



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**İNTRASEREBROVENTRİKÜLER OLARAK ENJEKTE EDİLEN
ADRENOMEDÜLLİNİN KAN BASINCI VE KALP HIZINA ETKİSİ: OLASI
MEKANİZMALARIN ROLÜ**

Dr. Betül ÇAM ETÖZ

UZMANLIK TEZİ

Bursa - 2007



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**İNTRASEREBROVENTRİKÜLER OLARAK ENJEKTE EDİLEN
ADRENOMEDÜLLİNİN KAN BASINCI VE KALP HIZINA ETKİSİ: OLASI
MEKANİZMALARIN ROLÜ**

Dr. Betül ÇAM ETÖZ

UZMANLIK TEZİ
Danışman: Prof. Dr. Naciye İŞBİL BÜYÜKCOŞKUN
Bursa - 2007

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
İNGİLİZCE ÖZET - SUMMARY	iv
GİRİŞ.....	1
ADRENOMEDÜLLİN HAKKINDA GENEL BİLGİLER.....	2
Adrenomedüllinin Keşfi.....	2
Adrenomedüllinin Moleküler Yapısı.....	2
Adrenomedüllin Sentezi ve Metabolizması.....	3
Adrenomedüllin Reseptörleri ve Sinyal Transdüksiyonu.....	5
Adrenomedüllinin Plazma Seviyesini Etkileyen Durumlar.....	7
Adrenomedüllin ve Kardiyovasküler Sistem.....	9
Adrenomedüllinin Böbrekler Üzerine Etkileri.....	12
Adrenomedüllinin Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkileri.....	13
Adrenomedüllin ve Endokrin Sistem.....	14
Adrenomedüllinin Respiratuar Sistem Üzerine Etkileri.....	15
Adrenomedüllinin Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri.....	16
Adrenomedüllinin Üreme Sistemi Üzerine Etkileri	16
Adrenomedüllinin İmmünite ve İnflamasyon Üzerine Etkileri.....	18
GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
BULGULAR.....	24
İntraserebroventiküler Adrenomedüllinin Kan Basıncı ve Kalp Hızı Üzerine Etkisi.....	24
İntraserebroventiküler Adrenomedüllinin Kan Basıncı ve Kalp Hızına Etkisinde Santral Reseptörlerinin Rolü.....	28
İntraserebroventiküler Adrenomedüllinin Kan Basıncı ve Kalp Hızına Etkisinde Santral Kolinerjik Sistemin Rolü.....	31
İntraserebroventiküler Adrenomedüllinin Kan Basıncı ve Kalp Hızına Etkisinde Vazopressin V ₁ Antagonistinin Etkisi.....	35
İntraserebroventiküler Adrenomedüllinin Kan Basıncı ve Kalp Hızına Etkisinde Santral NO'nun Rolü.....	37
TARTIŞMA ve SONUÇ.....	42
KAYNAKLAR.....	46
TEŞEKKÜR.....	56
ÖZGEÇMİŞ.....	57

ÖZET

Bu çalışmada intraserebroventriküler (i.c.v.) olarak enjekte edilen adrenomedüllin (ADM)'nin kan basıncı ve kalp hızı üzerine etkileri, bu etkilerine santral reseptörlerinin aracılık edip etmediği araştırıldı. Ayrıca peptidin bu etkilerinde, santral kolinerjik sistemin, vazopressinerjik sistemin ve santral nitrik oksit (NO)'in rolünün aydınlatılması amaçlandı.

Deneylerde 250–300 gr ağırlığında dişi Sprague–Dawley cinsi sıçanlar kullanıldı. Deneklere eter anestezisi altında, sağ femoral arterlerine kateter ve i.c.v. enjeksiyonlar için sağ lateral ventriküllerine kanül yerleştirildi. Sıçanların ilaç enjeksiyonlarından önce ve enjeksiyonları takiben 30 dakika süreyle kan basıncı ve kalp hızları belirlendi. İ.c.v. ADM (750 ng/10 µl) kan basıncı ve kalp hızında artış oluşturdu. ADM'nin bu etkilerini reseptör antagonistleri ADM₂₂₋₅₂ (1 µg/10µl;i.c.v.) ve kalsitonin gen ilişkili peptid₈₋₃₇ (CGRP₈₋₃₇) (5 µg/10µl;i.c.v.) inhibe etti. ADM'nin kardiyovasküler etkilerinde santral kolinerjik sistemin rolünü araştırmak amacıyla, i.c.v. ADM enjeksiyonundan önce uygulanan muskarinik reseptör antagonisti atropin (5 µg/10 µl;i.c.v.) ADM'nin etkisini önledi. Nikotinik reseptör antagonisti mekamilamin (25 µg/10 µl;i.c.v.) ise peptidin kan basıncına etkisini önledi ancak kalp hızına etkisini değiştirmede. Peptidin etkilerinde vazopressinerjik sistemin aracılığını araştırmak amacıyla uygulanan vazopressin V₁ antagonisti, (B-mercaptopropionyl, O-Me-Tyr, Arg)-vasopressin (10 µg/kg; i.v.) ADM'nin etkisini bloke etti. Santral NO'nun etkisini araştırmak amacıyla nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü L-NAME (5 µg/10 µl;i.c.v.) uygulandığında ADM'nin kan basıncına etkisini önlerken kalp hızını değiştirmede.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre i.c.v. ADM, kan basıncı ve kalp hızını stimüle etmektedir. Bu etkilerini santral reseptörleri aracılığıyla yaptığı

düşünülmektedir. İ.c.v. ADM'nin kan basıncı ve kalp hızına etkisinde, santral nikotinic ve muskarinic reseptörlerin aktivasyonu yoluyla kolinerjik sistemin, periferik V₁ reseptörleri aracılığıyla vazopressinerjik sistemin ve santral NO'nun rolü olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Adrenomedullin, arteriyel kan basıncı, kalp hızı, intraserebroventriküler.

SUMMARY

EFFECT OF INTRACEREBROVENTRICULAR INJECTION OF ADRENOMEDULLIN ON BLOOD PRESSURE AND HEART RATE: ROLE OF POSSIBLE MECHANISMS

In this study, we investigated the effects of intracerebroventricular (i.c.v.) injection of adrenomedullin (ADM) on blood pressure and heart rate, whether the effect of ADM is mediated by central specific receptor of ADM. It is also aimed to clarify the central cholinergic system, the vasopressinergic system and the central nitric oxide (NO) on the effects of ADM.

Female Sprague–Dawley rats weighing 250-300 grams were enrolled. Under ether anesthesia, the right femoral artery of rats were catheterized and cannulas were implanted for subsequent i.c.v. injections, and finally a burr hole was drilled through the skull. Prior to the drugs injections and for 30 minutes after, that, blood pressure and heart rate of rats were monitored. I.c.v. ADM (750 ng/ 10 μ l) increased blood pressure and heart rate of the rats. Receptor antagonists of ADM; ADM₂₂₋₅₂ (1 μ g/10 μ l;i.c.v.) and calcitonin gene–related peptide₈₋₃₇ (CGRP₈₋₃₇) (5 μ g/10 μ l;i.c.v.) inhibited the effect of ADM. To assess the role of central cholinergic system on cardiovascular effects of ADM muscarinic receptor antagonist atropin (5 μ g/10 μ l;i.c.v.) and nicotinic receptor antagonist mecamylamine (25 μ g/10 μ l;i.c.v.) were injected before i.c.v. ADM and both antagonist abolished the effects of ADM on blood pressure. The effects of ADM on heart rate were abolished by atropin but not by mecamylamine. To determine the role of vasopressinergic system on cardiovascular effects of ADM, vasopressin V₁ antagonist (B-mercapto B, B-cyclopentamethylenepropionyl, O-Me-Tyr, Arg)-vasopressin (10 μ g/kg; i.v.) were used and the effects of ADM on blood pressure and heart rate were

blocked. To observe the role of central NO on cardiovascular effects of ADM nitric oxide synthase (NOS) inhibitor L-NAME (5 µg/ 10 µl;i.c.v.) were used and prevented effects of ADM on blood pressure but not heart rate.

According to our results, i.c.v. ADM increased blood pressure and heart rate. It is hypothesized that those effects occur through central receptors. The suggestions are that the effects of i.c.v. ADM on blood pressure and heart rate occur through central nicotinic and muscarinic receptors activation of cholinergic system, through V₁ receptor activation of vasopressinergic system and central NO.

Key words: Adrenomedullin, arterial blood pressure, heart rate, intracerebroventricular.

GİRİŞ

Kardiyovasküler hastalıklar yaşam kalitesini azaltan, yaşam boyu tedavi gerektiren ve bazen tüm çabalara rağmen başarısızla sonuçlanabilen olgulardır. Kardiyovasküler hastalıkların en sık görülen formu hipertansiyon olup bu olguların tedavisinde merkezi ve periferik kardiyovasküler düzenleyici sistemlere etki eden maddeler kullanılmakta ve bu sistemlere etkili yeni ajanlar üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Bilindiği gibi hipertansiyonun şiddeti ve süresine bağlı olarak ciddi organ hasarları ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla organ hasarlarına bağlı olarak mortalite ve morbidite oranı artmaktadır.

Son yıllarda beslenme alışkanlığı, sedanter yaşam ve stres gibi faktörlerle kardiyovasküler hastalıkların oranı giderek artmıştır. Kardiyovasküler sistemin düzenlenmesinde çeşitli nöral ve hormonal mekanizmalar etkilidir. Vücutta farklı dokularda çeşitli etkileri olan vazoaaktif peptidler kardiyovasküler sistemin lokal ve merkezi düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Vazoaaktif peptidlerin kardiyovasküler etkilerini ve etki mekanizmalarını ortaya çıkarmak amacıyla pek çok çalışma yapılmakta ve elde edilen sonuçlara göre yeni tedavi yaklaşımları elde edilmeye çalışılmaktadır.

Çalışmamız Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı'nda deney hayvanları üzerinde yapıldı. Çalışmada son yıllarda üzerinde 1500'ü aşkın makale yayınlanan adrenomedülin adlı peptidin santral kardiyovasküler etkileri değerlendirildi ve bu etkilerini hangi mekanizmalar aracılığıyla yaptığı araştırıldı. Sonuçlar kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak değerlendirildi.

ADRENOMEDÜLLİN HAKKINDA GENEL BİLGİLER

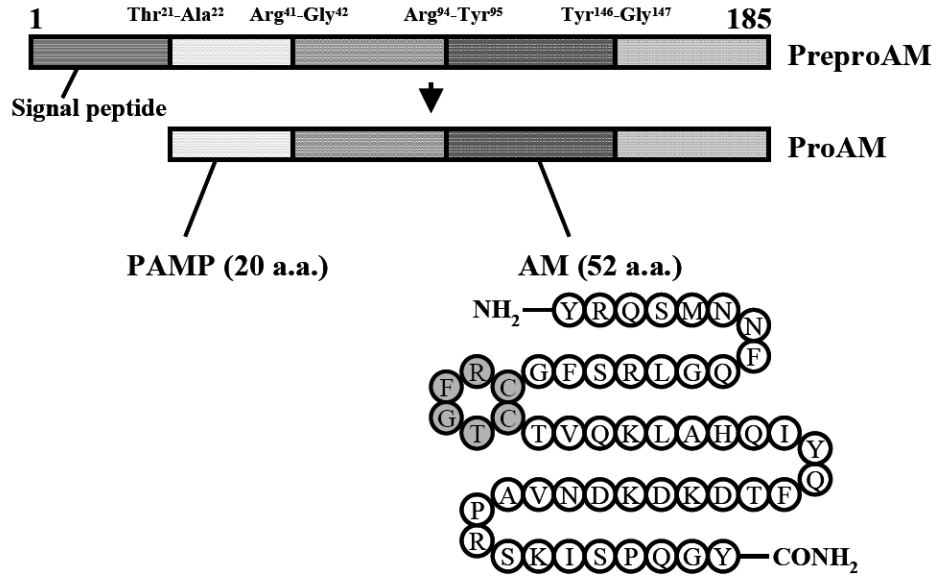
Adrenomedüllinin Keşfi

Adrenomedüllin (ADM) 1993 yılında Kitamura ve arkadaşları (1) tarafından sıçan trombositlerinde cAMP seviyesindeki değişiklikler üzerinde araştırma yaparken keşfedilmiştir. ADM hem feokromasitoma dokusunda hem de normal adrenal medullada yoğun olarak bulunması nedeniyle bu ismi almıştır. ADM'nin adrenal medulla dışında santral ve periferik olarak farklı dokulardan da sekrete edildiği ve çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik durumlarda plazma seviyesinin arttığı bulunmuştur (2). Başlangıçta ADM'nin sadece vazodilatatör ve natriüretik bir peptid olduğu zannedilirken günümüzde multifonksiyonel bir mediyatör olduğu, endokrin sistem, solunum sistemi, gastrointestinal sistem ve üreme sisteminde, embriyogenezde, normal ve tümoral büyümede, inflamasyon ve immünitede birçok etkisinin olduğu bilinmektedir (3).

ADM'nin Moleküler Yapısı

İnsan ADM'si, 52 aminoasitten oluşan, karboksi terminalinde tirozin aminoasiti bulunan, 16 - 21. karbonları arasında disülfid bağları içeren peptid yapısında bir moleküldür. ADM, kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) ile homoloji gösterdiği için kalsitonin/CGRP/amilin peptid ailesine dahil edilmiştir (4). ADM'nin prekürsörü, 185 aminoasitten oluşan proadrenomedüllindir. Bu molekülün 21 numaralı aminoasitine bağlı N-terminalinden aminoasitlerin ayrılmasıyla oluşan 164 aminoasitlik peptide proadrenomedüllin (ProADM)

denir. ProADM'den daha sonra 53 aminoasit içeren immatur ADM oluşmakta ve immatur ADM ise, enzimatik yıkımla 52 aminoasitlik matur forma dönüşmektedir (Şekil -1) (2).



Şekil -1: Adrenomedüllinin Moleküler Yapısı

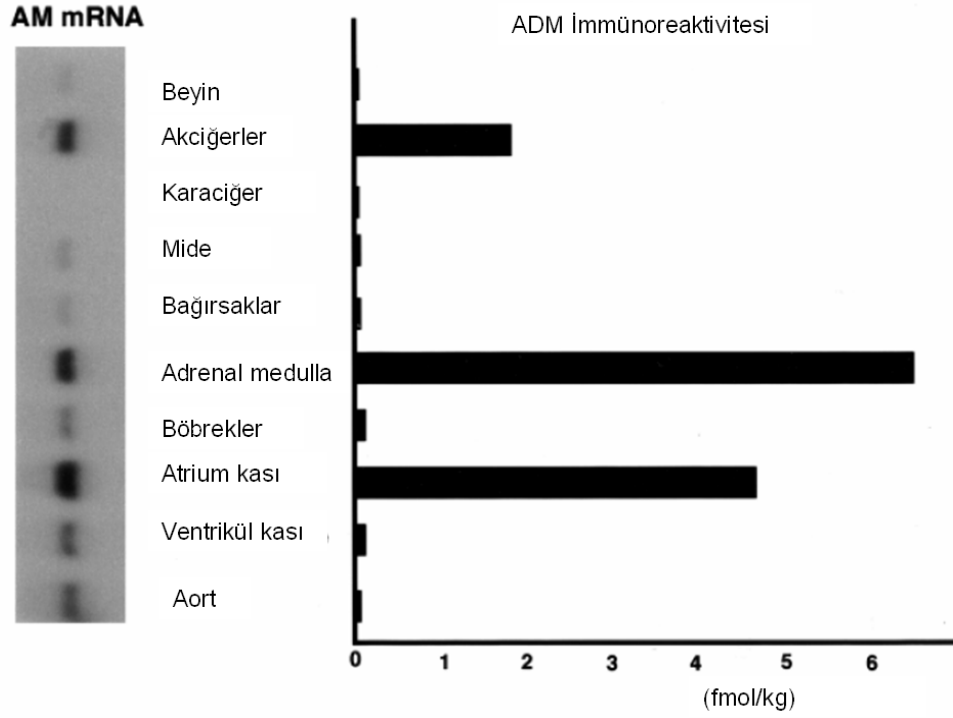
ADM Sentezi ve Metabolizması

ADM'nin sentez ve sekresyonunun hangi dokulardan ve nasıl olduğuna dair araştırmalar halen devam etmektedir. ADM üretiminin oldukça hızlı gerçekleştiği, sentezlenir sentezlenmez salgılandığı ve depolanmadığı kabul edilmektedir. Pankreas endokrin hücrelerinde ve adrenal medulla hücre granüllerinde ADM'nin depolanıyor olabileceğini ileri süren çalışmalar bulunmaktadır (5).

ADM plazmada spesifik olarak “kompleman faktör H” olarak da tanımlanan “adrenomedülin bağlayan protein-1 (AMBP-1)” adı verilen bir protein tarafından taşınmaktadır. Plazmada dolaşan ADM'nin % 85'i immatur formdadır (6). ADM plazma seviyesi 2-3 pM olup cinsiyetle ya da yaşla değişkenlik göstermemektedir. ADM'nin metabolizması hızlıdır ve yarılanma ömrü yaklaşık 20 dakikadır. Plazma ADM'sinin akciğerlerde aorttan daha yüksek oranda tespit edilmesi klirensinin büyük oranda akciğerlerde olduğunu düşündürmüştür. ADM'nin yıkımı enzimatik olarak birinci aşamada metalloproteazlar, ikinci aşamada aminopeptidazlar aracılığıyla 2 basamakta gerçekleşmektedir (7).

Renal glomerüllerde süzülerek proksimal tübüllere geçen ADM'nin nötral endopeptidaz ile yıkıldığı gösterilmiştir. Böbreklerdeki ADM'nin lokal olarak mı sentezlendiği yoksa dolaşımdan mı geldiği henüz açıklık kazanmamıştır. Bazı patolojik durumlarda plazmadaki seviyesi artan ADM'nin idrarda tespit edilmesi nedeniyle ADM'nin idrarla da atılabileceği ileri sürülmüştür (8).

ADM vücutta farklı dokulardan sekrete edilmektedir. Kardiyak miyositler, vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, renal distal ve toplayıcı tübüller, sindirim sisteminde mukozal ve glandüler epitelyum, respiratuar ve üreme sistemindeki epitelde, endokrin ve nöroendokrin sistemlerde, hipotalamusta supraoptik nükleus ve paraventriküler nükleusun magnoselüler alanında ADM sentezinin olduğu tespit edilmiştir (Şekil-2). ADM amniyon sıvısında da tespit edildiği için plasenta tarafından üretildiği ve gebeliğin devamı ve fetüsün gelişimi konusunda önemli fizyolojik işlevlerinin olduğu düşünülmüştür (9).

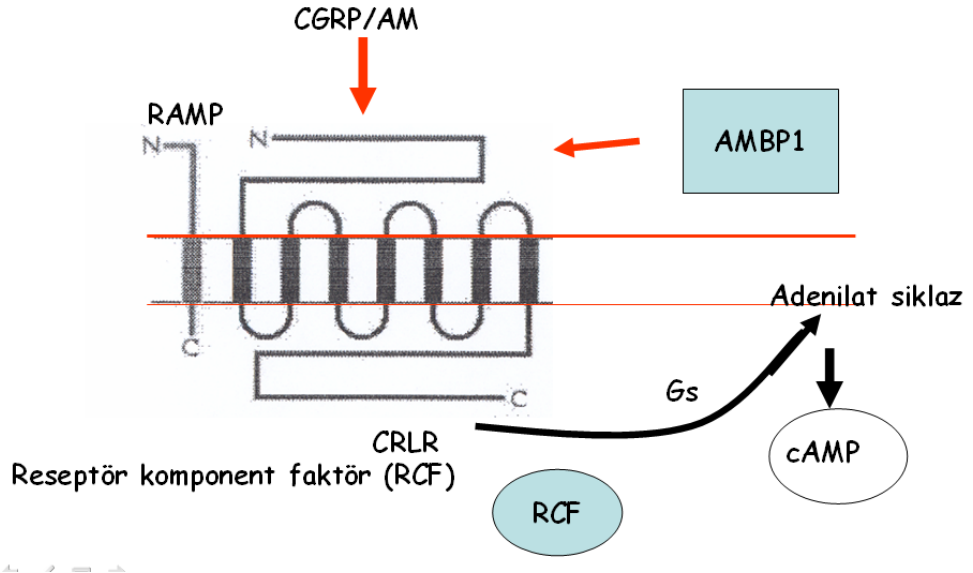


Şekil- 2: Adrenomedüllinin mRNA aktivitesi ve immunoreaktivitesinin çeşitli dokularda gösterilmesi

ADM Reseptörleri ve Sinyal Transdüksiyonu

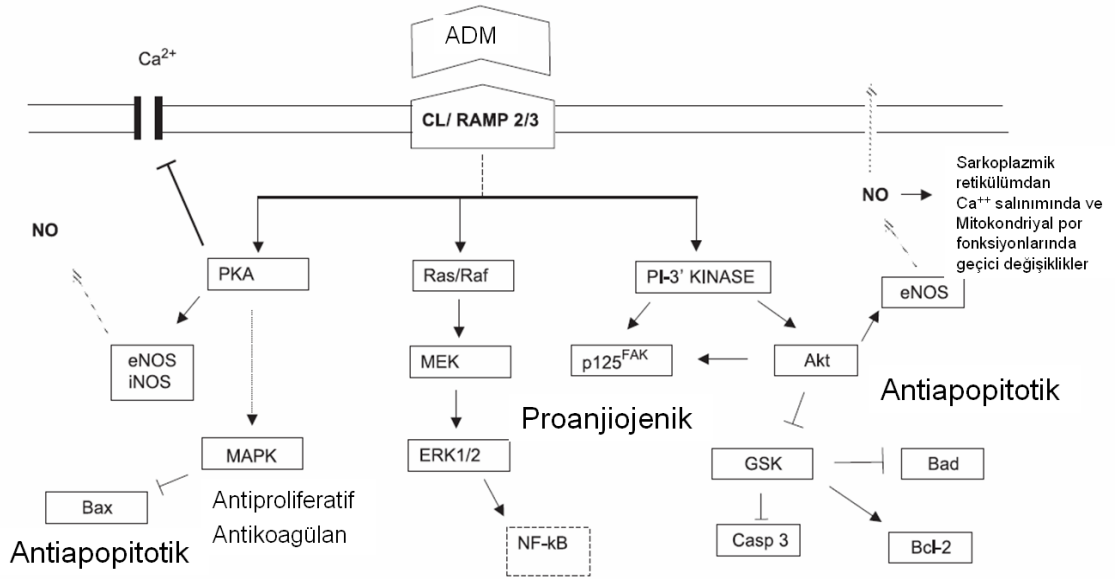
Başlangıçta ADM'nin vasküler etkilerinin CGRP reseptörleri aracılığıyla düzenlendiği düşünülüyordu. Daha sonra farklı hayvan modellerinde farklı dokular üzerinde yapılan çalışmalarda ADM'ye CGRP'den daha fazla affinite olduğunun tespit edilmesi üzerine ADM'ye spesifik reseptörlerin olduğu ileri sürülmüştür (10). Eguchi ve arkadaşları (11) ¹²⁵I-ADM kullanarak spesifik ADM reseptörlerinin olduğunu göstermişlerdir. "Kalsitonin reseptör benzeri reseptör" (CRLR) CGRP/ADM reseptör kompleksi olarak bilinmektedir. CRLR 464 ve 461 aa'den oluşur ve kalsitonin reseptörü ile %50-54 oranında yapısal uygunluk gösterir. CRLR mRNA'sı akciğer, kalp ve böbrekte yüksek miktarda tespit edilmiştir. Bu reseptörün

fonksiyonel olabilmesi için hücre membranında basit membran yapı proteinleri şeklinde bulunan “reseptör aktivite düzenleyen protein” (RAMP) adı verilen proteinlere ihtiyacı bulunmaktadır (12). RAMP’lar serpentin reseptör ailesinin bir üyesidir. CRLR’nin hücre membranına yapışması, farmakolojik selektivitenin sağlanması, G proteinleri ile fonksiyonel etkileşme gibi fonksiyonlarda RAMP’ların gerekli olduğu gösterilmiştir. RAMP’lar tip 1, 2 ve 3 olmak üzere 3 tiptir. CRLR/RAMP1 kompleksi; CGRP reseptör özelliği, CRLR/RAMP2 (ADM₁ reseptörü de denir) ve CRLR/RAMP3 (ADM₂ reseptörü de denir) kompleksleri ise ADM reseptör özelliği göstermektedir (13). RAMP proteinlerinin farklı dokularda mRNA dağılımları belirlenmiştir. RAMP1; beyin, yağ dokusu, timus ve dalakta, RAMP2; akciğerler, dalak, yağ dokusu ve aortada, RAMP3 ise en çok böbrek ve akciğerlerde bulunmaktadır. ADM’nin sinyal iletiminde “reseptör komponent protein” (RCP) denilen ve CGRP reseptör potansiyeline sahip, 146 aminoasitten oluşan hidrofobik, sitozolde bulunan bir protein görevlidir. CRLR, RAMP1,2,3 ve RCP ilişkisi şekil-3’de gösterilmektedir (14).



Şekil-3: CRLR, RAMP1,2,3 ve RCP ilişkisi (CRLR: Kalsitonin reseptör benzeri reseptör, RAMP: Reseptör aktivite düzenleyici protein, RCP: Reseptör tamamlayıcı protein, AMBP1: Adrenomedüllin bağlayan protein)

ADM ilk keşfedildiğinde hedef hücrede primer ikincil haberci olarak cAMP yolağını kullandığı gösterilmiştir (15). Daha sonraki çalışmalarda diğer sinyal ileti yolları olarak nitrik oksit (NO)/cGMP aktivasyonunu (16), inositol trifosfat aktivasyonunu (17) ve ATP duyarlı K⁺ kanal aktivasyonunu (18) da kullandığı tespit edilmiştir (Şekil-4). ADM ayrıca protein kinaz A (PKA) üzerinden mitojen aktive eden kinaz (MAPK)'ları regüle ederek hücre proliferasyonunu düzenlemekte ve bu etkisi endotel disfonksiyonunda önemli rol oynamaktadır (19). ADM'nin antiproliferatif, antimitotik, antiapoptotik ve oksidatif stresi düşürmesi gibi etkileri bu farklı yolları kullanmasıyla ilişkilidir (20).

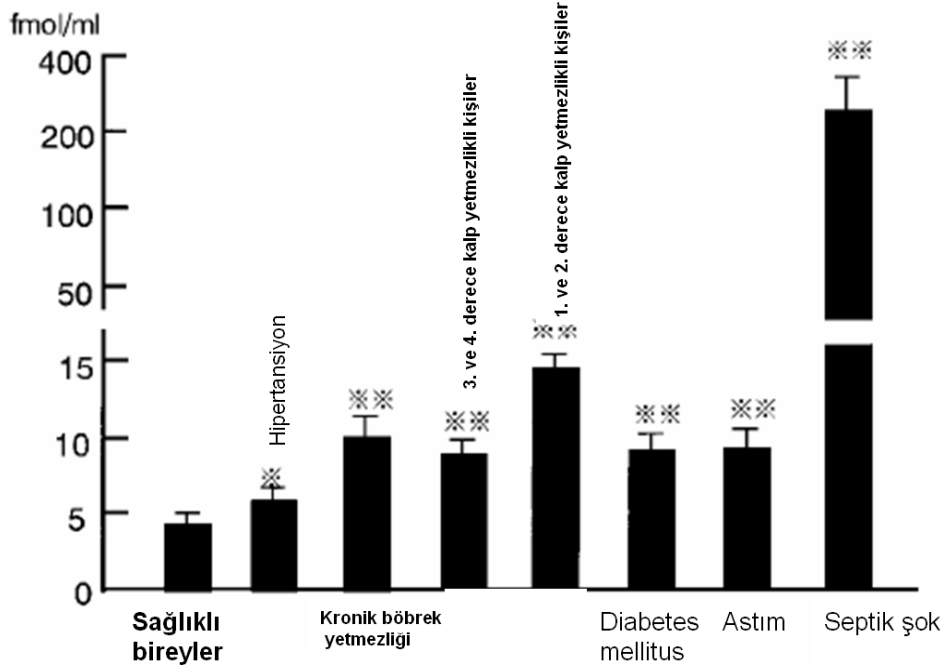


Şekil- 4: Adrenomedüllinin Kullandığı Sinyal İleti Yolları

ADM'nin Plazma Seviyesini Etkileyen Durumlar

TNF- α , β , İL-1 ve lipopolisakkaritler gibi sitokinler, kortikosteroidler, tiroid hormonları, anjiyotensin II (Ang II), aldosteron, noradrenalin, endotelin-1 ve atriyal natriüretik peptid (ANP) gibi hormonlar, P maddesi, doku plazminojen aktivatörü (TPA) ve bradikininler gibi doku faktörleri ADM üretim ve sekresyonunu güçlü bir şekilde stimüle etmektedirler (21,22). Fiziksel stimulanlar, ani stres ve damar duvarındaki gerilim ADM mRNA ekspresyonunu artırmaktadır (23,24). Hipoksi (25) ve hiperglisemide (26) de ADM sekresyonunun stimüle olduğu gösterilmiştir. ADM'nin en potent inhibitörleri fetal serum, TGF- β 1, vazoaaktif intestinal peptid (VIP) ve trombindir (22). ADM ise norepinefrin, Ang II ve aldosteronun etkilerini antagonize etmektedir (27-29).

Plazma ADM seviyesinin çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarda arttığı tespit edilmiştir. Egzersiz sonrası yapılan egzersizin yoğunluğuna ve süresine bağlı olarak plazma ADM seviyesinin değiştiği gösterilmiştir. Kısa süreli ve orta yoğunlukta yapılan egzersiz sonrası plazma ADM seviyesinin arttığı gösterilmiş ve sempatik sistem aktivasyonunun plazma ADM seviyesinde artışa neden olduğu ileri sürülmüştür (30). Ayrıca plazma ADM seviyesinin bazı patolojik durumlarda sağlıklı kişilere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (20). Kalp yetmezliği, böbrek hastalıkları, hipertansiyon, diabetes mellitus ve septik şok gibi çeşitli hastalıklarda plazma ADM seviyesinin yüksek olması (Şekil -5) ADM'nin kardiyovasküler düzenlemede vücudun savunma mekanizmalarından biri olduğunu düşündürmüştür (2).



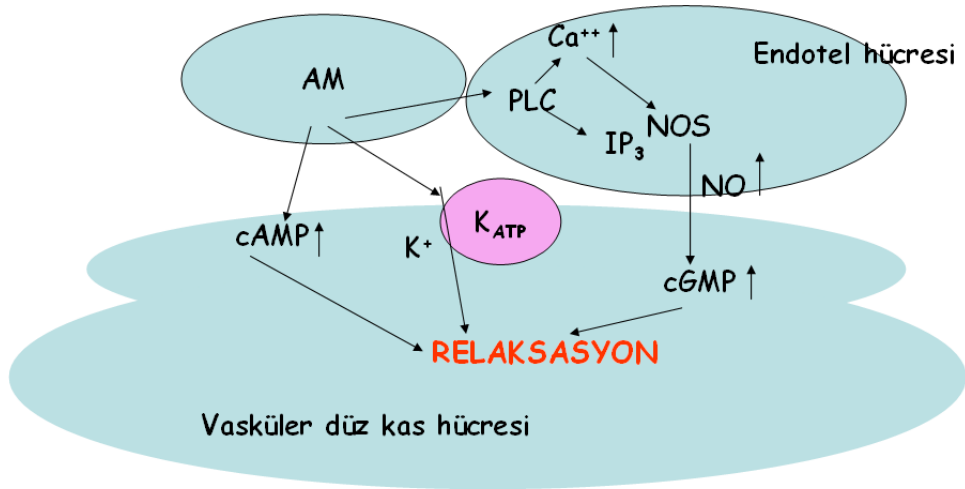
Şekil -5: Çeşitli Patolojik Durumlarda Adrenomedüllin Seviyesindeki Artış.

ADM ve Kardiyovasküler Sistem

ADM'nin temel karakteristik etkisi doz bağımlı olarak uzun süreli hipotansiyon oluşturmaktır (1). ADM periferik olarak verildiğinde vasküler yataklarda güçlü vazodilatasyon oluşturmaktadır (31). Bu şekilde periferik vasküler rezistansı düşürerek kan basıncını düşürmektedir. ADM nedeniyle oluşan hipotansiyon diğer vazodilatatörlerin indüklediğinden daha düşük olmaya meyillidir (32). Periferik rezistansta ve kan basıncında düşme refleksi taşikardiye neden olmakta ve kardiyak output artmaktadır.

ADM'nin vasküler düz kas hücreleri üzerindeki dilatatör etkisi endotel bağımlı ve bağımsız mekanizmalarla olmaktadır. ADM reseptörleri

aracılığıyla hem endotel hücreleri hem de vasküler düz kaslarda intrasellüler cAMP artışı olmaktadır (1). Endotel hücrelerindeki cAMP artışı hücre içi Ca^{++} miktarının artışını hem hücre içi depolardan salınmasıyla hem de iyon kanalları aracılığıyla hücre içine Ca^{++} girişini artırarak sağlar. Hücre içi Ca^{++} artışı nitrik oksit sentazın aktive olmasını sağlar ve NO üretilir. Oluşan NO vasküler düz kas hücrelerinde guanilat siklazı aktive eder ve guanilat siklaz iki şekilde vasküler düz kasta dilatasyon olmasına neden olur (33). Birinci mekanizma olarak protein kinaz A'yı aktive ederek miyozin hafif zincir kinazı inhibe eder ve relaksasyon gerçekleşir. İkinci mekanizma olarak ATP duyarlı K^+ kanallarının aktive olmasıyla düz kas hücrelerinin hiperpolarizasyonu sağlanarak Ca^{++} duyarlı kanalların açılmasını zorlaştırarak kontraksiyonun engellenmesine yol açar (şekil -6) (34).



Şekil -6: Adrenomedüllinin Vasküler Düz Kaslarda Oluşturduğu Vazodilatasyonun Mekanizmaları

ADM'nin vasküler düz kas hücreleri üzerinde dilatasyon dışında da etkileri bulunmaktadır. Çalışmalarda ADM'nin vasküler düz kas hücrelerinin Ang II veya trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ile oluşan migrasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (35). ADM vasküler düz kas hücre proliferasyonunda iki yönlü etki göstermektedir. Ortamda herhangi bir stimülatör olmadığında vasküler düz kas hücre proliferasyonunu stimüle ederken, PDGF veya fetal serum gibi bir stimülatör olduğunda ise indüklenen proliferasyonu inhibe eder (36). ADM ateroskleroz plağındaki makrofajlarda tespit edilmiştir (37). Plazma ADM'si karotis arter ateroskleroza korele olarak ve kronik iskemik strokta artmaktadır. ADM'nin vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonunu, endotel hücre apoptozisini inhibe etmesi ve antiinflamatuvar aktivitesi nedeniyle aterogeneizde koruyucu rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (38). Bu çalışmaların tersine ADM'nin hasar gören damarlardaki endotel yenilenmeyi ve anjiogenezisteki endotel hücrelerinin proliferasyonunu stimüle ettiği gösterilmiştir (39). ADM'nin vasküler hücrelere olan bu etkileri arteryel hipertansiyondaki endotel hasarlanmasında veya anjioplasti sonrası restenoz gelişiminde oldukça önemlidir.

ADM'nin miyokard kontraktilesine olan etkisi iki yönlüdür. Tavşanlarda izole ventrikül miyositlerinde NO üretimini stimüle etmekte ve kontraktileti düşürmektedir (20). Sıçanlarda izole kalp ve papiller kaslarında ise (+) inotropik etkisinin olduğu gözlenmiştir (40). Birkaç çalışmada (41,42) ADM'nin protein sentezini ve kardiyomiyositlerin hipertrofisini inhibe ettiği, aynı zamanda kardiyak fibroblast proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks üretimini inhibe ettiği belirtilmiştir. Sonuç olarak ADM izole kardiyomiyosit ve kardiyak fibroblastlardan sentez ve sekrete edilmekte olup, miyokardiyal hipertrofi ve arteryel hipertansiyon veya kalp yetmezliğinin iyileşmesini parakrin veya otokrin olarak düzenlemektedir.

Plazma ADM konsantrasyonu primer arteriyel hipertansiyonu olan hastalarda ve sol ventrikül hipertrofisi ve nefroskleroz gibi hipertansiyon komplikasyonu olan kişilerde daha yüksektir (43). Miyokardiyal aşırı yüklenmedeki ADM aşırı üretimini açıklayan birkaç mekanizma bulunduğu, bu olayın hipoksi ve miyositlerin mekanik gerginliği, endotelin-1 ve Ang II ile ilgili olabileceği ileri sürülmektedir (40-44). ADM artışı kardiak preload ve afterloadı azaltan kompensatuar bir mekanizma olabilir. ADM kalp yetmezliğinde aldosteron ve vazopressin sekresyonunu azaltmaktadır. Bu şekilde ANP ile paralel etki göstererek renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi, sempatik sinir sistemi ve endotelinin vazokonstriktör ve Na⁺ tutucu etkilerine karşı koyar (45).

Plazma ADM konsantrasyonu miyokard infarktüsünün akut fazında yükselmekte ve 2-3. günde maksimum seviyeye ulaşır 3 haftada normale inmektedir (46). Plazma ADM'si santral venöz basınç, sol ventriküler ve diyastolik basınç ve pulmoner kapiller wedge basıncı ile pozitif, sol ventriküler ejeksiyon fraksiyonu ile negatif korelasyon göstermekte, bu da ADM artışının hemodinamik zayıflıkla ilgili olduğunu göstermektedir. Bu hastalardaki yüksek plazma ADM'sinin (-) prognostik faktör olarak kabul edilebileceği düşünülmektedir (47). ADM artışı miyokardiyal iskemide koruyucu olabilir. Çünkü ADM'nin miyokard hücrelerindeki oksidatif stresi azalttığı ve lokal koroner vazodilatasyon ile miyokardiyal iskemiye sınırlandırdığı gözlenmiştir. Kardiyomiyositlerin apoptozisini inhibe ettiği, infarkt alanını düşürdüğü, ventriküler fibrilasyon oluşumunu azalttığı saptanmıştır (48,49).

ADM'nin Böbrekler Üzerine Etkileri

Böbreklerde bulunan ADM'nin hem glomerül distal tübül ve meduller toplayıcı tübüllerde üretildiği hem de dolaşım aracılığıyla böbreklere geldiği tespit edilmiştir (7). İ.v. veya lokal intrarenal ADM infüzyonu idrar çıkışını veya üriner Na⁺ atılımını artırmakta ve bu etkisi renal vazodilatasyon yaparak böbrek kan akımını ve glomerüler filtrasyon hızını artırmasıyla oluşmaktadır (50). Ayrıca tubuler Na⁺ reabsorpsiyonunu inhibe etmektedir. Nötral endopeptidaz inhibisyonunun peptid klirensini düşürerek ADM'nin natriüretik etkisini artırdığı düşünülmektedir (8,29). Nefronlarda spesifik ADM reseptörleri ve CGRP1 reseptörlerinin bulunduğu ve ADM'nin kortikal ince inen kulp ve distal toplayıcı tübüllerde cAMP oluşumunu artırdığı saptanmıştır. ADM'nin tübüler transportu nasıl etkilediği hala açık değildir. İn vitro çalışmalarda (3,7,9) ADM'nin hem iç meduller toplayıcı tübüllerde osmotik su permeabilitesini, hem de Na⁺'un distal tübüllerin apikal membranlarından alımını stimüle ettiği gözlenmiş, bu etkilerinin öncelikle tübüler reabsorpsiyonu aktive etmesiyle olabileceği düşünülmüştür. ADM'nin renal vasküler yatakları dilate ederek ve peritübüler hidrostatik basıncı artırarak tübüler transportu direk inhibe ediyor olabileceği düşünülmektedir (50). ADM'nin Na⁺ dengesindeki rolü hala açık değildir. Düşük/yüksek Na⁺ diyetinin ADM seviyesini ve reseptör ekspresyonunu nasıl etkilediği bilinmemektedir.

ADM için diğer hedef hücre böbreklerdeki mezengial hücrelerdir. ADM cAMP seviyelerini artırarak mezengial hücrelerin relaksasyonuna yol açmakta ve filtrasyonu bu şekilde artırarak GFR'yi de artırmaktadır. Ayrıca ADM; Ang II kaynaklı mezengial hücre migrasyon ve proliferasyonunu inhibe ederek bu hücrelerde reaktif oksijen türevleri oluşumunu inhibe etmektedir (51). Bu etkiler kronik nefropatinin gelişimini hafifletebilir. Sistemik ADM alımı

plazma renin aktivitesini artırır. Bu etkisi ADM'nin hipotansif etkisine sekonder oluşmaz. Çünkü hem hipotansiyon yapmayan dozlardan sonra hem de izole böbrek ve jukstaglomerüler hücrelerde renini artırdığı gözlenmiştir (29).

Çeşitli glomerülonefrit tiplerinde üriner ADM eksresyonu azaldığı için plazma ADM konsantrasyonu artmaktadır (9). Kronik böbrek yetmezliğinde de plazma ADM'sinin progresif bir şekilde arttığı tespit edilmiştir (43). Deneysel olarak yapılan iskemik akut böbrek yetmezliğindeki histolojik lezyonlar ve fonksiyonel hasar ADM aracılığıyla hafiflemiştir (52). Böylece ADM'nin iskemi reperfüzyon hasarına karşı böbreği koruyabileceği düşünülmektedir.

ADM'nin Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkileri

ADM beyinde hem nörotransmitter hem nöromodülatör, hem de nörohormon olarak çeşitli etkiler göstermektedir (53). ADM ve reseptörlerinin beyinde özellikle talamus, hipotalamus, adenohipofiz ve nörohipofizde, serebral kortekste, ponsta, medulla oblongata ve koroid pleksusta bulunduğu gösterilmiştir (54). ADM lokal olarak üretildiği gibi kan beyin bariyerinin olmadığı area postrema gibi sirkumventriküler organlar yoluyla dolaşımdan beyne girebilir (55). Bu şekilde periferik ADM alımı santral sinir sisteminde etki oluşturabilir. Hipotalamus ve area postremada nörotransmitter olarak fonksiyon gösterdiği tespit edilmiştir. ADM'nin hipotalamusta paraventriküler, supraoptik ve infundubuler nukleusta oksitosin ve vazopressin ile beraber salgılandığı tespit edilmiştir (56,57).

İntraserebroventriküler (i.c.v.) ADM uygulanmasının Ang II veya tuz iştahıyla oluşan hiperosmolarite ve hipovoleminin yaptığı su alımını inhibe ettiği gözlenmiştir (58). Ek olarak sensitif olmayan oligonükleotidler veya spesifik antikorlarla endojen ADM inaktivasyonu su ve Na⁺ alımını artırır ve bu da ADM'nin tonisiteyle ilişkili olarak susama ve tuz iştahını inhibe ettiğini gösterebilir (59). ADM idrar çıkışını ve üriner Na⁺ ve K⁺ eksresyonunu artırmıştır. Periferik verildiğinde hipotansif etki oluşturan ADM santral olarak verildiğinde kan basıncı ve kalp hızını arttırmaktadır (60-63). Bu etkisinde santral sempatik sistemin aktivasyonunun neden olduğunu ileri süren çalışmalar olmakla birlikte ADM'nin santral uygulanmasıyla kan basıncı ve kalp hızını nasıl yükselttiği henüz açıklığa kavuşmamıştır.

ADM ve Endokrin Sistem

Santral ADM alımı oksitosini stimüle ederken hiperosmolaritenin stimüle ettiği vazopressin sekresyonunu, bazal ve kortikotropin salgılatıcı hormonun (CRH) stimüle ettiği adrenokortikotropik hormon (ACTH) sekresyonunu inhibe etmektedir (62). I.c.v. olarak ADM uygulanmasıyla CRH üretiminin aktive olduğu ve hipotalamus-hipofiz-adrenal yolunu stimüle ettiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (64-66).

Çoğu çalışmada ADM'nin adrenal bezde büyük miktarda üretildiği belirtilmiştir. ADM ve reseptörleri sadece adrenal medullada değil aynı zamanda adrenal kortekste ve aldosteron üreten zona glomerülozda da bir miktar bulunmaktadır (2,3). ADM; Ang II ve K⁺un indüklediği aldosteron üretimini inhibe etmektedir. Fakat ADM'nin adrenokortikal hücrelerdeki kortizol sekresyonuna etkisi bulunmamıştır. ADM'nin inhibitör etkileri CGRP reseptörleri ile ve intrasellüler Ca⁺⁺ konsantrasyonunun azalmasıyla

düzenlenmektedir. ADM'nin hormon sekresyonuna etkisinden başka zona glomerülozanın büyüme ve proliferasyonuna MAPK bağımlı olarak stimülatör etkisi bulunur. Endojen ADM'nin inaktive edilmesi zona glomerüloza hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ederken apoptozislerini indüklemektedir (19). ADM adrenal medullada büyük miktarda bulunsa da bu hormonun katekolamin üretimi üzerine etkisi ya hiç yok ya da çok zayıftır (27).

Eksojen ADM bazal ve glikozla stimüle olan insülin sekresyonunu invitro ve invivo olarak inhibe etmekte fakat diğer pankreas hormonlarını etkilememektedir. Pankreas adacık hücrelerinde ADM olması ve insülin sekresyonunu inhibe etmesi ADM'nin diabetes mellitus patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (26).

ADM osteoblastların proliferasyonunu ve kondrositlerin genişlemesini invitro olarak stimüle etmekte, in vivo olarak kemik mineralizasyonunu stimüle etmektedir. Bu nedenle ADM'nin kemik dokusunda anabolik etkileri olduğu ileri sürülmüştür. Diğer alınan ilaçların aksine ADM kemik rezorbsiyonunu inhibe etmekten çok, kemik oluşumunu stimüle ettiği için osteoporozun tedavisinde kullanılabilir (32).

ADM'nin Respiratuar Sistem Üzerine Etkileri

Deneysel pulmoner hipertansiyon çalışmalarında plazma ADM'sinin arttığı gözlenmiştir (9,43). ADM mRNA'sı sağ ventrikülde yüksek bulunduğu için bu artmada ADM'nin sağ ventrikülden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. İnsanlarda plazma ADM'si primer ve sekonder pulmoner hipertansiyonda da yüksek bulunmuştur. Kronik i.v. ADM infüzyonu veya aerosol ADM tedavisi, pulmoner arteriyel basıncı azaltarak sağ ventrikül

hipertrofini sınırlandırmıştır (67). Domuzlarda inhale ADM kullanımının histamin, asetilkolin ve antijenle indüklenen bronkokonstrüksiyon ve mikrovasküler göllenmeyi azalttığı ileri sürülmektedir (68). ADM'nin solunum sistemi üzerine etkileri konusunda kesin bilgiler bulunmamaktadır.

ADM'nin Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri

ADM özellikle gastrik endokrin hücrelerde olmak üzere gastrointestinal sistem mukozasında tespit edilmiştir (7,9). ADM i.v. olarak uygulandığında bazal ve gastrinle stimüle olan gastrik asit sekresyonunu inhibe etmektedir (3). Ayrıca ADM'nin somatostatin stimülasyonunda da rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (2).

ADM'nin gastroprotektif etkinliği üzerine yapılan çalışmalarda farklı türlerde ve farklı deneysel modellerde çeşitli sonuçlar elde edilmiştir. Hasarlı gastrik mukozada ADM ekspresyonunun ve reseptörlerinin arttığı eksojen ADM'nin hipertonic NaCl veya reserpinle indüklenen mukozal lezyonları hafiflettiği gözlenmiştir (69). Bazı deneysel ülser modellerinde ADM santral olarak uygulandığında gastrik hasarı önlemiş, periferik olarak uygulandığında ise önlememiştir (70). ADM'nin bu etkileriyle peptik ülserin tedavisinde potansiyel bir ilaç olabileceği düşünülmektedir.

ADM'nin Üreme Sistemi Üzerine Etkileri

ADM over granüloza hücrelerinde üretilmekte ve foliküler faz boyunca artmaktadır. ADM hem bu hücrelerin büyümesini stimüle eder, hem de folikül

stimulan hormonun (FSH) stimulatör etkisini artırır. Plazma ADM seviyesi foliküler fazda artarken menstürel siklüsün luteal fazında azalır (3). Uterusta bulunduğu tespit edilen ADM reseptörlerinin hamilelik süresince arttığı ve galanın veya bradikininle indüklenen uterus kontraktilitesinin ADM ile inhibe olduğu gözlenmiştir (71). ADM fetal dokuda da erken dönemlerden itibaren görülmektedir. Sinsityotrofoblastlardan ve fetal membranlardan özellikle de amniyotik epitelde sentezlenen ADM, amniyon sıvısında plazmadan daha çoktur. Umblikal vendeki ADM konsantrasyonu umblikal arterden daha yüksektir ve bu da net ADM üretiminin plasentayla ilişkili olduğunu göstermektedir (72).

ADM normal bir hamilelik süresinde çeşitli rollere sahiptir. Yüksek plazma ADM'si periferik vazodilatatör ve kardiyak outputta artış gibi maternal hemodinamik değişikliklerle ilgilidir. ADM lokal uteroplental sirkülasyonu düzenleyebilir. Amniyotik sıvıdaki hormon içeriği lokal antimikrobiyal defansta rol oynayabilir. ADM embriyogenezisi, plasental büyümeyi ve anjiogenezisi ve uterus kontraktilitesini düzenleyebilir (73). Ayrıca hamileliğin indüklediği hipertansiyonun gelişiminde ADM yokluğunun rol oynayabileceği ileri sürülmektedir. Bazı araştırmacılar preeklampitik kadınlarda ADM konsantrasyonu ve ADM gen ekspresyonunun umblikal arter, fetal membranlar ve plasentada daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir (69). Bazıları ise anne kanında, kord kanında ve/veya amniyon sıvısında ADM artışı saptamasalar da akut stresle ADM üretiminin stimüle olduğunu ve sistemik vazokonstriksiyonda fötoplasental perfüzyonun devamlılığının sağlanmasında önemli rol oynadığını ileri sürmüşlerdir. Buna göre ADM hamilelikteki hipertansiyonda önemlidir (74).

ADM ayrıca meme dokusundaki epitelyal hücrelerde üretilmektedir ve anne sütünde tespit edilmiştir. Bu da anne sütündeki ADM'nin büyümenin regülasyonu, neonatal intestinal epitel maturasyonu, gastrointestinal

sekresyon ve motilite ayrıca antimikrobiyal defansda etkili olabileceğini göstermektedir (75).

ADM'nin İmmünite ve İnflamasyon Üzerine Etkileri

ADM gr (+) ve (-) bakterilere karşı potansiyel antimikrobiyal özelliklere sahiptir (3). Bu etkisi peptidin amfipatik yapısı ve hidrofobik özelliği nedeniyle bakteriyel membranlar arasına girebilmesiyle ilişkili olabilir. ADM respiratuar mukozal yüzeylerdeki epitelyal hücrelerde, gastrointestinal ve üriner yolda, oral kavite ve deride sentezlenmekte ve antimikrobiyal korunmada rol oynamaktadır (76). ADM'nin tükürükteki konsantrasyonu plazmadan 8 kat, gingival servikal sıvıda 20000 kat daha yüksek bulunmuştur. Şaşırtıcı bir sonuç olarak ADM'nin gingival servikal sıvıdaki konsantrasyonu periodontiti olanlarda sağlıklı kişilere göre 3 kat daha düşük bulunmuş ve bu sonuç ADM'nin bu hastalıkta koruyucu rolüyle ilgili olabileceğini düşündürmüştür (77). ADM'nin proinflamatuvar sitokin sekresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (78). ADM inflamatuvar hücreleri aktive etmesi dışında artan reaktif oksijenler, endotoksinler veya sitokinlerin endotelyal permeabilitesini de azaltmakta böylece inflamatuvar eksuda oluşumunu sınırlamaktadır (79). Plazma ADM'si sepsis ve septik şokta dikkate değer bir şekilde yükselmektedir. ADM'nin lokal vazodilatatör etkisi dokuların hipoksik hasarını sınırlayabilir. Sonuçta ADM multifonksiyonel bir peptid olarak bakterisidal, antiinflamatuvar ve (+) inotropik özellikleri ile ve kan akımı, lökosit migrasyonu ve differansiyasyonu, elektrolit imbalansı, kardiyak performans ve glikoz seviyesini kontrol ederek sepsis gibi hastalıklarda çok önemli rol oynamaktadır. Sepsiste başlangıçtaki hiperdinamik fazdan hipodinamik faza geçişte ADM'nin fonksiyonlarının azalmasından muhtemelen AMBP-1'in azalması sorumlu tutulmaktadır (80).

ADM ve ADM türevi peptidlerin kardiyovasküler sistemdeki rolü üzerine bir çok araştırma yapılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. ADM i.v. olarak uygulandığında hipotansif etki oluştururken (1), i.c.v. olarak uygulandığında kan basıncı ve kalp hızını artırmaktadır (60-62). ADM'nin santral kardiyovasküler etkilerini hangi yollarla oluşturduğu henüz açıklık kazanmamıştır.

Çeşitli kardiyovasküler hastalıklarda ADM'nin plazma konsantrasyonunun arttığı gözlenmiştir. Hipertansiyonda ADM'nin artması peptidin natriüretik ve vazodilatör özellikleri ile miyokardiyal yüklenmeyi azaltarak miyokardiyal hipertrofiye karşı koruyucu rol oynamaktadır (81). ADM seviyelerinin ölçümü hastalıkların prognostik gelişiminde de bir indikatör olarak önemli olabilir. Deneysel olarak ADM tedavileri sistemik ve pulmoner arteriyel hipertansiyonda, miyokardiyal ve renal iskemi/reperfüzyon hasarında, peptik ülser hastalıklarında, septik şokta yararlı sonuçlar vermiştir (20,44,45,52).

Aşağıdaki tabloda ADM'nin tüm sistemlerdeki kardiyovasküler etkileri özetlenmiştir (3).

Tablo 1: ADM'nin Kardiyovasküler Etkileri

Damarlar	Hipotansiyon, antiproliferasyon, endotelin salgılanmasını azaltma
Kalp	Pozitif kronotropi ve inotropi, koroner kan akımını artırma, ANP gen transkripsiyonunu artırma, antimitojenez, hipertrofiyi arttırma
Akciğerler	Vazodilatasyon, bronkodilatasyon, antiinflamatuvar etki
Adrenal Bezler	Aldosteron sekresyonunu inhibe etme
Böbrek	Böbrek kan akımını artırma, diürez, natriürez, mezengial hücre proliferasyonunun inhibisyonu
Hipofiz	ACTH sekresyonunun inhibisyonu AVP sekresyonunun inhibisyonu
Beyin	Kollateral dolaşımın ve kan akımının artırılması, susama ve tuz alımının inhibisyonu, sempatik deşarjın artırılması

Bizim çalışmamıza konu olan ADM kardiyovasküler sistem üzerine etkileriyle hemodinamik regölasyonda önemli rol oynamaktadır (Tablo 1). Bu nedenle ADM'nin etkilerinin ve etki mekanizmasının aydınlatılması kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde önem taşımaktadır. Bu çalışmanın amacı, i.c.v. yolla uygulanan ADM'nin kan basıncı ve kalp hızı üzerine etkilerini gözlemek ve kardiyovasküler etkilerinde rolü olan mekanizmaları araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, 250-300 gr ağırlığında Sprague Dawley cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar deney hayvanları merkezinden alınarak sıcaklığı 18-24 °C ve 12 saat karanlık/aydınlık olacak şekilde ışığı ayarlanmış odada 4-6 tanesi bir kafeste olacak şekilde su ve yem alımları serbest bırakılarak tutuldular. Deneylere U.Ü. Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesi tarafından izin alındıktan sonra başlandı.

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

Tüm cerrahi işlemler sonrasında sıçanlar anestezinin etkisinden çıkmaları için tek tek kutulara yerleştirilerek 3-4 saat kadar beklendi. Bu sürenin bitiminde arteriyel kateter "volümetrik pressure transducer"a (BPT300) tutturuldu. Arteriyel kan basıncı ve kalp hızı, bu transducer'ın bağlandığı BIOPAC Data Acquisition Unit (MP30) aracılığıyla devamlı olarak kaydedildi. Ortalama arteriyel kan basıncı mmHg olarak, kalp hızı vuru/dakika olarak belirtildi. Sıçanlar arteriyel kateter, "volümetrik pressure transducer" ile aynı seviyede olacak şekilde, rahat hareket edebilecekleri bir kutuya yerleştirildikten sonra 30 dakika beklenerek stabilizasyonları sağlandı.

İlaçların etkisi araştırılmadan önce 10-15 dakika süreyle arter basıncı ve kalp hızı bazal değerleri kaydedildi.

Birinci seri çalışmada, i.c.v. olarak enjekte edilen ADM'nin kan basıncı ve kalp hızı üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla, sıçanlara i.c.v ADM (50, 100, 250, 500 ve 750 ng/10 µl) veya serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) enjekte edildi. Enjeksiyonu takiben 30 dakika süreyle kan basıncı ve kalp hızı değerleri kaydedilerek bazale göre değişimleri belirlendi (n=42).

İkinci seri çalışmada, i.c.v. ADM'nin kan basıncı ve kalp hızı üzerine olan etkisini santral reseptörleri aracılığıyla oluşturup oluşturmadığını araştırmak amacıyla, sıçanlara ADM reseptör antagonisti olan ADM₂₂₋₅₂ (1 µg/10 µl;i.c.v.) ve CGRP₈₋₃₇ (5 µg/10 µl;i.c.v.) enjekte edildi. ADM₂₂₋₅₂ enjeksiyonundan 10 dakika, CGRP₈₋₃₇ enjeksiyonundan 20 dakika sonra serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM (750 ng/10 µl;i.c.v) uygulandı. Enjeksiyonlardan sonra 30 dakika süreyle kan basıncı ve kalp hızı değerleri kaydedilerek bazale göre değişimleri belirlendi (n=28).

Üçüncü seri çalışmada, i.c.v. ADM'nin kan basıncı ve kalp hızı üzerine olan etkilerinde santral kolinerjik sistemin rolünü araştırmak amacıyla, sıçanlara muskarinik reseptör antagonisti atropin (5 µg/10 µl, i.c.v.) veya nikotinik reseptör antagonisti mekamilamin (25 µg/10 µl;i.c.v.) enjeksiyonunu takiben, 15 dakika sonra serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM (750 ng/10 µl;i.c.v) uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kan basıncı ve kalp hızı değişimleri belirlendi (n= 28).

Dördüncü seri çalışmada, i.c.v. ADM'nin kardiyovasküler etkilerinde vazopressinerjik sistemin rolünü araştırmak amacıyla, ADM (750 ng/10 µl;i.c.v.) veya serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) enjeksiyonundan 5 dakika önce vazopressin V₁ antagonisti B- mercapto B, B- cyclopentamethylenepropionyl,

O-Me-Tyr, Arg- vasopressin (10 µg/kg;i.v.) enjekte edildi. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kan basıncı ve kalp hızı değişimleri belirlendi (n= 14).

Beşinci seri çalışmada, i.c.v ADM'nin kan basıncı ve kalp hızına etkisinde santral NO'nun aracılığı olup olmadığını araştırmak amacıyla, nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü L-NAME (5 µg/10 µl;i.c.v.) enjeksiyonunu takiben 5 dakika sonra ADM (750 ng/10 µl;i.c.v.) veya serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kan basıncı ve kalp hızı değişimleri belirlendi (n= 14).

Deneylerin sonunda serebral ventriküle 5 µl metilen mavisi solüsyonu enjekte edildi. Dekapitasyondan sonra beyinler çıkartılarak i.c.v. kanülün yerleştirildiği yerin doğru olup olmadığı kontrol edildi.

Bu çalışmada kullanılan adrenomedüllin, CGRP₈₋₃₇, ADM₂₂₋₅₂, atropin sülfat, mekamilamin klorür, (B-mercapto-B,B-cyclapentamethylenepropionyl, O-me-Tyr, Arg)-Vasopressin ve N_ω-Nitro-L-arginin metil ester hidroklorür (L-NAME) Sigma (Sigma Chem. Co., MO, ABD)'dan alındı. İlaçlar tuzlu su (%0,9 NaCl) içinde hazırlandı. İ.c.v. enjeksiyonlar için ilaçların metinde belirtilen dozları, 10 µl içinde verilecek şekilde hesaplandı ve enjeksiyonlar Hamilton mikroenjektörü kullanılarak yapıldı. İ.v. enjeksiyonlar 1 ml/kg olacak şekilde hesaplanarak uygulandı.

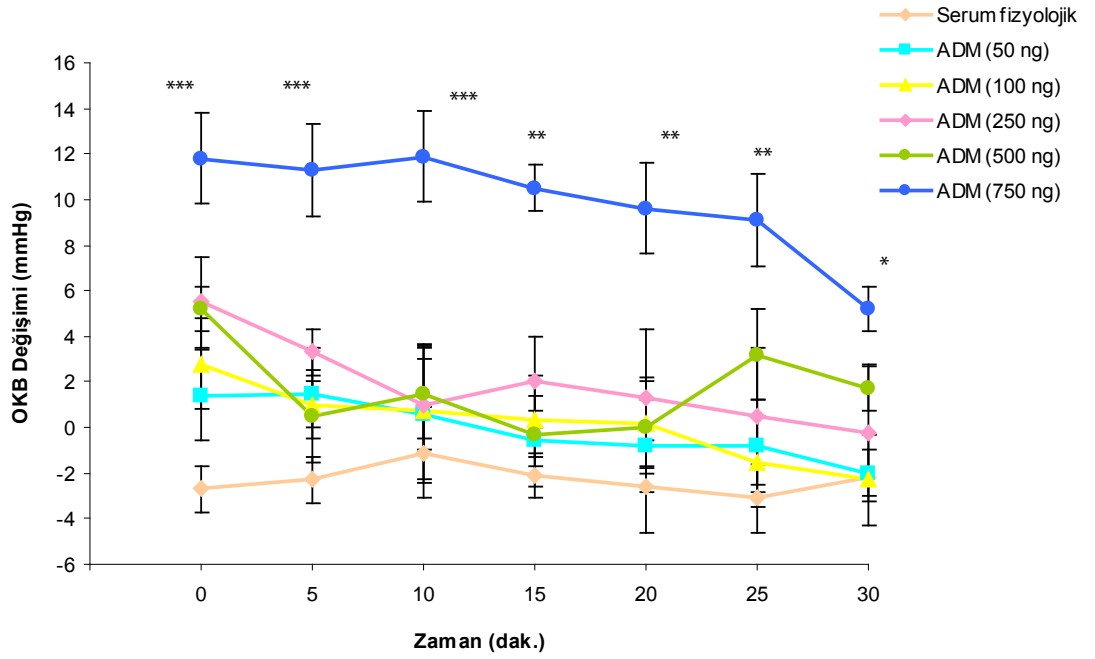
İstatistiksel Analiz

Elde edilen sonuçların istatistiksel analizinde varyans analizi (ANOVA)'dan yararlanıldı. P'nin 0.05'den küçük olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı sayıldı. Sonuçlar ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak gösterildi.

BULGULAR

İntraserebroventriküler ADM'nin Kan Basıncı ve Kalp Hızı Üzerine Etkisi.

Herhangi bir enjeksiyon yapılmadan önce, uyanık ve serbestçe hareket eden sıçanların kan basıncı değeri ortalama 120 ± 2 mmHg, kalp hızı değeri ortalama 303 ± 6 vuru/dak. idi. Bu değerler, enjeksiyonu takip eden 30 dakika süresince her 5 dakikada elde edilen değerler ile karşılaştırılarak aradaki fark belirlendi. ADM 50, 100, 250, 500 ng/10 μ l dozlarda i.c.v. olarak uygulandığında hem kan basıncında hem de kalp hızında artış oluşturmakla beraber bu değişiklikler serum fizyolojik uygulanan grubun değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. 750 ng/10 μ l i.c.v. ADM her iki parametrede artış yönünde değişikliğe sebep oldu. Bu dozda kan basıncında gözlenen artış 10. dakikada en yüksek olmakla birlikte 30. dakikaya kadar yavaşça düştü ancak bazale ulaşmadı ve serum fizyolojik uygulanan grubun değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark vardı (Şekil-7) (Tablo 2).



Şekil- 7. İntraserebroventriküler ADM'nin (50, 100, 250, 500 ve 750 ng/10 µl) kan basıncı üzerine etkisi. Enjeksiyon sonrası 30 dakika süresince kaydedilen kan basıncı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları serum fizyolojik grubu ile karşılaştırılarak, ortalama±SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

ADM: Adrenomedülin

*: Serum fizyolojik grubundan farklıdır.

***:P<0.001, **:P<0.01, *:P<0.05. OKB: Ortalama Kan Basıncı

Tablo -2: Intraserebroventriküler olarak uygulanan adrenomedüllinin kan basıncı üzerine etkisi

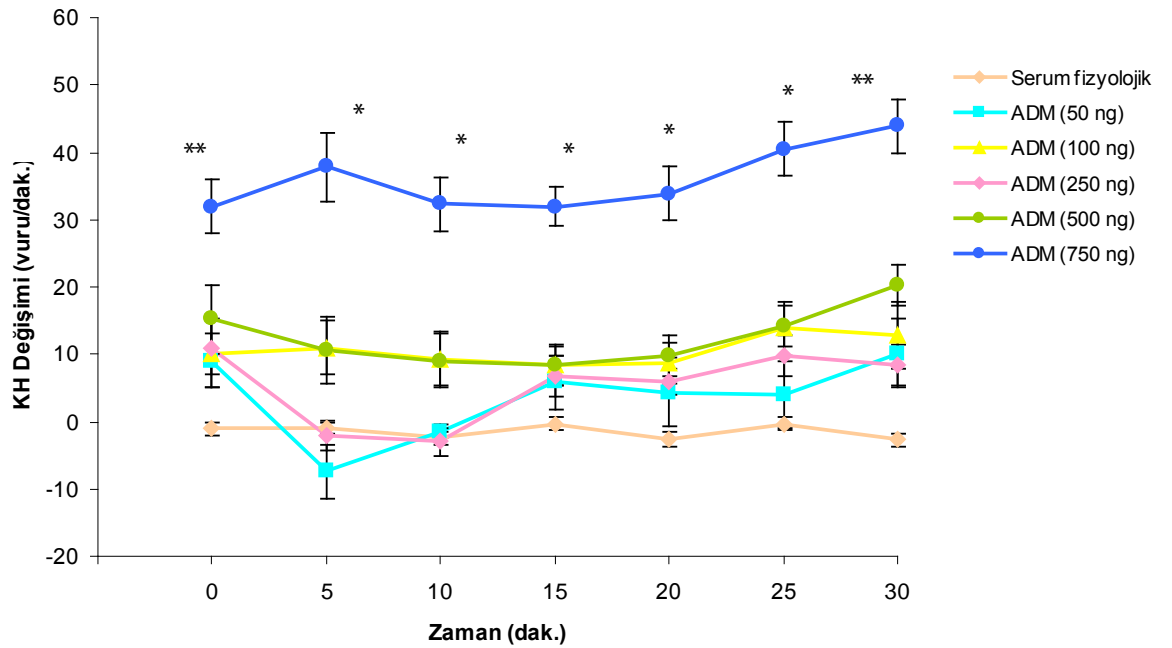
Gruplar	Kan Basıncı Değişimi (mmHg)						
	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'
Serum fizyolojik	-2,7±0,9	-2,3±1	-1,1±1	-2,1±2	-2,6±1	-3,1±2	-2±1,5
ADM (50 ng)	1,4±2	1,5±2	0,6±3	-0,6±2	-0,8±2	-0,8±2	-2±1
ADM (100 ng)	2,8±2	1±1	0,7±3	0,3±2	0,2±2	-1,5±2	-2,3±2
ADM (250 ng)	5,5±2,6	3,3±0,8	1±2,3	2±1,9	1,3±3,7	0,5±4,4	-0,2±3,5
ADM (500 ng)	5,2±1	1±2	-1±2	-2±1	0±2	3,2±2	1,7±1
ADM (750 ng)	11,8±2,2***	11,3±2***	11,9±2***	10,5±1**	9,6±2**	9,1±2**	5,2±1*

Sıçanlarda kontrol kan basınçları kaydedildikten sonra intraserebroventriküler olarak adrenomedüllin (ADM) ya da serum fizyolojik enjekte edildi. Eneksiyonlardan hemen sonra (0. dakika) ve 5 dakika aralıklarla 30 dakika süresince kan basınçları kaydedildi. Eneksiyonlar öncesindeki bazal değerler ile belirtilen dakikalardaki kan basınçları arasındaki farklar gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanıldı.

ADM: Adrenomedüllin

*: Serum fizyolojik grubundan farklıdır. (* : p< 0,01 ** : p< 0,05 *** : p< 0,001).

750 ng/10 µl i.c.v. ADM enjeksiyonunu takiben, kalp hızında 30 dakika boyunca gözlenen artış 30. dakikada en yüksekti. Kalp hızında gözlenen artışlar serum fizyolojik uygulanan grubun değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı idi (Şekil -8) (Tablo -3).



Şekil -8. İntraserebroventriküler ADM'nin (50, 100, 250, 500 ve 750 ng/10 µl) kalp hızı üzerine etkisi. Enjeksiyon sonrası 30 dakika süresince kaydedilen kalp hızı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları serum fizyolojik grubu ile karşılaştırılarak, ortalama±SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

ADM: Adrenomedüllin

KH: Kalp Hızı

*: Serum fizyolojik grubundan farklıdır.

***: P<0.001, **: P<0.01, *: P<0.05.

Tablo 3: İntraserebroventriküler olarak uygulanan adrenomedüllinin kalp hızı üzerine etkisi

Gruplar	Kalp Hızı (vuru/dakika)						
	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'
Serum fizyolojik	-1,1±1	-0,9±1	-2,4±1	-0,3±1	-2,6±1	-0,3±1	-2,7±1
ADM (50 ng)	9±4	-7,4±4	-1,4±1	5,8±4	4,4±5	4±5	10,2±5
ADM (100 ng)	10,2±5	11,5±4	9,3±4	8,5±3	8,7±3	13,8±4	12,8±5
ADM (250 ng)	11±4	-2,2±2	-3±2	6,7±3	6±2	9,8±3	8,5±3
ADM (500 ng)	15,2±5	10,7±5	9±4	8,3±3	9,7±3	14,3±3	20±3
ADM (750 ng)	31,9±4**	37,8±5*	32,4±4*	32,1±3*	33,9±4*	40,5±4*	43,9±4**

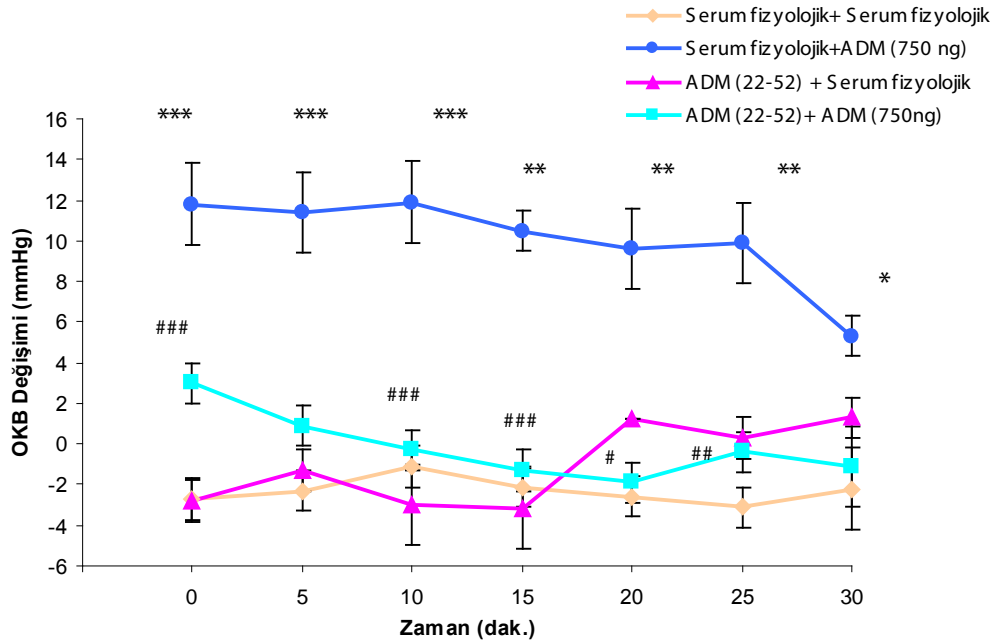
Sıçanlarda kontrol kan basınçları kaydedildikten sonra intraserebroventriküler olarak adrenomedüllin (ADM) ya da serum fizyolojik enjekte edildi. Eneksiyonlardan hemen sonra (0. dakika) ve 5 dakika aralıklarla 30 dakika süresince kalp hızları kaydedildi. Enjeksiyonlar öncesindeki bazal değerler ile belirtilen dakikalardaki kalp hızları arasındaki farklar gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanıldı.

ADM: Adrenomedüllin

*: Serum fizyolojik grubundan farklıdır. (* : p< 0,01 ** : p< 0,05 *** : p< 0,001).

İntraserebroventriküler ADM'nin Kan Basıncı ve Kalp Hızına Etkisinde Santral Reseptörlerinin Rolü.

Santral ADM'nin kan basıncı ve kalp hızı üzerindeki etkisinde santral reseptörlerinin aracılığı olup olmadığını araştırmak amacıyla, spesifik reseptör antagonisti ADM₂₂₋₅₂ (1 µg/10µl;i.c.v.) uygulandığında, i.c.v. ADM'nin kan basıncı ve kalp hızını stimüle edici etkisini bloke ettiği gözlemlendi (Şekil -9, 10)



Şekil- 9: İntraserebroventriküler ADM'nin kan basıncı üzerine etkisinde spesifik ADM reseptör antagonisti ADM₂₂₋₅₂'nin rolü. Serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 10 dakika önce ADM₂₂₋₅₂ (1 µg/kg;i.c.v.) veya serum fizyolojik uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kan basıncı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları ortalama±SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

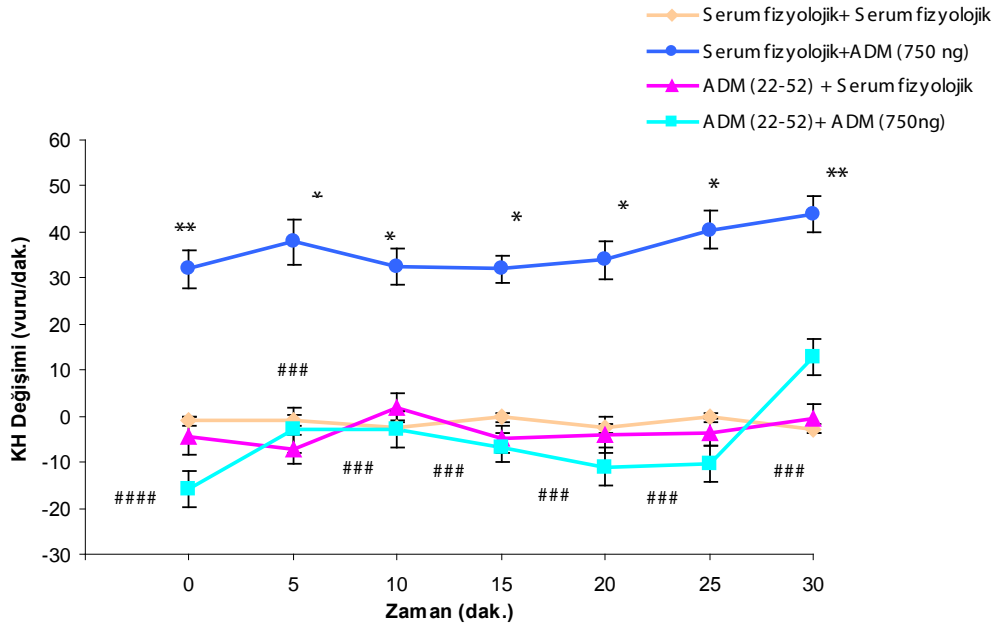
OKB: Ortalama Kan Basıncı

ADM: Adrenomedüllin

* : Serum fizyolojik + serum fizyolojik grubundan farklıdır

: Serum fizyolojik + ADM grubundan farklıdır

***:P<0.001, **:P<0.01, *:P<0.05, ###:P<0.001, ##:P<0.01, #:P<0.05.



Şekil -10 : İntraserebroventriküler ADM'nin kalp hızı üzerine etkisinde spesifik ADM reseptör antagonisti ADM₂₂₋₅₂'nin rolü. Serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 10 dakika önce ADM₂₂₋₅₂ (1 µg/kg;i.c.v.) veya serum fizyolojik uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kalp hızı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları ortalama±SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

KH: Kalp Hızı

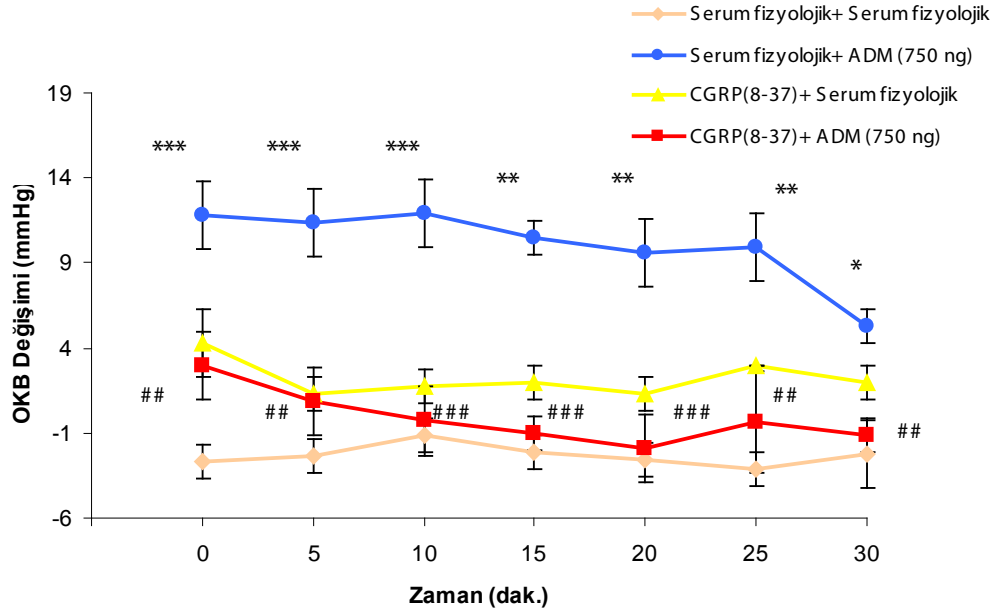
ADM: Adrenomedüllin

* : Serum fizyolojik + serum fizyolojik grubundan farklıdır

: Serum fizyolojik + ADM grubundan farklıdır

**:P<0.01, *:P<0.05, ###:P<0.001.

ADM'nin i.c.v. enjeksiyonundan 20 dakika önce diğer bir reseptör antagonisti olan CGRP₈₋₃₇ (5 µg/10µl;i.c.v.) uygulandığında, ADM'nin kan basıncı ve kalp hızı üzerindeki etkisini önlediği gözlemlendi (Şekil -11 ve 12). Böylece i.c.v. ADM'nin kan basıncı ve kalp hızını artırıcı etkisinde hem spesifik reseptörlerinin hem de CGRP reseptörünün aracılığı bulunmaktadır. ADM₂₂₋₅₂ i.c.v. ADM'nin etkilerini antagonize etmede CGRP₈₋₃₇'ye oranla daha güçlüydü. Aynı dozda CGRP₈₋₃₇ ve ADM₂₂₋₅₂ yalnız uygulandığında kan basıncı ve kalp hızı üzerine herhangi bir değişiklik oluşturmadı (Tablo - 4,5).



Şekil -11 : İntraserebroventriküler ADM'nin kan basıncı üzerine etkisinde CGRP₈₋₃₇'nin rolü. Serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 20 dakika önce CGRP₈₋₃₇ (5 µg/kg;i.c.v.) veya serum fizyolojik uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kan basıncı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları ortalama±SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

OKB: Ortalama Kan Basıncı

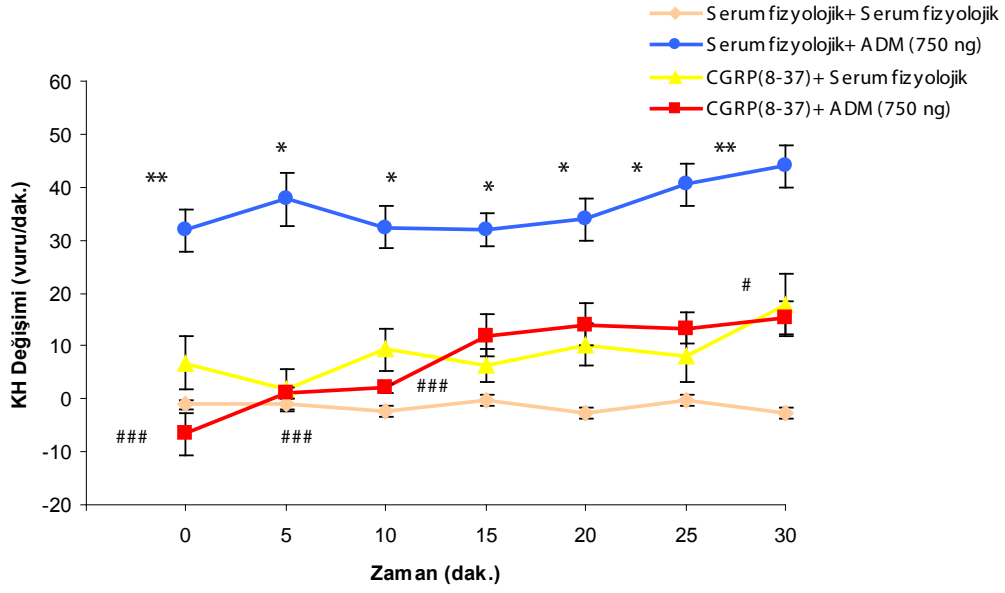
ADM: Adrenomedüllin

CGRP₈₋₃₇: Kalsitonin Gen İlişkili Peptid

* : Serum fizyolojik + serum fizyolojik grubundan farklıdır

: Serum fizyolojik + ADM grubundan farklıdır

***:P<0.001, **:P<0.01, *:P<0.05, ###:P<0.001, ##:P<0.01.



Şekil -12 : İntraserebroventriküler ADM'nin kalp hızı üzerine etkisinde CGRP₈₋₃₇'nin rolü. Serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 20 dakika önce CGRP₈₋₃₇ (5 µg/kg;i.c.v.) veya serum fizyolojik uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kalp hızı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları ortalama±SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

KH: Kalp Hızı

ADM: Adrenomedüllin

CGRP₈₋₃₇: Kalsitonin Gen İlişkili Peptid

* : Serum fizyolojik + serum fizyolojik grubundan farklıdır

: Serum fizyolojik + ADM grubundan farklıdır

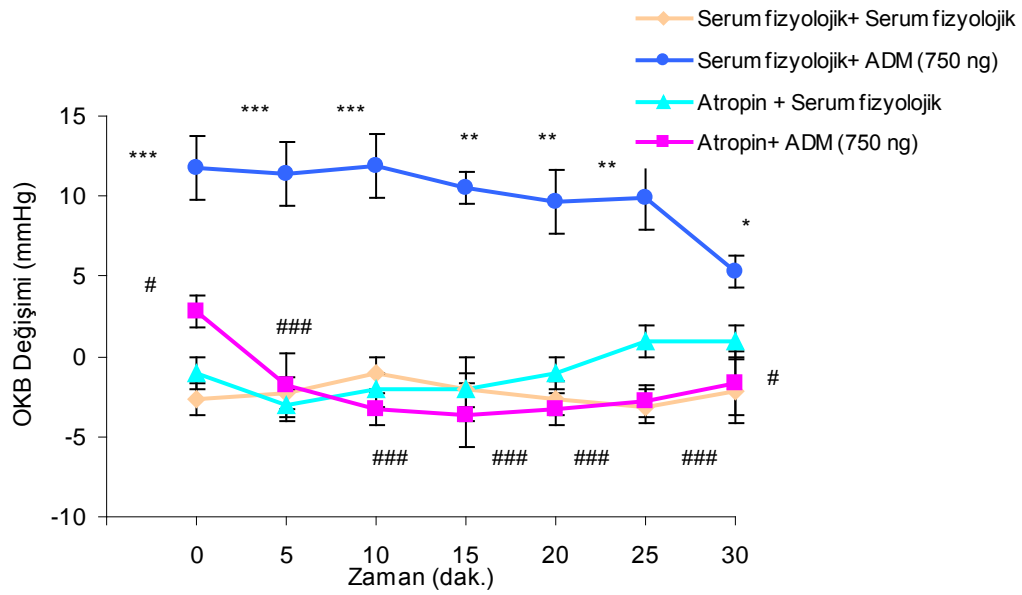
** : P<0.01, * : P<0.05,

: P<0.001, # : P<0.05.

İntraserebroventriküler ADM'nin Kan Basıncı ve Kalp Hızına Etkisinde Santral Kolinerjik Sistemin Rolü.

ADM'nin kan basıncı ve kalp hızına etkisinde santral kolinerjik sistemin rolünü araştırmak amacıyla, ADM (750 ng/10 µl;i.c.v.) enjeksiyonundan 15 dakika önce ya muskarinik reseptör antagonisti atropin (5 µg/10 µl;i.c.v.) ya

da nikotinic reseptör antagonisti mekamilamin (25 µg/10 µl;i.c.v.) enjekte edildi. Atropin ADM'nin hem kan basıncında hem de kalp hızında oluşturduğu artışı bloke etti (Şekil -13 ve 14). Mekamilamin ise peptidin kan basıncına etkisini önledi ancak kalp hızındaki etkisini değiştirmedii (Şekil 15 ve 16). Hem atropin hem de mekamilamin yalnız uygulandıklarında kan basıncı ve kalp hızı üzerinde dağişiklik oluşturmadılar (Tablo -4,5).



Şekil -13: İntraserebroventriküler ADM'nin kan basıncı üzerine etkisinde santral muskarinik kolinerjik reseptörlerin rolü. Serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 15 dakika önce muskarinik reseptör antagonisti atropin (5 µg/10 µl;i.c.v.) veya serum fizyolojik uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kan basıncı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları ortalama ± SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

OKB: Ortalama Kan Basıncı

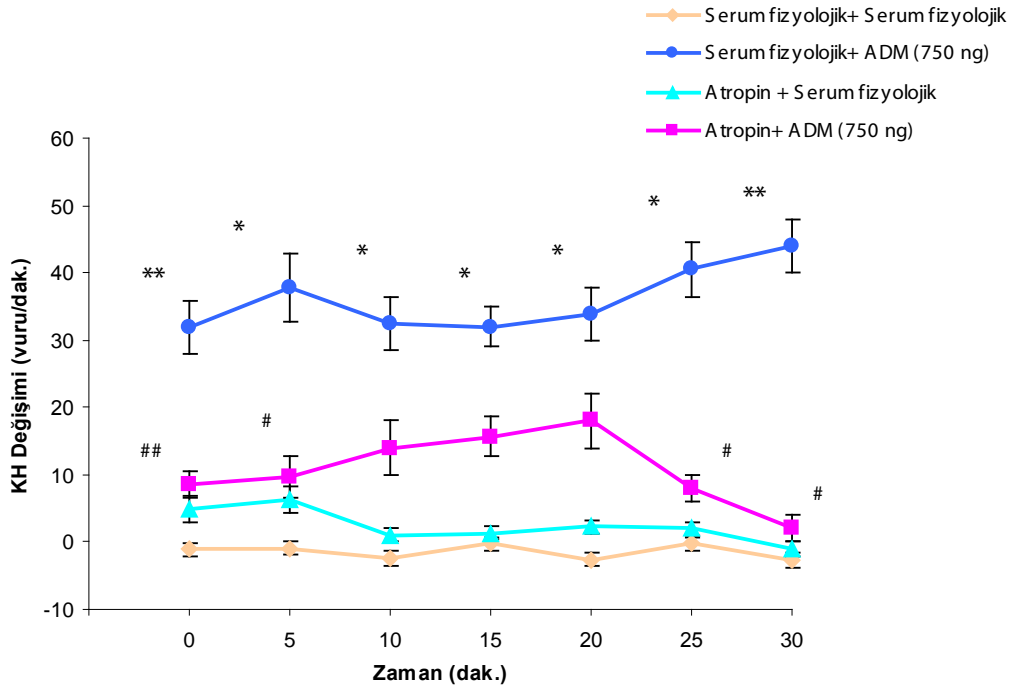
ADM: Adrenomedülin

*: Serum fizyolojik + serum fizyolojik grubundan farklıdır

: Serum fizyolojik + ADM grubundan farklıdır

***:P<0.001, **:P<0.01, *:P<0.05,

###:P<0.001, #:P<0.05.



Şekil -14: İntraserebroventriküler ADM'nin kalp hızı üzerine etkisinde santral muskarinik kolinerjik reseptörlerin rolü. Serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 15 dakika önce muskarinik reseptör antagonisti atropin (5 µg/10 µl;i.c.v.) veya serum fizyolojik uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kalp hızı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları ortalama±SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

KH: Kalp Hızı

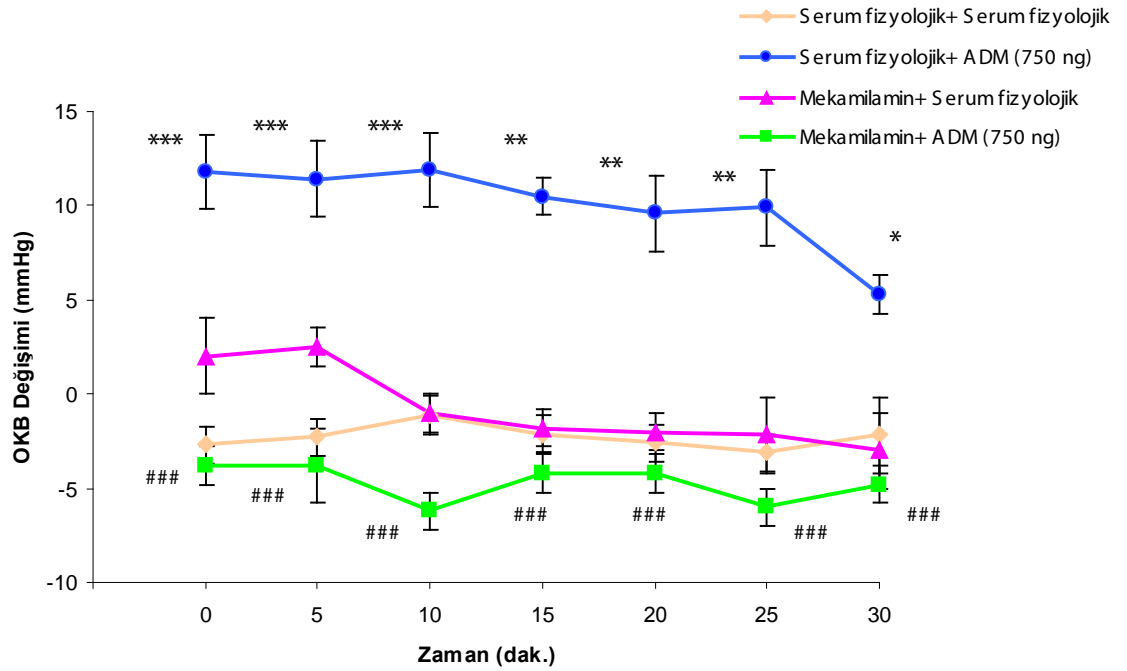
ADM: Adrenomedülin

* : Serum fizyolojik + serum fizyolojik grubundan farklıdır

: Serum fizyolojik + ADM grubundan farklıdır

**.P<0.01, *.P<0.05,

##.P<0.01, #.P<0.05.



Şekil -15: İntraserebroventriküler ADM'nin kan basıncı üzerine etkisinde santral nikotik kolinerjik reseptörlerin rolü. Serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 15 dakika önce nikotik reseptör antagonisti mekamilamin (25 µg/10 µl; i.c.v.) veya serum fizyolojik uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kan basıncı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları ortalama ± SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

OKB: Ortalama Kan Basıncı

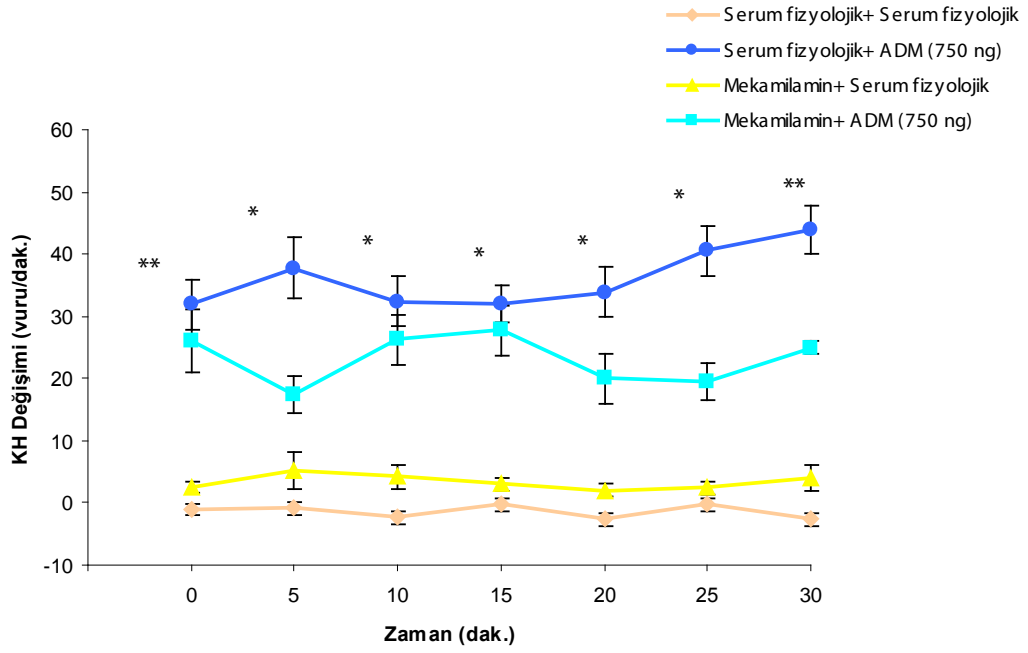
ADM: Adrenomedülin

* : Serum fizyolojik + serum fizyolojik grubundan farklıdır

: Serum fizyolojik + ADM grubundan farklıdır

***:P<0.001, **:P<0.01, *:P<0.05.

###:P<0.001.



Şekil -16: İntraserebroventriküler ADM'nin kalp hızı üzerine etkisinde santral nikotinic kolinerjik reseptörlerin rolü. Serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) nikotinic reseptör antagonisti mekamilamin (25 µg/10 µl; i.c.v.) veya serum fizyolojik uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kalp hızı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları ortalama±SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

KH: Kalp Hızı

ADM: Adrenomedülin

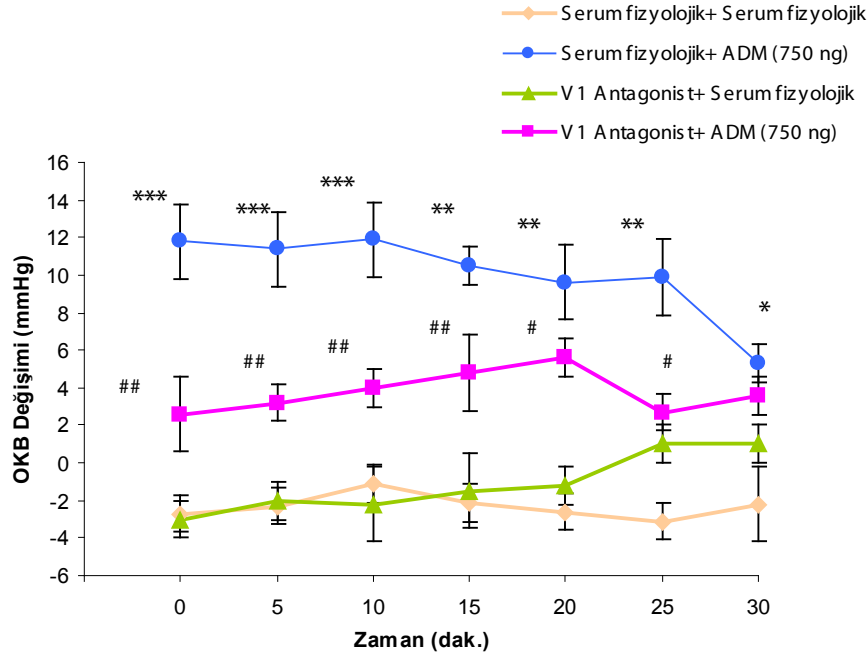
* : Serum fizyolojik + serum fizyolojik grubundan farklıdır

** : P<0.01, * : P<0.05.

İntraserebroventriküler ADM'nin Kan Basıncı ve Kalp Hızına Etkisinde Vazopressin V₁ Antagonistinin Etkisi.

ADM'nin kardiyovasküler etkisinde vazopressinerjik sistemin rolünü araştırmak amacıyla, ADM (750 ng/10 µl;i.c.v.) enjeksiyonundan 5 dakika önce vazopressin V₁ antagonisti (10 µg/kg;i.v.) enjekte edildi. Vazopressin V₁ antagonisti i.c.v. ADM'nin kan basıncını ve kalp hızını yükseltici etkisini bloke

etti (Şekil 17 ve 18). Vazopressin V₁ antagonistinin tek başına enjeksiyonu aynı parametreler üzerine etki oluşturmadı (Tablo - 4,5).



Şekil -17: İntraserebroventriküler ADM'nin kan basıncı üzerine etkisinde vazopressin V₁ reseptör blokajının rolü. Serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 5 dakika önce V₁ reseptör antagonisti (10 µg/kg;i.v.) veya serum fizyolojik uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kan basıncı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları ortalama±SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

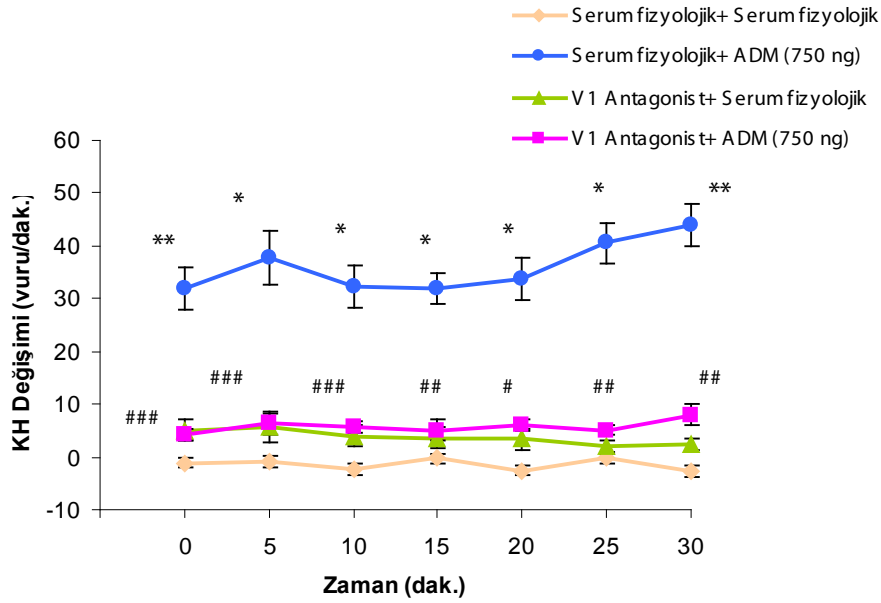
OKB: Ortalama Kan Basıncı

ADM: Adrenomedülin

* : Serum fizyolojik + serum fizyolojik grubundan farklıdır

: Serum fizyolojik + ADM grubundan farklıdır

***:P<0.001, **:P<0.01, *:P<0.05, ##:P<0.01, #:P<0.05.



Şekil -18: İntraserebroventriküler ADM'nin kalp hızı üzerine etkisinde vazopressin V₁ reseptör blokajının rolü. Serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 5 dakika önce V₁ reseptör antagonisti (10 µg/kg;i.v.) veya serum fizyolojik uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kan basıncı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları ortalama±SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

KH: Kalp hızı

ADM: Adrenomedülin

* : Serum fizyolojik + serum fizyolojik grubundan farklıdır

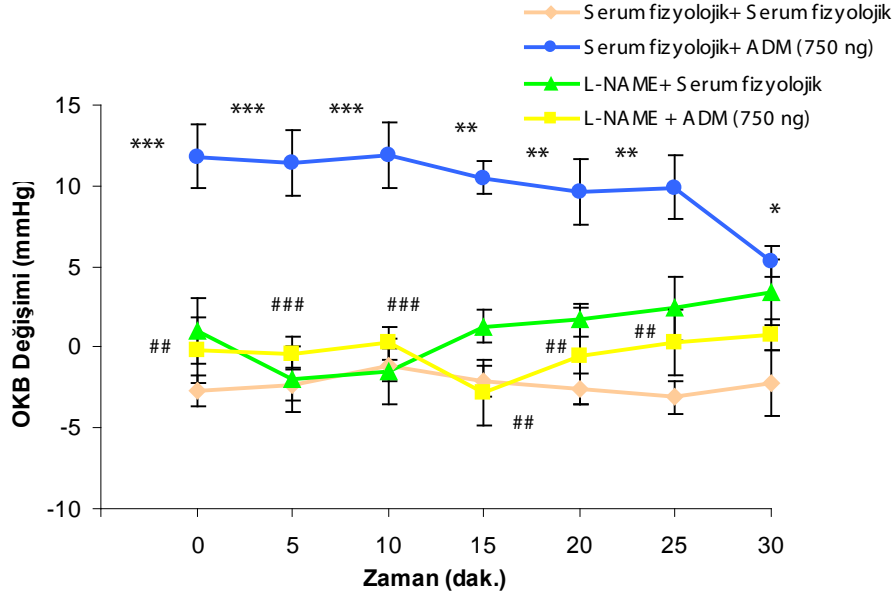
: Serum fizyolojik + ADM grubundan farklıdır

** : P<0.01, * : P<0.05, ### : P<0.001, ## : P<0.01, # : P<0.05.

İntraserebroventriküler ADM'nin Kan Basıncı ve Kalp Hızına Etkisinde Santral Nitrik Oksitin Rolü.

İ.c.v. ADM'nin kan basıncı ve kalp hızına etkisinde santral NO aracılığı olup olmadığını araştırmak amacıyla, NOS inhibitörü L-NAME (5 µg/10µl;i.c.v.) enjeksiyonunu takiben ADM (750 ng/10 µl;i.c.v.) uygulandı. Santral uygulanan L-NAME i.c.v. ADM'nin kan basıncını stimüle edici etkisini

önledi ancak kalp hızına etkisini değiştirmede (şekil 19 ve 20). L-NAME tek başına uygulandığında aynı parametreler üzerinde herhangi bir değişiklik oluşturmadı (Tablo - 4,5).



şekil -19: İntraserebroventriküler ADM'nin kan basıncı üzerine etkisinde santral NOS inhibisyonunun rolü. Serum fizyolojik (10 μ l;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 μ l;i.c.v.) 5 dakika önce NOS inhibitörü L-NAME (5 μ g/kg/10 μ l;i.c.v.) veya serum fizyolojik uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kan basıncı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları ortalama \pm SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

OKB: Ortalama Kan Basıncı

ADM: Adrenomedülin

NOS: Nitrik oksit sentaz

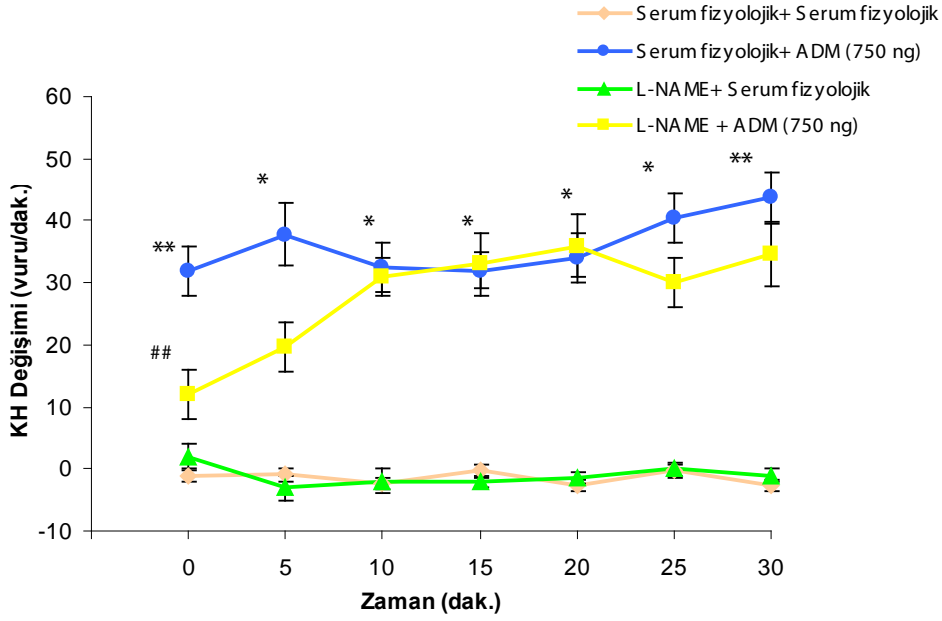
L-NAME: N ω -Nitro-L-arginin metil ester hidroklorür

* : Serum fizyolojik + serum fizyolojik grubundan farklıdır

: Serum fizyolojik + ADM grubundan farklıdır

***:P<0.001, **:P<0.01, *:P<0.05.

###:P<0.001, ##:P<0.01, #:P<0.05.



Şekil -20: İntraserebroventriküler ADM'nin kalp hızı üzerine etkisinde santral NOS inhibisyonunun rolü. Serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 5 dakika önce NOS inhibitörü L-NAME (5 µg/kg/10 µl;i.c.v.) veya serum fizyolojik uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kan basıncı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları ortalama ± SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

KH: Kalp hızı

ADM: Adrenomedülin

NOS: Nitrik oksit sentaz

L-NAME: N_ω-Nitro-L-arginin metil ester hidroklorür

* : Serum fizyolojik + serum fizyolojik grubundan farklıdır

: Serum fizyolojik + ADM grubundan farklıdır

***:P<0.001, **:P<0.01, *:P<0.05.

###:P<0.001, ##:P<0.01, #:P<0.05.

Tablo - 4: Intraserobroventriküler olarak uygulanan adrenomedüllinin kan basıncı üzerine olan etkisinde ADM₂₂₋₅₂, CGRP₈₋₃₇, atropin, mekamilamin, L-NAME ve V₁ reseptör antagonistinin rolü

Gruplar	Kan Basıncı Değişimi (mmHg)						
	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'
Serum fizyolojik	-2,7±1	-2,3±1	-1,1±1	-2,1±1	-2,6±1	-3,1±2	-2,2±2
ADM (750 ng)	11,8±2***	11,4±2***	11,9±2***	10,5±1**	9,6±2**	9,9±2**	5,2±1*
ADM ₂₂₋₅₂ +Serum fizyolojik	-2,8±1	-1,3±1	-3±2	-3,2±2	1,2±0	0,3±1	1,3±1
ADM ₂₂₋₅₂ +ADM (750 ng)	3±1###	0,9±1###	-0,3±1###	-1,3±1###	-1,9±1#	-0,4±1##	-1,1±2
CGRP ₈₋₃₇ +Serum fizyolojik	4,3±2	1,3±1	1,7±1	2±1	1,3±1	3±0	2±1
CGRP ₈₋₃₇ +ADM (750 ng)	2,8±2##	1,6±2##	-0,6±2###	-1±1###	-1,5±2###	-0,3±3##	-1,1±1##
Atropin+Serum Fizyolojik	-1±1	-3±1	-2±1	-2±2	-1±1	-1±1	1±1
Atropin +ADM (750 ng)	2,8±1#	-1,8±2###	-3,3±1###	-3,7±2###	-3,3±1###	-2,8±1###	-1,7±2#
Mekamilamin+Serum Fizyolojik	2±2	2,5±1	-1±1	-1,8±1	-2±1	-2,2±2	-3±2
Mekamilamin+ADM (750 ng)	-3,8±1###	-3,8±2###	-6,2±1###	-4,2±1###	-4,2±1###	-6±1###	-4,8±1###
V ₁ reseptör antagonisti+Serum Fizyolojik	-3±1	-2±1	-2,2±2	-1,5±2	-1,2±1	1±1	1±1
V ₁ reseptör antagonisti + ADM (750 ng)	2,6±2##	3,2±1##	4±1##	4,8±2##	5,6±1#	2,7±1#	3,6±1
L-NAME+Serum Fizyolojik	1±2	-2±2	-2±2	1±1	2±1	2±2	3±2
L-NAME+ADM (750 ng)	-0,2±2##	-0,4±1###	0,25±1###	-2,8±2###	-0,6±3##	0,3±2##	0,75±1

Intraserobroventriküler ADM'nin kan basıncı üzerine etkisinde; ADM reseptör antagonistleri ADM₂₂₋₅₂ ve CGRP₈₋₃₇'nin rolünü belirlemek amacıyla serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 10 dakika önce ADM₂₂₋₅₂ (1 µg/10 µl;i.c.v.) ve 20 dakika önce CGRP₈₋₃₇ (5 µg/10 µl;i.c.v.) uygulandı. Santral kolinerjik reseptörlerin rolünü tespit etmek amacıyla serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 15 dakika önce muskarinik reseptör antagonisti atropin (5 µg/10 µl;i.c.v.) veya nikotinik reseptör antagonisti mekamilamin (25 µg/10 µl; i.c.v.) uygulandı. Vazopressin V₁ reseptör blokajının ve santral NOS inhibisyonunun rolünü belirlemek amacıyla serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 5 dakika önce V₁ reseptör antagonisti (10 µg/kg;i.v.) ayrıca 5 dakika önce NOS inhibitörü L-NAME (5 µg/10 µl;i.c.v.) uygulandı. Sıçanlarda son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kan basıncı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları ortalama±SH olarak gösterildi. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır. *: Serum fizyolojik+serum fizyolojik grubundan farklıdır. #: Serum fizyolojik+ADM grubundan farklıdır. ***:P<0.001, **:P<0.01, *:P<0.05, ###:P<0.001, ##:P<0.01, #:P<0.05. ADM: Adrenomedüllin, CGRP₈₋₃₇: Kalsitonin gen ilişkili peptid, L-NAME: N_w-Nitro-L-arginin metil ester hidroklorür.

Tablo - 5: Intraserobroventriküler olarak uygulanan adrenomedüllinin kalp hızı üzerine olan etkisinde ADM₂₂₋₅₂, CGRP₈₋₃₇, atropin, mekamilamin, L-NAME ve V₁ reseptör antagonistinin rolü

Gruplar	Kalp Hızı (vuru/dakika)						
	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'
Serum fizyolojik	-1,1±1	-0,9±1	-2,4±1	-0,3±1	-2,6±1	-0,3±1	-2,7±1
ADM (750 ng)	31,9±4**	37,8±5*	32,4±4*	32,1±3*	33,9±4*	40,5±4*	43,9±4**
ADM ₂₂₋₅₂ + Serum fizyolojik	-4,3±3	-7,2±5	2±4	-5±2	-4±3	-3,5±2	-0,5±4
ADM ₂₂₋₅₂ +ADM (750 ng)	-15,9±5###	-3±2,4###	-2,9±3,3###	-6,8±4###	-11±5###	-10,4±5###	12,9±5###
CGRP ₈₋₃₇ +Serum fizyolojik	6,7±4	1,7±2	9,3±2	6,3±2	10,3±4	8,1±5	17,7±6
CGRP ₈₋₃₇ +ADM (750 ng)	-6,6±4###	1±1,1###	-2±1,9###	12±5	14±4	13,4±3	15,3±3 [#]
Atropin+Serum Fizyolojik	5±2	6±2	1±1	1±1	2±1	2±1	-1±1
Atropin+ADM (750 ng)	8,6±2 ^{##}	9,7±3,3 [#]	24,5±4	15,7±5	18±3,7	8±4 [#]	-4±2 ^{##}
Mekamilamin+Serum Fizyolojik	3±1	5±3	4±2	3±1	2±1	2±1	4±3
Mekamilamin+ADM (750 ng)	26±4	17,3±3 [#]	26,2±4	27,7±4	33,3±4	19,5±3	29,7±2
V ₁ reseptör antagonisti+Serum Fizyolojik	5±2	5,6±3	4±2	4±2	3±2	2±1	2±1
V ₁ reseptör antagonisti +ADM (750 ng)	4,2±1,6###	6,4±2,4###	5,6±1,1###	9,2±3,2 ^{##}	6±1,6 [#]	5,1±1,9 ^{##}	7,9±2,9 ^{##}
L-NAME+Serum Fizyolojik	2±2	-3±2	-2±2	-2±1	-1±1	0±1	-1±1
L-NAME+ADM (750 ng)	11,9±4 ^{##}	19,7±4	31±3	33±5	36,8±5	30±4 [#]	34,5±6

Intraserobroventriküler ADM'nin kalp hızı üzerine etkisinde; ADM reseptör antagonistleri olan ADM₂₂₋₅₂ ve CGRP₈₋₃₇'nin rolünü belirlemek amacıyla serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 10 dakika önce ADM₂₂₋₅₂ (1 µg/10 µl;i.c.v.) ve 20 dakika önce CGRP₈₋₃₇ (5 µg/10 µl;i.c.v.) uygulandı. Santral kolinerjik reseptörlerin rolünü tespit etmek amacıyla serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 15 dakika önce muskarinik reseptör antagonisti atropin (5 µg/10 µl;i.c.v.) veya nikotinik reseptör antagonisti mekamilamin (25 µg/10 µl; i.c.v.) uygulandı. Vazopressin V₁ reseptör blokajının ve santral NOS inhibisyonunun rolünü belirlemek amacıyla serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya ADM enjeksiyonundan (750 ng/10 µl;i.c.v.) 5 dakika önce V₁ reseptör antagonisti (10 µg/kg;i.v.) ayrıca 5 dakika önce NOS inhibitörü L-NAME (5 µg/10 µl;i.c.v.) uygulandı. Sıçanlarda son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kalp hızı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları ortalamat±SH olarak gösterildi. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır. *: Serum fizyolojik+serum fizyolojik grubundan farklıdır. #: Serum fizyolojik+ADM grubundan farklıdır. ***:P<0.001, **:P<0.01, *:P<0.05, ###:P<0.001, ##:P<0.01, #:P<0.05. ADM: Adrenomedüllin, CGRP₈₋₃₇: Kalsitonin gen ilişkili peptid, L-NAME: N_w-Nitro-L-arginin metil ester hidroklorür.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Santral sinir sisteminde bir nörotransmitter, nöromodülatör veya nörohormon olarak fonksiyon gösterdiği kabul edilen ADM'nin kardiyovasküler regülasyonda önemli rolü olan merkezlerde bulunduğu gösterilmiştir (54,81,82). ADM'nin santral kardiyovasküler etkileri üzerine yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar arasında farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıkların temel nedeni ADM'nin beyinde uygulandığı alanlara göre etkiler göstermiş olmasıdır. Takahashi ve arkadaşları (60) anestezili sıçanlara i.c.v. ve intrasisternal olarak ADM verildiğinde kan basıncında ve abdominal sempatik deşarjda stimülasyona neden olduğunu belirtmişlerdir. Murphy ve Samson (58) i.c.v. ADM'nin kan basıncını etkilemediği, sadece su alımını kısıtladığını ileri sürmüşlerdir. ADM ile uyanık koyunlar üzerinde yapılan bir çalışmada i.c.v. ADM'nin hemodinamik olarak önemli bir etkisinin olmadığı bulunmuştur (83). ADM'nin paraventriküler nukleus (PVN)'a verilmesiyle kan basıncını düşürdüğü ve bu etkisini GABA ve NO aracılığıyla yaptığı ileri sürülmüştür (84). Biz i.c.v. yolla uygulanan ADM'nin kan basıncı ve kalp hızını stimüle ettiğini ve bu etkisini santral reseptörleri aracılığıyla oluşturduğunu gözledik.

ADM ve reseptörlerinin sadece periferik dokularda değil, beyin farklı alanlarında da olduğu tespit edilmiştir (13). Peptidin periferik etkilerinde olduğu gibi santral etkilerinde de spesifik reseptörlerinin ve CGRP reseptörlerinin rolü bulunmaktadır. Takahashi ve arkadaşları (60) anestezili sıçanlarda CGRP antagonisti olan CGRP₈₋₃₇'nin santral uygulanmasının ADM'nin etkilerini bloke ettiğini gözlemişlerdir. Saita ve arkadaşları (53) hem CGRP₈₋₃₇'nin hem de ADM spesifik reseptör antagonisti olan ADM₂₂₋₅₂'nin ADM'nin kardiyovasküler etkilerini bloke ettiğini tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada ADM'nin beyinde spesifik ADM reseptörlerine, CGRP reseptörlerinden daha çok affinitesi olduğu ileri sürülmüştür. Biz de

çalışmamızda ADM₂₂₋₅₂ ve CGRP₈₋₃₇'nin i.c.v. ADM'nin kan basıncı ve kalp hızı üzerine etkisini bloke ettiğini gözledik. Spesifik reseptör antagonisti olan ADM₂₂₋₅₂, ADM'nin hem kan basıncına hem de kalp hızına olan etkisini CGRP₈₋₃₇'den daha etkin bir şekilde önlemektedir. Bu bulgumuz Saita ve arkadaşlarının (53) çalışmalarına paralellik göstermektedir.

Normotansif şartlarda santral nikotinik ve muskarinik kolinerjik reseptörlerin stimülasyonu, presinaptik kolinerjik mekanizmaların aktivasyonu yolu ile kan basıncını yükseltmektedir. Çünkü santral kolinerjik stimülasyonun katekolamin artışına ve kan basıncında yükselmeye neden olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (85-88). İ.c.v. ADM'nin sempatoadrenerjik sistem aktivasyonuna neden olarak kardiyovasküler etkiler oluşturduğu ileri sürülmektedir (53,60). Bu yüzden i.c.v. ADM uygulamasıyla oluşan kardiyovasküler etkilerde santral kolinerjik sistemin rolü olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda ADM'nin kan basıncı ve kalp hızına etkisinde santral kolinerjik sistemin rolünü tespit etmek amacıyla, sıçanlara nonspesifik muskarinik reseptör antagonisti atropin ve nonspesifik nikotinik reseptör antagonisti mekamilamin uyguladığımızda her iki ajanın da ADM'nin kan basıncını stimüle edici etkisini bloke ettiğini gözledik. Kalp hızında ise atropin ADM'nin etkisini önlerken mekamilamin etki göstermemiştir. Bu sonuçlara göre i.c.v. ADM'nin kan basıncı artışında hem muskarinik hem de nikotinik, kalp hızında ise sadece muskarinik santral kolinerjik reseptör aktivasyonunun rolü olduğu düşünülmektedir.

Hipotalamusta PVN ve supraoptik nükleus (SON), vazopressin ve oksitosin salgıladığı bilinen, otonom ve nöroendokrin regülasyonda önemli fonksiyonları olan bölgelerdir. İ.c.v. ADM'nin, PVN ve SON'daki hem vazopressinerjik hem de oksitosinerjik nöronları aktive ettiği (64), uyanık sıçanlarda hiperosmolalite ve hipovolemi nedeniyle indüklenen vazopressini azalttığı gösterilmiştir (66). Bizim bulgularımız ise vazopressinin i.c.v.

ADM'nin etkilerine dahil olduğunu göstermektedir. Çünkü i.v olarak uygulanan vazopressin V₁ reseptör antagonistinin ADM'nin kan basıncını ve kalp hızını stimüle edici etkisini bloke ettiğini gözledik. Böylece santral ADM'nin kardiyovasküler etkilerinde V₁ reseptörlerinin aracılığıyla vazopressinin rolü olduğu düşünülmektedir.

ADM'nin santral kardiyovasküler etkilerinde rolü olduğu düşünülen diğer bir sistem NO sistemidir. NO santral sinir sisteminde de bulunan nöroendokrin ve otonom fonksiyonların santral regülasyonunda önemli rolü olan gaz yapısında bir nörotransmitterdir. ADM'nin periferik vazodilatatör etkisinde NO'nun rolü olduğu (89), santral ADM'nin hipotalamusta NO üretimini stimüle ettiği (62) ve PVN'de ve rostral ventrolateral medullada kan basıncı üzerine olan etkilerini NO aracılığıyla yaptığı ileri sürülmüştür (90,91). Bu çalışmalarda ADM'nin hipotalamo-hipofizer-adrenal aksta ve/veya sempatik cevaplarında hipotalamik NO'nun rolü olduğu gösterilmiştir. Santral NO'nun etkilerini araştırmak amacıyla beynin farklı alanlarına direkt NO donörleri veya NOS inhibitörleri verilerek yapılan çalışmalar sonucunda NO'nun beynin farklı alanlarında farklı etkiler gösterdiği ileri sürülmüştür (92-95). Elde edilen sonuçların bazıları hipotalamik NO'nun perifere sempatik deşarjı azalttığını (92,93) bazıları ise otonom merkezlerde sempatik sistem stimülasyonuna (94,95) neden olduğunu ileri sürmektedir. Çalışmamızda ADM'nin santral etkisine NO'nun aracılık edip etmediğini araştırmak amacıyla kullanılan NOS inhibitörü L-NAME'in, ADM'nin kan basıncına olan etkisini bloke ettiği, kalp hızına ise sadece enjeksiyondan hemen sonra etkisi olduğu gözlendi. Bu sonuca göre otonom merkezlerde sempatik sistem stimülasyonu yaptığı düşünülen ADM'nin kan basıncını artırıcı etkisinde santral NO'nun aracılığı olduğu düşünülebilir.

Sonuç olarak bu çalışmada, i.c.v. ADM'nin kan basıncı ve kalp hızını stimüle edici etkisini santral reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla oluşturduğu

gözlenmiştir. ADM'nin kan basıncını artırıcı etkisinde santral nikotik ve muskarinik reseptörlerin aktivasyonu yoluyla santral kolinerjik sistemin, V₁ reseptörleri aracılığıyla vazopressinerjik sistemin ve santral NO'nun rolü olabileceği düşünülmektedir. Santral ADM'nin kalp hızını artırıcı etkisinde ise santral kolinerjik muskarinik reseptör aktivasyonunun ve vazopressinerjik sistemin rol oynayabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, Ichiki Y, Nakamura S, Matsuo H, Eto T. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;192: 553–60.
2. Kitamura K, Kangawa K, Eto T. Adrenomedullin and PAMP: Discovery, structures and cardiovascular functions. *Microsc Res Tech* 2002;57:3–13.
3. Joy P H, Supriya K, David M S. Adrenomedullin, a multifunctional regulatory peptide. *Endocr Rev* 2000;21(2):138–67.
4. Wimalawansa S J. Amylin, calcitonin gene-related peptide, calcitonin, and adrenomedullin: a peptide superfamily. *Crit Rev Neurobiol* 1997;11:167–239.
5. Kapas S, Martinez A, Cuttitta F, Hinson J P. Local production and action of adrenomedullin in the rat adrenal zona glomerulosa. *J Endocrinol* 1998;156:477–84.
6. Pio R, Martinez A, Unsworth E J, et al. Complement factor H is a serumbinding protein for adrenomedullin and the resulting complex modulates the bioactivities of both partners. *J Biol Chem* 2001;276(15):12292–300.
7. Hirayama N, Kitamura K, Imamura T, et al. Secretion and clearance of the mature form of adrenomedullin in humans. *Life Sci* 1999;64(26):2505–9.
8. Jiang W, Jiang H F, Cai D Y, Pan C S, Qi Y F, Pang Y Z, Tang C S. Relationship between contents of adrenomedullin and distributions of neutral endopeptidase in blood and tissues of rats in septic shock. *Regul Pept* 2004;118:199-208.
9. Nishikimi T, Kitamura K, Saito Y, et al. Clinical studies on the sites of production and clearance of circulating adrenomedullin in human subjects. *Hypertension* 1994;24(5):600–4.
10. Debbie L H, David M S. ADM reseptors: molecular identity and function. *Peptides* 2001;22:1753-63.
11. Eguchi S, Hirata Y, Kano H, Sato K, Watanabe Y, Watanabe T X, Nakajima K, Sakakibara S, Marumo F. Specific receptors for adrenomedullin in cultured rat vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 1994;340:226-30.
12. Choksi T, Hay DL, Legon S, et al. Comparison of the expression of calcitonin receptorlike receptor (CRLR) and receptor activity modifying proteins (RAMPs) with CGRP and adrenomedullin binding in cell lines. *Br J Pharmacol* 2002;136(5):784–92.

13. Morfis M, Christopoulos A, Sexton P M. RAMPs: 5 years on, where to now? *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24(11):596– 601.
14. Chakravarty P, Suthar T P, Coppock H A, et al. CGRP and adrenomedullin binding correlates with transcript levels for calcitonin receptor-like receptor (CRLR) and receptor activity modifying proteins (RAMPs) in rat tissues. *Br J Pharmacol* 2000;130:189–95.
15. Fung E, Fiscus R R. Adrenomedullin induces direct (endothelium-independent) vasorelaxations and cyclic adenosine monophosphate elevations that are synergistically enhanced by brain natriuretic peptide in isolated rings of rat thoracic aorta. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003;41(6):849–55.
16. DeMatteo R, May C N. Direct coronary vasodilator action of adrenomedullin is mediated by nitric oxide. *Br J Pharmacol* 2003;140(8):1414–20.
17. Nishimatsu H, Suzuki E, Nagata D, et al. Adrenomedullin induces endothelium dependent vasorelaxation via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent pathway in rat aorta. *Circ Res* 2001;89(1):63–70.
18. Terata K, Miura H, Liu Y, Loberiza F, Gutterman D D. Human coronary arteriolar dilation to adrenomedullin: role of nitric oxide and K⁺ channels. *J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279(6):H2620–6.
19. Kim W, Moon S O, Sung M J, et al. Angiogenic role of adrenomedullin through activation of Akt, mitogen-activated protein kinase, and focal adhesion kinase in endothelial cells. *FASEB J* 2003; 17(13):1937-9.
20. Hamid S A, Baxter G F. ADM: Regulator of systemic and cardiac homeostasis in acute myocardial infarction. *Pharmacol Ther* 2005;105(2):95-112.
21. Horio T, Nishikimi T, Yoshihara F, et al. Production and secretion of adrenomedullin in cultured rat cardiac myocytes and nonmyocytes: stimulation by interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha. *Endocrinology* 1998;139(11):4576–80.
22. Minamino N, Kikumoto K, Isumi Y. Regulation of adrenomedullin expression and release. *Microsc Res Tech* 2002;57(1):28– 39.
23. Tsuruda T, Kato J, Kitamura K, et al. Enhanced adrenomedullin production by mechanical stretching in cultured rat cardiomyocytes. *Hypertension* 2000;35(6):1210–4.
24. Tomoda Y, Kikumoto K, Isumi Y, et al. Cardiac fibroblasts are major production and target cells of adrenomedullin in the heart in vitro. *Cardiovasc Res* 2001;49(4):721–30.

25. Hague S, Zhang L, Oehler M K, et al. Expression of the hypoxically regulated angiogenic factor adrenomedullin correlates with uterine leiomyoma vascular density. *Clin Cancer Res* 2000;6(7):2808–14.
26. Hayashi M, Shimosawa T, Fujita T. Hyperglycemia increases vascular adrenomedullin expression. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;258:453–6.
27. Minami K, Segawa K, Uezono Y, et al. Adrenomedullin inhibits the pressor effects and decrease in renal blood flow induced by norepinephrine or angiotensin II in anesthetized rats. *Jpn J Pharmacol* 2001;86(2):159–64.
28. Autelitano D J, Ridings R, Pipolo L, Thomas WG. Adrenomedullin inhibits angiotensin AT1A receptor expression and function in cardiac fibroblasts. *Regul Pept* 2003;112(1–3):131–7.
29. Charles C J, Lainchbury J G, Nicholls M G, et al. Adrenomedullin and the renin–angiotensin–aldosterone system. *Regul Pept* 2003;112:41-9.
30. Krzeminski K, Mikulski T, Nazar K. Effect of prolonged Dynamic Exercise on Plasma Adrenomedullin Concentration in Healthy young Men. *J Physiol Pharmacol* 2006;57, 4, 571.-81.
31. Fukuhara M, Tsuchihashi T, Abe I, Fujishima M. Cardiovascular and neurohormonal effects of intravenous adrenomedullin in conscious rabbits. *Am J Physiol* 1995;269:R1289–93.
32. Nicholls M G, Lainchbury J G, Lewis L K, et al. Bioactivity of Adrenomedullin and proadrenomedullin N-terminal 20 peptide in man. *Peptides* 2001;22(11):1745–52.
33. Moncada S, Palmer R M, Higgs E A. Nitric oxide:physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-42.
34. Hirata Y, Hayakawa H, Suzuki Y, et al. Mechanisms of Adrenomedullin-Induced Vasodilation In The Rat Kidney. *Hypertension*1995;25(4 Pt 2):790–5.
35. Shichiri M, Fukai N, Ozawa N, Iwasaki H, Hirata Y. Adrenomedullin is an autocrine/paracrine growth factor for rat vascular smooth muscle cells. *Regul Pept* 2003;112:167–73.
36. Kano H, Kohno M, Yasunari K, et al. Adrenomedullin as a novel antiproliferative factor of vascular smooth muscle cells. *J Hypertens* 1996;14(2):209–13.

37. Nakayama M, Takahashi K, Murakami O, et al. Adrenomedullin in monocytes and macrophages. Possible involvement of macrophage-derived adrenomedullin in atherogenesis. *Clin Sci* 1999;97:247-51.
38. Nagoshi Y, Kuwasako K, Cao Y, Kitamura K and Eto T. Effects of C-reactive protein on atherogenic mediators and adrenomedullin in human coronary artery endothelial and smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;314:1057-1063.
39. Limuro S, Shindo T, Moriyama N, et al. Angiogenic effects of adrenomedullin in ischemia and tumor growth. *Circ Res* 2004;95:415-23.
40. Luodonpaa M, Rysa J, Pikkarainen S, et al. Mechanisms regulating adrenomedullin gene expression in the left ventricle: role of mechanical load. *Regul Pept* 2003;112(1-3):153–9.38.
41. Mukherjee R, Multani M M, Sample J A, et al. Effects of adrenomedullin on human myocyte contractile function and beta-adrenergic response. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2002;7(4):235–40.
42. Eto T, Kato J, Kitamura K. Regulation of production and secretion of adrenomedullin in the cardiovascular system. *Regul Pept* 2003;112(1–3):61–9.
43. Wolf K, Kurtz A, Pfeifer M, et al. Different regulation of left ventricular ANP, BNP and adrenomedullin mRNA in the twokidney, one-clip model of renovascular hypertension. *Pflugers Arch* 2001;442:212–7.
44. Del B R, Lazzeri C, Barletta G, et al. Effects of low-dose adrenomedullin on cardiac function and systemic haemodynamics in man. *Clin Physiol* 2000;20(6):457–65.
45. Nakamura R, Kato J, Kitamura K, et al. Beneficial effects of adrenomedullin on left ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Cardiovasc Res* 2002;56:373–80.
46. Nishikimi T, Saito Y, Kitamura K, Ishimitsu T, Eto T, Kangawa K, Matsuo H, Omae T, Matsuoka H. Increased plasma levels of adrenomedullin in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1424-31.
47. Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, et al. Plasma adrenomedullin as an indicator of prognosis after acute myocardial infarction. *Heart* 1999;81(5):483–7.
48. Kato K, Yin H, Agata J, et al. Adrenomedullin gene delivery attenuates myocardial infarction and apoptosis after ischemia and reperfusion. *J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285(4):H1506-14.

49. Shimosawa T, Shibakagi Y, Ishibashi K, Kitamura K, Kangawa K, Kato S, Ando K, Fujita T. Adrenomedullin, an Endogenous Peptide, Counteracts Cardiovascular Damage. *Circulation* 2002;105:106-111.
50. Hiragushi K, Wada J, Eguchi J, Matsuoka T, Yasuhara A, Hashimoto I, Yamashita T, Hida K, Nakamura Y, Shikata K, Minamino N, Kangawa K, Makino H. The role of adrenomedullin and receptors in glomerular hyperfiltration in streptozocin-induced diabetic rats. *Kidney Int.* 2004;65:540-50.
51. Iwamoto M, Osajima A, Tamura M, Suda T, Ota T, Kanegae K, Watanabe Y, Kabashima N, Anai H, Nakashima Y. Adrenomedullin inhibits pressure-induced mesangial MCP-1 expression through activation of protein kinase A. *J Nephrol.* 2003;16:673-681.
52. Hamid S A, Baxter G F. Adrenomedullin limits infarct size at reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 2004;36(5):731.
53. Shan J, Stachniak T, Jhamandas J H, Krukoff T L. Autonomic and neuroendocrine actions of adrenomedullin in the brain: mechanism for homeostasis. *Regul Pept* 2003;112:33-40.
54. Sone M, Takahashi K, Satoh F, Murakami O, Totsune K, Ohneda M, Sasano H, Ito H, Mouri T. Specific adrenomedullin binding sites in the human brain. *Peptides* 1997;18:1125-1129.
55. Allen M A, Smith P M, Ferguson A V. Adrenomedullin microinjection into the area postrema increases blood pressure. *Am J Physiol* 1997;272:1698-1703.
56. Kis B, Abraham S, Deli M, Kobayashi H, Wada A, Niwa M, Yamashita H, Ueta Y. Adrenomedullin in the cerebral circulation. *Peptides* 2001;22:1825-1834.
57. Serino R, Ueta Y, Hara Y, Centrally Administered Adrenomedullin Increases Plasma Oxytocin Level with Induction of *c-fos* Messenger Ribonucleic Acid in the Paraventricular and Supraoptic Nuclei of the Rat, *Endocrinology* 1999;140:2334-42.
58. Murphy T C, Samson W K. The novel vasoactive hormone, adrenomedullin, inhibits water drinking in the rat. *Endocrinology* 1995;136:2459-63.
59. Samson W K, Murphy T C. Adrenomedullin inhibits salt appetite. *Endocrinology* 1997;138:613-616.
60. Takahashi H, Watanabe T X, Nishimura M, Nakanishi T, Sakamoto M, Yoshimura M, Komiyama Y, Masuda M, Murakami T. Centrally induced

vasopressor and sympathetic responses to a novel endogenous peptide, adrenomedullin, in anesthetized rats. *Am J Hypertens* 1994;7: 482-578.

61. Samson W K, Murphy T C, Resch Z T, Central Mechanisms For The Hypertensive Effects of Proadrenomedullin-Derived Peptides In Conscious Rats *Am J Physiol* 1998;274;R 1505-9.

62. Troughton R W, Frampton C M, Lewis L K, et al. Differing thresholds for modulatory effects of adrenomedullin infusion on haemodynamic and hormone responses to angiotensin II and adrenocorticotrophic hormone in healthy volunteers. *Clin Sci Lond* 2001;101(1):103–9.

63. Taylor M M, Bagley S L, Samson W K. Intermedin/adrenomedullin-2 acts within central nervous system to elevate blood pressure and inhibit food and water intake *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;288:R919-27.

64. Shan J, Krukoff T L, Intracerebroventricular Adrenomedullin Stimulates The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis, The Sympathetic Nervous System and Production of Hypothalamic Nitric Oxide, *J Neuroendocrin* 2001;13,975-84.

65. Parkes D G, May C N. ACTH-suppressive and vasodilator actions of adrenomedullin in conscious sheep. *J Neuroendocrinol* 1995;7:923-29.

66. Yokoi H, Arima H, Murase T, Kondo K, Iwasaki Y, Oiso Y. Intracerebroventricular injection of adrenomedullin inhibits vasopressin release in conscious rats. *Neurosci Lett* 1996;216:65-7.

67. Shimokubo T, Sakata J, Kitamura K, Kangawa K, Matsuo H, Eto T Augmented adrenomedullin concentrations in right ventricle and plasma of experimental pulmonary hypertension. *Life Sci* 1995;57:1771–79.

68. Ohbayashi H, Suito H, Yoshida N, et al. Adrenomedullin inhibits albumin-induced bronchoconstriction and airway microvascular leakage in guinea pigs. *Eur Resp J* 1999;14:1076–81.

69. Fukuda K, Tsukada H, Oya M, Onomura M, Kodama M, Nakamura H, Hosokawa M, Seino Y. Adrenomedullin promotes epithelial restitution of rat and human gastric mucosa in vitro. *Peptides* 1999;20:127–32.

70. Kaneko H, Mitsuma T, Nagai H, et al. Central action of adrenomedullin to prevent ethanol-induced gastric injury through vagal pathways in rats. *Am J Physiol* 1998;274:R1783–8.

71. Macri C, Loup D, McHale M, Jacobs R, Bales L, Sundborg M, Armstrong A, Gehlbach D, Mitchell A, Nelson M, Miller M J, Martinez A, Cuttitta F, Gray K Adrenomedullin is widely expressed throughout normal and abnormal

reproductive tissues of women - evidence for cyclic regulation. In: Martinez A, Cuttitta F (eds) Adrenomedullin. IOS Press, Amsterdam, 1998;pp 207–48.

72. Upton P D, Austin C, Taylor G M, et al. Expression of ADM and its binding sites in the rat uterus: increased number of binding sites and ADM messenger ribonucleic acid in 20-day pregnant rats compared with nonpregnant rats. *Endocrinology* 1997;138:2508–14.

73. Marinoni E, Picca A, Scucchi L, Cosmi E V, Di Iorio R. Immunohistochemical localization of endothelin-1 in placenta and fetal membranes in term and preterm human pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1995;34:213–18.

74. Garayoa M, Bodegas E, Cuttitta F, Montuenga L M. Adrenomedullin in mammalian embryogenesis. *Microsc Res Technique* 2002;57:40–54.

75. Pio R, Martinez A, Elsasser T H, Cuttitta F. Presence of immunoreactive adrenomedullin in human and bovine milk. *Peptides* 2000;21:1859–63.

76. Allaker R P, Zihni C, Kapas S. An investigation into the antimicrobial effects of adrenomedullin on members of the skin, oral, respiratory tract and gut microflora. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999;23:289-93.

77. Walsh T J, Martinez A, Peter J, Unsworth E, Cuttitta F. Antimicrobial activity of adrenomedullin and its gene-related peptides. *Clin Infect Dis* 1996 ;23:96.

78. Allaker R P, Kapas S. Adrenomedullin and mucosal defence: interaction between host and microorganism. *Regul Pept* 2003;112:147–52.

79. Hippenstiel S, Witzernath M, Schmeck B, et al. Adrenomedullin reduces endothelial hyperpermeability. *Circ Res* 2002;91(7):618–25.

80. Yang S, Zhou M, Fowler D E, Wang P. Mechanisms of the beneficial effect of adrenomedullin and adrenomedullin-binding protein- 1 in sepsis: down-regulation of proinflammatory cytokines. *Crit Care Med* 2002;30:2729–35.

81. Betowski J, Jamroz A. Adrenomedullin – What Do We Know 10 Years Since Its Discovery? *Pol J Pharmacol* 2004;56,5-2.

82. Serrano J, Encinas J M, Fernandez A P, et al. Distribution of immunoreactivity for the adrenomedullin binding protein, complement factor H, in the rat brain. *Neuroscience* 2003;116 (4):947–62.

83. Charles C J., Rademaker M T, Richards A M, et al., Hemodynamic, Hormonal, and Renal Effects of Intracerebroventricular Adrenomedullin In Conscious Sheep *Endocrinology* 1998;139(4):1746–51.

84. Smith P M, Ferguson A V, Adrenomedullin Acts In The Rat Paraventricular Nucleus to Decrease Blood Pressure Journal of Neuroendocrinology 2001;13:467-71.
85. Brezenoff H E, Giuliano R, Cardiovascular Control By Cholinergic Mechanisms In The Central Nervous System Annu Rev Pharmacol Toxicol 1982;22:341-81.
86. Buyukcoskun N I, Gulec G, Ozluk K A, central link between angiotensinergic and cholinergic systems; role of vasopressin. Peptides 2001;22(9):1415-20.
87. Savci V, Cavun S, Goktalay G, Ulus I H, Cardiovascular Effects of Intracerebroventricularly Injected CDP-Choline In Normotensive and Hypotensive Animals: The Involvement of Cholinergic System, Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 2002;365(5):388-98.
88. Isbil-Buyukcoskun N, Gulec G. Effects of intracerebroventricularly injected glucagon-like peptide-1 on cardiovascular parameters; role of central cholinergic system and vasopressin. Regul Pept 2004;15:118(1-2):33-8
89. Hayakawa H, Hirata Y, Kakoki M, Role of Nitric Oxide–cGMP Pathway in Adrenomedullin-Induced Vasodilation in the Rat, Hypertension 1999;33:689-93.
90. Fan M X, Li X, Wang J, Cao Y X, Shen L L, Zhu D N, Effect of adrenomedullin on the activity of barosensitive neurons in the rostral ventrolateral medulla of rats. *Acta Physiologica Sinica* 2006;58 (3):193-200.
91. Xu Y and Krukoff T L. Adrenomedullin in the rostral ventrolateral medulla increases arterial pressure and heart rate: roles of glutamate and nitric oxide. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;287:R729–34.
92. Kaushik P P, Li Y F, Hirooka Y Role of Nitric Oxide in Central Sympathetic Outflow *Exp Biol Med* 2001;226(9):814–24.
93. Rees D D, Palmer R M J, Moncada S, Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure, *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1989;86:3375–78.
94. Toda N, Ayajiki K, Okamura T, Neural mechanism underlying basilar arterial constriction by intracisternal L-NNA in anesthetized dogs *Am J Physiol* 1993;265:H103–07.
95. Mollace V, DeFrancesco E A, Nistico G Evidence that pharmacological manipulations of central L-arginine–NO pathway influence blood pressure and heart rate in rats. *Neurosci Lett* 1992;13:787–90.

TEŞEKKÜR

Sayın anabilim dalı başkanımız Prof.Dr. Kasım ÖZLÜK'e ve bu çalışma konusunu bana öneren, bana her açıdan yol gösteren ve desteğini esirgemeyen sayın hocam ve değerli öğretim üyesi Prof.Dr. Naciye İŞBİL BÜYÜKCOŞKUN'a, Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine ve çalışanlarına, Uludağ Üniversitesi Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin tüm çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZGEÇMİŞ

On Dört Haziran 1977 tarihinde Diyarbakır'da doğdum. İlköğretime Kastamonu/Araç İlçesinde başladım, orta ve lise öğrenimimi Ordu/Akkuş ve Ünye Liseleri'nde tamamladım. 1994 yılında girdiğim Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 2000 yılında mezun oldum. Aynı yıl Ünye 1 No'lu Merkez Sağlık Ocağı'nda pratisyen hekim olarak göreve başladım. Görevime daha sonra Bursa Emek Sağlık Ocağı'nda devam ettim. 2003 yılı Ağustos ayında Uludağ Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi oldum. Evli ve iki çocuk annesiyim, İngilizce bilmekteyim.