

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İN VİVO SIÇANDA ANJİOTENSİN II
RESEPTÖRBLOKERLERİNİN (AT₁, AT₂) VE ANJİOTENSİN
DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM İNHİBİTÖRÜ KAPTOPRİLİN
MİYOKARDİYAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINA
ETKİSİNDE BRADİKİNİNİN ROLÜ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Seda AĞLAMİŞ (TAŞDEMİR)
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ahmet ACET

MALATYA-2006

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

***İN VİVO* SIÇANDA ANJİOTENSİN II
RESEPTÖRBLOKERLERİNİN (AT₁, AT₂) VE ANJİOTENSİN
DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM İNHİBİTÖRÜ KAPTOPRİLİN
MİYOKARDİYAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINA
ETKİSİNDE BRADİKİNİNİN ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Seda AĞLAMİŞ (TAŞDEMİR)
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ahmet ACET**

Bu tez, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2004/74 proje numarası ile desteklenmiştir.

| İÇİNDEKİLER | SAYFA |
|--|--------------|
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 4 |
| 2.1.Normal Kalp Fizyolojisi | 4 |
| 2.2.Kalpte iskemi-reperfüzyon hasarı | 5 |
| 2.2.1.İskeminin elektriksel aktivite üzerine etkileri | 6 |
| 2.2.2.İskeminin kontraktıl fonksiyonlar üzerine etkileri | 7 |
| 2.3.Reperfüzyon hasarının mekanizmaları | 8 |
| 2.3.1.Serbest oksijen radikalleri | 9 |
| 2.3.2.Nötrofil aktivasyonu | 11 |
| 2.3.3.Kompleman sisteminin rolü | 13 |
| 2.4.Kardiyak nekroz | 14 |
| 2.5.Renin-Anjiotensin sistemi | 15 |
| 2.5.1.Sistemik Renin-Anjiyotensin sistemi | 15 |
| 2.5.2.Lokal Renin-Anjiyotensin sistemi | 16 |
| 2.5.3.Anjiotensin dönüştürücü enzim (ADE) | 17 |
| 2.6.Anjiotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri | 17 |
| 2.7.Anjiotensin II ve reseptörleri | 20 |
| 2.7.1.Anjiotensin II Tip 1 reseptörü | 21 |
| 2.7.2.Anjiotensin II Tip 2 reseptörü | 24 |
| 2.7.3.Anjiotensin II Tip 4 reseptörü | 26 |
| 2.8.Kallikrein Kinin Sistemi ve KVS Etkileri | 26 |
| 2.8.1.Kininlerin Sentezi | 27 |
| 2.8.2.Kininlerin Enzimatik Yıkımı | 27 |
| 2.8.3. Kinin Reseptörleri | 28 |
| 2.8.4. Hipertansiyon ve Bradikinin | 29 |
| 2.8.5. Sol Ventrikül Hipertrofisi ve Bradikinin | 30 |
| 2.8.6. Kalp Yetersizliğı ve İskemide Bradikinin | 31 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 34 |
| 3.1.Deney hayvanları ve gruplar | 34 |
| 3.2.Cerrahi uygulama | 34 |
| 3.3.İlaç uygulaması | 35 |
| 3.4.Hemodinamik parametrelerin değeriendirilmesi | 35 |
| 3.5.Nekroz alanı tayini | 36 |

| | |
|---|-----------|
| 3.6.İstatistik | 36 |
| 4. BULGULAR | 37 |
| 4.1.Kullanılan ilaçların kan basıncı üzerine etkileri | 37 |
| 4.2.Kullanılan ilaçların kalp hızı üzerine etkileri | 38 |
| 4.3.Kullanılan ilaçların nekroz alanına etkileri | 40 |
| 5. TARTIŞMA | 42 |
| 6. ÖZET | 47 |
| 7. SUMMARY | 48 |
| 8. KAYNAKLAR | 49 |

TEŐEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında her aŐamada sürekli teŐvik ve desteklerini gördüğüm tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Ahmet Acet'e, çalışmalarım esnasında öneri, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocam Prof. Dr. Ercüment Ölmez'e en derin saygı ve teŐekkürlerimi sunarım.

Özellikle tezimin deneysel kısmının hemen her aşamasında yardımlarını gördüğüm Şu anda Malatya Devlet Hastanesinde görevli Dr.Hakan Parlakpınar'a ve Anabilim Dalımızda görevli Uzm. Dr. Mustafa Iraz'a teŐekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca araştırma süresince desteğini gördüğüm sevgili eşime çok teŐekkür ederim.

ÇİZELGELER DİZİNİ:

Tablo 1: Bradikinin, Kaptopril, Losartan, PD123319, Losartan+HOE140, Kaptopril+HOE140 PD123319+Bradikininin ortalama kan basıncına etkileri.

Tablo 2: Bradikinin, Kaptopril, Losartan, PD123319, Losartan+HOE140, Kaptopril+HOE140 PD123319+Bradikininin ortalama kalp atım hızı üzerine etkileri.

Tablo 3: Bradikinin, Kaptopril, Losartan, PD123319, Losartan+HOE140, Kaptopril+HOE140 PD123319+Bradikininin Nekroz/Total kalp alanı üzerine etkileri.

ŐEKİLLER DİZİNİ:

Şekil1: Bradikinin, Kaptopril, Losartan, PD123319, Losartan+HOE140, Kaptopril+HOE140 PD123319+Bradikininin ortalama kan basıncına etkilerinin grafiksel olarak gösterimi

Şekil 2: Bradikinin, Kaptopril, Losartan, PD123319, Losartan+HOE140, Kaptopril+HOE140 PD123319+Bradikininin ortalama kalp atım hızı üzerine etkileri grafiksel olarak gösterimi

Şekil 3: Bradikinin, Kaptopril, Losartan, PD123319, Losartan+HOE140, Kaptopril+HOE140 PD123319+Bradikininin Nekroz/Total kalp alanı üzerine etkileri grafiksel olarak gösterimi

KISALTMALAR

| | |
|------------------|---|
| A ₀ | Anjiotensinojen |
| Ang I | Anjiotensin I |
| Ang II | Anjiotensin II |
| ADE | Anjiotensin Dönüştürücü Enzim |
| APP | Amino Peptidaz P |
| AT ₁ | Anjiotensin Tip 1 Reseptörü |
| AT ₂ | Anjiotensin Tip 2 Reseptörü |
| BK | Bradikinin |
| B1 | Bradikinin Tip 1 Reseptörü |
| B2 | Bradikinin Tip 2 Reseptörü |
| Dk | Dakika |
| EF | Ejeksiyon Fraksiyonu |
| GSH-Px | Glutasyon Peroksidaz |
| I-R | İskemi-Reperfüzyon |
| İ.V | İntra Venöz |
| CAT | Katalaz |
| KKS | Kallikrein Kinin Sistemi |
| KVS | Kardiyovasküler Sistem |
| KKY | Konjestif Kalp Yetmezliği |
| CP | Kreatin Fosfat |
| MAK | Membran Atak Kompleksi |
| MI | Miyokard İnfarktüsü |
| NEP | Nötral Endo Peptidaz |
| NE | Nörepinefrin |
| NO | Nitrik Oksit |
| NAD | Nikotinamid Adenin Dinükleotid |
| OAKB | Ortalama Arteriyel Kan Basıncı |
| OKH | Ortalama Kalp hızı |
| PTCA | Perkütan Transluminal Koroner Anjioplasti |
| PAF | Platelet Aktive Edici Faktör |
| PMNL | Polimorfonükleer Lökosit |
| PARS | Poli ADP-Riboz Sentaz |
| PGI ₂ | Prostasiklin |
| RAS | Renin Anjiotensin Sistemi |
| Sn | Saniye |
| LVEDV | Sol Ventrikül end-diastolik Volüm |
| LVESV | Sol Ventrikül end-Sistolik Volüm |
| SOD | Süperoksit Dismutaz |
| TTC | Trifenil Tetrazolium Klorid |

BÖLÜM 1

GİRİŞ VE AMAÇ

İskemik kalp hastalığı insanlarda en önemli morbidite ve mortalite sebebidir. Dünya sağlık örgütünün verilerine göre 2020 yılına kadar da dünyada major ölüm sebebi olacaktır (1). ABD’de yılda yaklaşık olarak 700.000 kişinin kardiyovasküler sistem(KVS) hastalıklarına bağlı olarak öldüğü bildirilmektedir. Bu oran total mortalitenin yaklaşık %40’ını oluşturmaktadır (2). Türkiyede de KVS hastalıkları ölüm nedenleri arasında ilk sırayı almaktadır (3). En sık karşılaşılan şekli koroner aterosklerotik kalp hastalığı denilen, koroner ateroskleroz nedeniyle, miyokardı besleyen kan akımının klinik ve patolojik belirti verecek düzeyde azalmış olduğu durumdur (4).

Miyokardiyal iskemi; ateroskleroz, tromboembolizm, PTCA (percutaneous transluminal coronary angioplasty), koroner arter bypass ve transplantasyon gibi fizyolojik ve terapötik uygulamalar neticesinde ortaya çıkabilmektedir. İskeminin önemi, miyokarda yeterli glukoz ve oksijen sağlanamamasıyla beraber, anaerobik glukozla bağlı olarak biriken NADPH, sitrat, laktat, H⁺ ve K⁺ gibi metabolik artıkların temizlenememesinden kaynaklanmaktadır (5, 6). Sonuç olarak, oksidatif metabolik yollar inhibe olur ve bunlar miyokardiyal disfonksiyon ve hücre ölümüne (nekroz) neden olan bir dizi olaylar zincirini başlatır (7).

İskemik dokuda kan akımının yeniden sağlanmasına reperfüzyon adı verilir. Reperfüzyon geçici arteryel oklüzyon nedeniyle spontan olarak yada trombolitik ve balon anjioplastik tedavi sonrasında iatrojenik olarak oluşabilir (8). Reperfüzyon iskemik dokunun fonksiyonlarının ve hücrelerinin canlılığının korunmasında çok önemlidir (9). Ancak Braunwald ve Kloner tarafından “double edged sword (iki ucu

keskin bıçak)” olarak tanımlanan reperfüzyonun uygun koşullarda ve uygun zamanda yapılmadığında bir takım ciddi ve istenmeyen sonuçlara neden olduğu bildirilmiştir (1). Reperfüzyonda iskemi ile başlayan sürecin hızlanması veya yeni patofizyolojik olayların başlaması söz konusudurki bu reperfüzyon hasarı olarak adlandırılır (10). Yapılan deneysel çalışmalarda reperfüzyonun paradoksik olarak bazı morfolojik değişikliklere; istirahat geriliminin artması (kontraktür), enzim yıkımının artması (11,12) ve ventriküler fibrilasyon gibi ciddi ventriküler aritmilere (13) yol açabildiği bildirilmektedir. Reperfüzyonda oluşan aritmilerin çok tehlikeli oldukları, cerrahi operasyonlar sırasında (örneğin kardiyopulmoner by-pass sırasında meydana gelen reperfüzyon aritmileri) daha iyi anlaşılmıştır. Son zamanlarda akut miyokard infarktüsülü (MI) hastalara uygulanan trombolitik tedavi nedeniyle konu daha da önem kazanmıştır. Bulgular reperfüzyonun indüklediği ventriküler fibrilasyonun ani kardiyak ölüm nedenlerinden biri olduğunu göstermektedir (11). İskemi–reperfüzyon (IR) bağlı miyokard hasarının patofizyolojik mekanizmaları henüz tamamen anlaşılamamıştır. Aşırı serbest radikal üretimi, hücre içi Ca^{+2} iyon dengesizliği ve renin-anjiyotensin sistemi, nötrofil, trombositler ile komplement sisteminin reperfüzyon hasarında rolü olduğu gösterilmiştir (1).

Renin-Anjiyotensin Sistemi (RAS) vücut sıvı ve elektrolit dengesi ve arteryel basıncı etkilemek suretiyle kardiyovasküler, renal ve adrenal fonksiyonları kontrol eder. RAS’ın ana medyatörü olan anjiyotensin II (Ang II)vazokonstriksiyon, aldesteron ve vazopressin salınımı, sodyum ve su retansiyonu ve sempatik aktivasyona neden olur. Bu nedenle RAS hipertansiyonun ve kalp yetmezliğinin fizyopatolojisinde önemli bir role sahiptir (14). Vazokonstriktör bir peptid olan Ang II nin oluşumunu bloke ederken, vazodilatatör bir bir peptid olan bradikininin (BK) de yıkılımını önleyen anjiyotensin dönüştürücü enzim(ADE) inhibitörleri konjestif kap yetmezliği ve hipertansiyon tedavisinde önemli ajanlardır (15). Bu özelliklerinin yanı sıra ADE inhibitörleri post iskemik enzimleri ve norepinefrin(NE) salınımını (16), fonksiyonel ve metabolik hasarı (17,18) ve reperfüzyon aritmelerini (19,20) azaltmaları ile miyokardiyal IR hayvan modellerinde ‘kalp koruyucu” olduğu gösterilmiştir.

Ang II’nin etkilerine Ang II tip 1(AT1) ve Ang II tip 2 (AT2) olarak tanımlanan iki reseptör alt tipinin aracılık ettiği bilinmektedir (21). Bu iki reseptör alt tipinin birbirine zıt etkilere sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (22-24). Ang II’nin kardiyovasküler sistem üzerindeki bilinen en önemli etkilerine AT1 reseptörü aracılık eder (25). AT1 vasküler düz kas hücreleri, kalbin iletim sistemi, fibroblast ve kardiyak

miyositlerin üzerinde çok sayıda bulunur. AT1'in uyarılması hücrelerde hipertrofi ve proliferasyona, kontraktil cevapta artışa neden olur (26). AT1 reseptör antagonisti Losartanın infarkt alanını azaltıp, ventriküler fonksiyonları iyileştirip, kalp hücrelerinde apoptozisi inhibe etmek suretiyle kalbi koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. AT1 reseptör antagonistleriyle tedavi plazma AngII seviyesini artırarak AT2 reseptörlerinin uyarılmasına neden olmaktadır. AT2 reseptörlerin uyarılması kalp fibroblastlarında büyüme ve ekstrasellüler matrix oluşumunu inhibe ederek, negatif kronotropik etki göstererek kalbi koruyucu rol oynar. AT2 reseptörü bu etkilerini kinin/NO/cGMP sistemini aktive ederek gerçekleştirir (27).

Kallikrein Kinin Sistemi (KKS) kallikreinler, kininojenler, kininler, kinin yıkıcı enzimler ve kinin reseptörlerinden oluşan bir sistemdir (28). Farmakolojik olarak aktif polipeptid olan kininler kininojenlerden kallikreinlerin enzimatik etkileri sonucu olarak doku ve vücut sıvılarından salınırlar. Kinin ailesi bradikinin (BK), kallidin, methionyl-lysyl-BK den oluşur (29). KKS'nin tüm komponentleri kalp kasında lokalizedir ve bu sistemdeki bozulma kalp fonksiyon bozukluğuna neden olabilir. Kininler iki tip reseptörleri aracılığıyla etkiler. Tip1 (B1) ve Tip2 (B2) reseptörler. Geniş spektrumlu bir aktiviteye sahip olan kininler güçlü vazodilatatörlerdir, natriürezis ve diürezisi desteklerler ayrıca postiskemik lökositlerin endotele yapışmasını, mikrovasküler bariyerdeki bozulmağı ve doku hasarını azaltarak IR hasarında koruyucu rol oynarlar (30). İskemi süresince lokal BK salınımının bir kaç kat arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (31). Ayrıca endojen kinin peptidlerinin, ADE inhibitörlerinin hipotansif etkisine aracılık ettiği ve koroner vasküler tonusun regülasyonunda rolleri olduğunda gösterilmiştir (32). ACE inhibitörleri ve angiotensin reseptör blokerlerinin (ARB) kalp koruyucu etkisinin selektif B2 reseptör blokeri olan HOE-140 ile ortadan kalktığını gösteren çalışmalar vardır (33-36).

Bu deneysel çalışmamızda *in vivo* olarak sıçanlarda oluşturulan miyokardiyal I-R modelinde; ADE inhibitörlerinden kaptopril, AT₁ selektif reseptör blokörü losartan ve AT₂ selektif reseptör blokörü PD123319' un hem hemodinamik parametrelere hem de infarkt alanına etkilerinde BK'nin rolünü karşılaştırmalı olarak inceleyerek olayın fizyopatolojik mekanizmalarının açığa çıkarılması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2. 1. Normal Kalp Fizyolojisi

Kalp; sağ ve sol atriyum ve ventriküller olmak üzere 4 boşluktan oluşur. Bu boşlukları birbirinden ayıran bölmelerin dış duvara tutunduğu yerlerde oluklar bulunur. Bu oluklardan atriumlarla ventrikülleri birbirinden ayırana taç' a benzediği için sulkus koronarius denilir. Sulcus koronariusun içerisinde kalbi besleyen damarların ana bölümleri ile sinus koronarius bulunur. Sol atriyuma, sağ ve sol vena pulmonalisler açılır. Sağ atriyuma, vena kava superior, vena kava inferior ve kalbin venöz dolaşımının yaklaşık %60' ını toplayan sinus koronarius boşalır (37, 38). Kalp kası, beyin hariç diğer organlardan daha fazla oksijene gereksinim duymaktadır. Kalp kası, içinde bulunan kandan direkt olarak yararlanamaz. Kalbi besleyen damarlar arteria koronarius olarak adlandırılır ve aortadan direkt çıkarlar. Koroner arterlerle gelen kan, vena kordis aracılığıyla sağ atriyuma dökülür. Kalbin pompaladığı tüm kanın %5-10' u (günde 380 litre) kalp duvarının beslenmesi için kullanılır. Sağ ve sol olmak üzere iki adet olan koroner arterler aortanın başlangıcından çıkarlar. Sağ koroner arter, aortadan çıktıktan sonra önce sağ atrium ve ventrikül arasındaki olukta (sulkus koronarius), daha sonra kalbin alt yüzünde interventriküler olukta ilerler. Sol koroner arter, aortadan çıktıktan sonra önce trunkus pulmonalis ile sol aurikula arasında ilerler, daha sonra interventriküler ve sirkumfleks dalına ayrılır. Koroner arterlerle kalp duvarına gelen kanın 2/3'ü koroner arterlere eşlik eden venlerle, sinus koronarius oradan da sağ atriyuma akar. 1/3'lük kısım ise Galenos ve Thebesius venleri ile geri döner (39).

Kalp duvarı üç tabakadan oluşur: Endokardiyum, Miyokardiyum, Epikardiyum (Perikardiyumun visseral yaprağı). Epikardiyum dışında perikard boşluğu bulunur ki,

kalp bu boşluk içinde yer alır (40). Kalp kasını oluşturan kas telleri bazı yönleri ile iskelet kasına, bazı yönleri ile de düz kas tellerine benzerler. Miyofibrillerin enine çizgili olmasından, bandlaşma göstermesinden dolayı, iskelet kası tellerine benzerlerken, kas tellerinin tek çekirdek içermeleri ve bu çekirdeklerin, tellerin santraline yerleşmeleri bakımından da, düz kaslara benzer. Kas tellerinin kollaterallerle ve özel bir biçimde peş peşe birbirlerine bağlanmaları, diğer kas tellerinde bulunmayan özellikleridir. Böylece kalp kası, üç boyutlu bir ağ sistemi meydana getirir. Bunların birbirlerine bağlandıkları yerler, ışık mikroskobunda, Z bandlarından daha kalın diskler halinde görünürler. Bu diskler interkalat diskler diye isimlendirilirler. Bağlantı yerlerinden her biri, çoğunlukla, merdiven basamakları görünümünde olan birkaç disk içerirler. Bu bağlantı yerleri aynı zamanda uyarımlarında hücreden hücreye geçmelerini sağlarlar. Bağlantı yerlerine en belirgin olarak papiller kaslarda rastlanır (41).

İnsan kalbinde; üst vena kava ile sağ atriyum kavşağında sino-atriyal (SA) düğüm yer alır. Atriyyo-ventriküler (AV) düğüm ise, interatriyal septumun sağ arka bölümünde bulunur. AV düğümü, normalde atriyumlarla ventriküller arasındaki tek iletim yoludur. AV düğümü, interventriküler septumun tepesinde sol demet dalını veren ve sağ demet dalı olarak devam eden his demetiyle devam eder. SA düğümünde başlayan depolarizasyon atriyumların içinde ışınal olarak dağılır ve daha sonra, AV düğümünde bir araya gelirler. Atriyal depolarizasyon yaklaşık 0.1 saniyede (sn) tamamlanır. AV düğümünde iletim yavaş olduğu için uyarı ventriküllere yayılmadan önce 0.1 sn bir gecikme olur. Septumun tepesinden, depolarizasyon dalgası, hızlı iletim yapan purkinje liflerinde dağılarak ventriküllerin her yerine 0.08-0.1 sn'de ulaşır.

Kalbin fonksiyonunu düzgün bir şekilde devam ettirebilmesi için ileti sistemi, uyarılabilirlik (ekstabilite), kontraksiyon gibi niteliklerinin bozulmamış olması gerekir. Bu da, kalbi besleyen kan akımının devamına bağlıdır. Kan akımının azalması veya durması kontraksiyonların bozulması (miyokard sersemlemesi; myocardial stunning), aritmiler ve MI gibi çeşitli istenmeyen önemli durumlara yol açar (7).

2.2.Kalpde İskemi-Reperfüzyon Hasarı

Dokunun metabolik ihtiyaçlarını karşılamak için arteriyel akım ile yeterli oksijen ve besinin sağlanamadığı durumlarda iskemiden söz edilir. İskemi, doku hasarına yol açtığı için önemli bir durumdur. Oluşan hasarın miktarında, iskeminin ciddiyeti kadar süresi de önemli bir faktördür. Ciddi bir iskemide bile süre 40 dk dan az ise hücresel ve fonksiyonel değişiklikler geri dönüşümlüdür ve tedaviye olanak vardır. İskemi süresi,

40-50 dk ise tam bir fonksiyon kaybı ve iskemi süresine bağlı ve ilerleyici olan geri dönüşümsüz bir hasar meydana gelir (42). Bu süre 50 dk dan fazla ise reoksijenasyon ya da reperfüzyon hasarına benzeyen, fakat aynı olmayan mekanizmalar devreye girer (43).

İskemik doku en az üç fizyolojik anormallik gösterir (44):

(a) Hipoksi; oksidatif metabolizma için yetersiz oksijen sunumu,

(b) Aerobik metabolizmadan anaerobik metabolizmaya dönüşü ifade eden toksik metabolitlerin birikimi,

(c) Uygun elektron akseptörü yokluğunda katabolik reaksiyonlar sonucunda meydana gelen asidoz.

Deneysel koşullarda, ana koroner arterin ani kapatılması ile oluşan iskemideki metabolik değişiklikler; aerobik metabolizmanın durması, kreatin fosfatın (CP) azalması, anaerobik glikolizin başlaması, laktat ve alfa gliserol fosfat (GP) gibi glikolitik ürünler ile nükleotid yıkım ürünlerinin birikmesidir. Bunlarla bağlantılı olarak kontraksiyon durur, membran potansiyelleri değişir ve elektrokardiyografik değişiklikler meydana gelir. Miyokardiyumun yüksek enerjili fosfatlara olan ihtiyacı, yapılandan fazla olduğu için dokudaki net ATP miktarı azalmıştır. Ciddi bir iskemik hasarda tüketilen ATP'nin % 80'i anaerobik glikoliz kaynaklıdır. İskeminin ilk dönemlerinde varolan ATP kontraktıl fonksiyon için kullanılmasına karşın, süre ilerledikçe, artık kontraksiyon yapılamadığı için, mitokondriyal ATPaz'lar tarafından, muhtemelen, bozulan durumların restorasyonu için harcanır. ATP'nin az bir kısmı da iyon transport ATPaz'ları tarafından tüketilir. İskemi süresi uzadıkça tüm bu metabolik olayların yavaşladığı görülmüştür.

Geri dönüşümsüz hasara maruz kalmış bir hücrede, ATP seviyelerinin aşırı düştüğü, anaerobik glikolizin durduğu, H^+ , AMP, inozin, laktat ve GP'nin arttığı, osmolar bir artış olduğu, hücre zarı harabiyeti, mitokondrilerde şişme ve amorf cisimciklerin oluştuğu tespit edilmiştir (12).

2.2.1.İskeminin Elektriksel Aktiviteye Etkileri:

Yapılan elektrofizyolojik çalışmalar normal ve iskemik miyokardiyumda önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir. İskemik bölgede iskeminin erken safhasında kas hücrelerinde istirahat membran potansiyeli seviyesi artmakta ve oluşan aksiyon potansiyelinin amplitüd, hız ve süresi azalmaktadır. Bu safhadan sonra aksiyon

potansiyeli süresi artmaya başlar. Bununla beraber, yine de bazı iskemik bölgelerde repolarizasyon-sonu refrakter periyod, repolarizasyon periyodundan daha uzun bir hale gelebilir. İskemik alandaki anormal repolarizasyon zamanları ve repolarizasyonun her yerde aynı olmaması, iskemik bölgeyi tek-yönlü blok ve re-entran disritmilere uyarılabilir hale getirmektedir (45).

İskemiye ilk yanıt K^+ 'un önce kısa bir dışa, sonra çok miktarda içe girişidir. Bu K^+ hareketleri, istirahat membran potansiyelini değiştirir ve aritmilere neden olabilir. Fakat yine de bu durum (hipoksi, hipoglisemi ve asidozla beraber bile değerlendirilse), iskemideki tüm elektrofizyolojik anormalliklerden sorumlu tutulamaz (46). Birçok faktör bu anormalliklerin nedeni olabilir. Örneğin, membran fosfolipidlerinin iskemi sırasında oluşan katabolitlerinin, (lizofosfogliseridler ve uzun zincirli asil-karnitinler) letal iskemik aritmilerle ilişkili olabileceği ortaya çıkmıştır (47). Bazı araştırmalarda aritmilerden membran potansiyel değişikliklerinden dolayı Na^+ kanallarının anormal zamanlamayla açılıp kapanmasının sorumlu olduğuna inanmaktadır (48). Akut iskemi, intrasellüler kalsiyum seviyelerinde ve dağılımında anormalliklere de yol açar (49,50).

2.2.2.İskeminin Kontraktıl Fonksiyona Etkileri

Kan akımı azalmasından hemen sonra, kontraktıl fonksiyon zayıflar. Muhtemelen oksijen azlığı, burada anahtar rolü oynamaktadır. Çünkü hipoksi, anaerobik metabolizmaya dönüşüme neden olarak ATP üretiminin azalmasına yol açarken; erken iskemik dönemde dokudaki yüksek enerjili fosfat miktarlarında önemli bir azalma saptanmamıştır (51). Kontraktıl fonksiyonun daha erken bozulması ve hatta, reperfüzyon yapıldığında (ATP üretimi düzeline) bile kontraksiyon anormalliğinin bir süre daha devam etmesi nedeniyle, ATP azalması, kontraksiyon bozulmasını tek başına açıklayamamaktadır (52).

İskeminin ilk dönemlerinde, Ca^{+2} , un hücreye girişi azalarak aksiyon potansiyeli anormalliklerine yol açar. Bu durum, sarkoplazmik retikuluma Ca^{+2} girişini de bozarak hücre-içi Ca^{+2} dağılımını bozar. Böylece hücre içinde miyoflamentlerin aktivasyonu için yetersiz Ca^{+2} bulunur ve kontraktıl disfonksiyona yol açar (53). Ayrıca, asidoz da sarkoplazmik retikuluma Ca^{+2} giriş-çıkışını ve kontraktıl elemanların Ca^{+2} 'a hassasiyetini bozmaktadır (54).

Normalde mekanik aktivite, üretilen enerjinin %75'ini harcamaktadır. Bu nedenle kontraktılıte azalma, iskemik miyokardiyuma enerji yönünden avantaj sağlayabilir.

Kontraktilite için kullanılmayan enerji, hasarın düzeltilmesi için harcanabilir. Gerçekten, reperfüzyonda bol miktarda yüksek enerjili fosfatlar üretilip kullanılmasına rağmen kontraktilite iskemidekine göre fazla düzelmez; bu enerji öncelikle normal şartlara dönmek için harcanmaktadır (55).

İskemik hasar henüz geri dönebilir bir düzeydeyken reperfüzyon yapıldığında bazı değişiklikler birkaç sn ya da dk'da geri dönerken, diğerleri günlerce normal duruma gelmez. Aerobik metabolizma birkaç dk içinde çalışmaya başlar. Miyokard sersemlemesi, iki gün sonra düzelir. Adenin nükleotid havuzu dört gün sonra bile düzelememektedir. Böylece reperfüzyon, fonksiyonel ve yapısal özelliklerini farklı hızlarla normale döndürerek de olsa hasarlı miyokardiyumu kurtarmış olur (12).

2.3.Reperfüzyon Hasarının Mekanizmaları

İlk kez, Tennant ve Wiggers (55) iskemik miyokardiyumun reperfüzyonunun potansiyel olarak malign ventriküler aritmilerin oluşmasına neden olabileceğini açık olarak göstermişlerdir. Daha sonra Jolly ve ark. (56) iskemide oluşan serbest oksijen radikallerinin miyokardiyal reperfüzyon hasarında rol oynadıkları ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) uygulamasıyla bu hasarın azaltılabileceğini tespit etmişler. Daha sonraki çalışmalar, tam kan reperfüzyonundaki polimorfonükleer lökositlerin de bu hasarın oluşmasında önemli bir rolü olduğunu göstermiştir (57). Hearse ve ark. (58) ise, izole sıçan kalbinde reperfüzyon ya da reoksijenasyonun ani ve masif bir enzim yıkımına, ultrastrüktürel hasara ve kontraktüre neden olduğunu bildirmişlerdir. Reoksijenasyonun ilk dakikalarında olan ve geri dönüşümsüz doku hasarını hızla artıran bu duruma oksijen paradoksu denilmektedir. Hill ve Ward'ın (54) çalışmasında iskemik hasardaki inflamatuvar olaylarda kompleman sisteminin mediyatör olarak önemine dikkat çekilmiştir. Böylece kandaki oksijen ve kan hücrelerinin (özellikle nötrofiller) ve kompleman sisteminin aktivasyonunun reperfüzyon hasarı fenomeninde önemli oldukları anlaşılmıştır.

Yapılan çalışmaların sonuçları genellikle birbirini desteklemektedir. Kloner ve ark. (60) çalışmalarında altı saatlik bir iskemiye takiben reperfüzyon yapıldığında transmural nekroz olmuş ve reperfüzyonun koruyucu bir etkisi görülmemiştir. Diğer bazı araştırmalarda ise iki saatlik iskemiden sonra yapılan reperfüzyonda transmural nekroz görüldüğü saptanmıştır (61). Buna karşılık, Beyersdorf ve ark. (62), altı saatlik

iskemi sonunda reperfüzyon yapılmadığı takdirde hala nekroz olmadığını göstermişlerdir.

Reperfüzyon hasarı kendini çeşitli şekilde gösterebilmektedir (1, 11,63, 64):

- a) aritmiler
- b) miyokard sersemlemesi
- c) reperfüzyonun henüz başlangıcında canlılığını koruyan dokulara ölümcül hasar
- d) irreverzibl hasarlı dokularda artmış nekroz hızı (oksijen paradoksu)
- e) no-reflow fenomeni
- f) kontraktıl fonksiyonlarda azalma

Kurtarılan doku miktarını artırabilmek için optimum koşullarda ve uygun zamanda reperfüzyon yapılmalıdır. Reperfüzyon hasarı alanının büyüklüğü, iskemi süresi ve ciddiliğine, kollateral kan akımına, tutulan damar yatağına, dokudaki oksijen tüketim miktarına ve reperfüzyonun nasıl yapıldığına bağlıdır. Bunlardan, reperfüzyonun yapılış şekli, tedaviye yönelik en iyi olanakları sunan seçenektir.

2.3.1.Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektronlarından dolayı çok reaktif olan atom veya moleküllerdir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Mitokondriler, ksantin oksidaz enzimi, PG biyosentezi ve inflamatuvar cevapta rol oynayan fagositler (nötrofil ve monosit) süperoksit radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksitin ve diğer reaktif oksijen ürünlerinin kaynağı olarak bilinirler (65). Reaktif oksijen ürünleriyle reaksiyon veren maddeler (SOD, CAT, merkaptopropiyonil glisin gibi) veya inflamatuvar hücrelerin serbest radikal üretimini engelleyici ajanlar (ibuprofen, BW755C, nafazatrom, prostasiklin, iloprost ve allopurinol gibi) doku hasarını azaltırlar (66).

Reaktif metabolitlerin oluşma hızı, hücrenin oksidan strese karşı savunma kapasitesini aşarsa toksik etki oluşmaya başlar. Hücrenin antioksidan mekanizmaları arasında SOD, CAT, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon redüktaz vardır (67). Pentoz monofosfat yolağı da NADPH sağlayarak redükte glutatyon oluşumuna ve lipid peroksitlerin detoksifikasyonunda rol alan GSH-Px'a yardım eder. Ayrıca C ve E vitamini ve GSH-Px'in kofaktörü olan selenyumun da hücredeki antioksidan

mekanizmalarda rolü vardır.

Bir çok çalışma, radikallerin I-R da mediyatör rol oynayabileceğini göstermiştir. Biyolojik hedeflerle (lipid, katekolamin, DNA, protein karbonhidrat) direkt reaksiyona girerler ve sonuçta lipid peroksidasyonu, mitokondrial solunum zincirinin inhibisyonu, Na⁺ kanalları membran Na/K ATP az aktivitesinin inhibisyonu gibi I-R patalojisinde rol oynayabilen olayları meydana getirebilirler (68). DNA hasarı oluşturan radikaller hücrede nükleer bir enzim olan poli ADP-riboz sentazı (PARS) aktive ederler. PARS enzimi nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD) substrat olarak kullanır. Sonuçta bu olay ATP tüketimine ve hücrelerin ölümüne yol açabilir. Antioksidan tedavi, PARS aktivitesini inhibe ederek I-R hasarını önleyebilir (69).

Oluşan serbest radikaller hücre membranı ve hücre içi organelleri etkilerken ekstrasellüler kompartmana da geçer ve uzak etkileri oluşturur. Burada serbest radikalin çözünürlüğü ve diffüzyon hızı önem kazanmaktadır. Serbest radikaller incelendiğinde hidroksil radikali çok potent olmasına rağmen, diffüzyon hızı yavaştır. Bu yüzden ancak olduğu yerde ya da yakınında etki gösterir. Buna karşılık hidrojen peroksit (H₂O₂) daha az potent olmasına rağmen plazma membranını, mitokondrial ve peroksisomal membranları rahatlıkla geçerek uzak etki gösterebilir (70,71).

Ca⁺² sitotoksitesi

Hücre içine artan Ca⁺² girişi ve azalan çıkışı sellüler Ca⁺² homeostazını bozar. İskemi sırasında hücrede enerji tükendiğinden sitoplazma ve mitokondride aşırı miktarda Ca⁺² birikmekte ve Ca⁺²'un toksik etki göstermesine neden olmaktadır. Fizyolojik koşullarda hücre içi biriken fazla Ca⁺² dışarı atılarak yada hücre içinde depolanarak tolere edilir. Ancak iskemi sırasında enerji eksikliği nedeniyle pompalar ve depolama mekanizmaları iflas eder ve artan Ca⁺² düzeyi fosfolipazları, proteazları aktive ederek radikal ve yağ asitleri oluşumunu artırır ve hücreyi ölüme sürükleyebilirler (72, 73).

Oksjen Paradoksu ve Reperfüzyon Hasarı

Gerek reperfüzyon ve gerekse reoksijenasyonda temel hasar doku yeniden oksijenle karşılaştığında olmaktadır. Oksijen paradoksu denilen bu olay, miyokardiyal kontraktür gelişimi ve irreverzibl hücre hasarı ile birlikte, kreatin kinaz gibi miyokardiyal enzimlerin salınımı ile karakterizedir (58). Reoksijenasyon, miyokard

hücrelerinde ani değişikliklere, istirahat geriliminin artması ile birlikte kontraktil fonksiyonun hızla azalma veya yok olmasına ve kontraktil band nekrozu şeklinde ultrasütrüktürel değişikliklere neden olmaktadır.

Reperfüzyonda oksijenden başka, kandaki diğer bazı faktörler de ayrıca doku hasarına yol açar (67). Bunlar kan hücreleri ve kompleman sisteminin aktivasyonu gibi faktörlerdir. Reperfüzyon, reoksijenasyondan farklı olarak kompleman yoluyla olan zar bütünlüğünün kaybı ve zamana bağımlı inflamatuvar bir reaksiyonu içeren bir fenomendir. Bu durum, reperfüzyon hasarı kavramının temelidir. Reperfüzyon hasarı, iskemik hücre ölümünden, mekanizma ve hücre ölümü tipi açısından ayrılmaktadır. Reperfüzyon nekrozu; hücre şişmesi ve kontraksiyon bandları ile karakterize kontraktil band nekrozu şeklinde görülürken (68), iskemik hücre ölümü koagülatif nekroz görünümündedir (67).

2.3.2.Reperfüzyon Hasarında Nötrofil Aktivasyonunun Rolü

Reperfüzyonda inflamatuvar hücrelerin toplanması ve inflamatuvar mediyatörlerin salınması ile karakterize bir hücrel reaksiyon vardır (74). Bu durum, doku hasarının artmasına yol açmaktadır. Nötrofiller bu inflamatuvar cevabın en önemli bileşenleridir (75). Lökositlerin iskemik alanda toplanabilmeleri için, kemotaktik maddeler yardımıyla dokuya doğru çekilmeleri ve endotel ile temas ederek, birtakım aktifleştirici maddeler yardımıyla aktive edilmeleri gerekir. Lökositlerin doku içine migrasyonu için mutlaka endotel ile temas etmeleri gerekir. C5a ve süperoksit anyonunun bu adezyonu artırdıkları gösterilmiştir (76). İnfiltrate olan aktive nötrofiller, reaktif oksijen radikalleri ve proteazlar salgırlar. Hücre içi savunma mekanizmalarında kullanılan serbest radikal süpürücü SOD ve peroksit yıkıcı CAT ve GSH-Px enzimleri, lökositlerin salgıladıkları bu sitotoksik reaktif oksijen metabolitleri tarafından oluşturulan hasarı azaltabilme kapasitesine sahiptir (67). Fakat bu radikal süpürücü ajanlar hücre içinde buldukları için, hücre-dışı mekanizmalarla olan bir hasarı önlemede yetersiz kalabilecekleri düşünülmektedir. Bu nedenle serbest radikal süpürücü ajanların dışarıdan vücuda verilmesi uygun bir tedavi seçeneği olabilir (56).

Nötrofillerin dokuya gelebilmeleri için gerekli olan kemotaktik ajanlardan birisi de C3a'dır. Hill ve Ward (59), iskemik miyokartda bir doku proteazının C3'ü aktive ettiğini göstermiştir. Giclas ve ark.'nın (77) çalışmasına göre de, insan kalp hücrelerinin

subsellüler zarları, kompleman sistemini aktive etmektedir. Farklı birçok çalışmada miyokardiyal iskeminin kompleman sistemini aktive ettiği ve nötrofillerin migrasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (78). Aktive nötrofiller çeşitli mediyatörler salarak (Serbest oksijen radikalleri, Platelet aktive edici faktör (PAF), Tromboksan, Lökotrien gibi) direkt doku hasarı oluştururlar (79,80). Ayrıca iskemi sonrası dokuda lökosit ve trombosit toplanmasını artırır. Bu hücrelerin doku hasarı patogenezi katıldığını gösteren farklı deneysel çalışmalar, antinötrofil uygulamaları ile kardiyak I-R hasarının azaltılabileceğini göstermişlerdir (81,82,57).

No-Reflow Fenomeni: Bazen reperfüzyon sağlanmış olmasına rağmen koroner arterler uniform miyokardiyal reperfüzyonu sağlamada yetersiz kalmaktadır. Çünkü mikrovasküler seviyede önemli akım bozukluğu vardır. Bu yüzden bu fenomene no-reflow ismi verilir. No-reflow'un ana belirleyicisi mikrovasküler seviyede nötrofil aktivasyonudur. Aktive nötrofiller sıkıca kapiller endoteline yapışır ve bu yüzden akımı mekanik olarak bloke ederler. Kendileri mekanik blokaj yaptıkları gibi, salgıladıkları mediyatörler aracılığıyla da vazokonstriksiyon yaparlar. Bu fenomenin oluşması, reperfüzyonun beklenen faydalı etkilerini kısıtlamakla beraber tekrarlayan miyokardiyal iskemik ataklar, aritmiler, nekroz oluşumunda artış ve kontraktıl fonksiyonlarda azalmaya yol açabilir. Ayrıca azalmış olan kan akımına bağlı olarak kullanılan ilaçların yeterince o bölgeye gitmesine de engel teşkil etmektedir (63, 83).

Diğer kemotaktik maddeler ise araşidonik asit ürünleri ve lökotrien B₄'tür (84). Kompleman sisteminin elemanları, koagülasyon sistemiyle ilgili biyomoleküller, araşidonik asit türevleri ve lenfokinler, inflamatuvar hücrelere hem kemotaktik etki gösterir, hem de bu hücreleri aktifleştirirler. Kompleman yolunun bir ara ürünü olan C5a'nın nötrofil agregasyonunu ve degranülasyonunu indüklediği gösterilmiştir (67). Diğer kemotaktik ajanlar ise, fibrinojen, fibrinopeptid B, plazminojen aktivatörü, kallikrein ve PAF'dır. PAF, dokuya gelen nötrofilleri aktive etmektedir. Araşidonik asit metabolizmasında oluşan lökotrien B₄, potent bir nötrofil çekici ajandır, nötrofillerde süperoksit üretimini stimüle eder, damar duvarına nötrofillerin yapışmalarını artırır ve C5a gibi damar hassasiyetini ve kapiller geçirgenliğini değiştirir. Nötrofillerden salınan interlökin-1 de nötrofiller için kemotaktik bir ajandır ve akut faz reaksiyonlarının primer mediyatörüdür (68).

Nötrofillerin saldıkları maddelerle yol açtıkları hasarın yanısıra, aktive olmuş nötrofillerin damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları, kısa bir iskemik periyottan

sonra oluşabilecek olan reperfüzyonu engelleyerek no-reflow fenomenine yol açarlar (85).

İnfarkt büyüklüğü ile nötrofil infiltrasyonu arasındaki ilişki birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (75). Nötrofillerin iskemik başlangıcından itibaren infiltre oldukları ve infarkt gelişimiyle birlikte ilk 24 saatte sayıca giderek arttıkları tespit edilmiştir (86). Miyokardiyal nekrozdan önceki erken post-iskemik dönemde de iskemik miyokartta toplandıkları saptanmıştır (85). İskemik süresiyle reperfüzyondaki nötrofil infiltrasyonu ve toplanması arasında direkt bir ilişki vardır (87). Nötrofiller tarafından oluşturulan doku hasarının mekanizmalarından en önemlisi serbest oksijen radikallerinin üretimidir (88).

2.3.3.Reperfüzyon Hasarında Kompleman Sisteminin Rolü

Konuyla ilgili eski çalışmalar toksik oksijen metabolitleri ve nötrofillerin reperfüzyon hasarındaki rolleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Daha sonra doku hasarında kompleman sisteminin çok önemli bir yere sahip olduğu anlaşılmış, kompleman sisteminin reperfüzyonda direkt veya indirekt olarak doku hasarına ve hücre ölümüne yol açtığı gösterilmiştir (7). Kompleman sisteminin miyokardiyal iskemik hasarda etkili olduğunu gösteren diğer bir kanıt da, kobra venom faktörü ile kompleman sisteminin baskılanmasından sonra infarkt miktarında azalma saptanmasıdır (89). Kompleman birimlerinin dolaşımında azalması, iskemik dokuya nötrofil infiltrasyonunu ve doku hasarını azaltmaktadır (78).

İskemik ve reperfüzyondaki, kompleman aracılığıyla oluşan damar duvarı hasarı, erken ve geç olmak üzere iki safhada incelenebilir. Erken safhada dokuda kompleman aktivasyonu sonucu C3a, C4a ve C5a'nın (anafilatoksinler) aktif şekilleri oluşur. Anafilatoksinler, mast hücreleri ve bazofillerden histamin salınımına neden olarak damar geçirgenliğini artırır. C5a ayrıca polimorfonükleer lökositleri (PMNL) dokuya doğru çekerek kasa karşı oluşan inflamatuvar cevabı artırır. Kompleman aktivasyonu sonucu, C5b-9 kompleksi (membran atak kompleksi-MAK) meydana gelir. Bu kompleks aracılığıyla kompleman sistemi tek başına doku hasarı oluşturabilir. C8 safhasında hücre zarında porlar (delikler) oluşurken, C9 eklenmesiyle sitotoksik etki ön plana geçer. MAK içindeki C9 monomerlerinin sayısı, lezyon büyüklüğünün orantılı olduğu düşünülmektedir (67).

MAK, litik kompleman yolunun aktive olmasına yol açar ve kas nekrozunda rol oynar. Kompleman reaksiyonunun ürünleri, iltihabi hücre infiltrasyonu ve nekrotik kas hücrelerinin fagositozunu uyarır (90). MAK, infarkt semptomlarından en az altı saat sonra görülür. Zar içine girerek membranda bir delik oluşturur; iyon ve makromoleküllere iki yönlü akım imkanı sağlayarak hücre şişmesi ve lizise sebep olur (91).

Kompleman aktivasyonu doku hasarının direkt mediyatörü olduğu kadar, akut inflamasyon cevabının da önemli bir başlatıcısıdır (67). Fakat çoğu otoimmün ve inflamatuvar hastalıklarda doku hasarını önlediğinden, bu sistemin bir inhibitörü olduğu tahmin edilmektedir. C3 ve C5 aktivatörlerini bloke eden bu tip bir inhibitör, endojen düzenleyici proteinlerin arasında bulunur. Bu proteinlerden kompleman reseptörü-1 (CR1, CD35 de denilir) en fazla inhibitör özelliğe sahip olandır. Fakat çok kısıtlı sayıda hücre tipinde bulunması *in vivo* etkinliğini kısıtlamaktadır. Rekombinant DNA teknolojisiyle eriyebilen formda insan CR1'leri (sCR1) yapılmıştır. sCR1, insan serumunda klasik ve alternatif kompleman yollarının aktivasyonunu bloke etmektedir. Sıçanlarda reperfüzyondaki infarkt miktarını %44 azalttığı bulunmuştur (92). Kardiyoprotektif rolü konusunda başka çalışmalar da vardır. Dokudaki kompleman aktivasyonunu engellediği düşünülmektedir. sCR1, komplemana bağlı doku hasarının baskılanmasında önemli bir ajan olabilir. sCR1'le ilgili bulgular, kompleman sisteminin doku hasarındaki direkt rolünün iyi bir kanıtıdır (93).

2.4.Kardiyak Nekroz

Nekroz; canlı dokularda hücre ölümü ile sonuçlanan pek çok morfolojik değişiklikleri ifade eden bir kelimedir. Çoğu zaman geri dönüşümsüz, dışarıdan hasar neticesinde oluşan makroskopik ve histolojik hücre ölümünü tanımlamak için kullanılır. En iyi tanımlanmış formu koagülasyon nekrozudur. Hücre şişmesi, sitoplazmik proteinlerin denatürasyonu ve hücresel organellerde hasar ile karakterizedir. Hücrenin enzimlerce sindirimi ve proteinlerin denatürasyonuna bağlı olarak nekrozun morfolojik görünümü sınıflandırılabilir. Eğer hidrolitik enzimler hücrenin kendisinden salgılanıp hücre ölümüne yol açıyorsa, otoliz ya da inflamatuvar hücrelerin lizozomlarından salgılanırsa heteroliz ismi verilir. Bu işlemlerin gelişmesi için saatlere ihtiyaç vardır ve bu yüzden ani ölümlere neden olan MI, kısa zamanda tespit edilebilir değişiklik göstermez. Ancak ultrastrüktürel değişiklikler MI sonrası 20-40 dk'da tespit edilebilir. Yalnızca koroner arter tıkanması gösterilebilir.

Hasarlanmış miyokardiyumdan enzim sızmasına bağlı olarak kandaki değişiklikler de en erken iki saat sonra saptanabilmektedir. Nekrozun klasik histolojik özellikleri; geri dönüşümsüz hasardan sonra ancak 4-12 saat arasında görülür. Protein denatürasyonu hakim ise koagülasyon nekrozundan bahsedilir. Eğer enzimatik sindirim baskın ise likefaksiyon, kazeifikasyon ve yağ nekrozu görülmektedir. Nekroz, içeri doğru suyu ve ekstrasellüler iyonları alarak homeostazisi sürdürmek nedeniyle hücrelerin yaptığı onarımdan başlar. İntrasellüler organlardan daha çok mitokondri tutulur ve tüm hücre şişer ve sonuçta yırtılır. İleri derecede plazma membranının yıkımından dolayı lizozomal enzimlerinde içinde bulunduğu sitoplazmik içerik ekstrasellüler sıvıya akar. Böylece *in vivo* nekrotik hücre ölümü sıklıkla şiddetli inflamatuvar bir cevabın içinde olduğu ileri hücre hasarıyla ilişkilidir (94).

Koagülasyon nekrozu: İskemik kalpte görülen majör nekroz formudur. Sadece yapısal proteinler değil beraberinde enzimatik proteinler de denatüre olur. MI' da, asidofilik, koagüle, çekirdeksiz hücreler haftalarca kalabilir. Nekrotik hücreler özellikle lökositler tarafından fagosite edilir ve parçalanırlar. Beyin hariç, tüm dokuların iskemik ölümlerinde koagülasyon nekrozunun karakteristik özellikleri görülebilir (95).

2.5.Renin Anjiyotensin Sistemi

Renin-Anjiyotensin Sistemi (RAS) vücut sıvı ve elektrolit dengesi ve arteriyel basıncı etkilemek suretiyle kardiyovasküler, renal ve adrenal fonksiyonları kontrol eder. RAS'ın ana medyatörü olan AngII vazokonstriksiyon, aldesteron ve vazopressin salınımı, sodyum ve su retansiyonu ve sempatik aktivasyona neden olur. Bu nedenle RAS hipertansiyonun ve kalp yetmezliğinin fizyopatolojisinde önemli bir role sahiptir (14).

Vücutta anjiyotensin üreten iki sistem vardır (92, 96):

1. Sistemik (klasik, hormonal) RAS
2. Lokal (doku) RAS

2.5.1.Sistemik RAS

Renin, küçük protein yapılı bir enzim olup böbrekteki jukstaglomerüler hücrelerden iskemi, hipotansiyon gibi arteriyel basınç düşmesi, plazma Na⁺ konsantrasyonunda azalma, reseptörlere etkili katekolaminlerin artması ve çeşitli ilaçlarla (genel anestezikler, diüretikler vb.) salınımının arttığı kabul edilmektedir. Renin böbrekleri terkeder, kan akımına karışır burada anjiyotensinojeni anjiyotensin I'e

çevirir ki buda akciğer damar endotelindeki anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) ile hızlıca Anjiyotensin II'ye çevrilir(14). Ang II potent bir vazokonstriktördür daha çok arteriyollere etki eder ve total periferik direncin artmasına neden olur. Normal kan basıncı kardiyak output ve total periferik direnç arasındaki dengeyle korunduğu için Ang II total periferik direnci artırarak kan basıncı üzerine direkt etki gösterir.

Ang II, kan basıncı kontrolünde böbrekler üzerinde sekonder bir role daha sahiptir. Vazokonstriktör etkisiyle böbreklere gelen kan akımını azaltır, böylece tuz ve su reabsorbsiyonunu artırır. Ek olarak proksimal tubuluslardan Na reabsorbsiyonunu da artırır. Ang II ayrıca adrenal gland zona glomerulasadan aldosteron salınımını da stimüle eder. Aldosteron böbrek tubuluslarından Na reabsorbsiyonunun artmasına böylece ekstrasellüler sıvı Na'unun artmasına neden olur.buda su retansiyonuna , ekstrasellüler sıvı hacminde artışa ve kan basıncında artışa neden olur (14).

2.5.2.Lokal RAS

Dolaşımdaki rolüne ek olarak, Ang II , kalp, beyin, böbrek ve arterlerden doku seviyesinde de salgılanır ve otokrin ve parakrin etkileri ortaya çıkar. Bu dokularda ADE den başka katapsin G ve kimaz gibi enzimlerde Ang II üretirler. Fizyolojik şartlar altında doku Ang II vasküler yapı ve fonksiyonların korunmasını sağlar. Bununla beraber Ang II'nin kronik hipertansiyon ve end –organ hasarına neden olduğunu gösteren delillerin sayısı artmaktadır.

Lokal Ang II endotelysel fonksiyon üzerine direkt etki gösterir.Endotel damar tonusu, koagülasyon, hücre büyümesi ve ölümü ile lökosit migrasyonundan sorumludur ve bunlar vazodilatatör (NO gibi) ve vazokonstriktör ler (Ang II gibi) arasındaki dengeye bağlıdır. Endoteldeki artmış Ang II seviyeleri oksidatif strese neden olurki buna bağlı olarak salgılanan bazı medyatörler endotelysel disfonksiyona, hücre büyümesine, inflamasyon ve tromboza neden olur. Ang II ayrıca vasküler remodelizasyonunda otokrin büyüme faktörlerini artırarak görev alır. Ang II matriks metalloproteinaz (MMP) enzim üretimini stimüle ederek aterosklerotik plak stabilitesini etkiler(14).

Bu sistemin damar ve kalpte düşünülen etkileri; bölgesel damar tonusu ve kan damarlarının regülasyonu, damarlarda ve kalpte hipertrofi oluşumu, hasar ve inflamasyona damar cevabının gösterilmesi, düz kas proliferasyonunun uyarılması, koroner vazokonstriksiyon, miyokard kontraktilesinin artışı, MI ve reperfüzyon

sırasında ventriküler aritmilere eğilim oluşturması, RAS'ın farmakolojik inhibitörlerine yanıt vermesi gibi etkilerden bu sistem sorumlu tutulmaktadır (7).

2.5.3 Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ADE)

Özellikle pulmoner damarlar, endokard, beyinde olmak üzere vasküler endotelyumda bulunan ve çinko atomu içeren bir metalloproteazdır (97). RAS'ı etkileyen ilaçların en önemlileri ADE'yi inhibe ederek Ang II'nin oluşumunu etkileyen ilaçlardır (98). ADE inhibitörleri, yapılarındaki karboksil (-COOH) ve sülfidril (-SH) gruplarıyla, ADE'nin aktif merkezindeki çinko atomuyla reaksiyona girerek etkilerini oluştururlar (99).

ADE'nin diğer önemli bir fonksiyonu; bir plazma kinini olan bradikinin'in C-ucundan iki amino asit (fenilalanin-arjinin) kopararak onu inaktive eder. Bu nedenle kininaz II diye de adlandırılır. BK'nin enzime affinitesi, Anjiyotensin I(Ang I)'den daha fazladır. ADE inhibitörleri kullanıldığında BK gibi kininlerin seviyesi artmaktadır (100).

2.6. Anjiyotensin-Dönüştürücü Enzim (ADE) İnhibitörleri

Renal kaynaklı renin'in plazmada anjiyotensinojenden oluşturduğu ve doku renin-anjiyotensin sisteminin (DRAS) damar çeperinde oluşturduğu inaktif bir prekürsör olan Ang I'in etkin olan Ang II'ye dönüştürülmesi, damar endotelindeki ADE tarafından yapılır. Bu enzimin inhibisyonu güçlü bir vazokonstriktör olan AngII düzeyinde azalmaya neden olurki buda arter ve venüllerde vazodilatasyon ile total periferik damar rezistansının azaltarak kan basıncında düşmeye neden olur. ADE inhibisyonuyla Ang II ye dönüştürülemiyen Ang I vazodilatatör olan anjiyotensin 1-7'ye dönüştürülür. Ayrıca ADE vazodilatatör bir peptid olan BK'nin de yıkımından sorumludur.

ADE inhibitörleri, aktif kısımlarının kimyasal yapılarına göre;

- 1) sülfidril grubu içerenler (kaptopril, zofenopril),
 - 2) karboksil grubu içerenler (enalapril ve diğerleri),
 - 3) fosforil grubu içerenler (fosinopril ve seranapril)
- olarak üç grupta sınıflandırılabilirler (101).

ADE inhibitörlerinin, diüretiklere, beta-blokörlere ve diğer sempatotik ilaçlara göre, hemodinamik etkilerinin özelliği ve yan etkilerinin daha az oluşu bakımından üstünlükleri vardır. Kalp debisini düşürmezler ve kalp hızında belirgin bir değişme

yapmazlar. ADE inhibitörleri; kalp, beyin ve böbrek kan akımını azaltmazlar hatta artırabilirler. Glomerüler filtrasyon hızını azaltmazlar. Kardiyovasküler hemodinamiğin düzenlenmesine katkıda bulunan lokal ve refleks mekanizmaları bozmazlar. Serebral kan akımının otoregülasyonunun alt sınırını daha düşük kan basıncı düzeyine kaydırırlar. Kan basıncının baroreseptör kontrol mekanizmasının duyarlılığını olumlu şekilde ayarlarlar. Bu nedenle bu ilaçların yaptığı kan basıncı düşmesi, taşikardi ve plazma NE düzeyinde artma gibi refleks sempatoadrenal tonus artmasına bağlı semptomlara genellikle neden olmaz.

Diyabetik nefropatilerde ve deneysel diyabette gelişen proteinüriyi azaltırlar. Tedavi edilmeyen diyabetlide gelişen glomerüler filtrasyon azalmasının hızını yavaşlatırlar. 2000 yılı başında yayımlanan HOPE (Heart Outcome Prevention Evaluation) çalışmasında koroner arter hastalığı, inme ve periferik arter öyküsü bulunan 55 yaş üstündeki 3500'den fazla diyabetli hastada 4.5 yıl uygulanan ramipril'in MI riskini ortalama %22, inme riskini %33, kardiyovasküler hastalıktan ölümü %37 ve belirgin nefropati riskini %24 oranında azalttığı bulunmuştur. Bu ve benzeri çalışmalar incelenen ADE inhibitörlerinin, özellikle diyabetli hastalarda damar-koruyucu ve böbrek koruyucu etkinliği olduğunu göstermektedir (102).

Gruba özel en sık görülen ortak yan etkileri öksürük yapmalarıdır. Öksürük erkeklere oranla kadınlarda daha yüksektir. Bu durum hastaların ilacı bırakmasına da neden olmaktadır.

Seyrek görülen, fakat yerine göre ciddi sonuçlara götürebilen önemli bir yan etkisi de anjioödemdir (103).

ADE inhibitörlerinin spesifik etkileri ile ilgili önemli bir kontrendikasyonu, nadir görülen bir durum olan bilateral renal arter stenozudur. Tek böbreklide gelişen renal stenozda ve iki böbrekli fakat bir böbreği stenozlu olan ve diğeri onu gerektiğinde kompanse edemeyecek kadar fonksiyon bozukluğu gösteren hastalarda da kontrendikedirler.

Kaptopril (D-3-merkпто-metilpropanolil-1-prolin)

Tedaviye ilk giren ADE inhibitörü kaptopril'dir. Oral kullanıldığında hızla absorbe olup antihipertansif etkide bulunur. Yarı ömrü yaklaşık olarak iki saattir. Yarı ömrünün kısalığından dolayı en azından günde iki kez kullanılmalıdır (104). Karaciğerde 2/3 oranında metabolize edilerek inaktive edilir. Diğer ADE inhibitörleri arasında hipertansif hastalarda insülin sensitivitesini artıran tek ilaç olup, muhtemelen

bu özelliği yapısındaki sülfidril grubu bulundurmasından kaynaklanmaktadır (105, 106). Atılımı böbrekler aracılığıyla idrarladır (102, 107).En sık görülen yan etkisi (%10) döküntülerdir. Ayrıca, öksürük, tat duyusu kaybı, hipotansiyon, nötropeni, anjiyoödem, hiperkalemi ve ağır proteinüriye yol açabilirki bu yan etkilerden yapısında bulunan sülfidril grubu sorumlu tutulmaktadır. (108, 109).

Hipertansiyonda kullanımı

ADE inhibitörleri hipertansif hastalarda sistolik ve diastolik basınçları azaltır. Kan basıncındaki akut değişikliklerin plazma renin-anjiyotensin (PRA) ve Ang II düzeyi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (102). Ayrıca ADE inhibitörleri kalsiyum kanal blokerleri ve direkt etkili vazodilatatörlerin aksine kalp hızında artma yapmaksızın periferel vasküler dirençte azalmaya neden olur. Bu durum ADE inhibitörlerinin baroreseptörler üzerine etkisine ve Anjiyotensin II'nin sempatik sinir sistemi üzerine normal tonik etkisinin inhibisyonuna bağlanmaktadır (110). ADE inhibitörlerinin endotel hücrelerinde NO (nitrik oksid) ve PGI₂ (Prostaglandin I₂) üretimini artırdıkları gösterilmiştir; bu olayın düzeyi artan bradikinin'in NO ve PGI₂ sentezini uyarmasına bağlı olduğu sanılmaktadır (102).

Antihipertansif tedavinin amacı sadece kan basıncını düşürmek değil daha önemlisi uç organ hasarını ve mortaliteyi azaltmaktır (27). Esansiyel hipertansiyonlu hastalarda ADE inhibitörlerinin kardiyovasküler mortalite üzerine etkileri ile ilgili klinik çalışmalar devam etmektedir.Mevcut bilgiler ADE inhibitörlerinin kardiyovasküler mortalite üzerinde memnuniyet verici etkiler oluşturacağını göstermektedir (110).

MI Sonrası Sol Vetrüküler Disfonksiyonda Kullanımı

ADE inhibisyonunun deney hayvanlarında (111) ve insanlarda (107) MI' dan sonra gelişen olumsuzlukları düzeltebileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (113, 114). CONSENSUS II çalışmasında enalaprilat intravenöz (I.V.) olarak MI sonrası 24 saat içinde verilmiş. Çalışmanın sonucunda; enalaprilat alan grupta enalaprilat ile yapılan çalışmaların aksine hayatta kalma süresinde bir düzelme meydana getirmemiş ancak erken hipotansiyonda anlamlı bir artma oluşmuştur. Diğer taraftan MI sonrası 24 saat içinde zofenopril, kaptopril ve lizinopril ile tedaviye başlanan SMILE (114), ISIS-4 (115) ve GISSI-3 (113), çalışmalarında bu ADE inhibitörlerinin mortaliteyi düşürdükleri görülmüştür.

ADE inhibitörlerinin nekroz alanının azaltılması, kalp performansının iyileştirilmesi, ventrikül hipertrofinin önlenmesi gibi kardiyovasküler etkilerinde kininlerin rolünü gösteren bulgular artmaktadır (116).

Konjestif Kalp Yetmezliği ve Sol Ventriküler Disfonksiyonda Kullanımı

ADE inhibitörlerinin sistolik disfonksiyonu olan hastalarda önemli ölçüde hemodinamik parametreleri değiştirdiği ve ayrıca preload ile afterload da ve sistolik duvar stresinde bir azalma yaptıkları görülmüştür. ADE inhibitörlerinin renal kan akımını artırarak, aldosteron ve antidiüretik hormon üretimini azaltarak tuz atılımını hızlandırdıkları da bildirilmiştir. 1987'den beri umut verici, randomize plasebo ve kontrolü olan büyük sayıda hasta gruplarında yapılan çalışmalarda sistolik disfonksiyondan dolayı (Konjestif kalp yetersizliği) KKY olan hastalarda genel olarak mortalitede de bir düşüğe sebep oldukları gösterilmiştir. Spesifik AT₁ reseptör antagonistlerinin ortaya çıkmasından dolayı ADE inhibitörleri ile AT₁ reseptör antagonistlerinin karşılaştırıldığı pek çok sayıda çalışmalar yapılmıştır (117). Bunlardan ilki Yaşlılarda Losartanın Değerlendirmesi (Evaluation of Losartan in the Elderly) (ELITE) çalışmasıdır. Bu çalışmada yaşlı ve KKY olan hastalarda losartan ile kısa etkili kaptopril karşılaştırılmış ancak losartan grubunda kaptoprile göre ani kalp ölümlerinde beklenmeyen bir azalma gözlenmiştir. Böbrek yetmezliğinin insidansında losartan ile kaptopril arasında bir fark tesbit edilmemiştir (118). Daha sonraları AT₁ reseptör antagonistleri ile uzun etkili ADE inhibitörlerinin çok sayıda hastada karşılaştırıldığı ELITE II çalışması yapılmıştır. ELITE II'nin önceki yapılandan farkı; hasta sayısı daha fazla, yaş ortalaması daha düşük, iskemik kalp hastalığı frekansı yüksek, bazı hastaların ADE inhibitörleri aldığına ilişkin öyküleri var, adrenerjik-reseptör blokörleri kullananlar daha randomize ve daha fazla hasta NYHA sınıf III-IV kalp hastası seçilmiş. Sonuç olarak; losartanın kaptoprilden ilk çalışmanın aksine daha üstün çıkmadığı bununla beraber kaptoprilin losartana göre mortaliteyi istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalttığı görülmüştür (119). Bu zıt sonuçlar, ilgili mekanizmaların kompleksliğini ve bu mekanizmaların aydınlatılması için çalışmaların devam edeceğini göstermektedir.

2.7. Ang II ve Reseptörleri

Renin-Anjiyotensin Sistemi (RAS) vücut sıvı ve elektrolit dengesi ve arteriyel basıncı etkilemek suretiyle kardiyovasküler, renal ve adrenal fonksiyonları kontrol eder.

RAS'ın ana medyatörü olan Ang II damar düz kaslarının direkt kasılmasıyla kan basıncının yükseltilmesi, miyokardiyal kontraktilitenin artırılması, adrenallerden aldosteron salınımının uyarılmasıyla su ve tuz retansiyonu, sempatik sinir uçlarından katekolamin salınımının uyarılması, hücre büyüme ve çoğalmasının aktivasyonunu içeren etkilere sahiptir(26). Her ne kadar Ang II asıl mediatör ise de A_0 ' den orjin alan Ang III (Ang 2-8), Ang IV (Ang 3-8) ve Ang 1-7'in de rolü olduğu bilinmektedir (120, 121). Ang II' ye aminopeptidazların etkisi ile Ang III ve Ang IV oluşurken, Ang 1-7; doku endopeptidazları denen nötral endopeptidaz (NEP) 24.11, NEP 24.15 ve NEP 24.26'ların Ang I'e etkisi ile oluşmaktadır (96).

Ang II' adrenaller, böbrekler, beyin, hipofiz bezi, damar düz kasları, ve sempatik sinir sistemi gibi dokularla etkileşir. Anjiotensin sadece kan kaynaklı dolaşımda bulunan hormon olmayıp, aynı zamanda beyin, kalp, böbrek ve kan damarları gibi pek çok dokuda da üretilir. Böylelikle, Ang II hem parakrin hem de otokrin hormon görevi yapar. Diğer peptid hormonlar gibi Ang II de hedef hücrelerin plazma membranlarında yerleşik bulunan reseptörler aracılığı ile etki eder (120). 1980 yılından itibaren yapılan çalışmalar, Ang II için AT_1 ve AT_2 isimli birbirinden farklı en az iki tane reseptör alt tipleri tanımlamışlardır. Daha sonraki çalışmalar ise AT_3 ve AT_4 reseptörlerinin varlığını göstermiş olsa da yeterince klonlama çalışmaları yapılmadığı için bu reseptör fonksiyonları hakkındaki bilgiler kısıtlıdır (122).

2.7.1. Ang II Tip 1 Reseptörü (AT_1)

AT_1 reseptörü

Ang II kardiyovasküler, nöronal, renal, endokrin ve hepatik sistem üzerindeki fizyolojik etkilerinin hemen hemen tamamını AT_1 reseptörünün stimülasyonu ile gerçekleştirir(123). AT_1 reseptörü; kalp, böbrek, vasküler düz kas hücreleri, beyin, adrenal bez, plateletler, yağ dokusu ve plasentada yerleşmiştir (124, 125). Rat, mice ve tavşanlarda yapılan çalışmalarda AT_1 reseptörünün AT_{1A} ve AT_{1B} olmak üzere alt tipleri tanımlanmıştır (50,52,53). G protein ailesinin bir üyesi olan AT_1 Ang II ile uyarıldığında bazı yapısal değişikliklere uğrar ve fosfolipaz C, fosfolipaz D, fosfolipaz A_2 gibi enzimler, adenil siklaz, L-tip, T-tip voltaj duyarlı Ca^{+2} iyon kanalları gibi çeşitli membran efektör sistemlerini etkiler. AT_1 reseptörlerinin aktivasyonu hücrenin kasılması için gerekli olan fosfolipaz C yi uyararak, inositoltrifosfat (IP_3) oluşumuna ve yavaş Ca^{+2} kanallarının açılarak endoplazmik retikulumde Ca^{+2} salıverilmesine neden

olur. Ayrıca fosfolipaz A₂ aktivasyonu ve adenilat siklaz inhibisyonu yaptığı da belirtilmiştir (97).

Ang II bir sıçana uygulandığında embriyo kültüründe ventriküler büyümede artış ve miyositlerde hipertrofi gözlenirken (126), spontan hipertansif olan sıçanlarda da sol ventrikül hipertrofisinin oluşumu AT_{1A} ve AT_{1B} reseptörlerinin artışı ile ilişkili bulunmuştur (127). AT₁ reseptörlerinin kalpte ekstrasellüler matriks birikimi yaparak kardiyak hipertrofi geliştirdiği pek çok çalışmada ortaya konulmuştur. Spesifik olarak kardiyak fibroblast uyarımları, kalbin ekstrasellüler matriks kollajenlerinde artışla sonuçlanmaktadır. Ayrıca Ang II, matriks metalloproteinaz-1 (MMP-1) aktivitesini bloke eder ki, bu enzim direkt olarak fibriler kollajenin yıkımından sorumludur. Sonuçta, ekstrasellüler matrikste proliferasyon olur ve kollajen birikir. Ang II kardiyak miyositlerde ve vasküler düz kas hücrelerinde, hücre sayısını artırmadan protein sentezi ve hücre çapında artış yapmak suretiyle hipertrofi yapar. Uzamış Ang II etkisine maruz kalıncada mitojenik aktivitenin arttığı görülmüştür (128). Ang II'nin pozitif ve negatif inotropik etkileri direkt veya indirekt olarak AT₁ reseptörleri ve nöradrenerjik sinir uçlarından salınan NE salınımı ile olmaktadır (129, 130). Genel olarak AT₁ reseptörleri pozitif kronotrop etkiden sorumludur. Yine Ang II, koroner arterleri AT₁ reseptörleri aracılığıyla büzer (130, 131).

AT₁ reseptörlerinin etkilerini; vazokonstriksiyon, , renin sekresyonunun baskılanması, Na⁺ alımının artışı, vazopressin salınımının artırılması, endotelin seviyesinin artırılması, sempatik aktivasyon, miyositlerde hipertrofi, miyokardiyal kasılmanın artırılması, vasküler ve kardiyak fibrozis, aritmiler, plazminojen aktivatör inhibitör 1'in uyarılması ve süperoksit oluşumu ve apoptozisin tetiklenmesi olarak özetleyebiliriz (133-136).

AT₁ Reseptör Antagonistleri

1970 yılından itibaren yapılan çalışmalar Ang II'nin kalp ve böbrekte önemli ölçüde zararlı etkilerini ortaya koymuştur. Özellikle de yüksek plazma renin aktivitesine sahip hastaların düşük plazma renin aktivitesi gösterenlere oranla daha ileri derecede MI ve şok riski taşıdığı kanıtlanmıştır (137). Daha sonraları, RAS'ı bloke eden ilaçların gelişimi ile sistemik kan basıncı, hipertansiyon gibi hastalıklar, KKY ve kronik böbrek yetmezliği kontrol altına alınabilmiştir. Yapılan seri çalışmalar sonucunda RAS inhibisyonu yapan ADE inhibitörleri geliştirilmiştir (138,139). ADE inhibitörlerinin hipertansif hastalarda kan basıncını kontrol ettiğini ve KKY' li hastalarda mortalite ve

morbiditeyi azalttığını gösterilmiştir. Ayrıca diyabeti de içeren yüksek kardiyovasküler riskli hastalarda KVS kaynaklı mortalite ve morbiditeyi de düzeltmişlerdir (136). Ang II'nin etkilerini daha spesifik düzeyde bloke etmek amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda AT₁ reseptör antagonisti olan losartan geliştirilmiştir(141). Daha sonraları, diğer "sartan" ilaveli ilaçlar elde edilmiştir (kandesartan, irbesartan...vb) (140). AT₁ reseptör blokörleri ile yapılan çalışmalara baktığımızda kendi aralarında etkinlik farkları olduğunu görüyoruz. Şöyleki; AT₁ reseptör antagonistleri aynı etki mekanizmalarını paylaşmakla beraber, etkide potansiyel farklılıktan sorumlu olabilecek farklı farmakokinetik profile sahip oldukları görülmüştür (136).

Akut uygulanan AT₁ reseptör antagonistlerinin vasodilatatör etkilerinden dolayı hayvanlarda (139) ve kalp yetmezliği olan hastalarda (141, 142) kalbin çalışma yükünü azalttığı görülmüştür. AT₁ reseptör antagonistleri ile kronik tedavi görmüş köpeklerde (143) ya da domuzlarda kalp yetmezliğinin gelişimi esnasında hemodinamiyi düzeltbildiği (144) ve MI'lı sıçanlarda sol ventriküler değişiminin yararlı yönde etkilediği tesbit edilmiştir (145). Farklı AT₁ reseptör blokerleri ile yapılan çalışmalar AT₁ reseptör blokajının hipoperfüzyonun şiddetini ve iskemiye bağlı metabolik değişiklikleri azalttığını gösterir (146, 147). AT₁ reseptör antagonisti kandesartanın, spontan hipertansif olan sıçanlarda 30 dk koroner arter oklüzyonu esnasındaki ventriküler taşikardi ve fibrilasyon insidanslarını da azaltmıştır (148). AT₁ reseptör antagonisti losartan (DuP753) izole kobay kalplerine uygulanan 15 dk global iskemi boyunca iskemiye bağlı aritmilerin insidansını azalttığı ve transmural iletinin uzunluğunu kısalttığı ve ayrıca iskemiye takiben reperfüzyon esnasındaki ventriküler taşikardi süresini ve ventriküler ektopik atımlarının insidansını da düşürdüğü tesbit edilmiştir (149).

Yapılan bir çok çalışmada hafif, orta ve şiddetli hipertansiyonlu hastalarda AT₁ reseptör antagonistlerinin antihipertansif etkisi gösterilmiştir. Tüm bu çalışmalar şunu da göstermiştir ki ;AT₁ reseptör antagonistleri; ADE inhibitörleri, Ca⁺ kanal antagonistleri, β blokerler ve diüretikler gibi hipertansiyonda etkilidir (136).

Klinik olarak hemen hemen tüm AT₁ reseptör antagonistleri mükemmel tolerabilite profiline sahiptir ve yan tesirlerinin insidansı kontrolden farklı görülmemektedir (150). Ang II reseptör antagonistleri (151) ilk dozda hipotansif etki göstermezler. Ang II reseptör blokajı esnasında plazma Ang II seviyesi belirgin şekilde arttığından ilaç terapisi aniden kesilirse hipertansiyon meydana gelmesine rağmen, losartanın ani kesilmesinin böyle bir hipertansiyon meydana getirmediği görülmüştür

(152). ADE inhibitörlerinin aksine Ang II reseptör antagonistleri öksürüğe neden olmamaktadır (152,153). Ang II reseptör antagonistleri verildiğinde bazen karaciğer enzimlerinde küçük ve geçici artmalar tesbit edilmiştir (151).

2.7.2. Ang II Tip 2 Reseptörü (AT₂)

Ang II'nin iyi bilinen kardiyovasküler ve renal etkilerinin hemen tamamından AT₁ reseptörü sorumlu tutulurken AT₂ reseptörlerinin fonksiyonları hakkında çok az şey bilinmektedir (154). Ang II'nin AT₁ reseptörü üzerinden gerçekleştirdiği etkilerin AT₂ reseptörü tarafından fonksiyonel olarak antagonize edildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (155). Sıçanlarda ve farelerde yapılan çalışmalar, AT₂ reseptör mRNA sının fetal dönemlerde yüksek iken, doğumdan sonra hızla düştüğünü göstermiştir (156). Yine neonatal sıçan kardiyomiyositlerinden yapılan primer kültür çalışmaları fetal yaşama göre %50 oranında AT₂ reseptöründe azalma göstermişken AT₁ reseptörlerinde hiçbir değişim olmamıştır (157). Her ne kadar erişkin yaşamda AT₂ reseptör yoğunluğu düşse de, kardiyak hipertrofi, MI, kardiyomiyopati, KKY gibi patolojik durumlarda bu reseptör sayısında belirgin artış olmaktadır (158). İlginç olarak, end-stage insan kalbinde AT₂ reseptörleri total Ang II reseptörlerinin %65'ini oluşturmaktadır (159).

AT₂ reseptörünün sinyal mekanizmaları da iyi tanımlanmış değildir. Bazı durumlarda Gi proteinlerle eşleşerek etki gösterirler. Nöronlarda ve muhtemelen diğer dokularda da protein serine/threonine phosphatase PP2A aktivasyonu yaparak geç tip K⁺ kanal aktivasyonuna yol açarlar. İkinci bir sinyal mekanizması phosphotyrosine phosphatases (PTPases) aktivasyonu yapmasıdır. Bu yolak normal dokuların kontrolsüz çoğalmasını hızlı bir şekilde önleyerek büyümeye zıt etki gösterir. CGMP oluşumunu takiben, NO salınımı da intrasellüler diğer önemli bir AT₂ reseptör etkisidir. Özellikle vasküler yapı ve böbrek dokusunda etkisi görülür. T-tip Ca⁺² kanallarını da kapattığı gösterilmiştir. Ayrıca bu reseptör aktivasyonunun protein tirozin fosfatazın inhibisyonu veya aktivasyonu ile ilişkili olduğu, guanilat siklaz inhibisyonu yaptığı ve hücre membranındaki K⁺ kanallarının kapanmasına yol açtığı da belirtilmiştir (122).

AT₂ Reseptörü ve Kalp

Miyokardiyumdaki AT₂ reseptörünün fonksiyonu çok iyi tanımlanmamış olmakla beraber ratlarda ve insanlarda kalp AT₂ reseptörlerinin miyokardiyal infarktüs gibi bazı patofizyolojik durumlarda upregüle olması AT₂ reseptörlerinin doku remodelizasyonunda önemli rol oynadığını göstermektedir (160,161). İnsan kalbinde

ex-vivo yapılan çalışmalar KVS'nin fizyopatolojik şekillenmesinde AT₂ reseptör protein yapımının, AT₁ reseptör proteinleri azaldığında bile devam ettiğini göstermiştir. Yetmezlikli insan kalbinde de fibroblastlarda AT₂ reseptör gen yapımı ve proteinlerinde artış görülmesi, AT₂ reseptörünün fibrozisi artırdığı ve ventriküler şekillenmede rol oynadığını göstermektedir (162). AT₁ reseptörünün sıçan kardiyomiyositlerinde oluşturduğu hipertrofinin AT₂ reseptör inhibisyonu ile ortadan kalkması, bu reseptörün kardiyak hipertrofi üzerine tonik inhibitör etkisinin olduğunu göstermektedir (160).

Miyokardiyal AT₂ reseptör yoğunluğu, deneysel MI modelinde infarkt sahası içinde infarktan bir gün sonra artmış olarak görünür ve yedi gün sonra hem infarkte hem de non-infarkte alanlarda AT₂ reseptör yapımı artmıştır (160). AT₂ reseptörü silinmiş farelerde yapılan çalışmada MI sonrası fibrosis ve kollajen yapımı azalırken, kalp rüptürü ve ölüm oranında artış gözlenmiştir (163). AT₁ reseptör antagonistleri kronik kalp yetersizliği oluşturulmuş rat modelinde sol ventrikülün remodelizasyonunda ve kardiyak fonksiyonların iyileştirilmesinde rol oynarlar (35). AT₁ reseptör antagonistlerinin bu etkileri AT₂ reseptör antagonisti ve bradikinin B₂ reseptör antagonistleriyle inhibe edilmiştir. AT₁ blokajı sonucunda artan Ang II'nin AT₂ reseptörlerini uyarmasının (154) kinin/ NO salınımına neden olarak AT₁ reseptör antagonistlerinin faydalı etkilerinde rol oynadığı düşünülmektedir. Domuzlarda yapılan bir çalışmada AT₁ reseptör antagonistlerinin miyokardiyal iskemi sonrasında infarkt alanını azaltıcı etkisinin de AT₂ reseptör antagonisti PD 123319 ve bradikinin B₂ reseptör blokajıyla ortadan kalktığı gösterilmiştir (36). Liu ve ark. da (35) sol ventrikül end-diastolik ve end-sistolik volüm artışı (LVEDV, LVESV) ve ejeksiyon fraksiyonu (EF) azalması, interstisyel kollajen azalması ve kardiyomiyosit çapında olan düzelmelerin AT₁ reseptör blokajı tarafından olduğunu ve bu düzelmelere AT₂ reseptörünün katkısı bulunduğunu ve AT₂ antagonistlerinin ise bu faydalı etkiyi ortadan kaldırdıklarını göstermişlerdir. Ayrıca son dönemlerde yapılan çalışmalarda KVS'in şekillenmesinde AT₂ reseptörlerinin apoptozisi artırdığıda gösterilmiştir. Yine Ang II'nin kaspaz kaskadını aktive ederek apoptozis üzerine olan uyarıcı etkisinin AT₂ reseptör blokajı ile ortadan kalkmasının gösterilmesi de bu reseptörün apoptozisteki rolünü kanıtlamıştır (164).

RAS aktivasyonu; vasküler hipertrofi, vazokonstriksiyon, su ve tuz tutumu ile gelişen hipertansiyon ile sonuçlanır. Bu etkilere dominant olarak AT₁ reseptörü aracılık ederken hücre ölümü, vazodilatasyon, natriürezis gibi diğer Ang II'ye bağlı etkiler AT₂ reseptörü aracılığıyla olur (165). AT₂ reseptörü silinmiş farelerde yapılan çalışmalar,

kontrole göre yüksek kan basıncı değerleri göstermiştir. Yani AT₂ reseptörünün vazodilatasyon yapıcı etkisi vardır (156). Bu etkisini NO ve bradikinin aracılığı ile yaptığı düşünülmektedir. AT₁ reseptör aktivasyonu; tirozin kinazın indüklediği protein fosforilasyonu, araşidonik asit metabolit üretimi, reaktif oksidan ürün aktivitelerinde değişme, intrasellüler Ca⁺² konsantrasyonunda artış yaparken, AT₂ reseptör aktivasyonu, bradikinin, NO, ve PG üretimine yol açar (165). Hayvan çalışmalarında AT₂ reseptörü aşırı üretime zorlandığında Ang II infüzyonunun basınçta artış yapmayıp, AT₁ reseptör blokajı yapıldığı zamanda Ang II'nin kan basıncında düşme yapması AT₂ reseptörünün kan basıncında vazokonstriktör cevabı düzenleyici etkisini göstermektedir (127). Hayvan modellerinde AT₂ reseptör antagonistleri mikrovasküler dansitede ve kan basıncında artışa yol açmıştır. Yapılan çalışmalar AT₂-Bradikinin-CGMP kaskadının kan basıncının renal kontrolünde ilişkisini ortaya çıkarmıştır (166). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, Ang II infüzyonu ile hipertansif ratlarda artmış olan vasküler CGMP konsantrasyonunun losartan uygulamasıyla daha da arttığı buna karşılık, AT₂ reseptör uyarımı NO artışına yol açarak AT₁ reseptör antagonistlerinin fizyolojik ve terapötik etkilerine katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (167).

2.7.3. Ang II Tip 4 Reseptörü (AT₄)

AT₄ reseptörü Ang IV olarak bilinen Ang II (3-8)'i bağlar. Bu reseptör özellikle beyinde yaygın olarak bulunur. Beynin işlevlerinden kognitif, motor ve sensoryal fonksiyonlarda rol alır. Özellikle neokorteks, hipokampus, renal tubuler Na⁺ reabsorpsiyonunun inhibisyonu ve kardiyak hipertrofi ile ilişkisi gösterilmiştir. Kan damarlarında genişleme yaptığı da bildirilmiştir (168).

2.8. Kallikrein Kinin Sistemi ve Kardiyovasküler Etkileri

KKS ve renin anjiyotensin sistemi kardiyovasküler ve renal fonksiyonların, kan basıncının düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. Bu iki sistem fizyolojik şartlar altında birbirinden farklı etkiler gösterirken kalp ve böbrek hastalıkları gibi patolojik durumlarda uyum içinde fonksiyon gösterirler (169). Yapılan hayvan deneyleri kininlerin hem kısa dönem hemde uzun dönem kardiyoprotektif etkilere sahip olduklarını göstermiştir. Kısa dönem kalp koruyucu etkisi kalbin iskemi reperfüzyon hasarına karşı korunmasıyken uzun dönem etkileri kalp yetersizliğinin progresyonunun ve sol ventrikül hipertrofisinin azaltılmasını içermektedir (123).

KKS'nin tüm komponentleri kalp ve vasküler dokularda lokalizedir (29,171). Kininler iskemi süresince salınır ve faydalı kardiyak etkilere neden olurlar. BK antagonistleri iskeminin etkilerini artırır ve kötüleştirir (29). Ayrıca BK önkoşullamanın faydalı etkilerinde katkıda bulunur. Tavşanlarda ön koşulama sonrası BK ile oluşan koruyucu etkinin BK antagonisti (HOE 140)'ın uygulanmasıyla ortadan kalktığı görülmüştür (172). BK hipertansiyonlu ratlar da sol ventrikül hipertrofisini önlemiştir(173). Yapılan insan ve hayvan deneyleri periferik ve kardiyak KKS komponentlerinde ki azalmanın yüksek kan basıncının sebebi olabileceğini düşündürmektedir (29).

2.8.1.Kininlerin Sentezi

Kininler farmakolojik olarak aktif polipeptidlerdir. Doku ve vücut sıvılarında kininojenlere kallikreinlerin enzimatik etkileri sonucu salınırlar. Kinin ailesi BK, kallidin, methionyl-lysyl-BK den oluşur. BK den plazma ve idrarda aminopeptidazların etkisiyle Kallidin ve methionyl-lysyl-BK oluşur (29).KKS'nin ana medyatörü olan BK damar duvarında hem sistemik hemde lokal olarak üretildiğinden parakrin ve otokrin etkilere sahiptir (174).

İnsanlarda karaciğer, plazma ve diğer vücut sıvılarında sentezlenen iki tip kininojen bulunmaktadır; yüksek molekül ağırlıklı kininojen ve düşük molekül ağırlıklı kininojen (175). Bu kininojenler molekül ağırlığı, plazma ve doku kallikreinlerine olan afiniteleri ve fizyolojik özellikleri bakımından birbirinden farklıdır (176)..

Doku kallikreini (DK) böbrek, kalp ve sinovyal doku gibi çeşitli dokularda bulunur (29). DK hücrede inaktif olarak sentezlenir ve daha sonra aktif forma dönüştürülür (177). Aktive olan DK düşük molekül ağırlıklı kininojeni etkileyerek kallidin oluşturur. Plazma kallikreini ise dolaşımda inaktif formda bulunur ki prekallikrein olarak da bilinir (178). İnaktif prekallikrein aktive hageman faktör (XIIa) tarafından aktif kallikreine dönüştürülür (179).Aynı zamanda plazma kallikreinde pozitif feedback reaksiyonla inaktif olan faktör XII'i aktif XIIa'ya dönüştürebilir (179,180).

2.8.2.Kininlerin Enzimatik Yıkımı

Vücutta kininlerin fizyolojik fonksiyonlarını düzenlemek amacıyla plazma, endotel hücreleri ve dokuda kininazlar olarak bilinen, kininleri inaktive eden enzimler bulunmaktadır (181). Yapılan deneysel çalışmalar BK yıkımından sorumlu dört

metallopeptidazın varlığını göstermiştir. Bu enzimler kininaz II veya anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE), aminopeptidaz P (APP), nötral endopeptidaz 24.11 (NEP), karboksipeptidaz M ve N'dir (182). Yapılan deneysel çalışmalar kininlerin enzimatik yıkımının vasküler yatakta ve dokuların interstisyumunda farklı olabileceğini göstermiştir ki bu bulgu önemli terapötik anlama sahiptir (123).

BK'in yıkımında rol alan major enzim ADE'dir. Bununla beraber insan kalp interstisyumunda, kininlerin metabolizmasında ADE'nin minör düzeyde rol oynadığı gösterilmiştir. İzole insan kardiyak membranındaki çalışmalarda BK metabolizmasında rol oynayan major enzimin nötral endopeptidaz (NEP) olduğu gözlenmiştir. Ekstrasellüler metalloendopeptidaz olan ve birçok dokuda mevcut olan NEP aktivitesi kardiyovasküler sistemde de bulunmuştur. NEP aktivitesi sadece kalp hücrelerinin plazma membranı üzerinde mevcuttur. Yapılan bir çalışmada kalp interstisyumunda BK'nin inaktif metaboliti olan BK(1-7)'e dönüştürülmesinde %90 NEP ve sadece %10 oranında ADE rol oynamıştır. Campbell ve arkadaşlarının çalışması da kalp interstisyumunda BK'nin ADE dışında ki yıkımını desteklemiştir. NEP inhibitörü eadotril ile tedavi edilen rat kalp interstisyumunda BK seviyesi yükselirken, ADE inhibitörü perindopril ile tedavi edilen ratlarda yükselmemiştir. Elde edilen bu veriler insanlarda, deney hayvanlarında BK yıkımından sorumlu major enzimlerin ADE ve NEP olduğunu göstermektedir. Ayrıca ADE'nin etkisi koroner vasküler yatağa, NEP'in ise kalp interstisyumuna sınırlı görünmektedir (123). Bunun yanısıra izole rat kalbinde yapılan bir çalışmada da APP inhibitörü, ADE inhibitörleri ve NEP inhibitörü kullanılıp, BK metabolitleri analiz edilerek, bu enzimlerin BK'nin metabolizmasında ne kadar rol oynadıkları tespit edilmeye çalışılmış. Deney sonucunda miyokardiyumda kinin metabolizmasında en önemli rolü aminopeptidaz P ve ADE'nin oynadığını, NEP'in etkisinin minör düzeyde olduğu sonucuna varılmıştır (183).

2.8.3. Kinin Reseptörleri

Kininler farmakolojik etkilerini B₁ ve B₂ olarak adlandırılan G reseptör ailesinin üyesi olan iki reseptör alt tipiyle gösterirler. BK reseptörlerinin uyarılması G proteinleri aracılığı ile fosfolipaz C'ye bağlı olarak inozitol fosfatın salınımını ve hücre içi kalsiyum seviyesinin artışı sağlar. Endotel hücresinde sitozolik Ca artışı fosfolipaz A₂ aktivasyonu ile araşidonik asid ürünlerinin oluşumunu ve Ca-kalmoduline bağlı NO sentetaz yoluyla NO sentezine neden olur. Bu ürünler kininlerin vasküler düz kas

hücrelerinde gevşeme, hücre çoğalmasının inhibisyonu ve anti iskemik etkilerine aracılık ederler (184).

Bradikinin B₁ ve B₂ reseptörleri iskemik miyokardiyumda upregülasyona uğrarlar. Ancak kininler kardiyovasküler sistem üzerindeki en önemli etkilerini B₂ reseptörü üzerinden gerçekleştirmektedir (185).

B₁ reseptörü normal dokuda nadiren ekspresyona uğrar fakat inflamasyon ve doku hasarıyla ilgili patolojik durumlarda upregülasyona uğrar. B₁ reseptörü C terminal ucunda argininin olmadığı kinin metabolitlerine yüksek afinite ve selektivite gösterir. B₁ reseptörünün uyarılması düz kaslarda kasılmağa, kollajen sentezi ve hücre proliferasyonunda artışa neden olur. Kininler B₁ reseptörleriyle makrofajlardan tümör nekroz faktörü (TNF) ve interlökin (İL) salınımını uyarırlar (29).

B₂ reseptörleri ağrı (187), inflamasyon (188,189), bronkokonstriksiyon (190), hipertansiyon (191) ve kardiyak aritmi (192,193) gibi patolojik durumlarda etkilidir. İnvitro ortamda B₂ reseptörlerinin endotel hücrelerinden nitrikoksit (NO) ve prostasiklin (PI₂) salınımını uyararak etkili olduğu gösterilmiştir (194). B₂ reseptörleri BK ve kallidin için yüksek affinite gösterirler. B₂ reseptörlerinin uyarılması vazodilatasyon, hipotansiyon, NO, PGI₂ ve PGE₂ salınımı ile antihipertrofik, antiiskemik özelliklere ve insülin sensitivitesinde iyileşmeğe neden olmaktadır (29).

2.8.4. Hipertansiyon ve Bradikininin

Hipertansiyon periferik vasküler ve renal hastalıklar, KKY ve koroner kalp hastalığı gibi kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde önemli bir risk faktörüdür. Hipertansiyonun patogenezinde KKS'nin rolüne dair birçok bulgu vardır. BK sistemik kan basıncı üzerindeki etkilerini; vazodilatasyonla periferik vasküler direnci düşürerek ve böbreklerden sodyum atılımını regüle etmek suretiyle gerçekleştirir (29). BK renal arter içine injekte edildiğinde renal kan akımını artırarak natriüresis ve diüresise neden olur (195). BK'inin bu etkilerine renal dolaşımdaki prostaglandin salınımı katkıda bulunur (196). KKS'nin hipertansiyon üzerindeki etkilerini değerlendirmek için yapılan çalışmalarda üriner kallikrein atılımının hipertansif hastalarda ve hipertansif ratlarda önemli düzeyde azaldığı görülmüştür. Bu durum üriner kallikrein atılımındaki azalmanın, hipertansiyonda kinin üretimindeki defekten kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir. Kininojen seviyesi ve kinin-potentiating faktörün esansiyel ve malign hipertansiyonda azaldığı bilinmektedir. Renal kallikrein kinin sisteminin sodyum

atılımındaki rolü, bu sistemdeki bir defektin vücutta sodyum birikimiyle hipertansiyon gelişimine neden olabileceğini göstermektedir (29).

Bunun için renal kallikrein benzeri aktivite böbrekten Na atılımına neden olur. Bu da hipertansiyon tedavisinde faydalıdır. Ayrıca, trasgenik farelerin (renal doku kallikreinin overekspresyonu olan) hipotansif oldukları gösterilmiş ve kan basıncını düzeltmek amacıyla doku kallikreinin inhibitörü olan aprotinin kullanılmış (170). Spontan hipotansif ratlarda aprotinin ile ADE inhibitörlerinin hipotansif etkisi azalmıştır (197). Bu bulgular, kan basıncı regülasyonunda doku kallikreinin rolünü aydınlatmaktadır. Kallikrein geninin hipotansif modellere verilerek; yüksek kan basıncı, kardiyak hipertrofi ve renal hasara karşı etkilerinin araştırılması amaçlanmış ve elde edilen bulgular, kallikrein geninin kardiyovasküler ve renal patolojilerde kullanılabilirliğini göstermiştir (171). Kininaz 2(ADE) inhibitörleri, klinik ve deneysel hipertansiyon tedavisinde kullanılmış (198,199). Kininaz 2 inhibitörleri böbrekte Ang II oluşumunu bloke ederek ve kinin yıkımını inhibe ederek kan basıncını düşürür. Bir Ca kanal blokeri olan Nifedipin üriner kallikrein atılımını normalize eder (200).

Bradikininin kan basıncını azaltıcı etkisinin B2 reseptörü ile ilgili olduğu ama özel durumlarda B1'in de olaya katılabileceği kabul edilmektedir (29). B2 reseptörü antagonisti olan B5630'un, BK'in ve ADE inhibitörü olan kaptoprilin hipotansif etkisini bozabileceği gösterilmiş (190). Bundanda ADE inhibitörlerinin hipotansif etkilerini B2 aktivasyonu gösterilebileceği fikri çıkmaktadır (201). ADE inhibitörleriyle tedaviden sonra görülen BK birikimi ve NO, PGs ve PGI₂ salınımı da hipotansif hastalardaki ek mediatörler olabilir. BK antagonist kullanımı antihipertansif ilaçların etkinliğini bozabileceğinden bu ilaçların hipotansif hastalarda kullanımı kontrendikedir (200).

2.8.5.Sol Ventrikül Hipertrofisi ve Bradikinin

Sol ventrikül hipertrofisi, hipotansif hastalarda risk faktörüdür (29). Ratlarda , aortik bandla oluşturulmuş hipotansiyonda BK' nin LVH'ne karşı koruyucu rol oynadığı gösterilmiştir (173). BK'nın antihipertrofik etkisi B2 reseptör antagonisti ve NO sentetaz inhibitörleriyle bloke edilebilir. Kardiyak KKS deki bir defektin, hipertansiyon ve diabet mellitusla birlikte olan hipertansiyon durumlarında, LVH indüksiyonundan sorumlu olduğu gösterilmiştir (29,170). Yapılan bir çalışmada hipotansif ratlarda kaptopril tedavisi ile kan basıncında azalma ve LVH'de gerilemenin böbrek kallikrein aktivitesiyle birlikte olabileceğinin gösterilmesi (202) doku kallikreininin kadiyoprotektif ajan olarak rol oynayabileceğini desteklemektedir.

2.8.6.Kardiyak Yetmezlik Ve İskemide Bradikinin

Her ne kadar lokal ve sistemik BK kullanımının koroner kan akımını arttırdığı ve myokardiyal metabolizmayı düzenlediği gösterilmişse de, kalpte kininlerin rollerine gereken önem verilmemiş. ADE inhibitörlerinin ventriküler dilatasyonu sınırlandırdığı, klinik semptomların progresyonunu geciktirdiği ve mortalite oranlarını düşürdüğü iyi bilinmekte. Bu faydalı etkilerde Ang II formasyonundaki azalmayla birlikte, ADE inhibitörlerinin, kinini enzimatik yıkımdan korumasıda rol oynar. Kininlerin endotelial B₂ reseptörlerine bağlanması NO ve PGI₂ salınımına neden olmaktadır ki bu medyatörlerinde vazodilatör, anti-iskemik, antiproliferatif etkileri, glukojen ve fosfat gibi enerjiden zengin miyokardiyal stoğu koruma gibi özellikleri vardır. Ang II'nin vazokonstriktör etkisinin aksine kininler kardiyovasküler homeostazı korumaya katkıda bulunurlar (29). KKS'nin disfonksiyonu kalp yetmezliği patogenezine katkıda bulunur. Azalmış lokal kinin ve zayıf NO oluşumunun insan kalbinde mikrovasküler yetmezliğe yol açabileceği de gösterilmiştir (203). Daha ileri olarak konjestif kalp yetmezliği olan köpeklerde B2 reseptörlerinin HOE140 ile selektif blokajının koroner kan akımını ve kontraktiletiyi azalttığı ve sol ventrikül end diastolik basıncı artırdığı gösterilmiş (204). Böylece kardiyak kas aktivitesinin azalması kardiyak yetmezlik gelişimine katkıda bulunmaktadır (29) .

Diğer taraftan, iskemi süresince kalpte BK salgısının artışı ve reseptörlerinde upregülasyona uğradığı gösterilmiştir (185). BK'nin iskemide koruyucu rol oynadığını gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (205). Canine (206,207), tavşan (208) ve domuzlarda (211) koronerlere verilen BK iskemi reperfüzyon hasarını azaltmış ve bu etkisi BK B2 reseptör blokeri HOE140 ile ortadan kalkmıştır (208,210,207). BK'nin iskemi sonrasında ventrikül fonksiyonlarında iyileşme sağladığı (206,211) ve bununda NO sentetaz inhibitörü L-NAME ve indometazin tarafından bloke edildiği gözlenmiştir (211). Ayrıca BK iskemi reperfüzyona bağlı aritmileri azaltmış (212,213,214) ve bu etkisinde HOE140 (224) ve L-NAME (213) ile ortadan kalkmıştır. BK iskemik ön koşullamada da etkilidir (29,172). Çeşitli hayvan deneylerinde, BK B2 reseptör blokeri HOE140'ın verilmesi ile iskemik ön koşullamanın ventrikül aritmileri ve infarkt alanını azaltıcı etkisi ortadan kalkmıştır (215).

ADE inhibitörlerinin kalbi koruyucu etkilerinin mekanizmaları tamamen anlaşılmasa da bu etkisini ve BK'in rolünü gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (216). ADE inhibitörü kaptoprilin iskemi reperfüzyon hasarını azaltması ve bunun BK

seviyesindeki artışla açıklanması (217,208); tavşanlarda ramiprilatin kalp koruyucu etkisinin HOE140 ile antagonize edilmesi (30) BK'in rolünü gösteren çalışmalara örnektir. ADE inhibitörlerinin iskemi sonrasında kalbin kasılma fonksiyonları üzerindeki iyileştirici etkisi HOE140 ve siklooksijenaz inhibitörleriyle (218), apoptosis ve infarkt alanında sağladığı azalma da HOE140 (219) ile bloke edilmiştir.

BK ADE inhibitörlerinde(33,34) olduğu gibi anjiyotensin reseptör blokerlerinde faydalı etkilerinde (35,36) rol oynar. AT1 reseptörünün blokajı anjiyotensin miktarını artırarak AT2 reseptörlerinin aktivasyonuna neden olur. AT2 reseptörleri kininlerin salınımını uyararak kalbi koruyucu etkiler oluştururlar (35). AT1 reseptör blokeri losartanın, iskemi reperfüzyon modelinde ventrikül fonksiyonu, infarkt alanı ve kalp hücrelerinde apoptosise etkileri ve BK'nin rolünün araştırıldığı bir çalışmada; losartanın infarkt alanı ve ventrikül fonksiyonları üzerindeki iyileştirici etkileri HOE140 ile kısmen bloke edilirken, antiapoptotik etkisi HOE140 ile tamamen bloke edildi. Bu da losartanın hem BK'ne bağlı olarak hemde BK den bağımsız olarak kalbi koruyucu etki oluşturduğunu düşündürmektedir (220). Ayrıca Anjiyotensinin damar düz kas hücrelerinde BK B2 reseptör upregülasyonuna neden olduğu ve bu etkisini de AT1 reseptörü üzerinden gerçekleştirdiği gösterilmiştir (169). Miyokard infarktüsü sonrasında gelişen kalp yetersizliğinde ADE inhibitörlerinin ve AT1 antagonistlerinin kalp fonksiyonlarında sağladığı iyileşme ve BK'in rolü gösterilmiştir (35). AT1 reseptör antagonisti S0029'un reperfüzyona bağlı ventriküler fibrilasyonu azaltıcı etkisi HOE 140 ile bloke edildi (221).

İskemik miyokardiyum hücre içi asidozis ve Ca birikimiyle karakterizedir ki bu iki durum hücre nekrozu, doku hasarına neden olarak ventriküler fonksiyon bozukluğuna yol açar. Miyokardiyumda hücre içi kalsiyum ve pH regülasyonunda Na^+ - H^+ , Na^+ - HCO_3^- ve Na^+ - Ca^{2+} transport sistemleri rol alır. Bu transport sistemlerinden Na^+ - H^+ ve Na^+ - Ca^{2+} iskemik miyokardiyumun erken dönemlerinde upregüle olur ve bu durum BK B2 reseptör blokeri HOE 140 ile bloke edilirken B1 reseptör blokerinden etkilenmez. Na^+ - HCO_3^- sisteminin upregülasyonu BK reseptör blokerlerinden etkilenmemiştir. Kronik B' reseptör blokajının bu transport sistemleri üzerinden etki ederek asidozis ve Ca yükünü azaltıp antiiskemik etkiler oluşturabileceği düşünülmektedir (185).

Moleküler biyoloji ve gen haritalanmasındaki ileri araştırmalar KKS'nin kardiyovasküler patofizyoloji üzerindeki etkilerine dair, pek çok cevap bekleyen soruyu aydınlatılabilir (194).

Bu deneysel çalışmamızda *in vivo* olarak sıçanlarda oluşturulan miyokardiyal I-R modelinde; ADE inhibitörlerinden kaptopril, AT₁ selektif reseptör blokörü losartan ve AT₂ selektif reseptör blokörü PD123319' un hem hemodinamik parametrelere hem de infarkt alanına etkilerinde BK'nin rolünü karşılaştırmalı olarak inceleyerek olayın fizyopatolojik mekanizmalarını açığa çıkarmayı amaçladık

BÖLÜM 3

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Deney Hayvanları ve Gruplar

Deneylerde İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezince üretilen Wistar-Albino cinsi, 250-350 gr ağırlığında 48 adet erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlara standart şartlarda (12 saat gün ışığı, 12 saat karanlık, havalandırılmalı, sabit ısı odalarda), özel kafeslerde bakıldı. Beslemede 8mm'lik standart sıçan pelet yemi kullanıldı.

Deney grupları her grupta altı hayvan olacak şekilde sekiz grup olarak belirlendi; Kontrol (Grup 1), Bradikinin (Grup 2), Losartan (Grup 3), PD123319 (Grup 4), Kaptopril (Grup 5), Losartan+HOE140 (Grup 6), Kaptopril+HOE140 (Grup 7), PD123319+Bradikinin (Grup 8) .

3.2.Cerrahi Uygulama

Denekler, 1.2-1.4g/kg üretanın intraperitoneal olarak verilmesiyle anestezi edildi. Yapay solunum için trakea, ilaç uygulaması için de juguler ven kanülasyonu yapıldı. Karotid artere konan bir kanül, transdüser (Harvard model, 50-8952) ve bir kaydedici (Harvard Universal Penrecorder) yardımıyla kan basıncı, kalp hızı ve EKG kayıtları alındı.

Göğsün sol tarafına 1-1.5 cm uzunluğunda bir insizyon yapıldıktan sonra, ciltaltı dokuları ve göğüs kasları geçilerek, sternumun 2 mm solunda dördüncü kosta kesilerek sol torakotomi yapıldı. Toraks açıldığı anda, içerideki negatif basıncın ortadan kalkması nedeniyle, solunumun devamı ve normal pCO₂, pO₂ ve pH değerlerini korumak amacıyla, ventilasyon cihazıyla (Harvard Animal Rodent Ventilator) 1.5ml/100g'lık

hacim ve 60 atım/dk'lık bir hızla oda havası verilerek pozitif basınçlı solunum uygulanmaya başlandı.

Perikardiyum yavaşça sıyrılarak kalp serbestleştirildi. Daha sonra göğsün sağ tarafına nazikçe basılarak kalp dışarı alındı. 10 mm'lik, yuvarlak uçlu iğneyle 6/0 ipek sütür sol ana koroner arterin altından miyokard dokusunu da hafifçe içine alacak şekilde hızlıca geçildi. Daha sonra kalp yeniden göğüs içine yerleştirilerek 20 dk stabilizasyon için beklenildi. Lambeth Conventions'da (222) belirlenen değerlendirme kriterleri göz önüne alınarak bu işlemlere bağlı herhangi bir aritmi görülmesi ya da ortalama kan basıncının oklüzyon öncesi 70 mm Hg'nin altına düşmesi halinde denek çalışma dışı bırakıldı. Konulmuş olan sütürün uçları 1mm çap ve 1cm boyda ufak bir plastik tüp içinden geçirildi. 20 dk stabilizasyon periyodu sonunda damarın altından geçirilmiş olan ip, plastik tüp ve bir klemp yardımıyla sıkıştırılarak damarın kapatılması ile iskemi (oklüzyon), tekrar açılması ile de reperfüzyon sağlandı. Nekroz alanı ölçüm çalışmalarında 30 dk iskemi 120 dk reperfüzyon uygulandı (223). Deney sonunda hayvan karotid arterden kanatılarak ötenazi yapıldı.

3.3.İlaç Uygulaması

Hayvanlar rastgele örnekleme metoduyla seçilerek deneylerde hem kontrol hem de ilaçlı gruplar (n=6) oluşturuldu. Kaptopril (Sigma,USA;CAS number: [62571-86-2]; 3 mg/kg), losartan (Merck,USA; L-158086-005H067; 2 mg/kg), PD123319 (Sigma,USA P-186; 20 µg/kg/dak), Bradikinin (Sigma,USA B-3259; 40 µg/kg), HOE140(Sigma,USA H-157;100 µg/kg) dozlarında infüzyon pompası (Infusion Pump May INF 9601, COMMAT LTD. ŞTİ. Ankara, Türkiye) aracılığıyla juguler venden verildi. Kaptopril, losartan, PD123319 oklüzyondan 10 dak önce, bradikinin ise 1 dak önce başlanıp tüm iskemi boyunca verilirken, HOE 140 oklüzyondan 15 dak önce i.v bolus injeksiyon şeklinde verildi. İlaç dozları konuyla ilgili temel literatürlerden seçildi (218,223,224,225). Kontrol grubuna eşit hacimde serum fizyolojik (distile su içinde çözülmüş % 0.09'luk NaCl) verildi.

3.4.Hemodinamik Parametrelerin Değerlendirilmesi

Hazırlık sırasında ve oklüzyon-reperfüzyon dönemlerinde EKG, kan basıncı ve kalp hızı kaydedildi. Ayrıca ortalama arteriyal kan basıncı ve kalp hızları değerlendirildi. Ortalama kan basıncı hesaplaması sistolik kan basıncı değerlerinin % 40'ı, diastolik kan basıncı değerlerinin % 60'ı toplanarak yapıldı.

3.5.Nekroz Alanının Ölçülmesi

Her deneyin sonunda kalpler hızlıca yerlerinden çıkarılıp tartılarak donduruldu. Daha sonra, 2 mm kalınlığında dilimlendi ve %1'lik trifenil tetrazolyum klorid (TTC) içeren pH'sı 7.4 olan tamponda 37 °C'de 15 dk süreyle inkübe edildi. TTC; dokuda NADH, dehidrogenazlar ve diaforazlar bulunduğu formazan pigmentlerini indirger. Dokuda canlılığını koruyan alanlar, bu enzimler ve kofaktörlerini içermelerinden dolayı koyu kırmızı renkte boyanırken, nekrotik bölge ise bunları içermediklerinden boyanmazlar (226). Boyamadan sonra kalp dilimleri birbirinden 2 mm uzaklığı olan iki cam levhanın arasına konuldu. Nekrotik bölge sınırları (TTC negatif doku) ve sağlam doku(TTC pozitif doku-koyu kırmızı) bir şeffaf asetat üzerine kopyalandı. İnfarkt alanları ve total kalpalanları bilgisayar destekli planimetrik yöntem ile ölçüldü.. İnfarkt miktarı Nekroz/Total kalp alanı olarak ifade edildi.

3.6.İstatistik

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 10.0 programı ile yapıldı. Tüm sonuçlar ortalama standart hata olarak ifade edildi. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Nekroz alanı, kalp hızı ve kan basıncı değerleri tekrarlayan ölçümler için varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Post Hoc karşılaştırmada Tukey testi kullanıldı.

BÖLÜM 4 BULGULAR

4.1.Kullanılan İlaçların Kan basıncı Üzerine Etkileri

Ortalama arteriyel kan basıncı (OAKB) açısından: ilaç öncesi (İ.Ö.), iskemi başlangıcında yani, 0. dk, iskeminin 10., 20. ve 30. dk'sında, oklüzyondan sonra (reperfüzyon) 30, 60 ve 120. dk'larda kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı gibi; losartan ile losartan+HOE140, kaptopril ile kaptopril+HOE140, PD123319 ile PD123319+bradikinin arasında da istatikselsel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo1, şekil1)

| Gruplar | İ.Ö. | 0.dk | İSKEMİ | | | REPERFÜZYON | | |
|-------------------------|----------|----------|----------|----------|---------------------|-------------|----------|----------|
| | | | 10 | 20 | 30 | 30 | 60 | 120 |
| Kontrol | 83 ± 2,6 | 81± 3,4 | 65 ± 5,8 | 65 ± 5,8 | 65 ± 6,9 | 72 ± 5,6 | 70 ± 5,1 | 67 ± 3,7 |
| Bradikinin | 85 ± 2,1 | 85 ± 2,1 | 68 ± 4,4 | 69 ± 4,2 | 71 ± 4,9 | 75 ± 6,3 | 78 ± 5,9 | 72 ± 4,8 |
| Kaptopril | 82 ± 2,8 | 72 ± 1,6 | 54 ± 3,0 | 57 ± 3,1 | 55 ± 2,2 | 64 ± 6,5 | 65 ± 5,8 | 60 ± 5,7 |
| Losartan | 75 ± 3,0 | 70±0,2 | 48 ± 6,0 | 56 ± 5,3 | ⁵¹ ± 5,4 | 56 ± 1,0 | 54 ± 9,6 | 52 ± 6,6 |
| PD123319 | 79 ± 2,6 | 85 ± 2,2 | 74 ± 2,4 | 74 ± 1,6 | 75 ± 1,6 | 78 ± 2,3 | 77 ± 2,1 | 70 ± 1,4 |
| Losartan + HOE140 | 90 ± 5,0 | 77 ± 4,0 | 58 ± 6,5 | 61 ± 7 | 61 ± 8,3 | 63 ± 6,6 | 60 ± 4,4 | 56 ± 3,5 |
| Kaptopril + HOE140 | 80 ± 3,3 | 71 ± 1,4 | 51 ± 3,4 | 53 ± 1 | 52 ± 1,9 | 53 ± 2,1 | 54 ± 2,0 | 54 ± 2,4 |
| PD12331 + Bradikinin | 90 ± 5,2 | 82 ± 4,4 | 71 ± 5,2 | 74 ± 5,3 | 77 ± 4,7 | 78 ± 4,1 | 73 ± 2,7 | 62 ± 3,2 |

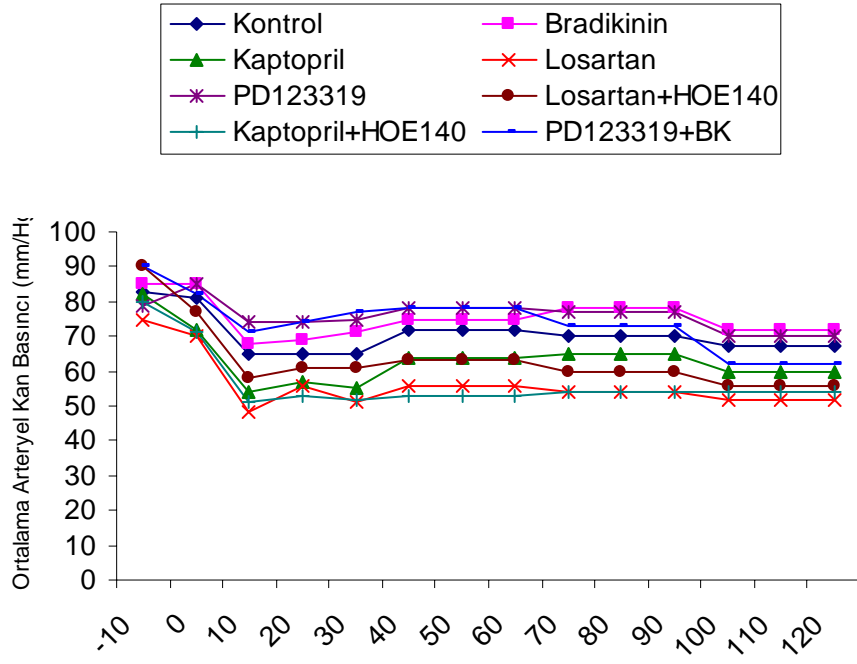
Tablo 1: Bradikinin, Kaptopril, Losartan, PD123319, Losartan+HOE140, Kaptopril+HOE140 PD123319+Bradikininin ortalama kan basıncına etkileri. (İ.Ö.: İlaç öncesi)

4.2.Kullanılan İlaçların Kalp Atım Hızı Üzerine Etkileri

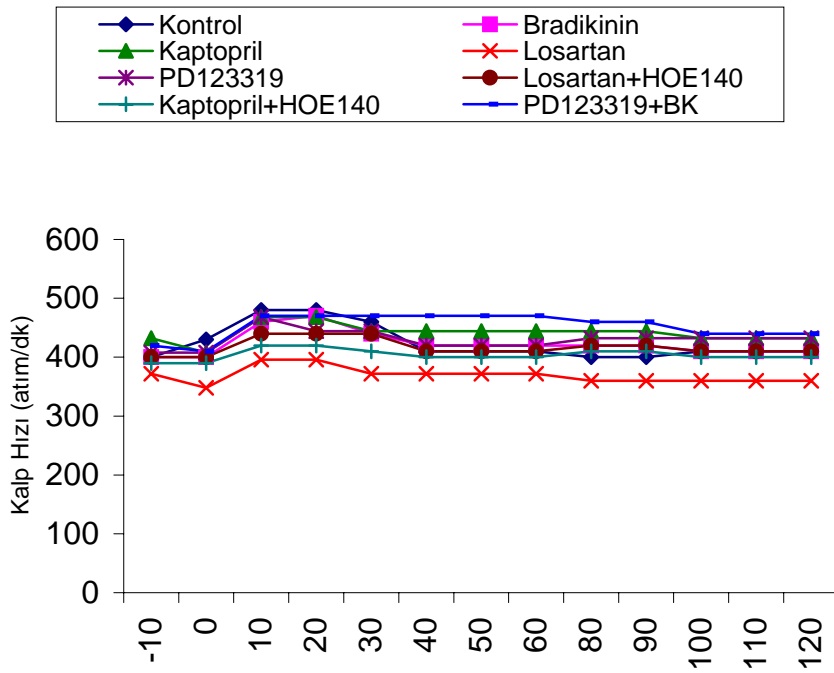
Ortalama kalp hızları (OKH) karşılaştırıldığında: ilaç öncesi (İ.Ö.), iskemi başlangıcında yani, 0. dk, iskeminin 10., 20. ve 30. dk'sında, oklüzyondan sonra (reperfüzyon) 30, 60 ve 120. dk'larda kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı gibi; losartan ile losartan+HOE140, kaptopril ile kaptopril+HOE140, PD123319 ile PD123319+bradikinin arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. (Tablo 2, Şekil 2)

| Gruplar | İSKEMİ | | | | | REPERFÜZYON | | |
|------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|-------------|---------|---------|
| | İ.Ö. | 0.dk | 10 | 20 | 30 | 30 | 60 | 120 |
| Kontrol | 400± 25 | 430 ±18 | 480 ±15 | 480 ±15 | 460 ±20 | 410 ±28 | 400 ±36 | 410 ±42 |
| Bradikinin | 400 ±12 | 400 ±12 | 460 ±12 | 470 ±10 | 440 ±12 | 420 ±15 | 420 ±15 | 410 ±10 |
| Kaptopril | 432 ±12 | 408 ±12 | 468 ±12 | 468 ±12 | 444 ±14 | 444 ±14 | 444 ±14 | 432 ±12 |
| Losartan | 372 ±12 | 348 ±29 | 396 ±14 | 396 ±14 | 372 ±12 | 372 ±22 | 360 ±18 | 360 ±18 |
| PD123319 | 408 ±12 | 408 ±12 | 468 ±12 | 444 ±14 | 444 ±14 | 420 ±0 | 432 ±12 | 432 ±12 |
| Losartan+ HOE140 | 400 ±12 | 400 ±12 | 440±12 | 440 ±12 | 440 ±12 | 410 ±10 | 420 ±0 | 410 ±10 |
| Kaptopril + HOE140 | 390 ±25 | 390 ±25 | 420±34 | 420 ±26 | 410 ±28 | 400 ±12 | 410 ±24 | 400 ±25 |
| PD12331+ Bradikinin | 420 ±15 | 410 ±10 | 470 ±10 | 470 ±10 | 470 ±10 | 470 ±10 | 460 ±12 | 440 ±20 |

Tablo 2: Bradikinin, Kaptopril, Losartan, PD123319, Losartan+HOE140, Kaptopril+HOE140 PD123319+Bradikininin ortalama kalp atım hızı üzerine etkileri.
İ.Ö.: İlaç öncesi



Şekil 1: Bradikinin, Kaptopril, Losartan, PD123319, Losartan+HOE140, Kaptopril+HOE140 PD123319+Bradikininin ortalama kan basıncına etkileri



Şekil 2: Bradikinin, Kaptopril, Losartan, PD123319, Losartan+HOE140, Kaptopril+HOE140 PD123319+Bradikininin ortalama kalp atım hızı üzerine etkileri.

4.3.Kullanılan İlaçların Nekroz/ Total Kalp Alanına Etkileri

Nekroz/Total kalp alanını kontrole göre (%55±4), bradikinin (%44±2, p<0.05), kaptopril (%40±2, p<0.05), losartan (%42±1, p<0.05) ve PD123319+bradikinin (%43±2, p<0.05) istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalttı (Tablo 3, Şekil 3).

Nekroz/Total kalp alanını Kaptopril+HOE140 (%48 ±2) kaptoprile (%40 ±2) göre artırmakla beraber istatistiksel anlama ulaşmadı.

Losartan+HOE140 (%49 ±1) Nekroz/Total kalp alanını losartana (%42±1) göre artırmakla beraber istatistiksel anlama ulaşmadı.

HOE 140 kaptopril ve losartanın kontrole göre sağladığı anlamlı düzeydeki azalmağı ortadan kaldırdı.

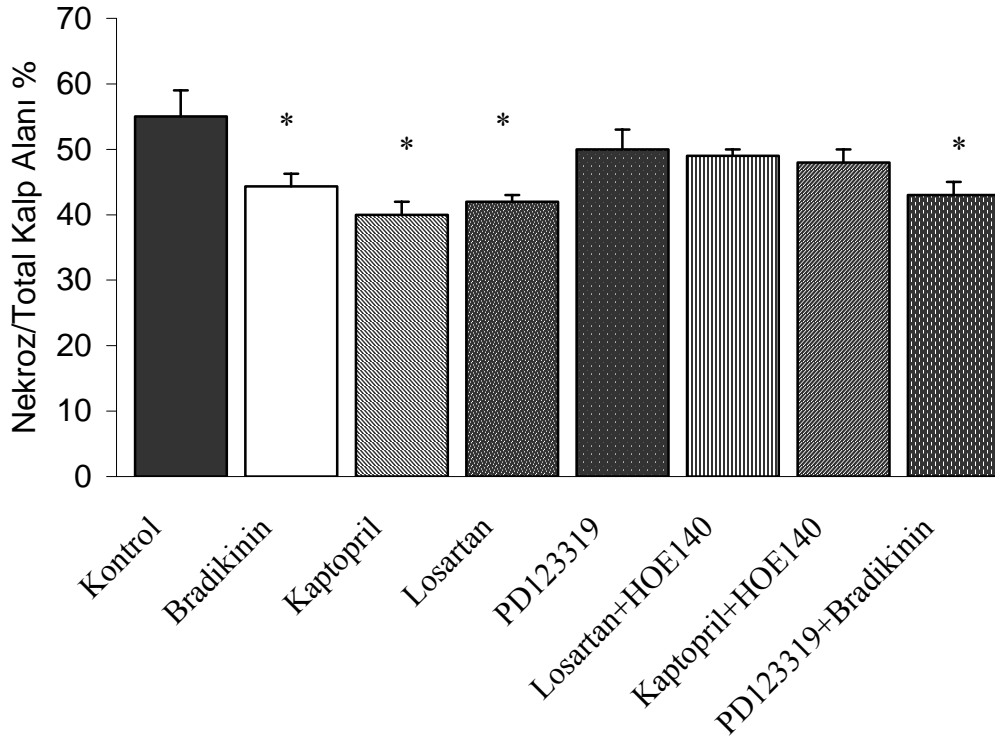
PD123319+bradikinin (%43 ± 2) Nekroz/Total kalp alanını PD123319 (%50 ±3) göre azaltmakla beraber istatistiksel anlama ulaşmadı.

| GRUPLAR | NEKROZ/TOTAL KALP ALANI (%) |
|---------------------|-----------------------------|
| Kontrol | 55±4 |
| Bradikinin | 44±2* |
| Kaptopril | 40±2* |
| Losartan | 42±1* |
| PD123319 | 50±3 |
| Losartan+HOE140 | 49±1 |
| Kaptopril+HOE140 | 48±2 |
| PD123319+Bradikinin | 43±2* |

Tablo 3: Bradikinin, Kaptopril, Losartan, PD123319, Losartan+HOE140, Kaptopril+HOE140 PD123319+Bradikininin Nekroz/Total kalp alanı üzerine etkileri.

İ.Ö.: İlaç öncesi

*Kontrolde anlamlı olarak farklı (p<0.05)



Şekil 3: Bradikinin, Kaptopril, Losartan, PD123319, Losartan+HOE140, Kaptopril+HOE140 PD123319+Bradikininin Nekroz/Total kalp alanı üzerine etkileri.

İ.Ö.: İlaç öncesi

*Kontrolde anlamlı olarak farklı ($p < 0.05$)

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Miyokardiyal iskemi; ateroskleroz, tromboembolizm, PTCA (percutaneous transluminal coronary angioplasty), koroner arter bypass ve transplantasyon gibi fizyolojik ve terapötik uygulamalar neticesinde ortaya çıkabilmektedir (5, 6). İskemik dokuda kan akımının yeniden sağlanmasında reperfüzyon adı verilir ki; geçici arteriyel oklüzyon nedeniyle spontan olarak yada trombolitik veya balon anjioplastik tedavi sonrasında iatrojenik olarak oluşabilir (8). Reperfüzyon iskemik dokunun fonksiyonlarının ve hücrelerinin canlılığının korunmasında çok önemlidir (9). Ancak Braunwald ve Kloner tarafından ‘double edged sword (iki ucu keskin bıçak) ‘ olarak tanımlanan reperfüzyon uygun koşullarda ve uygun zamanda yapılmadığında bir takım ciddi ve istenmeyen sonuçlara neden olduğu gösterilmiştir (1).

Vazokonstriktör bir peptid olan Ang II nin oluşumunu bloke ederken, vazodilatatör bir peptid olan bradikinininde yıkılımını önleyen angiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri(ADE) konjestif kap yetmezliği ve hipertansiyon tedavisinde önemli ajanlardır Bu özelliklerinin yanı sıra ADE inhibitörleri post iskemik enzimleri ve norepinefrin salınımını (16), fonksiyonel ve metabolik hasarı (17,18) ve reperfüzyon aritmilerini (19,20) azaltmaları ile miyokardiyal IR hayvan modellerinde ‘kalp koruyucu olduğu gösterilmiştir. ADE inhibisyonunun deney hayvanlarında (111) ve insanlarda (112) MI’dan sonra gelişen olumsuzlukları düzeltebileceği yapılan

çalışmalarda gösterilmiştir (113). MI sonrası 24 saat içinde zofenopril, kaptopril ve lizinopril ile tedaviye başlanan SMILE (114), ISIS-4 (115) ve GISSI-3 (113), çalışmalarında ADE inhibitörlerinin mortaliteyi düşürdüğü görülmüştür. ADE inhibitörlerinin nekroz alanının azaltılması, kalp performansının iyileştirilmesi, ventrikül hipertrofisinin önlenmesi gibi kardiyovasküler etkilerinde kininlerin rolünü gösteren bulgular artmaktadır (116).

Ang II'nin kardiyovasküler sistem üzerindeki bilinen en önemli etkilerine AT₁ reseptörü aracılık eder (25). AT₁'in uyarılması hücrelerde hipertrofi ve proliferasyona, kontraktil cevapta artışa neden olur (26). Genel olarak AT₁ reseptörleri pozitif kronotrop etkiden sorumludur. Yine Ang II, koroner arterleri AT₁ reseptörleri aracılığıyla büzer (131,132). Sıçanlarda AT₁ antagonistlerinin MI sonrası gelişen kardiyak remodelingle ilişkili gen ekspresyonlarını baskılamak suretiyle ventriküler dilatasyonu da önledikleri gösterilmiştir (128).MI'lı sıçanlarda sol ventriküler değişimi yararlı yönde etkilediği de tesbit edilmiştir (145). Köpeklerde 20 dk koroner hipoperfüzyonu takiben AT₁ reseptör antagonisti olan kandesartanın (CV11974) koroner infüzyonu, miyokardiyal laktat ekstraksiyon miktarını düşürdüğü tesbit edilmiştir (146). Diğer bir AT₁ reseptör antagonisti olan L-158338 sıçan kalplerinde 20 dk iskemi esnasında asidozisin gelişimini azaltmıştır (147).

Ang II'nin iyi bilinen kardiyovasküler ve renal etkilerinin hemen tamamından AT₁ reseptörü sorumlu tutulurken AT₂ reseptörlerinin fonksiyonları hakkında çok az şey bilinmektedir (154). Erişkin yaşamda AT₂ reseptör yoğunluğu fetal dönemlere kıyasla düşsede, kardiyak hipertrofi, MI, kardiyomiyopati, KKY gibi patolojik durumlarda bu reseptör sayısında belirgin artış olmaktadır (158). Ang II'nin AT₁ reseptörü üzerinden gerçekleştirdiği etkilerin AT₂ reseptörü tarafından fonksiyonel olarak antagonize edildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (155). AT₂ reseptörünün vazodilatasyon yapıcı etkisi vardır (156). Bu etkisini NO ve bradikinin aracılığı ile yaptığı düşünölmektedir. AT₁ reseptör aktivasyonu; tirozin kinazın indüklediği protein fosforilasyonu, araşidonik asit metabolit üretimi, reaktif oksidan ürün aktivitelerinde değişme, intrasellöler Ca⁺² konsantrasyonunda artış yaparken, AT₂ reseptör aktivasyonu, bradikinin, NO, ve PG üretimine yol açar (165).

KKS de RAS gibi kardiyovasküler ve renal fonksiyonların, kan basıncının düzenlenmesinde önemli rol oynarlar (169). KKS'nin tüm komponentleri kalp ve vasküler dokularda lokalizedir (29,171). Kininler iskemi süresince salınır ve faydalı kardiyak etkilere neden olurlar (29). Yapılan hayvan deneyleri kininlerin hem kısa

dönem hemde uzun dönem kardiyoprotektif etkilere sahip olduklarını göstermiştir. Kısa dönem kalp koruyucu etkisi kalbin iskemi reperfüzyon hasarına karşı korunmasıyken uzun dönem etkileri kalp yetersizliğinin progresyonunun ve sol ventrikül hipertrofinin azaltılmasını içermektedir (123).

Bizim çalışmamızda eksojen verilen BK'nin nekroz alanını kontrole göre anlamlı düzeyde azalttığı görüldü. İskemi süresince kalpte BK salgısının arttığı ve reseptörlerinde upregülasyona uğradığı gösterilmiştir (185). BK'nin iskemide koruyucu rol oynadığını gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (205). Canine (206,207), tavşan (208) ve domuzlarda (209) koronerlere verilen BK iskemi reperfüzyon hasarını azaltmış ve bu etkisi BK B2 reseptör blokeri HOE140 ile ortadan kalkmıştır (207,208,210). BK'nin iskemi sonrasında ventrikül fonksiyonlarında iyileşme sağladığı (206,211) ve bununla NO sentetaz inhibitörü L-NAME ve indometazin tarafından bloke edildiği gözlenmiştir (211). Bununla beraber kalpte bradikinin miyokardiyal I-R daki koruyucu rolünün mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır. Muhtemel mekanizmalar arasında; yüksek enerjili fosfatların korunması, glukoz uptake' ni artırarak kardiyak metabolizmada değişiklikler yapması, koroner perfüzyonda artış yapması, NE salınımını azaltarak ventriküler kontraktiletiyi koruması da sayılabilir (227). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada iskemik kalpte intrasellüler asidozis ve Ca^{+2} overload'ı olduğu, miyosit plazma membranında da pH ve Ca^{+2} düzenleyici proteinlerin mevcudiyetinden bahsedilerek bu düzenlemede bradikinin'in de rol oynadığı belirtilmiştir (228). Çeşitli hayvan miyokard I-R modellerinde bradikinin'in koruyucu etkisine yönelik yapılan çalışmalardan da şu sonuca varılmıştır; bradikinin'in koruyucu etkisi NO üretimini ve cGMP sentezini artırarak miyosit kontraktilesini düzenlemekle beraber, protein kinaz C (PKC) aracılığı ile de ATP duyarlı K^{+} kanallarının açılmasına aracılık etmesidir (229).

AT1 reseptör blokajı renin ve Ang II miktarını artırır. Artan Ang II AT2 reseptörlerini uyarır . AT2 reseptörlerinin uyarılması direkt veya NO, BK gibi otokoidlerin salınımını uyararak indirekt yoldan büyümeyi inhibe edici, antihipertrofik ve proapoptotik etkiler oluşturur. I-R modellerinde AT1 antagonistlerinin faydalı etkilerinin AT2 antagonistleriyle kombine kullanıldığında ortadan kalktığı görülmüştür; domuzlarda yapılan bir çalışmada PD123319, AT1 antagonisti candesartan ve ikisinin kombine kullanıldığı gruplarda PD123319 nekroz alanını anlamlı olmamakla beraber azaltırken, candesartan belirgin iyileşme sağlamış;

PD123319 ve candesartanın kombine kullanıldığı grupta bu faydalı etkilerin ortadan kalktığı gözlenmiştir ve bu sonuç I-R da AT1 reseptör blokajı olmadan AT2 reseptörlerinin uyarılmasının önemli etkiler oluşturmadığını düşündürmüştür (36). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak AT2 blokleri PD123319 nekroz alanını kontrole göre anlamlı olmamakla beraber azaltmıştır. PD123319 ile AT2 reseptörlerinin bloke edilmesi durumunda Ang II AT1 reseptörü ile etkileşir. Miktarı AT₂ reseptörü kadar olmasada AT₁ reseptörünün de bir miktar bradikinin oluşturucu etkisi gösterilmiştir. Losartan tarafından AT₁ reseptörleri bloke edildiğinde Ang I, II, III ve anjiyotensin (1-7) tarafından tetiklenen lokal kinin aktivasyonu azalacağına ilişkin çalışmalar da vardır (144). İşte tek başına PD123319 uygulandığında Ang II, AT₁ reseptörü ile etkisini sürdürürken bu reseptörün uyardığı bradikininin nekroz üzerine hafif de olsa yararlı etkisi olmuş olabilir. Ayrıca PD123319'un Ang II'nin uyardığı apoptozisi zaltıcı etkisini gösteren çalışmalarda mevcuttur (230).

İskemide BK ve Ang II üretimi artar (220). AT2 reseptörleri bradikinin salgısını uyarırlar. Bu çalışmada da PD123319 ile AT2 reseptörleri bloke edildiğinde BK'nin eksojen verilmesi durumunda nekroz alanında anlamlı düzeyde iyileşme sağlanmıştır (Tablo3).

AT₁ reseptörleri Ang II'nin; vazokonstriksiyon, Na⁺ alımının artışı, renin sekresyonunun baskılanması, endotelin seviyesinin artırılması, vazopressin salınımının artırılması, sempatik aktivasyon, miyositlerde hipertrofi, vasküler ve kardiyak fibrozis, miyokardiyal kasılmanın artırılması, aritmiler, plazminojen aktivatör inhibitör 1'in uyarılması ve süperoksit oluşumu ve apoptozisin tetiklenmesi gibi etkilerinden sorumludur (133-136). Bizim çalışmamızda losartanın nekroz/Total kalp alanını azaltmasında, I-R de artmış olan Ang II'nin zararlı etkilerini AT₁ reseptörlerini kapatarak engellemiş olması yani, başka bir deyimle Ang II'nin AT₂ reseptörüne bağlanması ilişkili görülmektedir. Bununla ilgili olarak, AT₂ reseptörünün pek çok çalışmada kalp fonksiyonları üzerine faydalı etkisi gösterilmiştir (231, 232). Yine bu faydalı etkiyi de bradikinin, PG ve NO aracılığıyla yaptığına inanılmaktadır. Ratlarda yapılan deneysel bir çalışmada kalpte iskemi reperfüzyon sonrası AT1 reseptör blokleri Losartanın ventrikül fonksiyonları, infarkt alanı ve kalp hücrelerindeki apoptosise etkileri incelenmiş. Losartanın infarkt alanını azalttığı ve ventriküler fonksiyonlarda iyileşme sağladığı gözlenmiştir. Losartanın kalp koruyucu bu etkileri HOE140 tarafından kısmen bloke edilirken, kalp hücrelerindeki apoptosisi azaltıcı etkisi

tamamen bloke edilmiştir. Bu sonuçlar losartanın kalp koruyucu etkisinin bradikinin üzerinden ve bradikinininden bağımsız olmak üzere iki yoldan olduğunu göstermektedir (220). Bu çalışma sonucunda da losartanın nekroz alanını azalttığı ve bu etkisinin HOE140 ile kısmen bloke edildiği görüldü.

Losartan ortamdaki Ang II'nin AT₁ reseptörlerine bağlanmasını, kaptopril ise Ang II 'nin oluşumunu engelleyerek RAS'ın zararlı etkilerini baskılıyor olabilir. Ayrıca kaptoprilin I-R' un neden olduğu hasarı azaltmasında bu grup ilaçların bradikinin yıkımına engel olması da rol oynayabilir. Çünkü, ADE vazodilatatör bir kinin peptid olan bradikinin ve kallidinin yıkımında etkilidir; bu nedenle ADE inhibisyonu vazodilatatör etkili kinin peptidlerinin düzeyini yükseltir (102,117). Birincioglu ve ark. (233)'nin yaptığı diğer bir çalışmada da kaptoprilin I-R hasarı üzerine olan iyileştirici etkisi, PG sentezini uyarması ve bradikinin yıkımına engel olmasına bağlanmıştır. Bizim çalışmamızda da kaptopril nekroz alanını azaltırken, HOE 140 ile birlikte kullanılması koruyucu etkisini tamamen ortadan kaldırmadı. Bu kaptoprilin koruyucu etkisinde bradikinin dışında yolaklarında etkili olabileceğini düşündürmektedir. Kaptoprilin PG sentezinide uyarması ve yapısındaki sülfidril grubunun sağladığı antioksidan özellik bunlar arasında sayılabilir. Birincioglu ve ark. (234) yaptığı bir çalışmada kaptoprilin I-R aritmileri üzerine olan iyileştirici etkisini bu ilacın serbest radikal süpürücü özelliğine bağlamıştır.

Sonuç olarak, bizim çalışmamız göstermiştir ki, *in-vivo* sıçan modelinde miyokardiyal I-R'ın neden olduğu nekroz alanı üzerine hem ADE inhibisyonunun hem de AT₁ reseptör blokajının dolayısıyla da AT₂ reseptörünün koruyucu etkisi vardır. Bu kardiyoprotektif etkinin olası mekanizmaları arasında bradikinin önemli rol oynamakla beraber tek yolak değildir.

6.ÖZET

SIÇANLARDA ANJİOTENSİN II RESEPTÖR BLOKERLERİNİN (AT₁, AT₂) VE ANJİOTENSİN DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM İNHİBİTÖRÜ KAPTOPRİLİN *İN VİVO* MİYOKARDİYAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINA ETKİSİNDE BRADİKİNİNİN ROLÜ

AMAÇ: Geniş spektrumlu bir aktiviteye sahip olan kininler güçlü vazodilatatörlerdir. natriürezis ve diürezisi desteklerler. Ayrıca kininler postiskemik lökositlerin endotele yapışmasını, mikrovasküler bariyerdeki bozulmayı ve doku hasarını azaltarak iskemi-reperfüzyon (IR) hasarında koruyucu rol oynarlar. İskemi süresince lokal bradikinin (BK) salınımı artmaktadır. Bu çalışmanın amacı; ADE inhibitörü kaptopril, AT₁ ve AT₂ reseptör blokerleri olan losartan ve PD123319' un *in vivo* sıçan modelinde IR'ın tetiklediği miyokardiyal infarkt alanı üzerine etkilerinde BK'in rolünü araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Nekroz oluşturmak için sol koroner arterin inen dalına 30 dk iskemi-iki saat reperfüzyon uygulandı. EKG değişiklikleri, kan basıncı ve kalp hızı deney boyunca kaydedildi. Kaptopril (3mg/kg), losartan (2mg/kg), PD123319 (20µ/kg/dk) iskemiden 10 dk önce ve BK (40 µg/kg) iskemiden 1 dk önce I.V. olarak başlanıp tüm iskemi boyunca verilirken, HOE 140(BK B2 reseptör blokeri) oklüzyondan 15 dak önce i.v bolus injeksiyon şeklinde verildi. Nekrotik doku, Trifenil Tetrazolyum Klorid (TTC) boyası ile tayin edildi. Nekroz ve total kalp hacmi planimetrik yöntemle belirlendi. **BULGULAR:** Nekroz/Total kalp alanını oranları kontrole göre (%55±4), bradikinin (%44±2, p<0.05), kaptopril (%40±2, p<0.05), losartan (%42±1, p<0.05) ve PD123319+bradikinin (%43±2, p<0.05) istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalttı. Nekroz/Total kalp alanını Kaptopril+HOE140 (%48 ±2) kaptoprile (%40 ±2) göre, Losartan+HOE140 (%49 ±1) losartana (%42±1) göre artırmakla beraber istatistiksel anlama ulaşmadı. **SONUÇ:** Bu sonuçlar, BK'nin MI-R hasarında kalbi koruyucu bir rol oynadığını desteklemektedir. Kaptopril ve losartanın kalbi koruyucu etkilerinin HOE140 ile anlamlı düzeyde olmasada azalmış olması; bu ilaçların terapötik etkisinde BK dışında yolların olabileceğini düşündürdü.

Anahtar Kelimeler: Bradikinin, HOE140, kaptopril, losartan, PD123319, miyokardiyal iskemi-reperfüzyon, nekroz.

7. SUMMARY

ROLE OF BRADYKININ IN THE CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME INHIBITOR CAPTOPRIL AND ANGIOTENSIN II RECEPTOR BLOCKERS (AT₁, AT₂) ON *IN VIVO* MYOCARDIAL ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY IN RATS

BACKGROUND: Kinin peptides having broad spectrum of activities are potent vasodilators and promotes natriuresis and diuresis. Kinins also protect against ischaemia–reperfusion (IR) injury by decreasing endothelial adherence of postischemic leucocytes, the disruption of the microvascular barrier and the tissue injury. Local release of bradykinin (BK) is increased during ischemia. The aim of this study was to examine the role of bradykinin in the cardioprotective effects of ACE inhibitor captopril, AT₁ and AT₂ receptor blockers, losartan and PD123319, on IR induced myocardial infarct size in an *in vivo* rat model. **MATERIAL AND METHODS:** To produce necrosis, a branch of the descending left coronary artery was occluded for 30 min followed by two hours reperfusion. ECG changes, blood pressure and heart rate were measured during experiment. Captopril (3mg/kg), losartan (2mg/kg) and PD123319 (20µg/kg/min) were given I.V. 10 min before ischemia and BK (40 µg/kg) was given I.V. 1 min before ischemia and continued during ischemia, and HOE 140(BK B2 receptor blocker) was given intravenous bolus injection 15 min before coronary occlusion. Infarction was measured triphenyl tetrazolium staining. The volume of necrosis and total heart zone were determined by planimetry. **RESULTS:** Necrosis/Total heart zone ratios were statistically decreased in BK (%44±2, p<0.05), captopril (%40±2, p<0.05), losartan (%42±1, p<0.05) and PD123319+BK (%43±2, p<0.05) groups in comparison with control (%55±4). Necrosis/Total heart zone ratios were non-significantly decreased in captopril+HOE140 (%48±2) in comparison with captopril (%40±2) and in Losartan+HOE140 (%49±1) in comparison with losartan (%42±1). **CONCLUSION:** These results supported the protective role of BK on myocardial IR injury. Non-significant decrease on protective effects of captopril and losartan against IR injury by HOE140 thought that there may be other ways other than BK for protective effects of these drugs.

Key Words: Bradikinin, HOE140, Captopril, Losartan, PD123319, Myocardial ischemia-reperfusion necrosis.

KAYNAKLAR

1. A.L. Moens, M.J. Claeys, J.P. Timmermans, C.J. Vrints. Myocardial ischemia / reperfusion - injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *International Journal of Cardiology* 2005;100: 179– 190.
2. Chockalingam A, Balaguer-Vintro I: *Impending Global pandemic of Cardiovascular Diseases, Challenges and Opportunities for the Prevention and Control of Cardiovascular Diseases in Developing Countries and Economies in Transition* Barcelona Prous Science, 1999.
3. Bertan M, Güler Ç. *Halk sağlığı. Güneş kitabevi.* 1995: 70.
4. Kayaalp S O. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi farmakoloji. *Feryal matbaacılık.* 1998; cilt 2:1489-1501.
5. Lai ZF. The relationship between intracellular chloride concentration and ischemia reperfusion-induced arrhythmias in myocardial cells. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 2002; 24(2): 190-196.
6. Flitter WD. Free radicals and myocardial reperfusion injury. *British Medical Bulletin* 1993; 49:545-555.
7. Birincioğlu M. İskemi-reperfüzyon aritmilerine ACE inhibitörleri, Glutation ve indometazinin etkileri. *Uzmanlık Tezi.* 1996.
8. Semenza GL. Cellular and Molecular Dissection of Reperfusion Injury ROS Within and Without. *Circ Res* 2000; 86: 117-118.
9. George V Moukarbel, Chakib M Ayoub and Antoine B Abchee Pharmacological therapy for myocardial reperfusion injury *Current Opinion in Pharmacology* 2004; 4:147–153
10. Tiphaine Monsinjon, Vincent Richard, Marc Fontaine. Complement and its implications in cardiac ischemia/reperfusion: strategies to inhibit complement *Fundamental & Clinical Pharmacology* 2001; 15: 293-306
11. Hearse DJ. Ischemia reperfusion, and the determinants of tissue injury. *Card Drugs Ther* 1990; 4: 767-776.
12. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 1991; 42: 225-246.
13. Yang HS, Lee CW, Hong MK, Lee JH, Nam GB, Choi KJ, Kim JJ, Park SW, Kim YH, Park SJ. Residual flow to the infarct zone against lethal ventricular tachyarrhythmias during the acute phase of myocardial infarction. *Clin Cardiol* 2003; 26(8): 373-376.
14. Roland E. Schmieder. Mechanisms for the Clinical Benefits of Angiotensin II Receptor Blockers *Am J Hypertens* 2005;18:720–730
15. Beril Tom, Andreas Dendorfer, A.H. Jan Danser. Bradykinin, angiotensin-(1–7), and ACE inhibitors: how do they interact? *Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2003;35: 792–801
16. Friedrich B, Walter RK. Postischemic antiarrhythmic effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Circulation* 1996; 94: 1752-1761.
17. Cargnoni A, Boraso A, Scotti C, et al. Effect of angiotensin converting enzyme inhibition with quinaprilat on the ischaemic and reperfused myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 1994; 26: 69-86.
18. Gohlke P, Linz W, Scholkens BA, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition improves cardiac function: role of bradykinin. *Hypertension* 1994; 23: 411-418.
19. Jurkovicova O, Cagan S. Reperfusion arrhythmias. *Bratisl Lek Listy* 1998; 99(3-4): 162-171.

20. Zhu B, Sun Y, Sievers RE, Browne AE, Pulkurthy S, Sudhir K, Lee RJ, Chou TM, Chatterjee K, Parmley WW. Comparative effects of pretreatment with captopril and losartan on cardiovascular protection in a rat model of ischemia-reperfusion. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35(3): 787-795.
21. de Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright W, Unger TH. International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev.* 2000;52:415–472.
22. Jones A, Dhamrait SS, Payne JR, Hawe E, Li P, Toor IS, Luong L, Wootton PT, Miller GJ, Humphries SE, Montgomery HE. Genetic Variants of Angiotensin II Receptors and Cardiovascular Risk in Hypertension. *Hypertension* 2003; 42:500-506.
23. Said AbdAlla‡, Heinz Lothar§, Ahmed M. Abdel-tawab, Ursula Quitterer. The Angiotensin II AT2 Receptor Is an AT1 Receptor Antagonist. *The Journal Of Biological Chemistry* 2001; 276: 39721-39726.
24. Lan Wu, Masaru Iwai, Hironori Nakagami, Rui Chen, Jun Suzuki, Masahiro Akishita, Marc de Gasparo, Masatsugu Horiuchi. Effect of Angiotensin II Type 1 Receptor Blockade on Cardiac Remodeling in Angiotensin II Type 2 Receptor Null Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:49-54.
25. Yun-He Liu, Xiao-Ping Yang, Edward G. Shesely, Steadman S. Sankey, Oscar A. Carretero, Role of Angiotensin II Type 2 Receptors and Kinins in the Cardioprotective Effect of Angiotensin II Type 1 Receptor Antagonists in Rats With Heart Failure *JACC* 2004;43(8):1473–80.
26. Gerald B. Appel and Alice S. Appel. Angiotensin II Receptor Antagonists: Role in Hypertension, Cardiovascular Disease, and Renoprotection *Progress in Cardiovascular Diseases.* 2004: 47(2): 105-115.
27. Hiroaki Matsubara. Pathophysiological Role of Angiotensin II Type 2 Receptor in Cardiovascular and Renal Diseases. *Circ Res.* 1998;83:1182-1191.
28. Costanza Emanuelli and Paolo Madeddu. Targeting kinin receptors for the treatment of tissue ischemia. *Trends in pharmacological sciences* 2001; 22(9): 478-484.
29. Jagdish N. Sharma. Does the Kinin System Mediate in Cardiovascular Abnormalities? An Overview. *Journal of Clinical Pharmacology,* 2003;43:1187-1195.
30. Duncan J Campbell. The kallikrein–kinin system in humans. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2001; 28: 1060–1065.
31. Kumari R, Maulik M, Manchand SC, Maulik SK. Protective effect of bradykinin antagonist Hoe-140 during in vivo myocardial ischemic-reperfusion injury in the cat. *Regulatory Peptides* 2003;115: 211 –218.
32. Gainer JV, Morrow JD, Lovelend A, King DJ, Brown NJ. Effect of bradykinin-receptor blockade on the response to angiotensin-converting-enzyme inhibitor in normotensive and hypertensive subjects. *N. Engl. J. Med.* 1998; 339: 1285–92.
33. Linz W, Wiemer G, Scholkens BA. Beneficial effects of bradykinin on myocardial metabolism and infarct size. *Am J Cardiol* 1997;80: 118A– 23A.
34. Lamontagne D, Nadeau R, Adam A. Effect of enalaprilat on bradykinin and des-arg 9-bradykinin release following reperfusion of the ischemic rat heart. *Br J Pharmacol* 1995;115:476– 8.
35. Liu YH, Yang X-P, Sharov VG, Nass O, Sabbah HN, Peterson E, et al. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II type 1 receptor antagonists in rats with heart failure. *J Clin Invest* 1997;99:1926– 35.

36. Jalowy A, Schulz R, Dorge H, Behrends M, Heusch G. Infarct size reduction by AT1 receptor blockade through a signal cascade of AT2 receptor activation, bradykinin and prostaglandins in pigs. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:1787– 96.
37. Arıncı Kaplan, Elhan Alaittin. *Anatomi*. 2. Cilt. 1997: 3-11.
38. Snell RS. *Clinical anatomy for medical students*. Fifth edition. 1995: 96-98.
39. Yıldırım Mehmet. *İnsan Anatomisi*, İstanbul, Beta Basım Yayım Dağıtım, 1994: 97.
40. Tekelioğlu M. *Özel Histoloji İnce yapı ve Gelişme*. Antıp A.Ş yayınları 2002: 24-26.
41. Sağlam M. *Genel histoloji*. Genişletilmiş 4. Baskı. 1993: 243-246.
42. Eng C, Cho S, Factor SM, Kirk ES. A nonflow basis for the vulnerability of the subendocardium. *J Am Coll Cardiol* 1987; 9: 3747-3779.
43. Lucchesi BR. *Reperfusion injuries and clinical capillary leak syndrome*. Armonk NY, Future Publishing Company. 1994: 171-202.
44. Braunwald E. *Heart Disease. A textbook of cardiovascular medicine*. WB Saunders Company. Fourth Edition. 1992; 2: 1161-1199.
45. Corr PB, Sobel BE. The role of biochemical factors in ventricular dysrhythmia accompanying ischemia. *Adv Cardiol* 1980; 27: 346-360.
46. Corr PB, Pogwizd SM. Mechanisms contributing to arrhythmogenesis during early myocardial ischemia, subsequent reperfusion, and chronic infarction. *Angiology* 1988; 39: 684-699.
47. Heathers GP, Yamada KA, Kanter EM, et al. Long chain acyl-carnitines mediate the hypoxia induced increase in α 1-adrenergic receptors on adult canine myocytes *Circ Res* 1987; 61: 735-746.
48. Fozzard HA, Makielski JC. The electrophysiology of acute myocardial ischemia. *Ann Rev Med* 1985; 36: 275-284.
49. Fabiato A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. *Am J Physiol* 1983; 245: C1-C14.
50. Wit AL, Bitter JT. Possible electrophysiological mechanisms for lethal arrhythmias accompanying myocardial ischemia and infarction. *Circulation* 1975; 52: 96-115.
51. Katz AM. Effects of interrupted coronary flow upon myocardial metabolism and contractility. *Prog Cardiovasc Dis* 1968; 10: 450-465.
52. Ambrosio G, Jacobus WE, Mitchel MC, et al. Effects of ATP precursors on ATP and free ADP content and functional recovery of post ischemic hearts. *Am J Physiol* 1989; 256: H560-H566.
53. Katz AM. *Physiology of the heart*. New York, Raven Press. 1977: 419-433.
54. Lee KS, Ladinsky H, Struckey JH. Decreased Ca^{+2} uptake by sarcoplasmic reticulum after coronary artery occlusion for 60 and 90 minutes. *Circ Res* 1967; 21: 439-444.
55. Tennant R, Wiggers CJ. The effect of coronary occlusion on myocardial contraction. *Am J Physiol* 1935; 112: 351-361
56. Jolly SR, Kane WJ, Bailie MB, Abrams GD, Lucchesi BR. Canine myocardial reperfusion injury: Its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase. *Circ Res* 1984; 54: 277.
57. Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork MA, Lucchesi BR. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* 1983; 67: 1016-1023.
58. Hearse DJ, Humprey SM, Bullock GR. The oxygen paradox and the calcium paradox: Two facets of the same problem. *J Mol Cell Cardiol* 1978; 10: 611-668.
59. Hill JH, Ward PA. The phlojistic role of C3 leukotactic fragments in myocardial infarcts in rats. *J Exp Med* 1971; 133: 885-900.

60. Kloner RA, Ellis SG, Carlson NV, Braunwald E. Coronary reperfusion for the treatment of acute myocardial infarction: post ischemic ventricular dysfunction. *Cardiology* 1983; 70: 233-246.
61. Bush LR, Buja LM, Samowitz W, Rude RE, Wathen M, Tilton GD, Willerson JT. Recovery of left ventricular segmental function after long term reperfusion following temporary coronary occlusion in conscious dogs: comparison of 2 and 4 hour occlusions. *Circ Res* 1983; 53: 248-263.
62. Beyersdorf F, Allen BS, Buckberg GD, Acar C, Okamoto F, Young HH, Bugyi HI. Studies on prolonged acute regional ischemia: I. evidence for preserved cellular viability after 6 hours of coronary occlusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 98: 112-126.
63. Ambrosio G, Tritto I. Reperfusion injury: Experimental evidence and clinical implications. *J Am Heart* 1999; 138: S69-S75.
64. Ambrosio G, Weisman HF, Manisi JA, et al. Progressive impairment of regional myocardial perfusion after initial restoration of post-ischemic blood flow. *Circulation* 1989; 80: 1846-1861.
65. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayımları. 1995.
66. Lucchesi BR. Modulation of leukocyte-mediated myocardial reperfusion injury. *Ann Rev Physiol* 1990; 52: 561-576.
67. Şahna E. Melatoninin fizyolojik ve farmakolojik konsantrasyonlarının miyokardiyal iskemi-reperfüzyona bağlı aritmiler ve nekroz üzerine etkisi. Doktora Tezi. 20001.
68. Jennings RB, Ganote GB, Kloner RA, Whalen DA, Hamilton DG. Explosive swelling of myocardial cells irreversibly injured by transient ischemia. In: *Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism. Vol 6: Pathophysiology and Morphology of Myocardial Cell Alteration.* Baltimore, Md: University Park Press. 1975: 405-413.
69. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001; 53(1): 135-159.
70. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47(5): 412-426.
71. Kılıç E. Pinealektomi yapılmış sıçanda melatoninin beyin fokal iskemi-reperfüzyon hasarına etkileri. Uzmanlık Tezi. 1999.
72. Cheung JY, Bonventre JV, Malis CD, Leaf A. Calcium and ischemic injury. *N Engl J Med* 1986; 314: 1670-1676.
73. Harman AW, Maxwell MJ. An evaluation of the role of calcium in cell injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1995; 35: 129-144.
74. Lucchesi BR, Mullane KM. Leucocytes and ischemia-induced myocardial injury. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1986; 26: 201-224.
75. Jolly SR, Kane WJ, Hook BG, Abrams GD, Kunkel SL, Lucchesi BR. Reduction of myocardial infarct size by neutropil depletion: effect of duration of occlusion. *J Am Heart* 1986; 112: 682-690.
76. Craddock PR, Hammerschmidt DE, Moldow CF, Yamada O, Jacob HS. Granulocyte aggregation as a manifestation of membrane interactions with complement: possible role of leucocyte margination, microvasculer occlusion, and endothelial damage. *Semin Hematol* 1979; 16: 140-147.
77. Giclas PC, Pincard RN, Olson MS. In vitro activation of complement by isolated heart subcellular membranes. *J Immunol* 1979; 122: 146-151.

78. Pincard RN, O'Rourke RA, Crawford MH, Grover FS, McManus LM, Ghidoni JJ, Storrs SB, Olson MS. Complement localization and mediation of ischemic injury in baboon myocardium. *J Clin Invest* 1980; 66: 1050-1056.
79. Hansen PR. Role of neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation* 1995; 91: 1872-1885.
80. Entman ML, Smith WC. Postreperfusion inflammation: a model for reaction to injury in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1301-1311.
81. Simpson PJ, Mitsos S, Ventura A, et al. Prostacyclin protects ischemic-reperfused myocardium in the dog by inhibition of neutrophil activation. *J Am Heart* 1987; 113: 129-137.
82. Simpson PJ, Todd RF, Fantone JC, et al. Reduction of experimental canine myocardial reperfusion injury by a monoclonal, antibody (anti Mo 1, anti CD 11b) that inhibits leukocyte function. *J Clin Invest* 1988; 81: 624-629.
83. Pagliaro P, Chiribiri A, Mancardi D, Rastaldo R, Gattullo D, Losano G. Coronary endothelial dysfunction after ischemia and reperfusion and its prevention by ischemic preconditioning. *Ital Heart J* 2003; 4(6): 383-394.
84. Perez HD, Golstein JM. Generation of a chemotactic lipid from arachidonic acid by exposure to a superoxide generating system. *Fed Proc* 1980; 39: 1170.
85. Engler RL, Dahlgren MD, Peterson MA, Dobbs A, Schmid Schonbein GW. Accumulation of polymorphonuclear leucocytes during 3-hour experimental myocardial ischemia. *Am J Physiol* 1986; 251: H93-H100.
86. Mallory GK, White PD, Salcedo SJ. The speed of healing myocardial infarction: a study of pathologic anatomy in seventy-two cases. *J Am Heart* 1939; 18: 647-671.
87. Go Lo, Murry Ce, Richard VJ, Weischedel GR, Jennings RB, Reimer KA. Myocardial neutrophil accumulation during reperfusion and reversible or irreversible ischemic injury. *Am J Physiol* 1988; 255: H1188-H1198.
88. Babior BM. Oxidants from phagocytes: agents of defense and destruction. *Blood* 1984; 4: 959-966.
89. Maroko PR, Carpenter JB, Chiariello M, Fishbein MC, Radvany P, Knotsman JD, Hale SL. Reduction by cobra venom factor of myocardial necrosis after coronary artery occlusion. *J Clin Invest* 1978; 61: 661-670.
90. Engel AG, Biesecker G. Complement activation in muscle fiber, necrosis: demonstration of the membrane attack complex of complement in necrotic fibers. *Ann Neurol* 1982; 12: 289-296.
91. Mathey DG, Schafer HJ, Kruger W, Talakouro K, Langes K, Bhakdi S. Deposition of terminal C5b-9 complement complex in infarcted areas of human myocardium. *Circulation* 1986; 74: 372.
92. Jalowy A, Schulz R, Heusch G. AT1 receptor blockade in experimental myocardial ischemia/reperfusion. 1998; 93: 85-91.
93. Homeister JW, Satoh PS, Kilgore KS, Lucchesi BR. Soluble human CR1 prevents human complement mediated damage in the rabbit perfused isolated rat heart. *J Immunol* 1993; 150(3): 1055-1064.
94. Mannheim B. Apoptosis and cell proliferation 2nd edition. Biochemica. 1998: 2-5.
95. Kumar V, Cotran R, Robbins S L. Basic Pathology. Sixth Edition. WB. Saunders Company. Philadelphia London New York 1997.
96. Touyz RM, Schiffrin EL. Signal Transduction Mechanisms Mediating the Physiological and Pathophysiological Actions of Angiotensin II in Vascular Smooth Muscle Cells. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 641.
97. Dökmeci İ. Farmakoloji temel kavramlar. Tayf ofset. 2000; 343-353
98. Sourbrier F, Alhenc-Gelas F, Hubert C, et al. Two putative active centers human

- angiotensin I converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc Natl Acad Sci* 1988; 85: 9386-9390.
99. Ondetti MA, Rubin B, Cushman DW. Design of specific inhibitors of angiotensin converting enzyme: New class of orally active antihypertensive agents. *Science* 1977; 196: 441-444.
 100. Baumgarten CR, Linz WL, Kunkel G, Scholkens BA, Weimer G. Ramiprilat increases bradykinin outflow from isolated hearts of rat. *Br J Pharmacol* 1993; 108: 293-295.
 101. Opie LH. Angiotensin converting enzyme inhibitors: scientific basis for clinical use. 1994; 1-22.
 102. Brown NJ, Vaughan DE. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. *Circulation* 1998; 97(14): 1411-1420.
 103. Iraz M. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibisyonu ve AT1 reseptör blokajının sıçanda miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarındaki mortalite ve kardiyak markırlara etkisi. Uzmanlık Tezi. 2000.
 104. White CM. Pharmacologic, pharmacokinetic, and therapeutic differences among ACE inhibitors. *Pharmacotherapy* 1998; 18: 588-599.
 105. Dal Ponte DB, Fogt DL, Jacob S, Henriksen EJ. Interactions of captopril and verapamil on glucose tolerance and insulin action in an animal model of insulin resistance. *Metabolism* 1998; 47: 982-987.
 106. Uehara M, Kishikawa H, Isami S, et al. Effect on insulin sensitivity of angiotensin converting enzyme inhibitors with or without a sulphhydryl group: bradykinin may improve insulin resistance in dogs and humans. *Diabetologia* 1994; 37: 300-307.
 107. David ED, Baker KM. The cardiac renin-angiotensin system conceptual, or a regulator of cardiac function? *Circ Res* 1999; 85: 640-650.
 108. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. *Pharmacology*. Fourth edition. Edinburgh London New York Philadelphia Sydney Toronto. 1999: 291.
 109. Katzung BG. *Basic & Clinical Pharmacology*. 7. edition. Appleton & Lange. Stamford. 1998; 170-186.
 110. Brown NJ, Vaughan DE. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. *Circulation*. 1998;97(14): 1411-1420.
 111. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circ Res* 1985; 57: 84-95.
 112. Swedberg K, Held P, Kjeksus J, Rasmussen K, Ryden L, Wedel H. Effects of the early administration of enalapril on mortality in patients with acute myocardial infarction: result of the Cooperative New Scandinavian Enalapril Survival Study II (CONSENSUS II). *N Engl J Med* 1992; 327: 678-684.
 113. Gruppo Italiano Per lo Studio Della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardio. GISSI-3: effect of lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate singly and together on 6-week mortality and ventricular function after acute myocardial infarction. *Lancet* 1994; 343: 1115-1122.
 114. Ambrosioni E, Borghi C, Magnani B. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibitor zofenopril on mortality and morbidity after anterior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1995; 332: 80-85.
 115. Pfeffer MA, Braunwald EA, Moye LA, Basta L, Brown EJJ, Cuddy TE, Davis BR, Geltman EM, Goldman S, Flaker GC, Klein M, Lamas GA, Packer M, Rouleau J, Rouleau JL, Rutherford J, Wertheimer JH, Hawkins CM. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med* 1992; 327: 669-677.

116. Dendorfer A, Wolfrum S, Dominiak P. Pharmacology and cardiovascular implications of the kinin–kallikrein system. *Jpn J Pharmacol* 1999;79:403–26.
117. Woo KS, Nicholls MG. High prevalence of persistent cough with angiotensin converting enzyme inhibitors in Chinese. *Br J Clin Pharmacol* 1995; 40: 141-144
118. Pitt B, Segal R, Martinez FA, Meurers G, Cowley AJ, Thomas I, Deedwania PC, Ney DE, Snively DB, Chang PI. Randomised trial of losartan versus captopril in patients over 65 with heart failure (Evaluation of Losartan in the Elderly study, ELITE) *Lancet* 1997; 349: 747-752.
119. Pitt B, Poole-Wilson PA, Segal R, Martinez FA, Dickstein K, Camm AJ, Konstam MA, Riegger G, Klinger GH, Neaton J, Sharma D, Thiyagarajan B. Effect of losartan compared with captopril on mortality in patients with symptomatic heart failure: randomised trial-the Losartan Heart Failure Survival Study ELITE II. *Lancet* 2000; 355: 1582-1587.
120. Wright JW, Krebs LT, Stobb JW, Harding JW. The Angiotensin IV system: Functional implications. *Front Neuroendocrinol* 1995; 16: 23-52.
121. Benter LF, Ferrario CM, Morris M, Diz DL. Chronic intravenous angiotensin (1-7) infusions activate antihypertensive mechanisms in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1994; 7(4): H22.
122. Gasparo MD, Catt KJ, Inagami JW, Wright JW, Unger TH. International union of pharmacology. XXIII. The Angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 415-472.
123. Jorma O, Kokkonen, Ken A, Lindstedt, Antti Kuoppala, and Petri T. Kovanen. Kinin-Degrading Pathways in the Human Heart *Trends Cardiovasc Med* 2000;10:42–45
124. Brunner HR, Kirsman DJ, Sealey JE, et al. Hypertension of renal origin: evidence for two different mechanisms. *Science* 1971; 174: 1344-1346.
125. Brunner HR, Gavras H, Laragh JH, et al. Angiotensin-II blockade in man by Sar-Ala-angiotensin II for understanding and treatment of high blood pressure. *Lancet* 1973; 2: 1045-1048.
126. Ijima K, Geshi E, Nomizo A, Arata Y, Katagiri T. Alteration in sarcoplasmic reticulum and angiotensin II type 1 receptor gene expression after myocardial infarction in rats. *J Jpn Circ* 1998; 62: 449-454.
127. Matsubara H. Pathophysiological role of angiotensin II type 2 receptor in cardiovascular and renal diseases. *Circ Res* 1998; 83: 1182-1192.
128. Turini GA, Brunner HR, Ferguson RK, et al. Congestive heart failure in normotensive man: hemodynamics, renin and angiotensin II blockade. *Br J Heart* 1978; 40: 1134-1142.
129. Lenz O, Schmid B, Kilter H, La Rosee K, Flesch M, Kuhn-Regnier F, Sudkamp M, Bohm M. Effects of angiotensin II and angiotensin-converting enzyme inhibitors on human myocardium. *Eur J Pharmacol* 1995; 294: 17-27.
130. Li Q, Zhang J, Pfaffendorf M, Van Zwieten PA. Direct positive chronotropic effects of angiotensin II and angiotensin III in pithed rats and in rat isolated atria. *Br J Pharmacol* 1996; 118: 1653-1658.
131. Muller DN, Fischli W, Clozel JP, Hilgers KF, Bohlender J, Ménard J, Busjahn A, Ganten D, Luft FC. Local angiotensin II generation in the rat heart: role of renin uptake. *Circ Res* 1998; 82: 13-20.
132. Wollert KC, Drexler H. The renin angiotensin system and experimental heart failure. *Cardiovasc Res* 1999; 43: 838-849.

133. Kajstura J, Cigola E, Malhotra A, Li P, Cheng W, Meggs LG, Anversa P. Angiotensin II induces apoptosis of adult ventricular myocytes *in vitro*. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 859-870.
134. Tamura M, Wanaka Y, Landon EJ, Inagami T. Intracellular sodium modulates the expression of angiotensin II subtype 2 receptor in PC12W cells. *Hypertension* 1999; 33: 626-632.
135. Burnier M. Angiotensin II type 1 receptor blockers. *Circulation* 2001; 103: 904-912
136. De Mello WC, Danser AH. Angiotensin II and the Heart On the Intracrine Renin-Angiotensin System. *Hypertension* 2000; 35: 1183-1188.
137. Duncia JV, Chiu AT, Carini DJ, et al. The discovery of potent nonpeptide angiotensin II receptor antagonists: A new class of potent antihypertensives. *J Med Chem* 1990; 33: 1312-1329.
138. Faxon DP, Creager MA, Halperin JL, et al. Central and peripheral hemodynamic effect of angiotensin inhibition in patients with refractory congestive heart failure. *Circulation* 1980; 61: 925-931.
139. Murakami M, Suzuki H, Naitoh M, Matsumoto A, Kageyama Y, Tsujimoto G, Saruta T. Blockade of the renin-angiotensin system in heart failure in conscious dogs. *J Hypert* 1995; 13: 1405-1412.
140. Timmermans PB. Pharmacological properties of angiotensin II receptor antagonists. *Can J Cardiol* 1999; 15: 26F-28F.
141. Gottlieb SS, Dickstein K, Fleck E, Kostis J, Levine TB, LeJemtel T, Dekock M. Hemodynamic and neurohormonal effects of the angiotensin II antagonist losartan in patients with heart failure. *Circulation* 1993; 88: 1602-1609.
142. McDonald KM, Garr M, Carlyle PF, Francis GS, Hauer K, Hunter DW, Parish T, Stillman A, Cohn JN. Relative effects of α -adrenoceptor blockade converting enzyme inhibitor therapy, and angiotensin II subtype 1 receptor blockade on ventricular remodeling in the dog. *Circulation* 1994; 90: 3034-3046.
143. Spinale FG, de Gasparo M, Whitebread S, Hebbar L, Clair MJ, Melton DM, Krombach RS, Mukherjee R, Iannini JP, O SJ. Modulation of the renin-angiotensin pathway through enzyme inhibition and specific receptor blockade in pacing-induced heart failure. I. Effects on left ventricular performance and neurohormonal systems. *Circulation* 1997; 96: 2385-2396.
144. Seyedi N, Xu XB, Nasjletti A, Hinzte TH. Coronary kinin generation mediates nitric oxide release after angiotensin receptor stimulation. *Hypertension* 1995; 26: 164-170.
145. Wexler PC, Price WA, Chiu AT, et al. Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists XI. Pharmacology of EXP3174: An active metabolite of Dup 753, and orally active antihypertensive agent. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 255: 211-217.
146. Wermann JG, Cohen SM. Comparison of effects angiotensin-converting enzyme inhibition with those of angiotensin II receptor antagonism on functional and metabolic recovery in postischemic working rat heart as studied by (31P) nuclear magnetic resonance. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994; 24: 573-586.
147. Kohya T, Yokoshiki H, Tohse N, Kanno M, Nakaya H, Saito H, Kitabatake A. Regression of left ventricular hypertrophy prevents ischemia-induced lethal arrhythmias. Beneficial effect of angiotensin II blockade. *Circ Res* 1995; 76: 892-899.
148. Thomas GP, Ferrier GR, Howlett SE. Losartan exerts antiarrhythmic activity independent of angiotensin II receptor blockade in simulated ventricular ischemia and reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 278: 1090-1097.

149. Werrmann JG, Cohen SM. Use of Losartan to examine the role of the cardiac renin-angiotensin system in myocardial dysfunction during ischemia and reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 27: 177-182.
150. Mazzolai L, Burnier M. Comparative safety and tolerability of angiotensin II receptor antagonists. *Drug Safety* 1999; 21: 23-33.
151. Lacourciere Y, Brunner HR, Irwin R, et al. Effects of modulators of the renin-angiotensin-aldosterone system on cough. *J Hypertens* 1994; 12: 1387-1393.
152. Bao G, Gohlke P, Quadri P, et al. Chronic kinin receptor blockade attenuates the antihypertensive effect of ramipril. *Hypertension* 1992; 20: 74-79.
153. Van Rijnsoever EW, Kwee-Zuiderwijk WJ, Feenstra J. Angioneurotic edema attributed to the use of losartan. *Arc Intern Med* 1998; 158: 2063-2065.
154. Olaf Johren, Andreas Dendorfer, Peter Dominiak. Cardiovascular and renal function of angiotensin II type-2 receptors *Cardiovascular Research* 2004;62: 460– 467.
155. Bedecs K, Elbaz N, Sutren M. Angiotensin II type 2 receptors mediate inhibition of mitogen-activated protein kinase cascade and functional activation of SHP-1 tyrosine phosphatase. *Biochem J* 1997;325(Pt. 2): 449–54.
156. Horiuchi M, Akishita M, Dzau VJ. Recent progress in angiotensin II type 2 receptor research in the cardiovascular system. *Brief Review*. 1999; 33: 613-621.
157. Matsubara H, Kanasaki M, Murasawa S, Tsukaguchi Y, Nio Y, Inada M. Differential gene expression and regulation of angiotensin II receptor subtypes in rat cardiac fibroblasts and cardiomyocytes in culture. *J Clin Invest* 1994; 93: 1592-1601.
158. Unger T. The angiotensin type 2 receptor: variations on an enigmatic theme. *J Hypertens* 1999; 17: 1775-86.
159. Rogg H, De Gasparo M, Graedel E, et al. Angiotensin II receptor subtypes in human atria and evidence for alterations in patients with cardiac dysfunction. *Eur Heart J* 1996; 17: 1112-1120.
160. Nio Y, Matsubara H, Murasawa S, Kanasaki M, Inada M. Regulation of gene transcription of angiotensin II receptor subtypes in myocardial infarction. *J Clin Invest* 1995;95:46 – 54.
161. Wharton J, Morgan K, Rutherford RA, et al. Differential distribution of angiotensin AT2 receptors in the normal and failing human heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;284:323– 36.
162. Tsutsumi Y, Matsubara H, Ohkuba N, et. al. Angiotensin II type 2 receptor is upregulated in human heart with interstitial fibrosis, and cardiac fibroblasts are the major cell type for its expression. *Circ Res* 1998; 83: 1035-1046.
163. Ichihara S, Senbonmatsu T, Price Jr E, et al. Targeted deletion of angiotensin II type 2 receptor caused cardiac rupture after acute myocardial infarction. *Circulation* 2002;106:2244– 9.
164. Yamada T, Akishita M, Pollman M, Gibbons GH, Dzau VJ, Horiuchi M. Angiotensin II type 2 receptor mediates vascular smooth muscle cell apoptosis and antagonizes angiotensin type I receptor action: an in vitro gene transfer study. *Life Sci* 1998; 63: PL289-PL295.
165. Berry C, Touyz R, Dominiczak AF, et al. Angiotensin receptors: signaling, vascular pathophysiology, and interactions with ceramide. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281:2337-2365.
166. Moore AF, Heiderstadt NT, Huang E, Howell NL, Wang ZQ, Siragy H, Carey RM. Selective inhibition of the renal angiotensin type 2 receptor increases blood pressure in conscious rats. *Hypertension* 2001; 37: 1285-1291.

167. Giasson E, Meloche S. Role of p70 S6 protein kinase in angiotensin II-induced protein synthesis in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1995; 270: 5225-5231.
168. Moeller I, Small DH, Reed G, Harding JW, Mendelsohn FA, Chai SY. Angiotensin IV inhibits neurite outgrowth in cultured embryonic chicken sympathetic neurones. *Brain Res* 1996; 726: 61-66.
169. Yan Tan,¹ Florence N. Hutchison,² and Ayad A. Jaffal Mechanisms of angiotensin II-induced expression of B2 kinin receptors *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;286: H926–H932.
170. Sharma JN, Uma K, Yusof APM: Altered cardiac tissue and plasma kininogen levels in hypertensive and diabetic rats. *Immunopharmacology* 1999;34:129-132.
171. Nolly HL, Carretero OA, Sclicli AJ: Kallikrein release by vascular tissue. *Am J Physiol* 1993;265:H1209-H1214.
172. Walls TM, Sheehy R, Hartman JC: Role of bradykinin in myocardial preconditioning. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;270:681-689.
173. Linz W, Wiemer G, Scholkens BA: Contribution of bradykinin to the cardiovascular effects of ramipril. *J Cardiovasc Pharmacol* YEAR;22(Suppl. 9):S1-S8.
174. A. Cargnoni, C. Ceconi, P. Bernocchi, et al., *J. Heart Lung Transpl.* 1999;18 478–487
175. Nagayasa T, Nagasawa S: Studies of human kininogen: isolation, characterization, and cleavage by plasmakallikrein of highmolecular weight (HMW) kininogen. *J Biochem* 1979;85:249-258.
176. Muller-Esterl W, Iwanaga S, Nakanishi S: Kininogens revisited. *Trend Pharmacol Sci* 1986;11:336-339.
177. Takada Y, Skidgel RA, Erdos EG: Purification of human urinary prokallikrein: identification of the site of activation by the metalloproteinase thermolysin. *Biochem J* 1985;232:851-856.
178. Weiss AS, Gallin JL, Kaplan AP: Fletcher factor deficiency: a diminished rate of Hageman factor activation caused by absence of prekallikrein with abnormalities of coagulation, fibrinolysis, chemotactic activity and kinin generation. *J Clin Invest* 1974;53:622- 633.
179. Cochrane CG, Revak SD, Wuepper D: Activation of Hageman factor in solid and fluid phase: a critical role of kallikrein. *J Exp Med* 1973;138:1564-1583.
180. Griffin JH, Cochrane CG: Mechanism for the involvement of high molecular weight kininogen in surface-dependent reactions of Hageman factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976;73:2554-2558.
181. Erdos EG: Some old and some new ideas on kinin metabolism. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990;15(6):20-24.
182. Erdös E, Skidgel R. Metabolism of bradykinin by peptidases in health and disease. In: Farmer S, ed. *The kinin system*. San Diego: Academic Press; 1997. p. 111–141.
183. Dendorfer A, Wolfrum S, Wellhoner P, Korsman K, Dominiak P. Intravascular and interstitial degradation of bradykinin in isolated perfused rat heart. *Br J Pharmacol* 1997;122:1179–87.
184. Austin KE, Faussner A, Robinson HE, Chakravarty S, Kyle DJ, Bathon JM & Proud D (1997). Stable expression of the kinin B1 receptor in Chinese hamster ovary cells. *Journal of Biological Chemistry*, 271: 11420-11425.
185. C. Tschöpe, S. Heringer-Walther and T. Walther. Regulation of the kinin receptors after induction of myocardial infarction: a mini-review B1- and B2-receptors in

- myocardial infarction *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2000;33: 701-708.
186. Tiffany CW, Burch M: Bradykinin stimulates tumor necrosis factor and interleukin-1 release from macrophages. *FEBS Lett* 1989;247:189-192.
 187. Whalley ET, Clegg S, Stewart JM, Vavrek RJ: The effect of kinin agonists and antagonists on the pain response of human blister base. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 1987;336:652-655.
 188. Sharma JN, Yusof APM: Pro-inflammatory properties of the kallikrein-kinin system: potential for new drug therapy. *Inflammopharmacology* 1998;6:289-296.
 189. Sharma JN, Yusof APM, Wirth KJ: The kinin antagonist Hoe 140 reduces acute paw oedema in rats caused by carrageenan, bradykinin and kaolin. *Inflammopharmacology* 1988;6:9-17.
 190. Jin LS, Seeds E, Page C, Schachter M: Inhibition of bradykinin-induced bronchoconstriction in guinea-pig by a synthetic B2 receptor antagonist. *Br J Pharmacol* 1989;97:598-602.
 191. Sharma JN, Stewart JM, Mohsin SSJ, Katori M, Vavrek R: Influence of a kinin antagonist on acute hypotensive responses induced by bradykinin and captopril in spontaneously hypertensive rats. *Agents Actions* 1992;38(3):258-269.
 192. Abbas SA, Sharma JN, Yusof APM: Effect of bradykinin and its antagonist on survival time after coronary artery occlusion in rats. *Gen Pharmacol* 1999;33:243-247.
 193. Abbas SA, Sharma JN, Yusof APM: The effect of bradykinin and its antagonist on survival time after coronary artery occlusion in hypertensive rats. *Immunopharmacology* 1999;44:93-98.
 194. D'Orleans-Juste P, de Nussi G, Vane JR: Kinins act on B1 or B2 receptors to release conjointly endothelium-derived relaxing factor and prostacyclin from bovine aortic endothelial cells. *Br J Pharmacol* 1989;96:920-926.
 195. Webster ME, Gilmore JP: Influence of kallidin-10 on renal function. *Am J Physiol* 1964;206:714-718.
 196. McGiff JC, Itskovitz HD, Terrango NA: The action of bradykinin and eledoisin in the canine isolated kidney: relationship to prostaglandins. *Clin Sci Mol Med* 1975;49:125-131.
 197. Sharma JN, Amrah SS, Noor AR: Suppression of hypotensive responses of captopril and enalapril by kallikrein inhibitors aprotinin in spontaneously hypertensive rats. *Pharmacology* 1995;50:363-369.
 198. Silberbauer K, Stanek B, Temple H: Acute hypotensive effect of captopril in man modified by prostaglandin synthesis inhibition. *Br J Clin Pharmacol* 1982;14:87S-93S.
 199. Sharma JN, Fernandez PG, Kim BK, Triggle CR: Systolic blood pressure responses to enalapril maleate (MK 421), an angiotensin converting enzyme inhibitor and hydrochlorothiazide in conscious Dahl salt-sensitive (S) and salt-resistant (R) rats. *Can J Physiol Pharmacol* 1984;62:241-243.
 200. Edery H, Rosenthal T, Amitzur G, Rubinstein A, Stern N: The influence of SQ 20881 on the blood kinin system of renal hypertensive patients. *Drug Exp Clin Res* 1981;7:749-756.
 201. Sharma JN: Therapeutic prospects of bradykinin antagonists. *Gen Pharmacol* 1993;24:267-274.
 202. Sharma JN, Kesavarao U: Effect of captopril on urinary kallikrein, blood pressure and myocardial hypertrophy in diabetic spontaneously hypertensive rats. *Pharmacology* 2002;64:196-200.

203. Kichuck MR, Seyedi N, Zhang X, Marboe CC, Michler RE, Addonizio LJ, et al: Regulation of nitric acid production in human coronary microvessels and the contribution of local kinin formation. *Circulation* 1996;94:44-51.
204. Whalley ET, Soomon JA, Modafferi DM: CP-0127, a novel potent bradykinin antagonist increases survival in rat and rabbit model of endotoxin shock. *Agents Actions* 1992;38(Suppl.):431-420.
205. Sakuji Shigematsu, Shuji Ishida, Dean C. Gute, And Ronald J. Korthuis. Bradykinin prevents postischemic leukocyte adhesion and emigration and attenuates microvascular barrier disruption. *American Physiological Society* 2005;161-171.
206. Linz, W., and B. A. Schoellkens. Role of bradykinin in the cardiac effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1992;20: 81–90.
207. Martorana, P. A., B. Kettenbach, G. Breipohl, W. Linz, and B. A. Schoellkens. Reduction of infarct size by local angiotensin-converting enzyme inhibition is abolished by a bradykinin antagonist. *Eur. J. Pharmacol.* 1990;182: 395–396.
208. Hartman, J. C., T. M. Wall, T. G. Hullinger, and R. J. Shebuski. Reduction of myocardial infarct size in rabbits by ramiprilat: reversal by the bradykinin antagonist HOE 140. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 21: 996–1003, 1993.
209. Tio, R. A., T. J. M. Tobe, K. J. Bel, C. D. J. de Langen, W. H. van Gilst, and H. Wesseling. Beneficial effects of bradykinin on porcine ischemic myocardium. *Basic Res. Cardiol.* 1991;86: 107–116.
210. Kanner, J., S. Harel, and R. Granit. Nitric oxide as an antioxidant. *Arch. Biochem. Biophys.* 1991; 289: 130–136.
211. Zhu, P., C. E. Zaugg, D. Simper, P. Hornstein, P. R. Allegrini, and P. T. Buser. Bradykinin improves postischemic recovery in the rat heart: role of high energy phosphates, nitric oxide, and prostacyclin. *Cardiovasc. Res.* 1995; 29: 658–663.
212. Linz, W., G. Wiemer, and B. A. Schoellkens. Role of kinins in the pathophysiology of myocardial ischemia. In vitro and in vivo studies. *Diabetes* 1996; 45(1): 51–58.
213. Vegh, A., J. G. Papp, L. Szekeres, and J. R. Parratt. Prevention by an inhibitor of the L-arginine-nitric oxide pathway of the antiarrhythmic effects of bradykinin in anaesthetized dogs. *Br. J. Pharmacol.* 1993;110: 18–19.
214. Vegh, A., L. Szekeres, and J. R. Parratt. Local intracoronary infusions of bradykinin profoundly reduce the severity of ischemia-induced arrhythmias in anaesthetized dogs. *Br. J. Pharmacol.* 1991; 23: 294–295.
215. Schulz R, Post H, Vahlhaus C, and Heusch G. Ischemic preconditioning in pigs, a graded phenomenon: its relation to adenosine and bradykinin. *Circulation* 1998;98: 1022–1029.
216. Zughuib ME, Sun JZ, Bolli R. Effect of angiotensin converting enzyme inhibitors on myocardial ischemia-reperfusion: an overview. *Basic Res Cardiol* 1993;88:155–67.
217. Hartman JC, Hullinger TG, Wall TM, Shebuski RJ. Reduction of myocardial infarct size by ramiprilat is independent of angiotensin II synthesis inhibition. *Eur J Pharmacol* 1993;234:229–36.
218. Zhu-Qui Jin, Xiu Chen. Ramipril-induced delayed myocardial protection against free radical injury involves bradykinin B2 receptor-NO pathway and protein synthesis. *British Journal of Pharmacology* 1998; 125:556-562
219. Wang LX, Ideshi M, Yahiro E, Urata H, Arakawa K, Saku K. Mechanism of the cardioprotective effect of inhibition of the renin-angiotensin system on ischemia/reperfusion-induced myocardial injury. 2001;24(2):179-87.

220. Motoaki Sato, Richard M. Engelman, Hajime Otani, Nilanjana Maulik, John A. Rousou, Joseph E. Flack III, David W. Deaton, Dipak K. Das. Myocardial Protection by Preconditioning of Heart With Losartan, an Angiotensin II Type 1– Receptor Blocker *Circulation*. 2000;102:346-351.
221. Wiemer G, Schölkens BA, Busse R, Wagner A, Heitsch H, Linz W. The functional role of angiotensin II-subtype AT₂- receptors in endothelial cells and isolated ischemic rat hearts. *Pharm Pharmacol Lett* 1993;3: 24–27
222. Walker MJ, Curtis MJ, Hearse DJ, et al. The Lambeth Conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischemia infarction, and reperfusion. *Cardiovasc Res* 1988; 22 (7): 447-455.
223. Özer MK. ADE inhibitörü ve AT₁ reseptör blokörünün iskemi-reperfüzyon aritmilerine ve nekroza etkilerinin karşılaştırılması. Doktora Tezi. 2001.
224. Schuijt MP, Basdew M, Van Veghel R, De Vries R, Saxena PR, Schoemaker RG, Jan Danser AH. AT₂ receptor-mediated vasodilation in the heart: effect of myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281: H2590-H2596.
225. Zaileen Ebrahim, Derek M Yellon and Gary F Baxter. Bradykinin elicits “second window” myocardial protection in rat heart through an NO-dependent mechanism. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281:H1458-H1464
226. Fishbein MC, Meerbaum S, Rit J, Lando U, Kanmatsuse K, Mercier JC, Corday E, Ganz W. Early phase acute myocardial infarct size quantification: Validation of the triphenyltetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *Am Heart J* 1981; 101: 593-600.
227. Schriefer JA, Broudy EP, Hassen AH. Inhibitors of bradykinin-inactivating enzyme decrease myocardial ischemia/reperfusion injury following 3 and 7 days of reperfusion. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2001; 298: 970-975.
228. Sandmanna S, Kaschinaa E, Blumea A, Kruseb ML, Ungera T. Bradykinin B₁ and B₂ receptors differentially regulate cardiac Na⁺–H⁺ exchanger, Na⁺–Ca²⁺ exchanger and Na⁺–HCO₃⁻ symporter. *European Journal of Pharmacology* 2003; 458: 3– 16.
229. Hui-Lin P, Shao-Rui C, Gloria MS, Oscar AC. Cardiac interstitial bradykinin release during ischemia is enhanced by ischemic preconditioning. *Am J Physiol Circ Physiol* 2000; 279: H116-H121.
230. Goldenberg I, Grossman E, Jacobson KA, Shneyvays V, Shainberg A. Angiotensin II-induced apoptosis in rat cardiomyocyte culture: a possible role of AT₁ and AT₂ receptors. *J Hypertens*. 2001;19(9):1681-1689.
231. Yuichiro AMS, Yoshihiko SMD, Ichiro Kishimito MD, et al. Angiotensin II type 2 receptor deficiency exacerbates heart failure and reduces survival after acute myocardial infarction in mice. *Circulation* 2003; 107: 2407-2408.
232. Kuizinga MC, Smits JF, Arends JW, Daemen MJAP. AT₂ receptor blockade reduces interstitial cell DNA synthesis and cardiac function after rat myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30: 425-434.
233. Birincioglu M Olmez E, Aksoy T, Acet A. The role of prostaglandin synthesis stimulation in the protective effects of captopril on ischemia-reperfusion arrhythmias in rats in vivo. *Pharmacol Res* 1997; 36: 299-304.
234. Birincioglu M, Aksoy T, Olmez E, Acet A. Protective effects of ACE inhibitors on ischemia-reperfusion-induced arrhythmias in rats: is this effect related to the free radical scavenging action of these drugs? *Free radic Res* 1997; 27: 398-396.