

164244

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KARVAKROLUN
KARDİYOVASKÜLER SİSTEM ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖZDEN KUTLAY

TEZ YÖNETİCİSİ
DOÇ. DR. YASEMİN AYDIN


EYLÜL - 2005

KABUL VE ONAY SAYFASI


Özden KUTLAY'ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı “**Karvakrolun Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkisi**” başlıklı bu çalışma, jürimiz Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.


06/10/2005


Prof. Dr. Ziya KAYGISIZ
ÜYE



Prof. Dr. Süleyman AYDIN
ÜYE


Prof. Dr. Kubilay UZUNER
ÜYE


Doç. Dr. Yasemin AYDIN
ÜYE


Doç. Dr. Nilüfer ERKASAP
ÜYE

Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 13.10.2005 gün ve 651/1961 sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. Ferruh YÜCEL
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

<u>İÇİNDEKİLER</u>	<u>SAYFA</u>
ÖZET	IV
SUMMARY	V
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Karvakrol	2
2.1.1. Karvakrol ile yapılan çalışmalar	5
2.2. Nitrik Oksit	9
2.2.1. Nitrik Oksitin yapısı ve fonksiyonları	9
2.2.2. Nitrik Oksit sentezi ve Nitrik Oksitin kardiovasküler homeostazdaki rolü	10
2.3. Kardiovasküler sistemin düzenleme mekanizmaları	16
2.3.1. Kan basıncı	16
2.3.2. Pulse basıncı	17
2.3.3. Ortalama kan basıncı	17
2.3.4. Lokal düzenlemeler	18
2.3.4.1. Otoregülasyon	18
2.3.4.2. Endotelden salınan maddeler	19
2.3.4.2.a. Endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF)	19
2.3.4.2.b. Endotelinler	19
2.3.5. Sistemik düzenleme	21
2.3.5.1. Sinirsel düzenleme	21

2.3.5.1.a. Kalbin innervasyonu	21
2.3.5.1.b. Kan damarlarının innervasyonu	21
2.3.5.2. Vazomotor kontrol	22
2.3.5.3. Kemoreseptörler	23
2.3.5.4. Baroreseptörler	23
2.3.5.5. Humoral düzenleme	24
2.3.5.5.a. Kininler	24
2.3.5.5.b. Natriüretik hormonlar	24
2.3.5.5.c Vazopressin	25
2.3.5.5.d. Angiotensin II	25
2.3.5.5.e. Dolaşımdaki diğer vazokonstriktörler	27
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	29
3.1. Deney hayvanları	29
3.2. Kullanılan madde ve aletler	29
3.2.1. Kullanılan kimyasal maddeler	29
3.2.2. Kullanılan araç ve gereçler	29
3.3. Cerrahi işlem ve deney protokolü	30
3.3.1. Anestezi ve operasyona hazırlık	30
3.3.2. Femoral arter ve ven kateterizasyonu	31
3.3.3. Deney protokolü	32
3.4. İstatistiksel değerlendirme	32
4. BULGULAR	34
4.1. Ortalama arteriyel kan basıncı (MAP)	34
4.2. Sistolik kan basıncı (SKB)	35
4.3. Diastolik kan basıncı (DKB)	36
4.4. Kalp atım hızı (KAH)	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	38
6. KAYNAKLAR	41

ÖZET

Son yıllarda, kekik uçucu yağının ana bileşeni olan terpenik özellikteki karvakrol antibakteriyal, antifungal, antioksidan, antitümoral ve analjezik özellikleri ile tıbbi kullanım açısından önem kazanmıştır. Bu çalışmada, karvakrolun sıçan sistolik basınç (SB), diyastolik basınç (DB), ortalama arteriyel kan basınçları (MAP) ile kalp hızı üzerine (KAH) in vivo etkilerini ve nitrik oksit ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Deneyle 35 adet Spraque Dawley erkek ve dişi sıçan (250 - 300 gr) kullanılarak 5 grupta yapılmıştır. Grup 1. Kontrol (n=7), Grup 2. DMSO (n=7), Grup 3.L-NAME (10 mg/kg) (n=7), Grup 4. Karvakrol (100µl/kg) (n=7), Grup 5. L-NAME + Karvakrol (n=7). Karvakrol DMSO içinde çözülerek intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Sıçanlar Romphun (10 mg/kg IM) + ketamin (50 mg/kg IM) ile anestezi edildikten sonra femoral arter ve ven kateterize edilerek, arter kateterine bağlı transdüser yardımıyla intra arteriel SB, DB, MAP ve KAH ölçülmüştür. Cerrahi operasyon sonrası 45 dk' lık stabilizasyon periyodundan sonra, L-NAME ve karvakrol uygulamaları yapılarak 2 saat kan basıncı ve kalp hızı kayıtları alınmıştır.

Sadece L-NAME verilen grupta SB, DB, MAP değerlerinde anlamlı artış, KAH da anlamlı düşüş gözlenmiştir. Yalnız karvakrol ve L-NAME + karvakrol verilen gruplarda SB, DB, MAP değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüştür. Ayrıca kalp hızlarında, karvakrol grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı, L-NAME + karvakrol grubunda ise L-NAME grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalmalar saptanmıştır.

Karvakrol 100µl/kg dozda hipotansiyon oluşturmaktadır. L-NAME verilmesine rağmen karvakrolun kan basıncını düşürmesi, hipotansif etkisinin nitrik oksitten bağımsız, olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Karvakrol, NO (Nitrik oksit), kardiyovasküler sistem, L-NAME, hipotansiyon.

SUMMARY

In recent years, terpenoid substance carvacrol, which is found in oil of oregano, has gained medical importance due to its antibacterial, antifungal, antioxidant, antitumoral and analgesic effects. In this study, we have studied in vivo effects of carvacrol on systolic pressure (SP), diastolic pressure (DP), mean arterial blood pressure (MAP) and heart rate (HR) of rats and how it reacts with nitric oxide.

Experiments were carried out using male and female thirty-five Sprague Dawley rats (250-300 gr) in five groups. Group 1. Control group (n=7). Group 2. DMSO (n=7), Group 3. L-NAME (10 mg/kg) (n=7), Group 4. Carvacrol (100µl/kg) (n=7) and Grup 5. L-NAME + Carvacrol (n=7) Carvacrol was dissolved in DMSO and given intraperitoneally. Rats were anesthetized via Romphun (10 mg/kg IM) plus ketamin (50 mg/kg IM). Femoral artery and vein were catheterized, and SP, DP, MAP and HR were measured using a pressure transducer connected to femoral artery. After stabilization period of 45 minutes, following post surgery, L-NAME and carvacrol were given subsequently and blood pressure and heart rate were continuous observed for two hours.

Only in L-NAME group SP, DP, MAP values showed significant increase, and HR showed significant decrease. In carvacrol and L-NAME +carvacrol group SP, DP, and MAP have shown statistically significant decrease. Heart rates were lower and statistically significant in the carvacrol group and lower but insignificant in the L-NAME + carvacrol group compered to L-NAME group.

In conclusion, 100µl/kg dosage of carvacrol causes hypotension. Since L-NAME does not block carvacrol induced decrease in the blood presure the hypotensive effects of carvacrol maybe independent of nitric oxide pathway.

Key words: Carvacrol, NO (nitric oxide), Cardiovascular system, L-NAME, hypotension

SİMGE VE KISALTMALAR

*ANP	Atrial natriüretik peptid
*CO ₂	Karbondioksit
*DKB	Diyastolik kan basıncı
*DB	Diyastolik basınç
*DMSO	Dimetil sülfoksit
*EDRF	Endothelial derived relaxing factor
*EDCF	Endotelyum türevi kasıcı faktörler.
*ET-1	Endotelin 1
*ET-2	Endotelin 2
*ET-3	Endotelin 3
*FDA	Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi
*GIS	Gastro intestinal sistem
*H ⁺	Hidrojen
*c(GMP)	Siklik guanozin monofosfat
*GTP	Guanozin trifosfat
*KAH	Kalp Atım Hızı
*K ⁺	Potasyum
*(L-NA)	N-nitro-L-arginin
*(L-NAME)	L-nitro-L-arginin metil ester
*(L-NMMA)	N-monometil-L-arginin
*MAP	Ortalama arteriyel kan basıncı
*MIC	Minimal inhibitör konsantrasyon
*NO	Nitrik oksit
*(eNOS)	Endotelial nitrik oksit sentaz
*(iNOS)	İndüklenen nitrik oksit sentaz
*(nNOS)	Nöronal nitrik oksit sentaz
*Na ⁺	Sodyum
*NO ₂	Nitrit

* NO ₃	Nitrat
*NOS	Nitrik Oksit Sentaz
*ONOO ⁻	Peroksinitrit
*SKB	Sistolik kan basıncı
*SB	Sistolik basınç
*SOD	Süperoksit dismutaz
*RAAS	Renin anjiotensin aldesteron sistemi
*VIC	Vazoaktif intestinal kofraktör
*VIP	Vazoaktif intestinal peptid



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil-1: Karvakrolun açık formülü

Şekil-2: L-argininden NO biyosentezi ve L-sitrülin geri dönüşümü

Şekil-3: Nitrik Oksit sentezi ve bunun fizyolojik etkileri

Şekil-4: EDRF(Endotelyum-Türevi gevşetici Faktörler) veya EDCF(Endotelyum-Türevi Kasıcı Faktörler) salınımını spesifik endotelial reseptör aktivasyonu yoluyla harekete geçiren nörohumoral mediatörler ve kimyasal ve fiziksel harekete geçirenler

Şekil- 5: Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi

Şekil 6: Kontrol, çözücü (DMSO), L-NAME, karvakrol ve L-NAME+karvakrol verilmiş sıçanlarda zamana bağlı ortalama arteriyel kan basıncı (MAP) değerleri.

Şekil 7: Kontrol, çözücü (DMSO), L-NAME, karvakrol ve L-NAME+karvakrol verilmiş sıçanlarda zamana bağlı ortalama sistolik kan basıncı (SKB) değerleri.

Şekil 8: Kontrol, çözücü (DMSO), L-NAME, karvakrol ve L-NAME+karvakrol verilmiş sıçanlarda zamana bağlı ortalama diastolik kan basıncı (DKB) değerleri.

Şekil 9: Kontrol, çözücü (DMSO), L-NAME, karvakrol ve L-NAME+karvakrol verilmiş sıçanlarda zamana bağlı ortalama kalp hızı (KAH) değerleri.

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo-1: Kekik yağının kompozisyonu

Tablo-2: Karvakrolun elde edildiği başlıca aromatik bitkiler

Tablo-3: NOS izoformları.



1. GİRİŞ VE AMAÇ:

Kekik hem baharat, hem ilaç olarak antik çağlardan beri yaygın olarak kullanılan bir bitkidir. Kekik adı ile kullanılan birden fazla bitki türü vardır. Bu bitkilerin ortak özellikleri başında timol ve karvakrol gibi karakteristik koku veren uçucu bileşenlere sahip olmaları gelmektedir.

Karvakrol, kekik ve birçok aromatik bitkinin uçucu yağ fraksiyonlarının doğal bir bileşenidir. Karvakrol yiyeceklerde kullanım açısından Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi' den (FDA) onay almıştır ve Avrupa konseyi karvakrolü kimyasal tatlandırıcılar listesinde B kategorisine dahil etmiştir. Karvakrole; 2-p-cymenol, 2-hydroxy-p-cymene, isopropyl-o-cresol, iso-thymol, 5-isopropyl-2-methylphenol adları da verilir. Moleküler formülü: $C_{10}H_{14}O$ dur (61).

Monoterpeneoid fenollerden olan karvakrol antibakteriyal, antifungal, antioksidan, antitümoral, analjezik, antispazmodik, antileishmanial (şark çıbanını önleyici), antialerjik ve insektisidal etkilerinden dolayı son yıllarda tıp, diş hekimliği, kozmetik, yiyecek endüstrisi ve tarım alanlarında kullanım açısından önem kazanmıştır (16, 18, 40, 56). Tarafımızca yapılan literatür taramaları sırasında karvakrolun antibakteriyal etkileri dışında, canlı sistem üzerindeki olası diğer etkilerinin fazlaca çalışılmamış olması dikkatimizi çekmiştir. Az sayıdaki çalışmaların birinde kobay trekeasında, karvakrolun oldukça güçlü bir relaksan etki göstermesi ve başka bir çalışmada ise karvakrolun kalsiyum kanal blokörü gibi davranması oldukça ilgi çekicidir.

İzole organ banyosu yöntemi ile çeşitli düz kas preparatları üzerine karvakrolun etkilerini araştıran kongre bildirilerinin de ışığında; bu konuda in vivo çalışmaların yok denecek kadar az olması özellikle de kardiyovasküler etkilerinin hiç çalışılmamış olması üzerine planladığımız çalışmamızda, karvakrolun kardiyovasküler etkilerini ve nitrik oksitin karvakrolun etkilerinde rolü olup olmadığını araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER:

2.1. KARVAKROL

Kekik çok eski çağlardan beri bilinen ve kullanılan bir bitkidir. Timol ve karvakrolden kaynaklanan ve kendine has kokusu olan bu bitki, bugün değişik kültürlerde kullanılmaktadır. Kekik adıyla bilinen bitkiler arasında Thymus, Coridothymus, Thymbra, Satureja ve Origanum cinslerine ait bitki türleri vardır. Bu bitki cinslerine ait tür sayıları hayli fazla olup endemizm oranları da oldukça yüksektir (10).

Neredeyse insanlık tarihi kadar eski bir kullanıma sahip olan kekiğin en çok bilinen ve kullanılan türü *Origanum onites L.*' dir. Bu tür, 'kekik' adıyla bilinir ve en yaygın kullanılan tür olmakla kalmamış, yurtdışında 'kekik' anlamına gelen 'oregano' adının da kaynağı olmuştur (10).

Yapılan bir analize göre; *O. Onites L.* uçucu yağının kalitatif ve kantitatif kompozisyonu tablo-1' de gösterilmiştir. Uçucu yağ; esas olarak karvakrol ve thymol gibi fenol bileşikleri ve bunların iki prekürsörü olan, α -terpinen ve p-simen gibi monoterpen hidrokarbonlarla karakterizedir (30).

Karvakrol; birçok aromatik bitkinin ve bunların uçucu yağ fraksiyonlarının doğal bir bileşenidir. Tablo-2 bu bitkileri göstermektedir (61). Tablo-2' de gösterilen bitkiler ve bunların esansiyel yağları, lezzet katması için çeşitli işlenmiş yiyecek maddelerine konur. Karvakrol; yiyeceklerde kullanım açısından FDA' dan onay almıştır. Avrupa konseyi karvakrolü kimyasal tatlandırıcılar listesinde B kategorisine dahil etmiştir. Buna göre karvakrol; içeceklere 2 ppm, şekerlemelere 25 ppm eklenebilir (61).

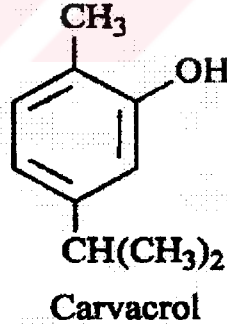
Tablo-1: *Origanum Onites L.* Uçucu Yağı İçindeki Bazı Ana Bileşenler (30)

1) KARVAKROL	% 65,91
2) TİMOL	% 3,64
3) P-SİMEN	% 3,24
4) LİNALOOL	% 14,84
5) α – TERPİNEN	% 0,5

Tablo-2: Karvakrolun elde edildiği başlıca aromatik bitkiler (61)

Bitkiler	Karvakrol(%)
<i>T.capitatus</i>	12.7-74.4
<i>T.vulgaris</i>	9-60
<i>T.serpyllum</i>	12-36.9
<i>T.zygis</i>	4.28-25
<i>S.hortensis</i>	1.2-44.0
<i>S.montana</i>	30-40
<i>O.dictamnus</i>	58.8-82.3
<i>O.majorana</i>	48.7

Karvakrole; 2-p-cymenol, 2-hydroxy-p-cymene, isopropyl-o-cresol, iso-thymol, 5-isopropyl-2-methylphenol adları da verilir. Moleküler formülü: $C_{10}H_{14}O$ dur (61).



Şekil-1: Karvakrolun açık formülü (61)

Karvakrol; asitler ile muamele edilerek karvon' dan hazırlanabilir, ayrıca kamfor'un iyot ile ısıtılmasıyla da elde edilebilir. Koyu renksiz bir yağ olarak oluşur, düşük bir ısıya kadar soğutulduğunda katılaşır. Timol kokusuna sahip bir sıvıdır. Buhar ile uçucudur. Karvakrol, pratikte suda çözünmez ama alkol ve eterde iyi çözünür. Donma noktası 0, 5 °C, kaynama noktası yaklaşık 240 °C' dir. Özgül ağırlığı 0, 980-0, 983' tür (37).

2.1.1 Karvakrol ile yapılan çalışmalar

Antioksidanlar yiyeceklerdeki lipit komponentlerin oksidasyonunu minimize ederler. Yiyeceklerin korunması için doğal veya sentetik antioksidanların kullanımına ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Bununla birlikte, bu bileşiklerin antioksidan ve prooksidan özellikleri açısından incelenmesi önemlidir. R. Aeschbach ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; demir (III) ve askorbat varlığında thymol, karvakrol, 6-gingerol ve hidroksityrosol'un fosfolipid lipozomlarının peroksidasyonlarını azalttığı ama zingerone'nin sistem üzerinde zayıf bir inhibitör etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bu bileşikler peroksil radikallerinin çok iyi temizleyicisidir. Bu veriler, sentetik antioksidan besin katkılarının yerini alacak doğal bileşik araştırmalarında önemli olabilir (1).

Timus türlerinden *T. spyleus subsp. sypleus var. rosulans* ile yapılan bir çalışmada bu türün uçucu yağlarının linoleik asid oksidasyonunu sentetik antioksidanlara çok yakın oranda inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu timus yağında %94 oranında monoterpenler mevcuttur ve bunun %58.1' i fenolik karvakroldür. Antioksidan aktiviteden bu monoterpen fraksiyonlar sorumlu tutulmaktadır (14).

Baharat ve şifalı bitkilerden elde edilen uçucu yağlardaki antimikrobiyal aktivitenin çoğundan sorumlu olanların fenolik bileşenler olduğu düşünülmektedir. Uçucu yağlardan elde edilen karvakrol, eugenol, linalool ve thymol gibi purifiye bileşenler; çeşitli mikroorganizmaları inhibe eder. Bagamboula ve arkadaşlarının timus uçucu yağı ve de onun majör bileşenleri timol, karvakrol ile yaptıkları çalışmada karvakrol ve timolun *Shigella sonnei* ve *S. flexneri* bakterileri üzerinde inhibitör etkilere sahip olduğunu göstermişlerdir (13).

Karvakrolun antimikrobiyal aktivitesi; üst solunum yolu enfeksiyonlarında rol alan bakterilerde de çeşitli metodlarla test edilmiştir. Bunların kombinasyonları da incelenmiştir. Sonuç olarak solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde karvakrolun tek başına veya kombinasyonlar (timol + karvakrol) halinde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (28). Aynı ekip tarafından yapılan bir başka çalışmada da timol, karvakrol,

cinnomaldehid ve eugenol olmak üzere dört bileşimin, sekiz oral bakteri üzerindeki inhibitör etkileri araştırılmıştır. Bu bileşiklerin tek tek ve ikili kombinasyonlar halinde önemli inhibitör etkileri saptanmıştır (27).

Doğal antimikrobiyal bir bileşik olan karvakrolun; *Bacillus cereus* tarafından üretilen diyerel toksinler üzerine etkileri araştırılmıştır. Karvakrolun *B.cereus*' un maksimal spesifik büyüme hızını azalttığı saptanmıştır. Total protein miktarının karvakrolden etkilenmediği belirlenmiştir. Bununla birlikte, 0.06 mg/ml karvakrol varlığında diyerel toksin üretiminde belirgin bir azalma (%80) gözlenmiştir. Karvakrol çorbada da toksin üretimini inhibe etmiştir ama et suyunda aynı etkinin görülebilmesi için yaklaşık 50 kat daha yüksek konsantrasyonlara ihtiyaç vardır. Bu çalışmaya göre şu sonuca varılabilir: Karvakrol yiyeceklere MIC (minimal inhibitör konsantrasyon) değerinin altındaki dozlarda eklenebilir. Böylece *B. cereus* tarafından toksin üretimi riski azaltılabilir ve ürünlerin güvenilirliği artırılabilir (56).

Karvakrolun ayrıca güçlü bir antifungal ve antispazmodik aktivite sergilediği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. S. Karaman ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, Türkiye'de endemik bir bitki olan *Thymus revolutus C*' nin çiçeklenen parçalarından elde edilen uçucu bileşenlerin kimyasal yapılarını analiz etmişlerdir. 22 bileşik saptamışlar ve yağda predominant bileşik olarak karvakrol bulmuşlardır. Uçucu yağlar daha sonra 11 bakteri ve 4 fungiye karşı farklı konsantrasyonlarda test edilmiştir. Sonuçlar; yağın belirgin bir antibakteriyel ve antifungal aktivite sergilediğini göstermiştir (16, 18, 40).

Murray B. Isman ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada tütün solucanı *Spodoptera litura* larvasına insektisidal aktive için 21 uçucu yağ test etmişlerdir. 24 saatte %90 larval mortalite ortaya konmuştur. Bu yağların majör bileşenleri monoterpen fenol olan timol ve karvakroldur. İnteksidal etkinin bunlardan olduğu düşünülmektedir (38).

Monoterpenler; çeşitli bitkilerin uçucu yağlarında bulunan diyetel bileşiklerdir.

Bu monoterpenlerin bazıları antitümör aktiviteye sahiptir. Zeytinođlu H. ve arkadaşları, *Origanum onites* L. uçucu yağının fraksiyonel distilasyonu ile elde edilen karvakrolun, N-ras transforme myoblast hücreleri CO25' in, DNA sentezi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Hücreleri farklı dozlarda karvakrol ile inkübe ederek; dekzamatazon içeren ras-aktivite edici ortam ve büyüme ortamında DNA sentezini önlediğini göstermişlerdir. Bu sonuçlar, karvakrolun mutant N-ras onkojenlerinin aktivasyonundan sonra bile myoblast hücrelerinin büyümesini inhibe ettiğini göstermektedir. Bu da karvakrolun kanser tedavisinde uygulanabileceğini öne sürmektedir (63). Yapılan bir çalışmada antifungal aktivite gösteren dört bitki spreyinin (cinnamaldehyd, karvakrol, karvon, timol) çeşitli kısa süreli mikrobiyal ve memelilere ait in vitro testlerde, sitotoksosite ve genotoksitesi araştırılmıştır. Hepsi, doza bağlı olarak Hep-2 hücrelerde proliferasyonu ve canlılığı inhibe etmiştir. Morfolojik analizler karvon, karvakrol ve cinnamaldehydin apoptosisle ilişkisini göstermektedir. SOS-kromoteste non toksik dozlarda dört bitkinin hiçbirisi DNA hasarına sebep olmamıştır. DNA tamir testinde, karvanla belirgin bir doza bağlı diferansiyel toksisite gözlenirken cinnamaldehyd ile bu etki çok az görülmüş, timol ve karvakrola ise hemen hiç görülmemiştir. Sonuçta birbirinin izomeri olacak kadar kimyasal benzerlik gösteren bileşenlerin hücrelerdeki toksik etkileri çok farklı olabilmektedir (53).

M.H. Boskabady ve arkadaşının kobay trakeasında karvakrolle yaptıkları bir çalışmada; karvakrolun oldukça güçlü bir relaksan etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu maddenin trakeal halkalarda bronkodilatator etkisine, β_2 -adrenerjik stimulator, histamin H_1 ve muskarinik blokör etkilerinin herhangi bir katkısı yoktur (15).

Karvakrolle ilgili toksikolojik çalışmalar:

Akut toksisite: gavaj yoluyla alınan 1.5mM/kg'lık tek bir doz (%93 karvakrol ve %7 timol karışımı) karaciğerde biphenil 4-hidrolaz üretiminde hafif bir artışa yol açar.

Subakut toksisite: herhangi bir veri yoktur.

Kronik toksisite/karsinojenite: herhangi bir veri yoktur.

Reproduktif ve teratojenik çalışmalar: herhangi bir veri yoktur.

Mutajenite: Karvakrolun genotoksik potansiyeli oldukça zayıftır, yine de yol açtığı

nükleer fragmentasyon nedeniyle DNA seviyesindeki olası etkileri de göz önünde bulundurulmalıdır (61).

Sıçanlarda karvakrol ve timolun metabolizması; gaz kromotografik-mass metodlar kullanılarak çalışılmıştır. Metabolitlerin üriner ekskresyonu hızlıdır. Çok az bir miktarı 24 saat sonra ekstre edilmiştir. Karvakrol ve özellikle timolün büyük bir kısmı değişmeden ekstre edilirken (veya glukoronid ve sülfat konjugatları olarak) metil ve izopropil gruplarında yaygın bir oksidasyon da meydana gelmiştir. Bu da benzil alkol ve 2-fenil propanol ve bunların karşılığı karboksilik asit derivelerinin oluşması ile sonuçlanmıştır (5).

Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalında yapılan bir doktora tezi ile karvakrolun çeşitli konulardaki önemi vurgulanmış, sonra Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezinde yapılan çalışmalarla karvakrolun, antialerjik etkileri gösterilmiştir (9).

Karvakrolun izole organ banyosu yöntemi kullanılarak çeşitli düz kas preparatları üzerine etkilerini araştırmak amacı ile yapılan ve kongrelerde bildiri haline gelmiş çalışmaların ışığında, bu konuda in vivo çalışmaların yok denecek kadar az olması özellikle de kardiyovasküler etkilerinin hiç çalışılmamış olması üzerine planladığımız çalışmamızda, nitrik oksit in karvakrolun etkilerinde rolü olup olmadığını da araştırdık.

2.2. NİTRİK OKSİT

1980'li yıllarda Furchgoht ve Zwadzki asetilkolinin vazodilatatör etkisini araştırırken, vazodilatatör etkinin ortaya çıkması için damar endotelinin sağlam olması gerektiğini göstermişlerdi. Zira; asetilkolin, damar endoteli hasarlanmış preparatlarda kasıcı etki yapmaktaydı. Furchgoht, asetilkolinin bu vazodilatatör etkisinin endotel kaynaklı bir madde aracılığı ile olduğunu göstermiş ve bu maddeye "Endothelial Derived Relaxing Factor" (EDRF) adını vermiştir. 1987 yılında Ignarro ve Palmer EDRF ile Nitrik oksitin (NO) nun aynı madde olduğunu göstermişlerdir (46, 48, 52).

2.2.1. NO'nun yapısı ve fonksiyonları

NO iki atom içeren, molekül ağırlığı 30 olan gaz yapısında, serbest bir radikaldir. Küçük ve lipofilik bir molekül olduğundan biyolojik membranlardan çok kolay diffüze olabilir. Dayanaksız bir bileşiktir. Yarı ömrünün 3-50 sn gibi farklı süreler olarak saptanması, oksidasyon yolu ile inaktive olduğu ortamlardaki farklı oksijen dağılımı ve deney koşullarındaki farklılıklarla açıklanmaktadır (46).

NO, kan damarlarında bulunan bir sinyal molekülüdür ve burada endotelial hücrelerden devamlı olarak salgılanarak vasodilatasyon ve kan akımını sağlamak için düz kas üzerine etki eder. NO, nonvasküler dokularda da sentezlenir. Trombositlerde sentezlenen NO, trombositlerin adhezyonunu ve agregasyonunu inhibe eder. Nötrofil ve makrofajlarda oluşan NO ise tümör hücrelerine ve intrasellüler parazitlere karşı gelişen immün reaksiyonlarda sitotoksikiteye aracılık eden efektör molekül olarak fonksiyon görür. Serebellum ve ön beyindeki nöronlardan sentezlenen NO, santral sinir sisteminde hafızanın oluşturulması gibi çeşitli fonksiyonlarda da görev alan bir nörotransmitterdir. Makrofajların ve karaciğer kupffer hücrelerinin sitotoksik miktarda NO salıvererek, onun aracılığı ile infeksiyon etkenlerini ve diğer hücreleri öldürdükleri saptanmıştır. NO aynı zamanda adrenal bez, böbrek epitel hücrelerinden de salıverilir (2, 41, 45, 46).

Hipoksi, elektriksel uyarı, kan akımındaki artış, süperoksid dismutaz (SOD)

enzimi, sitokrom-C, L-arginin fazlalığı, cGMP ve fosfodiesteraz inhibitörleri NO' nin etkilerini arttırırken; hiperoksi, süperoksid anyonlarının fazlalılığı, demir, hemoglobin, metilen mavisi ve L-arjinin analogları ise NO' nin etkilerini azaltan faktörlerdir. Kullanım kolaylığı ve bulunabilirlik açısından L-arjinin yapısal analogları en sık kullanılan NO sentez inhibitörleridir. L-arjinin yapısal analogları (guanidin terminalinde değişikliği) olan bu ajanlar metabolize olduklarında NOS enzimine kovalent olarak bağlanırlar. NO sentez inhibisyonu için; N-nitro-L-arginin (L-NA), N-monometil-L-arginin (L-NMMA), L-nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) en çok kullanılan ajanlardır. Bu ajanlar yapısal NOS ve indüklenebilir NOS' u değişik oranlarda inhibe eder ve bundan dolayı nonselektif NOS inhibitörleri olarak adlandırılırlar (41, 46, 51, 57).

2.2.2. Nitrik Oksit Sentezi ve Nitrik Oksitin Kardiovasküler Homeostazdaki Rolü

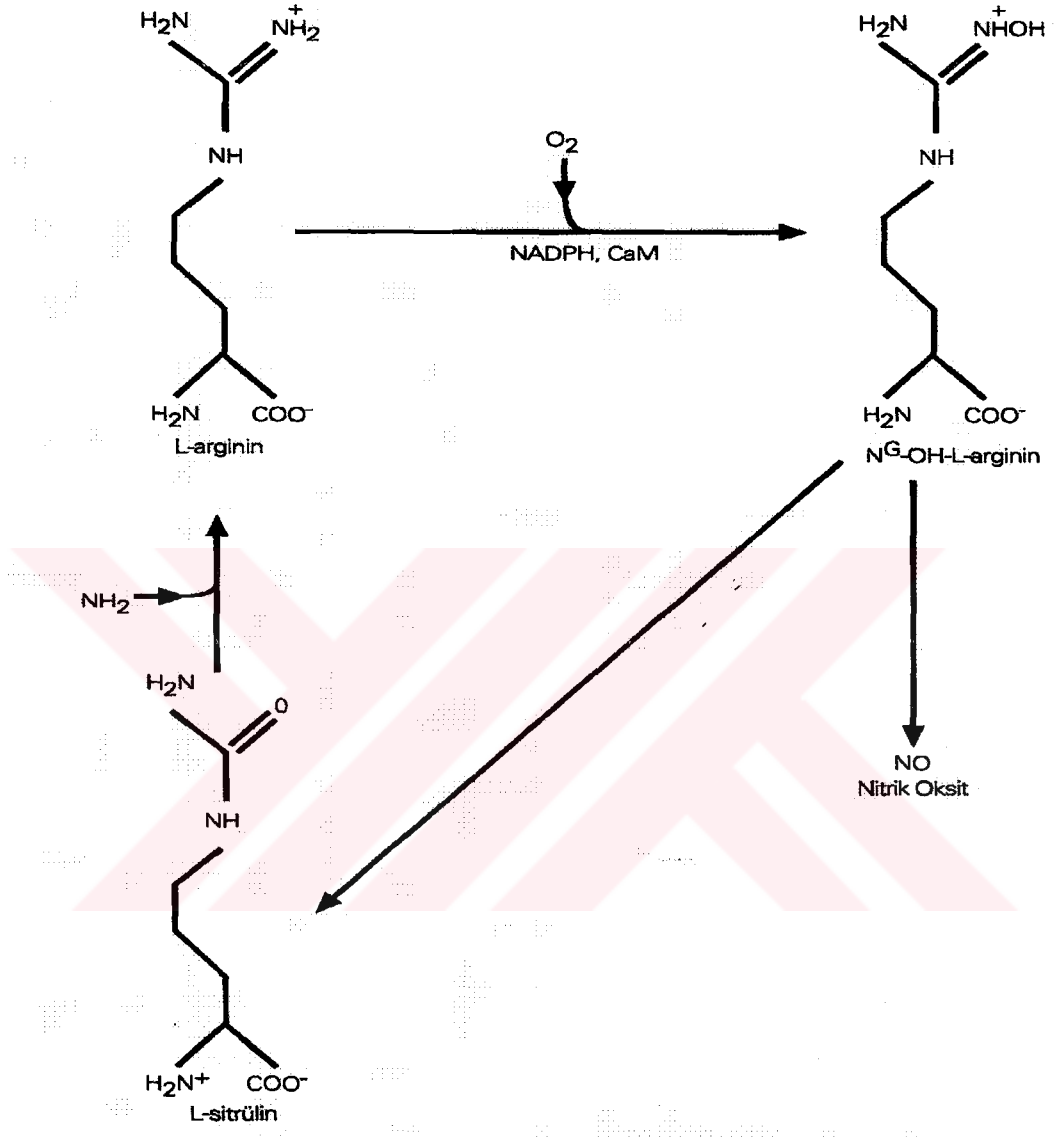
Dünyada en yaygın şekilde bulunan elementlerden oluşan reaktif bir gaz ve karasız bir molekül olan nitrik oksit kardiyovasküler homeostazda büyük önem taşıyan bir molekül olarak kabul edilmektedir. Çünkü pek çok araştırma, endotelyum kaynaklı gevşetici faktörün Nitrik oksit olduğunu ortaya çıkarmıştır (2, 60).

L-argininden enzimatik olarak sentezlenen parakrin etkili bir gaz olan nitrik oksitin endotelial hücrelerden salıverilmesini ve böylece damarda gevşemeyi harekete geçirmesini birçok faktör sağlayabilir. Endotelyuma bağlı vazodilatör olarak bilinen asetilkolin de böyle bir faktördür. L-arjininde nitrik oksit sentezini uyarır. Bu nedenle Nitrik Oksit üretim sürecine L-arjinin / Nitrik Oksit yolu da denir. Nitrik Oksit üretim yolunun ilk adımı, nitrojenin L-arjin' inin guanidino grubuna hidroksilasyonudur. Bu reaksiyon "Nitrik Oksit Sentez" NOS adı verilen bir enzimle katalizlenir. NO, sitozolik bir enzim olan NO sentaz aracılığı ile L-argininden L-sitrüllün oluşurken meydana gelir. Tepkimenin yan ürünü olan sitrüllün, bir nitrojenin bağlanmasıyla (Şekil-2' de) L- arginine geri dönüştürülür. Normalde, L arginin düzeyleri sürekli salınımlı Nitrik

Oksit biyosentezi için yeterlidir. Ancak bazı koşullarda lokal hücreseL L-arginin düzeyleri optimal Nitrik oksit biyosentezi için yeterli olmayabilir. L-arginin infüzyonu hipertansif kişilerde hipotansif etki yapar ve bozuk bir endotelyuma bağılı gevşemeye neden olabilir (2, 46, 52).

Nitrik Oksit sentazlar, Nitrik Oksitin enzimatik oluşumlarından sorumludur. Günümüzde nitrik oksit sentazın genetik olarak belirlenmiş üç izoformu bilinmektedir. NOS enzim izoformları: 1). Sinir ve bazı dokularda (akciğer, pankreas, mide ve uterus) bulunan nöronal NOS (nNOS). Kalsiyum ve kalmodüline bağımlı. 2). İmmünolojik uyarılarla indüklenebilen ve hemen hemen bütün çekirdekli hücrelerde bulunabilen indüklenebilir NOS (iNOS). Kalsiyum ve kalmodülinden bağımsızdır. 3). Endotelyal hücrelerde bulunan endotelyal NOS (eNOS) Kalsiyum ve kalmodülin bağımlı izoformdur (41, 46, 60).

Bu enzimler prostetik grup kompozisyonu ve temel kimyasal mekanizmalar açısından birbirine çok benzer ancak amino asit dizilimi, moleküler kütle ve dengeleyici kontrol konularında aralarında önemli farklılıklar vardır (60) (Tablo.3).



Şekil-2: L-argininden NO biyosentezi ve L-sitrülin geri dönüşümü (2)

Tablo-3: NOS izoformları. (60)

Yapısal ve enzimatik parametreler	nNOS (NOS I)	eNOS (NOS III)	iNOS (NOSII)
Alt birim moleküler kütle	160 kDa	135 kDa	125-130 kDa
Uyarılabilirlik	Yapısaldır	Yapısaldır	İndüklenebilir
Yardımcı faktörler	Tetrahidrobiopterin (H ₄ B), FAD, FMN, heme, Zn	H ₄ B, FAD, FMN, heme, Zn	H ₄ B, FAD, FMN, heme, Zn
Ürünler	NADPH, L-arginin, oksijen	NADPH, L-arginin, oksijen	NADPH, L-arginin, oksijen
Majör fizyolojik fonksiyon	Nörotransmisyon	Vazodilatasyon	Sitotoksisite
Hastalığıdaki rolü	Strok, kaslar distrofi, iskemi-reperfüzyon zedelenmesi	Endotelial disfonksiyon, hiperkolesterolemi, hipertansiyon	Toksik şok, enflamasyon, otoimmün hastalık

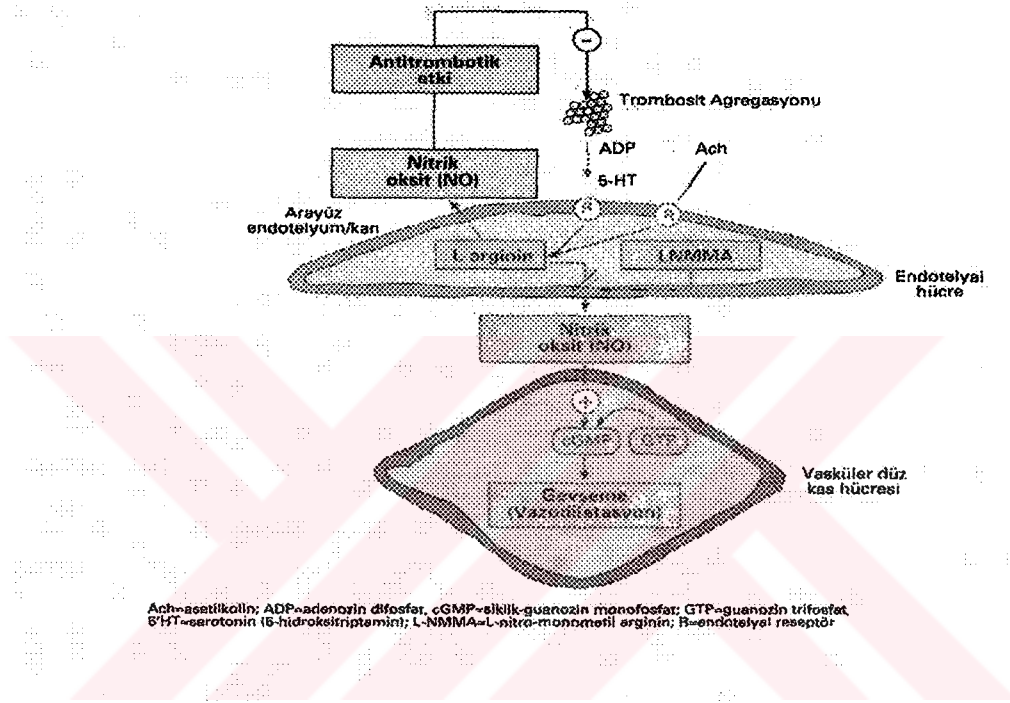
Nitrik Oksit (NO) üretilip endotelial hücrelerden salındıktan sonra, altta yatan vasküler düz kas hücrelerine yayılır ve burada siklik-guanozin monofosfat (cGMP) oluşumunu uyarır. Nitrik Oksit olmasa da guanilat siklaz, guanozin trifosfatı (GTP) siklik GMP ve inorganik pirofosfata dönüştürerek katalitik aktiviteye devam eder. Düz kas gevşemesi nitrik oksitin cGMP tarafından yönlendirilen başlıca fizyolojik fonksiyonlarından birisidir. Vasküler düz kas hücrelerinde, nitrik oksite bağlı cGMP aktivasyonu sonuç olarak kaslarda gevşemeye yol açar. Bunun sonucunda da nitrik Oksit damar duvarının gevşemesini indükler ve damar direncini azaltır (45, 46, 59, 60).

Endotelial-türevi nitrik oksit üretiminin regülasyonu, kardiyovasküler homeostaz açısından önem taşır. NO; lokal ve sistemik direnç, kan akımı ve oksijen dağılımının sağlanması, sodyum dengesi ve arteriyel basıncın regülasyonuna katkıda bulunur. Nitrik oksit sentazın (eNOS) endotelial izoformu, Furchgott, Ignarro ve Moncada' nın klasik çalışmalarında nitrik oksit olarak tanımlanmış endotelial-türevi gevşetici faktörü üreten enzimdir. Endotelial nitrik oksit, e(NOS) izoformu bulunmayan

farelerde bu süreçlerde yaşanan değişikliklerde de görüldüğü üzere, kan basıncının regülasyonu, anjiyojenez (damar oluşumu), ve vasküler yeniden yapılanma açısından önem taşır. Septik şokta görülen şekilde aşırı NO sentezi sistemik hipotansiyon ile sonuçlanabilir. Aksine, NO sentezinin bozulması ise patolojik vazokonstriksiyon, doku iskemisi ile birlikte organ disfonksiyonu ve hipertansiyon başlangıcına veya devamına yol açabilir. NO eksikliğinin arteroskleroz ve diyabet gibi hastalıklarının patogenezinde katkıda bulunduğunu gösteren kanıtlar vardır. NO' nun fibroblastların ve kültürü yapılmış düz kas hücrelerinin mitozunu inhibe ettiği bulunmuştur. Bu antiproliferatif etki, NO tarafından arteroskleroz gelişmesinin önlenmesinde rol oynayabilir. Artmış L-arginin alımının arterosklerozda intimal kalınlığı azalttığı ve vasküler reaktivitedeki değişiklikleri tersine çevirdiği düşünülmektedir. Aynı zamanda hipertansiyonda düz kas hücrelerinin aşırı proliferasyonunu ve kan basıncını da azaltıyor olabilir (41, 45, 57, 60).

Nitrik oksit salıverildiğinde, endotelyumun luminal tarafının da içine yayılır ve burada antiadhezyon / agregasyon etki göstererek, damar duvarının antikoagulan özelliklerine de katkıda bulunur. Damar lümeninde trombositlerin endotel hücrelerine adhezyonunu, agregasyonunu önler ve trombolizisi sağlar. Trombositler NO salarak otokrin tarzda kendi agregasyonunu önler. NO nötrofillerin agregasyonunu da inhibe eder ve nötrofillerden lizozomal enzimlerin salınımını engeller. Aktive olan nötrofillerden NO salınımı ile süperoksit anyon üretimi azaltılır. Dışarıdan verilen NO'nun in vitro ortamda monositlerin damar duvarına tutunmasını önlediği ve in vivo ortamda kemotaksisi inhibe ettiği gösterilmiştir (25, 46, 45, 52).

Nitrik Oksit (NO) suda (20 °C ve 1 atm.)' de çözünebilir. Bu nedenle nitrik oksit depolanmaz; oluşum alanından serbestçe hücrenin etrafına yayılır. Küçük miktarlarda nitrik oksit esas yol tarafından mediyatör olarak oluşturulduğunda tercihen heme bağlanır. Nitrik oksit fazlası tiollere bağlanarak diğer nitrozasyon reaksiyonları ile uzaklaştırılabilir. Nitrik oksit kan akımına salıverildiğinde, olasılıkla hızla hemoglobine bağlanarak, idrarda 5 - 8 saatlik yarılanma ömrü ile atılan NO⁻³ e dönüştürülür (60).



Şekil-3: Nitrik Oksit sentezi ve bunun fizyolojik etkileri (59).

2.3.KARDİOVASKÜLER SİSTEMİN DÜZENLEME MEKANİZMALARI

Kalp, organların ve dokuların perfüzyonu için gerekli kanı damarlar sistemi vasıtasıyla vücudun bütün bölgelerine dağıtmaktadır. Damar sistemi geniş bir ağ gibi viskoelastik “tüplerden” oluşan ve kanı yalnız belli yönlere iletmekle görevlendirilmiş pasif olmayan, aktif olarak dolaşım olayında rol alan sistemdir (26, 47). Damar sistemi üç tip damardan oluşur. Arteriyel sistem dağılımı, kapiller sistem mikrosirkülasyon, difüzyon ve filtrasyonu, venler ise toplayıcı sistemi oluşturur (47).

Dokuları perfüze etmeye yetecek kadar kan dolaşımının sağlanması tüm memelilerin hayatını sürdürmesi için temel ihtiyaçtır. Bu dolaşım belirli kriterler içinde basınç ve akım özelliklerini gerektirir (4, 26).

Kardiyovasküler sistem de dolaşıma ait ayarlamalar; pompanın (kalp) dakika atım hacmini (debi), direnç damarlarının (başlıca arteriyoller) çapını veya kapasitans damarlarında (venler) göllenmiş kan miktarını değiştirerek etki yapar. Arteriyollerin kalibresindeki değişiklikler, aktif dokularda yapılan vazodilatör metabolitlerle arttırılmakta ve endotelden salgılanan maddelerden etkilenmekte, ayrıca dolaşımda bulunan maddelerle ve arteriollerini innerve eden sinirlerle regüle edilmektedir. Kapasitans damarların çapı da vazoaaktif maddelerden ve vazomotor sinirlerden etkilenmektedir. Bu sistemik regülasyon mekanizmaları, yerel mekanizmalarla sinerjistik olarak çalışmakta ve tüm vücuttaki vasküler yanıtları düzenlemektedir (31).

2.3.1. Kan Basıncı:

Kanın, arterlerden geçişi esnasında damar duvarına yapmış olduğu basınca, “arteriyel kan basıncı” denir. Kanın akışını sağlayan ve kalbin güçlü kasılmalarından kaynaklanan basınç kalbin sistol döneminde en yüksek (sistolik basınç), diastol döneminde ise en düşük düzeydedir. (diastolik basınç) Hızlı ventriküler fırlatma sırasında aort içi basıncı ventriküle oranla biraz daha düşüktür. Arteriyel basıncın en

yüksek seviyesine “arteriyel sistolik basınç” adı verilir. Normalde aortun sistolik basıncı 120 mm-Hg’ dir. Kalp siklusunda, arteriyel basıncın en düşük olduğu seviyeye diyastolik basınç denmektedir. Diyastol sırasında arteriyel basınç, kan akımı arterlerden kapillere ve venlere doğru geçerken düşmeye başlar. Aortadaki ortalama diyastolik basınç 80 mm-Hg’ dir (19, 62).

Arteriyel basınç alışlagelmiş şekliyle sistolik basıncın diastolik basınca bölümü şeklinde (örneğin 120/70 mm- Hg) ifade edilir (31).

$$\text{Arteriyel Basınç} = \text{Kardiyak output} \times \text{Periferik direnç}$$

Yukarıdaki formüle göre kan basıncı kardiyak output ve periferik dirençle doğru orantılı olarak değişmektedir. Kardiyak outputdaki değişimler sistolik basıncı, periferik dirençteki değişiklikler ise diyastolik basıncı etkiler. Kardiyak output, kalbin dakikada pompaladığı kan miktarıdır. Kardiyak output, kalp hızı ve kalbin her sistolde fırlattığı kan miktarı ile doğru orantılı olarak değişir. Kardiyak output = Kalp atım hızı x Stroke volüm. Periferik direncin en önemli sorumlusu arteriol damar çapıdır (8).

2.3.2. Pulse Basıncı:

Sistolik ve diastolik basınçlar arasındaki fark olan nabız basıncı normalde 50 mm-Hg kadardır (31).

2.3.3. Ortalama Kan Basıncı:

Ortalama basınç bütün kalp döngüsü içindeki basınçların ortalamasıdır. Sistol diastolden daha kısa olduğundan ortalama basınç sistolik ve diastolik basınçların orta değerinin biraz altındadır. Ortalama arter basıncı, diyastolik basınca pulse basıncının 1/3’nün eklenmesiyle hesaplanabilir.

$$\text{MAP} = \text{DB} + 1/3 \text{ Pulse Basıncı (SB-DB)} \text{ (19, 31).}$$

2.3.4. LOKAL DÜZENLEMELER

2.3.4.1. Otoregülasyon:

Perfüzyon basıncındaki büyük bir değişiklik karşısında birçok organ kendi kan akımını sabit tutabilme yeteneğine sahiptir. Dokuların kendi kan akımını düzenleme yeteneğine otoregülasyon adı verilir. Damar yataklarının çoğu damar direncindeki değişikliklerin perfüzyon basıncında yaptığı orta şiddette değişimleri karşılayacak intrinsik bir yetkinliğe sahip olduğundan bu yolla kan akımı görece sabit tutulur. Bu yetkinlik böbrekte iyi gelişmiştir. Fakat beyin kalp, karaciğer, GIS, iskelet kasında da gözlenmiştir (31, 47). Bu otoregülasyonu açıklayan birkaç teori öne sürülmektedir.

a) Metabolik teori:

Kan basıncındaki bir artış, başlangıç olarak doku veya organa kan akımını artırır. Artan kan dolaşımı ortamda bulunan birçok vazodilatatör maddeyi uzaklaştırır. Vasküler direnç artar ve kan akımı normal düzeylere döner. Artmış CO₂, H⁺, adenozinler, prostoglandinler, K⁺ veya PO₄²⁻ veya hipoksi vazodilatasyona neden olur. Otoregülasyondan her durumda bu maddelerin konsantrasyonlarındaki artışların sorumlu olduğunu söylemek mümkün değildir.

b) Miyojenik Teori:

Damar içi basıncı arttığında, vasküler düz kas kasılır. Vasküler düz kas, Laplace yasasına göre basınç ve duvar çapının çarpımı olan duvar gerilimine yanıt verir.

$$T = P \times r$$

T = duvar gerilimi, P = basınç, r = çap.

Kasın damar duvarındaki gerime yanıt verdiği var sayılmış olup bu kuram yüksek basınçlarda görülen daha büyük kasılmalara bir açıklama getirebilir. Duvar gerimi, geren basınçla damar yarı çaplarının çarpımı ile orantılıdır (19, 33).

2.3.4.2. Endotelden Salınan Maddeler

Prostasiklin ve Trombaksan A₂: Prostasiklin endotel hücreleri tarafından, Trombaksan A₂ ise plateletler tarafından salgılanır. Her ikisinde aroşidonik asitten siklosijenaz enzimi ile sentezlenmektedir. Trombaksan A₂ trombosit agregasyonunu ve vazokonstriksiyonu başlatırken prostosiklin aksini yapar (33, 47).

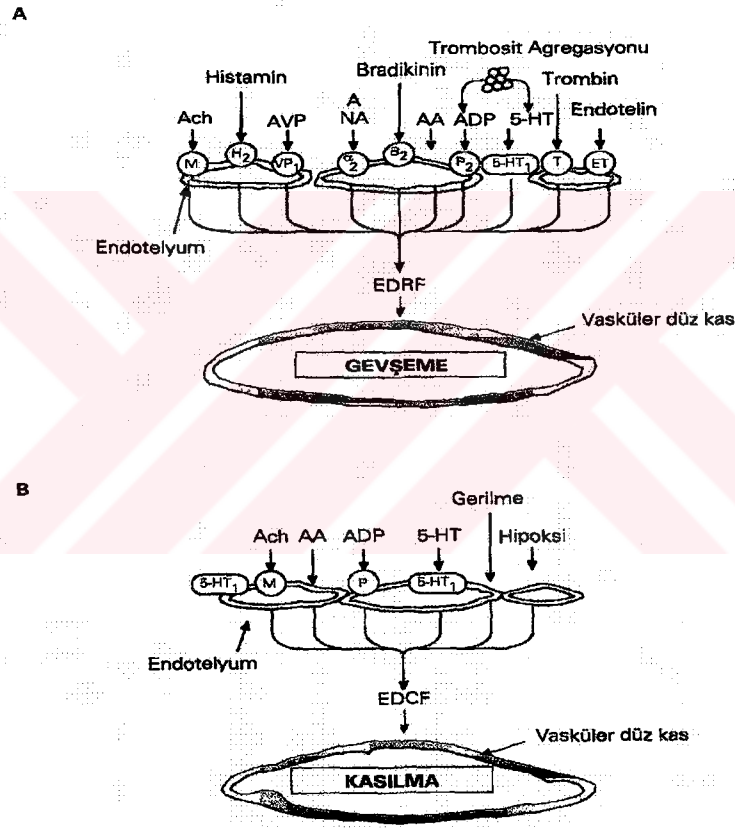
2.3.4.2.a. Endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF)

1980' lerin başında asetilkolinin damar segmentlerinde yaptığı gevşemenin damar endotelinin tahribi sonucu ileri derecede azaldığının bulunması; damar endotelinden salıverilen ve lokal etkisiyle damar düz kasını gevşeten “endotel kaynaklı gevşetici faktör” (EDRF) aracılığıyla damar endotelinin damar rezistansının düzenlenmesinde rol oynayan aktif bir yapı olduğu varsayımının ortaya atılmasına yol açmıştır (41). 1987 yılına kadar damar gevşetici faktörün EDRF olduğu kabul edildi. Ancak bu molekülün NO olduğunun anlaşılmasından sonra bu konu üzerine yapılan çalışmalar her geçen yıl çığ gibi arttı. NO; bir aminoasit olan L- arjininden, kalmoduline bağımlı bir enzim olan NO sentataz (NOS) aracılığıyla oluşmaktadır. NO, erimiş haldeki guanilat siklazı aktive ederek, siklik GMP yapımına bu da vasküler düz kasların gevşemesine neden olur. Örneğin asetilkolin intakt kan damarlarına uyguladığında NO salgılanmasına yol açtığından güçlü bir vazodilatör olarak karşımıza çıkmaktadır (33, 41).

2.3.4.2.b. Endotelinler

Endotel hücreleri aynı zamanda en kuvvetli vazokonstriktör ajanı da yapmaktadır. Bu madde 21 aminoasit rezidüsü içeren bir polipeptittir. Bunlar, endotelin-1 (ET-1) , Endotelin-2 (ET-2) , endotelin-3 (ET-3), vazoaktif intestinal kofaktör (VIC)'lerdir. ET-1 endotel hücreleri tarafından yapılmaktadır. ET_A reseptörü birçok dokuda bulunur ve muhtemelen damar reseptörüdür. ET_B reseptörü endotellerin

üçüne de yanıt vermekte, fakat işlevi tam olarak bilinmemektedir (32, 45). ET-1 trombin ve adrenalin etkisiyle de salıverilmekte, ancak bir hayli yavaş olmaktadır. ET-1 aynı zamanda fostolipaz A₂' yi aktive ederek prostasiklin ve tromboksan A₂ yapımını artırır. ET-1 kan damarında bulunmaktadır ve ET-1 endotel hücrelerinde olduğu gibi, beyin ve böbreklerde de bulunmaktadır. VIC gibi, ET-2 önce bağırsaklarda, ET-3 ise hem bağırsaklarda hem de adrenal bezinde bulunmuştur (31, 33, 47).



A=adrenalin (epinefrin); AA=araşidonic asit; Ach=asetilkolin, ADP=adenozin difosfat; α=alfa adrenajik reseptör; AVP=arjinin vazopressin; B₂=kinin reseptör; ET=endotelyum reseptörü; H=histaminajik reseptör; 5-HT=serotonin (5' hidroksitriptamin); 5-HT₁=serotoninajik reseptör; M=muskarinik reseptör; NA=noradrenalin (norepinefrin); P=purinerjik reseptör; T=trombin reseptörü; VP=vazopressin reseptörü.

Şekil-4: EDRF (Endotelyum-Türevi gevşetici Faktörler) veya EDCF (Endotelyum-Türevi Kasıcı Faktörler) salınımını spesifik endotelial reseptör aktivasyonu yoluyla harekete geçiren nörohumoral mediatörler ve kimyasal ve fiziksel harekete geçirenler (59).

2.3.5. SİSTEMİK DÜZENLEME

2.3.5.1. Sinirsel Düzenleme:

Arteriel kan basıncının kontrolünde bir mekanizma olan sinir sistemi, tespit edilen basınç değişikliklerine baskın olarak sempatik tonusu ayarlayarak görevini yerine getirmektedir (26, 17). Parasempatik sinir sistemi de kalp fonksiyonların düzenlenmesine katılımı nedeniyle önem taşımaktadır (33). Sempatik vazomotor sinir lifleri medulla spinalisi tüm torasik ve ilk lomber sinirler ile terk eder ve dolaşıma iki yol izleyerek ulaşırlar.

- 1) İç organların damarlarını ve kalbi innerve eden sempatik sinirler
- 2) Periferik alanların damarlarını innerve eden spinal sinirler ile ulaşır (33).

2.3.5.1.a. Kalbin innervasyonu

Kalp sempatik ve parasempatik sinirlerle innerve edilir. Her iki sisteme ait sinirler aort ve pulmoner arter başlangıcında bulunan pleksus kardiakusu oluşturur. Sağ vagus SA düğüm, sol vagus ise A-V düğümü innerve eder. Her ikisi de kısmi olarak atriumlara dağılır, fakat ventrikülleri innerve etmezler. Kalp faaliyeti üzerine parasempatik etki devamlıdır. Bu uyarı kalktığından kalp atım hızı 25 vuru/dk' dan 150–160 vuru/dk' ya kadar yükselir. Çünkü varolan sempatik tonusa karşı çalışacak, hiçbir faktör kalmamıştır. Parasempatik sistem uyarılması kalpte negatif kronotrop (atım sayısı), inotrop (kasılma gücü), dromotrop (üretim hızı), tromotrop (koroner damarlarda dilatasyon) ve pozitif batmotrop (membran potansiyelinde artış) etkiyle sonuçlanır. Sempatik sistemin uyarılması: pozitif kronotrop, inotrop, dromotrop ve negatif batmatrop etkiyle sonuçlanır (31, 33).

2.3.5.1. b. Kan Damarlarının İnnervasyonu :

Kapillerler ve venüller hariç bütün damarlarda sempatik innervasyon vardır. Arteriollerde sempatik uyarı ile damarlarda direnç artışı gözlenir ve böylece dokulara

giden kan akımının azalması imkânı tanınır. Büyük damarların innervasyonu sempatik uyarı ile bu damarların çaplarında bir azalmaya (α adrenarjik lifler) yol açarak periferik dolaşım sisteminde hacim değişikliklerin oluşmasını sağlar (4, 33). Noradrenarjik lifler, vücudun her yerindeki damarlar üzerinde sonlanmaktadır. Bu lifler işlevsel olarak vazokonstriktör niteliktedir. Vazokonstriktör innervasyona ek olarak, iskelet kaslardaki rezistans damarlar, sempatik sisteme ait olmakla birlikte, kolinerjik yapıda ve (vazodilatasyon yapan) vazodilatör sinir lifleriyle innerve edilmişlerdir. (Sempatik vazodilatör sistem) Bunların yanısıra vazodilatasyon yapan VIP, P maddesi gibi polipeptidler ve vazokonstriksiyon yapan nöropeptid Y gibi polipeptidler de sinir uçlarında gösterilmişlerdir (33).

2.3.5.2. Vazomotor Kontrol:

Her ne kadar spinal refleks aktivitesi kan basıncını etkilese de kan basıncının esas kontrolü medulla oblongata ve ponsun alt bölümünde yer alan; hipotalamus, serebral korteks ve retiküler maddeye ait bazı alanların sinyalleriyle denetim altında tutulan, nöron gruplar tarafından oluşturulan vazomotor merkezdir (31).

Bu merkez, parasempatik uyarıları kalbe vagus sinirleri ile ulaştırırken, sempatik uyarıları medulla spinalis ve periferik sempatik lifler yolu ile vücuttaki hemen tüm kan damarlarına ulaştırmaktadır. Normal koşullarda vazomotor merkezin vazokonstriktör alanı sempatik vazokonstriktör lifleri üzerinden tüm vücuda sürekli olarak uyarı göndermektedir. Bu uyarılar damarlarda vazomotor tonus adı verilen kısmi bir kasılma oluşturur (33).

Vazokonstriktör tonus arttığı zaman arteriyollerin büzülmesinde ve dolayısıyla kan basıncında bir artış olur. Kapasitans damarlardaki değişiklikler, rezistans damarlarındaki değişikliklerle her zaman paralel olmamasına karşın, venöz büzülme ve venöz rezervuarlardaki kan gölcüklerindeki azalmada bu kan basıncı artışına eşlik eder. Kalp hızı ve vuruş hacmi, kalbe giden sempatik sinir aktivitesindeki artış nedeniyle artar ve kardiyak çıkış (out put) artar. Bununla paralel olarak da kalbe giden vagal liflerin

tonik aktivitelerinde genellikle bir azalma olur. Vazokonstriktör liflerdeki deşarjların azalmadığı durumda ise vazodilatasyon, kan basıncında düşme ve venöz rezervuarlardaki kan depolamasında bir atış olur. Bununla birlikte kalp hızında bir azalma olur, fakat bu genellikle kalbin vagal inervasyonundaki stimülasyon sonucu olmaktadır (31, 33).

2.3.5.3. Kemoreseptörler

Kemoreseptörler karotis ve aortada bulunur. Bu reseptörler başlıca hipoksi, hiperkapni, asidoz, akut masif kan kaybı ile uyarılır. Kemoreseptörlerden kaynaklanan uyarıların vazomotor merkeze ulaşması arter basıncının artması yönünde çalışacak mekanizmaların devreye girmesini sağlar. Ancak kemoreseptör refleksi normal arter basıncı sınırları içerisinde güçlü bir basınç kontrolü sağlamaz. Bununla birlikte bu refleksi arteriel basıncı çok düştüğünde, basıncın daha fazla düşmemesine yardımcı olduğu için önem kazanmaktadır (4, 31, 33).

2.3.5.4. Baroreseptörler:

Baroreseptörler, kalp ve damar duvarlarında bulunan gerilme reseptörleridir. Vena cava superior, vena cava inferior ve pulmoner venlerin giriş yerlerinde olmak üzere, sağ ve sol atriyumların duvarlarında sol ventrikül duvarında ve pulmoner dolaşımında yerleşen reseptörler bulunmaktadır. Bu sol ventrikül ve kan dolaşımının düşük basınçlı bölgelerinde bulunan reseptörlerin tümüne birden kardiyopulmoner reseptörler adı verilir. Baroreseptörler lokalize oldukları yapıların genişlemesiyle stimüle olurlar ve böylece buldukları yapılardaki basınç arttığı için artan bir hızda deşarjlarını gösterirler. Baroreseptörlerin arteriel basıncın hızlı stabilizasyonundaki önemine rağmen, bu reflekslerin uzun vade arteriel basınç kontrolünde önemli olmadığı kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmalarda arteriel baroreseptör feed-back kontrol sistemin kazancı veya gücünün arteriel kan basıncının uzun dönemde sabit kalmasına yeterli olmadığı ileri sürülmüştür. Ayrıca arteriel baroreseptörlerin hızla adapte olduğu ve karakteristik olarak uygun basınç çevresine arteriel basıncın stabilizasyonunu sağlamak

için resetlenmesini indüklediği gösterilmiştir. Bu tip kontrol sistemi uzun etkili güçler sahneye çıktığında uzun vade arteriel basınç regülasyonunu sağlayamamaktadır (4, 17, 26).

2.3.5.5. Humoral Düzenleme:

Kanda bulunan bazı hormonların ve iyon oranlarının veya yoğunluklarının değişmesi lokal veya sistemik dolaşımda direkt yada vazomotor merkezi bağlantısıyla kan basıncının düzenlenmesinde rol oynarlar. Bunlar metabolizma sonucu açığa çıkan bazı maddelerle, iç salgı bezlerinden salınan bazı hormonlardır. Vazodilatör hormonlar arasında, VIP, ANP (Atriyal natriüretik peptid) ve kininler bulunmaktadır. Dolaşımdaki önemli vazokonstriktör hormonlar arasında ise vazopressin, noradrenalin, adrenalin, anjiyotensin II bulunmaktadır. Prostaglandin, EDRF ve ET-1 öncelikle kardiyovasküler işlevin düzenlenmesinde, lokal hormonların parakrin mediyatörleri olarak ortaya çıkmaktadır (33).

2.3.5.5.a. Kininler :

Kininler adı altında bulunan maddeler kanda ve bazı organ sıvılarında oluşarak güçlü vazodilatasyona neden olabilirler. Arterioller üzerinde etkileri kısmen direktir ve kısmende PGE₂ sentezini artırmalarına ve endotelden NO serbestleşmesine bağlıdır. Vazodilatör etkileri nedeniyle kan basıncında belirgin, fakat kısa süre düşme yapmaktadırlar (4, 31, 33).

2.3.5.5.b. Natriüretik Hormonlar:

Atriyum çeperindeki endokrin hücreler tarafından salınan ve böbreklerde güçlü natriüretik ve diüretik etkinlik gösteren bir hormondur. Damarlar üzerinde güçlü vazodilatör etkisi vardır ve kan basıncını düşürür. Natriüretik etkisi renal tübüluslarda Na⁺ reabsorpsiyonuna inhibe etmesine bağlıdır. Kan basıncının düzenlenmesinde rol oynamaktadır (41).

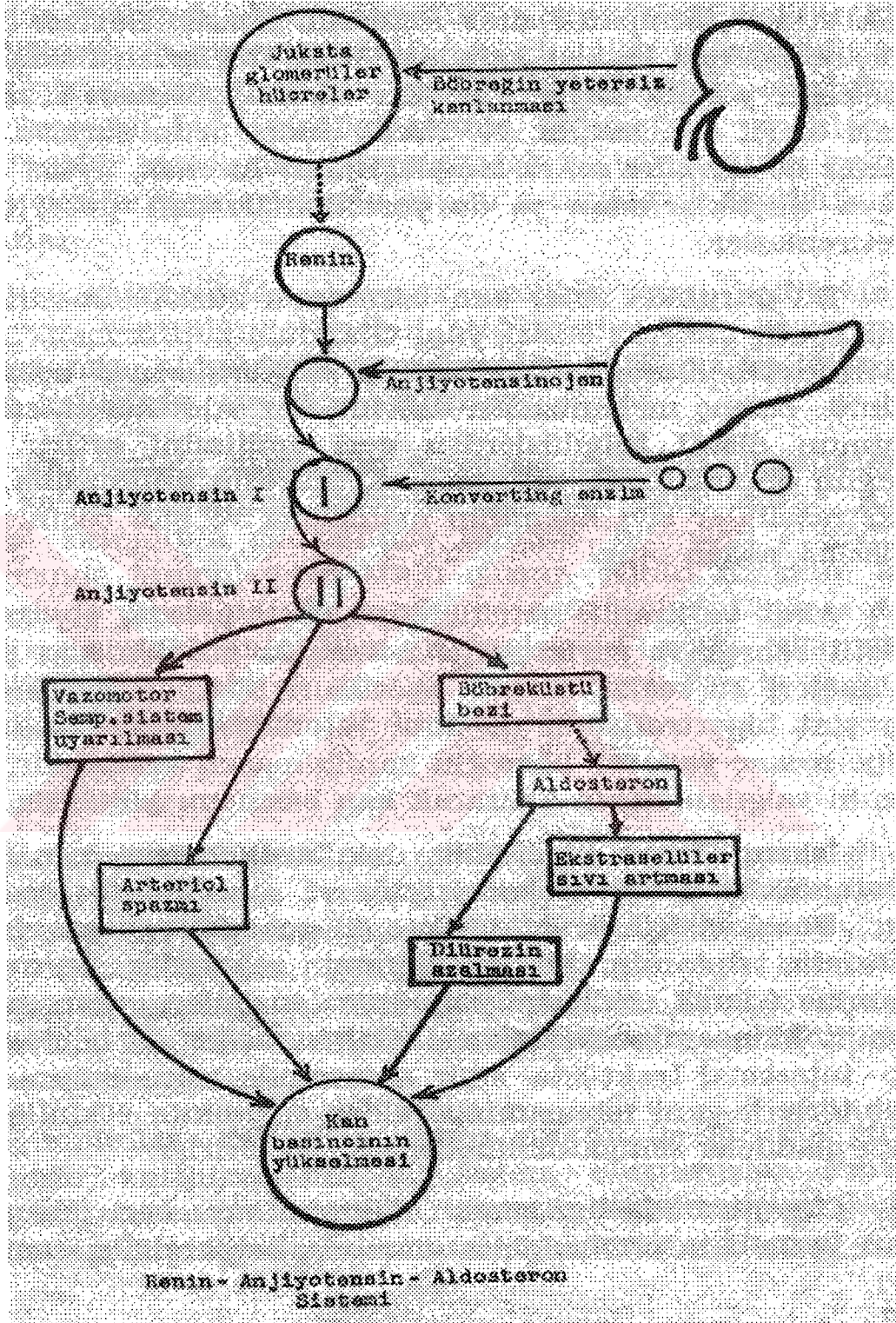
2.3.5.5.c. Vazopressin:

Ön hipotalamusta spesifik nöroların (paraventriküler ve supraoptik nukleuslar) hücre gövdelerinde sentez edilmektedir. Bu alanlarda hipotalamohipofizer traktusun aksonlarıyla hipofizin arka lobuna taşınıp depolanır ve gereğinde salgılanır (33).

Vazopressin yüksek dozlarda çok güçlü bir vazokonstriktördür (4, 31, 33). Bazı fizyologlar tarafından normal kişilerde endojen miktarı çok düşük olduğu için vazopressinin vasküler kontrol üzerinde küçük bir rol oynadığı kabul edilmektedir (33). Bununla birlikte bir dizi çalışma vazopressinin refleks salınımını hipovolemik durumlarda hızlı hareket eden hemodinamik regülâtör faktör olarak işlev görebileceğini göstermiştir (17, 26). Diğer hızlı hareket eden basınç düzenleyici sistemlerin yokluğunda 5 dak. içerisinde basıncın % 72 kompensasyonu için yeterli vazopressin salgılanmaktadır (26).

2.3.5.5.d. Anjiotensin II :

Kan basıncının humoral düzenlenmesinde rolü olan bir mekanizma da renin anjiotensin aldesteron sistemidir. Bu sistemin enzimsel işlevi böbrekte juksta glomerüler aparat'tan başlar. Renin plazmada bulunan ve karaciğer tarafından üretilen anjiotensinojeni anjiotensin I'e çevirir. Bu kez vasküler endotelyumda ve plazmada bulunan konverting enzim, anjiyotensin I' i anjiyotensin II'ye dönüştürür. (Şekil-5) (4).



Şekil-5: Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (4)

Anjiotensin, kan basıncının kontrolünde, lokal kan akımının düzenlenmesinde, su ve tuz dengesinin sürdürülmesinde büyük bir öneme sahiptir. Anjiotensin, bilinen en güçlü vazokonstriktörlerden birisidir. Arteriyel düz kasları direkt olarak kasar, sistolik ve diyastolik kan basıncını yükseltir (31, 33). Bölgesel damar yatakları üzerindeki etkileri farklıdır. Böbrek ve mezenterik yataklarda güçlü vazokonstriktör etkiye sahiptir. Anjiotensin, kan basıncında yavaş bir yükselme sağlar. Bu yükselme günler ve haftaları alabilir ve kan damarlarının hipertrofinde önemli olabilir (32).

Anjiotensinin farmakolojik dozları hem pozitif inotropik hem de kronotropik etkilidir. Ancak dolaşımdaki anjiotensin düzeylerinin bu etkileri oluşturabilmek için yeterli olup olmadığı tartışılmalıdır. Hücre membranları ve aldesteron üzerine etkisinden dolayı myokardiyal hücre içi potasyum konsantrasyonunun sağlanmasında önemlidir. Kalp üzerindeki diğer lokal etkilerini, kalbin adrenarjik sinirlerinin presinaptik reseptörleri aracılığı ile gösterir. Anjiotensinin ventrikül hipertrofinde rol oynayabileceği konusunda görüşler vardır (36, 50).

RAAS (Renin anjiotensin aldesteron sistemi) normal kan basıncının sağlanmasında önemlidir. Sodyum atılımının fazla olduğu durumlarda hormonal kan basıncını sağlamak için aldesteron salınımını stimüle eder ve sodyumun renal tutulumunu sağlar. Dehidratasyon ve hemorajiye bağlı su kaybında, kan basıncını düzenleyen önemli sistemdir. Bu sistemin bir başka önemi, periferik ve santral sinir sistemini etkileyerek dolaşım dengesinin sağlanmasıdır. Santral ve periferik anjiotensin etkilerinin birlikte yürütüldüğü bir alan su ve elektrolit dengesidir. Su ve tuz ihtiyacının arttığı durumlarda santral etki ile aldesteron salınımına ve dolayısıyla renal su ve tuz tutulumuna yol açar (4).

2.3.5.5.e. Dolaşımdaki Vazokonstriktörler:

Böbreküstü medulla kısmı ve sempatik sinirler iki hormon salgırlar; epinefrin ve norepinefrin. Adrenal medulladan salgılanan katekoleminlerin %80 kadarı epinefrin, geri kalanı norepinefrindir. Epinefrine adrenalin, norepinefrine noradrenalin de denir.

Sempatik sinir uçlarından salınan katekolaminlerin çoğu ise norepinefrindir. Her iki hormonun da ön maddesi tirozin aminoasididir. Epinefrin dört aşamada tirozin aminoasidinden sentezlenir; her aşamada ayrı enzim tepkimeyi katalize eder. İlk aşamada tirozinden dopa sentezlenir ve tirozin hidroksilaz enzimi bu tepkimeyi katalize eder. İkinci aşamada dopa dekarboksilaz enzimi dopayı dopamine dönüştürür. Üçüncü aşamada dopamini norepinefrine çevirecek enzim, dopamin B-hidroksilaz'dır. Dördüncü aşamada norepinefrin epinefrine çevrilir. Bu reaksiyonu katalize eden enzim feniletanolamin N-metiltransferaz'dır (47).

Dolaşımdaki norepinefrin, vücudun bütün kan damarlarında konstriksiyona neden olur. Kalp aktivitesini artırır, gastrointestinal kanalda inhibisyona ve gözlerde pupillanın genişlemesine yol açar (33).

Epinefrin etkileri hemen hemen norepinefrininkilerle aynıdır, ancak etki şekli bazı farklılıklar gösterir. İlk olarak, epinefrin beta resöptörlerini daha güçlü uyardığından, kardiyak stimülasyon üzerine, norepinefrinden daha büyük bir etkiye sahiptir. İkinci olarak norepinefrinin kastaki kan damarlarında yaptığı güçlü konstriksiyona kıyasla, epinefrin çok daha hafif bir konstriksiyon yapar. Kastaki kan damarları bütün vücut damarları içerisinde büyük bir bölüm oluşturduğundan, norepinefrinin total periferik direnci arttırarak kan basıncını yükeltmesi özel bir öneme sahiptir. Buna karşın epinefrin kalp üzerine eksitatör etkisiyle kardiyak debiyi önemli oranda arttırırken, arteryel basıncı daha az arttırmaktadır (33).

Epinefrin ve norepinefrinin etkileri arasındaki üçüncü bir fark, doku metabolizması üzerindeki etkileriyle ilgidir. Epinefrin, norepinefrine göre 5–10 kat daha büyük bir metabolik etkiye sahiptir. Gerçekten adrenal medulladan salgılanan epinefrin, bütün vücudun metabolik hızını normalin %100'ü kadar arttırabilir ve bu yolla bütün vücudun aktivitesini yükseltir. Epinefrin diğer metabolik aktiviteleri de arttırır. Örneğin, kas ve karaciğerdeki glikojenolizi ve kana glikoz serbestleşmesini hızlandırır (33).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. DENEY HAYVANLARI

Deneyleerde Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı hayvan laboratuvarında üretilen yetişkin dişi ve erkek 250-300gr ağırlığında Sprague Dawley cinsi sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar standart sanayi yemleri ve çeşme suyu ile beslenmiştir. Tüm çalışmalar Hayvan Etik Kurulu'nun izni alındıktan sonra Fizyoloji Anabilim Dalı in vivo araştırma laboratuvarında yapılmıştır.

3.2. KULLANILAN MADDE VE ALETLER

3.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- a) Heparin (Sigma)-100 IU/ml olacak şekilde SF içinde sulandırılırdı.
- b) Rhompun (%2'lik)
- c) Ketamin HCl (Parke- Davis, 50mg/ml)
- d) Tiopental Sodyum /IE Ulugay, 0,5mg/10ml)
- e) %9'luk Sodyum klorür
- f) DMSO (Dimetil sülfoksit) (sigma)
- g) L-NAME (sigma)
- h) Karvakrol (sigma)

3.2.2. Kullanılan Araç ve Gereçler:

Cerrahi malzeme

- a) genel amaçlı cerrahi makas
- b) damar makasları
- c) eğri doku forsepsi
- d) eğri iris forsepsi
- e) sivri uçlu forseps
- f) dişli forsepsler

g) hemostatik forsepsler

Diğer Gereçler

- a) Data Acquisition analiz ve kayıt sistemi (MP 100 Biopac, ABD)
- b) Basınç transdüseri (Biopac, ABD)
- c) Sıçan rektal problu, infraruj ısıtma sistemi (Commat – Türkiye)
- d) İnfüzyon pompası (Commat –Türkiye)
- e) Polietilen PE 100 tip kanül
- f) Polietilen PE 50 tip kanül
- g) Polietilen PE 5/0
- h) Otomatik mikropipetler (20ml, 100ml)
- ı) İnfüzyon pompası (Commat –Türkiye)
- i) 1 ml'lik enjektörler

3.3. Cerrahi İşlem ve Deney Protokolü

3.3.1. Anestezi ve Operasyona hazırlık:

Deneye alınan sıçanların anestezisi intramüsküler (I.M) olarak 10 mg/kg rhompun ve 50 mg/kg ketamin ile yapılmıştır. Anestezi derinliği injeksiyon sonrası 5 dk beklenerek göz refleksi ve “ağrılı stimulusa yanıt” (forsepsle sıçan ayağının sıkıştırılması) ile belirlenmiştir.

Deneylerde toplam 35 adet sıçan kullanılarak 5 grup altında çalışılmıştır. Gruplar: 1. Kontrol (n=7), 2. DMSO (n=7), 3.L-NAME (10 mg/kg) (n=7), 4. Karvakrol (100 µl/kg) (n=7) 5. L-NAME (10 mg / kg) + Karvakrol (100 µl/kg) (n=7)

NO blokajı için nonselektif olan L-NAME seçilmiş, tüm sistemlerde blokajı sağlayabilmek ve kesin etkiyi görebilmek için 10mg/kg kullanılmıştır. Pek çok ön çalışma yapılarak, karvakrolun dozu 100 µl/kg olarak karar verilmiştir. Bu çalışmada yapılan diğer ön çalışmaların sonuçları verilmemiştir. Karvakrol hipotonik bir kimyasal

maddedir. Serum fizyolojik içinde tam olarak çözünmemektedir. Bu yüzden karvakrol 0.1 ml DMSO içerisinde dilüe edildikten sonra intraperitoneal olarak verilmiştir.

Anestezi edilen hayvanlar operasyon masasına alınıp ekstremitelerinden birer flaster ile tespit edilip, dezenfektan madde (Betadin) ile işlem alanları temizlenmiştir. Kan alımı ve basınç takibi için sol femoral arter kateterizasyonu; sıvı infüzyonu için sol femoral ven kateterizasyonu yapılmıştır.

Deney boyunca deney hayvanının vücut sıcaklığı rektal prob aracılığıyla kontrol edilerek, ısıtmalı operasyon masası ile $37 (\pm) 0,5 ^\circ\text{C}$ ' de tutulmuştur.

3.3.2. Femoral Arter ve Ven Kateterizasyonu:

Sol inguinal alanda küçük bir insizyon yapıldı. Künt diseksiyonla genişletildi ve deriyi ekstremita kaslarına yapıştıran bağ dokusu karın duvarına doğru forsepsin iki ucu açılarak ortadan kaldırıldı. Böylece ameliyat alanı tamamen ortaya çıkarılmış oldu. Arter ve ven üzerindeki zar ince pensler yardımı ile uzaklaştırıldı ve ikisi birbirinden izole edildi. Uygun uzunlukta izole edilen arter ve ven etraflarından bir vücut bir de ekstremita tarafından olmak üzere ikişer 5/0 tip ip geçirildi. Önce ven kateterizasyonu yapılacağı için ven damarı hafifçe gerilecek şekilde iki ip arasında forseps yardımı ile askıya alınmıştır. Bu şekilde vücut tarafındaki ip ile hemostatik etki uygulanmış ve damar üzerindeki işlem kolaylaştırılmış olur. Damar üzerine yarısından fazla olmayacak şekilde küçük, eğik (45°) bir kesi yapılarak, çok ince bir forsepsle açık tutulabilecek bir çentik oluşturulup içi heparinli SF ile doldurulmuş PE-50 tip polietilen kanül 2-3 cm damar içine itilerek yerleştirilmiştir. Kanül ip ile bağlanarak tespit edilmiştir. Kanın pıhtılaşmasını önlemek için kanülün serbest ucundan heparinli SF ile dolu enjektör yardımı ile 0,2 cc heparinli SF verilerek sıçan heparinlenmiştir. Bundan sonra sol femoral arter kateterizasyonu aynı yol izlenerek yapılmıştır.

Bu işlemler sonunda arterial kateter basınç transdüseri aracılığıyla bilgisayarlı veri-kayıt ve analiz sistemine, ven kateteri ise % 9' luk SF infüzyonu için infüzyon

pompasına bağlanmıştır. Sıçan vücut sıcaklığı ($37 \pm 0,5$ °C) sabit tutulmak için sıçana uygun rektal ısı probu ile kontrol edilebilen infraruj ısıtmalı sistem ve ısı kontrollü operasyon masası kullanılmıştır. Sıvı kaybını azaltmak için kanülasyon bölgelerine SF ile ıslatılmış gazlı bez kullanılmıştır.

Cerrahi işlemlerden sonra sıçan 45 dk' lık stabilizasyon perioduna bırakılmıştır. Eğer solunum, anestezi derinliği ve kardiyovasküler parametrelerde stabilite sağlanmış ise; bu period sonunda kalibre edilmiş data acquisition analiz sisteminden baseline arterial kan basınçları ve kalp hızı kayıt edilmiştir. 45 dk' lık stabilizasyon periodu içerisinde tansiyonu stabil olmayan ve kanaması olan sıçanlar deney dışı tutulmuştur.

3.3.3. Deney Protokolü:

Yapılan tüm deneylerde sıçanlar 45 dk' lık stabilizasyon dönemine bırakılmıştır. Stabilizasyon sonrası sistolik, diastolik, ortalama arteriyel kan basınçları ve kalp hızı kaydedilmiştir. L-NAME verilen gruplarda 45 dk' lık stabilizasyon periodunu takiben sıçanın vital bulguları alındıktan sonra (10 mg / kg) L-NAME intraperitoneal olarak verilmiş ve toplam 2 saat her 5 dakikada bir kan basıncı (sistolik, diastolik ve ortalama arteriyel) ve kalp hızı kayıt edilmiştir. Diğer karvakrol verilen gruplarda da aynı deney protokolu uygulanmıştır. Tüm deney boyunca sıçanın 5 dakikada bir kan basıncı ve kalp hızı kaydedilmiştir. L-NAME + Karvakrol grubunda; önce L-NAME intraperitoneal olarak verilmiş ve 30 dk. beklenmiştir. Böylece sıçanda hipertansiyon oluşturulmuştur. Bu süre içerisinde SB, DB, MAP, KAH kayıtları alınmıştır. 30. dk' nın sonunda 100 µl/kg karvakrol 0,1 ml. DMSO içerisinde çözdürüldükten sonra I.P olarak verilmiştir ve 2 saat kardiyovasküler parametrelerin takibi ve kaydı yapılmıştır. Sıçanlar damar içi tiopental sodyum uygulaması ile öldürülerek deneyler sonlandırılmıştır.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme:

Grup içi değişiklikleri belirlemek için 2 yönlü anova testi ve duncan multiple range testi uygulanmıştır. Gruplararası karşılaştırma için, tek yönlü anova testi ve

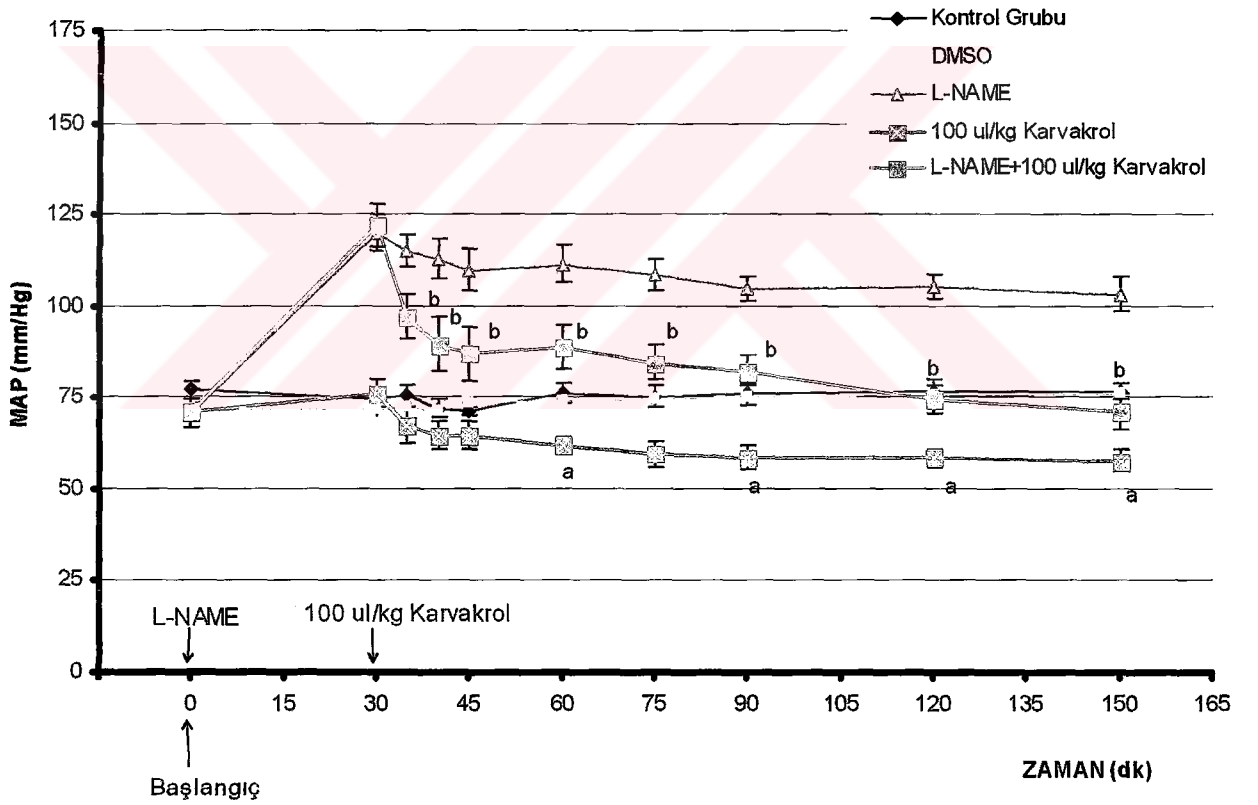
duncan multiple range testi yaplmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata şeklinde ifade edilmiştir. $P<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR:

4.1. Ortalama Arteriyel Kan Basıncı (MAP)

Şekil-6, bütün deney gruplarında zamana bağlı ortalama kan basıncı değişimlerini göstermektedir. Kontrol grubunda ve DMSO grubunda deney boyunca ortalama kan basıncında anlamlı değişiklik olmamıştır ($p>0.05$). L-NAME verilmiş grupta, L-NAME enjeksiyonunu takiben ortalama arteriyel kan basıncında anlamlı artış ($p<0,05$) gözlenmiştir. Sadece karvakrol verilen grupta kontrol grubuna göre ortalama arteriyel kan basıncında anlamlı düşme görülmüştür ($p<0.05$). L-NAME + karvakrol verilen grupta, karvakrol L-NAME'nin yükselttiği kan basıncını düşürerek 90. dakikadan itibaren kontrol değerlerine kadar indirmiştir ($p<0.05$).



Şekil 6: Kontrol, çözücü (DMSO), L-NAME, karvakrol ve L-NAME+karvakrol verilmiş sıçanlarda zamana bağlı ortalama arteriyel kan basıncı (MAP) değerleri

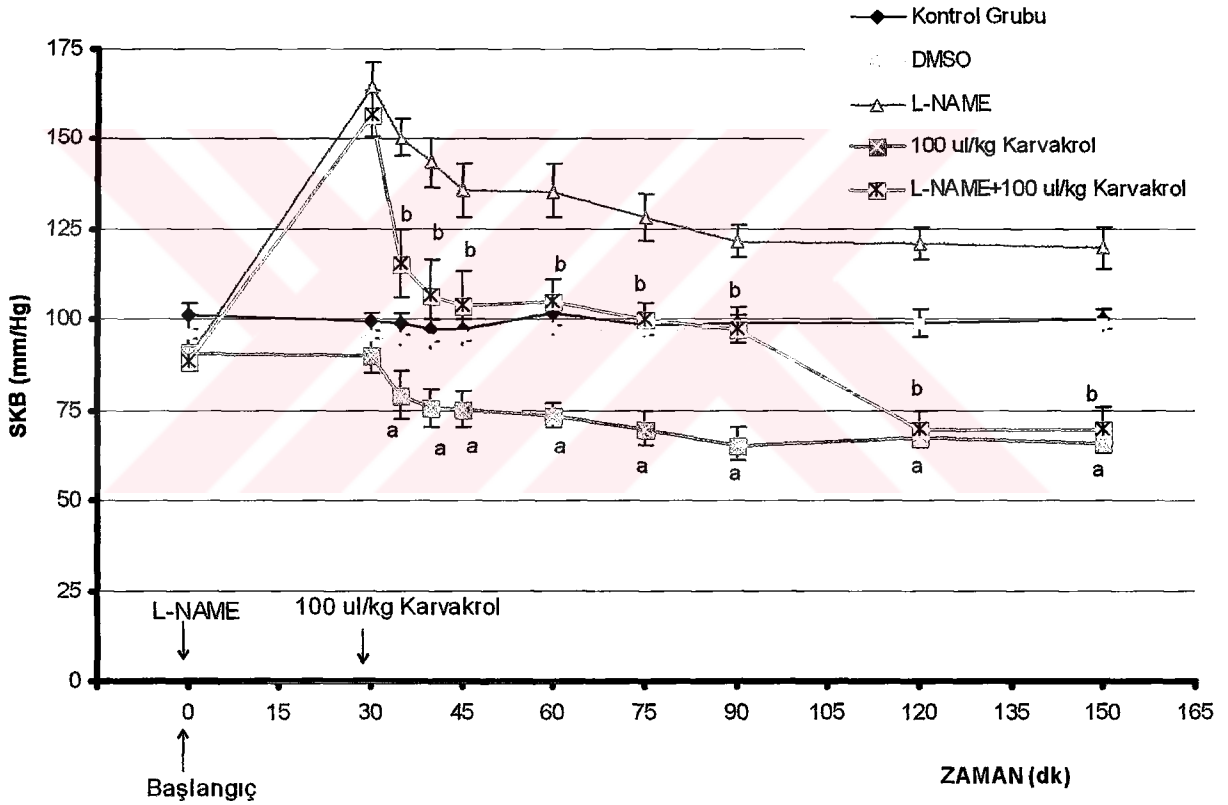
Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

a: Kontrol grubu ve 100 μ l/kg karvakrol grubu karşılaştırması anlamlı farklı ($P<0.05$).

b: L-NAME grubu ve L-NAME + karvakrol grubu karşılaştırması anlamlı farklı ($P<0.05$).

4.2. Sistolik Kan Basıncı (SKB)

Şekil-7 de kontrol, DMSO, L-NAME, karvakrol, L-NAME + karvakrol gruplarında zamana bağlı SKB değişimleri gösterilmektedir. Kontrol grubunda ve DMSO grubunda deney boyunca sistolik kan basıncında anlamlı değişiklik saptanmamıştır ($p>0,05$). L-NAME verilmiş grupta, L-NAME sistolik kan basıncını beklenildiği şekilde anlamlı olarak artırmıştır ($p<0,05$). Sadece karvakrol verilen grupta karvakrol enjeksiyonunu takiben sistolik kan basıncında kontrol grubuna göre anlamlı azalma oluşmuştur ($p<0,05$). L-NAME +karvakrol grubunda, karvakrol L-NAME'nin yükselttiği kan basıncını 45.dakikadan itibaren kontrol değerlerine 90. dakikadan sonra kontrol değerlerinin altına düşürmüştür ($p<0,05$).



Şekil 7: Kontrol, çözücü (DMSO), L-NAME, karvakrol ve L-NAME+karvakrol verilmiş sıçanlarda zamana bağlı ortalama sistolik kan basıncı (SKB) değerleri

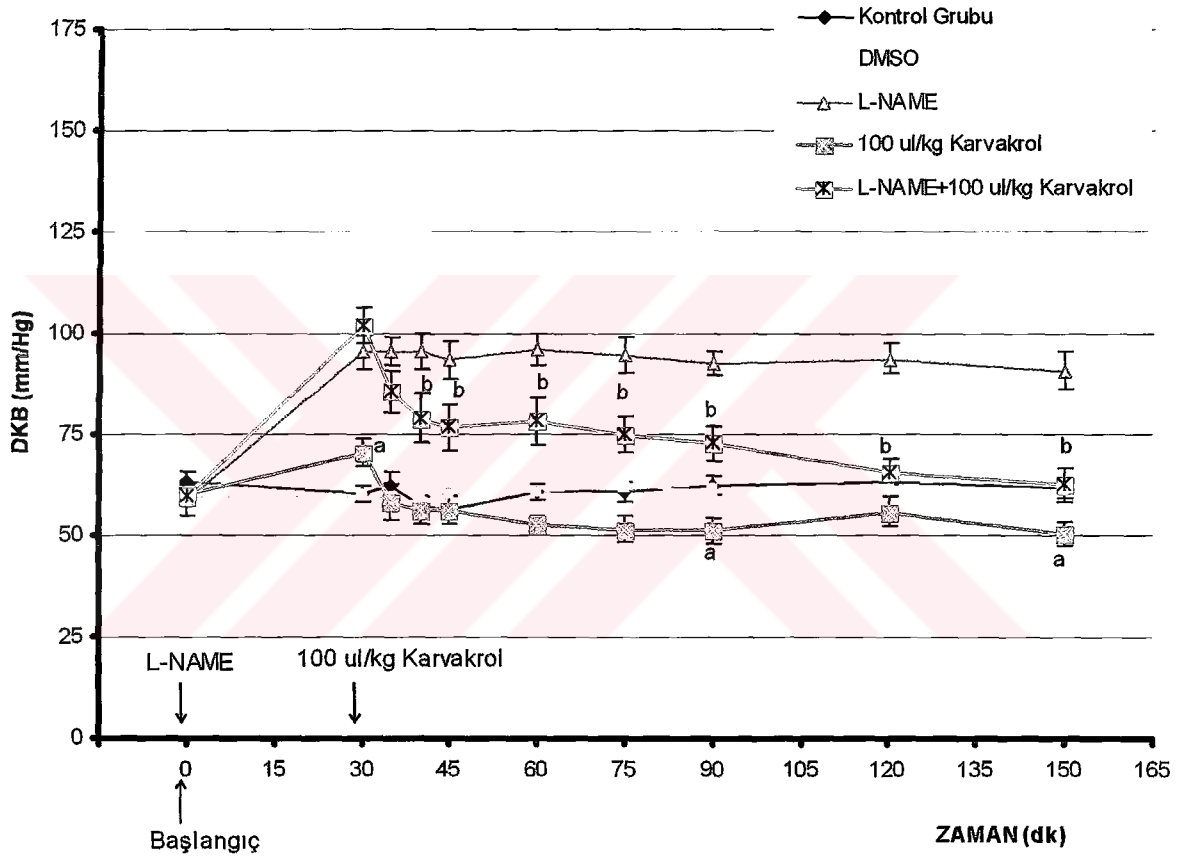
Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

a: Kontrol grubu ve 100 μ l/kg karvakrol grubu karşılaştırması anlamlı farklı ($P<0,05$).

b: L-NAME grubu ve L-NAME + karvakrol grubu karşılaştırması anlamlı farklı ($P<0,05$).

4.3. Diastolik Kan Basıncı (DKB)

Şekil-8’ de görüldüğü üzere sadece karvakrol verilen grup ve L-NAME + karvakrol verilen grupta karvakrol enjeksiyonunu takiben, MAP değerlerine benzer şekilde diastolik kan basıncında da anlamlı azalma görülmüştür ($p<0,05$).



Şekil 8: Kontrol, çözücü (DMSO), L-NAME, karvakrol ve L-NAME+karvakrol verilmiş sıçanlarda zamana bağlı ortalama diastolik kan basıncı (DKB) değerleri

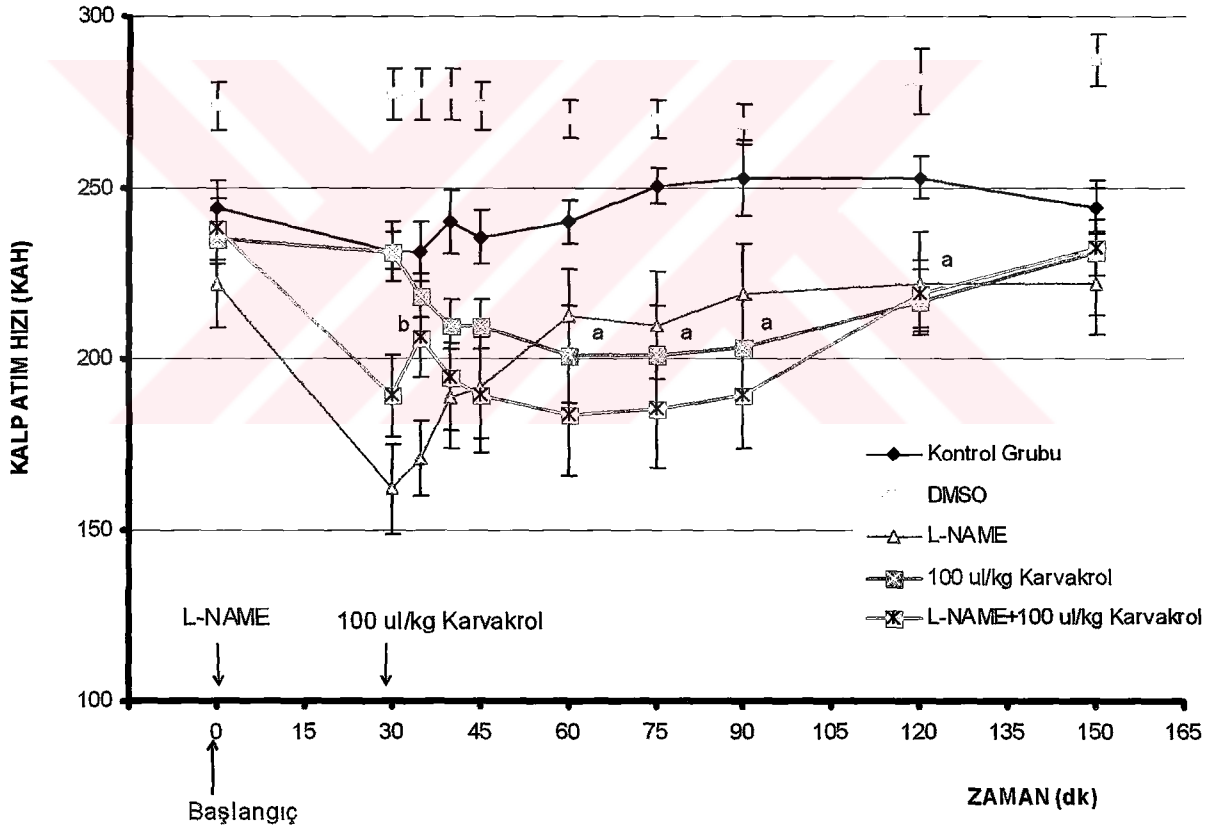
Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

a: Kontrol grubu ve 100 μ l/kg karvakrol grubu karşılaştırması anlamlı farklı ($P<0,05$)

b: L-NAME grubu ve L-NAME + karvakrol grubu karşılaştırması anlamlı farklı ($P<0,05$)

4.4. Kalp Atım Hızı (KAH)

Kontrol grubunda ve DMSO grubunda deney boyunca kalp hızında (şekil: 9) anlamlı değişiklik görülmemiştir. DMSO uygulaması başlangıç değerlerine göre kalp hızını değiştirmezken, DMSO grubu değerlerinin kontrol grubu değerlerinden anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$). L-NAME uygulaması kalp hızında anlamlı düşmeye yol açmıştır ($p<0,05$). Kalp hızı sadece karvakrol verilen grupta kontrol grubuna göre 45. dakikadan sonra anlamlı olarak azalmıştır ($p<0,05$). L-NAME + karvakrol verilen grupta kalp hızında L-NAME grubuna göre anlamlı azalma görülmemiştir ($p>0,05$) (Şekil: 9).



Şekil 9: Kontrol, çözücü (DMSO), L-NAME, karvakrol ve L-NAME+ karvakrol verilmiş sıçanlarda zamana bağlı ortalama kalp hızı (HR) değerleri

Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

a: Kontrol grubu ve 100 μ l/kg karvakrol grubu karşılaştırması anlamlı farklı ($P<0.05$).

b: L-NAME grubu ve L-NAME + karvakrol grubu karşılaştırması anlamlı farklı ($P<0.05$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ:

Karvakrol doğada bol miktarda bulunan lipofilik özellikte monoterpen grubundan bir moleküldür ve antibakteriyel, antifungal, antitümoral, özellikleri ile medikal alanda ve yiyecek endüstrisinde bilinen etkileri yanında, analjezik etkisi, düz kas etkileri ve kardiyak miyositler üzerine etkileri son yılların araştırma konuları arasındadır (16, 24, 40, 63, 64).

Biz deneylerimizde, in vivo koşullarda karvakrolun kardiovasküler etkilerini çalıştık. Karvakrol 100 µl/kg dozda fizyolojik koşullarda normal kan basıncına sahip sıçanların sistolik, diastolik ve ortalama arteriyel kan basıncını kontrol değerlerinin çok altına düşürmektedir ve bu etki oldukça uzun sürmektedir (Şekil 6, 7, 8). Bundan başka NOS inhibitörü olan ve kan basıncını kuvvetli şekilde yükselten L-NAME uygulanarak kan basıncı yükseltilmiş sıçanlarda karvakrolun etkilerine bakılmıştır. Karvakrol L-NAME ile birlikte uygulandığı zaman L-NAME etkisini antagonize ederek kan basıncının düşmesine yol açmıştır (Şekil 6, 7, 8). Ancak bu düşme ortalama arteriyel kan basıncı ve diastolik basınçta kontrol değerlerine kadar olmuş, sistolik basınçta kontrolün altına inmiştir. Bu bize karvakrolun hipotansif etkilerinin tümüyle olmasa da büyük oranda nitrik oksit (NO)' in etkilerinden bağımsız olduğunu düşündürmektedir.

Kalp atım hızı üzerinde alınan sonuçlar, sistolik, diastolik ve ortalama arteriyel kan basıncı deneylerinden farklılık göstermektedir. L-NAME, tek başına uygulandığında kalp atım hızını düşürmüştür. Muhtemelen kan basıncının aşırı yükselmesine karşı vücudun bir kompensasyon mekanizması olarak kalp hızı azalmıştır. Karvakrol da tek başına uygulandığında kalp atım hızının düşmesine yol açmıştır. Karvakrol ve L-NAME birlikte uygulandığında ise kalp atım hızının tek başına L-NAME ve karvakrol uygulaması sonucu gözlenen değerlerden daha alt düzeye indiği bulunmuştur.

Karvakrolun, antibakteriyel , antifungal, insektisidal, akarisidal, antitümör, DNA hasarını azaltıcı, antioksidan, immünostimulan, antispazmodik, analjezik, bronkodilatör, etkileri çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (1, 6, 12, 15, 20, 22, 23, 34, 35, 49, 54, 55, 58, 63, 64). Otitis media tedavisinde etkili olduğu ve köpeklerde solunum depresyonu yaptığı gösterilmiştir (21, 42). Toksik etkisinin tavşanlarda 2700mg/kg, sıçanlarda 810 mg/kg , kobaylarda ise 100-500mg/kg olduğu bildirilmiştir (21, 29). Bu bilgilere göre karvakrolun türler arasında farklı etkileri olduğu görülmektedir. Bu denli çeşitli etkileri olan karvakrolun molekül yapısına bakıldığında ise son derece basit bir yapıya sahip olduğu görülmektedir. Hücresel makromoleküller ile kimyasal bağ yapabilecek özellikte göze çarpan bir adet hidroksil grubu ve molekülün lipofilitesinin artmasını sağlayan izopropil grubu bulunmaktadır (şekil-1). Bu kadar çeşitli etkileri ortaya konmuş olan karvakrolun kardiyovasküler sistem ve düz kaslar üzerine etkilerini araştıran yeterince çalışma mevcut değildir.

Bir grup araştırmacı izmir kekiği, ak kekik isimleriyle bilinen *Origanum onites* L. bitkisinden elde edilen uçucu yağın hipotansif etkisini bildirmiştir (10). Hipotansif etkisi bildirilen bu bitkinin uçucu yağının ana bileşeninin karvakrol olduğu bilinmektedir. Öte yandan çok eski yıllarda yapılan bir çalışmada karvakrolun tavşanlarda kan basıncı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (39). Çalışmamızda karvakrolun her iki cinsten sıçanlarda kan basıncı üzerinde etkili olan dozu 100µl/kg saptanmıştır. Bu dozda karvakrol uygulandığında diastol, sistol ve ortalama arteriyel kan basınçlarını azalttığı, kalp atım hızını düşürdüğü, L-NAME etkisini inhibe ederek kan basıncının düşmesine neden olduğu bulunmuştur. Kapalı molekül formülünün karvakrol ile aynı olduğu fakat sadece hidroksil molekülünün karvakrolden farklı pozisyonda olduğu bir molekül olan timolun, kalsiyum ve potasyum kanallarını bloke ettiği, karvakrolun ise insan ve köpek ventriküler myositleri üzerindeki kalsiyum kanallarını inhibe ettiği bildirilmiştir (43, 44). Öte yandan T hücrelerinde kalsiyum mobilizasyonunu artırdığı ve MAPKinaz aktivasyonu yaptığı bildirilmektedir (24). İzole sıçan mide fundusu üzerinde yapılan çalışmalarda kolinerjik kasılmalar üzerinde karvakrolun anlamlı etkileri olmadığı bildirilmiştir (7). Boskabady ve

arkadaşları kobay trakeası üzerinde karvakrolun kuvvetli gevşetici etkisi olduğunu göstermiş, bu gevşetici etkinin β_2 -adrenerjik stimulatör, histamine- H_1 ve kolinerjik bloklayıcı etkiden bağımsız olduğunu ileri sürmüşlerdir (15).

Bu bilgiler ışığında, karvakrolun deneylerimizde gözlenen hipotansif ve bradikardik etkilerinin kalsiyum kanallarının blokajı üzerinden geliştiği, kalp atım hızının düştüğü, fakat düşen kan basıncının düzenlenmesi için devreye girmesi beklenen refleks sempatik etkinin ise karvakrol tarafından ayrıca bloke edilerek hipotansif etkinin devam ettiği düşünülmektedir (şekil-6, 7, 8, 9). Ana bileşen olarak karvakrolun olduğu kekik yağının, santral etkileri ve karvakrolun köpeklerde solunum depresyonu yaptığını bildiren çalışmalar dikkate alınacak olursa, karvakrolun özellikle kardiyak kalsiyum kanalları üzerindeki etkisinin yanı sıra, santral etkilerinin de olduğu, santral etkiler nedeniyle kan basıncının düşmesine neden olduğu düşünülmektedir. L-NAME etkisi ile yükselen kan basıncının karvakrol ile kontrol değerlerine düşürülebilmesi, karvakrolu hipertansiyon tedavisinde umut veren yeni bir madde olarak öne çıkarabilir.

Diastolik, sistolik, ortalama arteriyel kan basıncı ve kalp hızı üzerinde karvakrolun etkileri, yapılan bilgi taraması ışığında ilk kez çalışmamızda ele alınmıştır ve santral sinir sistemini etkilediği bildirilmiş olan karvakrolun ayrıca santral etkisi üzerinden hipotansiyona neden olduğu bu çalışmada ileri sürülmektedir. Ayrıca, kalp hızının L-NAME + karvakrol grubunda tek başına L-NAME ve karvakrol verilen gruplara göre daha fazla düşmesinde rol oynayan mekanizmalar üzerinde santral komponentlerin ne denli rol oynadığı henüz tümüyle aydınlatılmış değildir ve bu soru ilk kez çalışmamız sonucunda ortaya atılmış bulunmakta ve ileri çalışmalarla aydınlatılmayı beklemektedir. Ayrıca karvakrolun uzun süreli kan basıncı düzenleme mekanizmaları (renin-angiotensin-aldosteron) ile ilişkisi ve böbreklerle olası bağlantıları cevap bekleyen sorular arasındadır.

6. KAYNAKLAR:

- 1) Aeschbach R., Loliger J., Scoott BC., Murcia A., Butler J., Halliwell B., Aruoma OI.: Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerono and hydroxytyrosol. *Food and Chemical Toxicology*, 32:31-36, 1994.
- 2) Anggard E.: Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet*, 343: 119–206, 1994.
- 3) Antonia N., Anna R. Blanco, Maria A. Cannatelli, Vincenzo Enea, Guido Flamini, Ivano Morelli, Andrea Sudano Roccaro, Vittorio Alonzo. : Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *FEMS Microbiology Letters* 11340:1-5, 2003.
- 4) Arı O.: Normal Kan Basıncı ve Hipertansiyon. Bozak matbaası, İstanbul, 351, 1987.
- 5) Austgulen LT., Solheim E., Scheline RR.: Metabolism in rats of p-cymene derivatives: carvacrol and thymol. *Pharmacol Toxicology*, 61: 98-102, 1987.
- 6) Aydın S., Basaran A.A., Basaran N.: Modulating effects of thyme and its major ingredients on oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1299-135, 2005.
- 7) Aydın S., Seker E.: Effect of aqueous distillate of *Origanum onites L.* on isolated rat fundus, duodenum and ileum: Evidence for the role of oxygenated monoterpenes. *Pharmazie*, 60: 147-150, 2004.

- 8) Aydın S.: İnsan Anatomisi ve Fizyolojisi, birinci baskı, Anadolu Üniversitesi Yayını, Eskişehir, 149–176, 2000.
- 9) Aydın S., Aral E., Aydın Y., Öztürk Y., Başer KHC.: Kekik (*Origanum Onites L.*) Uçucu Yağının Mast Hücreleri Degranülasyonunu İnhibe Edici Etkisi. XIV. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Antalya, 2-7 Kasım 1997.
- 10) Aydın S. 'Kekik (*Origanum onites L.*) Yağ Altı Suyunun Farmakolojisi. Doktora tezi, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, ESKİŞEHİR, 1996.
- 11) Aydın S., Oztürk Y., Baser KHC.: Kekik (*Origanum onites L.*) uçucu yağının kardiyovasküler sistem üzerinde etkisi. (XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 22-24 Mayıs 1996, Ankara) XI.Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Özetleri, 37, 1996.
- 12) Aydın S., Oztürk Y., Beis R., Baser KHC.: Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* essential oils for analgesic activity. *Phytotherapia Research*, 10:342-344, 1996.
- 13) Bagamboula C.F., Uyttendaele M., Debevere J.: Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. Flexneri*. *Food Microbiology*, 21:33–42, 2004.
- 14) Tepe B., Sökmen M., H. Askin Akpulat, Daferera D., Polissiou M., Sokmen, A.: Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. *Journal of Food Engineering*, 66:447-454, 2005.

- 15) Boskabady H.M., Jandaghi P.: Relaxant effects of carvacrol on guinea pig tracheal chains and its possible mechanisms. *Pharmazie*, 58:661–663, 2003.
- 16) Bouchra C., Achouri M., Hassani Idrisi M.L., Hmamouchi M.: Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers:Fr. *Journal of Ethnopharmacology*, 89:165–169, 2003.
- 17) Brooks V. L., Osborn J.W.: Hormonal – sympathetic interactions in long – term regulation of arterial pressure: an hypothesis. *American Journal of Physiology*, 268:1343–1358, 1995.
- 18) Broucke Van Den CO., Lemli JA.: Antispasmodic activity of *Origanum compactum*. Part 2: Antigonistic effect of thymol and carvacrol. *Planta Medical*, 45:188-190, 1982.
- 19) Bullock J., Boyle J., Wang B. M.: NMS Fizyoloji, ikinci baskı, Saray Medikal Yayıncılık, İzmir, 93-148, 1994.
- 20) Burt, SA., Vlieland R., Haagsman HP., Veldhuizen EJ. : Increase in activity of essential oil components carvacrol and thymol against *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇ by addition of food stabilizers. *Journal of Food Protection*, 68:919-926, 2005.
- 21) Caujolle F., Franck C.: Comparative toxicities of thymol and carvacrol. *Soc. Chim. Biol. Bull.*, 26: 334-342, 1944.
- 22) Chami F., Chami N., Bennis S., Trouillas J., Remmal A.: Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in an immunosuppressed rats. *Brazilian Journal Infectious Diseases*, 8: 217-226, 2004.

- 23)** Chami F., Chami N., Bennis S., Trouillas J., Remmal A.: Evaluation of carvacrol and eugenol as prophylaxis and treatment of vaginal candidiasis in an immunosuppressed rat model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54: 909-914, 2004.
- 24)** Chan AS., Pang H., Yip EC., Tam YK., Wong YH.: Carvacrol and eugenol differentially stimulate intracellular Ca²⁺ mobilization and mitogen-activated protein kinases in Jurkat T cells and monocytic THP-1 cells. *Planta Medica*, 71:634-9,2005.
- 25)** Clancy RM., Leszczynska-Piziak J., Abramson SB.: Nitric oxide, an endothelial cell relaxation factor, inhibits neutrophil superoxide anion production via a direct action on the NADPH oxidase. *Journal of Clinical Investigation*, 90: 1116–1121, 1992.
- 26)** Cowley AW Jr.: Long-Term control of arterial blood pressure. *Physiological Reviews*, 72:231–300, 1992.
- 27)** Didry N., Dubreuil L., Pinkas M.: Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 69:25-28, 1994.
- 28)** Didry N., Dubreuil L., Pinkas M.: Antibacterial activity of thymol, carvacrol and cinnamaldehyde alone or in combination. *Pharmazie*, 48:301-4, 1993.
- 29)** Duke JA.: Phytotoxin tables. *CRC Critical Reviews in Toxicology*, 5: 189-237, 1977.
- 30)** Erdemgil Z.:O. Onites L. Uçucu Yağının Bileşimi. Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, 1992.
- 31)** Ganong F. W.: *Review of Medical Physiology*.19th Ed. Appleton and Lange, California, 544–665, 1999.

- 32)** Geisterfer A.A.T., Peach M.J., Owens G.K.: Angiotensin II induces hypertrophy, not hyperplasia, of cultured rat aortic smooth muscle cells. *Circulation Research*, 62:467–72, 1988.
- 33)** Guyton & Hall.:Textbook of Medical Physiology, 10th Ed., W.B. Saunders Company, 96–207, 2001.
- 34)** He L, Mo H, Hadisusilo S, Qureshi AA, Elson CE: Isoprenoids suppress the growth of murine B16 melanomas in vitro and in vivo. *Journal of Nutrition*, 127: 668-674, 1997.
- 35)** Hedin PA., Thompson AC., Gueldner RC.: A survey of the volatile constituents of cotton lint and waste with regard to byssinosis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23: 698, 1975.
- 36)** Hodsman G.P., Sumithran E., Harrison R.W., Jonhston C.I.: Cardiac hypertrophy and salt status in chronic myocardial infarction in the rat: effects of enalapril versus Salt restriction. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 12:467– 472, 1988.
- 37)** <http://www.origanumoil.com/carvacrol.htm>.: Mediterranean-Guaienteed Wild. Mountain-Grown Houdpicked. The Turkish Oregano Company.
- 38)** Isman B. M., Wan J. A., Passreiter M.C.: Insecticidal activity of essential oils to the tobacco cutworm, *Spodoptera litura*. *Fitoterapia*, 72:65–68, 2001.
- 39)** Ito H.: Pharmacological studies on acidic oil of *Thujopsis dolabrata*. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 53: 633, 1957.
- 40)** Karaman S., Digrak M., Ravid U., Ilcim A.: Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 76:183–186, 2001.

- 41) Kayaalp S.O.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. cI,cII, 8. baskı, Feryal matbaa, Ankara, 1997.
- 42) Kristinsson KG., Magnúsdóttir AB., Petersen H, Hermansson A.: Effective treatment of experimental acute otitis media by application of volatile fluids into the ear canal. *Jornal of Infectious Diseases*, 191: 1876-1880, 2005.
- 43) Magyar J., Szentandrassy N., Banyasz T., Fülöp L., Varro A., Nanasi P.P.: Effects of terpenoid phenol derivatives on calcium current in canine and human ventricular cardiomyocytes. *European Journal Pharmacology*, 487:29–36, 2004.
- 44) Magyar J., Szentandrassy N., Banyasz T., Fülöp L., Varro A., Nanasi P.P.: Effects of thymol on calcium and potassium currents in canine and human ventricular cardiomyocytes. *British Journal of Pharmacology*, 136: 330-338, 2002
- 45) Moncada S.: Higgs A. The L- arginine -nitric oxide pathway. *The New England Journal of Medical*, 329:2002-2012, 1993.
- 46) Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A.: Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 43:109–42, 1991.
- 47) Noyan A.: Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 13. baskı, Metaksan, Ankara: 771–839, 1995.
- 48) Palmer R.M.J., Ferrige A.G., Moncada S.: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium- derived relaxing factor. *American journal of Surgery*, 170:292-303, 1995.

- 49) Panella NA., Dolan MC., Karchesy JJ., Xiong Y., Peralta-Cruz J., Khasawneh M., Montenieri JA., Maupin GO.: Use of novel compounds for pest control: insecticidal and acaricidal activity of essential oil components from heartwood of Alaska yellow cedar. *Journal of Medical Entomology*, 42: 352-358, 2005.
- 50) Pfeffer JM., Pfeffer MA., Braunwald E.: Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circulation Research*, 57:84-95, 1985.
- 51) Rees DD., Palmer RM., Schulz R., Hodson HF., Moncada S. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 246:218-26, 1988.
- 52) Rodeberg DA., Chaet MS., Bass RC., Arkovitz MS., Garcia VF.: Nitric oxide: an overview. *American Journal of Surgery*, 170:292-303, 1995.
- 53) Stamatii A., Bonisi P., Zucchi F., Moezelaar R., Alakomi H-L., Wright von A.: Toxicity of selected plant volatiles in microbial and mammalian short-term assays. *Food and Chemical Toxicology*, 37:813-823, 1999.
- 54) Tampieri MP., Galuppi R, Macchioni F., Carelle MS., Falcioni L., Cioni PL, Morelli I.: The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. *Mycopathologia*, 159: 339-345, 2005.
- 55) Tepe B., Daferera D, Sokmen M, Polissiou M, Sokmen A.: In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and various extracts of *Thymus eigi*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 1132-1137, 2004.
- 56) Ultee A., Smid E.J.: Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. *International Journal of Food Microbiology*, 64:373-378, 2001.

- 57) Umans JG., Levi R.: Nitric oxide in the regulation of blood flow and arterial pressure. *Annual Review of Physiology*, 57:71–790, 1995.
- 58) Van den Broucke CO, Lemli JA.: Antispasmodic activity of *Origanum compactum*. Part 2: Antagonistic effect of thymol and carvacrol. *Planta Medica*, 45:188-190, 1982.
- 59) Vanhoutte P.M. Endothelium vasculaire et tonus vasomoteur. *Revue Medicale Liege*, 50:418–426,1995.
- 60) Vasoxen Ürün monografi, Menarını group, İ.E. Ulagay İlaç Sanayii Türk A.ş.:9-30.
- 61) Vincenzi De M., Stamatı A., Vincenzi De A., Silano M.: Constituents of aromatic plants: carvacrol. *Fitoterapia*, 75:801–804, 2004.
- 62) Yakar K.: Fizyoloji, beşinci baskı, Nobel Yayın Dağıtım Evi, Ankara, 149–160, 2003.
- 63) Zeytinođlu H., İncesu Z., Başer KH.: Inhibition of DNA synthesis by carvacrol in mouse myoblast cells bearing a human N-RAS oncogene. *Phytomedicine*, 10:292-4, 2003.
- 64) Zeytinođlu M., Aydın S., Öztürk Y., Başer KHC: Inhibitory effects of carvacrol on DMBA induced pulmonary tumorigenesis in rats. *Acta Pharmaceutica Turcica*, 40: 93-98, 1998.