

Nitrovazodilatörlerin Kardiyopulmoner Bypass Sırasında Nitrik Oksit - cGMP Yoluna Etkisi

Yrd. Doç. Dr. Bülent TUNERİR, Dr. Yavuz BEŞOĞUL, Dr. Turan YAVUZ,
Dr. Abdelmajeed AL-Eqaidat, Prof. Dr. Recep ARSLAN, Doç. Dr. Behçet SEVİN,
Prof. Dr. Tuğrul KURAL

Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Eskişehir

ÖZET

Bu çalışmada, kardiyopulmoner bypass (CPB) altında koroner arter bypass grefti (CABPG) operasyonu uygulanan olgulara preoperatif verilen nitrovazodilatörlerin nitrik oksit (NO) - cGMP yolu üzerine etkisini araştırmayı amaçladık.

Koroner arter bypass uygulanan 30 olgunun anginası olan 15'ine preoperatif isosorbiddinitrate verilip, nitrat grubu; anjinası olmayan 15 olgu ise nitratlı ilaçları kesilerek kontrol grubu olarak alındı. CPB öncesi ve sonunda sağ atriumdan alınan kan örneklerinde plazma cGMP seviyeleri araştırıldı. Her iki gruptaki olguların yaş, cinsiyet, ağırlık, aort kross klemp süresi ve CPB süresi arasında istatistiksel olarak fark yoktu.

*Nitrat grubunda CPB öncesi ortalama plazma cGMP seviyesi (5.760±0.572) pmol/ml, kontrol grubunda (2.780±0.366) pmol/ml, CPB sonrası ise nitrat grubunda (7.770±0.304) pmol/ml, kontrol grubunda (3.660±0.280) pmol/ml bulundu (p<0.001***).*

Her iki grupta da CPB sonrası ortalama plazma GMP seviyesi artarken, nitrat grubunda bu artış daha belirgindi (p<0.01). CPB bazal NO salınımına ve NO - cGMP yolu üzerine artırıcı etki yapmaktadır.

Anahtar kelimeler: Kardiyopulmoner by-pass, nitrik oksit, nitrovazodilatör, siklik guanilat-monofosfat.

Nitrik oksit (NO), multiple organ sistemlerinde fizyolojik işlevlerde geniş yer tutan yegane endojen moleküldür (1). Vasküler düz kas hücrelerinde, makrofajlarda ve endotelial hücrelerde oluşan NO, L-argininin NO sentaz enziminin katalizörlüğünde oksidasyonu ile sentezlenir (2,3). Vasküler tonus, miyokard kontraktilitesi, trombosit agregasyonu ve hücre proliferasyonu üzerine inhibitör etkiler yapar (1).

Açık kalp cerrahisinde kullanılan kardiyopulmoner by-pass (CPB) trombositler, nötrofiller, endotel hücreleri, makrofajlar, plazma protein sistemleri ve 25

kadar vazoaaktif maddenin içinde bulunduğu reaksiyonlar zincirini başlatır. Bu vazoaaktif maddelerden birisi olan bradikinin endotel hücrelerinde nitrik oksit (NO) salınımını stimüle eder (4,11).

Ruvola ve arkadaşları (5) sağ atriumdan alınan kan plazmasında nitrit konsantrasyonunun CPB esnasında ve CPB'den hemen sonra yükseldiğini göstermişlerdir. Hattler (15), CPB öncesi döneme göre kross klemp kaldırıldıktan sonraki dönemde koroner sinüs kanındaki NO konsantrasyonunda 40 kat artış bulmuştur.

NO, hem'e bağlı bir mekanizma ile guanilat siklazın aktivasyonunu sağlar ve cGMP konsantrasyonunda bir artışa neden olur. Bu yolla kardiyovasküler etkilerini gösterir (2).

Nitrogliserin ve organik nitrit grubu nitrovazodilatörlerin, NO salınımı sırasında etki gösterdikleri ve guanilat siklazı aktive ederek siklik guanilat monofosfat (cGMP) seviyelerinde artışla sonuçlandığı ileri sürülmüştür, daha sonra nitrogliserinin NO'e metabolize olduğu gösterilmiştir (6,7). Chung ve Fung (8) nitrogliserini NO'e çeviren plazma membran bağlayıcı enzimin varlığını ortaya çıkarmışlardır.

Çalışmamızda, CPB altında koroner arter bypass grefti (CABPG) uygulanan hastalara preoperatif verilen nitrovazodilatörlerin NO-cGMP yolu üzerine etkisini araştırmayı amaçladık.

MATERYEL ve METOD

CPB altında koroner bypass cerrahisi planlanan randomize edilmiş 30 olgunun 15'ine preoperatif 1 hafta süreyle peroral 4x10 mg isosorbiddinitrate verildi. Göğüs ağrısı olmayan 15 olgunun ise preoperatif en az 1 hafta önceden nitratlı ilaçları kesildi ve kontrol grubuna alındı.

Nitrat grubundaki olgularda yaş ortalaması 58 olup, yaşları 43-72 arasında değişmekteydi. Kontrol grubunda ise yaş ortalaması 55 idi ve 41-61 arasındaydı.

Alındığı tarih: 15 Haziran 1998, revizyon tarihi: 21 Eylül 1998
Yazışma adresi: Dr. Bülent Tünerir, Hasan Polatkan Bulvarı 122
D: 19 26120 Eskişehir, Türkiye
Tel: (90) 222 232 13 86 Faks: (90) 222 234 90 87 E-mail:
utunerir@akbank.com.tr.

Olguların yaş, cinsiyet, ağırlık, aort kross klemp süresi ve CPB süresi ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli fark yoktu (Tablo 1).

Tablo 1. Olguların özellikleri

Özellik	Nitrat Grubu	Kontrol Grubu
Hasta sayısı	15	15
Kadın	7	8
Erkek	8	7
Yaş ortalaması (yıl)	58 (43-72)	55 (41-51)
Ortalama Vücut ağırlığı	60 kg	62.4 kg
Ortalama Kross klemp süresi	90 dk	98 dk
Ortalama CPB süresi	145 dk	130 dk

Bütün olgular, NewYork Kalp Cemiyeti (NYHA) sınıflamasına göre fonksiyonel kapasiteleri III ve IV. gruptaydı. En az iki ve üzeri CABPG planlanan hastalar çalışmaya dahil edildi. Karaciğer fonksiyon bozukluğu ve diabetes mellitus bulunan hastalar çalışmaya alınmadı.

Olgulara "phentanyl" anestezisi uygulandı. Sternotomi ve perikardiotomi sonrası 5 mg/kg heparinizasyon uygulandı. ACT düzeyi 450 sn üzerine çıktıktan sonra kanülasyon yapıldı. Parsiyel bypass'a başlamadan önce sağ atriümden çalışma için kan örneği alındı. Kross klemp konularak, total bypass, orta dereceli hipotermi (28° C) uygulandı ve kristaloid soğuk kardiyopleji ile miyokardial koruma yapıldı. Koroner distal anastomozları yapıldıktan sonra kross klemp kaldırılıp miyokardial reperfüzyon sağlandı ve parsiyel bypass'ta greftlerin proksimal anastomozları yapıldı. CPB sonlandırıldıktan sonra çalışma için sağ atriümden ikinci kan örneği alındı.

Toplanan örnekler santrifüje edilip, plazması ayrıldı ve -20 °C'de ölçüm yapılına kadar dondurularak saklandı.

cGMP ölçümleri için "Biotrak cGMP EIA, system RPN 226" kiti kullanıldı. Okunan optik densite değerleri, standart eğri üzerinde cGMP konsantrasyonları pmol/ml olarak belirlendi.

İstatistiksel değerlendirmeler student "t" testi ve eşleştirilmiş "t" testi ile yapıldı.

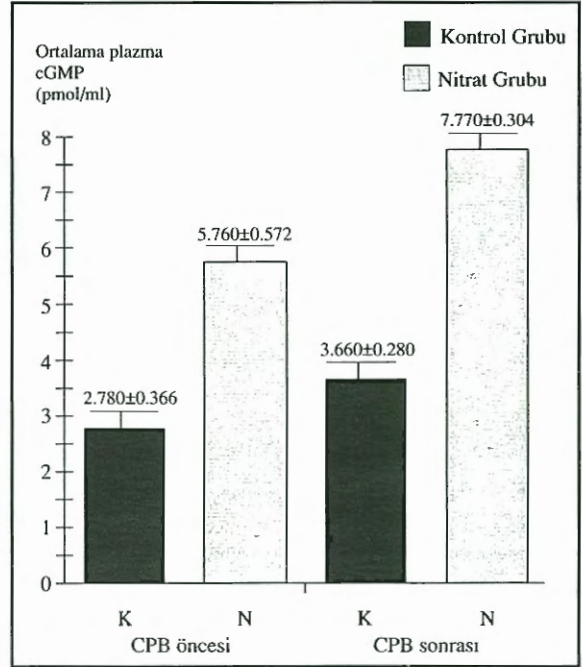
BULGULAR

Nitrat ve kontrol grubunda CPB'ya başlamadan önce alınan örneklerin ortalama cGMP seviyeleri, nitrat grubunda 5.76 ± 0.572 pmol/ml, kontrol grubunda ise 2.780 ± 0.366 pmol/ml ölçüldü (Şekil 1).

Preoperatif nitrat verilen olgularda CPB öncesi plazma cGMP seviyeleri yüksekti ($p<0.001$ ***).

Olguların CPB sonlandıktan sonra alınan örneklerde, nitrat grubunda ortalama plazma cGMP seviyesi

7.770 ± 0.304 pmol/ml iken kontrol grubunda 3.660 ± 0.380 pmol/ml ölçüldü (Şekil 1).



Şekil 1. Olguların ortalama plazma cGMP seviyeleri ve standart hata

Nitrat grubunda, CPB sonu plazma cGMP seviyeleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ($p<0.001$ ***).

Ayrıca araştırma ve kontrol olgularında CPB sonu plazma cGMP seviyesinde CPB öncesine göre artış olduğu, bu artışın nitrat grubunda daha belirgin olduğu görüldü ($p<0.01$). Postoperatif her iki grupta da mortalite görülmedi.

TARTIŞMA

NO, vasküler tonus, trombosit agregasyonu, miyokard kontraktilitesi ve vasküler hücre proliferasyonunu kapsayan kardiyovasküler sistemin çeşitli kısımlarında bir bütün olarak rol oynar (1). Kardiyak cerrahi uygulanan hastalar üzerinde bazı çalışmalar, insan miyokardının NO, üretimini göstermektedir (9,10).

Ruvola ve arkadaşları (5), CPB uygulanan 19 koroner arter hastasında, CPB'den 3 gün önce nitratlı ilaç tedavisini keserek, CPB öncesi ve sonrası sağ atriümden alınan kan örneklerinde nitrit seviyelerinin CPB'den hemen sonra yükseldiğini göstermişlerdir.

Fakat nitrit, NO üretimini ölçmek için kesin bir marker değildir. Kanda NO hemen nitrite okside olur ve bu da hızla nitrate dönüşür (2,11).

Sagni ve arkadaşları (12), çalışmalarında doku guanilat siklazının, NO aktivasyonunu yansıttığını kabul ederek, NO artışını ispat etmek için plazma idrarla atılımı vasküler NO sentezinin biyolojik bir marker'i olarak kabul edilmektedir (13). Yamada (14) desmopressin ve gliseril trinitrat verilmiş diabetli hastalarda NO'in hücrel bir "messenger"i olan plazma cGMP seviyelerinde önemli bir artış olduğunu kaydetmiştir.

Çalışmamızda plazma cGMP seviyesini, NO artışının bir kriteri olarak ele aldık.

Hastaların NO donörü olduğu bilinen nitrogliserin içeren değişik tedaviler almaları, normal NO bazal salınımı olup olmadığı konusunda tartışma yaratmaktadır (9). Nitrogliserin ve diğer nitrovazodilatörler, NO'e metabolize olarak fizyolojik etkilerini gösterirler. NO'in vasküler düz kaslardakine benzer şekilde guanilat siklaz aktivasyonu sonucu, cGMP'deki yükselmeye bağlı kardiyak miyozitlerde relaksasyon yaptığı ve miyokard kontraktilitesini deprese ettiği düşünülmektedir (15,16).

Preoperatif nitrat verilen olgularda CPB öncesi sağ atriumdan alınan kanda ortalama plazma cGMP seviyeleri yüksek bulundu.

CPB, bazı vazoaktif maddelerin salınımında artışa neden olur. Bunlardan bradikinin endotel hücrelerinde NO salınımını stimüle eder, oluşan NO, NO-cGMP yolunu hızlandırır (4).

Araştırmamızda kontrol grubunda CPB sonrası ortalama plazma cGMP seviyesinde artış görüldü. Nitrat verilen olgularda bu artışın daha belirgin olması nitrovazodilatörlerin bazal NO salınımını artırabileceğini göstermektedir.

Hattler ve arkadaşlarının (15) çalışması CPB'a alınan hastalarda kross klemp kaldırıldıktan sonra reperfüzyon ve miyokardial "stunning" in gösterildiği durumlarda NO üretiminde belirgin artış olduğunu göstermiştir.

Eksojen verilen NO ile miyokardial mekanik fonksiyonların postiskemik iyileşmesinde önemli artış ve koroner vasküler rezistansta düşüş görülmüştür. Aynı çalışmada NO inhibitörleriyle dokuda cGMP sevi-

yesinin önemli ölçüde düştüğünü, bazal NO üretiminin inhibe olduğunu tespit etmişlerdir (17).

Nitrogliserin, NO-cGMP yoluyla yükselmiş olan cGMP seviyesi vazorelaksasyon dönüşüm ve dokunun daha iyi perfüzyonunda etkili olur (18,19). Eksojen verilen NO, iskemik miyokard da hidroksil radikallerinin oluşumunu artırır, artmış olan bu hidroksil radikallerine rağmen NO'in iskemi sonrası reperfüzyonda ve miyokardiyal iyileşmede önemli rol oynadığı kabul edilmektedir (17,20,21).

NO donörleri, domuzun kardiyak miyozitlerine verildiğinde miyokard kontraktilitesinde depresyon görülmüştür. Buna rağmen CPB uygulanan hastaların miyokardında NO üretiminin miyokardiyal depressan rolü kontrollü invitro deneylerdeki kadar iyi tanımlanamamıştır (15).

Sonuç olarak, CPB, bazal NO salınımına ve NO-cGMP yolu üzerine arttırıcı etki yapmaktadır. Bu etki preoperatif verilen nitratlarla daha belirgin olmaktadır. NO-cGMP yolunun ise iskemi, reperfüzyon ve miyokardiyal stunning üzerindeki etkilerinin tam olarak aydınlatılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Marletta MA, Yoon PS, Lyengar R: Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: Nitric oxide is an intermediate. *Biochemistry* 1988; 27: 8706-8711
2. Champe PC, Harvey RA: *Biochemistry, Lippincott's Illustrated Reviews* (Biyokimya, Çev: Esmâ Gür, 2. baskı Nobel tıp kitabevleri Ltd Şti., İstanbul 1997
3. Stuehr DJ, Griff OW: Mammalian nitric oxide synthases. *Adv. Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1992; 65: 287-346
4. Pang LM, Stalcup SA, Lipset GS, Hayes CJ, Bowman FO, Mellins RB: Increased circulating bradykinin during hypothermia and cardiopulmonary bypass in children. *Circulation* 1979; 60: 1503-7
5. Ruvola G, Greco E, Speziale G, Tritapepe L, Marino B, Mollace V, Nistica G: Nitric oxide formation during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1994; 57 (4): 1055-7
6. Welch G, Loscalzo J: Nitric oxide and cardiovascular system. *J Card Surg* 1994; 9: 361-371
7. Stamler JS, Singel DJ, Loscalzo J: Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science* 1992; 258: 1898-1902
8. Fung HL, Chung SJ, Baver JA: Biochemical mechanism of organic nitrate action. *Am J Cardiol* 1992; 70: 4B-10B

9. Ignarro LJ, Lippton H, Edwards JC: Mechanisms of vascular smooth muscle relaxation by organic nitrates, nitrites, nitroprusside and nitric oxide: Evidence for the involvement of S-nitrosothiols as active intermediates. *J Pharm Exp Ther.* 1981; 218: 739-741
10. Tahey MA, Marletta MA: Macrophage oxidation of L-arginine to nitric oxide, nitrite, and nitrate. Tetrahydrobiopterin is required as a cofactor. *J Biol Chem* 1989; 264: 19654-19658
11. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology, *Pharmacol Rev.* 1991; 43: 109-142
12. Sogni P, Moreau R, Ohsuga M, et al: Evidence for a normal nitric oxide-mediated vasodilator tone in conscious rats with cirrhosis. *Hepatology* 1992; 16: 980-983
13. Lohmann SM, Fischmeister R, Walter U: Signal transduction by cGMP in heart. *Basic Res Cardiol* 1991; 86:504-514
14. Yamada K, Nakano H, Nakayama M, et al: Endothelium-dependent relaxation in peripheral vasculature and kidney of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Diabetes complications* 1995; 9 (4): 203-7
15. Hattler BG, Gorcsan J, Shah N, et al: A potential role for nitric oxide in myocardial stunning. *J Card Surg* 1994; 9 (suppl): 425-429
16. Nathan C: Nitric oxide as a secretory product mammalian cells. *FASEB J.* 1992; 6: 3051-3064
17. Wanna FS, Obayashi DY, Young N, DeCampi WM: Simultaneous manipulation of the nitric oxide and prostanoid pathways reduces myocardial reperfusion injury. *J Thor Cardiovas Surg* 1995; 110: 1054-1062
18. Ignarro L: Haem-dependent activation of guanylate cyclase and cyclic GMP formation by endogenous nitric oxide: a unique transduction mechanism for transcellular signaling. *Pharmacol Oxicol* 1990; 67: 1-7
19. Feelish M, Noack E: Correlation between nitric oxide formation during degradation of organic nitrates and activation of guanylate cyclase. *Eur J Pharmacol* 1987; 139: 19-30
20. Badylak S, Babbs C: Protection from reperfusion injury in the isolated rat heart by postischaemic deferoxamine and oxypurinol administration. *Cardiovasc Res* 1987; 21: 500-506
21. Lesnefsky E, Hirowitz L: Deferoxamine pretreatment reduces canine infarct size and oxidative injury. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 253: 1103-9