

SOLUNUMUN ADENOZİN İLE BASKILANMASINDA HİPERKAPNİYE KARŞI SOLUNUMSAL CEVABIN İNCELENMESİ*

Günfer TURGUT, Tülin ORUÇ

Background and Design.- Ventilatory response to sustained (>30 minutes) hypoxia is biphasic in humans and experimental animals. A brisk initial increase in ventilation is followed by a decline that is thought to be of central origin and has been termed "hypoxic depression". Results of several studies have suggested that concentration of adenosine within the brain increases as a result of hypoxemia and adenosine could therefore play a key role in mediation of hypoxic depression. The purpose of the present study was to produce a state of inhibition in the respiratory centers by adenosine administration (i.c.v.) and to examine the respiratory response to hypercapnia. The experiments were carried out in six peripheral chemodenervated vagotomized cats under pentothal anesthesia. For i.c.v. injections of adenosine in each animal, canula was placed in left lateral cerebral ventricle by stereotaxic method. Animals were allowed to breath air and hypercapnic (5.8% CO₂-air) gas mixtures before and after i.c.v. adenosine administration. Respiratory frequency (f), tidal volume (TV), arterial blood pressure were recorded. Respiratory minute volume (VE) and the mean arterial pressure were calculated. At the end of each experimental phase pO₂, pCO₂, pH were measured in arterial blood samples.

Results.- When chemodenervated vagotomized animals were allowed to breath the hypercapnic gas mixture before adenosine administration VT and VE increased significantly (p<0.05, p<0.01). When adenosine was administered to the animals the VT and consequently VE decreased during air breathing (p<0.01, p<0.05). On breathing of hypercapnic gas mixture following adenosine administration VT and VE were increased (p<0.001, p<0.001). The respiratory response of the chemodenervated vagotomized animals to hypercapnia after adenosine administration was found to be as same as that before adenosine administration.

Conclusion.- The results of this study show that adenosine acts as a central depressant of respiration during air breathing. However respiratory centers the activity of which are depressed by adenosine in normoxia can still respond to hypercapnia.

Turgut G, Oruç T. Respiratory response to hypercapnia during depression of respiration by adenosine. *Cerrahpaşa J Med* 1998; 29 (2): 79-83.

GİRİŞ ▲

Uzun süreli hipoksiye solunumsal cevabın deney hayvanlarında ve insanlarda bifazik olduğu saptanmıştır.^{1,2} Hipoksi solunumu esnasında solunumda başlangıçta bir artış, daha sonra 15 ile 30 dakika içinde "hipoksik depresyon" veya "roll-off" olarak adlandırılan bir azalma meydana gelmektedir.^{1,2} Başlangıçta meydana gelen solunumsal artış periferik kemoreseptörlerin uyarılmasına bağlanırken, devam eden süreç içinde oluşan hipoksik depresyonun santral orijinli olduğu ve yavaş nörokimyasal olaylarla meydana geldiği belirtilmektedir.³ Uzun süreli hipoksi sırasında beyinde Adenozin,⁴ y-aminobütirik asid,⁵ prostaglandin,⁶ endorfin⁷ gibi nörokimyasal maddelerin biriktiği saptanmıştır. Ayrıca, hipoksik depresyondan beyinde biriken Adenozin'in sorumlu olduğunu gösteren araştırmalar vardır.⁸⁻¹⁰ Adenozin'in beyindeki birçok nöronlarda spontan aktiviteyi inhibe ettiği ileri sürülmektedir.¹¹

Diğer taraftan uzun süreli hipokside solunum merkezlerinde oluşan nörokimyasal olaylar sonucunda solunum merkezlerinin periferik kemoreseptörlerden gelen impulslara cevap

vermediği ancak, bu koşullarda hiperkapniye karşı solunumsal cevabın devam ettiği gösterilmiştir.¹² Biz bu çalışmamızda Adenozin'in hipoksik depresyondan sorumlu olabileceğini gözönüne alarak intraserebroventriküler (i.c.v.) Adenozin uygulaması ile solunum depresyonu yaratmayı ve deprese durumdaki solunum merkezlerinin hiperkapniye (santral kemoreseptörlerden gelen impulslara) cevabında bir değişiklik olup olmadığını incelemeyi amaçladık. Periferik kemodenerve ve vagotomize deney hayvanlarında i.c.v. Adenozin uygulaması öncesi ve sonrasında hiperkapniye karşı meydana gelen solunumsal cevabı inceledik.

YÖNTEM VE GEREÇLER ▲

Araştırmamızda ağırlıkları 1250-4000 gr arasında değişen 6 sağlıklı erişkin kedi kullanıldı. Deney hayvanlarına sodyum tiyopenton (30 mg/kg İ.P.) ile anestezi uygulandı. Anestezi uygulanan kedilere trakeal kanül takıldı. Bilateral A. Carotis'ler ve sağ V. Jugularis izole edilip kanül yerleştirildi. Ameliyat esnasında olabilecek trombozları engellemek ve kanüllerin tıkanmasını önlemek amacıyla 1000 ünite/kg i.v. Heparin V. Jugularis yoluyla verildi. A. Carotis Communis'in bifurkasyon bölgesi bilateral olarak izole edildi ve bifurkasyon bölgesinin çevresi haraplanarak N. Carotis kesildi. Kemoreseptörleri tamamen ortadan kaldırmak amacıyla A. Carotis Communis'in bifurkasyon bölgesine önce alkol sonra fenol sürülerek bol fizyolojik serum ile yıkandı. Kemodenerve'nin tam olarak gerçekleşip gerçekleşmediği 40 mg/kg i.v. sodyum siyanür enjeksiyonuna solunumsal cevap alınmaması suretiyle denetlendi. Vagotomi işleminde ise bilateral olarak N. Vagus izole edildi ve orta servikal bölgeden kesildi.

Stereotaksik yöntem ile sol lateral ventriküle i.c.v. kanül takılması amacıyla deney hayvanının kafatası dış kulak yolundan stereotaksi aletine fikse edildi. Kafatası derisi gözler hizasından esneye kadar kesildi ve üzerindeki periost sıyrıldı. Stereotaksi atlasına¹³ bakılarak sol lateral ventrikülün en geniş alan ile gösterildiği nokta tespit edilerek dişçi turu ile kafatası delindi. Takılacak olan kanülün sağlamlaştırılması amacı ile kafatasına (delinen noktanın yaklaşık 2 cm uzağına) bir vida takıldı. Stereotaksi aletine takılı olan kanül stereotaksi atlasındaki¹³ koordinatlara uygun olarak belirli mesafe ilerletildi. Bu şekilde kanül sol lateral ventrikül içerisine yerleştirildi. Kanülü sabitlemek için, kanülün çevresi akrilik çimento (Croform acrylic powder + soğuk likid) ile sıvandı. Bu sıvama işlemi kafatası üzerine takılı olan vidayı ve kafatasının bir kısmını kapsayacak şekilde çevreye doğru genişletildi. Akrilik çimento kuruyup sertleşinceye kadar bir süre beklendi.

Deney hayvanlarının 20 dakika süre ile hava ve 3 dakika süre ile hiperkapnik gaz karışımı (%5,8 CO₂-Hava) solumalan sırasında hacmi (VT), soluk frekansı (f) ve sistemik arteriyel basınç kaydedildi. Aynı işlem i.c.v. Adenozin enjeksiyonundan sonra tekrarlandı. Adenozin (E. Merck) enjeksiyonu i.c.v. kanül aracılığıyla Hamilton enjektörü (100 µl Hamilton 710 series syringe) ile 100-120 µg/kg dozunda 60 µl'yi geçmeyecek şekilde yapıldı. Soluk hacmi, soluk frekansı ve sistemik arteriyel basınç Grass Model 7 Polygraph'ında kaydedildi. Kaydedilen parametrelerden solunum dakika hacmi (VE) ve ortalama arteriyel basınç (OAB) hesaplandı. Ayrıca gerek Adenozin enjeksiyonundan önce gerekse sonra hava ve hiperkapni fazlarının sonunda alınan arteriyel kan örneklerinde pO₂, pCO₂ ve pH tayin edildi.

Deney sonrası kontrol amaçlı olarak i.c.v. kanülden 1/10 N HCl verilerek solunum parametrelerindeki artış gözlemlendikten sonra, i.c.v. kanülden son olarak metilen mavisi verilerek kraniotomi yapıldı. Serebrum orta hattan ikiye ayrıldı ve metilen mavisinin ventrikülde olduğu görüldü.

Adenozin uygulanması öncesi ve sonrası hiperkapnik gaz karışımı solunumu sırasındaki elde edilen değerler, prehiperkapnik hava fazındaki değerlerle karşılaştırıldı.

İstatistiksel analiz "küçük eşlendirilmiş dizilerde t testi" ile yapıldı.

BULGULAR ▲

Adenozin uygulamasından önce hiperkapnik gaz karışımı solutulmasında VT, VE ve OAB'nin prehiperkapnik hava fazına göre anlamlı olarak arttığı (p<0,05, p<0,01, p<0,01), f'deki artışın ise anlamlı olmadığı saptanmıştır (Tablo I).

Tablo I. Adenosin Uygulamasını (i.c.v.) Öncesi ve Sonrası Hava ve Hiperkapnik Gaz Karışımı Solunması Sırasında Solunum Parametreleri ve OAB değerleri (M±SE)

	VT (ml)	f (1/dk.)	VE (ml)	OAB (mmHg)
HAVA (n=6)	48.15±1.93	18.00±3.54	860.04±171.13	128.60±15.33
HİPERKAPNİ (n=6)	77.57±7.38	18.50±3.87	1392.24±258.54	151.66±14.29
HAVA (n=11)	49.09±2.19	16.87±3.03	839.53±158.97	102.50±5.75
ADENOSİN+HAVA (n=11)	32.12±3.98	16.37±2.80	459.92±50.81	115.83±8.57
ADENOSİN+HİPERKAPNİ (n=11)	65.93±4.11	19.27±1.81	1259.81±137.73	138.48±6.46

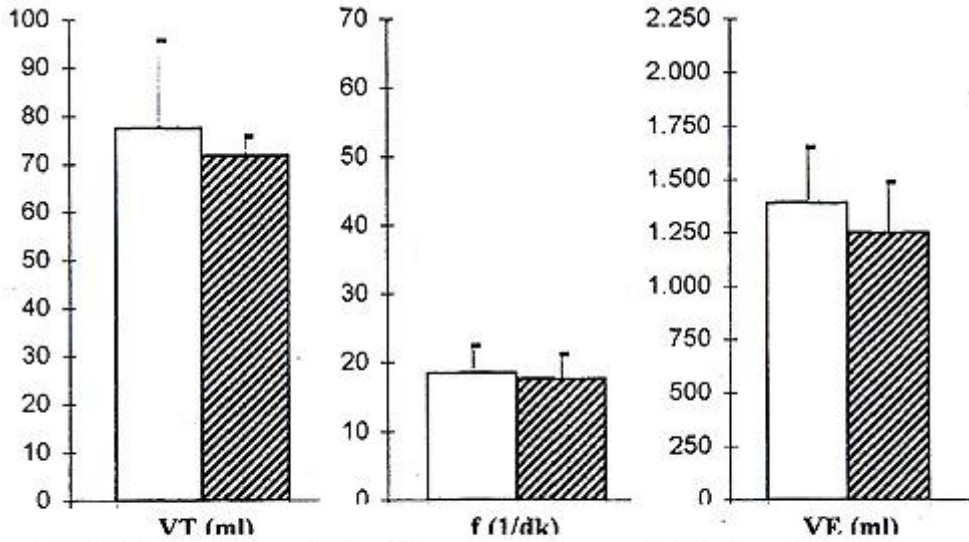
* Bir önceki faza oranla değışikliğin anlamlı olduğunu göstermektedir.

* p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

Hava solunumu sırasında Adenosin uygulamasını (i.c.v.) ile, Adenosin öncesine göre VT ve VE'nin anlamlı olarak azaldığı (p<0,01, p<0,05), f'deki azalmanın ve OAB'deki artışın ise anlamlı olmadığı saptanmıştır (Tablo I).

Bu koşullarda Adenosin uygulamasını (i.c.v.) ile birlikte hiperkapnik gaz karışımı solutulduğunda VT, VE ve OAB'nin anlamlı olarak arttığı (p<0,001, p<0,01), f'nin ise anlamlı bir değışiklik göstermediği saptanmıştır (Tablo I).

Adenosin öncesi hiperkapnik gaz karışımı solunması esnasındaki VT, f, VE değerleriyle Adenosin uygulamasını sonrası hiperkapnik gaz karışımı solunumu sırasındaki VT, f, VE değerleri karşılaştırıldığında arada istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Adenosin öncesinde ve adenosin uygulamasında hiperkapnik gaz karışımı solunması sırasında solunum parametreleri değerleri (M±SE)

İçer boş sütunlar: Adenosin (i.c.v.) öncesi

İçer taraflı sütunlar: Adenosin (i.c.v.) uygulaması

Her fazın sonunda alınan arteriyel kan örneklerinde pO₂, pCO₂ ve pH'nin değerleri Tablo II'de verilmiştir. Adenosin öncesi ve sonrası hiperkapnik gaz karışımı solunmasında pO₂ ve pCO₂'nin yükseldiği gözlenmiştir.

Tablo II. Belirtilen Fazlarda Kan Gazı Değerleri (M±SE)

	pO ₂ (mm Hg)	pCO ₂ (mm Hg)	pH
HAVA	85.63±3.68	39.40±2.10	7.25±0.03
HİPERKAPNİ	106.30±6.58	65.90±2.55	7.13±0.03
HAVA	83.65±0.65	43.05±4.85	7.24±0.05
ADENOSİN+HAVA	82.88±2.08	44.90±1.38	7.23±0.02
ADENOSİN+ HİPERKAPNİ	107.70±4.10	64.50±2.95	7.14±0.01

TARTIŞMA ▲

Bulgularımızda kemodenerve vagotomize deney hayvanlarında Adenozin uygulaması öncesi hiperkapnik gaz karışımı solutulduğunda VT ve VE'de anlamlı bir artış meydana gelmektedir. Bu santral kemoreseptörlerin CO₂ ile uyarılmasına bağlıdır.¹⁴ Hava solunumu sırasında i.c.v. olarak sol lateral ventriküle Adenozin verildiğinde ise bu deney hayvanlarında solunumda bir baskılanma meydana geldiğini saptadık. Bulgularımız solunumdaki bu baskılanmanın soluk hacmindeki azalma sonucu ortaya çıktığını göstermektedir. Bulgularımızda eksojen yoldan uygulanan Adenozin ile soluk frekansında herhangi bir değişiklik saptanmamıştır. Bu bulgumuza dayanarak Adenozin'in soluk hacmi ile ilgili santral mekanizmaları deprese ettiği sonucuna varabiliriz. Nitekim uzun süreli hipoksi uygulaması ile yapılan çalışmalarda meydana gelen hipoksik depresyonun tamamen veya çok büyük ölçüde¹⁵ soluk hacmindeki azalmaya bağlı olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızda i.c.v. Adenozin uygulamasıyla oluşan solunum faaliyeti azalmasının Adenozin'in meydana getirdiği serebral kan akımı değişikliklerine bağlı olarak meydana geldiği iddia edilebilir. Bilindiği gibi Adenozin serebral vasodilatördür¹⁶ ve bu etkisiyle serebral kan akımını artırabileceği, bunun neticesi olarak beyin interstisyel sıvısında pCO₂'yi azaltarak solunum depresyonuna neden olabileceği iddia edilebilir. Çalışmamızda beyin kan akımı ve serebrospinal sıvı pCO₂ ve pH değerleri ölçülmedi ise de phenylisopropyl Adenozin (PIA) ile yapılan çalışmalar beyin ekstrasellüler sıvı pH'nının metabolik asidoza kaydığı durumlarda da solunum depresyonunun meydana geldiğini göstermiştir.⁷ Bu nedenle bizim çalışmamızda da solunumsal depresyonu beyin kan akımı değişikliklerine bağlamak doğru olmaz. Solunumsal depresyonun etkileri olarak ileri sürülen Adenozin'in bu depresör etkisinin A1 reseptörleri aracılığıyla olabileceği ileri sürülmüştür.⁸ Bu nedendir ki, bulgularımızda Adenozin'le saptadığımız solunum depresyonunu Adenozin'in yüksek afiniteli, inhibitör nitelikteki ekstrasellüler A1 reseptörleri aracılığıyla meydana getirdiğini düşünmekteyiz.

Adenozin uygulayarak solunumda bir inhibisyon oluşturduktan sonra Adenozin uygulamasıyla birlikte hiperkapnik gaz karışımı solutulduğunda büyük ölçüde soluk hacmindeki artışa bağlı olarak solunum dakika hacminin arttığı saptandı. Adenozin uygulaması öncesi ve sonrası hiperkapnik gaz karışımı solunumu sırasındaki solunum parametreleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında da arada anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu bulgumuzdan eksojen Adenozin uygulamasıyla meydana getirilen solunum baskılanmasının hiperkapniye karşı meydana gelen solunumsal cevabı etkilemediği anlaşılmaktadır.

Adenozin uygulaması ile hiperkapnide elde ettiğimiz bulgular Adenozin'in normoksik koşullarda solunum merkezlerini inhibe ettiğini ancak, inhibisyon durumundaki solunum merkezlerinin santral kemoreseptörlerden gelen impulslara cevap verdiğini göstermektedir.

Uzun süreli hipokside meydana gelen solunumsal baskılanma durumunda CO₂'e solunumsal cevapta bir değişiklik olmadığını gösteren bulgularımızı destekler yönde araştırmalar vardır.^{12,17} Nitekim hipoksik kan ile beynin perfüzyonuyla oluşturulan solunumun santral depresyonunda da CO₂'e karşı solunumsal cevabın etkilenmediği bildirilmiştir.¹⁸ Diğer taraftan, insanlarda da 25 dakikalık hipoksi solutulmasıyla hipoksik depresyon gözlemlenirken, 5 dakika süreyle hiperkapni solutulduğunda hiperkapnik cevabın etkilenmediği saptanmıştır.¹⁹ Bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde, solunumsal depresyona neden olan inhibitör uzun süreli nöromodülatörün ya CO₂'e cevap veren nöronların civarında biriktiği halde bu nöronların cevabını etkilemediği, yada başka yerlerde biriktiği sonucuna varılmıştır.^{3,17} Bizim bulgularımızda da solunumsal depresyonun etkileri olduğu iddia edilen Adenozin eksojen olarak uygulanarak solunum depresyonu yaratıldıktan sonra CO₂'e karşı solunumsal cevabın Adenozin uygulaması öncesine göre farklılık göstermemesi diğer çalışmalarını destekler yöndedir.

Sonuç olarak bulgularımız uzun süreli hipokside beyinde oluşan Adenozin'in hiperkapniye karşı oluşan solunumsal cevabını inhibe etmediğini göstermektedir. Adenozin normokside santral yoldan solunum depresyonu meydana getirdiği halde, bu koşullarda solunum merkezlerinin santral kemoreseptörlerden gelen impulslara cevabında bir azalma olmamaktadır.

ÖZET ▲

İnsanda ve deney hayvanlarında gerek izokapnik gerekse polikilokapnik uzun süreli hipoksiye karşı solunumsal cevap bifaziktir. Ventilasyonda ilk 5 dakika artış, sonra azalma meydana gelir. Hipoksik depresyon adı verilen ventilasyondaki azalmadan beyinde biriken Adenozin sorumlu tutulmuştur. Bu çalışmada anestezi altındaki (pentotal-Na 30 mg/kg İ.P.) kemodenerve vagotomize 6 kedide intraserebroventriküler (i.c.v.) Adenozin (100-120 µg/kg i.c.v.) uygulaması ile oluşturulan solunum depresyonunda hiperkapniye karşı solunumsal cevap soluk hacmi (VT) ve soluk frekansı (f) kaydedilerek incelendi. Solunum dakika hacmi (VE) hesaplandı. Adenozin uygulamasından önce hiperkapnik gaz karışımı (%5,8 CO₂-Hava) solutulmasında VT'nin ve VE'nin anlamlı (p<0,05, p<0,01) olarak arttığı saptanmıştır. Adenozin uygulamasında (i.c.v.) hava solunumu sırasında VT ve VE'de anlamlı (p<0,01, p<0,05) azalma saptanmıştır. Bu koşullarda i.c.v. Adenozin uygulaması ile birlikte hiperkapnik gaz karışımı solutulduğunda VT ve VE'de anlamlı (p<0,001) artışlar saptandı. Adenozin uygulaması öncesi ve sonrası hiperkapnik gaz karışımı solunması esnasındaki VT, f, VE değerleri karşılaştırıldığında arada anlamlı fark bulunmamıştır. Bulgularımız uzun süreli hipokside beyinde oluşan Adenozinin hiperkapniye karşı oluşan solunumsal cevabını inhibe etmediğini göstermektedir.

KAYNAKLAR ▲

1. Easton PA, Slykerman LJ, Anthonisen NR. Ventilatory response to sustained hypoxia in normal adults. *J Appl Physiol* 1986;61:906-911.
2. Kagawa S, Stafford MJ, Waggener TB, Severinghaus JW. No effect of naloxone on hypoxia-induced ventilatory depression in adults. *J Appl Physiol* 1982; 52: 1030-1034.
3. Vizek M, Pickeet CK, Weil JV. Biphasic ventilatory response of adult cats to sustained hypoxia has central origin. *J Appl Physiol* 1987; 63: 1658-1664.
4. Winn HR, Rubio R, Berne RM. Brain Adenozine concentration during hypoxia in rats. *Am J Physiol* 1981; 241: 235-242.
5. Iversen K, Hedner T, Lundborg P. GABA concentrations and turn-over in neonatal rat brain during asphyxia and recovery. *Acta Physiol Scand* 1983; 118: 91-94.

6. Kitterman JA, Liggins GC, Clements JA, Tooley WH. Stimulation of breathing Adenosine. Brain Res 1984; 301: 273-280.
7. Eldridge FL, Millhorn DE, Kiley JP. Respiratory effect of a long-acting analog of Adenosine. Brain Res 1984; 301: 273-280.
8. Eldridge FL, Millhorn DE, Kiley JP. Antagonism by theophylline of respiratory inhibition induced by Adenosine. J Appl Physiol 1985; 59: 1428-1433.
9. Karaturan N, Turgut G, Şahin G, Oruç T. Response of respiratory control mechanisms to isocapnic sustained moderate hypoxia. The Europ Journal Vol. 9 suppl 1996; 23: 47.
10. Koos BJ, Doaney W. Role of plasma Adenosine in breathing responses to hypoxia in fetal sheep. J Dev Physiol 1991; 16: 81-85.
11. Phillis JW, Wu PH. The role of Adenosine and its nucleotides in cenral synaptic transmission. Progr Neurobil 1981; 16: 187-239.
12. Long WD, Lohchuk D, Anthonisen NR. Ventilatory responses to CO₂ and hypoxia after sustained hypoxia in awake cats. J Appl Physiol 1994; 76: 2262-2266.
13. Snider RS, Niemer WT. A Sterotaxic Atlas of The Cat Brain. Chicago, The University of Chicago Press, 1985;13.
14. Cherniack NS, Edelman NH, Lahiri S. Hypoxia and hypercapnia as respiratory stimulants and depressants. Respir Physiol 1971; 11: 113-126.
15. Blanco CE, Hanson MA, Johnson P, Rigatto H. Breathing pattern of kittens during hypoxia. J Appl Physiol 1984; 56: 12-17.
16. Wahl M, Kushinsky W. The dialatory action of Adenosine on pial arteries of cats and its inhibition by theophylline. Pfluegers Arch 1976; 362: 55-59.
17. Melton JE, Neubauer JA, Edelman NH. CO₂ sensitivity of cat phrenic neurogram during hypoxia respiratory depression. J Appl Physiol 1988; 65: 736-743.
18. Van Beek JHG, Berkenbosch A, Goede J, Olivier CN. Effects of brain stem hypoxemia on the regulation of brathing. Respir Physiol 1984; 57: 171-188.
19. Georgopoulos D, Walker S, Anthonisen NR. Effect of sustained hypoxia on ventilatory response to CO₂ in normal adults. J Appl Physiol 1990; 68: 891-896.

-
- Türkiye Solunum Araştırmaları Derneği 24. Ulusal Kongresi'nde sunulmuştur; *Anahtar Kelimeler:* Hipoksik depresyon, Adenozin, Hiperkapni; *Key Words:* Hypoxic depression, Adenosine, Hypercapnia; *Alındığı Tarih:* 19 Şubat 1998; Öğr. Gör. Dr. Günfer Turgut: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı; Prof. Dr. Tülin Oruç: İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı. *Yazışma Adresi (Address):* Dr. G. Turgut, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, 20200, Kınıklı, Denizli.