerinden stimüle edildiği ve bu sayede negatif kronotrop ve dromotropik etkinin oluştuğu gösterilmiştir (57). Bizim çalışmamızda; sol servikal vagotomi uygulanan grupta ortalama arter basıncı değerlerinde, vagotomiden itibaren 3.dk'ya ulaşılıncaya kadar minimal artış ve ardından

hafifçe bir azalma gözlenmiştir (Grafik 4.17). Vagotomi grubundaki kalp hızı değerleri ise, 1. dk civarında hafifçe azalırken, ilk 5 dakika içinde normal seviyelerine ulaşmıştır. Hatta başlangıç seviyelerinin de üzerine çıkmıştır (Grafik 4.12). DBcAMP etkisi bu yönden ele alındığında, 5.dk'da alınan kalp hızı değerlerinin, anlamlı olarak vagus kesisi uygulanan gruba göre, düşük olduğu gösterilmiştir. Bu durumda, vagotomi sonrası kardiyovasküler regülasyon süreçlerinin hızla oluştuğu sonucuna varılabilir. DBcAMP uygulanan grup ile DBcAMP verilip vagus kesisi yapılan gruplar karşılaştırıldığında; DBcAMP uygulanan grupta, diğer gruba göre negatif kronotrop etkinin daha hafif olduğu gözlenmiştir. Bu azalma istatistiksel olarak anlamlı olmadığından bir potansiyalizasyonun söz konusu olmadığı düşünülmektedir .

DBcAMP uygulaması ile vagotomi birlikte etki ettiğinde; DBcAMP uygulamasını andırır şekilde, ortalama arter basıncında benzer oranda azalma bulunmuştur. Bu durumda DBcAMP'nin etkisini vagotominin nötralize etmediği ve hatta potansiyelize etmediği sonucuna varılabilir. Bu yanıtta muhtemelen, nitrik oksit gibi farklı bir ikincil habercinin damar duvarı üzerinden gerçekleştirdiği fizyolojik mekanizmalar sorumludur. Ayrıca bilindiği gibi, ortalama arter basıncının ve kalp hızının düzenlenmesi çok sayıda kısa, orta ve uzun vadede görev alan mekanizmalarla sağlanmaktadır (6). Bu mekanizmalar arasında baroreseptör ve kemoreseptör refleks yanıtlar, merkez sinir sisteminin iskemiye yanıtı, renin-anjıotensin-aldosteron sistemi ve böbreklerin kan basıncını düzenleyen natriüez ve diürez fonksiyonları bulunmaktadır. Elde edilen bütün sonuçların ışığında; DBcAMP'nin oluşturduğu hipotansif ve negatif kronotropik etkilerde vagusa bağlı refleks yanıtların sorumlu tutulamayacağı yargısına varılabilir. Ancak burada hemen ifade etmemiz gereken bir konu; sağ servikal vagotomi ve cerrahi parasempatik blokaj yanı sıra, farmakolojik parasempatik blokaj yapılarak da bu deneylerin tekrarlanması ve sonuçlarının alınmasının konunun aydınlatılmasında yararlı olacağıdır. Bütün bunların sonucunda, ancak o zaman, DBcAMP'nin bilinen etkilerinin vagusa bağlı refleks yanıtlar şeklinde oluşup olmadığı daha kesin ifade edilebilir.

DBcAMP pek çok klinik patolojik yada deneysel ortamlarda denenmiş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Kardiovasküler hemodinamiği düzenleyebilen ve vazodilatör özelliklere sahip inotropik ilaçların klinik kullanımı uygun bulunmakla birlikte, aşırı vazodilatasyona bağlı hipotansiyon oluşturmaları nedeniyle bu ilaçların kullanımı sınırlıdır. DBcAMP, fosfodiesteraz tarafından oluşan inaktivasyona dirençli ve cAMP'nin faaliyetini direkt olarak potansiyelize edebilen nadir farmakolojik bir bileşimdir (4).

DBcAMP'nin endotoksinin neden olduğu sistemik vazokonstriksiyonu düzelttiği ve bununda muhtamelen tromboksan B_2'deki inhibisyona bağlı olduğu sonucuna varılmıştır (42,43). Bir başka çalışmada eksojen cAMP verilmesinin şoktaki kardiyovasküler hemodinamikler üzerine yararlı etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Yine konjestif kalp yetmezliğindeki hastalarda DBcAMP 0.2 mg/kg 30 dakika süreyle verilerek etkisi gözlenmiştir. Sistolik arter basıncı düşmüş, ancak kardiyak debi ve sistemik vasküler direnç; diğer denenen ajanlara göre daha belirgin olarak azalmıştır (45). Bu açıdan ele alındığında alınan sonuçlar; DBcAMP'nin ard yükteki azalma yoluyla kardiyak hemodinamikleri iyileştirebileceğini ve vazodilatatör etki ile konjestif kalp yetmezliğinin tedavisinde yararlı olabileceğini göstermektedir. Bu açıdan Haris ve ark. ile Hoshino ve ark.'nın araştırma bulgularıyla desteklenmektedir (15,31).

Sonuç olarak; DBcAMP'nin oluşturduğu geçici hipotansif etkinin moleküler mekanizmalarının belirlenmesinin; bu maddenin etkinliğinin belirlenip, tedavi amaçlı kullanılmasında ve doğal olarak klinikte farklı kardiyovasküler sistemi ilgilendiren hastalıkların tedavisinde yeni ufuklar açabilen bir kaynak olmasında önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Sutherland EW ,Robinson GA. Mettabolic effects of catecholamine: A. The role of cyclic-3',5'-AMP in responses to catecholamine and other hormones. *Pharmacol Rev*. 18:145, 1966.

2. Sutherland EW ,Robinson GA, Butcher RW. Some aspects of the biological role of adenosine3',5'– monophosphate (cyclic AMP). *Circulation.* 37 :279,1968.

3. Opie LH. Role of cyclic nucleotides in heart metabolism. *Cardiovasc Res.* 16 :483,1982.

4. Miyagi Y., Sasayama S., Nakajima H., Fujita M., Asanoi H. Comparative hemodynamic effects of intravenous dobutamine and dibutyryl cyclic AMP, a new inotropic agent, in severe congestive heart failure. *Cardiovasc Pharmacol.* 15 :138-143 ,1990.

5. Robinson GA, Butcher RW, Oye I, Morgan HE ,Sutherland EW. The effect of epinephrine on adenosine 3'5'- phosphate levels in the isolated perfused rat heart. *Mol Pharmacol*. 1:168 ,1965.

6. Ganong W.F. (Ed.): Uyarılabilir doku: Kas, In: DoğanA. *Ganong Tıbbi Fizyoloji*.16.Baskı,İstanbul, Barış kitabevi, 1995,:85-6.

7. Guyton A.C.,(Eds) *Texbook of Medical Physiology*, 10th ed .2001,841-3, 93.

8. Blecher M, Hunt NH. Enzymatic deacylation of mono- and dibutyryl derivates of cyclic adenosine monophosphate by extracts of rat tissue. *J Biol Chem*. 247:7479,1972.

9. Kaukkel E, Hilz H: Permeation of dibutyryl cAMP into HeLa cells and its conversion to monobutyryl Camp. *Biochem Biophys Res Commun*. 46 :1011,1972.

10. Kukovetz WR : Uber die Wirkung von Dibutyryl 3'5'- am isolierten Herzen. *Naunyn - Schemiedeb Acrh Exp Path Pharmak*. 260 :163, 1968.

11. Skleton GL ,Levey GS , Epstein SE : Positive inotropic effects of dibutyryl cyclic adenosine 3'5' – monophosphate . *Circ Res*. 26 :35 ,1970.

12. Kukovetz WR ,Poch G. Cardiostimulatory effects of cycylic 3'5' –adenosine monophosphate and its acylated derivatives. *Naunyn- Schemiebed Archparmacol*. 266:236 ,1970.

13. Chiba S. Effects of dibutyryl cyclic AMP on sinus rate and atrial contractile force in the isolated atrium of the dog. *Tohoku J Exp Med*. 115:.81, 1975.

14. Imai S, Otorii T, Takeda K, Katano y, Horii D. Effects of cyclic AMP and dibutyryl cyclic AMP on the heart and coronary circulation. *Jpn J Pharmacol.* 24 :499 , 1974.

15. Haris DN ,Chasin M, Philips MB, Goldenberg H ,Samanigeo S, Hess SM. Effect of cyclic nucleotides on activity of cyclic 3'5'- adenosine monophosphate. *Biochem pharmacol.* 22:221, 1973.

16. Nozaki H ,Okuaki A. Responses to exogenous dibutyryl adenosine 3'5'-monophosphate of cardiac output and blood flow in the renal, superior mesenteric and carotid anesthetized dogs. *Tohoku J Exp Med.* 115:145, 1975.

17. Hashimoto H ,Okumura K, Niizoe K ,Ogawa K. Efects of dibutyryl cyclic AMP on patients with severe heart failure. *Jpn Heart J.* 23:1021,1982.

18. Matsui S ,Murakami E, Takekoshi N, Emoto J, Matoba M: Hemodynamic effects of dibutyrylcyclic AMP in congestive heart failure . *AM.J. Cardiol.* 51:1364,1983.

19. Onat T., Emerk K., Sönmez E.Y. *İnsan biyokimyası.* Ankara: Palme yayıncılık, 2002,452-460.

20. Kayaalp O. S. *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*. 1998,8.baskı 2.cilt, Hacettepe-taş yayın1232-1236,

21. Güneş H.V. *Moleküler hücre biyolojisi*. 2003, 1. Baskı, Kaan kitabevi 310-326

22. Chmape P.C., Harvey R.A. *Lippincott's Jllustrated reviews serisinden : Biyokimya.* 2.baskı, İstanbul:Nobel tıp kitabevleri, 1997,80-85.

23. Chıkunı T., Tomonori S., Tatsji N., Hideaki S., Chiaki O. Effects of dibutyryl cyclic AMP hemodynamics and plasma catecholamine concentrations during ammonium chloride- induced metabolic acidosis in ansthetized dogs. *Critical Care Medicine.* 1989,17(6):551-5.

24. Kondo M., Washizu M.,Kinoshita G.,et al. Cardiovascular effects of dibutyryl cyclic AMP and milrione under right heart bypass in anesthetized dogs. *J VetMed Sci.*1994,56(5):923-8.

25. Hashimoto H., Kunitada S., Tamura K. Functional and metabolik effects of bucladesine (dibutyryl cyclic AMP) in the working rat heart preparation: comparision with dopamine. *Arch Int Pharmacodyn Ther.*1989,301:200-14.

26. Furukawa Y., Ogiwara Y., Saegusa K., Takeda M., Chiba S. Cardiovascular effects of dibutyryl cyclic AMP in the intact dog heart and the isolated cross-perfused right atrium. *Jpn Heart J.*1988,29(4);465-73.

27. Kane KA., Morcillo –Sanchez EJ., Parratt JR, Rodger IW., Shahid M. The relationship betwen coronary artery occlusion – induced arrhytmias and myocardial cyclic nucleotide levels in the anesthetized rat. *Br J Pharmacol.* 1985, 84 (1) :139-45.

28. Lee JC., Downing SE. Cyclic AMP and the pathogenesis of myocardial injury. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* . 1980,27(2):305-18.

29. Okuaki A. Effects of dibutyryl cyclic – AMP on cardiac output and myocardial contractility in dogs. *Tohoku J Exp Med.* 1977,1123(2):139-45.

30. Hoshino Y. Acute effects of dibutyryl cyclic AMP on renal circulation in congestive heart failure. *Jpn Heart J*. 1988, 29(6):771-9.

31. Narimatsu A., Taira N. Positive dromotropic effect of dibutyryl cyclic adenosine 3',5 ' – monophosphate on the atrioventricular node. *Eur J Pharmacol* 1977, 42(1):71-8.

32. Kobayashi Y., Kikushima S., Tanno K., Kurano K., Baba T., Katagiri T. Sustained left ventricular tachycardia terminated by dipyridamole: cyclic AMP-mediated triggered activity as a possible mechanism. *Pacing Clin Electrophysiol*. 1994,17(3 Pt 1):377-85.

33. Pelleg A, Mitsuoka T, Mazgalev T, Michelson EL. Vagal component in the chronotropic and dromotropic actions of adenosine and ATP. *Prog Clin Biol Res*.1987,230:375-84.

34. Qiu X.C., Li X.L., Shangguan Y. The cardiovascular reactions mediated by TPA and tamoxifen in spinal cord of conscious rats. *Yao Xue Bao.* 1995, 30(7):481-5.

35. Johnson JD., White HS., Isom GE. Local application of cyclic AMP in the rat brain: characterization of the cardiovascular response. *Eur J Pharmacol.* 1983 91 (4) : 343-51.

36. Clipsham PJ., Hamilton TC., Hunt AA., Poyser RH. Cyclic nucleotides and central cardiovascular control in the conscious cat. *Eur J Pharmacol.*1980, 65(2-3):193-200.

37. White HS., Driver PS., Isom GE. Studies on the central pressor activity of dibutyryl cyclic AMP. *Eur J Pharmacol*. 1979,57(2-3):107-13.

38. Brus R., Herman ZS., Dzikowski A., Zabawska J. The influence of central chemical sympathectomy and reserpine on peripheral effects of noradrenaline and cyclic AMP dibutyrate injected into the cerebral ventricles. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 1976, 24(4) : 537-42.

39. Higashi H, Inanaga K, Nishi S, Uchima N. Enhancement of dopamine actions on rat nucleus accumbens neurones in vitro after methamphetamine pre-treatment. *J Physiol.* 1989,408:587-603.

40. Morikawa M, Sekizawa K, Sasaki H. Inhibitory actions of cyclic AMP on neurogenic plasma extravasation in rat airways. *Eur J Pharmacol*. 1993 ,241 (19):83-7.

41. Okano S., Tagawa M., Urakawa N., Ogawa R. Effect of dibutyryl cyclic AMP on hemodynamics and chemical mediators in dogs with experimentally- induced endotoxic shock. *J Vet Med Sci.* 1993,55(6):1001-4

42. Yanase T., Enzan K., Mitsuhata H., Horiguchi T. Dibutyryl cAMP improves systemic vasoconstriction caused by endotoxin in dogs. *Shock.* 1996, 5(4) 284-8.

43. MacRae ML., Chiu CJ., Hinchey EJ . Effects of exogenous cyclic adenosine monophosphate in hemorrhagic shock . *Surgey*.1975, 78(2):254-60.

44. Nakanishi M., Yokota Y., Fukuzaki H. Cardiovascular effects of dibutyryl cyclic AMP in patients with congestive heart failure – comparison with dobutamine and catopril. *Jpn Circ J* . 1988, 52(6):503-10.

45. Sumiyoshi N., Kawachi S., Oishi K., et al. Effects of prostaglandin E1 and dibutyryl cyclic AMP on hemodynamics after cardiopulmonary bypass in valve replacement surgery. *Masui* . 1992, 41(4):532-8.

46. Tashiro N., Kumagai K., Yamanouchi Y., Matsuo K., Hiroki T., Arakawa K. A fast Fourier transform analysis of coronary reperfusion-induced ventricular fibrillation and the modification by dibutyryl cyclic AMP in a cat model. *Clin Cardiol.* 1992,15(10):733-8.

47. Kumagai K, Tashiro E, Tashiro N, Moroe K, Hiroki T, Arakawa K. Effects of dibutyryl cyclic AMP on ventricular vulnerability during atrioventricular block in dog. *Clin Cardiol*.1991,14(1):62-4.

48. Carlson TH., Fradl DC., Leonard BD., Wentland SH., Reeve EB. Fibrinojen synthesis stimulation by prostaglandin E1 and some other vasodilators. *Am J Physiol* . 1977, 233(1) : H1-H9.

49. Stewart DJ., Cernacek P., Mohamed F., Blais D., Cianflone K., Monge JC. Role of cyclic nucleotides in the regulation of endothelin-1 production by human endothelial cells. *Am J Physiol.*1994,266(3Pt 2):H944-51.

50. Werning C., Stiel D. The effects of calcitonin, glucagon and dibutyryl derivative of cyclic AMP on plasma- renin activity (author's transl). *Dtsch Med Wochenschr*. 1976,101(46) : 1690-2.

51. Fukuda N., Soma M., Kubo A., Kunimoto M., Watanabe Y., Izumi Y., Kanmatsuse K. Effetc of dibutyryl cyclic AMP on plasma renin activity in normal men and patients with primary aldosteronism. *J Endocrinol Invest* . 1997, 20(1):13-7.

52. Suzuki T , Kusano K. Hyperpolarizing potentials induced by Ca-mediated K-conductance increase in hmster submandibular ganglion cells. *J Neurobiol*. 1978,9 (5):367-92.

53. Akgün N. In: *Boşaltım -,Dolaşım,Sindirim Fizyolojisi*.1979,Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları No:92 ,ege üniversitesi Matbaası.

54. Belloni FL, Brown I, Hintze TH. Mechanism of the apparent parasympathetic inhibition of adenosine induced heart rate slowing in the dog. *Cardiovasc Res.* 1989,23(3):239-48.

55. Middlekauff HR, Doering A, Weiss JN. Adenosineenhances neuroexcitability by inhibiting a slow postspike afterhyperpolarization in rabbit vagal afferent neurons. *Circulation*. 2001,103(9).1325-9

56. Hurt CM, Wang L, Xu J, Sterious W, Pellg A. Electrophysiological –anatomic correlates of ATP-triggered vagal reflex in dogs.II.Vagal afferent traffic. *Am J Physiol*.1994,:267(3 Pt2):H1093-7.

57. Katchanov G, Xu J, Hurt CM, Pellg A. Electrophysiological –anatomic correlates of ATP-triggered vagal reflex in dogs. III. Role of cardiac afferents. *Am J Physiol*. 1996,270(5 Pt):H1785-90.