

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**BETA 3-ADRENOSEPTÖRLERİN KARDİYAK İSKEMİ
REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

DENİZ KALELİ DURMAN

**DANIŞMAN
PROF. DR. B. SÖNMEZ UYDEŞ-DOĞAN**

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMAKOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2008

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

20/06/2008


Prof. Dr. Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : FARMAKOLOJİ
Programın seviyesi : Yüksek Lisans Doktora
Anabilim Dalı : FARMAKOLOJİ
Tez Sahibi : DENİZ KALELİ
Tez Başlığı : Beta-3-adrenoseptörlerin kardiyak iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki etkileri
Sınav Yeri : İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Sınav Tarihi : 17 / 06 / 2008

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı _____

1. Prof. Dr. Gül Dülger Ayanoğlu Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD 
2. Prof. Dr. Gül Baktır İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD 
3. Prof. Dr. Sönmez Uydeş Doğan İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD 
4. Prof. Dr. Öner Sözer Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Farmakoloji ABD 
5. Prof. Dr. Tanju Özçelikay Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD 

BEYAN

Bu tez çalışmasına kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün saflalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.



Deniz KALELİ DURMAN

İTHAF

Sevgili Annem, Babam, Kardeşim ve Eşim'e ithafen...

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca desteğini ve ilgisini hep yanımda hissettiğim, değerli fikirleri ile bilimsel çalışmalarına yön veren, akademik gelişimimde büyük katkıları olan değerli hocam ve danışmanım Sayın Prof. Dr. B.Sönmez UYDEŞ-DOĞAN'a,

Doktora eğitimim boyunca bana vermiş olduğu bilimsel ve manevi destek için Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Gül BAKTIR'a,

Akademik hayatım boyunca beni her konuda ilgi ve dikkatle dinleyen, manevi desteğini hep yanımda hissettiğim, bana bilimsel disiplini ve farmakoloji sevgisini aşıl原因 Sayın hocam Prof. Dr. Osman ÖZDEMİR'e,

Tezime katkılarından dolayı İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Fikret Biyal Araştırma Merkezinden Sayın Uzm. Dr. Mine KUCUR'a ve Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Bölümünden Sayın Uzm. Dr. Filiz BASINOĞLU'na, ve Anabilim Dalımızdan Sayın Erdal DOĞAN'a,

Doktora tez çalışmam boyunca manevi ve teknik desteğini benden hiç esirgemeyen sevgili dostum Uzm. Biyolog Uğur AKSU'ya,

Doktora eğitimimde dostluklarıyla bana her konuda destek olan çalışma arkadaşlarım Yard. Doç. Dr. Alper OKYAR, Yard. Doç. Dr. Gökçe TOPAL TANYILMAZ, Yard. Doç. Dr. F. İlkey ALP, Dr. Ecz. Selçuk TAKIR, Uzm. Ecz. Zeliha PALA, Uzm. Ecz. Nihan ÇARÇAK, Ecz. Merve AGUŞ, Ecz. Ebru KOÇ, Ecz. Muharrem AĞIRGÖL, Ecz. Melike HASAR, Ecz. Maksat NURİYEV, Ecz. Fulya GEZERLER, ayrıca Dr. Ecz. Sevda PIRILDAR'a ve Sevgi ÖZAŞÇI'ya,

Yaşamımın her döneminde beni maddi manevi destekleyen, bana olan inançları ve güvenleriyle beni yüreklendiren, Sevgili Annem, Babam, Kardeşim ve Eşime, bu zorlu ve uzun süreçte hep yanımda oldukları için SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM...

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-817/27122005

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN	iii
İTHAF	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xv
ÖZET	xvii
ABSTRACT.....	xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarı.....	3
2.1.1. Klinik Önemi	3
2.1.2. Ateroskleroz İle İlişkisi	4
2.1.3. İskeminin Miyokardiyal Hasardaki Patofizyolojik Rolü	5
2.1.4. Reperfüzyonun Miyokardiyal Hasardaki Patofizyolojik Rolü	12
2.1.5. Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarının Biyokimyasal Belirteçleri	17
2.1.6. Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarının Apoptozis ile İlişkisi.....	20
2.2. Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarından Korunma Stratejileri	24
2.2.1. Önkoşullama	24
2.2.2. Geçkoşullama	27
2.2.3. Farmakolojik Miyokardiyal Korunma	33
2.2.4. Kardiyopleji.....	40
2.2.5. Yeni Tedavi Yöntemleri.....	41
2.3. Kardiyak Adrenoseptörler	45
2.3.1. α -Adrenoseptörler	46
2.3.2. β -Adrenoseptörler	46
2.3.3. Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarında β -AR'lerin Patofizyolojik Rolü.....	51
2.4. Kalp Üzerinde Yapılan Çalışmalar ve Langendorff İzole Perfüze Kalp Modeli ..	54

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	64
3.1. Deney Hayvanlarının Bakım Koşulları ve Özellikleri.....	64
3.2. Araçlar ve Gereçler.....	64
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları	65
3.4. İzole Sıçan Kalp Preperatının Hazırlanması	67
3.5. Deney Protokolü	67
3.6. Ölçülen Ve Hesaplanan Parametreler	70
3.6.1. Fonksiyonel Ve Hemodinamik Ölçümler.....	70
3.6.2. Biyokimyasal Ölçümler.....	71
3.6.3. Nekrotik Alan Ölçümü	71
3.7. İstatistiksel Analiz	72
4. BULGULAR.....	73
4.1. BRL37344'ün İskemi Öncesi Etkisi	73
4.2. BRL37344'ün İskemi Öncesi SR59230A Varlığındaki Etkisi	94
4.3. BRL37344'ün İskemi Öncesi SR59230A ve Nadolol Varlığındaki Etkisi.....	103
4.4. BRL37344'ün Nadolol Varlığında İskemi Öncesi Etkisi	120
4.5. BRL37344'ün Reperfüzyon Dönemindeki Etkisi	130
4.6. SR59230A'nın Çözücüsü DMSO'nun (% 0,4) Etkisi	140
5. TARTIŞMA	149
KAYNAKLAR	162
HAM VERİLER.....	197
ETİK KURUL KARARI.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
ÖZGEÇMİŞ	218

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: Langendorff izole perfüze kalp modelinde çeşitli parametre değerleri – Doring ve Dehnert (1987)'den değiştirilerek.....	63
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Miyokardiyal iskemi sonrası oluşan metabolik değişimler –Hearse (1998)’den değiştirilerek.	8
Şekil 2-2: İrreversibl miyokardiyal iskeminin major hücresele etki mekanizmaları - Ferdinandy (2007)’den değiştirilerek.	9
Şekil 2-3: Anestezi altındaki köpek proksimal koroner arter oklüzyonu modelinde iskemi reperfüzyonun kalpteki etkisinin zamana bağlı değişimi şematize edilmiştir – Kloner (2001a)’den değiştirilerek.	11
Şekil 2-4: Miyokardiyal iskemi sonrası reperfüzyona bağlı olarak gelişen kardiyak hasara aracılık eden major hücresele mekanizmalar – Ferdinandy (2007)’den değiştirilerek.	16
Şekil 2-5: İskemik önkoşullama ve geçkoşullamaya aracılık ettiği düşünülen ortak sinyal yolağı mediyatörleri – Hausenloy ve Yellon (2007b)’dan değiştirilerek.	29
Şekil 2-6: İskemik önkoşullama ve geçkoşullamaya aracılık ettiği düşünülen reperfüzyon hasarından koruyucu kinaz yolağı (RHKK) – Hausenloy ve Yellon (2007b)’dan değiştirilerek.	31
Şekil 2-7: Adrenerjik reseptörlerin sınıflandırılması.	45
Şekil 2-8: Çeşitli deneysel modellerin kliniğe uygunluğu, elde edilen veri miktarı ve maliyeti arasındaki ilişki – Hearse (2000)’den değiştirilerek.	57
Şekil 2-9: Sabit basınçlı / akımlı Langendorff izole perfüze kalp sistemi – Sutherland ve ark. (2003)’den değiştirilerek.	60
Şekil 3-1: Dengelenme süresi sonunda deneye alınan kalplerde iskemi ve reperfüzyon süreleri ile kimyasal/çözücü uygulamalarını gösteren deney protokolü.	68
Şekil 3-2: Deney sonunda izole edilen kalp kesitlerinde TTC boyama yöntemiyle nekrotik alan değerlendirilmesi.	72
Şekil 4-1: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanmasının sol ventrikül basıncı üzerine etkisini gösteren orijinal trase örnekleri.	77
Şekil 4-2: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 (10^{-7} - 10^{-6} M) uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi.	78
Şekil 4-3: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 (10^{-7} - 10^{-6} M) uygulanmasının $+dp/dt_{maks}$ ve $-dp/dt_{min}$ parametreleri üzerine etkisi.	79

Şekil 4-4: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-7} - 10^{-6} M) uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi.....	80
Şekil 4-5: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-7} - 10^{-6} M) uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi	81
Şekil 4-6: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-7} - 10^{-6} M) uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeylerine etkisi.....	82
Şekil 4-7: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-8} M) uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi	83
Şekil 4-8: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-8} M) uygulanmasının $+dp/dt_{maks}$ ve $-dp/dt_{min}$ parametreleri üzerine etkisi	84
Şekil 4-9: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-8} M) uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi.....	85
Şekil 4-10: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-8} M) uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi	86
Şekil 4-11: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-8} M) uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeylerine etkisi.....	87
Şekil 4-12: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi	88
Şekil 4-13: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanmasının $+dp/dt_{maks}$ ve $-dp/dt_{min}$ parametreleri üzerine etkisi	89
Şekil 4-14: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi.....	90
Şekil 4-15: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi	91
Şekil 4-16: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeyleri üzerine etkisi	92
Şekil 4-17: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanmasının infarkt alanı üzerine etkisi.....	93

- Şekil 4-18: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi98
- Şekil 4-19: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ uygulanmasının $+dp/dt_{maks}$ ve $-dp/dt_{min}$ parametreleri üzerine etkisi.....99
- Şekil 4-20: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi100
- Şekil 4-21: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi101
- Şekil 4-22: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeylerine etkisi102
- Şekil 4-23: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$, BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının sol ventrikül basıncı üzerine etkisini gösteren orijinal trase örnekleri.....108
- Şekil 4-24: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi109
- Şekil 4-25: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının $+dp/dt_{maks}$ ve $-dp/dt_{min}$ parametreleri üzerine etkisi.....110
- Şekil 4-26: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi111
- Şekil 4-27: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi.....112

Şekil 4-28: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeylerine etkisi	113
Şekil 4-29: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$, BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi.....	114
Şekil 4-30: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$, BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının $+dp/dt_{maks}$ ve $-dp/dt_{min}$ parametreleri üzerine etkisi	115
Şekil 4-31: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak süreyle BRL37344 $10^{-6}M$, BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi.....	116
Şekil 4-32: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$, BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi.....	117
Şekil 4-33: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$, BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeyleri üzerine etkisi	118
Şekil 4-34: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-6}M$, BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ + SR59230A $10^{-5}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının infarkt alanı üzerine etkisi	119
Şekil 4-35: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-8}M$ ve BRL37344 $10^{-8}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının sol ventrikül basıncı üzerine etkisini gösteren orijinal trase örnekleri	123
Şekil 4-36: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-8}M$ ve BRL37344 $10^{-8}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi	124

Şekil 4-37: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-8}M$ ve BRL37344 $10^{-8}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının $+dp/dt_{maks}$ ve $-dp/dt_{min}$ parametreleri üzerine etkisi.....	125
Şekil 4-38: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-8}M$ ve BRL37344 $10^{-8}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi.....	126
Şekil 4-39: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-8}M$ ve BRL37344 $10^{-8}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi	127
Şekil 4-40: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-8}M$ ve BRL37344 $10^{-8}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeyleri üzerine etkisi.....	128
Şekil 4-41: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-8}M$ ve BRL37344 $10^{-8}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının infarkt alanı üzerine etkisi.....	129
Şekil 4-42: İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 $10^{-8}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ uygulanmasının sol ventrikül basıncı üzerine etkisini gösteren orijinal trase örnekleri.....	133
Şekil 4-43: İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 $10^{-8}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi.....	134
Şekil 4-44: İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 $10^{-8}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ uygulanmasının $+dp/dt_{maks}$ ve $-dp/dt_{min}$ parametreleri üzerine etkisi	135
Şekil 4-45: İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 $10^{-8}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi	136
Şekil 4-46: İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 $10^{-8}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi.....	137
Şekil 4-47: İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 $10^{-8}M$ ve BRL37344 $10^{-6}M$ uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeylerine etkisi	138

Şekil 4-48: İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 10^{-8} M ve BRL37344 10^{-6} M uygulanmasının infarkt alanı üzerine etkisi	139
Şekil 4-49: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle SR59230A'nın çözücüsü DMSO'nun (% 0,4) uygulanmasının sol ventrikül basıncı üzerine etkisini gösteren orijinal trase örnekleri.....	142
Şekil 4-50: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle DMSO (% 0,4) uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi	143
Şekil 4-51: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle DMSO (% 0,4) uygulanmasının $+dp/dt_{maks}$ ve $-dp/dt_{min}$ parametreleri üzerine etkisi	144
Şekil 4-52: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle DMSO (% 0,4) uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi.....	145
Şekil 4-53: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle DMSO (% 0,4) uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi	146
Şekil 4-54: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle DMSO (% 0,4) uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeylerine etkisi	147
Şekil 4-55: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle DMSO (%0,4) uygulanmasının infarkt alanı üzerine etkisi	148

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- AR: Adrenoseptör
KKH: Koroner kalp hastalığı
DDL: Düşük dansiteli lipoprotein
EKG: Elektrokardiogram
YEF: Yüksek enerjili fosfat
ATP: Adenozin trifosfat
ADP: Adenozin difosfat
AMP: Adenozin monofosfat
 μM : mikromolar
MAPK: Mitojenle aktive olan protein kinaz
NHD: Sodyum-hidrojen değiştiricisi
ROR: Reaktif oksijen radikalleri
NO: Nitrik oksit
RNR: Reaktif nitrojen radikalleri
SR: Sarkoplazmik retikulum
AKS: Akut koroner sendrom
LDH: Laktat dehidrojenaz
CK: Kreatin kinaz
CK-mb: Kreatin kinaz-mb
c-TnI: Kardiyak Troponin-I
c-TnT: Kardiyak Troponin-T
TTC: Trifenil-tetrazolium klorür
PKC: Protein kinaz C
PTCA: Perkütanöz koroner arter anjiyoplastisi
GPKR: G proteinleri-kenetli reseptörler
GPKRK: G proteinleri-kenetli reseptör kinaz
EBFR: Epidermal büyüme faktör reseptörleri
PI3K: Fosfoinoziditid-3 kinaz

eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentetaz
sGMP: Siklik guanozin monofosfat
PKG: Protein kinaz G
mKATP: Mitokondriyal ATP duyarlı potasyum kanalları
RHKK: Reperfüzyon hasarından koruyucu kinaz
EPO: Eritropoetin
ANP: Atrial-natriüretik peptid
SOD: Süperoksit dismutaz
AT1: Anjiyotensin 1 reseptörü
ADE: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
miRNA: Mikro-Ribonükleik asit
VEBF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
aFBF: Asidik fibroblast büyüme faktörü
HIF-1: Hipoksi ile indüklenen faktör-1
IP3: İnositol trifosfat
DAG: Diaçil gliserol
sAMP: Siklik adenozin monofosfat
i.p.: intra peritoneal

ÖZET

Kaleli Durman, D. (2008). Beta3-Adrenoseptörlerin Kardiyak İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerindeki Etkileri. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Beta3-adrenoreseptörlerin (AR) kalpteki varlığı yaygın olarak tanımlanmasına rağmen kardiyak kontraktilite üzerindeki etkileri halen tartışmalıdır. Buna ilaveten, iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki etkileri ile ilgili olarak yeterli veri bulunmamaktadır. Bu çalışmada, iskemi öncesi veya iskemi sonrası beta3-AR aktivasyonunun iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı bozulan kardiyak fonksiyonu modifiye edip etmediği araştırılmıştır. Selektif beta3-AR agonisti BRL37344'ün (10-9-10-6M) etkisi tek başına, selektif beta3-AR antagonisti SR59230A varlığında veya SR59230A'nın nonselektif beta1/2-AR antagonisti nadolol ile kombinasyonu varlığında incelenmiştir. Langendorff izole perfüze sıçan kalpleri 30 dakika süreyle global iskemiye, ardından 1 saat süreyle reperfüzyona tabi tutulmuşlardır. BRL37344, 10-7M ve 10-6M konsantrasyonlarda iskemi öncesi uygulandığında, konsantrasyon-bağımlı olarak akut pozitif inotropik, kronotropik ve koroner akımı arttırıcı etkilere neden olmuş ve iskemi sonrası kardiyak kontraktiliteyi arttırmıştır. SR59230A (10-5M), BRL37344 (10-6M) 'ün akut ve iskemi sonrası etkilerini azaltmış, SR59230A ve nadolol (10-5M) kombinasyonu ise iskemi sonrası yararlı etkilerini tamamen geriye döndürmüştür. BRL37344, 10-8M konsantrasyonda nadolol varlığında uygulandığında ise akut negatif inotropik etkiye neden olmuş ancak, iskemi sonrası bozulmuş kardiyak fonksiyonlar üzerinde herhangi bir etki oluşturmamıştır. BRL37344'ün 10-8M ve 10-6M konsantrasyonlarda reperfüzyon esnasında uygulanması ise kardiyoprotektif bir etkiye neden olmamıştır. Kardiyak fonksiyonel bulguları destekleyici olarak, BRL37344 uygulaması miyokardiyal hasarın biyokimyasal belirteçlerinin (Kreatin kinaz ve Troponin-I) düzeylerinde ve infarkt alanında benzer olumlu değişikliklere neden olmuştur. Bulgularımız, BRL37344'ün iskemi öncesinde uygulandığı takdirde yüksek konsantrasyonlarda miyokardi iskemi-reperfüzyon hasarından koruyabileceğini ve bu etkilerine hem beta3-AR'ler hem de beta1/2-AR aktivasyonunun aracılık ettiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Beta3-Adrenoseptörler, BRL37344, iskemi reperfüzyon hasarı, izole sıçan kalbi

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T817/27122005

ABSTRACT

Kaleli Durman, D (2008). The Effects Of Beta3-Adrenoceptors On Cardiac Ischemia Reperfusion Injury. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmacology. Phd Thesis. İstanbul.

Although beta3-adrenoceptors (AR) have extensively been characterized in the heart, their effectiveness in cardiac contractility is still in controversy. In addition, no sufficient data is available in relation to its function in ischemia-reperfusion injury. Herein, we investigated whether activation of beta3-ARs before or after ischemia could modify the deteriorated cardiac function in ischemia-reperfusion injury. The effect of selective beta3-agonist, BRL37344 (10^{-9} - 10^{-6} M) was investigated in the absence and presence of a specific beta3-AR antagonist, SR59230A or its combination with a nonselective beta-1/2-AR antagonist, nadolol. Langendorff-perfused isolated rat hearts were subjected to 30 min global no-flow ischemia followed by 1h reperfusion. BRL37344 produced concentration-dependent acute positive inotropic and chronotropic effects, increased coronary flow and enhanced postischemic cardiac contractility when administered at 10^{-6} M and 10^{-7} M concentrations before ischemia. SR59230A (10^{-5} M) significantly attenuated the acute and postischemic effects of BRL37344 (10^{-6} M), whereas, combination of SR59230A with nadolol (10^{-5} M) completely reversed its postischemic protective influence. BRL37344 produced acute negative inotropic effect at 10^{-8} M concentration, when administered in the presence of nadolol, without affecting the deteriorated postischemic cardiac functions. Application of BRL37344 at 10^{-8} and 10^{-6} M concentrations at reperfusion did not produce a cardioprotective effect. In proportional to cardiac functions, biochemical markers of myocardial damage (Creatine kinase, Troponin-I) and the infarct area displayed similar favourable changes with BRL37344. Hence, our results suggested that higher concentrations of BRL37344 may protect myocardium from ischemia-reperfusion injury by activation of beta3-AR as well as beta-1/2-ARs when used before ischemia.

Key words: Beta3-Adrenoceptors , BRL37344, ischemia-reperfusion injury, isolated rat heart

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. T817/27122005

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Miyokardiyal fonksiyonların regülasyonunda, endojen katekolaminler ile uyarılan beta-adrenerjik reseptörler (β -AR) ve aktive ettikleri hücre içi sinyal yolları önemli rol oynamaktadır. Kalpte akut veya kronik strese karşı yanıt olarak, kardiyak performansı arttırmaktan esas olarak β -AR'ler sorumludur. Kardiyomyositlerde β_1 , β_2 , ve β_3 olmak üzere üç tip beta-adrenerjik reseptörün bulunduğu gösterilmiştir. İnsan kalbindeki β_1/β_2 -AR'lerin 70:30 oranında bulunduğu ve her iki alt tipin de kardiyak frekans ve kontraktileti arttırdığı gösterilmiştir. 1980'lerin başlarında yapı ve farmakolojik profili β_1 ve β_2 -AR'den farklı olan β_3 -AR'ler tanımlanmıştır. Esasen ilk kez yağ dokusunda lipoliz ve termogenezi düzenlemede rolü olduğu gösterilen β_3 -AR'lerin kalpteki etkileriyle ilgili çalışmaların sonuçları ise tartışmalıdır. İn vivo ve in vitro koşullarda yapılan çalışmalardan bazıları β_3 -AR stimülasyonunun Gi/nitrik oksit (NO) aracılıklı bir yolak üzerinden negatif inotropik etkilere neden olduğunu ileri sürmektedir. Buna karşın, bazı deneysel çalışmalarda ise β_3 -AR stimülasyonunun β_1 ve β_2 -AR'lerde olduğu gibi Gs/sAMP aracılıklı bir mekanizma ile pozitif inotropik ve kronotropik etkilere aracılık ettiği bildirilmektedir. β_3 -AR agonistlerinin etkilerinde türe, kullanılan deney modeline, incelenen dokuya ve dokudaki reseptör yoğunluğuna, ve agonistin dozuna bağlı olarak gözlenen farklılıklar, β_3 -AR'lerin kalpteki etki profilinin belirlenmesini güçleştirmektedir. Bu bağlamda, β_3 -AR'lerin kardiyak etkileri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. β_3 -AR'lerin kardiyak kontraktile dışında vasküler tonusun regülasyonunda da rol oynadığı belirlenmiştir. Koroner arterlerde dahil olmak üzere çeşitli kapasitans ve rezistans damarlarda β_3 -AR agonistlerin direkt vazodilatör etkilerinin olduğu gösterilmiştir.

Kalp yetmezliği, diyabet, hipertansiyon ve gebelik gibi sempatik aktivasyonun arttığı durumlarda β_1 -AR lerin düzeyinde azalma olduğu, β_2 -AR'lerin ise Gs proteinleriyle kenetlenmesinin bozulduğu bildirilmektedir. İnsanlardan alınan ventrikül biyopsi örneklerinde veya hayvanlarda deneysel olarak oluşturulan modellerde elde edilen veriler, kalp yetmezliğinde β_3 -AR yoğunluğunun ve kenetlendiği öngörülen Gi protein düzeylerinin 2-3 kat arttığı belirlenmiştir. Yüksek katekolamin düzeyleri ile

karakterize bir diğerk patolojik durum ise miyokardiyal iskemidir. Yetersiz koroner akıma bağılı olarak gelişen iskemik kalp hastalıkları gelişmiş ÷lkelerde en başta gelen ölüm nedenidir. Miyokard infarktüsü esnasında kalp kasının canlılığını daha uzun süre koruyabilmesini sağlayacak ajanların geliştirilmesine yönelik sistematik çalışmalar, 30 yılı aşkın bir süredir yapılmaktadır. Eksojen katekolaminlerin iskemi öncesi önkoşullama veya sonrası geçkoşullama uyararı olarak verilmesi ile miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarındaki etkilerini inceleyen bir çok çalışma bulunmaktadır. Genel olarak, β_1 -AR aktivasyonunun iskemik önkoşullamada kardiyak fonksiyonlar üstünde yararlı etkilerinin olduğu, geçkoşullamada ise olumsuz etkilerinin olduğu bildirilirken, β_2 -AR aktivasyonunun her iki durumda da iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkilerinin olduğu öne sür÷lmektedir.

İn vivo ve in vitro çalışmalar ile β_1 ve β_2 -AR'lerin miyokardiyal iskemi-reperfüzyon patojenezindeki rolü ve hücresele etki mekanizmaları yaygın olarak incelenmesine rağmen, β_3 -AR'lerin bu patolojideki rolünü inceleyen herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarının patojenezinde β_3 -AR'lerinin fizyolojik rolünün belirlenmesi, miyokard infarktüsü ve kalp yetmezliği gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yeni bir terapötik yaklaşımın sağlanması açısından önemlidir. Çalışmamızda Langendorff izole perfüze sıçan kalbinde in vitro koşullarda oluşturulan deneysel miyokardiyal iskemi-reperfüzyon modelinde selektif β_3 -AR agonisti BRL37344'ün konsantrasyon bağımlı etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir. BRL37344'ün iskemi öncesi veya iskemi sonrası reperfüzyon dönemlerinde kısa süreli uygulanması ile araştırılan olası kardiyoprotektif etkisi, selektif β_3 -AR veya nonselektif β_1/β_2 -AR antagonistleri varlığında değerlendirilmiştir. Selektif β_3 -AR agonisti BRL37344'ün gerek akut gerekse iskemi-reperfüzyon sonrası kardiyak fonksiyonlar üzerindeki etkilerini belirleyecek olan bu çalışmada paralel olarak, miyokardiyal hasarın biyokimyasal göstergelerinden olan kreatin kinaz ve Troponin-I düzeyleri ile infarkt alanı üzerindeki etkiler de belirlenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarı

2.1.1. Klinik Önemi

Miyokardiyal iskemi damar çeperinde yırtılmış bir aterosklerotik plaktan oluşan veya kopan bir trombüsün koroner arteri tıkanması ile karakterize patolojik bir durumdur. Bununla birlikte, koroner kalp hastalıkları (KKH) ve kalp yetmezliğinin patojenezinde rol oynayan en önemli faktörlerden biridir. Ayrıca, koroner kalp hastalıkları ve açık kalp ameliyatları esnasında gelişebilen önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Yetersiz koroner akıma bağlı gelişen iskemik kalp hastalıklarının neden olduğu ölümler; akut koroner tıkanma ya da fibrilasyon sonucu aniden oluşabileceği gibi, kalbin pompalama yeteneğinin giderek bozulması sonucu haftalar ya da aylar süren bir dönem sonrasında da gerçekleşebilir. Her ne kadar varolan tedavi yöntemleri optimal korunma sağlasa da, KKH'lı hastaların mortalite ve morbidite oranları halen önemini korumaktadır. Bundan dolayı, KKH'lı hastalarda gözlenen miyokardiyal hasarın en aza indirilmesi ve buna bağlı ortaya çıkan klinik tablonun iyileştirilmesi için yeni kardiyoprotektif stratejilerin geliştirilmesi üzerinde halen çalışmaktadırlar.

Koroner Kalp Hastalığı gelişmiş ülkelerde en başta gelen ölüm nedenidir. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre her yıl 3,8 milyon erkek ve 3,4 milyon kadın KKH'dan yaşamlarını kaybetmektedir. Başta ateroskleroz olmak üzere, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, diyabetes mellitus gibi pek çok hastalık etiyolojisinde rol oynamaktadır.

KKH klinikte, tromboliz veya perkütanöz koroner anjyoplasti uygulamaların yapılacağı akut miyokardiyal infarktüsli hastalarda, koroner by-pass ameliyatına giren veya kardiyak arrest geçiren hastalarda oluşan miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarı sonrasında karşımıza çıkmaktadır. KKH'nın sonucu olarak oluşan miyokardiyal infarkt

ve buna bağlı gelişen sol ventrikül sistolik basıncındaki yetmezlik, hastalığın prognozunda son derece önemlidir (Weir ve ark. 2006).

2.1.2. Ateroskleroz İle İlişkisi

Ateroskleroz, intima altında lipid birikmesi ve buna bağlı ikincil olaylarla karakterize bir arter hastalığıdır. Ateroskleroz gelişimindeki en önemli lipoprotein, lipid peroksidasyonuna yatkınlığı nedeniyle düşük dansiteli lipoprotein (DDL)'dir. DDL'nin serbest oksijen radikalleri tarafından oksitlenmesi sonucu oluşan okside-DDL, karaciğer hücrelerinin DDL reseptörleri aracılığıyla kandan temizlenmemekte, buna karşın makrofajlar tarafından özgün olmayan bir biçimde alınmaktadır. Böylece, oluşan köpük hücrelerinin damar endoteline yapışması ise ateroskleroz oluşumunu başlatan bir prosestir (Kwiterovich 1998).

Aterosklerozda orta ve büyük çaptaki damarların iç çeperleri daralmakta ve kan akışı engellemektedir. Bu duruma ilaveten, kalınlaşan damar iç çeperinde Ca^{2+} vb. iyonların birikmesi ve fibröz bir yapının oluşması damarın elastikiyetini bozmaktadır. Bu durum çeşitli vazokonstriktör ajanların etkisiyle damarın yırtılmasına neden olabilmektedir. Yırtılmaya ve akut oklüzyona en fazla eğilimli plaklar, damarda sıkı darlık oluşturmayan, büyük bir lipid havuzu ve ince fibröz kapsülü olan aterosklerotik plaklardır. Kolesterol içeriği fazla olan bu yumuşak plaklarda monosit/makrofaj aktivitesi yüksek olduğundan bunlar salgıladıkları metalloproteinaz gibi enzimlerle ince fibröz kapsülü zayıflatıp damarın yırtılmasına neden olmaktadır. Ateroseklerotik plaklar kan akımına doğru çıkıntılar yaparlar. Yüzeyleri pürüklü olduğundan kan pıhtılaşmasını kolaylaştırarak, trombüs ve emboliye neden olurlar (Boyle ve ark. 1997). Sözkonusu damar çeperinde, yırtılmış bir aterosklerotik plaktan oluşan veya kopan bir trombüsün koroner arteri tıkanması ile tıkanmanın uç kısmında kalan bölgede kan akımının, çevre dokuda varolan küçük kollateral dolaşım dışında, durmasına neden olur. Akut koroner tıkanmadan hemen sonra hiç kan almayan ya da aldığı kanın kalp kasının işlevini yerine getirmesine yetmeyen bölgeye infarkt bölgesi denilirken, bu süreç miyokard infarktüsü olarak adlandırılmaktadır (Guyton ve Hall 1994 pp. 259-260).

2.1.3. İskeminin Miyokardiyal Hasardaki Patofizyolojik Rolü

Kısa süreli (reversibl) bir miyokardiyal iskemide, koroner arter oklüzyonu ile koroner akımın kesilmesini izleyen saniyeler içinde kalpte metabolik ve fizyolojik bir takım değişiklikler gerçekleşmektedir. Arteriyal akımının azalmasından sadece 8 sn sonra enerji metabolizması aerobik veya mitokondriyal metabolizmadan anaerobik glikolize kaymaktadır (Jennings ve ark. 1963 pp. 189-205; Jennings ve ark. 1990). Bu değişim, dokularda oksihemoglobin ve oksimiyoglobin şeklinde tutulmuş oksijenin tüketilmesi ile gerçekleşmektedir. Metabolizmadaki bu değişime eşzamanlı olarak, kalbin kasılması giderek azalır ve sonra durur, böylece miyokardiyum her sistolde kısalma yerine uzar. Bu esnada membran potansiyeli azalır ve elektrokardiogram da (EKG) ST-segmentinde bir takım değişiklikler gözlenmeye başlanır. Anaerobik glikoliz ve yüksek enerjili fosfat (YEF) depoları miyositlerin enerji ihtiyacını karşılamakta yetersiz kaldığından, dokulardaki adenosin trifosfat (ATP) azalmaya ve adenosin difosfat (ADP) birikmeye başlar. 30sn'lik bir iskemi sonrasında YEF'in esas kaynağı olan kreatin fosfatın % 90'ı tükenirken, ATP düzeyleri çok daha yavaş olarak azalır (Jennings ve Steenbergen 1985).

Anaerobik glikoliz iskemik alanlarda üretilen yeni YEF'in % 80'ini sağlar (Jennings ve ark. 1981). Ekstrasellüler ortamda çok az glukoz bulunduğundan, anaerobik glikoliz substrat olarak glikojenolizden elde edilen glukoz-1-fosfat'ı kullanır. Her bir mikromol (μmol) glukoz-1-fosfat'ın 2 μmol laktata dönüşmesi esnasında 3 μmol YEF üretilir. Bunun sonucu olarak dokularda laktat ve proton birikmeye başlar. Örneğin 10dak'lık bir iskemi sonrasında intrasellüler pH 5,8-6'ya düşerken (Fleet ve ark. 1985) intrasellüler ozmotik aktif partiküller, laktat, inorganik fosfat ve kreatin miktarları yükselir (Jennings ve ark. 1986). İskemik dokunun ekstrasellüler ortamında relatif olarak çok az su bulunduğundan, her ne kadar ozmotik yük artmış olsa da intrasellüler su miktarında çok az bir artma oluşur. Buna bağlı olarak gelişen ödem transmembran elektron mikroskopunda sarkoplazmik alanda artış olarak gözlemlenir (Jennings ve Steenbergen 1985).

Anaerobik glikoliz esnasında dokudaki glikojen azalır, ve glukoz-1-fosfat, glukoz-6-fosfat, α -gliserolfosfat ve laktat gibi anaerobik ürünlerin miktarı artar (Jennings ve ark. 1986; 1990). ATPaz ların etkisiyle oluşan ADP'ye bağlı olarak adenin nükleotid havuzu degrade olur. ADP çok çabuk oluşurken, anaerobik glikoliz ile ADP'nin ATP'ye tekrar fosforilasyonunu asidoz ve laktat tarafından yavaşlatılmaktadır (Rovetto ve ark. 1975).

İskeminin ilk dakikalarında adenozin (Kloner ve Jennings 2001a), bradikinin (Martorana ve ark. 1990; Noda ve ark. 1993; Wall ve ark. 1994), opioidler (Schultz ve ark. 1995), noradrenalin (Schomig 1990) ve anjiyotensin (Martorana ve ark. 1990) gibi çeşitli endojen maddeler ekstrasellüler ortama salınmaktadır. Bunlar miyositlerdeki reseptörlere bağlanarak intrasellüler sinyal sistemlerini stimüle etmektedir. Bu reaksiyonlar çok hızlı gerçekleşmektedir. Örneğin, iskeminin başlamasını izleyen saniyeler içinde fosfolipaz, intramiyokardiyal sempatik sinir uçlarından iskemiye cevap olarak serbestlenen noradrenalin tarafından aktive edilmektedir (Kloner ve Jennings 2001a).

Miyokardiyal iskemi ve onu takip eden reperfüzyon süresince intrasellüler kalsiyum düzeyleri artar. İskemik fazdaki kalsiyum düzeylerinde bu artış kısmen sarkolemmal ve sarkoplazmik retikulum Ca^{2+} -pompalarının inhibisyonu ile birlikte Na^+/Ca^{2+} -değiştirici pompasının aktivasyonu ve L-tipi Ca^{2+} -kanallarının açılmasına bağlıdır. Reperfüzyon fazında ise Na^+/Ca^{2+} -değiştirici pompası intrasellüler pH'ı eski haline getirmek için aktive olur. Ancak, protonların hücre dışına çıkması kardiyomiyositlerde sodyum girişine (inflüks) ve sonrasında aktive olan Na^+/Ca^{2+} -değiştirici pompası aracılığı ile kalsiyum girişine neden olur. Bu durum reperfüzyonunun erken fazında intrasellüler kalsiyum düzeylerinin daha da yükselmesi ile sonuçlanır (Piper ve ark. 1998). Yüksek miktarda kalsiyum ile yüklenen miyositler reperfüzyon sonrası oksijen ve enerjiye maruz kaldıkları zaman hiperkontraksiyon durumuna girerler. (Piper ve ark. 1998; Schafer ve ark. 2001; Hausenloy ve Yellon 2003). Bununla birlikte, yüksek kalsiyum düzeyi proteaz aktivasyonu ve membran yırtılması gibi kümülatif olarak hücrenin ölümüne neden olan bir dizi olayı indükler (Dirksen ve ark. 2007).

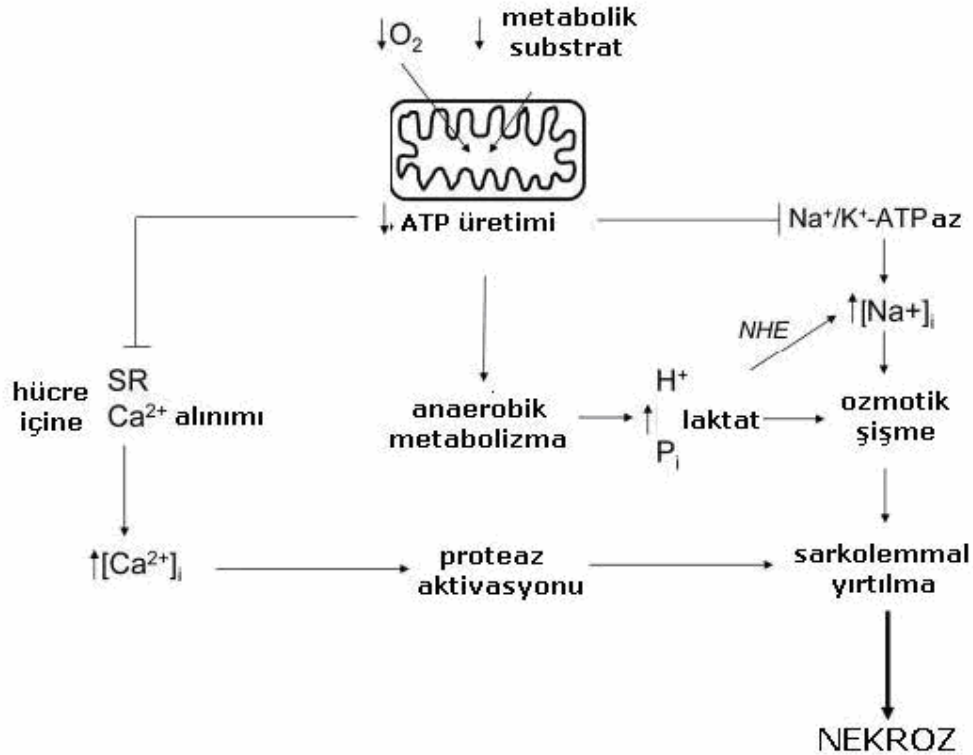
Miyokardiyal iskemide kalp; metabolik yoksunluk, osmotik ve mekanik stres, iyon dengesizliği gibi birçok strese maruz kalmaktadır (Jennings ve Reimer 1991). Oluşan bu iskemik tetikleyiciler G-proteinine bağlı reseptörleri ve tirozin kinaz reseptörlerinin aktive edilmesine neden olmaktadır. Çeşitli çalışmalarda serbest radikallerin, G-proteinlerinin ve çeşitli kinazların (Ras-GTPaz ve mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK) gibi) aktivitesini stimüle ederek hücre içinde aşırı kalsiyum birikmesine ve bunun sonucunda kardiyak disfonksiyona neden olduğu gösterilmiştir (Cohen ve ark. 2001).

İskemik bir kalpteki doku hasarının oluşum hızını etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri; iskemi sonrasında var olan koroner akımın miktarı, iskemik bölgedeki kollateral gelişimi, kardiyak hipertrofi, diyabet ve hipertansiyon gibi iskemiyeye eşlik eden diğer hastalıkların varlığı, kardiyoaktif bir ilaç kullanımı, kalp atım hızı, metabolizma hızı ve doku sıcaklığı, iskemiyeye karşı bireysel metabolik yanıtın farklılığı, beslenme şekli ve hormonal durum, daha önce geçirilen iskemik ataklar ve edinilen farklı adaptasyon mekanizmaları, yaş, cinsiyet ve doku farklılığı'dır. Bu faktörlerin her bireyde değişik varyasyonlarının ortaya çıkma ihtimali göz önüne alındığında, iskemik dokunun irreversibl bir şekilde hasarlanmasına neden olacak **belirli** bir zaman sürecinden bahsetmek mümkün değildir (Hearse 1998) (şekil 2-1).

S a n i y e l e r	<p>Kullanılabilir oksijenin azalması Çözünmüş oksijen kullanımı Akut kontraktıl yetmezlik Membran akışkanlığında değişiklik Mitokondriyal oksidatif metabolizmasında azalma NADH ve redüktan stres birikmesi Transmembran iyon dengesinin bozulması ATP üretiminin azalması Kreatinin fosfat depolarının azalması Aksiyon potansiyelinin süresinin ve amplitüdünün azalması Potasyum iyonlarının hücre dışına sızması S-T segmentinde değişiklik Sodyum ve klorür iyonlarının birikmesi Katekolaminlerin serbestlenmesi Adenilat siklazın stimülasyonu Siklik-AMP aracılıklı fosforilaz aktivasyonu Glikojenolizin stimülasyonu Yüksek enerjili fosfatların kullanılması Proton, karbondioksit ve inorganik fosfatların birikmesi</p>
↓	
D a k i k a l a r	<p>Glikolitik akışın artması Hücre içi asidoz gelişmesi Mitokondriyal elektron transportunun kesilmesi Yağ asidi oksidasyonunun inhibisyonu Glikojen kullanımı DDL ve gliserofosfat dehidrojenaz aktivitesinin artması Glikolitik akışın yavaşlaması Varolan enerji kaynaklarının boşalmasında artış Hücre şişmesi Sitoplazmik iyonize kalsiyum miktarında artış Magnezyum iyonlarının hücre dışına sızması Glikojen depolarında azalma Glikolizin inhibisyonu ATP ve kreatinin fosfat düzeylerinde şiddetli azalma Minör yapısal değişiklikler; örn. mitokondriyal şişme İskemik kasılmanın başlaması</p>
↓	
S a a t l e r	<p>Irreversibl hasarın başlaması (?) Lizozomal değişimler ve hidrolazların aktivasyonu Lipoprotein lipazların aktivasyonu Hücrel ödemin artması Mitokondriyal solunum regülasyonunun ortadan kalkması Nonspesifik EKG kayıtları Mitokondriya ve miyofibrillerde major yapısal değişiklikler Mitokondriyal komponentlerin kaybı Makromoleküllerin hücrelerarası sıvı ve lenfe sızması Membran hasarı ve hücrel bozulma Yüksek miktarda enzim sızması Hücrel otoliz Hücre Ölümü ve Doku nekrozu</p>

Şekil 2-1: Miyokardiyal iskemi sonrası oluşan metabolik değişimler –Hearse (1998)'den değiştirilerek.

İrrevesibl miyokardiyal iskemi hasarına neden olan başlıca mekanizmalar şu şekilde özetlenebilir. Miyokardiyal iskemi esnasında moleküler oksijen ve metabolik substratların yetersizliği yüksek enerjili fosfatların eksilmesine neden olur. Ayrıca, sarkoplazmik retikulumda hücre içine Ca^{2+} alım mekanizmaları bozulduğundan intrasellüler kalsiyum düzeyi artar. Bununla birlikte, anaerobik metabolizma ile hücre içinde inorganik fosfat, laktat ve proton birikir. Buna bağlı olarak gelişen intrasellüler asidoz ile sodyum-hidrojen değiştiricisi (NHE) aktive olarak hücre içinde Na^+ 'un birikmesine neden olur. Ayrıca, ATP'nin tükenmesi ile sodyum pompası inhibe olur ve bununla birlikte artmış Na^+ miktarı daha da yükselir. Hücre içinde bu maddelerin miktarlarının artmasının sonucunda sarkolemmal yırtılma veya bozulmaya neden olabilen osmotik şişme meydana gelir. Bu olay Ca^{2+} bağımlı proteaz ve fosfolipazların da aktivasyonu ile daha da şiddetlenir. İrreversibl miyokardiyal hasarın şiddeti zamana bağılı olarak artar ve nekroz ile sonuçlanır (Ferdinandy ve ark. 2007) (Şekil 2-2).

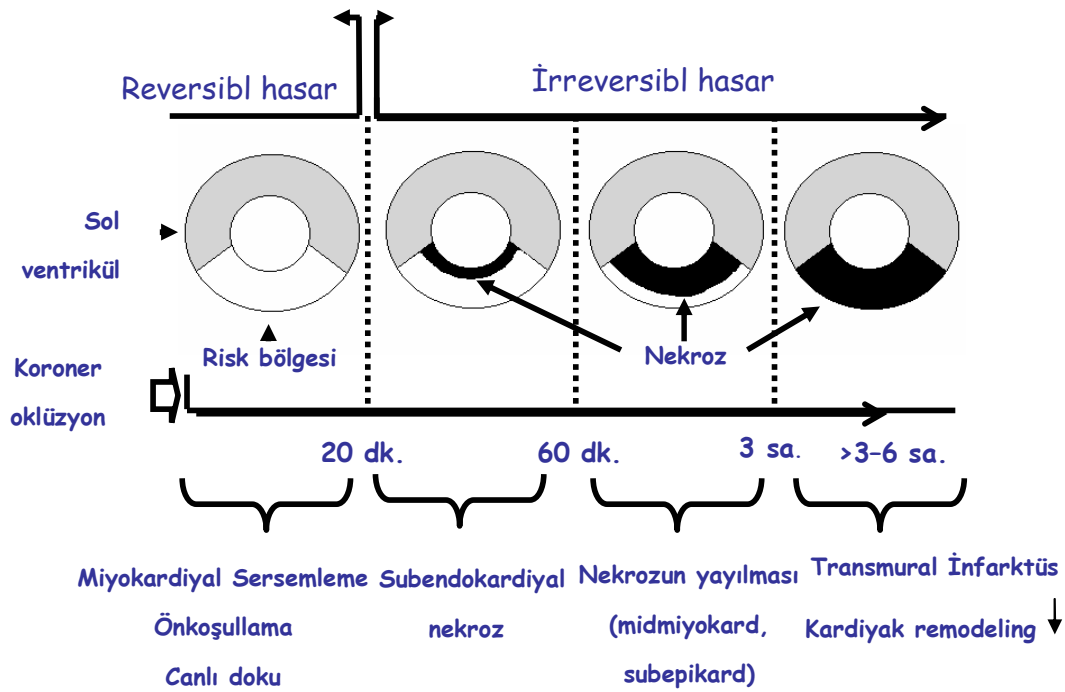


Şekil 2-2: İrreversibl miyokardiyal iskeminin major hüresel etki mekanizmaları - Ferdinandy (2007)'den değiştirilerek.

Yapılan deneysel çalışmalar miyokardiyal hasarın şiddetinin iskemi süresine bağlı olduğunu ortaya koymuştur. Örneğin, köpekte sol koroner arterin 15 dakikalık oklüzyonu ile kalpte reversibl bir hasar oluşurken, bu sürenin artması irreversibl bir hasara neden olmakta ve reperfüzyona rağmen hücre ölümü yani nekroz meydana gelmektedir. Nekroz öncelikle kollateral dolaşımın daha az olduğu ve sistol esnasında intramiyokardiyal basıncın yüksek olması nedeniyle normalde daha az koroner perfüzyona uğrayan subendokardiyal bölgede başlamakta ve daha sonra iskemi süresinin artmasına bağlı olarak subepikardiyal bölgeye doğru dalgalanma hareketi şeklinde yayılmaktadır. Sözkonusu çalışmada, 20 dakikanın altındaki iskemi periyotlarını takibeden reperfüzyonun sonrasında nekroz (reversibl hasar) gözlenmemiştir. Ancak, miyokardiyal sersemleme veya önkoşullamaya neden olabileceği bildirilmiştir. Koroner oklüzyon süresi 20 dakikayı aştığı takdirde ise subendokardiyumdan subepikardiyuma doğru dalgalanma hareketi şeklinde nekrozun yayıldığı gözlenmiştir. 3 saate kadar olan iskemi periyodları sonrası uygulanan reperfüzyon ile iskemik ama canlı dokuların kurtarılabildiği, ancak bu dokularda miyokardiyal sersemlemenin oluşabileceği belirtilmiştir. Bu modelde, 3 ile 6 saat arasındaki iskemilerde reperfüzyon uygulanması miyokardiyal infarkt alanını azaltmamakta buna karşın, miyokardiyal infarktüsün genişlemesini engellemektedir. Ayrıca, sol ventrikülün yeniden yapılanmasını (remodeling) azaltmak veya engellemek suretiyle de yararlı etki gösterebilir (Reimer ve Jennings 1979; Kloner ve Jennings 2001a; 2001b) (Şekil 2-3).

İrreversibl miyokardiyal hasara bağlı olarak gelişen sol ventrikül yeniden yapılanması; ventrikülün büyüklüğünün, şeklinin ve fonksiyonunun mekanik, nörohormonal veya genetik faktörler tarafından regüle edildiği bir süreçtir. Kardiyak yeniden yapılanma, normal gelişim sürecinde fizyolojik ve adaptif olabileceği gibi miyokardiyal infarktüs, kardiyomiyopati, hipertansiyon veya kalp kapak hastalıklarına bağlı olarak patolojik de olabilir. Miyokardiyal infarktüs sonrasında makrofajların, monositlerin ve nötrofillerin infarkt alanına migrasyonu lokalize inflamatuvar bir yanıtın oluşmasına neden olur. Dolaşım hemodinamiğindeki değişiklikler esas olarak miyosit kaybının büyüklüğü, sempatik sinir sistemi ve renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin stimülasyonu, ve natriüretik peptidlerin salınımı ile belirlenir. İnfarktüs

sonrasında yeniden yapılanma, erken (≤ 72 saat) ve geç (>72 saat) olmak üzere 2 faza ayrılabilir. İnfarkt alanının daha da genişlediği erken faz, ventriküler yırtılma veya anevrizma oluşumu ile sonuçlanır. İnfarktın genişlemesi; ventrikül duvarının incilmesi ve ventriküler dilatasyona, ve bununla birlikte diyastolik ve sistolik duvar geriminin artmasına neden olur. Geç faz, ise sol ventrikülün tamamını kapsar ve zamana bağlı olarak progresif dilatasyon, ventriküler şeklin bozulması ve kardiyak hipertrofi ile sonuçlanır. Artmış duvar geriminin normalize edilememesi; progresif dilatasyona, miyokardiyal risk alanının nekroza dönüşmesine ve kontraktıl fonksiyonların bozulmasına neden olur (Erlebacher ve ark. 1984; White ve ark. 1987; Pfeffer ve Braunwald 1990; Rouleau ve ark. 1993).



Şekil 2-3: Anestezi altındaki köpek proksimal koroner arter oklüzyonu modelinde iskemi reperfüzyonun kalpteki etkisinin zamana bağlı değişimi şematize edilmiştir – Kloner (2001a)'den değiştirilerek.

İskeminin neden olduğu metabolik ve hücrel değişimlerin bilinmesiyle, iskemi esnasında proton ve toksik metabolitlerin birikiminin azaltılması, hücrede artmış kalsiyum veya sodyum düzeylerinin ayarlanması gibi miyokardiyal iskemi hasarının ilerlemesini yavaşlatmaya yönelik bir çok farklı anti-iskemik uygulama öne sürülmektedir. Ancak, kalp yalnızca miyosit hücrelerinden değil aynı zamanda endotel hücreleri, çizgili kas, bağ doku, mast hücreleri ve kalp içerisinde bulunan kan komponentleri gibi birçok farklı hücreden oluşmaktadır. Dolayısıyla miyosit hedefli anti-iskemik müdahalelerde diğer hücrelerin zarar görmesi olasıdır. Bu nedenle, geliştirilecek tedavide kalbin bir bütün olarak değerlendirilmesi son derece önemlidir (Hearse 1998).

2.1.4. Reperfüzyonun Miyokardiyal Hasardaki Patofizyolojik Rolü

Reperfüzyon; iskemi sonrasında doku kanlanmasıyla ilaçlarla veya mekanik müdahalelerle yeniden sağlanmasıdır. Klinikte miyokardiyal iskemi sonrası koroner akımın trombolitik bir ajan veya perkütanöz koroner arter anjiyoplastisiyle (PTCA) tekrar sağlanması en başta gelen reperfüzyon stratejileridir.

Reversibl bir miyokardiyal iskemi sonrasında (<15-20 dk.) arteriyel kan akımının iskemik dokulara tekrar sağlanması ile bazı fizyolojik değişiklikler meydana gelir. Öncelikle tekrar aerobik metabolizmaya geçiş olur. Dokularda belirgin derecede (% 400–600) reaktif hiperemi gelişir. Bu durum reperfüzyonun ilk 5 dakikasında en üst düzeye yükselir ancak daha sonra azalır. Arteriyel akım reperfüzyonun 15-20. dakikalarında kontrol düzeylere döner. Arteriyel reperfüzyonun ilk dakikalarından itibaren aşırı miktarda reaktif oksijen radikalleri (ROR) oluşmaya başlar, ve reperfüzyonun 4-7 dakikalarında maksimum düzeye ulaşır (Bolli ve ark. 1988). Bu değişiklik elektron mikroskopunda jeneralize mitokondriyal ve hücrel şişme ile kendini gösterir. İskemiye bağlı EKG'deki değişiklikler reperfüzyonun başlamasıyla birlikte 60-120 saniye içinde ortadan kalkar ve eş zamanlı olarak adenin nükleotid havuzunun % 90'ı iskemik dokuda birikmiş ADP ve AMP'nin tekrar fosforile edilmesi ile ATP'ye dönüşür (Jennings ve ark. 1985). Laktat düzeyleri; sistemik dolaşımdan

uzaklaştırılmak veya CO₂ ve suya okside olmak suretiye azalır. Dokunun pH'ı 0.5-2 dk. içinde normal değerlere döner (Fleet ve ark. 1985). Dokudaki kreatin fosfat düzeyleri belirgin olarak yükselir (Allison ve ark. 1977; Swain ve ark. 1984; Jennings ve ark. 2001). Glukoz düzeyleri muhtemelen sarkoplazmadan sarkolemmaya geçen Glut-4 reseptörlerinin (Sun ve ark. 1994) etkilerine bağlı olarak 4-6 kat artar (Jennings ve ark. 2001).

Miyokardiyal iskemi sonrasında sağlanan reperfüzyonun iyi bir kardiyoprotektif strateji olduğuna inanılsa da, son yıllarda yapılan çalışmalar reperfüzyonun da miyokardiyal hasara neden olabileceğini göstermektedir. Yapılan bazı deneysel ve klinik gözlemlerin sonuçları, ortaya çıkan miyokardiyal hasarın yaklaşık % 10-15'i veya daha fazlasının reperfüzyon hasarından kaynaklandığını göstermiştir (Roberts ve ark. 1994 pp. 1107-84). Buna göre, iskemik miyokardın yeniden kanlanması, reperfüzyon hasarı adı verilen ve önlenilebileceği düşünülen bir dizi olaydan sorumlu tutulmaktadır. Hücre içinde süperoksit anyonları ve hidroksil radikalleri başta olmak üzere serbest radikallerin salınımı, artmış kalsiyum düzeyi, nötrofillerin birikmesi ve aktif hale gelmesi, endotelyal disfonksiyon ve renin-anjiyotensin sisteminin aktivasyonu gibi çeşitli faktörlerin reperfüzyon hasarına katkıda bulunduğu bildirilmektedir (Piper ve ark. 1998; Ambrosio ve Tritto 2002; Hoffman ve ark. 2004).

Reperfüzyon hasarının gözlenen en önemli dört komponenti reperfüzyon aritmeleri, miyokardiyal sersemleme, reperfüzyona bağlı hücre ölümü ve artmış miyokardiyal nekrozdur (Ryden ve ark. 2001). Reperfüzyonun hemen başlangıcında gözlenen aritmelerin klinik önemi hayatı tehdit eder nitelikte olmaları ve bilinen antiaritmik ilaçlarla tedaviye yanıtlarının zayıf oluşudur. Miyokardiyal sersemleme, miyokard hücrelerinde nekroz gözlenmeksizin kalbin reperfüzyon sonrası uzun süre kontraktil disfonksiyona maruz kalması ile karakterize patolojik bir durumdur. Kalbin kontraktil disfonksiyonunun düzelmesi günler hatta aylar alabilir, ancak yeterli süre verildiği takdirde kalp tam olarak eski fonksiyonuna geri dönebilir. Klinikte önemli bir problem olan miyokardiyal sersemleme özellikle kardiyak cerrahi ve transplantasyon sonrası reperfüzyonda, anjina sonrasında, başarılı bir trombolizde veya egzersizle indüklenen iskemide ortaya çıkabilir. Bundan dolayı gerek etiyojisi gerekse

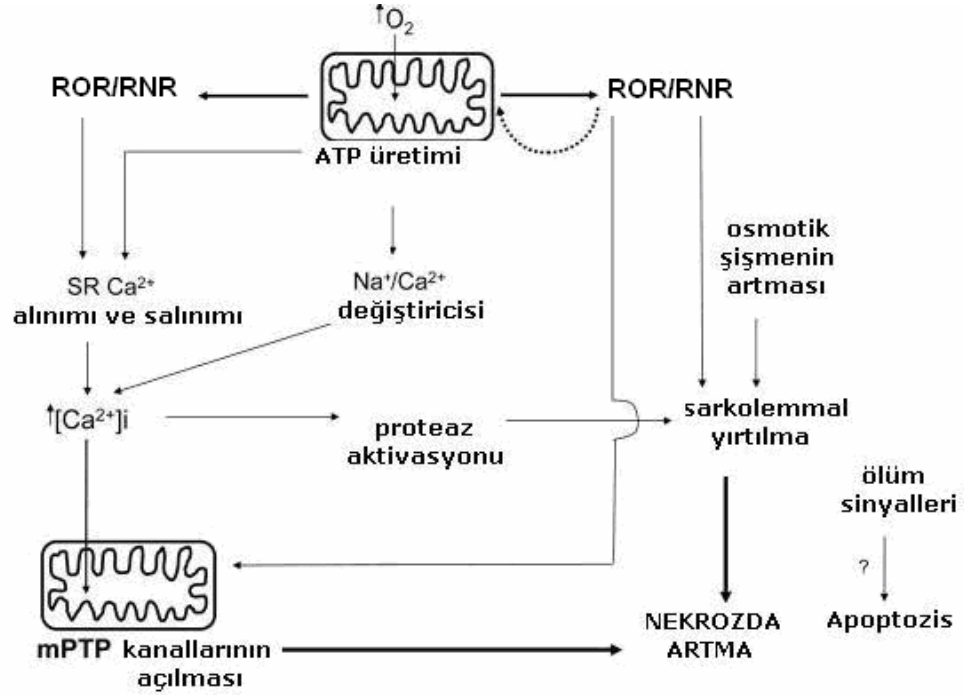
miyokardiyal sersemlemeden korunma stratejileri halen birçok bilim adamı tarafından incelenen bir araştırma konusudur. Etiyolojisi ile ilgili öne sürülen mekanizmalar arasında; bozulmuş ATP sentezi, fonksiyonel sempatik denervasyon, heterojen reperfüzyon, kreatin kinaz aktivitesinin ortadan kalkması, miyokardiyal kolojende hasar, serbest radikaller ve oksidatif stres bulunmaktadır. Bunlara ilaveten, özellikle kalsiyum homeostazisinin bozulması ve kontraktıl proteinlerin kalsiyum duyarlılığın değişmesinin miyokardiyal sersemleme patojenezinde rol oynadığı ileri sürülmektedir. Reperfüzyona bağlı miyokardiyal nekroz ve hücre ölümü gelişmesi ise kalp kasının harabiyeti ile sonuçlanır. Kalbin buna bağlı olarak kanı yeterince pompalayamaması sonucunda, kalp yetmezliği oluşur. Bu durum da, hastanın prognozunu ve ilerdeki yaşam kalitesini belirlemesi açısından hayati önem taşır .

Reperfüzyon hasarı reversibl ve irreversibl (letal) olmak üzere de sınıflandırılabilir. Reversibl hasara örnek olarak reperfüzyonun ilk dakikalarında ortaya çıkan aritmiler ve miyokardiyal sersemleme verilebilir (Hearse 1991). İlk kez 1895 yılında Braunwald ve Kloner tarafından tanımlanan letal reperfüzyon hasarının varlığı ise tartışma konusudur. Ancak yapılan çeşitli klinik çalışmalarda miyokardiyal reperfüzyon esnasında gerçekleştirilen geçkoşullama gibi benzeri birçok uygulamanın, kalp üzerinde koruyucu etkilerinin olduğunun gösterilmesi letal reperfüzyon hasarının varlığını desteklemektedir (Laskey 2005; Staat ve ark. 2005; Ma ve ark. 2006). Letal reperfüzyon hasarının olası mediyatörleri arasında; artmış hücre içi kalsiyum düzeyleri (Shen ve Jennings 1972a; 1972b), ROR'un oluşması (Zweier ve ark. 1987; Bolli ve ark. 1988; Vanden Hoek ve ark. 2000), mitokondriyal permeabilite geçiş kanallarının (mPTP) açılması (Hausenloy ve Yellon 2003), kardiyomiyositlerde hiperkontraksiyon (Piper ve ark. 1998), ve apoptotik hücre ölümü (Gottlieb ve ark. 1994; Fliss ve Gatteringer 1996; Zhao ve ark. 2000)'nün yer aldığı öne sürülmektedir.

Reperfüzyonda bir miktar apoptozis (programlanmış hücre ölümü) gerçekleşse de, hücre ölümüne esas olarak nekroz neden olmaktadır. Moleküler oksijenin aniden dokulara sunulması mitokondriyanın tekrar enerji üretmeye başlaması ve elektron transport zincirinin yeniden aktivasyonu ile muazzam miktarda ROR üretilir, ayrıca ROR bağımlı ROR salınımı ile ROR üretiminin stimülasyonu da artar ve NO varlığında

reaktif nitrojen radikalleri (RNR) üretilir. ROR/RNR, sarkoplazmik retikulumun (SR) kalsiyum salınımı da dâhil olmak üzere hücrel yapıların oksidatif ve nitrozatif hasara uğramasına neden olur. Ayrıca, ATP'nin yeniden sağlanması ile $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ değiştiricisinin etkisi düzelir ve hücre içinde birikmiş Na^+ atılarak hücre dışından Ca^{2+} hücre içine alınır, sarkoplazmik retikulundan Ca^{2+} salınımının da ilavesiyle intrasellüler Ca^{2+} düzeyleri artar. Mitokondriyal matrikste Ca^{2+} birikmesi, ROR/RNR, ve protonların uzaklaştırılmasına bağlı olarak pH'ın artmasının kombine etkileri mPTP kanallarının açılmasını desteklemektedir. mPTP kanallarının açılması esas olarak nekrotik hücre ölümü ile ilişkilendirilir ve bu hücreler muhtelemelen zaten iskemi esnasında hasara uğramış durumdadır. Bazı hücreler reperfüzyon sonrası apoptozise özgü değişiklik gösterir. Apoptotik programın aktivasyonuna neden olan mekanizmalar belli değildir ancak, mitokondriyal veya ekstrasellüler ölüm sinyalleri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Reperfüzyon hasarının derecesini veya reperfüzyondaki hücre ölüm şeklini, iskemi esnasındaki değişikliklerin şiddeti, ve aynı zamanda reperfüzyonda osmoz ve proteaz aktivitesinin daha da artmasına bağlı olarak gelişen sarkolemmal yırtılma ve bozulmanın miktarı belirler (Ferdinandy ve ark. 2007) (Şekil 2-4).

Yapılan çalışmalarda gerek önkoşullama gerekse geçkoşullamanın reperfüzyon fazında meydana gelen bu olayları modifiye etmek suretiyle kalbi letal reperfüzyon hasarına karşı koruyabileceği gösterilmiştir. Ayrıca, miyokardiyal reperfüzyon esnasındaki bu koruyucu mekanizmanın; hücre yüzeyindeki reseptörler, protein kinazlar ve diğer gerekli komponentleri içeren sinyal yolları aracılığıyla kardiyoprotektif etki gösterdiği düşünülmektedir.



Şekil 2-4: Miyokardiyal iskemi sonrası reperfüzyona bağlı olarak gelişen kardiyak hasara aracılık eden major hücresel mekanizmalar – Ferdinandy (2007)'den değiştirilerek.

2.1.5. Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarının Biyokimyasal Belirteçleri

Akut koroner sendrom (AKS) şikayetiyle hastaneye gelen hastaların patofizyolojileri değişkendir, ancak bunu takibeden süre zarfında; ölüm, yeni bir infarktüs geçirme riski veya revaskülarizasyona ihtiyaç olup olmayacağını belirleyen kriter miyokardiyal hücrelerdeki nekrozun derecesidir. Doğru ve hızlı teşhis, gerek tedavi gerekse hastalığın prognozu açısından son derece önemlidir. Ancak AKS şikâyetleriyle acile gelen hastaların yaklaşık % 50'sinin EKG kayıtlarında ST-segment yükselmesi gözlenmesi yanlış teşhis veya gereksiz tedaviye neden olabilmektedir. İskemi, kalbin fonksiyonlarının yanı sıra hücresel yapısını da bozarak miyokard hücresi içindeki yapısal proteinlerin ve enzimlerin hücre dışına çıkmasına neden olur. Bunun klinik ayırıcı olarak kardiyak enzim ve proteinlerin düzeyleri yükselir. Bu nedenle, hastaların klinik ve EKG bulgularına ilaveten çeşitli kardiyak biyokimyasal parametrelerin düzeylerinin ölçülmesi, hastaya hızlı ve etkin bir hizmetin verilmesine olanak sağlar.

İlk olarak 1954 yılında Karmen ve ark.'ları kandaki aspartat aminotransferaz düzeylerinin tayininin akut miyokardiyal infarktüsün teşhisinde yararlı olabileceğini ileri sürmüştür (Karmen ve ark. 1955). Bunu izleyen yıllarda sırasıyla; laktat dehidrojenaz (LDH), kreatin kinaz (CK), kreatin kinaz-mb (CK-mb), Troponin-I (c-TnI) ve Troponin-T (c-TnT) gibi giderek daha hassas ve spesifik olan biyokimyasal belirteçler tanımlanmıştır (Apple ve Murakami 2005; Dolci ve Panteghini 2006). İdeal bir kardiyak belirteç; yüksek duyarlılığa sahip olmalıdır, yani; miyokardiyal hasar sonrası miyokarda yüksek konsantrasyonda bulunmalı, erken teşhisi kolaylaştırmak için çabuk serbestlenmeli ve geç teşhise olanak vermesi için uzun yarılanma ömrüne sahip olmalıdır. Ayrıca, yüksek spesifiteye sahip olmalıdır, yani; dokuya özgün olmalı, miyokardiyal dokuların dışında bulunmamalı ve sağlıklı insanların kanında tesbit edilmemelidir. Bunların yanı sıra, analitik açıdan; düşük finansman gerektiren ölçüm yöntemleriyle hasaplanabilir olmalı, kolayca ölçüm yapmaya uygun olmalı, analizi kısa süreli, hassas ve doğru olarak yapabiliyor olmalıdır. Klinik açıdan ise, tedaviye yön veren, hastaya verilen tıbbi hizmetin iyileştirilmesine olanak sağlayan nitelikte olmalıdır.

Kardiyak belirteçler hücre yapısının protein komponentleridir. Kardiyak miyositlerin nekroze olması sonucu hücre içindeki bu proteinler hücrelerarası sıvıya sızarak oradan da lokal mikrovasküler ve lenfatik drenaj aracılığıyla sistemik dolaşıma geçerler. Bu belirteçlerin kandaki konsantrasyon-zaman profili; molekül ağırlıklarına, hücredeki konumlarına, hücre dışına salınım karakterlerine, vasküler veya lenfatik drenaj ve sistemik atılım hızlarına bağlıdır. Örneğin, miyoglobin gibi küçük sitozolik moleküller doku hasarından 1-2 saat içinde tayin edilebilirken, LDH gibi büyük moleküller çok daha yavaş diffüze olur. CK-mb ve Troponinler ise semptomların başlangıcından itibaren 3-12 saat içinde tayin edilebilirler, ancak Troponinlerin disintegre olan miyofibrillerden yavaş salınımlarından dolayı CK-mb'ye göre yaklaşık 4 kat daha uzun zaman boyunca kandaki düzeyleri yüksek kalır (Donnelly ve Millar-Craig 1998).

Bazı kardiyak belirteçler, kalp hariç diğer dokularda da bulunabilmekte ve bazı patolojilerde kandaki düzeyleri artmaktadır. Bu durum kardiyak belirteçlerin miyokardiyal iskeminin teşhisindeki yararlı etkilerini kısıtlamaktadır. Günümüzde miyokardiyal hasarın teşhisinde kullanımı tercih edilen bir parametre olan Troponinlerin diğer belirteçlere göre birçok avantajı vardır. Kalbe özgün olmalarına ilaveten, diğer daha az hassas belirteçlerin tesbit edemeyeceği küçüklükteki nekrozları dahi tayin edebilirler (Jaffe ve ark. 2000; Panteghini 2002; 2004; 2006; Dolci ve Panteghini 2006). Aktin filamenti üzerinde bulunan Troponin kompleksi; cTnI, cTnT ve cTnC olmak üzere 3 altbirimden oluşmakta ve kasın kasılmasını regüle etmektedir. Bunlardan cTnI ve cTnT kalbe spesifiktir. cTnT'nin kalbe ilaveten çok az miktarda insanda fetal gelişim esnasında, ve iskelet kası rejenerasyonu gerektiren bazı hastalıklarda eksprese olduğu belirlenmiştir (Panteghini 2002; 2004; 2006).

Bunlara ilaveten, artmış Troponin düzeylerinin yalnızca miyokardiyal nekrozu gösterdiğini, altta yatan mekanizmaya ait bir bilgi vermediği unutulmamalıdır. Dolayısıyla kalpte tesbit edilen her nekroz miyokardiyal infarktüsün bir sonucu olmayabilir. Yüksek Troponin düzeyleri iskemik bir kalp hastalığı olmayan ama; akut romatik ateş (Gupta ve ark. 2002), amiloidoz (Dispenzieri ve ark. 2003) kardiyak travma (kontüzyon, kateterizasyon, veya kardiyak cerrahiye bağlı) (Dworschak ve ark.

2001; Kannankeril ve ark. 2002; Sybrandy ve ark. 2003) kanser tedavisine bağlı kardiyotoksisite (Cardinale ve ark. 2000), konjestif kalp yetmezliği (Sato ve ark. 2001; Horwich ve ark. 2003), böbrek yetmezliği (Apple ve ark. 2002), kalp transplantasyonu (Chance ve ark. 2001), hipertansiyon (Arlati ve ark. 2000), hipotiroidizm (Mutch ve ark. 2001), miyokardit/perikardit (Lauer ve ark. 1997; Brandt ve ark. 2001), postoperatif nonkardiyak ameliyatlarda (Lopez-Jimenez ve ark. 1997), pulmoner emboli (Giannitsis ve ark. 2000), sepsis (Spies ve ark. 1998)'e bağlı olarak da gözlenebilir. Dolayısıyla Troponin tayini ancak diğer klinik bulgular ile birlikte kullanıldığında, iskemik kalp hastalıklarının teğhisinde son derece önemli bir katkıda bulunmaktadır.

İzole kalplerde iskemi-reperfüzyon modelinin kullanıldığı in vitro deneysel çalışmalarda miyokardiyal hasara bağlı olarak açığa çıkan kardiyak enzim ve proteinler, kalpten süzlen perfüzatta tayin edilmektedir. Bu amaçla, en çok CK, CK-mb, LDH, Troponin-I ve Troponin-T düzeyleri tayin edilmekte ve elde edilen değerler fonksiyonel sonuçlar ile genellikle desteklenmektedir. İskemi öncesi veya sonrası gerçekteştirilen çeşitli mekanik veya farmakolojik uygulamalara bağlı olarak bu enzimlerin iskemi sonrası salınımlarının azaltılması, uygulamanın miyokard üzerinde koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir.

İskemi-reperfüzyon'a bağlı olarak gelişen miyokardiyal hasar deneysel koşullarda doku nekrozunun direkt olarak ölçlmesi ile de belirlenebilir. Kardiyoprotektif mekanik veya farmakolojik stratejilerin infarkt alanı azaltıcı etkisinin belirlenmesi izole perfüze kalplerde oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarının değerlendirilmesinde kullanılan güvenilir metodlar arasındadır. Nekroz miktarının tayininde en yaygın olarak kullanılan yöntem ise trifenil-tetrazolium klorür (TTC) ile boyama metodudur (Klein ve ark. 1981; Fishbein ve ark. 1981; Downey 2005). Tetrazolium tuzları dokuda dehidrojenazların ve NADH gibi kofaktörlerin bulunması durumunda indirgenerek formazan bir pigment oluşumuna neden olmaktadır. Dokuda canlılığını koruyan alanlar, bu enzimler ve kofaktrlerini içermelerinden dolayı, TTC ile koyu kırmızı renkte boyanırken, canlılıklarını yitiren, dolayısıyla ölü ya da ölmek üzere oldukları kabul edilen dokular ise boyanmamaktadır (Klein ve ark. 1981). Bölgesel iskeminin uygulandığı in vivo deneylerde ise oklüzyon yapılan koroner arterin beslediği

bölgenin bilinmesi önemlidir. Bu bölgeye **risk zonu** veya **risk alanı** denir. Bu alanın belirlenmesi için, deneyin sonunda hızla izole edilen kalpler Langendorff sisteminde floresan partiküller veya çeşitli boyalar ile perfüze edilir. Nekroz miktarı risk alanının %'si olarak ifade edilir (Fisbein ve ark. 1981; Klein ve ark. 1981; Sahna ve ark. 2002; Downey 2005). Nekroz miktarının tayininde sonuçları etkileyen en önemli faktör sıcaklığın düzgün olarak kontrol edilmemesidir. İskemik miyokardiyum vücut sıcaklığındaki değişimlere çok duyarlıdır. Tavşanlarda yapılan bir çalışmada, vücut sıcaklığının 37°C'den 35°C'ye düşürülmesi ile sağlanan 2°C'lik azalma ortalama infarkt alanını % 35'den % 21'e düşmesine neden olmuştur. Buna göre, vücut sıcaklığındaki her bir derecelik düşüşün, risk zonunda % 7'lik bir koruma sağladığı bildirilmiştir (Miki ve ark. 1998; Downey 2005).

2.1.6. Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarının Apoptozis ile İlişkisi

Son yıllarda yapılan çalışmalar miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarındaki miyosit ölümünden sadece nekrozun değil apoptozun da sorumlu olduğunu öne sürmektedir. Nekroz veya apoptoza uğrayan miyositler morfolojik ve biyolojik olarak farklı özellikler göstermektedir. Yunanca'da "ağaçların yapraklarını dökmesi" anlamına gelen apoptozis terimi ilk kez 1972 yılında Kerr tarafından "mitozun karşıtı" olarak kullanılmıştır. Apoptozis; çok hücreli organizmalarda gelişim ve farklılaşma sırasında organ yapısı ve işlevlerinin aktif değişimini sağlayan fizyolojik hücre ölümünün, bu canlıların genetik şifrelerinde bulunan 'hücre intiharı' programlarının gelişimsel veya çevresel uyarılarla etkinleşmesi sonucu ortaya çıkar (Kerr ve ark. 1972; Alles ve ark. 1991). Apoptozis, bugüne kadar bilinen bir hücre ölümü tipi olan nekrozdaki oldukça farklıdır. Nekroz, daha hızlı gelişen bir hücre ölümü olup, akut hücre hasarını takiben hücre duvarının yapısının bozulduğu, sitoplazmik proteinlerin koagüle ve denatüre olduğu enerji gerektirmeyen patolojik bir süreçtir. Bununla birlikte, hücre içeriğinin dışarıya çıkması ile inflamatuvar yanıtın aktive edilmesine neden olur. Nekrozda esas hedef mitokondridir. Bunun sonucu olarak oksijen kaybı, ATP'nin tükenmesi, kalsiyum homeostazisinin ve membran geçirgenliğinin bozulması gibi yapısal değişiklikler oluşabilir. Apoptozis ise nekrozdaki farklı olarak, enerji gerektiren bir süreç olup, genetik olarak kontrol edilen programlı bir hücre ölümüdür. Nekrozun tersine esas

hedef nukleustur. Bununla birlikte gözlenen en önemli morfolojik değişim; hücre yüzeyindeki membran fosfolipidlerin asimetrisinin bozulması, nükleusta kromatinlerin kondensasyonu ve bunun sonucunda DNA'nın parçalanması ve sitoplazmik kabarcıkların oluşmasıdır. Apoptozun son aşamasında hücre materyalini içeren hücre zarı ile kaplı apoptotik cisimcikler oluşur ve bunlar ortamdaki çevredeki hücreler tarafından fagositozla uzaklaştırılırlar. Apoptozis sırasında hücre içeriği açığa çıkmadan fagositozla uzaklaştırıldığından inflamatuvar süreç aktive olmaz (Zhao ve Vinten-Johansen 2002; Eefting ve ark. 2004; Hamacher-Brady ve ark. 2006).

Yapılan çalışmalar miyokardiyal iskemi-reperfüzyon da gözlenen letal miyokardiyal hasarın düzeyine her iki hücre ölüm mekanizmasının da eşlik ettiğini göstermektedir Apoptotik ve nekrotik hücrelerden oluşan infarktüs alanı histolojik olarak heterojen bir görüntüye sahip olmakla birlikte apoptozis, en yoğun olarak infarktüsü sınırlayan peri-infarkt bölgede gözlenmektedir (Bartling ve ark. 1998; Piper ve ark. 1998; Vinten-Johansen ve ark. 2007). Ancak, apoptozisin miyokardiyal iskemide mi yoksa reperfüzyon da mı tetiklendiği konusu halen tartışılmaktadır. Apoptozisin ATP kullanımını gerektiren bir süreç olduğu göz önüne alındığında iskemi sonrası reperfüzyona bağlı olarak ortaya çıkma olasılığı daha yüksektir. Apoptozun mu önce olduğu yoksa nekrozun mu onun ardından oluştuğu, veya her iki hücre ölüm mekanizmasının da farklı yollar üzerinden aynı anda mı gerçekleştiği konusu tam olarak aydınlatılamamıştır. Zhao ve ark. larının yaptığı bir çalışmada 1 saatlik bölgesel iskemi sonrası reperfüzyonun 6., 24., 48. ve 72. saatlerinde apoptoz ve nekroz miktarları tayin edilmiştir. Çalışmanın sonucunda; nekrozun dinamik patolojik bir süreç olup belirli bir iskemi süresi sonrası reperfüzyonun 24.saatinde en yüksek değerine ulaştığı ve sonrasında sabit kaldığı, oysa peri-nekrotik alandaki apoptoz hücrelerinin varlığının ise reperfüzyonun 72.saatine kadar devamlı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgulara göre nekroz ve apoptozun reperfüzyon esnasında aynı anda ortaya çıktığı öngörülmüş, ve reperfüzyonun erken dönemlerinde nekrotik hücre ölümü daha hızlı gelişirken, reperfüzyonun ilerleyen dönemlerinde daha yavaş gelişen apoptotik hücre ölümünün gözlendiği bildirilmiştir (Zhao ve Vinten-Johansen 2002).

Reperfüzyon esnasında oluşan tetikleyicilerin reseptör bağımlı (ölüm-reseptörleri; TNFR1, Fas, DR3, DR4, DR5) veya reseptörden bağımsız (mitokondriden sitokrom C'nin serbestlenmesi) sinyal transdüksiyon yollarını aktive etmesi, ardından sitozolik proteazların (kaspaz ailesi) aktivasyonu ile apoptotik süreç başlamaktadır. Hücre içinde apoptozisi regüle eden proteinlerin içinde en önemlisi, hücresel yanıtın apoptotik yanıtı dönüşmesinde esas rolü üstlenen, pro- ve anti-apoptotik proteinlerden oluşan Bcl-2 protein ailesidir. Bcl-2, Bcl-xl, Bcl-w, Bag-1 ve BI-1, yüksek miktarda eksprese olduğunda apoptozisi engelleyen ve Bax, Bak, Bad, Bid ve Bim gibi çeşitli pro-apoptotik proteinlerin etkinliğini azaltan anti-apoptotik özellikteki proteinlerdir (Misao ve ark. 1996). Bcl-2 ve Bcl-xl'in hücrede artmış serbest radikal üretimini inhibe ettiği (Fliiss ve Gattinger 1996; Bartling ve ark. 1998), intrasellüler asidifikasyonun ve kalsiyum düzeylerinin artmasını engellediği (Reynolds ve ark. 1996), pro-apoptotik Bcl-2 ailesinin üyelerinin sitotoksik etkilerini zayıflattığı ve mitokondriden sitokrom-c (Umansky ve ark. 1997) ve AIF'nin serbestlenmesini azaltmak (Yang ve ark. 1997; Kluck ve ark. 1997) suretiyle anti-apoptotik etkinlik gösterdiği bildirilmektedir. Yapılan çalışmalar reperfüzyon esnasında anti- ve pro-apoptotik proteinlerin ekspresyonu arasındaki olası bir dengesizliğin miyosit hücre ölümünü başlatabileceğini göstermektedir (Rosenbaum ve ark. 1998). Apoptozun özellikle miyokardiyal sersemleme ve kardiyak cerrahi sonrası gözlenen inatçı miyokardiyal disfonksiyonun patojenezinde rol oynadığı öne sürülmektedir. Birçok çalışma, miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarında gözlenen apoptotik hücre ölümünün mitokondriyal disfonksiyon ve artmış kaspaz aktivitesine dayandığını bildirmektedir. Köpeklerde oluşturulan bir iskemi-reperfüzyon modelinde, iskemik miyokardiyumda artmış kaspaz 3 ekspresyonu tesbit edilmiştir (Zhao ve ark. 2001). Bu nedenle, kaspaz aktivitesinin inhibisyonunun apoptozisin ve infarkt alanının azaltılması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Holly ve ark. 1999; Mocanu ve ark. 2000).

Özetlemek gerekirse, miyokardiyal iskemi-reperfüzyona bağlı olarak; anti- ve pro-apoptotik proteinleri arasındaki dengesizlik, mitokondriden artmış sitokrom-c salınımı, artmış kaspaz aktivitesi, artmış protein kinaz C (PKC) aktivitesi ve mK_{ATP} kanallarının açılması ve hücre ölümüne aracılık eden sinyal uyarılarının, apoptozisin başlamasına neden olan major sinyal yolları olduğu düşünülmektedir. Bu sinyal

yalaklarının hedef alınması ile geliştirilecek tedavi yaklaşımlarının kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde yeni boyutlar kazandıracağı bildirilmektedir (Zhao ve Vinten-Johansen 2002).

Mevcut miyokardiyal hasarın biyokimyasal belirteçleri olan kardiyak enzimler nekroza spesifik olduklarından hücredeki apoptoz hakkında bilgi vermemektedirler. Plazma membranının yırtılması veya hücre yapısının bozularak komponentlerinin dışarıya serbestlenmesi gibi olaylar sözkonusu olmadığından, apoptozun tayininde bu tarz biyokimyasal belirteçlerin kullanımı sözkonusu değildir. Araştırmacılar apoptotik süreçteki değişiklikleri göz önüne alarak apoptozise özgü çeşitli ölçüm yöntemleri geliştirmişlerdir (Anselmi ve ark. 2004). Özellikle tek bir hücrede apoptozis olayı saatler içerisinde geliştiğinden apoptotik süreçteki hücreyi morfolojik olarak tanımak ve kantifiye etmek zordur. Bu nedenle sonuçlar genelde farklı birkaç yöntemin bir arada kullanılmasıyla desteklenir (Alles ve ark. 1991; Anselmi ve ark. 2004). Apoptotik hücredeki morfolojik değişiklikleri saptamak için genellikle ışık mikroskobu, elektron mikroskobu ve flow-sitometri yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Yine çeşitli sitoplazmik değişikliklerin saptanması (örneğin; kaspaz aktivitesinin, hücreye kalsiyum akışının veya mitokondri disfonksiyonunun ölçülmesi), membran değişikliklerinin belirlenmesi (örneğin membran geçirgenliğinin değişmesi), apoptoz sürecinde veya regülasyonunda görevli çeşitli proteinlerin kanda veya dokuda düzeylerinin ölçülmesi (örn:Bcl2/Bax oranı), DNA parçalanmasının çeşitli özel immünohistokimyasal boyalarla saptanması bu yöntemler arasında sayılabilir (McCarthy ve Evan 1998). Bütün bu yöntemler içinde en çok tercih edilenler DNA'daki değişikliklere dayalı olan "DNA agaroz jel elektroforez" ve TUNEL (terminal deoxytransferase mediated bio-dUTP nick end labeling) boyası ile formalinde fikse edilmiş materyalde yapılan mikroskopik incelemedir (Charriaut-Marlangue ve Ben-Ari 1995). Son dönemde kullanılan önemli ve güvenilir bir başka metod ise, normal hücreden farklı olarak apoptotik cisimciklerde hücre duvarının dış yüzeyine geçen fosfatidil serinin varlığını göstermeye dayanan Annexin-V boyası uygulamasıdır (Fadok ve ark. 1992; van Heerde ve ark. 2000).

2.2. Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarından Korunma Stratejileri

Klinikte koroner arter oklüzyonuna bağlı olarak gelişen akut miyokardiyal infarktüste infarkt alanını kısıtlayıcı en geçerli yöntem koroner akışın trombolitik bir ajan veya perkütanöz koroner arter anjiyoplastisi (PTCA) ile tekrar sağlanmasıdır. Ancak bu reperfüzyon stratejileri akut miyokardiyal infarktüse bağlı mortalite ve morbiditenin karşısında yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle kalp üzerinde koruyucu etkileri olduğu gösterilen; “önkoşullama (pre-conditioning)” ve “geçkoşullama (post-conditioning)” gibi kısa süreli iskemi-reperfüzyon uygulamalarının yapıldığı deneysel teknikler geliştirilmiştir. Bunlara ilaveten, çeşitli farmakolojik ajanların iskemi öncesinde/esnasında veya reperfüzyon dönemlerinde uygulanmasına bağlı önkoşullayıcı ya da geçkoşullayıcı özellikte koruyucu etkileri gösterilmiştir.

İskemi esnasında kardiyak korunmanın gerçekleştirilmesinde esas alınan 3 temel strateji; iskemik dokunun hızla yeniden kanlandırılmasının sağlanması, iskemik hasarın gelişimini yavaşlatmaya yönelik uygulamalar ve miyokardiyal fonksiyonların en kısa sürede düzelmesi için miyokardın maruz kaldığı reperfüzyon hasarının minimize edilmesidir. Bu hedeflerin gerçekleştirilmesi için öne sürülen uygulamalardan bazıları; doku hasarını azaltmak için anti-iskemik ajanların uygulanması, reperfüzyon hasarından kalbin geri dönüşünü hızlandırmak için çeşitli reperfüzyon stratejilerinin uygulanması ve stres proteinleri, iskemik önkoşullama gibi endojen adaptif yanıtların oluşmasını sağlamaktır (Hearse 1998).

2.2.1. Önkoşullama

İskemik önkoşullama, tek veya tekrarlayan kısa süreli iskemik periyotların daha uzun süreli iskemik periyotlarda organ, doku ve hücrelerde nekroz gelişimine karşı belirgin bir direnç oluşturması ile karakterize koruyucu bir mekanizmadır. İskemik önkoşullama ilk kez 1986 yılında Murry ve ark. tarafından köpek kalbinde yapılan bir araştırma ile gösterilmiştir (Murry ve ark. 1986). Kısa süreli iskemi-reperfüzyon periyotlarıyla önkoşullama oluşturulmasının kalpte bugüne kadar bilinen en kuvvetli

antiiskemik müdahale olduğu kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalar önkoşullamanın infarkt alanı azaltıcı etkisinin yanısıra, antiaritmik (Altug ve ark. 2000), ve reperfüzyon hasarına karşı koroner endotel hücrelerinde koruyucu etkiler (Richard ve ark. 1994) oluşturduğunu da ortaya koymuştur (Yellon ve Downey 2003).

İskemik önkoşullama iki farklı faz ile koruma sağlamaktadır. Erken faz (ilk, akut, klasik, korunmanın birinci penceresi) miyokardiyal iskemiye takiben dakikalar içinde ortaya çıkmakta, geçici ancak önemli bir korunma sağlamaktadır. Geç faz (gecikmiş, korunmanın ikinci fazı) ise önkoşullamadan 24 saat sonra ortaya çıkmakta etkisi 72–96 saat kadar sürmekte ve protein sentezine gereksinim duymaktadır (Kuzuya ve ark. 1993; Bolli 1996). Her iki fazında kısmen aynı sinyal yolları üzerinden etki gösterdiği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar, önkoşullamanın erken fazının değil geç fazının miyokardiyal sersemlemeye karşı koruma sağladığını ortaya koymuştur (Bolli 1996). Ayrıca infarkt alanı azaltıcı etki bakımından erken fazın geç faza göre daha etkin olduğu gösterilmiştir (Yang ve ark. 1996). İskemik önkoşullamanın koruyucu etkisinin varlığı türe özgü değildir. Bu koruyucu etki köpek, sıçan, domuz, fare, kobay ve tavşan dahil olmak üzere çalışılan tüm türlerde gösterilmiş ve ayrıca mitokondriyal ve hücresel düzeyde; beyin, iskelet kası, retina, karaciğer gibi bir çok organda gösterilmiştir. Ancak önkoşullama için gerekli minimal oklüzyon ve reperfüzyon süreleri türler arasında farklılık göstermektedir (Yellon ve Downey 2003).

Bir arterde iskemi-reperfüzyon ile oluşturulan önkoşullamanın, başka bir arterin beslediği organı da önkoşullaması ‘uzak organ önkoşullaması’ olarak tanımlanmaktadır (Przyklenk ve ark. 1993). Bu durumun sadece kalbe özgü olmadığı, iskelet kasının önkoşullanması ile diğer bir iskelet kasının da önkoşullanabileceği gösterilmiştir. Sıçanlarda ince bağırsak veya böbreğin iskemi-reperfüzyonu ile (Gho ve ark. 1996), tavşanda da gastrokinemus kasının önkoşullanması ile miyokardiyumun önkoşullanabileceği ortaya konmuştur (Birnbbaum ve ark. 1997).

Klasik önkoşullamanın koruyucu etkisine aracılık eden birçok sinyal yolağının varlığı açıklanmış olsa da, bu alanda ki geniş araştırmalara rağmen, bu koruyucu etkinin

altında yatan esas mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır. Kısa süreli miyokardiyal iskemi-reperfüzyon periyotları sonucu oluşan önkoşullama uyararı, adenozin, bradikinin, opioidler gibi endojen ligandların oluşmasına, ve sonrasında G proteinleri-kenetli reseptörler (GPKR), epidermal büyüme faktör reseptörleri (EBFR), fosfoinozimid-3 kinaz (PI3K), Akt, endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS), NO, guanilat siklaz, siklik guanozin monofosfat (sGMP), ve protein kinaz G (PKG) gibi kompleks transdüksiyon yolları ile önkoşullama sinyalinin hücre yüzeyinden mitokondriye iletilmesine neden olmaktadır (Yellon ve Downey 2003). PKG, PKC-ε aracılığıyla mitokondriyal potasyum (mK_{ATP}) kanallarının açılmasını sağlamakta (Costa ve ark. 2005; Jaburek ve ark. 2006) ve böylece oluşan ROR (Andrukhiv ve ark. 2006) sitozoldeki Akt, Erk1/2, p38 mitojenle aktive protein kinaz (MAPK) ve PKC gibi protein kinazları aktive ederek, kardiyoprotektif sinyalin önkoşullamanın indeks iskemik fazında oluşmasına aracılık etmekte (Yellon ve Downey 2003), ve mPTP kanallarının açılmasını inhibe etmektedirler (Costa ve ark. 2006) (Şekil 2-5; 2-6).

Strese karşı oluşan mitokondriyal yanıtın anahtar komponenti, non-spesifik, multimerik por yapısına sahip, mitokondrinin iç ve dış yüzeyini kaplayan mPTP kanallarının oluşmasıdır (Halestrap ve Brennerb 2003; Bernardi ve ark. 2006). mPTP kanallarının miyokardiyal reperfüzyonun ilk dakikalarında açılması, eşleşmemiş (uncoupling) oksidatif fosforilasyonun ve mitokondriyal şişmenin indüklenmesine bağlı olarak hücre ölümüne neden olmaktadır (Crompton ve ark. 2002; Hausenloy ve Yellon 2003). Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı ve buna karşı geliştirilen kardiyoprotektif stratejilerde, mPTP kanallarının açılmasının veya inhibisyonunun sırasıyla, hücrenin ölümü veya canlı kalmasında en önemli etken olduğu belirlenmiştir. mPTPnin açık kalma süresine bağlı olarak hücrede nekroz ve/veya apoptoz görüldüğü bildirilmektedir (Halestrap ve ark. 2004).

Son yıllarda yapılan çalışmalar önkoşullamanın aslında iskemi sonrası reperfüzyon döneminde meydana gelen olayları modifiye etmek suretiyle kardiyoprotektif etki gösterdiğini öne sürmektedir (da Silva ve ark. 2004; Hausenloy ve ark. 2005; Lecour ve ark. 2005; Solenkova ve ark. 2006). Esasen önceki çalışmalarda da önkoşullamanın; oksidatif stresin, mitokondriyal kalsiyum birikiminin, ve proapoptotik

faktörlerin azatılması, ve mPTP kanallarının açılmasının engellenmesi gibi reperfüzyondaki hasara neden olan olayları modifiye etmek suretiyle koruyucu etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Hausenloy ve Yellon 2007b). Bu çalışmalarda; reperfüzyon esnasında gerçekleşen olayların modifikasyonunun, miyokardiyumu reperfüzyonun olumsuz etkilerine karşı daha dayanıklı kılan pasif bir süreç olduğu öne sürülmektedir.

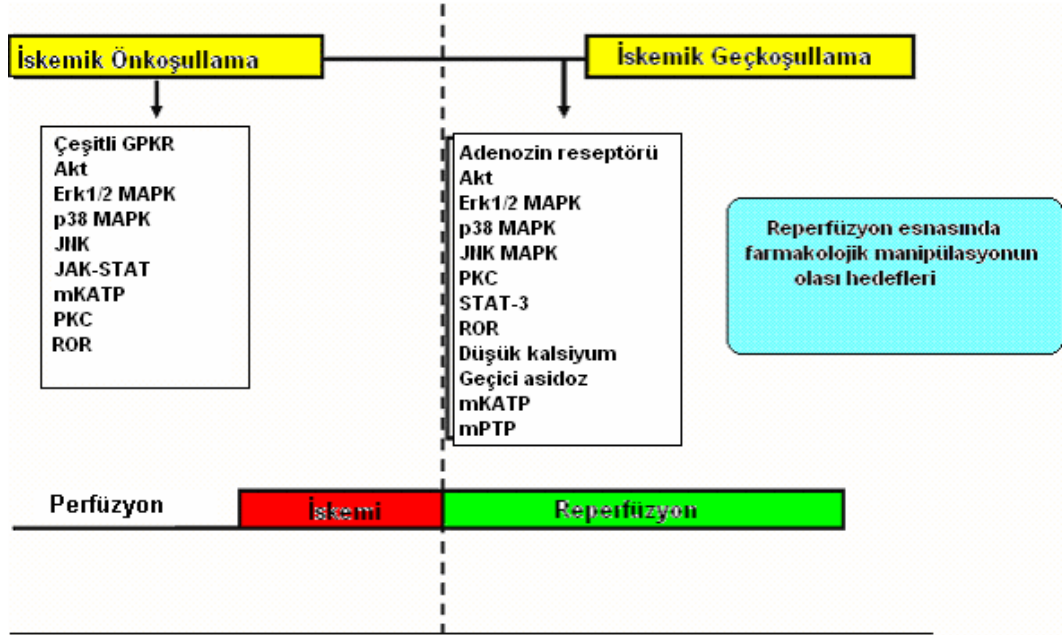
Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarında oluşan hücre ölümüne apoptozisin katkısı her zaman tartışma konusu olmuştur (Freude ve ark. 2000; Zhao ve ark. 2000). Reperfüzyon fazında apoptotik sinyal yolağının farmakolojik inhibisyonunun hücre ölümüne aracılık eden her iki komponentini de (apoptoz ve nekroz) azaltması, (Mocanu ve ark. 2000; Zhao ve ark. 2003a), apoptotik sürecin durdurulmasının nekrotik hücre ölümünü de etkileyebileceğini göstermiştir. Söz konusu hedeflerin kardiyak korunmada yeni yaklaşımlar getirmesi beklenmektedir.

2.2.2. Geçkoşullama

Benzer şekilde reperfüzyon esnasında uygulanan tek veya tekrarlayan kısa süreli iskemi-reperfüzyon periyotlarının da infarkt alanı azaltıcı etkisi olduğu gösterilmiş, ve bu fenomen “geçkoşullama” olarak adlandırılmıştır. İskemik önkoşullamada olduğu gibi infarkt alanını azaltıcı etkisi in vitro koşullarda izole sıçan kalbi (Tsang ve ark. 2004; Bopassa ve ark. 2006) ve izole tavşan kalbinde (Darling ve ark. 2005; Yang ve ark. 2005), in vivo koşullarda ise fare (Heusch ve ark. 2006), sıçan (Kin ve ark. 2004; 2005; Tang ve ark. 2006; Zatta ve ark. 2006), tavşan (Yang ve ark. 2004; Argaud ve ark. 2005; Chiari ve ark. 2005; Couvreuer ve ark. 2006), köpek (Zhao ve ark. 2003b; Halkos ve ark. 2004) ve domuz (Iliodromitis ve ark. 2006) olmak üzere çalışılan tüm türlerde gösterilmiştir. Geçkoşullamanın insan kalbinde de infarkt alanını azaltıcı etkisi olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Staat ve ark. 2005; Valen ve Vaage 2005; Vinten-Johansen ve ark. 2005; Kloner ve Rezkalla 2006; Ramzy ve ark. 2006; Yellon ve Opie 2006). Geçkoşullama ile elde edilen infarkt alanındaki azalmanın önkoşullama ile elde edilen azalmaya benzerlik gösterdiği (Zhao ve ark. 2003b; Halkos ve ark. 2004; Fantinelli ve Mosca 2007), ya da iskemik önkoşullamadan kısmen daha düşük düzeyde

olduğu bildirilmektedir (Kin ve ark. 2004). Ayrıca, geçkoşullama ile elde edilen koruyucu etkiye önkoşullamanın ilave edilmesinin, etkide bir artış meydana getirmediği belirlenmiştir (Halkos ve ark. 2004). Yapılan çalışmalar gerek iskemik önkoşullama gerekse geçkoşullamanın reperfüzyon esnasında ortak sinyal yollarını kullanmak suretiyle benzer mekanizmalar üzerinden kardiyoprotektif etki gösterdiğini ileri sürmektedir (Şekil 2-5).

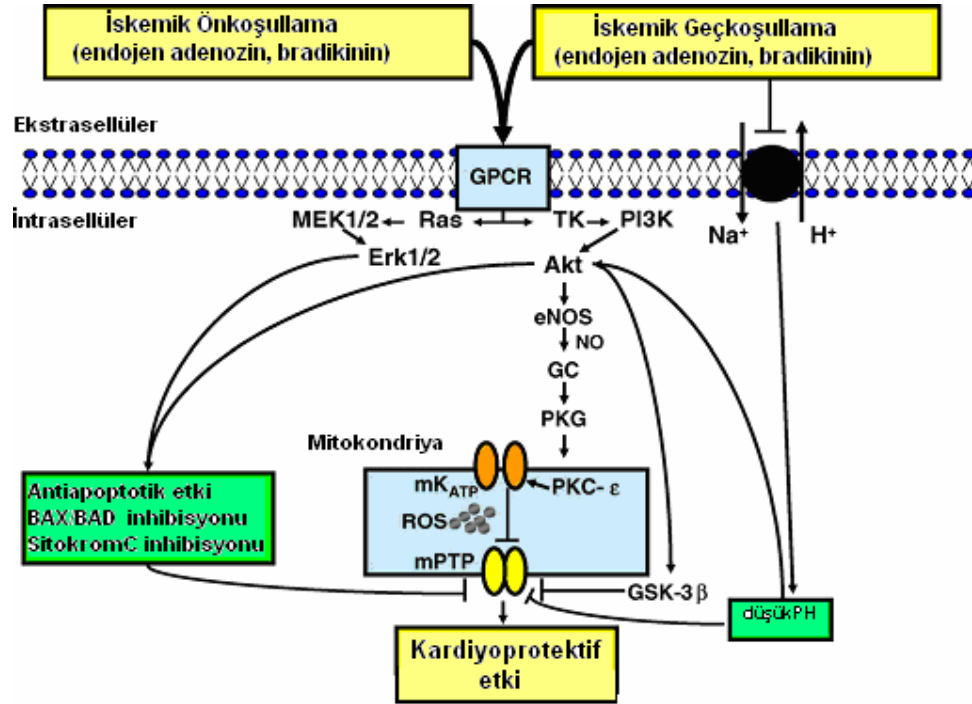
İskemik geçkoşullamanın, izole sıçan kalbinde (Galagudza ve ark. 2004) ve in vivo koşullarda sıçanda (Kloner ve Rezkalla 2006) yapılan çalışmalarda reperfüzyonun indüklediği inatçı taşiaritmilere karşı güçlü bir antiaritmik etki gösterdiği ortaya konmuştur. İskemik geçkoşullamanın insanda iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisinin olup olmadığı halen tartışılan bir konu olsa da (Loukogeorgakis ve ark. 2005, Dragoni ve ark. 2006), izole fare kalbinde (Kin ve ark. 2005) veya in vivo koşullarda tavşan ve köpek kalplerinde yapılan çalışmalarda reperfüzyona bağlı gelişen miyokardiyal sersemlemeye karşı koruyucu bir etki göstermediği belirlenmiştir (Couvreur ve ark. 2006). İskemik geçkoşullamada iskemi-reperfüzyon periyotlarının, iskemi fazının ardından hemen uygulanması gereklidir (Tsang ve ark. 2005a; Crisostomo ve ark. 2006a; Garcia-Dorado ve ark. 2006; Vinten-Johansen 2007). İskemik geçkoşullamanın koruyucu etkisinin bazı türlerde özellikle domuzda (Iliodromitis ve ark. 2006; Schwartz ve Lagranha 2006) iskemi-reperfüzyon periyotlarının sayısına bağlı olduğu gösterilmiştir. Buna karşın iskemi-reperfüzyon periyotlarının sayısının artırılmasının izole sıçan kalbinde (Tsang ve ark. 2004), ve in vivo koşullarda sıçan (Kin ve ark. 2004) ve tavşan da (Yang ve ark. 2004) infarkt alanındaki azaltıcı etkiyi daha fazla arttırmadığı gösterilmiştir. İskemik geçkoşullamanın koruyucu etkisinin in vivo koşullarda sıçanlarda (Tang ve ark. 2006) 45 dakikadan daha az bir koroner oklüzyon süresiyle sınırlı olduğu, ve koruyucu etkinin düzeyinin erkek ve dişilerde farklılık gösterebildiği bildirilmiştir (Crisostomo ve ark. 2006b). Koroner arterlere reperfüzyon sağlanmadan 1 dakika önce gerçekleştirilen renal arter oklüzyonu ve sonrasında serbestlenmesinin sıçanlarda miyokardiyal infarkt alanında azalmaya neden olmuştur (Kerendi ve ark. 2005). Bu durum önkoşullamaya benzer şekilde uzak organ geçkoşullamasının olduğunu da göstermektedir.



Şekil 2-5: İskemik önkoşullama ve geçkoşullamaya aracılık ettiği düşünülen ortak sinyal yolak mediyatörleri – Hausenloy ve Yellon (2007b)'dan değiştirilerek.

İlk olarak Vinten-Johansen'ın grubu tarafından tanımlanan geçkoşullamanın koruyucu etkisi, infarkt alanının ve apoptotik hücre ölümünün azalmasıyla belirlenmiş ve bu etkinin; oksidatif stresin ve mitokondriyal kalsiyum birikiminin azaltılması, endotel fonksiyonlarının iyileştirilmesi ve inflamasyonun azaltılmasına bağlı olarak, reperfüzyon hasarında gerçekleşen istenmeyen olaylara karşı koruyucu bir mekanizma üzerinden gerçekleştiği öne sürülmüştür (Zhao ve ark. 2003a). Yellon ve ark.'ları ise bahsedilen bu olayların geçkoşullamanın pasif fazını oluşturduğu, aktif fazının ise reperfüzyonun modifiye edilmesiyle aktive olan reperfüzyon hasarından koruyucu kinaz (RHKK) yolağı üzerinden gerçekleştiğini belirtmiştir (Tsang ve ark. 2005a)(Şekil 2-6).

Son yıllarda yapılan çalışmalar RHKK yolağının gerek iskemik önkoşullama gerekse geçkoşullamada ortak kardiyoprotektif yolak olduğunu öne sürmektedir. RHKK yolağı, miyokardiyal reperfüzyon esnasında aktive olduğunda güçlü kardiyoprotektif etkinin ortaya çıkmasını sağlayan bir grup yaşamsal protein kinazlardır (Yellon ve Baxter 1999; Hausenloy ve Yellon 2004). Özellikle reperfüzyon esnasında çeşitli protein kinazların; PI3-Akt yolağı ve Erk1/2 MAPK'ın aktivasyonu; TGF- β_1 (Baxter ve ark. 2001), insülin (Jonassen ve ark. 2001), ve ürokortin (Brar ve ark. 2000) gibi büyüme faktörleri ve sitokinleri kullanarak miyokardiyal infarktüs ve apoptotik hücre ölümüne karşı kardiyoprotektif etki gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 2-6: İskemik önkoşullama ve geçkoşullamaya aracılık ettiği düşünülen reperfüzyon hasarından koruyucu kinaz yolağı (RHKK) – Hausenloy ve Yellon (2007b)'dan değiştirilerek.

Apoptotik hücre ölümüne karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu gösterilen geçkoşullamanın, anti-apoptotik sinyal yollarını reperfüzyon fazında işgal etmek suretiyle bu etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. Geçkoşullama ilk kez tanımlandığında apoptotik hücre ölümünde azalma bildirilmiş (Zhao ve ark. 2003a), ve takibeden çalışmalar bu bulguyu destekleyerek koruyucu etkinin; Bcl-2 gibi anti-apoptotik faktörlerin upregüle edilmesinin (Sun ve ark. 2004), pro-apoptotik faktör Bax'ın down-regüle edilmesine bağlı olarak JNK ve p38MAPK protein kinazların inhibe edilmesi (Sun ve ark. 2004) ve reperfüzyonda peroksinitrit oluşumunun azaltılması (Wang ve ark. 2006), üzerinden gerçekleştiği öne sürülmüştür.

İskemik geçkoşullamanın kalp üzerindeki koruyucu etkilerine rağmen iskemi-reperfüzyon periyotları şeklinde kliniğe uygulanması bazı komplikasyonlara neden olabilmektedir. Örneğin, anjiyoplasti esnasında, geçkoşullamanın iskemi-reperfüzyon periyotlarının tekrarlanan balon şişirme (inflation) ve söndürme (deflation) uygulamaları ile gerçekleştirilmesi, koroner plak yırtılmalarına veya emboliye neden olabilir. Benzer şekilde, bypass ameliyatlarında da geçkoşullamanın assendan aortaya klemp yerleştirilip çıkarılmasıyla gerçekleştirilmesi, yüksek bir riskle ateromatik plakların parçalanmasına veya olası bir felce neden olabilir. Öte yandan, trombolitik ilaçların uygulanması esnasında kalbin tekrar iskemiye maruz kalması klinikte mümkün değildir (Yellon ve Opie 2006).

Esas olarak RHKK yolağının aktivatörleri olan farmakolojik ajanların miyokardiyal reperfüzyon esnasında uygulanması ile ortaya çıkan koruyucu etkinlik 'farmakolojik geçkoşullama' olarak tanımlanmaktadır. Statinler (Bell ve Yellon 2003) , insülin (Jonassen ve ark. 2001; Gao ve ark. 2002), eritropoetin (EPO) (Parsa ve ark. 2003; Bullard ve ark. 2005), ve glukagon-benzeri peptid-1 (GBP-1) (Bose ve ark. 2005a; 2005b) gibi günümüzde klinikte kullanılan, ve deneysel çalışmalarda RHKK yolağını aktive ettikleri gösterilen farmakolojik ajanların bir çoğunun geçkoşullayıcı olarak koruyucu etkileri bildirilmiştir. Bunlara ilaveten miyokardiyal reperfüzyon esnasında atrial-natriüretik peptid (ANP) uygulamasının RHKK aktivasyonu ile ilişkili olarak koruyucu etki gösterdiği deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (Yang ve ark. 2006). Nekrotik hasarı azaltmak için kurulan Japon Akut Miyokardiyal İnfarktüs

Çalışma grubu (J-WIND)-ANP'nun gerçekleştirdiği geniş ölçekli bir klinik araştırmada 72 saat süreyle uygulanan ANP analogu Karperitid infüzyonu ile sağlanan farmakolojik geçkoşullamanın tayin edilen CK ve Troponin-T değerleri üzerinden 600'ü aşkın akut miyokardiyal infarktüsli hastada miyokardiyal infarkt alanını % 14,7 azalttığı ve ejeksiyon fraksiyonunda % 5,1 oranında artış sağladığı bildirilmiştir (Asakura ve ark. 2004). RHKK yolağını aktive eden farmakolojik ajanların, tromboliz ve perkütanöz koroner anjiyoplasti gibi güncel miyokardiyal reperfüzyon stratejilerine yardımcı bir tedavi olarak veya koroner bypass ameliyatına girecek hastalarda kardiyoprotektif bir strateji olarak, potansiyel kullanımlarına yönelik daha detaylı klinik araştırmalara gereksinim vardır.

Kardiyoprotektif amaçlı bir diğer önemli hedefte reperfüzyon esnasında açılan mPTP kanallarıdır. Günümüzde mPTP kanallarının açılmasını direk olarak inhibe edici etkisiyle kullanılan tek farmakolojik ajan siklosporin A'dır. Ancak, kardiyoprotektif olarak klinik kullanımı, dozajı ve yan etkileri nedeniyle kısıtlıdır (Hausenloy ve Yellon 2007a).

2.2.3. Farmakolojik Miyokardiyal Korunma

Miyokard infarktüsü esnasında kalp kasının canlılığını daha uzun süre koruyabilmesini sağlayacak ajanların geliştirilmesine yönelik sistematik çalışmalar, 30 yılı aşkın bir süredir yapılmaktadır. Çeşitli farmakolojik ajanların miyokardiyal korunma üzerindeki etkisi iskemi öncesi veya reperfüzyon esnasında uygulanması ile deneysel ortamda araştırılmaktadır. Farmakolojik miyokardiyal korunmada esas olarak miyokardiyal fonksiyonların iyileştirilmesi, aritmi insidansının azaltılması, nekroz oluşumunun geciktirilmesi ve infarktüs alanının sınırlandırılmasını sağlayacak ajanların geliştirilmesi hedeflenmektedir. Bugüne kadar kalsiyum antagonistleri, antioksidanlar, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri, serbest radikal yakalayıcılar, nötrofil inhibitörleri, NO, adenzin, endotelin-1 reseptör antagonisti, NHD inhibitörleri, statinler, fosfodiesteraz III (FDEIII) inhibitörleri, anti-apoptotik ajanlar ve Levosimendan gibi kalsiyum duyarlılaştırıcı birçok ajanın miyokardiyal iskemi-

reperfüzyon hasarındaki etkisi incelenmiştir (Ryden ve ark. 2001; Wang ve ark. 2002). Elde edilen deneysel veriler bu ajanların iskemi-reperfüzyon hasarına karşı çeşitli mekanizmalar aracılığı ile koruyucu etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, birbiriyle çelişkili bulgular içeren birçok çalışma da mevcuttur. Bunun başta gelen nedenleri arasında; kullanılan hayvan türü, kollateral kan akımının derecesi, iskemi süresi, ilaç uygulama zamanı, ilaç uygulama yolu ve kardiyoprotektif etkinin değerlendirilmesindeki (infarkt alanı, miyokardiyal fonksiyon, endotelial fonksiyon veya aritmi) farklılıklar gelmektedir.

Kalsiyum antagonistlerinin miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı üzerindeki kardiyoprotektif etkisinin iskemi öncesi uygulanmaları ile ortaya çıktığı gözlenmektedir. Ancak elde edilen bulgular uzun etkili kalsiyum antagonistlerinin kullanılması ile oluşan bu koruyucu etkinin iskemik hasara mı yoksa reperfüzyon hasarına mı karşı olduğunun ayırt edilmesine olanak vermemiştir (Knabb ve ark. 1986; Garcia-Dorado ve ark. 1987; Vatner ve ark. 1988). Kalsiyum antagonistlerinin bu koruyucu etkisinin, negatif inotropik ve/veya kronotropik etkilerine bağlı olarak hücre içi azalmış enerji kullanımı ile ilgili olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca, bazı kalsiyum antagonistleri, antioksidan özellik göstermekte ya da NO sentezine neden olmaktadır. Öte yandan, son yıllardaki çalışmalar kalsiyum antagonistlerinin yalnızca anti-iskemik etkilerinin olmadığını, aynı zamanda reperfüzyon hasarına karşı da miyokardiyum üzerinde koruyucu etkilerinin olduğunu göstermiştir. Bu görüşü destekleyen çalışmalarda, kalsiyum antagonistlerinin reperfüzyon öncesi veya reperfüzyonun başlangıcında uygulanmasının reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkiye neden olduğu gösterilmiştir (Klein ve ark. 1984; Haga ve ark. 1993; Herzog ve ark. 1997). Kalsiyum antagonistlerinin ayrıca reperfüzyon aritmilerini azalttığı ve miyokardiyal sersemlemeyi zayıflattığı belirlenmiştir. Örneğin, izole sıçan ve domuz kalbinde yapılan bir çalışmada, verapamilin reperfüzyon aritmelerini azalttığı gösterilmiştir (Opie ve ark. 1988; Muller ve ark. 1998).

İskemik miyokardiyumda reperfüzyonla birlikte açığa çıkan ROR letal reperfüzyon hasarının en önemli etkenlerinden biridir. (Zweir ve ark. 1987; Bolli ve ark. 1988; Vanden Hoek ve ark. 2000). Serbest oksijen yakalayıcılarının reperfüzyon

hasarındaki koruyucu etkisi ilk kez Jolly ve arkları tarafından köpek iskemi-reperfüzyon modelinde ortaya konmuştur (Jolly ve ark. 1984). Miyokardiyal dokuyu ROR'un zararlı etkilerinden korumanın bir başka yolunda daha ileri aşama olan lipid peroksidasyonunu engellemek olduğu düşünülerek lipid peroksidasyonunu engelleyici moleküllerin de etkisi incelenmiştir. Serbest oksijen yakalayıcı veya antioksidan olarak; süperoksit dismutaz (SOD), hidrojen peroksit (H_2O_2)'i degrade eden katalaz, ksantin oksidaz inhibitörü allopurinol, demir şelatörü deferoksamin, ve anti oksidan olarak vitamin-E ve vitamin-C'nin etkileri test edilmiştir (Ryden ve ark. 2001; Wang ve ark. 2002).

Ayrıca iskemik önkoşullama ve geçkoşullamanın da miyokardiyal reperfüzyon esnasında ROR oluşumunu zayıflatmak suretiyle kardiyoprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, son yıllarda yapılan çalışmalarda letal reperfüzyon hasarının bir mediyatörü olan ROR'un aynı zamanda iskemik önkoşullama ve geçkoşullamanın koruyucu etkisine aracılık eden sinyal yollarının bir komponenti olduğu da öne sürülmektedir (Şekil 2-6). Penna ve ark'larının Langendorff perfüze kalp modelinde yaptıkları bir çalışmada, ROR yakalayıcısı N-asetilsistein'in miyokardiyal reperfüzyon esnasında uygulanması, iskemik geçkoşullamanın infarkt alanını azaltıcı etkisini ortadan kaldırmıştır. Ancak N-asetilsistein'in reperfüzyonun başlangıcından 3 dakika sonra uygulanması ile benzer bir etkinin gözlenmemesi, reperfüzyonunun ilk dakikalarında oluşan ROR'un geçkoşullamanın koruyucu etkinliğinin ortaya çıkmasında gerekli olduğunu göstermektedir (Penna ve ark. 2006). ROR'un gerek letal gerekse kardiyoprotektif etkide rol oynamasının mekanizması aydınlatılamamakla birlikte, ROR'un oluşma yerinin (sitozolik/mitokondriyal), zamanının (önkoşullama/reperfüzyon fazı), miktarının (düşük düzeyler koruyucu/yüksek düzeyler zararlı) ve çeşidinin (daha az potent olan süperoksit ve hidrojen peroksit/reaktif hidroksil radikalleri) etkiye yön verdiği düşünülmektedir (Hausenloy ve Yellon 2007b).

Nötrofiller; miyokardiyumda nötrofil infiltrasyonunu amplifiye eden ROR'un, proteazların ve pro-inflamatuvar mediyatörlerin salınımına aracılık ederek reperfüzyon hasarının gelişmesinde önemli rol oynamaktadırlar (Hansen 1995; Jordan ve ark. 1999). Nötrofil kaynaklı hasarın azaltılmasında; nötrofillerin tüketilmesi ve direkt

inhibisyonunun yanı sıra nötrofiller ve endotelial hücrelerdeki adhezyon moleküllerinin inhibisyonu da hedeflenmektedir (Romson ve ark. 1983; Litt ve ark. 1989).

Akut miyokardiyal iskemi, renin-anjiyotensin sisteminin (RAS) aktivasyonuna neden olmaktadır. Anjiyotensin-II'nin miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarını Anjiyotensin 1 reseptörü (AT1) aracılığı ile arttırdığı öne sürülmektedir (Yoshiyama ve ark. 1994). RAS'ın en önemli ürünü olan Anjiyotensin-II, kardiyak miyositlerde ve düz kas hücrelerinde intrasellüler kalsiyum düzeylerini arttırmak suretiyle pozitif inotropik etkiye, diyastolik fonksiyonların bozulmasına, ve koroner vazokonstriksiyona neden olur. Anjiyotensin-II, kardiyak ve vasküler sempatik aktiviteyi modüle ederek, sempatik sinir uçlarından noradrenalin serbestlenmesini regüle eder. Patofizyolojik düzeylerde oluşan Anjiyotensin-II kardiyotoksiktir ve miyositlerde nekroza neden olur (Ryden ve ark. 2001). ADE inhibitörlerinin reperfüzyon aritmelerini ve infarkt alanını azalttığı ve miyokardiyal geri dönüşü iyileştirdiği gösterilmiştir. ADE inhibitörü Kaptopril'in iskemi-reperfüzyon hasarında gösterdiği bu koruyucu etkinin muhtemelen ROR yakalayıcı özelliğinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Westlin ve Mullane 1988; Chopra ve ark. 1992). Son yıllarda yapılan çalışmalar da ADE inhibisyonunun miyokardiyal infarktüsün gerek erken fazı gerekse geç fazında yararlı olduğunu göstermiştir. Ayrıca, ADE inhibitörü kullanan hastalarda infarktüs insidansının azaldığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, ADE inhibitörlerinin deneysel koşullarda vasküler hipertrofiyi ve ateroskleroza azalttıkları ve endotelial fonksiyonu düzenledikleri belirlenmiştir. Bu doğrultuda, ADE inhibitörlerinin hem kardiyoprotektif hem de vasküloprotektif etkilerinin olduğu ileri sürülmektedir .

NHD inhibisyonunun kardiyak miyositlerde intrasellüler pH ile sodyum ve kalsiyum iyonlarının homeostazisinin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Avkiran 1999; Karmazyn ve ark. 2001). Reperfüzyonun erken fazında NHD'nin farmakolojik olarak inhibisyonunun koruyucu olduğu ve bu yararlı etkinin iki faktöre dayandığı öne sürülmektedir. NHD'nin inhibisyonu ile miyokardiyal hücrelerdeki proton çıkışı (efluks) azalmakta ve böylece düşük iskemik intrasellüler pH, reperfüzyonun erken fazında korunabilmektedir. İntrasellüler asidozun reperfüzyonun erken fazında devamlılığının sağlanmasının ise reperfüzyon hasarına karşı koruyucu

etkisi olduğu düşünülmektedir (Kaplan ve ark. 1995). İkinci olarak, NHD'nin inhibisyonunun Na^+ girişini (influks) azaltmak suretiyle Ca^{2+} girişini azaltacağı ve böylece hücre içindeki artmış Ca^{2+} düzeylerini zayıflatacağı ileri sürülmektedir. Bu görüşü destekleyici olarak, NHD inhibitörü HOE-694'ün uygulanmasının domuz kalbinde infarkt alanını belirgin olarak azalttığı gösterilmiştir (Klein ve ark. 1995; Rohmann ve ark. 1995). NHD inhibitörü Kariporid veya EMD-85131'in reperfüzyon başlamadan kısa bir süre önce uygulanması da benzer şekilde tavşan ve köpek kalbinde infarkt alanını azaltmıştır. Bununla birlikte, domuzlarda ve tavşanlarda Kariporid ile yapılan diğer çalışmalarda ise infarkt alanı azaltıcı etki gösterilememiştir. Bu karşıt çalışmalar Kariporid'in letal reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisinin farmakolojik olarak optimal tedaviye olanak vereceği görüşünü desteklememektedir. Benzer şekilde, reperfüzyon esnasında NHD inhibitörlerinin uygulanmasının miyokardiyal sersemleme üzerindeki etkileri de çelişkilidir (Du Toit ve Opie 1993; Klein ve ark. 1995; Shimada ve ark. 1996). Bununla birlikte, NHD inhibitörlerinin reperfüzyon aritmilerinde yararlı etkilerinin olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Yasutake ve ark. 1994; Aye ve ark. 1997). Örneğin, domuzlarda ve köpeklerde yapılan çalışmalarda NHD inhibisyonunun reperfüzyon ile indüklenen ventriküler fibrilasyonda yararlı etkileri gözlenmiştir (Sack ve ark. 1994; Xue ve ark. 1996).

Adenozin normal koşullarda miyokardiyumda düşük konsantrasyonda bulunur. Ancak iskemi-reperfüzyonda, ATP, ADP ve AMP gibi yüksek enerjili fosfatların hidrolize olması ile miyokardiyumdaki miktarı artmaktadır. Adenozin, miyositler, vasküler düz kas hücreleri ve nötrofillerdeki spesifik reseptörleri aracılığı ile çeşitli hücresel yanıtların oluşmasına aracılık eder. İskemik önkoşullamadaki koruyucu etkisine ilaveten reperfüzyon hasarına karşı da koruyucu etkisinin olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Köpekte koroner arter ligasyonu ile oluşturulan deneysel miyokardiyal iskemi modelinde, reperfüzyon başlangıcında intrakoroner adenozin uygulanmasının, endotel'in yapısal bütünlüğünü koruduğu, nötrofil birikimini engellediği, kardiyak fonksiyonları iyileştirdiği ve infarkt alanını azalttığı bildirilmiştir (Olafsson ve ark 1987). Adenozinin sözkonusu bu koruyucu etkisine, nötrofillerin endotele bağlanması, ve degranülasyonunu engellemesi, ve böylece nötrofil aracılıklı

süperoksitlerin oluşmasını azaltmak suretiyle aracılık ettiği düşünülmektedir (Jordan ve ark. 1999).

Miyokardiyal iskemide erken dönemde endotel disfonksiyonu gelişmekte, bununla birlikte NO aracılıklı vazodilatasyonda azalma, koroner arterlerde vazokonstriksiyon, ve reperfüzyona bağlı olarak da iskemik dokuya nötrofil göçü gerçekleşmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar gerek endojen gerekse eksojen NO'nun miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarına karşı en güçlü koruma stratejilerinden biri olduğunu göstermektedir. NO güçlü bir vazodilatördür, ve bu özelliği ile iskemi sonrası reperfüzyonda kan akımını iyileştirmek suretiyle koruyucu etkiye aracılık edebileceği öne sürülmektedir. Buna ilaveten, nötrofillerin vasküler endotele bağlanmasını engellemektedir. Ayrıca, güçlü bir süperoksit yakalayıcısıdır (Wang ve ark. 2002). NO'nun gerek önkoşullama gerekse geçkoşullama aracılıklı koruyucu etkide rol aldığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Söz konusu koruyucu etkiye PKC üzerinden veya direkt olarak mK_{ATP} kanallarının açılmasının aracılık ettiği düşünülmektedir. Bununla birlikte, NO-GC-sGMP aracılıklı koruyucu etkinin mPTP kanallarının inhibisyonu üzerinden gerçekleştiği bildirilmektedir (Rastoldo ve ark. 2007).

Statinlerin; antioksidan, antiinflamatuvar, lipid peroksidasyonunu engelleyici, NO ve prostaglandin salınımını arttırıcı etkileri ile miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu bir etki gösterdiği belirlenmiştir (Wright ve Lefer 2005). Atorvastatinin izole sıçan kalbine iskemi sonrası reperfüzyon döneminde uygulanması ile gözlenen infarkt alanındaki azalmaya esas olarak PI3K ve Akt gibi yaşamsal kinazların aktivasyonunun aracılık ettiği öne sürülmektedir (Bell ve Yellon 2003). Bununla birlikte son yıllarda yapılan benzeri çalışmalarda da, statinlerin lipid düşürücü etkilerinden bağımsız olarak, RHKK yolağını aktive etmek suretiyle miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarına karşı kardiyoprotektif etki gösterdikleri bildirilmektedir (Efthymiou ve ark. 2005).

Kardiyak glikozidler, katekolaminler ve fosfodiesteraz inhibitörleri gibi kardiyotonik ajanlar sitozolik kalsiyum düzeylerindeki siklik değişiklikleri arttırmak suretiyle kasılma veya gevşeme yanıtında artışa neden olurlar. Ancak sitozolik kalsiyum düzeyleri belirli bir değeri (optimum) aşarsa, artık kasılma ve diyastolik tonusta ilave bir artış gözlenmez, ve kalpte ritm bozukluğu oluşabilir (Blinks ve Endoh 1986). Yeni bir kalsiyum duyarlılaştırıcı ajan olan Levosimendan'ın diğer kardiyotonik ajanların aksine, miyofilamentlerin kalsiyuma olan duyarlılığını arttırmak suretiyle miyokardiyal kontraktileti arttırdığı ortaya konmuştur. Bununla birlikte K_{ATP} kanallarını açarak koroner ve sistemik vazodilatasyona neden olmaktadır. Bu özellikleri sayesinde Levosimendan, miyokardın oksijen ihtiyacını arttırmaksızın veya aritmiye neden olmaksızın pozitif hemodinamik etkiler oluşturur (Du Toit ve ark. 1999). Yapılan çalışmalar Levosimendan'ın miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarında kardiyoprotektif etki gösterdiğini bildirmektedir. İzole kobay kalbinde Levosimendan ile gerçekleştirilen farmakolojik önkoşullama ve geçkoşullama ile gözlenen infarkt alanındaki azalmanın mK_{ATP} kanallarının açılması, ve RHKK yolağının aktivasyonu üzerinden gerçekleştiği bildirilmektedir (Du Toit ve ark. 2008).

FDEIII inhibitörleri kardiyak miyositlerde sAMP'nin hidrolizini engelleyerek miyokardiyal kontraktileti arttırırlar (Silver ve ark. 1988). Ayrıca vasküler düz kasta sAMP ve sGMP'nin yıkımını engelleyerek vazodilatasyona neden olurlar (Walsh ve ark. 1995). *In vivo* koşullarda tavşanda koroner arter ligasyonu ile oluşturulan miyokardiyal iskemi modelinde, FDEIII inhibitörleri, amrinon ve milrinon uygulaması ile gözlenen infarkt alanındaki azalmanın, bu inhibitörlerin vazodilatör etkilerine bağlı olarak iskemik bölgedeki artmış koroner perfüzyondan kaynaklandığı öne sürülmektedir (Rump ve ark. 1994). FDEIII inhibitörlerinin miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarına karşı farmakolojik önkoşullayıcı olarak uygulanmasının iskemik önkoşullamaya benzer kardiyoprotektif etkilere aracılık ettiği gösterilmiştir (Nomura ve ark. 2003). Bir başka çalışmada ise, milrinon veya olprinon uygulanmasının sAMP-PKA aracılıklı yolak üzerinden kardiyoprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir (Sanada ve ark. 2001).

2.2.4. Kardiyopleji

Kalp ameliyatlarında miyokardın hasarlanmasına engel olmak ve operasyon sonrası kalbin yeterli hemodinamiyi sağlaması temel hedeftir. Miyokardiyal korunma tekniklerinin hepsi miyokardın oksijen ihtiyacı ile miyokarda sunulan oksijen miktarını dengelemeyi amaçlamaktadır. Miyokardın oksijen ihtiyacı, kalbin elektromekanik aktivitesinden, bazal metabolik hızından ve duvar geriliminden etkilenmektedir. Bu nedenle miyokardiyal korunmanın temelini, genelde potasyum ile kalbin elektromekanik olarak durdurulması (arrest), hipotermi ile sağlanan bazal metabolik hızdaki azalma ve dekompresyon oluşturmaktadır (Mauney ve Kron 1995). 1950'li yıllarda miyokardiyal korunmada hipotermi'nin önemini ortaya konmasının (Buckberg 1991) ardından potasyum infüzyonu ile sağlanan elektromekanik kardiyak arrest sayesinde operasyonların hareketsiz bir ortamda gerçekleştirilebileceği gösterilmiştir (Barner 1991). Kardiyopleji adı verilen bu yöntemin kullanılması ise kalp ameliyatlarında önemli bir dönüm noktası olmuştur.

Kardiyopleji; seçici ve kimyasal olarak kardiyak arrest sağlama tekniğidir ve ilk olarak 1955 yılında kalp cerrahisinde kullanılmıştır. Kalp birkaç saate varabilen sürelerde arrest halde tutulurken kardiyoplejik solüsyonlar miyokardiyal hasarı en aza indirmektedir. Kardiyopleji koroner bypass veya kalp kapak operasyonları sırasında aorta kros klempinin yerleştirilmesinden sonra antegrad ya da retrograd olarak uygulanmaktadır. Özellikle riskli hastalarda daha etkin bir miyokardiyal korunma için kardiyoplejinin her iki şekilde de verilmesi önerilir (Dobson 2004). Soğuk kristaloid kardiyopleji ya da kan kardiyoplejisi sıklıkla kullanılan kardiyopleji yöntemleri arasındadır. Klinikte her iki yöntemde kullanılmakla beraber kan kardiyoplejisinin kristaloid kardiyoplejisine oranla daha etkin miyokardiyal koruma sağladığı bildirilmiştir (Brat ve ark. 2004; Guru ve ark. 2006). Kardiyoplejinin etki mekanizmasının, hiperkalemi ile sağlanan hızlı diastolik arrest sonucunda enerjinin korunması ve hipotermi ile iskemik hasarın gelişiminin azaltılması ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (Hearse 1983). Kardiyoplejinin infarkt alanını azalttığı, ventrikül fonksiyonunu iyileştirdiği ve iskemik hasara bağlı olarak artan kardiyak enzim ve proinflatuar sitokin düzeylerini azalttığı belirlenmiştir (Dobson 2004).

Kardiyoplejik solüsyona kalsiyum kanal blokleri diltiazem, ADE inhibitörleri kaptopril ve lisinopril, FDEIII inhibitörü enoksimon'un ve potasyum kanal blokleri tetraetilamonyumun eklenmesi ile yapılan deneysel çalışmalarda miyokard hasarının anlamlı düzeyde azaldığı tespit edilmiş, ve buna paralel olarak kardiyoplejinin hasara karşı koruyucu etkisinde artış gözlenmiştir (Bozkurt ve ark. 1997; Çümen ve ark. 2000; Koksall ve ark. 2002). Kardiyoplejik solüsyona deforaksamin, aspartat ve glutamat solüsyonlarının ilave edildiği çalışmalarda da deforaksaminin endotel fonksiyonunu koruduğu, miyokardiyal hasarı azalttığı, aspartat ve glutamatın ise siklik asit siklusunda fosforilasyon düzeyinde miyositlerin anaerobik enerji üretimine katkıda bulunarak iskemik fazda koruma sağladığı görülmüştür (Dişçigil ve ark. 1999; Bakalım ve ark. 2000). Ayrıca, NO salınımını arttırmak amacıyla kardiyoplejik solüsyona L-arjinin veya oksidatif stresi azaltmak amacıyla ADP-lipaz sentetaz inhibitörü ya da SOD, katalaz gibi antioksidanların ilavesinin miyokardiyal hasarı azalttığı gözlenmiştir (Kızıltepe ve ark. 2004; Kazimoglu ve ark. 2004; Yamazaki ve ark. 2004). Günümüzde yapılmakta olan deneysel çalışmalarda, kardiyoplejik solüsyona NO salınımını veya sentezini arttırıcı, oksidatif stresi azaltıcı ve inflamasyonu baskılayıcı ajanlar ilave edilmekte ve böylece kalpte iskemiye karşı daha etkin bir korunmanın sağlanması hedeflenmektedir.

2.2.5. Yeni Tedavi Yöntemleri

Miyokardiyal hastalıkların tedavisinde kullanılan farmakolojik uygulamaları tamamlayıcı olarak; donör hücre transplantasyonu (Dowell ve ark. 2003; Dimmeler ve ark. 2005; Laflamme ve Murry 2005), kardiyomiyosit hücre siklusunun reaktivasyonu (MacLellan ve Schneider 2000; Anversa ve Nadal-Ginard 2002; Pasumarthi ve Field 2002), ve miyokardiyal hücre ölümünün ortadan kaldırılması gibi birçok alternatif kardiyoprotektif strateji üzerinde araştırmalar yapılmaktadır (McMullen ve Pasumarthi 2007). Bunlar arasında en fazla ilgi çekenler, halen klinik araştırmaları devam eden gen tedavisi, hücre bazlı tedavi, ve son yıllarda geliştirilen ve günümüzde deneysel hayvan modelleriyle sınırlı olan protein-bazlı ve mikro-RNA-bazlı (miRNA) rejeneratif tedavilerdir (Puceat 2008).

1970'li yıllardan günümüze kadar, miyokardiyal hasara bağlı kardiyomiyosit kaybının yerini kasılma özelliğine sahip olmayan fibroplastların alarak fibröz yapıdaki skar (yara) dokunun oluşmasına neden olduğu için, kardiyomiyositlerin mitotik proliferasyona uğramadığına inanılmaktaydı (Rezvani ve ark. 2000). Buna göre, kardiyomiyositlerin strese karşı oluşturduğu tek yanıt hipertrofi ve/veya ölümdü. Belirli miktardaki kardiyomiyosit öldüğünde geri kalan miyositlerin iş yükü artmakta ve bu artmış iş yükünü kompanse etmek için kardiyomiyositler yaklaşık iki katına kadar büyüyerek hipertrofiye uğramaktaydı. Miyokard üzerine yüklenen bu artmış iş yükü kardiyak fonksiyonların deprese olmasına ve miyokardın ihtiyacına yanıt veremez duruma gelmesine neden olmaktaydı. Bu nedenle, araştırmalar özellikle hipertrofinin mekanizmasının ve genetik kontrolünün aydınlatılması konusunda yoğunlaşmıştır (Linzbach 1960; Anversa ve Kajstura 1998).

Yıllardır bilinenin aksine, son dönemlerde yapılan insan ve hayvan çalışmalarında kardiyak miyositlerin belli bir oranda rejenere olabildiği gösterilmiştir (Anversa ve ark. 2006). Beltrami ve ark.ları insanda miyokardiyal infarktüs sonrası kardiyomiyositlerin proliferasyona uğrayabileceğini bildirmiş, ve miyokardiyal hasarın miyositlerin proliferasyonları ile geri döndürülebileceği hipotezini öne sürmüştür (Beltrami ve ark. 2001). Miyokardiyal miyositlerin proliferere olabileceği gösterildikten sonra yapılan çalışmalarda, bu döngünün farklı hücresele tedavi ve sitokinler ile hızlandırılabilceği yolunda ümit vadeden sonuçlar ortaya konmuştur. Deneysel hayvan modellerinde, kemik iliğinden alınan veya sitokinler aracılığı ile mobilize edilen kök hücreler ve iskelet kasından alınan miyoblastlar farklı yöntemlerle miyokarda verilmiş ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Anversa ve ark. 2006).

Hücre-bazlı tedavinin prensibi miyokardiyal hasara uğramış kardiyomiyositlere, proliferere ve farklılaşma yeteneği olan hücrelerin gönderilmesidir. Bu uygulama ile kalp kası hücrelerinin canlılıklarını tekrar kazanması, anjiyonezin indüklenmesi ve kardiyak mekanik fonksiyonlar üstünde olumlu bir etkiye neden olması beklenmektedir. Her ne kadar hücre bazlı tedavi kalp yetmezliği ve miyokardiyal infarktüste gelecek vadeden bir tedavi olsa da, geniş hasta gruplarında yapılan klinik araştırmalardan elde edilen ikna edici bulguların yetersizliği, potansiyel kullanımını kesintiye uğratmakta ve halen

preklinik dönemdeki hayvan deneyleriyle sınırlı kalmaktadır. (Dowel ve ark. 2003; Menasche 2003; Lee ve Makkar 2004). Kök hücre ile yapılan tedavilerde zamanlama, uygulama yolu, kullanılan hücre türü, mobilizasyonda kullanılan sitokinlerin seçilmesi çalışmaları halen sürdürülmektedir ve uzun dönem kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

Gen tedavisinde ise asıl hedef miyokardiyal hasara uğramış kalpteki revaskülarizasyon sürecidir. Tedavi anjiyojenik faktörleri kodlayan genlerin kullanılmasıyla gerçekleşir. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEBF) ve asidik fibroblast büyüme faktörü (aFBF) en çok tercih edilen proanjiyojenik genler arasındadır. Bu alandaki en büyük çalışma iskemik kasta VEBF-a121'in etkisinin çalışıldığı RAVE randomize çift kör araştırmasıdır. Ancak elde edilen sonuçlar beklendiği kadar başarılı olmamıştır (Gounis ve ark. 2005). VEBF, hipoksi ile indüklenen faktör-1 (HIF-1), veya aFBF gibi proanjiyojenik genlerin kullanıldığı benzer çalışmalarda da beklenen sonuçlar alınamamıştır (Ferrara ve Kerbel 2005). Halen klinikte VEBF, ve plasental büyüme faktörünün kombine kullanıldığı bir çalışma yürütülmektedir (Vincent ve ark. 2007). Viral vektör uygulaması ve kısa dönemde etkili proanjiyojenik faktörlerin kombinasyonunun tanımlanmasına yönelik çalışmalar ise gelecek vadetmektedir.

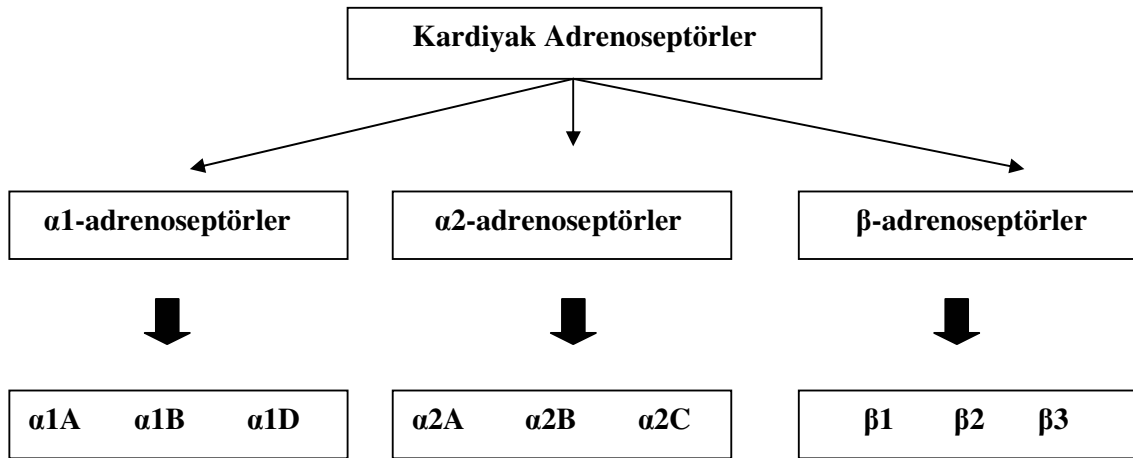
Farelerde yapılan bazı güncel çalışmalar da endojen kök hücrelerinin infarktüs sonrası ölü dokuyu yenileyebileceği (Hsieh ve ark. 2007), veya ekstrasellüler protein, periostin (Kuhn ve ark. 2007) veya insulin büyüme faktörü 1 (IBF1) (Santini ve ark. 2007) gibi ajanlara yanıt olarak kardiyomiyositlerin bölünebileceği bildirilmiştir. Ekstrasellüler matriksin bir komponenti olan periostin'in, integrin ve PI3K yolağı üzerinden hareket ederek kardiyomiyositlerin tekrar hücre siklusuna girmesini engellediği öne sürülmektedir. Bu proteinlerin hücre ölümü veya fibrozu inhibe etmekten çok proliferasyonu mu tetiklediği konusu halen tartışılmaktadır. Embriyonik kalpte miyokardiyal ve endotelyal hücre migrasyonunu sağlayan bir peptid olan Thymosin, postnatal kardiyomiyositlerde de bu özelliğini göstermektedir. Buna ilaveten, Thymosin'in vaskülojenez, anjiyojenez ve arteriyojenez gibi kardiyak damar gelişiminin tüm kilit aşamalarında önemli bir rol üstlenerek revaskülarizasyonu sağladığı bildirilmiştir (Bock-Marquette ve ark. 2004). Halen yalnızca hayvan

modelleriyle sınırlı olan protein-bazlı tedavinin kliniğe uygulanarak insan miyokardiyumunda etkinliğini kanıtlaması merakla beklenmektedir.

miRNA'lar gen ekspresyonunun negatif regülasyonunda etkili küçük RNA'lardır. Bunlardan miRNA 1, 195, 133 ve 208 kardiyak proliferasyon, hipertrofi ve patojenez süreçlerinde yer alır. Bu nedenle, kalp hastalıklarında son derece dikkat çeken yeni terapötik hedeflerdir. miRNA tedavisindeki amaç; kimyasal olarak modifiye edilerek veya kolesterol ile konjüğe edilerek dokulara penetre olması sağlanan miRNA antagomirlerini patolojik karakterdeki miRNA'lara hedeflendirmektir. Bu tedavide karşılaşılan en önemli sorunlardan biri özgünlüktür çünkü miRNA'lar birbirine çok yakın yapıdadır. Ayrıca, bir miRNA birden fazla genin ekspresyonunu regüle edebilir ve bunlardan bazıları da miyokardiyum için gereklidir. miRNA antagonistlerinin kliniğe uyarlanmasıdaki zorluklar (uygulama yolu, özgünlük, toksisitesi) in vivo gen tedavisindeki güçlükler ile benzerlik göstermektedir (van Rooij ve Olson 2007; Puceat 2008).

2.3. Kardiyak Adrenoseptörler

Sempatik stimülasyon organizmada kalp hızında artış, vasküler direncin yükselmesi, bronkodilatasyon, glukoz ve lipid metabolizmasının modülasyonu gibi bir çok fizyolojik yanıtın oluşmasına neden olmaktadır. Bu etkilere alfa (α) ve/veya beta (β) adrenerjik reseptörler (AR) aracılık etmektedir. Bugüne kadar toplam dokuz adet adrenerjik reseptör alt tipi tanımlanmıştır (Şekil 2-7). Adrenerjik reseptörler kendilerine spesifik, guanin nükleotid düzenleyici proteinler olan G-proteinlerine bağlanırlar. Bu kenetlenme sonrası gerçekleşen reseptör aktivasyonu ile çeşitli hücresel yanıtlar oluşur. Adrenerjik reseptörler kardiyovasküler sistemde, kan basıncının regülasyonu, miyokardiyal atım hızı (kronotropi), miyokardiyal kasılma gücü (inotropi), ve miyokardiyal gevşeme (lusitropi) gibi önemli fizyolojik etkilerin oluşmasına aracılık ederler.



Şekil 2-7: Adrenerjik reseptörlerin sınıflandırılması.

2.3.1. α -Adrenoseptörler

Kardiyovasküler sistemde α_1 -AR'ler vasküler tonusun, ve buna bağılı olarak kan basıncının düzenlenmesinden sorumludur. Ayrıca atrial ileti ve kardiyak aritmilerin oluşmasında da rol oynayabilirler. α_1 -AR'ler Gq aracılıklı fosfolipaz C aktivasyonu ile membran inositol fosfolipidlerin hidrolizine, ve inositol trifosfat (IP3) ve diaçilgliserol (DAG) gibi sekonder habercilerin oluşmasına neden olur. IP3 endoplazmik retikulumdan kalsiyumun salınımına neden olurken, DAG ise PKC izoformlarını aktive ederek, hücresel hedeflerin fosforillenmesi ve regüle edilmesini sağlar. α_1 -AR'lerin ayrıca fosfolipaz A2, fosfolipaz D ve kalsiyum kanalları olmak üzere çeşitli yollar üzerinden de etki gösterdiği bildirilmiştir. α_2 -AR'ler ise esas olarak Gi aracılıklı adenilat siklaz inhibisyonu üzerinden etki gösterirler (Guimaraes ve Moura 2001).

2.3.2. β -Adrenoseptörler

Beta adrenerjik reseptörler ilk olarak 1967 yılında A.M.Lands ve arkadaşları tarafından tanımlanmış, adrenaline ve noradrenaline verdikleri yanıtı göre β_1 ve β_2 -AR olmak üzere sınıflandırılmışlardır (Lands ve ark. 1967). Kalpte en yoğun olarak bulunan ve katekolaminlerin kalp üzerindeki uyarıcı etkilerinden sorumlu olan alt tip β_1 'dir. β_1 -AR'lerin aktivasyonu stimulan özellikle düzenleyici bir G proteini (Gs) aracılığı ile adenilat siklaz enzimini aktive etmekte ve hücre içi siklik adenozin monofosfat (sAMP) düzeylerinin yükselmesine neden olmaktadır. Yükselen hücre içi sAMP düzeyleri ise hücrede intrasellüler Ca^{2+} düzeylerini artırarak kalp kasının kontraktilesini arttırmaktadır. Öte yandan β_2 -AR'ler de kalp fonksiyonlarını arttırmakla beraber β_1 'lerden farklı hücre içi sinyal mekanizmalarını da aktive edebilmektedir. İnsan kalbinde β_1/β_2 -AR'lerin 70:30 oranında bulunduğu ve her iki alt tipin de kardiyak frekans ve kontraktileyi arttırdığı gösterilmiştir (Brodde 1993; Gauthier ve ark. 1996; Brodde ve Michel 1999; Lohse ve ark. 2003).

Bu reseptörleri antagonize eden β -AR blokerleri ilk kez 1970 yılında kalp yetmezliğinin tedavisinde klinikte kullanılmaya başlanmış olup günümüzde

hipertansiyon, anjina pektoris, bazı taşiaritmiler, akut miyokart infarktüsünün tedavisi ve profilaksisi, hipertiroidizm, hipertrofik obstrüktif kardiyomiyopati, feokromositoma, migren, lokal glokom tedavisi, anksiyete ve portal hipertansiyon gibi bir çok hastalığın tedavisinde yer almaktadır (Kayaalp 2005 pp. 550-566).

1980'lerin başlarında yapı ve farmakolojik profil olarak farklı üçüncü bir alt tip olan β_3 -AR'ler tanımlanmıştır (Arch ve ark. 1984; Emorine ve ark. 1989; Nahmias ve ark. 1991). İlk kez yağ dokusunda lipoliz ve termogenezi düzenlemede rolü olduğu gösterilen β_3 -AR'lerin varlığı daha sonra kalp, dalak, gastrointestinal kanal, prostat ve mesanede de gösterilmiştir. Kardiyomyositlerde $\beta_1/\beta_2/\beta_3$ olmak üzere üç tip beta adrenoseptörün de bulunduğu belirlenmiştir. Bu üç β -AR'ünde kardiyomyositlerde farklı hücre içi sinyal ileti sistemine ve fonksiyonel özelliklere sahip olduğu öne sürülmektedir (Steinberg 1999; Xiao ve ark. 1999). β_3 -AR'lerin kalpteki etkileri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bazı çalışmalar β_3 -AR stimülasyonunun Gi/NO aracılıklı bir yolak üzerinden kalpte negatif inotropik etkilere neden olduğunu göstermiştir. Örneğin, transplante insan kalplerinden elde edilen ventriküler endomiyokardiyal biyopsilerde β_3 -AR agonistleri BRL37344, CL316243, CGP12177 ve SR586111 uygulanması ile doz bağımlı negatif inotropik etkiler gözlenmiştir (Gauthier ve ark. 1996; 1998; 1999). Benzer şekilde izole köpek atriumunda (Takayama ve ark. 1993), sıçan (Barbier ve ark. 2007; Angelone ve ark. 2008) ve kobay kalbinde (Kitamura ve ark. 2000) selektif β_3 -AR agonisti BRL37344 ile negatif inotropik ve lusitropik (Angelone ve ark. 2008) etkiler bildirilmiştir. Buna göre β_3 -AR yolağının kalbin artan pozitif inotropik etkinliğini karşılayacak bir mekanizma olduğu öngörülmektedir. β_3 -AR'lerin aracılık ettiği pozitif inotropik etkiye ise esasen henüz klonlanmamış yeni bir β -AR alt tipinin (β_4) aracılık ettiği ileri sürülmektedir (Konkar ve ark. 2000; Kauman ve ark. 2001).

β -AR'lerin desensitizasyona uğradıkları bilinmektedir. Desensitizasyon, reseptörün PKA, veya G protein kenetli reseptör kinaz (GPKRK)/ β -arrestin'ler tarafından fosforile edilmesiyle gerçekleşir. Her iki mekanizmada reseptörün ilgili G proteinine bağlanmasını engeller. Ayrıca, uzun süreli reseptör stimülasyonu, reseptör sayısının azalmasına ve böylece reseptör downregülasyonuna neden olur. Yapılan

çalışmalar β_3 -AR'lerin PKA veya GPKRK ile fosforilasyona uygun yapıda olmadığını ve, bundan dolayı β_1/β_2 -AR'lerin aksine desensitizasyona uğramadıklarını göstermiştir (Rouget ve ark. 2004). Dolayısıyla sempatik sinir sisteminin uzun süreli aktivasyonu sonucu β_1/β_2 -AR yanıtta azalma gözlenirken, β_3 -AR yanıtın korunabileceği düşünülmektedir (Rozec ve Gauthier 2006). β_3 -AR'leri selektif olarak uyaran agonistler, kimyasal olarak 2 sınıfa ayrılır; BRL37344, SR58611A ve CL316243'ün dahil olduğu feniletonalaminler, CGP12177A ve siyanopindolol'ü içeren ariloksiproponalaminler. Selektif β_3 -AR agonistleri relatif etkinlik açısından BRL37344>SR58611A \approx CL316243 \geq CGP12177A şeklinde sıralanabilir (Gauthier ve ark. 1996). Ancak, bunlardan BRL37344 ve CL316243'ün düşükte olsa β_1 ve β_2 -AR'lere de afinitesi olduğu bildirilmektedir (Dolan ve ark. 1994).

Öte yandan β_3 -AR stimülasyonunun pozitif inotropik ve kronotropik etkilere aracılık ettiği de bildirilmektedir. Örneğin, in vivo koşullarda insan β_3 -AR'nin aşırı ekspresyonunun sağlandığı transgenik fare (TG β_3) modelinde yapılan bir çalışmada selektif β_3 -AR agonisti L-755,507 ile TG β_3 grubunda belirgin bir pozitif inotropik ve kronotropik etki bildirilmiştir (Kohout ve ark. 2001). Benzer şekilde izole sıçan atriumunda yapılan bir çalışmada, selektif β_3 -AR agonisti ZD7114 (10^{-9} - 10^{-5} M) ile stimülasyonunun pozitif kronotropik etkiye neden olduğu ve bu etkiye hücre içi sAMP düzeylerinin yükselmesinin aracılık ettiği bildirilmiştir. Selektif β_3 -AR antagonisti SR59230A ile gerek pozitif kronotropik etkinin gerekse sAMP düzeylerinin geriye dönmesi bu etkinin β_3 -AR'lere spesifik olduğunu göstermektedir. (Sterin-Borda ve ark. 2006). β_3 -AR'lerin kalpteki stimulan etkilerini gösteren bu çalışmalara karşın in vivo koşullarda köpeklerde yapılan bir çalışmada β_3 -AR agonistleri BRL37344, CL316243, CGP12177nin iv uygulanması ile gözlenen pozitif kronotropik etkinin sinoaortik denervasyon sonrası ortadan kalkması, bu etkinin β_3 -AR agonistlerinin vazodilatör etkisiyle ortaya çıkan hipotansiyona bağlı olarak, baroreflaks mekanizmaların aktivasyonu sonucu gerçekleştiği bildirilmiştir. (Tavernier ve ark. 1992; Berlan ve ark. 1994). Benzer şekilde, izole perfüze köpek atriumunda β_3 -AR agonisti BRL37344 ile gözlenen pozitif inotropik ve kronotropik etkilerin propranolol ve bisoprolol ile geriye dönmesi, sözkonusu bu etkilerden β_3 -AR'lerin değil β_1 -AR'lerin sorumlu olduğunu düşündürmüştür (Takayama ve ark. 1993). Bununla birlikte, köpeklerde in vivo

koşullarda β_3 -AR agonistleri BRL37344 ve CL316243 uygulanmasının, β_1/β_2 -AR antagonisti varlığında bile belirgin pozitif inotropik, kronotropik ve periferik vazodilatasyona neden olduğu gösterilmiş ve β_3 -AR'lerin stimulan etkileri desteklenmiştir (Shen ve ark. 1996). Kardiyak β_3 -AR'lerin kalp üzerindeki stimulan ya da inhibitör etkilerini gösteren bu in vivo ve in vitro çalışmaların yanısıra kobay atriumunda β_3 -AR agonistleri SR58611A (Bianchetti ve Manara 1990) ve CL316243 (Dolan ve ark. 1994) ile yapılan çalışmalarda gerek kontraktilite gerekse kalp atım hızında herhangi bir değişiklik bildirilmemiştir.

β_3 -AR agonistlerin kardiyak kontraktilite ve atım hızı üzerindeki etkilerine ilaveten damar düz kasındaki direkt gevşetici etkisinin olduğu gerek in vivo gerekse in vitro koşullarda gösterilmiştir. İn vivo koşullarda köpeklerde SR58611A'in uygulanması doz bağımlı periferik vazodilatasyona neden olmuş, ve bu etkinin β_1/β_2 -AR antagonisti nadolol veya sinoaortik denervasyon ile geriye dönmemesi sözkonusu vazodilatör etkiye β_3 -AR stimülasyonunun aracılık ettiğini göstermiştir (Donckier ve ark. 2001). Benzer şekilde β_3 -AR agonistleri BRL37344, CL316243 ve CGP12177A'nın in vivo koşullarda arteriyel kan basıncını düşürdüğü bildirilmiştir (Tavernier ve ark. 1992; Berlan ve ark. 1994; Shen ve ark. 1996). İn vitro çalışmalarda da in vivo sonuçları destekleyen bulgular elde edilmiştir. Torasik aortada β_3 -AR agonisti BRL37344'ün uygulanması epinefrin ile prekontrakte olmuş arteryal halkalarda konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtına neden olmuştur (Oriowo 1994). Benzer gevşeme yanıtları bir başka β_3 -AR agonist SR58611A ile de gözlenmiş, ve bu etki β_1/β_2 -AR antagonisti nadolol varlığında değişmemiş, ancak selektif β_3 -AR antagonisti SR59230A ile antagonize olmuştur. Öte yandan, deendotelize edilen arterlerde β_3 -AR aracılıklı gevşeme yanıtının belirgin olarak azalması β_3 -AR'lerin esas olarak damar endotelinde bulunduğunu düşündürmüştür (Trochu ve ark. 1999).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, insan koroner mikroarterlerinde de β_3 -AR'lerin varlığını göstermiştir. Endotelin-1 ile prekontrakte edilen insan mikroarterlerinde selektif β_3 -AR agonist BRL37344 ile doz bağımlı olarak elde edilen gevşeme yanıtının β_1/β_2 -AR antagonisti nadolol ile inhibe olmaması, ancak $\beta_1/\beta_2/\beta_3$ -AR antagonisti bupranolol ile tamamen geriye dönmesi insan koroner mikroarterlerinde gözlenen bu

gevşetici etkiye β_3 -AR'lerin aracılık ettiğini göstermektedir. Etki mekanizmasına yönelik olarak gerçekleştirilen çalışmalarda ise damarlardaki β_3 -AR aracılıklı gevşetici etkiye NO salınımı ve/veya β_3 -AR stimülasyonu ile oluşan damar hiperpolarizasyonunun aracılık ettiği bildirilmiştir. (Dessy ve ark. 2004; 2005). İzole sıçan aortasında yürütülen bir başka çalışmada, β_3 -AR stimülasyonu ile gerçekleşen damar hiperpolarizasyonu sonucu oluşan gevşetici etkinin K^+ kanal inhibitörleri karbidotoksin ve apamin ile ortadan kalkması, β_3 -AR aracılıklı bu etkiye kalsiyum ile aktive olan potasyum kanallarının aracılık ettiğini göstermiştir (Rautureau ve ark. 2002).

Perinefritik hipertansif köpek modelinde yapılan deneysel bir çalışmada selektif β_3 -AR agonisti SR58611A'nın kontrol grubuna paralel düzeyde hipotansif etkisinin olduğunu ve kan basıncının uygulama sonrasında normal düzeylere indiği gösterilmiştir. (Donckier ve ark. 2001). Bu bağlamda β_3 -AR stimülasyonunun aracılık ettiği vazodilatör etkinin hipertansiyon gibi patolojik durumlarda da korunduğu öne sürülerek β_3 -AR stimülasyonunun vasküler kaynaklı patolojilerde yararlı olabileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte Nebivolol'ün koronerler üzerindeki β_3 -AR aracılıklı vazodilatör etkisinin miyokardiyal iskemi veya kardiyak yetmezliğin tedavisinde yararlı olabileceği öne sürülmüştür (Dessy ve ark. 2005).

β_3 -AR'lerin β_1 ve β_2 -AR'lerin uyarılması için gerekenden daha yüksek düzeyde katekolaminler ile stimüle olduğunun gösterilmesi ise bu reseptörlerin yedek reseptörler olabileceğini düşündürmüş ve stres vs gibi durumlarda aktive oldukları öngörülmüştür (Pelat ve ark. 2003). Kalp yetmezliği, diyabet, hipertansiyon gibi çeşitli patolojilerde de β_3 -AR'lerin up-regüle olması bu görüşü desteklemektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda kalp yetmezliği (Moniette ve ark. 2001), diyabet (Dincer ve ark. 2001) hipertansiyon (Donckier ve ark. 2001) gibi çeşitli patolojilerde β_3 -AR'lerin upregüle olduğu gösterilmiştir. Buna karşın patolojik durumun şiddetine bağlı olarak, β_1 -AR lerin düzeyinde %50-60'a varan azalma olduğu, β_2 -AR düzeylerinde ise değişme olmadığı ancak Gs proteinleriyle kenetlenmesinin bozulduğu gösterilmiştir (Kiuchi ve ark. 1993; Engelhardt ve ark. 1996). β_3 -AR stimülasyonunun kalpte negatif inotropik etkilere aracılık ettiğini destekleyen çalışmalarda, klinik açıdan β_3 -AR agonistlerinin çeşitli

patolojik durumlarda upregüle olmasını negatif inotropik etkide beklenen artış nedeniyle kardiyak disfonksiyona aracılık edebileceği düşünülmüş, ve bu konudaki çalışmalar yoğunlaşmıştır. Örneğin, Cheng ve ark'larının köpekte oluşturdukları deneysel kalp yetmezliği modelinde β_3 -AR gen ekspresyonu ve protein düzeylerinin up regüle olduğu, ve selektif β_3 -AR agonist BRL37344 (10^{-8} M) ile β_3 -AR stimülasyonuna fonksiyonel yanıtta artış olduğu gösterilmiştir (Cheng ve ark. 2001). Sıçan kalp yetmezliği modelinde yapılan bir çalışmada ise β_3 -AR stimülasyonunun gerek sağlıklı kalpte gerekse kardiyak yetmezlik modelinde kardiyomiyositlerde L-tipi kalsiyum kanallarını inhibe ettiği gösterilmiş ve bu inhibisyonun kalp yetmezliğinde daha da arttığı belirtilerek bu etkiye kısmen Gi aracılıklı NO bağımlı bir yolağın aracılık ettiği öne sürülmüştür (Zhang ve ark. 2005). Bununla birlikte, reseptör upregülasyonunun gerçekleşmesine rağmen fonksiyonel yanıtın gözlenmediği çalışmalar da mevcuttur. İnsan sol ventrikül biyopsilerinde yapılan bir çalışmada, kalp yetmezliğinde β_3 -AR protein miktarlarının 2-3 kat arttığı gözlenmiştir. Paralel olarak, β_3 -AR'lerin kenetlendiği ve negatif inotropik etkilerine aracılık ettiği düşünülen Gi proteinlerinin de benzer düzeyde yükseldiği ancak, selektif β_3 -AR agonist BRL37344 (10^{-6} M) uygulaması ile negatif inotropik etkide beklenen artışın gözlenmediği belirlenmiştir (Monioette ve ark. 2001).

2.3.3. Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarında β -AR'lerin Patofizyolojik Rolü

Çeşitli çalışmalarda eksojen katekolaminlerin önkoşullama uyararı olarak verildiğinde kalp üzerinde koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Örneğin, sıçanlarda uzun süreli iskemi periyodu öncesinde kısa süreli noradrenalin veya isoprenalin uygulanmasının iskemi sonrasında oluşan kardiyak disfonksiyona karşı koruma sağladığı belirlenmiştir (Banerjee ve ark. 1993; Asimakis ve ark. 1994). β_1/β_2 -AR agonistlerin kalbin iş yükünü arttırmasına bağlı olarak gelişen iskeminin, iskemik önkoşullamanın iskemik fazına benzer bir etki gösterebileceği ve gözlenen koruyucu etkiye aracılık edebileceği ileri sürülmüştür. Benzer şekilde, izole perfüze sıçan kalbinde yapılan bir başka çalışmada, L-noradrenalinin iskemik önkoşullamayı taklit ederek iskemi sonrası bozulan kardiyak fonksiyonlarda düzelme sağladığı bildirilmiştir.

Sözkonusu koruyucu etki reperfüzyonda artmış koroner akım ile de ilişkilendirilmiştir (Hearse ve Sutherland 1999). Bir başka çalışmada da, β -AR agonisti izoprenalin'in izole kobay atriumunda oluşturulan iskemi sonrasında ortaya çıkan kardiyak fonksiyon değişikliklerini önkoşullamaya benzer şekilde geri döndürdüğü gözlenmiştir (Yates ve ark. 2003). İzole sıçan kalbinde yapılan bir diğer çalışmada, iskemi öncesi kısa süreli isoproterenol veya noradrenalin uygulanması ile kardiyak disfonksiyonlarda sağlanan düzelmeye CK enzim düzeylerinin de azalmasının eşlik ettiği ve böylece fonksiyonel bulguların biyokimyasal veriler ile de desteklendiği bildirilmiştir. Non-selektif β_1/β_2 -AR agonistleri ile iskemi-reperfüzyon hasarına karşı sağlanan koruyucu etkinin non-selektif β -AR antagonisti timolol ile ortadan kalkması bu etkide β_1/β_2 -AR'lerin rol oynayabileceğini göstermektedir (Nasa ve ark. 1997). Etki mekanizmasına yönelik olarak yapılan bir çalışmada ise iskemi öncesi isoproterenol uygulanması ile elde edilen kardiyoprotektif etkinin PKC inhibitörü polimiksin B varlığında ortadan kalkması bu koruyucu etkiye, iskemik önkoşullamaya benzer şekilde PKC aracılıklı yolların aktivasyonunun aracılık ettiğini öne sürmektedir. İskemi öncesi kısa süreli isoproterenol uygulanması ile gözlenen belirgin pozitif inotropik ve kronotropik etkiden yola çıkarak hücre içi artmış kalsiyum düzeylerinin fosfolipaz C'yi stimülasyonu üzerinden PKC'yi aktive ederek kardiyoprotektif yolları harekete geçirebileceği bildirilmektedir (Yabe ve ark. 1998). İzole sıçan kalbinde yapılan bir başka çalışmada ise endojen katekolaminlerin serbetlenmesi sonucu meydana gelen sAMP düzeylerindeki siklik değişikliklerin ve PKA aktivitesinin, önkoşullamada β_1/β_2 -AR'lerin desensitizasyonuna aracılık ederek iskemiye karşı koruma sağlayabileceği öne sürülmüştür (Lochner ve ark. 1999). Ayrıca β_1/β_2 -AR agonistler ile indüklenen pozitif kronotropik etkinin NO üretilmesi üzerinden de koruyucu etki gösterebileceği bildirilmektedir (Ferdinandy ve ark. 1996; 1997). Bir başka çalışma da isoproterenol uygulanarak gerçekleştirilen önkoşullamada gözlenen kardiyoprotektif etkinin gerek non-selektif β -AR antagonist alprenolol gerekse p38MAPK inhibitörü SB203580 ile ortadan kalkması, β -AR aracılı bu koruyucu etkiye p38MAPK proteininin aktivasyonunun aracılık ettiğini göstermiştir. Bu etkinin kalsiyum antagonisti verapamil ile kısmen geriye dönmesi, hücre içi artmış kalsiyum düzeylerinin muhtemelen p38MAPK'i aktive etmek suretiyle β -AR aracılıklı önkoşullamada gözlenen kardiyoprotektif etkiye aracılık ettiğini düşündürmüştür (Marais ve ark. 2001).

Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda kronik olarak endojen katekolamin serbestlenmesine bağlı β_1 -AR stimülasyonunun kardiyomiyositlerde hipertrofi ve apoptozise neden olurken, β_2 -AR stimülasyonunun tam tersi kardiyoprotektif etkilere neden olduğu bildirilmektedir (Xiao ve ark. 2004). β_1 -AR geni silinmiş (knockout) ve β_2 -AR knockout farelere isoprenalin uygulanması sonrasında β_2 -AR knockout farelerde daha yüksek oranda ölüm ve miyosit apoptozisi gözlenmesi β_2 -AR stimülasyonunun kardiyoprotektif etkisini desteklemektedir (Patterson ve ark. 2004). Benzer şekilde, isoprenalinin önkoşullayıcı etkisinde sağlanan fonksiyonel iyileşmenin de β_1 -AR ve β_2 -AR üzerinden gerçekleştiği, ancak oluşan infarkt alanı veya yükselen CK düzeylerinin selektif β_1 -AR antagonisti ICI118551 uygulanması ile azaltıldığı gösterilmiştir (Frances ve ark. 2003). Bu bulgularda kardiyak disfonksiyona bağlı olarak kalpte gelişen hücresel bozukluklarda β_1 -AR'lerin rolünün olabileceğini göstermektedir. β_1 -AR'lerin proapoptotik β_2 -AR'lerin ise antiapoptotik etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Communal ve ark. 1999; Zhu ve ark. 2001). In vitro çalışmalara paralel olarak, transgenik hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda da benzer bulgular elde edilmiş ve β_1 -AR'lerin kenetlendiği Gs proteininin aşırı ekspresyonunun kardiyomiyositlerdeki apoptozisi arttırdığı gösterilmiştir (Bisognano ve ark. 2000). β_2 -AR'lerin ise p38MAPK'ı stimüle ederek (Communal ve ark. 2000) veya Gi aracılıklı Akt aktivasyonu üzerinden (Zhu ve ark. 2001) antiapoptotik etki gösterdiği ileri sürülmüştür. β_1 -AR'lerin proapoptotik etkileri ise ROR (Remondino ve ark. 2003) ve CAMKII'nin aktivasyonu (Zhu ve ark. 2003) ile ilişkilendirilmiştir. β_1 -AR stimülasyonu ile gerçekleşen kardiyak apoptozis ve hipertrofinin büyük ölçüde PKA aktivasyonundan bağımsız olduğu bildirilmektedir (Bisophric ve ark. 1992; Morisco ve ark. 2000; Zhu ve ark. 2003).

Öte yandan, farmakolojik geçkoşullama ajanı olarak reperfüzyon esnasında bisoprolol (Gao ve ark. 2000) ve metaprolol (Feuerstein ve ark. 1998) gibi β_1 -AR selektif antagonistlerin uygulanmasının iskemi reperfüzyona bağlı miyokardiyal hasarı ve infarkt alanını azalttığı gözlenmiştir. Buna göre iskemik kalpte β_1 -AR aracılığıyla oluşan kardiyak stimülasyonun reperfüzyona bağlı miyokardiyal hasarı arttırdığı görülmektedir. Bu veriler doğrultusunda, genel olarak β_1 -AR aktivasyonunun farmakolojik önkoşullamada kardiyak fonksiyonlar üstünde yararlı iken geçkoşullamada

zararlı olduğu β_2 -AR aktivasyonunun ise her iki durumda da yararlı etkilerinin olduğu düşünölmektedir.

β_1 ve β_2 -AR'lerin miyokardiyal iskemi reperfözyon patojenezindeki rolü yaygın olarak incelenmesine rağmen, literatürde β_3 -AR'lerin bu patolojideki rolünü inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Selektif β_1 -AR blokörü ve parsiyel β_3 -AR agonisti olarak tanımlanan Nebivolol'un koroner arterler üzerinde β_3 -AR aracılıklı vazodilatör etkisinin miyokardiyal iskemi-reperfözyonda yararlı olabileceğini öne süren çalışmalar dışında, selektif β_3 -AR agonistlerinin etkisini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır (Dessy ve ark. 2004; 2005).

2.4. Kalp Üzerinde Yapılan Çalışmalar ve Langendorff İzole Perföze Kalp Modeli

EKG, ventrikül duvar kalınlığı ve ejeksiyon fraksiyonunun ölçölmesi halen klinikte kalp hastalıklarının teşhisinde kullanılan major yöntemler arasındadır (Paton 1984). Ancak, bu veriler kalp hastalıklarının moleküler mekanizması hakkında bilgi vermemektedir. Öte yandan, etik kurallar, hastalarda ve gönüllü sağlıklı bireylerde yapılan kardiyovasküler çalışmaların sayısını ve alanını sınırlamaktadır. NMR ve PET3 gibi non-invazif teknikler sayesinde kardiyak metabolizma, fonksiyon ve koroner akım hakkında bilgi sahibi olunurken, insanda yürütölen çalışmalar genelde elektrokardiyografik araştırmalar veya kardiyovasküler hasarın göstergeleri olan LDH, çeşitli sitokinler, katekolaminler, CK, Troponin-I veya Troponin-T düzeylerinin periferik dolaşımdan alınan numunelerde analiz edilmesiyle sınırlı kalmaktadır.

Bölgesel veya global kasılma fonksiyonlarının ölçümü, biyokimyasal ve morfolojik analizler için açık kalp ameliyatları esnasında doku örneklerinin alınması mümkündür. Ancak elde edilen materyal ve patolojik durumun heterojenliğinin yanısıra normal doku örneklerinin bulunmasının zorluğu da araştırmada karşılaşılan dezavantajlar arasında yer almaktadır. Özellikle post-mortem veya kalp transplantasyonundan elde edilen kalplerden ancak sınırlı sayıda olmak üzere yararlanılmaktadır (de Jong ve ark. 1990). İzole insan kalplerine yerleştirilen

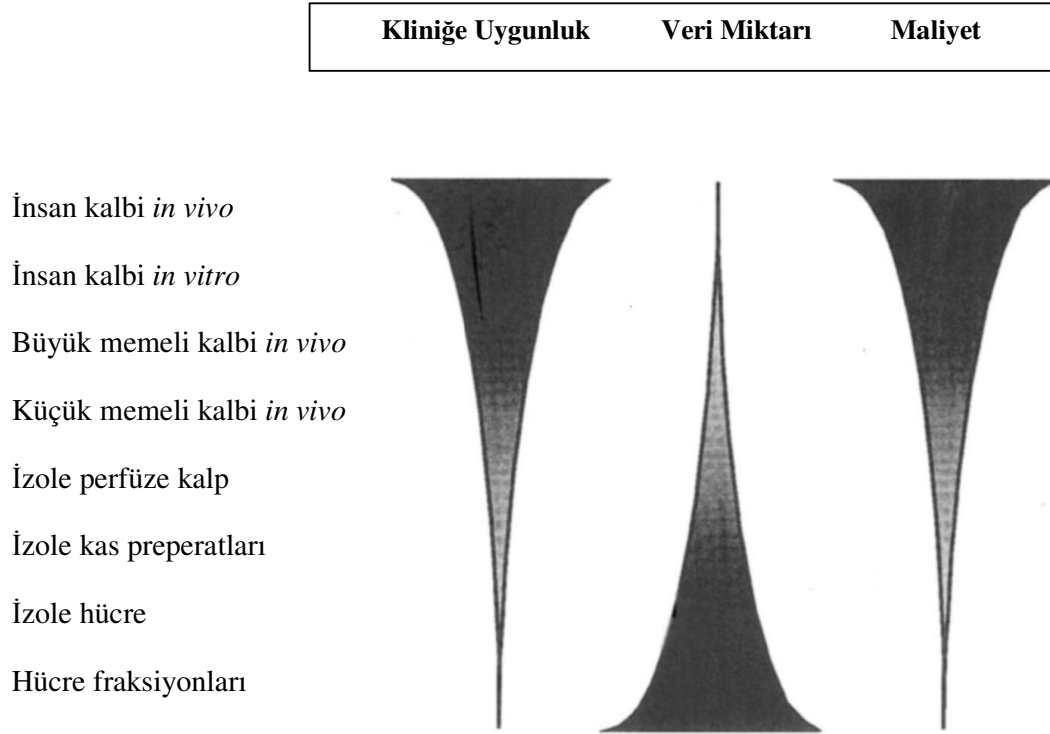
intraventriküler balon sayesinde sistolik ve diyastolik basınç ölçümleri yapılabilir, çeşitli biyopsi örnekleri alınabilir, arteriyovenöz farklılıkları tayin edilebilir ve en önemlisi de in vivo koşullarda hayatı tehdit edici özellikte olan, kardiyak arrest, ağır iskemi veya aritmiler gibi çeşitli uygulamalar kolayca gerçekleştirilebilir. Fonksiyonel çalışmaların haricinde kronik morfolojik hasar gibi çeşitli biyokimyasal tayinlerde yapılabilir. Aterom, plak yırtılması ve infarktüs alanındaki önemli bilgiler postmortem dokular üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda elde edilmiştir. Ancak, tıpkı hayvan çalışmalarında olduğu gibi izole insan kalbinin de laboratuvar ömrü son derece kısadır ve kronik çalışmalar için uygun değildir.

In-vitro insan kalbi çalışmaları yalnızca tüm kalp ile sınırlı değildir. Genellikle rutin kalp ameliyatları esnasında atılan atrium, trabekül veya ventrikül dokularından da yararlanılmaktadır (Walker ve ark. 1995). Ancak hayvan çalışmalarında olduğu gibi, bu dokuların perfüzyonu da mümkün değildir ve gerekli oksijen ile besin alımı yalnızca süperfüzyon ile gerçekleştirilebilmektedir. Dolayısıyla iskemi veya reperfüzyon tam olarak taklit edilememektedir. Ayrıca doku kalınlığı arttıkça, dokunun içine perfüzyonun nüfuz etmesi zorlaşacağından, iskemik bir öze sahip heterojen bir preparat oluşmaktadır. Bu nedenle bu dokular morfolojik veya metabolik çalışmalardan çok mekanik fonksiyonlarının ölçülmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca, insan atrium ve ventrikül miyositlerinden özellikle patch clamp tekniğinin uygulanmasında, kalsiyum gibi çeşitli iyonların kanal aktivitesinin, dağılımının ve hareketinin tayini gibi çeşitli elektrofizyolojik çalışmalarda da yararlanılmaktadır (Li ve ark. 1994). Özetlemek gerekirse; insan kalbinde yapılan gerek in vivo gerekse in vitro çalışmalarda; başta etik faktörler olmak üzere, elde edilen materyalin tazeliği, heterojenitesi, normal kontrol doku bulmanın zorluğu, izole kalbin kısa sürede bozulması, dokuların perfüzyona tabi olmayışı, hücre izolasyonunun son derece zor ve bulguların tekrarlanabilirliğinin güç olması, az sayıda materyal buna karşın yüksek maliyet gibi çeşitli nedenlerden dolayı kardiyovasküler alandaki çalışmalar deney hayvanlar üzerinde yoğunlaşmıştır (Hearse ve Sutherland 2000).

Her ne kadar hayvan çalışmaları genellikle sıçan, tavşan, kobay ve fare üzerinde yoğunlaşsa da sınırlı sayıda olmak üzere domuz, köpek gibi büyük memeli hayvanlarla

da da çalışmalar mevcuttur. Özellikle in vivo koşullarda, insana yapısal benzerliğinden dolayı tercih edilen başta domuz ve köpek olmak üzere, büyük memeli hayvanlarda, uyanık veya anestezi altında, açık veya kapalı cerrahi işlemler gerçekleştirilebilir (Hearse ve Yellon 1984). Hayvan çalışmalarının en önemli avantajları, insan çalışmalarından sonra gelen; en fizyolojik ve/veya kliniğe uygun, kronik çalışmalara olanak veren, insanda gerçekleştirilen ve/veya etik nedenlerden dolayı gerçekleştirilemeyen tüm teknik ve ölçüm metotlarının uygulanabilmesidir. Ancak, bir çok hayvanda koroner oklüzyon ile aniden sağlıklı dokunun iskemiyeye maruz kalması, insanda iskeminin oluşum ve gelişim sürecine etki eden çeşitli vasküler, genetik ve çevresel faktörler gibi kompleks olayları içermediğinden, tam olarak kliniği yansıttığı söylenemez. Bu nedenle hayvan çalışmalarında başarılı olduğu gösterilen birçok ilaç insan üzerinde başarılı bulunmamıştır (Hearse 1988). Büyük memeli hayvanlardan alınan dokularda yapılan in vitro çalışmalar ise gerekli ekipman ve sistemin hantallığından ve kullanımının zor olmasından dolayı pek fazla tercih edilmemektedir.

Normal kardiyak fonksiyonların incelendiği ve çeşitli kardiyovasküler hastalıkların etiyojisi ve tedavi stratejilerinin araştırıldığı deneysel çalışmalarda, sıçan, tavşan, kobay ve fare izole kalp preparatlarının kullanılmasıyla elde edilen bulgular kantitatif olarak daha baskın görülmektedir (Sutherland ve Hearse 2000). Bu bağlamda, izole kalp preparatının kan veya kristoloid çözeltisi ile Langendorff (Langendorff 1895 pp. 291-332) veya çalışan-kalp sisteminde (Neely ve ark. 1967) perfüzyonu, kardiyak cerrahide kullanılan anti-iskemik koruyucu bir çok uygulamanın araştırılması ve geliştirilmesi, geniş spektrumlu çeşitli anti-iskemik veya anti-aritmik ilaçların etkilerinin taranmasına önemli katkıda bulunmuştur. Genel olarak, deneysel modellemede insan dokusundan uzaklaşıldıkça, deney sayısı, kalitesi ve tekrarlanabilirliği artmakta, maliyet ve sonuca ulaşma zamanı azalmakta, buna karşın örneğin iske mi gibi bir hastalık prosesi çalışma konusu ise, deneysel modelin insana uygunluğu azalmaktadır. İzole perfüze kalp modeli, bu anlamda elde edilen bulguların güvenilirliği ve kliniğe uygunluğu arasında optimal bir denge sağlaması açısından tercih edilmektedir. İzole perfüze kalp çalışmalarının da en sık kullanılan deney hayvanı ise sıçandır (Şekil 2-8).



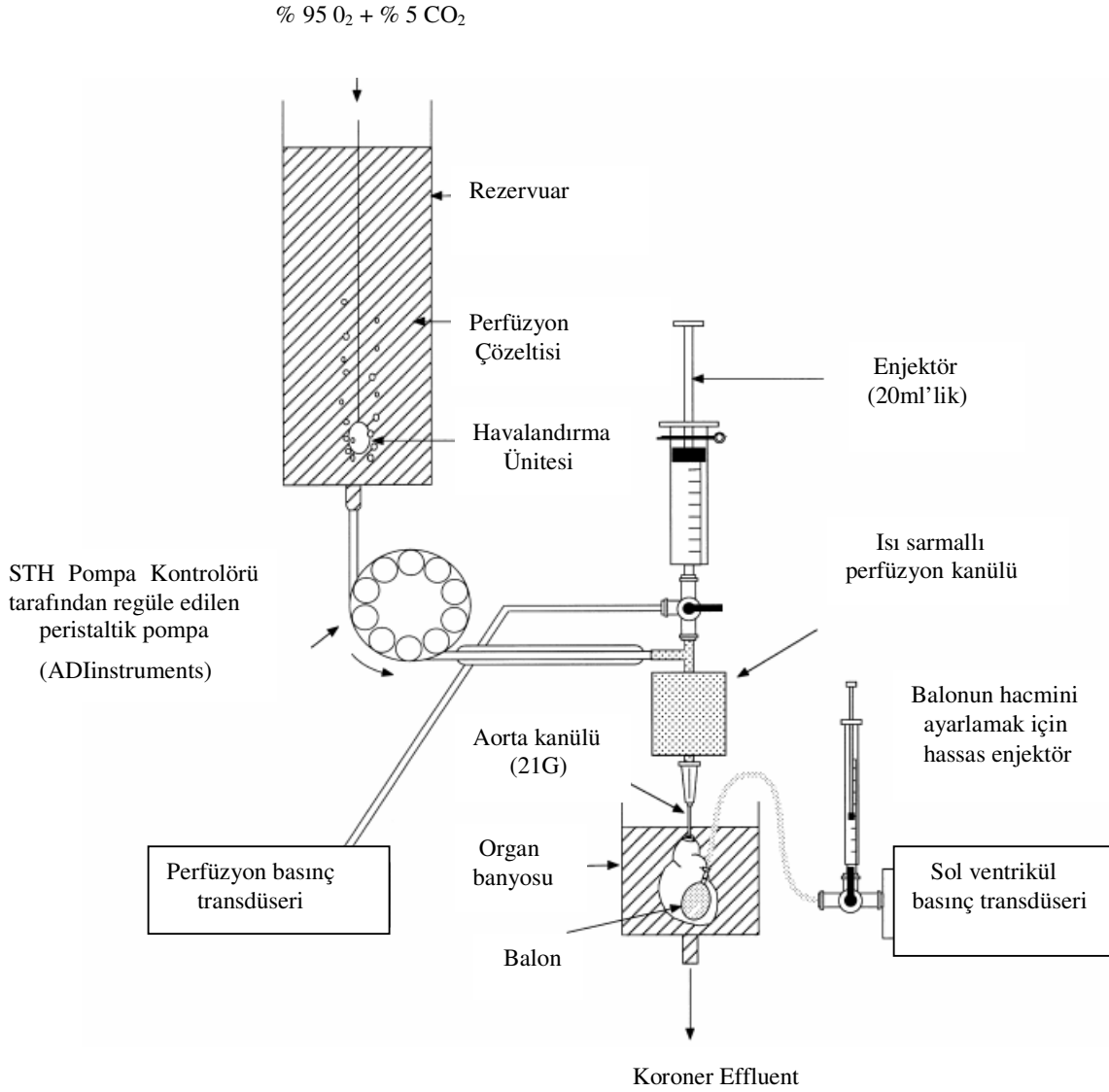
Şekil 2-8: Çeşitli deneysel modellerin kliniğe uygunluğu, elde edilen veri miktarı ve maliyeti arasındaki ilişki – Hearse (2000)'den değiştirilerek.

Langendorff izole perfüze kalp sistemi günümüzde çeşitli ilaçların kalp üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Her ne kadar; nörohumoral regülasyonun olmayışı, yüksek koroner akım, ve ödem oluşma riski gibi bir takım dezavantajları olsa da preparatın avantajları göz önüne alındığında kardiyovasküler araştırmacılar tarafından halen en çok tercih edilen metod olma özelliğini korumaktadır. Pratikte, özellikle küçük memeli hayvanlardan elde edilen izole kalp, tekrarlanabilir, kısa sürede yüksek sayıda denekte çalışmaya olanak sağlayan ve düşük maliyet gerektiren bir preparattır. Bu ölçümlerin; diğer organların, sistemik dolaşım ve dolaşımdaki nörohormonal faktörler gibi çeşitli periferik etkilerin yokluğunda yapıyor olması, periferik yanıtı kardiyak yanıtı ayırt etmeye olanak vermesi açısından araştırmaya yönelik önemli bir avantaj sağlarken, in vivo koşullardan uzaklaşılması ise bir dezavantaj olarak kabul edilebilir. Bununla birlikte, izole kalbin denerve olması da kardiyak stimülasyonun sempatik ve vagal stimülasyondan ayrılmasına olanak sağlamaktadır (Skrzypiec-Spring ve ark. 2007).

İzole perfüze memeli kalp preparatı esas olarak izole perfüze kurbağa kalbi temel alınarak geliştirilmiştir. İzole perfüze kurbağa kalp preparatı ilk olarak 1866 yılında Elios Cyon tarafından ortaya konmuş (Zimmer 1998; 1999; 2000), ardından 1897 yılında Oscar Langendorff isimli bir Alman bilim adamı tarafından geliştirilerek, izole perfüze memeli kalp preparatı tanımlanmıştır (Langendorff 1895 pp. 291-332; Taegtmeier 1995; Zimmer 1998; 2000). 19. yüzyılın son döneminden başlayarak 20. yüzyıla damgasını vuran bu metod, kalp fizyolojisinin aydınlatılmasında başlangıç noktası olarak kabul edilir. Sıcaklık, oksijen ve kalsiyum iyonlarının kalbin kasılma fonksiyonundaki rolü, atriumlardaki kardiyak elektriksel faaliyetlerin orijini, vagus stimülasyonunun negatif kronotropik etkisi, ve vagus sinirindeki asetilkolin aracılıklı kimyasal impuls iletimi gibi günümüzde kalp fizyolojisine temel oluşturan bir çok bilgi bu metod sayesinde edinilmiştir (Skrzypiec-Spring ve ark. 2007).

Oscar Langendorff'un ismiyle anılan izole perfüze kalp metodu, günümüze gelene kadar birçok modifikasyona uğramış olsa da temel prensibi halen geçerliliğini korumaktadır. Bu metod esas olarak kan veya kristalloid perfüze çözeltisinin, assendan aortanın kanülasyonu aracılığıyla kalbe gönderilmesi esasına dayanmaktadır. Assendan

aortun izolasyonu ve kanülasyonunu takiben belirli bir basınçla verilen perfüzyon çözeltisinin aort kapaklarını kapatması sonucu sıvı sol ventriküle gidemez, ancak sağ ve sol koroner arterler aracılığıyla koroner dolaşımı perfüze eder. Ardından koroner sinüsten önce sağ atriuma sonrada pulmoner arter yoluyla dışarı atılır. Kalbin normal çalışma prensibinden farklı olan bu yöntem retrograd (ters) akım olarak adlandırılır (Doring ve Dehnert 1987; Zimmer 2000). Langendorff preparatı bu yönüyle perfüzyonun sol atriuma boşaltıldığı ve koroner perfüzyonun kalbin kendi kasılma gücüyle gerçekleştiği çalışan kalp modelinden ayrılır (Neely ve ark. 1967). Langendorff izole perfüze kalp sisteminde, kalp global iskemiye sokulabildiği gibi genellikle koroner arter oklüzyonu ile bölgesel iskemi de oluşturulabilir. Ayrıca hipoksi, anoksi, aritmi veya kardiyopleji gibi çeşitli uygulamalar gerçekleştirilebilir (Şekil 2-9).



Şekil 2-9: Sabit basınçlı / akımlı Langendorff izole perfüze kalp sistemi – Sutherland ve ark. (2003)'den değiştirilerek

Langendorff izole kalp sisteminde perfüzyon sabit basınç veya sabit akım ile gerçekleştirilebilmektedir. 1939 yılında Katz orijinal olarak Langendorff tarafından tanımlanan sabit basınçlı izole perfüze kalp metodunu modifiye ederek, perfüzyonu sabit basınç yerine sabit akım ile uygulamıştır. Akımı sabit tutmak suretiyle, basınçtaki değişiklikleri kolayca kaydetmiş ve bunu koroner vasküler rezistansın bir göstergesi olarak kullanmıştır. Teknikteki bu değişikliğin en önemli dezavantajı otopregülasyon mekanizmalarının devre dışı bırakılmasıdır. Ancak ilaçların vazoaaktif etkilerinin değerlendirilmesinde kolaylık sağlanması, deneysel olarak ilaç uygulamasını basitleştirmesi, ve istenen konsantrasyonda hassas ilaç uygulamasına olanak vermesi gibi çeşitli avantajları da vardır. Bu sistem sayesinde birçok ilacın koroner dolaşımdaki etkisi araştırılmıştır (Broadley 1979).

Deneysel gereklilikler esas alındığında sabit basınç veya sabit akım ile perfüzyonun kendine göre avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Bu çalışmalarda araştırmacıların özellikle merak ettiği husus; düz kasın mekanik fonksiyonunun bir göstergesi olan koroner arter çapının ortalama değerinde meydana gelen değişikliklerdir. Bu değişkenin direkt olarak ölçülmesi zor olduğundan düz kasın mekanik fonksiyonunun belirlenmesinde, akımın oluşturduğu dirençten yararlanılmaktadır. Koroner perfüzyon basıncı ile doğru, koroner akım ile ters orantılı olan bu değer, her iki parametreden birinin kullanılmasıyla hesaplanabilir. Matematiksel bir bakış açısıyla bakıldığında hangi parametrenin sabit, hangisinin değişken olduğunun bir önemi yoktur. Ancak fizyolojik açıdan değerlendirildiğinde, sabit akım ile perfüzyonda, otopregülatör mekanizmalar ortadan kalktığından, kalbe giden perfüzyon miktarı kalp atım hızı veya kasılmadaki değişiklikler veya iskemi gibi bazı patolojik durumlara bağlı olarak değişmez (Skrzypiec-Spring ve ark. 2007). Örneğin; enerji ve oksijen kullanımını artıran taşikardi veya pozitif inotropik/kronotropik etkili bir ilaç uygulaması sonrasında akım, değişen bu duruma kendini adapte edemez, ve adenosinin serbestlenmesi ile koroner rezistans azalır. Bu durum kendini perfüzyon basıncının düşmesiyle gösterir, ancak akım sabit olduğundan, kalbe ilave bir oksijen ve enerji sağlanamaz ve bu da relatif bir iskemiye neden olur. Sabit akımlı sistemler özellikle vazoaaktif özellikteki ilaçların etkilerinin araştırılmasında tercih edilmelidir. Bu yöntem inotropi veya kronotropiyi etkileyen veya iskemi-reperfüzyon gibi daha karmaşık patolojik

durumların etkilerinin incelendiği koşullarda daha az avantajlı olabilir. Dolayısıyla izole perfüze kalp çalışmalarında sabit basınçlı sistemlere öncelik verilmesinin daha uygun olduğu öngörülmektedir (Stefan ve ark. 2005 pp. 155-172; Skrzypiec-Spring ve ark. 2007).

Öte yandan, Langendorff izole perfüze kalp modeli çalışmalarında olası birtakım dezavantajlar konusunda araştırmacı dikkatli olmalıdır. Öncelikle, preparatın izolasyonu yeterli el becerisi gerektirir, kalp kontüzyon hasarına uğramaya açık olduğundan izolasyonu özenle gerçekleştirilmelidir. Bunun birlikte kalbin izolasyonu ve düzeneğe yerleştirilmesi çok kısa sürede (<2 dk.) gerçekleşmelidir. Aksi takdirde istenmeyen önkoşullama gerçekleşebileceği gibi, kalp iskemiye de maruz kalabilir. Perfüzyon basıncının çok yüksek olması aort kapağı yetmezliğine, dolayısıyla perfüze kalbin koroner arterler yerine sol ventriküle dolmasına neden olur. Kristaloid perfüze çözeltilerinin osmotik basıncının düşük olmasından dolayı kalpte ödem meydana gelebilir. Ayrıca protein içermeyen bu çözeltilerin yüksek parsiyel oksijen basıncına karşın düşük oksijen taşıma kapasitesi, koroner akımın fizyolojik düzeylerin birkaç katına çıkmasına neden olmaktadır (Doring ve Dehnert 1987; Skrzypiec-Spring ve 2007).

Tablo 2-1: Langendorff izole perfüze kalp modelinde çeşitli parametre değerleri – Doring ve Dehnert (1987)'den değiştirilerek.

Hayvan	Vücut Ağırlığı (g)	Kalp ağırlığı (g)	Kalp Atım Hızı (atım/dak)	Perfüzyon Basıncı (mmHg)	Koroner Akım (ml/dak)	Perfüzyon Çözültüsü (K-H=Krebs Henseleit)
Fare	25-35	0,14-0,18	250-400	50-60	1,6-2,9	K-H
Sıçan	200-300	0,8-1,2	260-450	70-80	7-9	K-H, KH-Neely
Kobay	300-500	1,3-1,2	220-330	50-80	7-14	K-H
Hamster	120	0,6	-	70-80	5-6	K-H
Tavşan	2,5-3,5 kg	9-14	120-150	70-80	20-40	K-H, tirod, kan
Kedi	3,5kg	15,18	110-240	70-80	25-29	K-H, kan

Sabit akımda koroner akım= $7,43 \times \text{kalp ağırlığı (g)}^{0,56}$

Kalp ağırlığı = $0,0027 \times \text{hayvanın ağırlığı} + 0,6$

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deneysel Hayvanların Bakım Koşulları ve Özellikleri

Deneysel hayvanlarda 300-350 gram ağırlığında erkek albino Wistar sıçanlar kullanılmıştır. Denekler standart pellet sıçan yemi ile beslenmiş, içme suyu olarak çeşme suyu verilmiştir. Sıçanlar düzenli olarak 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyodunun sağlandığı bir ortamda muhafaza edilmiştir. Deneysel hayvanlarda kullanılan sıçanlar, İ. Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Deneysel Hayvanları Üretim Merkezi ve İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Araştırma ve Üretim Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Deneysel hayvanlar, İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Deneysel Hayvanları Etik Kurulu tarafından 31.10.2005 tarihli, 42 no'lu etik kurul kararına uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2. Araçlar ve Gereçler

- İzole perfüze kalp (Langendorff) sistemi (Powerlab, ADInstruments)
- Bilgisayar kontrollü kayıt sistemi (16SP, Powerlab, ADInstruments)
- Perfüzyon pompası (Gilson minipuls 3)
- Termostat (Letica, LE 13206)
- Basınç transdüseri (Powerlab, ADInstruments)
- Elektronik terazi (Sartorius)
- Derin dondurucu (-20 °C)
- Vorteks (Velp Scientifica)
- Mikropipet 100-1000 µL (Genex β)
- % 5 CO₂ + % 95 O₂ içeren gaz karışım tüpü
- Cerrahi malzemeler (çeşitli büyüklükte makaslar ve pensler)

- Cam eşyalar (çeşitli büyüklükte beher, balon joje, mezür)
- Enjektör (1 ve 5ml'lik)
- Eppendorf (1,5ml'lik)
- Silikonlu petri kutusu
- Toplu iğne, dikiş ipliği
- Streç film
- Alüminyum folyo
- Kırılmaz camdan plaka
- Filtre (Millipore)
- Filtre kağıdı (Whatman, 55mm Ø)

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları

-**BRL37344 (Sigma):** Selektif β_3 -AR agonisti. Stok çözeltisi 10^{-4} M olarak distile suda çözülerek hazırlandı.

-**SR59230A (Sigma):** Selektif β_3 -AR antagonisti. Stok çözeltisi 10^{-4} M olarak dimetilsülfoksilde (DMSO) çözülerek hazırlandı. Çözücü olarak kullanılan DMSO'nun ortamdaki konsantrasyonu % 0,4'den düşüktür.

-**Nadolol (Sigma):** Non-selektif β_1/β_2 -AR antagonisti. Stok çözeltisi 10^{-4} M olarak 0,001 N HCl'de hazırlandı.

-**CPK Kiti (Abbott):** Perfüzat örneklerinde kreatin kinaz (CK) enzim düzeylerini belirlemek için kullanıldı. CK ölçümleri (U/L) İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fikret Biyal Merkez Araştırma Laboratuvarı ve Haseki Devlet Hastanesi Biyokimya laboratuvarında enzimatik kinetik yöntemle gerçekleştirildi.

-**cTNI Kiti (Dade Behring):** Perfüzat örneklerinde kardiyak Troponin-I (cTNI) protein düzeylerini belirlemek için kullanıldı. cTNI ölçümleri (ng/ml) İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fikret Biyal Merkez Araştırma Laboratuvarı ve Haseki Devlet Hastanesi Biyokimya laboratuvarında heterojen immunoassay yöntemiyle gerçekleştirildi.

-Ketamin (Richter Pharma AG, Ketasol): Anestezik. % 10'luk enjeksiyonluk solüsyonu kullanıldı. Sıçanlara 50mg/kg dozda ksilazin ile kombine edilerek intra peritoneal (i.p.) olarak uygulandı.

-Ksilazin (Alfasan International): Anestezik. % 2'lik enjeksiyonluk solüsyonu kullanıldı. Sıçanlara 5mg/kg dozda ketamin ile kombine edilerek i.p. olarak uygulandı.

-Heparin (Mustafa Nevzat, Nevparin): Antikoagülan. 5000 IU/ml enjeksiyonluk solüsyonu kullanıldı. Sıçanların heparinize edilmesi için 1000 IU/kg dozda i.p. olarak uygulandı.

-2,3,5,-Trifenil tetrazolium klorür (TTC, Sigma): Boyar madde. Krebs Ringer bikarbonatta hazırlanan %1'lik çözeltisi miyokardın nekrotik alanlarının belirlenmesinde boyama amaçlı olarak kullanıldı.

-Formalin (Sigma): Fiksativ. % 10'luk formalin nekrotik alan tayininde fiksativ olarak kullanıldı.

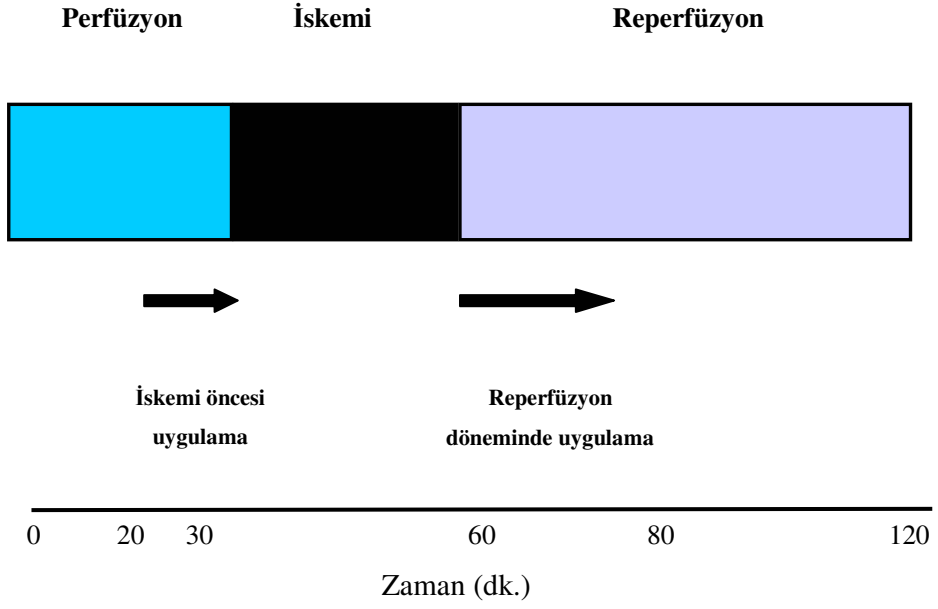
Deney sırasında kullanılan kimyasallar derin dondurucuda saklanan stoklardan her gün taze olarak hazırlanmış ve modifiye Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi ile dilüe edilerek kullanılmıştır. Deneyde kullanılan modifiye Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisinin mM cinsinden içeriği şu şekildedir; NaCl 118, KCl 4.7, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1.2, Glukoz 11, MgSO₄.7H₂O 1.2, CaCl₂ 1.4. Kalbi perfüze edecek çözeltinin kesinlikle hiçbir partikül içermemesi gerektiğinden krebs çözeltisi hazırlandıktan sonra filtre edilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

3.4. İzole Sıçan Kalp Preperatının Hazırlanması

300-350g ağırlığındaki wistar erkek sıçanlar ketamin(50mg/kg)/ksilazin(5mg/kg) anestezisi sonrası heparinize (1000 IU/kg) edilmiş, kalpleri hızla ve özenle izole edilerek +4°C'deki modifiye Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi içine alınmıştır. Kalpler izole perfüze kalp (Langendorff) sistemine assendan aorta aracılığı ile takılmış, aortik klemple tutturulmuş, çevredeki yağ ve bağ doku temizlenmiş ve pulmoner artere küçük bir kesik atıldıktan sonra bir ip vasıtasıyla sabitlenmiştir. Kalpler % 5 CO₂ + % 95 O₂ gaz karışımı ile havalandırılan 37°C'deki modifiye Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi ile sabit basınçta (80mmHg) perfüze edilmiştir. Kardiyak fonksiyonların ölçümleri için sol atriuma küçük bir kesi atılmış ve buradan sol ventrikül içerisine geçilerek, streç filmden yapılmış, bir ucu basınç transdüserine bağlı, serum fizyolojik içeren bir balon yerleştirilmiştir. Ardından kalplere 5-8mmHg'lık bir öngerim (preload) verilmiştir. Daha sonra kalpler sabit basınçta (80mmHg) perfüzyon ile 20 dakika süreyle dengelenmeye bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda sol ventrikül basıncı: 100mmHg, kalp atım hızı: 250 atım/dk., ve koroner akım hızı: 8 ml/dk. 'nın altında olan kalpler deney dışı bırakılmıştır.

3.5. Deney Protokolü

Langendorff sisteminde modifiye Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi ile sabit basınçta (80mmHg) perfüze edilen izole kalpler, incelenen tüm gruplarda, önce 30 dakika global iskemiye, ardından 60 dakika reperfüzyona maruz bırakılmıştır. Kimyasal madde uygulamaları, 20 dakikalık dengelenme süresinin sonunda, iskemi öncesinde 10 dakika süre ile, ya da reperfüzyonun ilk 20 dakikası süresince gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubunda etkisi incelenen kimyasal yerine çözücüsü (Krebs, DMSO) uygulanmıştır (Şekil 3-1).



Şekil 3-1: Dengelenme süresi sonunda deneye alınan kalplerde iskemi ve reperfüzyon süreleri ile kimyasal/çözücü uygulamalarını gösteren deney protokolü.

1. Grup (Kontrol 1);

İzole edilen kalpler Krebs çözeltisi ile 30 dakika perfüze edildikten sonra, 30 dakika global iskemiye ve sonrasında 60 dakika reperfüzyona maruz bırakılmıştır.

2. Grup;

Selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344 10^{-9} - 10^{-6} M konsantrasyonlarda, iskemi öncesinde 10 dakika süreyle uygulanmıştır.

3. Grup;

Selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344 10^{-6} M konsantrasyonda, selektif β_3 -AR antagonisti SR59230A (10^{-5} M) ile birlikte iskemi öncesinde 10 dakika süreyle uygulanmıştır.

4. Grup (Kontrol 2);

β_3 -AR antagonisti SR59230A'un çözücüsü DMSO (% 0,4) iskemi öncesinde 10 dakika süreyle uygulanmıştır.

5. Grup;

Selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344 10^{-6} M konsantrasyonda, selektif β_3 -AR antagonisti SR59230A (10^{-5} M) ve nonselektif β_1/β_2 -AR antagonisti nadolol (10^{-5} M) kombinasyonu ile birlikte iskemi öncesinde 10 dakika süreyle uygulanmıştır.

6. Grup;

Selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344 10^{-8} M konsantrasyonda, nonselektif β_1/β_2 -AR antagonisti nadolol (10^{-5} M) ile birlikte iskemi öncesinde 10 dakika süreyle uygulanmıştır.

7. Grup;

Selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344 10^{-8} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca uygulanmıştır.

3.6. Ölçülen Ve Hesaplanan Parametreler

İncelenen tüm gruplarda aşağıdaki parametreler değerlendirilmiştir;

3.6.1. Fonksiyonel Ve Hemodinamik Ölçümler

I. Kardiyak fonksiyon

- a. sol ventrikül basıncı (sistolik basınç ile diyastolik basıncın farkı, mmHg)
- b. diyastolik basınç (mmHg)
- c. sistolik basınç (mmHg)
- d. $+dp/dt_{maks}$ (kasılma gücünün zamana bağlı değişimi, $mmHg.s^{-1}$)
- e. $-dp/dt_{min}$ (gevşeme gücünün zamana bağlı değişimi, $mmHg.s^{-1}$)
- f. kalp atım hızı (atım/dk.)
- g. basınç hız çarpanı (Sol ventrikül basıncı x Kalp atım hızı, 1/1000, $mmHg \times atım.dk.^{-1}$)

II. Koroner hemodinami

- a. koroner akım (ml/dk.)
- b. koroner vasküler rezistans (Perfüzyon basıncı/koroner akım, $mmHg/ml.dk.^{-1}$)

III. Miyokardiyal nekroz

- a. Kreatin kinaz (CK, U/L)
- b. Troponin-I (cTNI, ng/ml)
- c. nekrotik alan (% risk alanı)

İzole kalplerde ölçülen kardiyak fonksiyon ve koroner hemodinami parametrelerinin kayıtları bilgisayar kontrollü izole perfüze kalp (Langendorff) sisteminde kaydedilmiştir. Deney gruplarından elde edilen veriler kontrol (Kontrol 1) grubuyla kıyaslanmıştır.

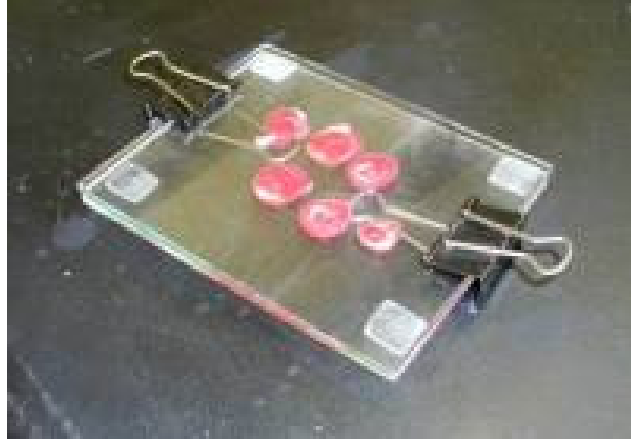
3.6.2. Biyokimyasal Ölçümler

Miyokardiyal nekrozun göstergelerinden olan kardiyak CK ve Troponin-I düzeylerinin ölçümleri iskemi öncesinde 20. ve 30. dakikalarda, iskemi sonrası reperfüzyon döneminde ise 1.,10.,20.,30.,40.,50.,60. dakikalarda perfüzeattan alınan örneklerde yapılmıştır. Eppendorflarda deney süresince buz içerisinde muhafaza edilen perfüzeatlar deney sonrası ölçümlerinin yapılması için İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fikret Biyal Merkez Araştırma Laboratuvarı ve Haseki Devlet Hastanesi Biyokimya laboratuvarına gönderilmiştir. Perfüzeat örneklerinde CK ölçümü enzimatik kinetik yöntem ile, Troponin-I ölçümü ise heterojen immünoassay yöntemiyle aynı gün içerisinde gerçekleştirilmiştir.

3.6.3. Nekrotik Alan Ölçümü

Deney sonrasında izole kalplerden elde edilen kesitlerde TTC boyama yöntemiyle nekrotik alan ölçümü yapılmıştır. Bu amaçla, kalpler Langendorff düzeneğinden alınıp önce streç filme sonra alüminyum folyoya sarılarak -20 °C'de 1-2 saat dondurulmuş ve yarı donmuş durumda iken bistüri yardımıyla 2-3mm kalınlıktaki kesitlere ayrılmıştır. Kalp dilimleri % 1'lik TTC içeren Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisine alınarak kalbin tüm yüzeylerin solüsyonla temas etmesi sağlanmış, ardından 15-20 dakika süreyle oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. Dokuda canlılığını koruyan alanlar TTC ile koyu kırmızı renkte nekrotik alanlar ise soluk sarımsı renkte boyanmıştır. Renk ayrımını belirginleştirmek için dilimlenmiş kalpler TTC boyaması sonrasında %10'luk formalin çözeltisi içinde +4°C'de 1 gece bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda kalp dilimleri kırılmaz cam plakalardan yapılmış iki levha arasına yaklaşık 2,5mm kalınlıkta olacak şekilde sıkıştırılmış ve nekrotik alanlar asetat kağıdı üzerine,

çalışmaya yabancı bir başka araştırmacı tarafından, işaretlenmiştir (Şekil 3-2). Nekrotik alan ölçümü bilgisayar görüntüleme tekniği (Sigmascan Pro5) yardımıyla gerçekleştirilmiş, her bir kalp için nekrotik alan risk alanının %'si olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3-2: Deney sonunda izole edilen kalp kesitlerinde TTC boyama yöntemiyle nekrotik alan değerlendirmesi

3.7. İstatistiksel Analiz

Deneylelerdeki “n” sayısı izole sıçan kalp sayısını göstermektedir. Tüm sonuçlar “ortalama \pm st. hata” şeklinde verilmiştir. Hayvansal farklılıkları standardize etmek için grafiklerdeki tüm veriler 20 dakikalık dengelenme periyodunun sonunda elde edilen bazal değerlerin %'si olarak verilmiştir. Deney esnasında elde edilen ham değerler ise tablolarda gösterilmiştir. Deney sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi Student's t-testi (gruplar arası farkın anlamlılık testi) ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve sonrasında Tukey-Kramer'in çoklu karşılaştırmalar testi aracılığıyla yapılmıştır. 0.05'den küçük “p” değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel tüm kıyaslamalar % değerler üzerinden gerçekleştirilmiş ve kontrol olarak kontrol-1 grubu kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. BRL37344'ün İskemi Öncesi Etkisi

Sol ventrikül basıncı üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344'ün (10^{-9} - 10^{-6} M) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması 10^{-7} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda sol ventrikül basıncında (%) istatistiksel olarak anlamlı ve doza bağımlı bir artışa neden olmuştur (Şekil 4-1). Benzer şekilde, reperfüzyon döneminde de sol ventrikül basıncının her iki konsantrasyonda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldiği gözlenmiştir. Bu artış BRL37344'ün 10^{-6} M konsantrasyonunda 10^{-7} M'a oranla daha belirgindir (Şekil 4-2, Şekil 4-12). BRL37344'ün daha düşük konsantrasyonlarının (10^{-9} - 10^{-8} M) ise gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde sol ventrikül basıncı üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4-7, Şekil 4-12).

Diyastolik basınç üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344'ün (10^{-9} - 10^{-6} M) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması, 10^{-6} M konsantrasyonda gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde diyastolik basınç (%) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden olmuş, 10^{-7} M konsantrasyonda ise sadece reperfüzyon döneminde diyastolik basıncın kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4-2, Şekil 4-12). Buna karşın, BRL37344'ün daha düşük konsantrasyonlarının (10^{-9} - 10^{-8} M) uygulanması ile elde edilen diyastolik basınç değerleri gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde kontrol grubuyla benzerlik göstermektedir (Şekil 4-7, Şekil 4-12).

Sistolik basınç üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344'ün (10^{-9} - 10^{-6} M) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması 10^{-7} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda doza bağımlı olarak sistolik basıncı (%) arttırıcı bir etkiye neden olmuştur. Bu etki BRL37344'ün 10^{-6} M konsantrasyonunda 10^{-7} M'a oranla daha belirgindir. Sistolik basınç (%) üzerindeki bu artış BRL37344'ün 10^{-6} M konsantrasyonu ile reperfüzyon döneminde de devam ederken, 10^{-7} M konsantrasyonunda elde edilen değerler kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-2, Şekil 4-12). BRL37344'ün daha düşük konsantrasyonlarının (10^{-9} - 10^{-8} M) ise gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde sistolik basınç (%) üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4-7, Şekil 4-12).

+dp/dt_{maks} üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344'ün (10^{-9} - 10^{-6} M) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması ile +dp/dt_{maks} (%) değerleri 10^{-7} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda doza bağımlı olarak yükselmiş ve bu artış kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 4-3, Şekil 4-13). +dp/dt_{maks} (%) değerlerinin reperfüzyon döneminde de benzer şekilde arttığı gözlenmiştir. BRL37344'ün daha düşük konsantrasyonlarının (10^{-9} - 10^{-8} M) uygulanması ile elde edilen +dp/dt_{maks} (%) değerlerinin ise gerek iskemi öncesinde gerekse reperfüzyon döneminde kontrol grubuyla uyumlu olduğu belirlenmiştir (Şekil 4-8, Şekil 4-13).

-dp/dt_{min} üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344'ün (10^{-9} - 10^{-6} M) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması ile -dp/dt_{min} (%) değerleri 10^{-7} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda doza bağımlı olarak yükselmiş ve bu artış kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 4-3, Şekil 4-13). -dp/dt_{min} (%)

değerlerinin reperfüzyon döneminde de benzer şekilde arttığı gözlenmiştir. BRL37344'ün daha düşük konsantrasyonlarının (10^{-9} - 10^{-8} M) uygulanması ile elde edilen $-dp/dt_{\min}$ (%) değerlerinin ise gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde kontrol grubuyla uyumlu olduğu belirlenmiştir (Şekil 4-8, Şekil 4-13).

Kalp atım hızı üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344'ün (10^{-9} - 10^{-6} M) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması ile kalp atım hızı (%) 10^{-7} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda doza bağımlı olarak yükselmiş ve bu artış kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Buna karşın kalp atım hızı (%), reperfüzyon döneminde kontrol grubundan anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-4, Şekil 4-14). BRL37344'ün daha düşük konsantrasyonlarının (10^{-9} - 10^{-8} M) ise gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde kalp atım hızı (%) üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4-9, Şekil 4-14).

Basınç-hız çarpanı (1/1000) üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344'ün (10^{-9} - 10^{-6} M) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması ile basınç hız çarpanı (%) değerleri 10^{-7} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda doza bağımlı olarak yükselmiş ve bu artış kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. BRL37344 varlığındaki basınç hız çarpanı (%) değerleri reperfüzyon döneminde de kontrol grubuna göre daha yüksek düzeydir (Şekil 4-4, Şekil 4-14). BRL37344'ün daha düşük konsantrasyonlarının (10^{-9} - 10^{-8} M) ise gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde basınç-hız çarpanı (%) üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4-9, Şekil 4-14).

Koroner akım üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344'ün (10^{-9} - 10^{-6} M) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması ile koroner akımda (%), 10^{-7} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda doza bağımlı bir artış gözlenmiştir. Bu artış kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır. Paralel olarak, 10^{-6} M konsantrasyonda daha belirgin olarak, reperfüzyon döneminde de koroner akım (%) üzerindeki arttırıcı etkinin devam ettiği görülmüştür (Şekil 4-5, Şekil 4-15). BRL37344'ün daha düşük konsantrasyonlarının (10^{-9} - 10^{-8} M) ise gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde koroner akım (%) üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4-10, Şekil 4-15).

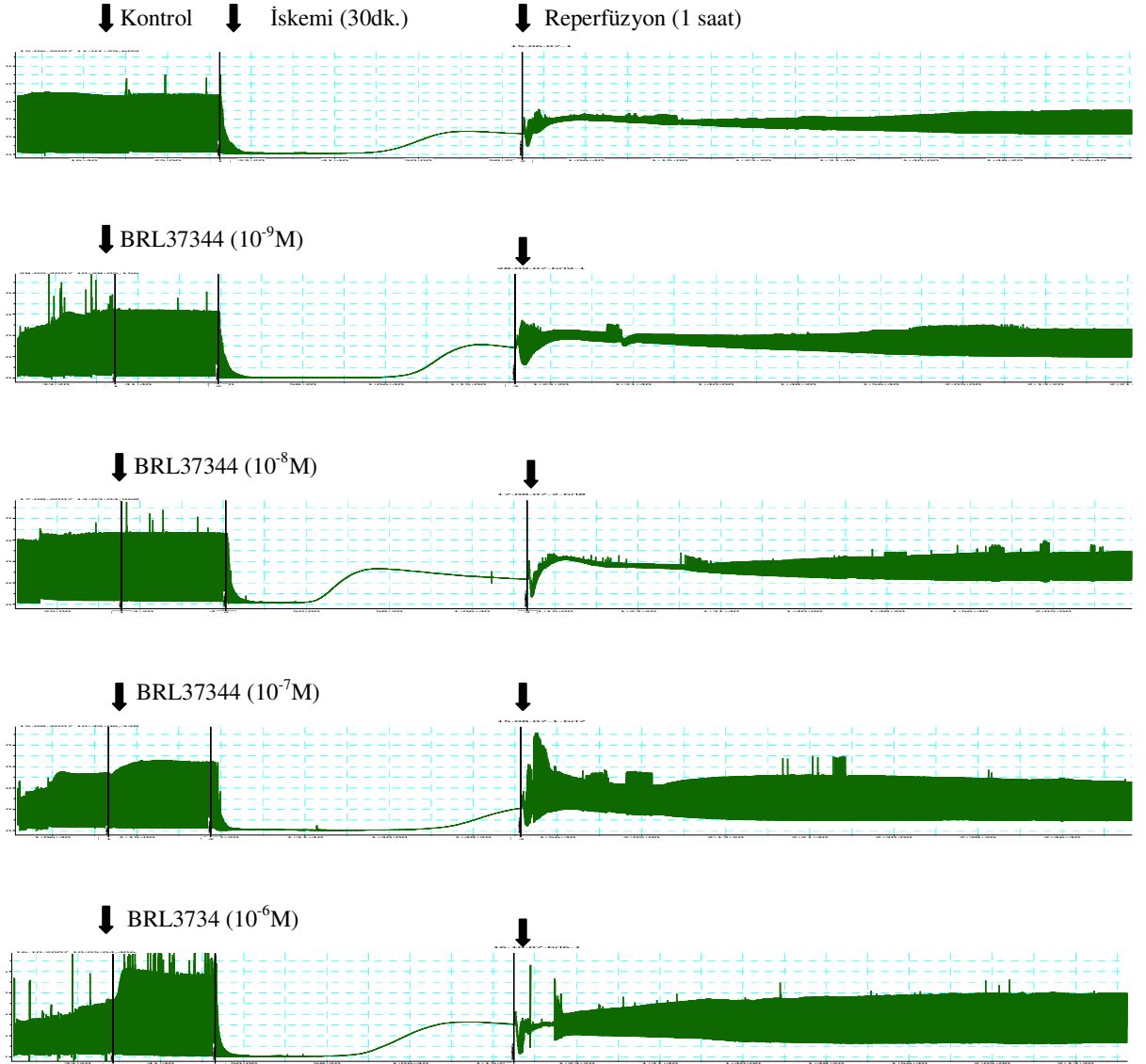
Koroner vasküler rezistans üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344'ün (10^{-9} - 10^{-6} M) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması ile koroner vasküler rezistans (%) 10^{-7} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda, doza bağımlı olarak belirgin bir azalma gözlenmiştir. Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunan bu azalma, 10^{-6} M konsantrasyonda daha belirgin olarak, reperfüzyon döneminde de devam etmiştir (Şekil 4-5, Şekil 4-15). BRL37344'ün daha düşük konsantrasyonlarının (10^{-9} - 10^{-8} M) ise gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde koroner vasküler rezistans (%) üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4-10, Şekil 4-15).

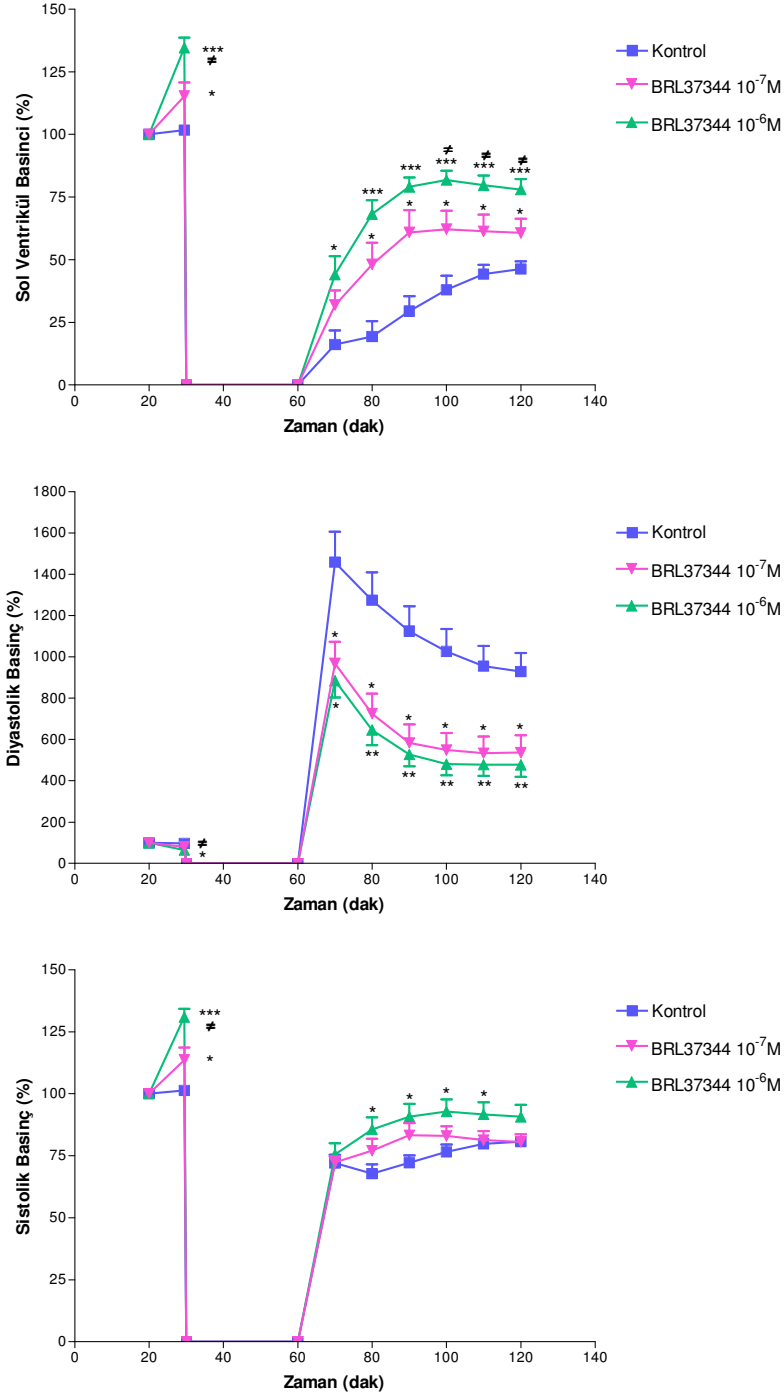
Kardiyak biyokimyasal belirteçler ve infarkt alanı üzerine etkisi;

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti olan BRL37344'ün (10^{-9} - 10^{-6} M) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması ile CK, Troponin-I ve infarkt alanında (%) 10^{-7} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyon gözlenmiştir (Şekil 4-6, Şekil 4-16, Şekil 4-17). Buna karşın BRL37344'ün daha yüksek konsantrasyonlarının (10^{-9} - 10^{-8} M) ise gerek CK ve Troponin-I

düzelelerinde gerekse infarkt alanı üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4-11, Şekil 4-16, Şekil 4-17).



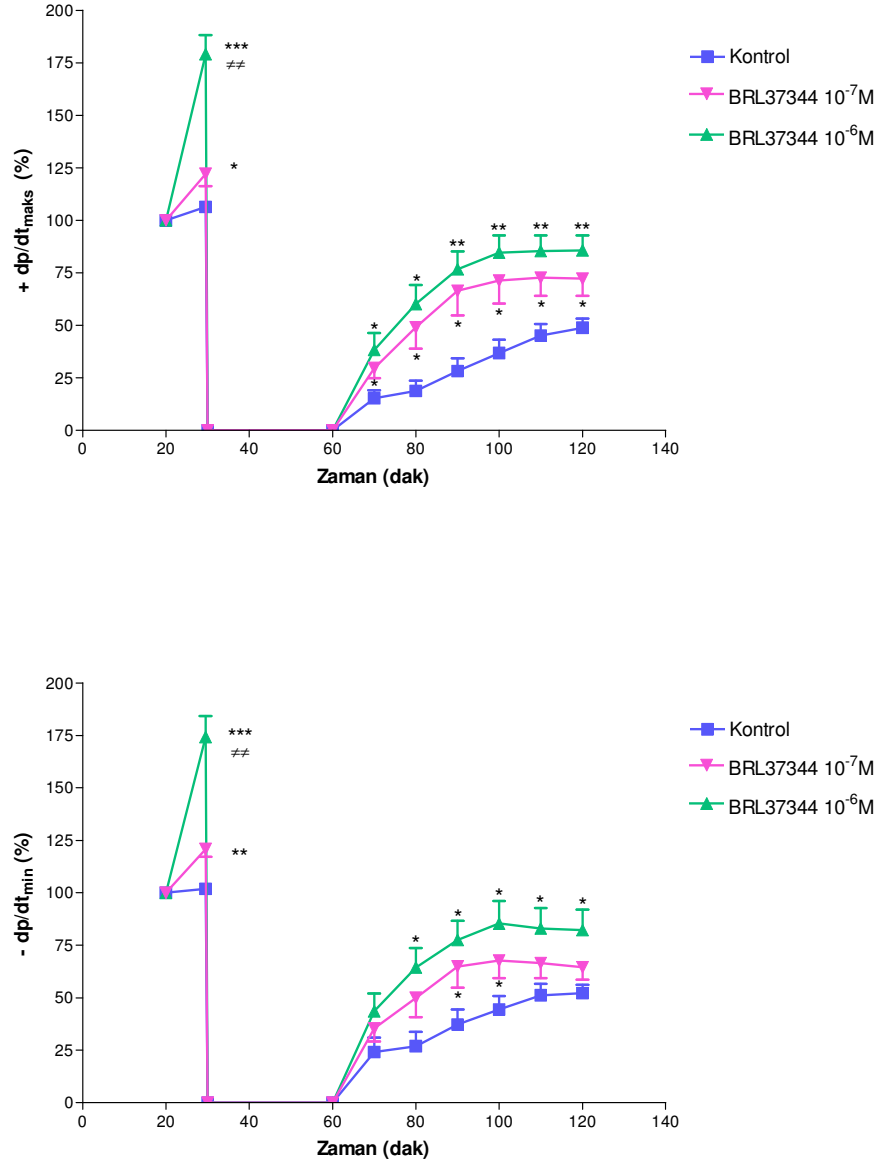
Şekil 4-1: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - $10^{-6}M$) uygulanmasının sol ventrikül basıncı üzerine etkisini gösteren orijinal trase örnekleri



Şekil 4-2: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10⁻⁷-10⁻⁶M) uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9)

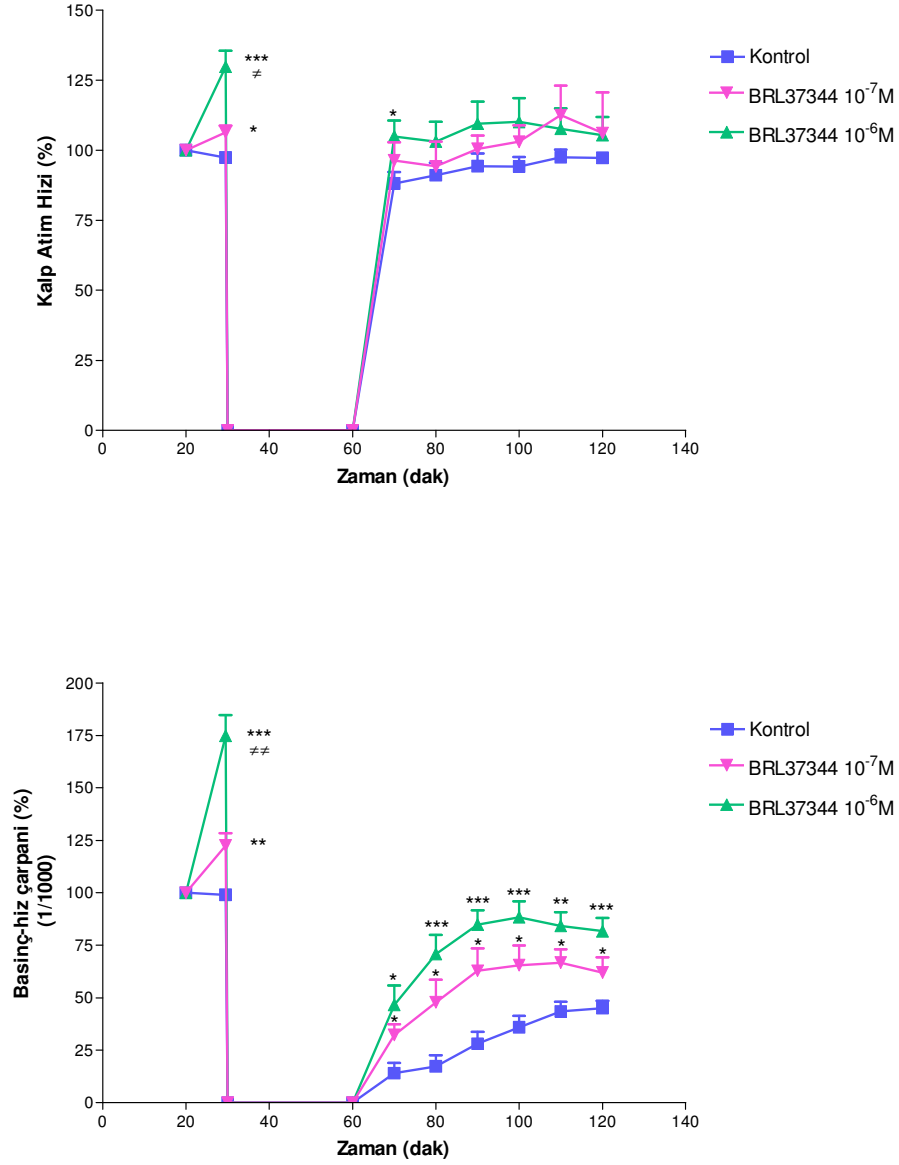
* kontrol'e göre, # BRL37344 10⁻⁷M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-3: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 (10⁻⁷-10⁻⁶M) uygulanmasının +dp/dt_{maks} ve -dp/dt_{min} parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9)

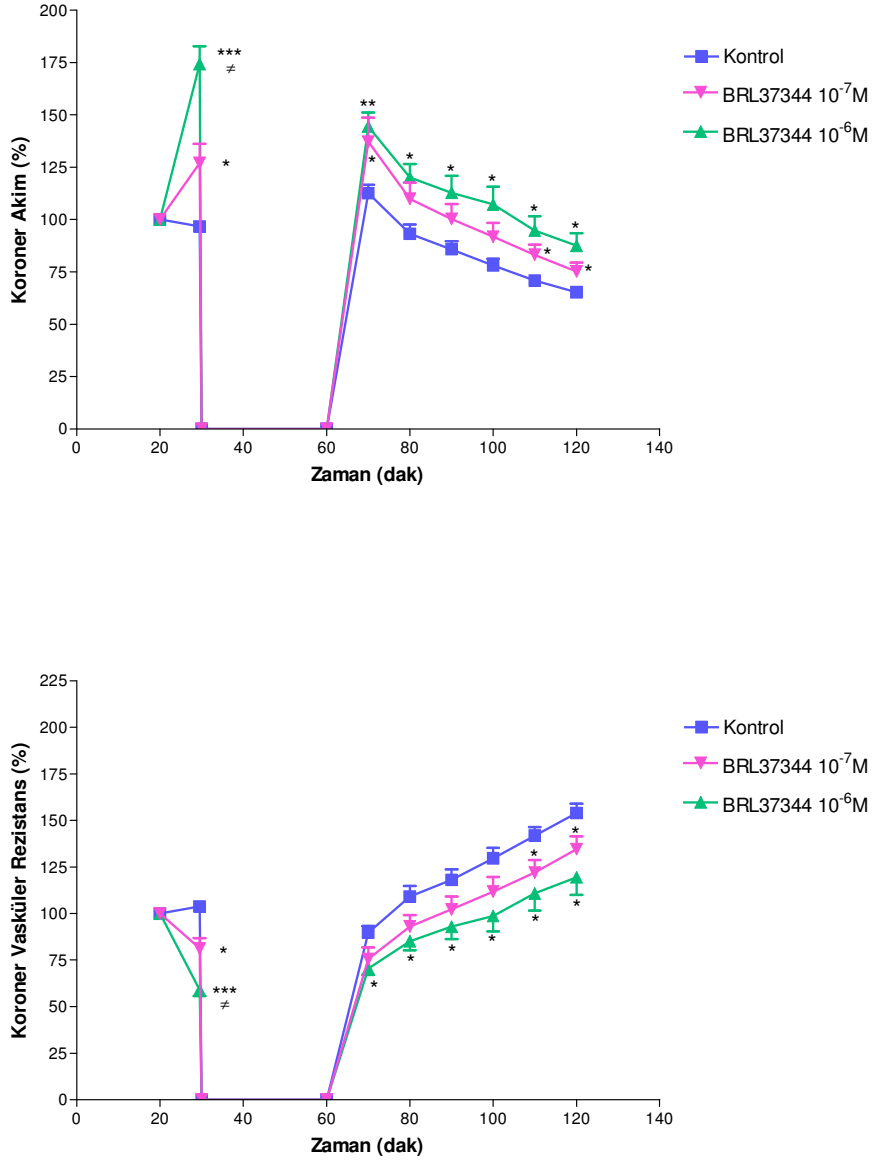
* kontrol'e göre, # BRL37344 10⁻⁷M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-4: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10⁻⁷-10⁻⁶M) uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9)

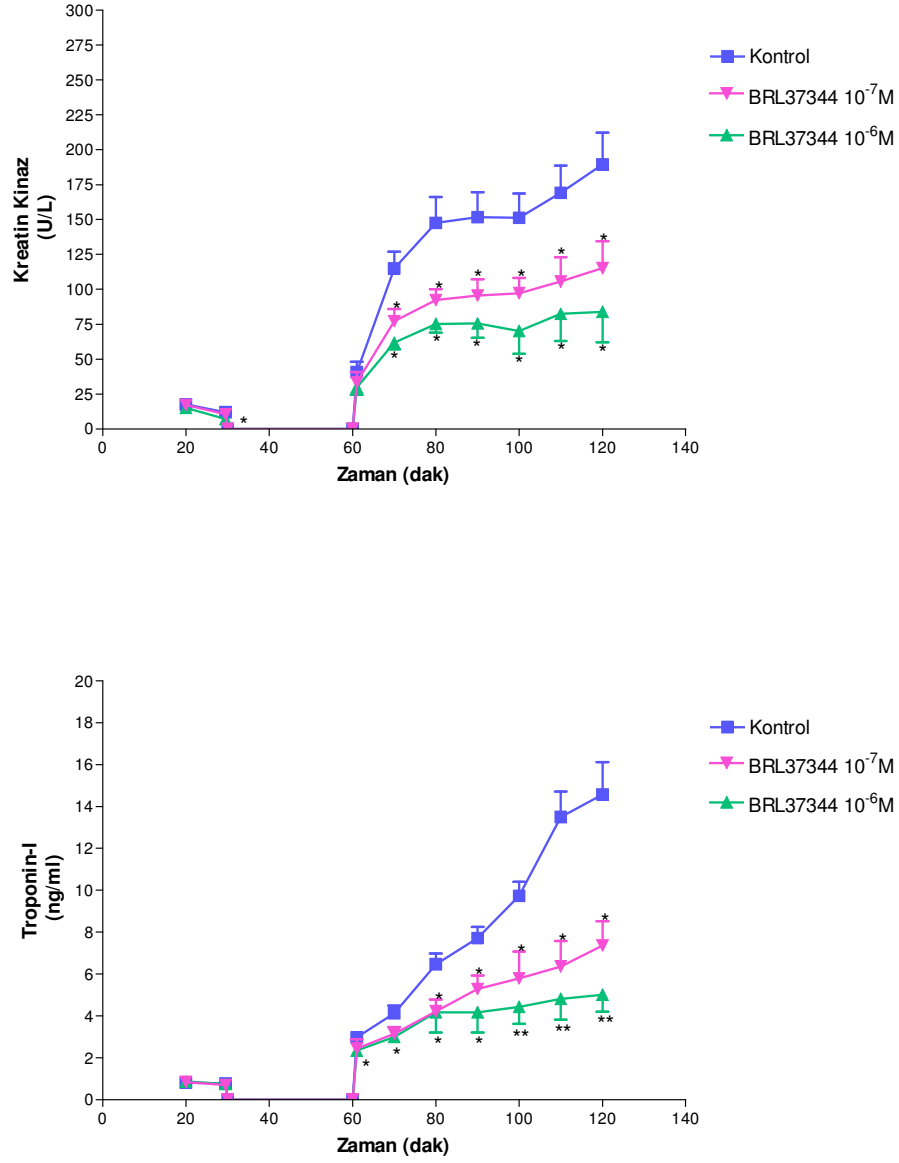
* kontrol'e göre, # BRL37344 10⁻⁷M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-5: İzole sıçan kalbine iskemisi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10⁻⁷-10⁻⁶M) uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi

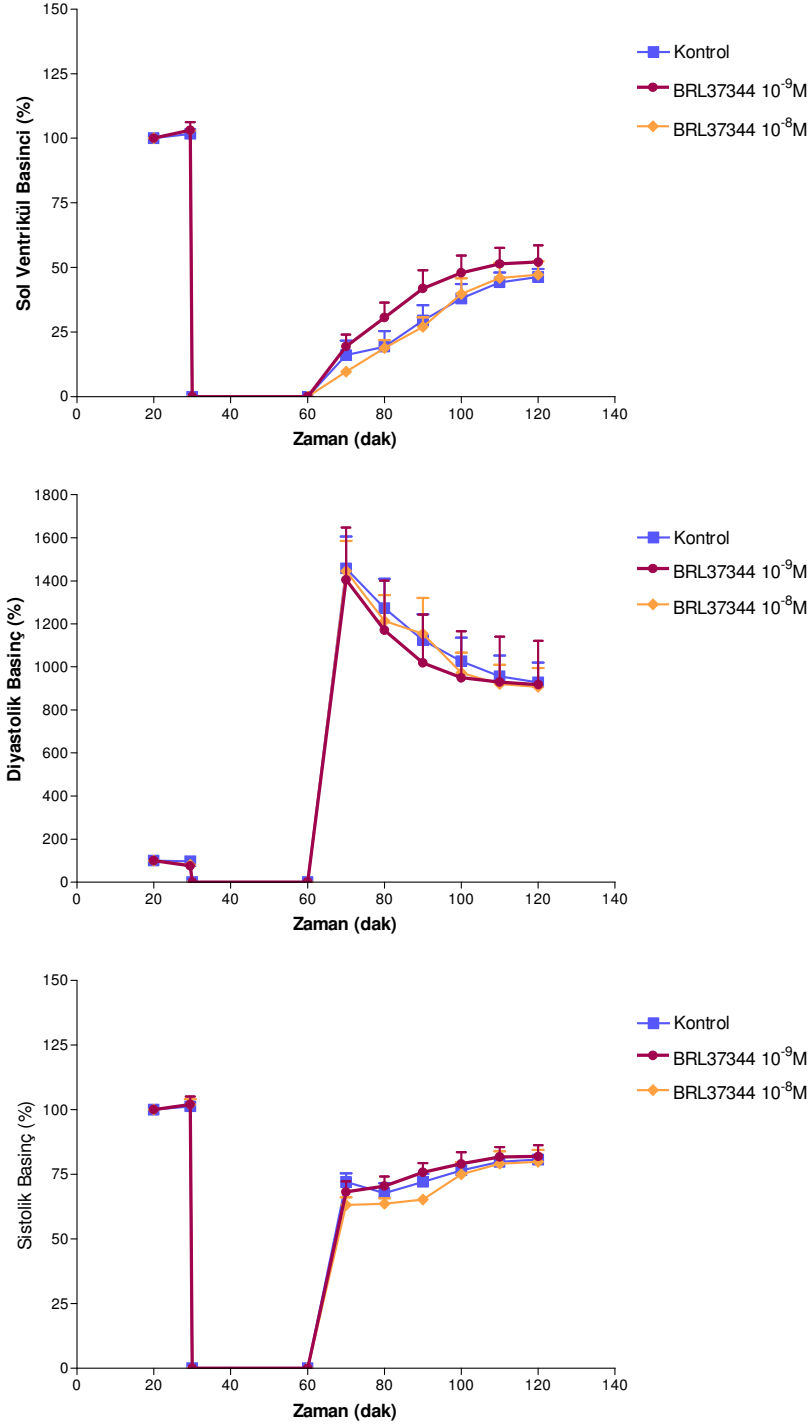
(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9)

* kontrol'e göre, † BRL37344 10⁻⁷M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

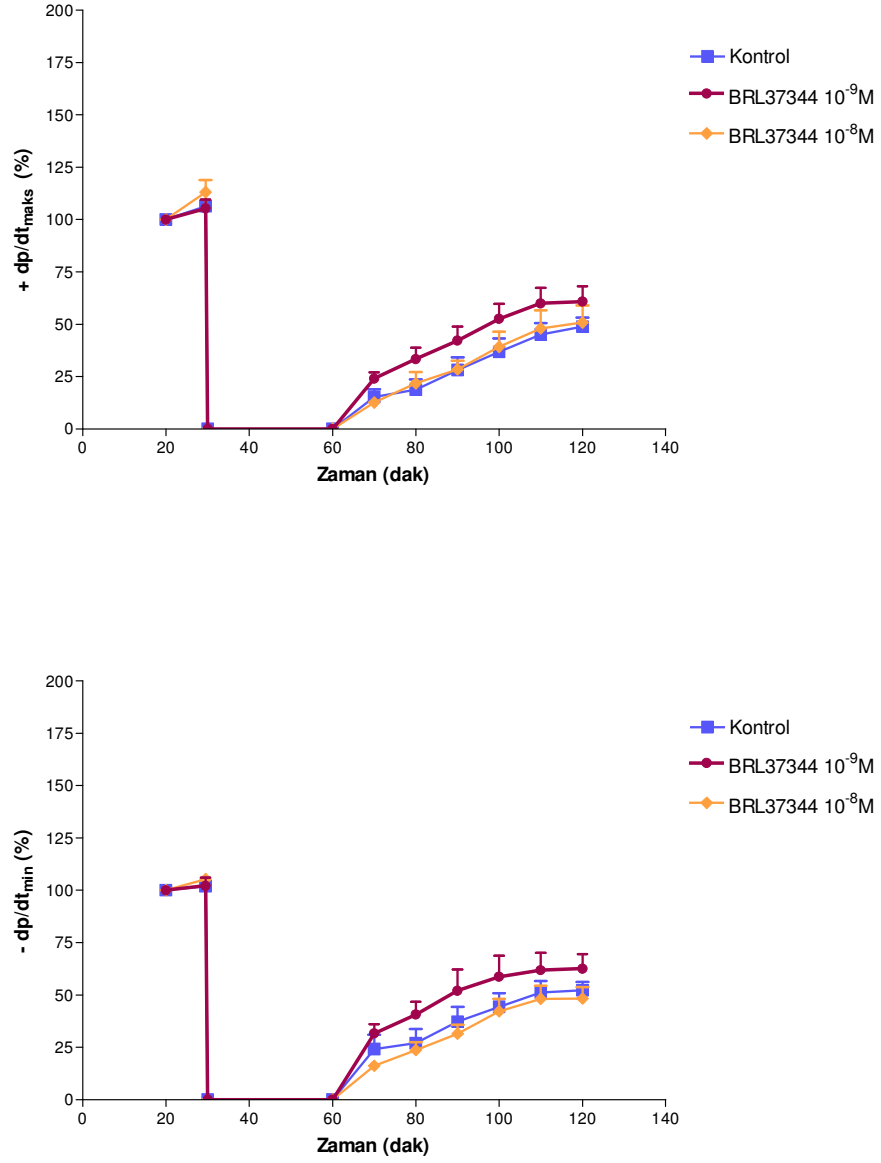


Şekil 4-6: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10⁻⁷-10⁻⁶M) uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeylerine etkisi

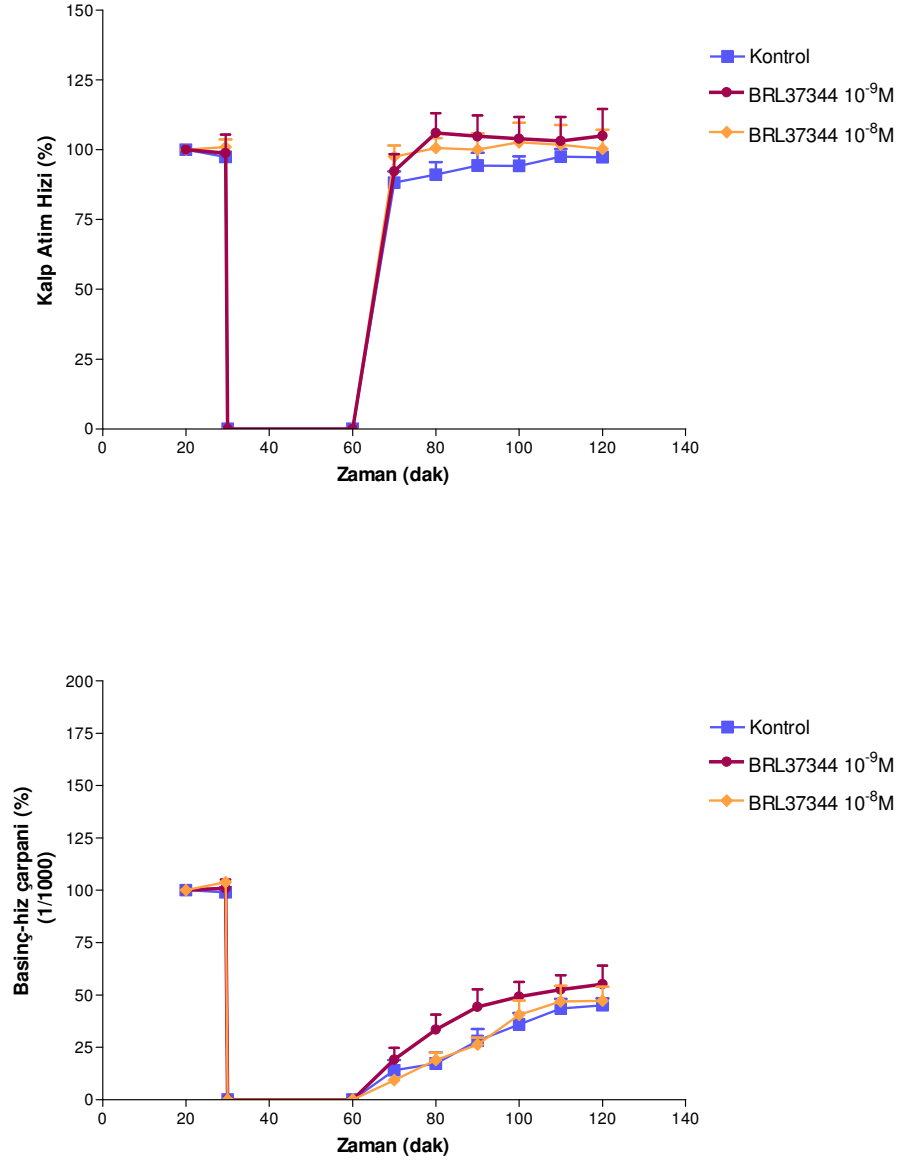
(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9). * kontrol'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



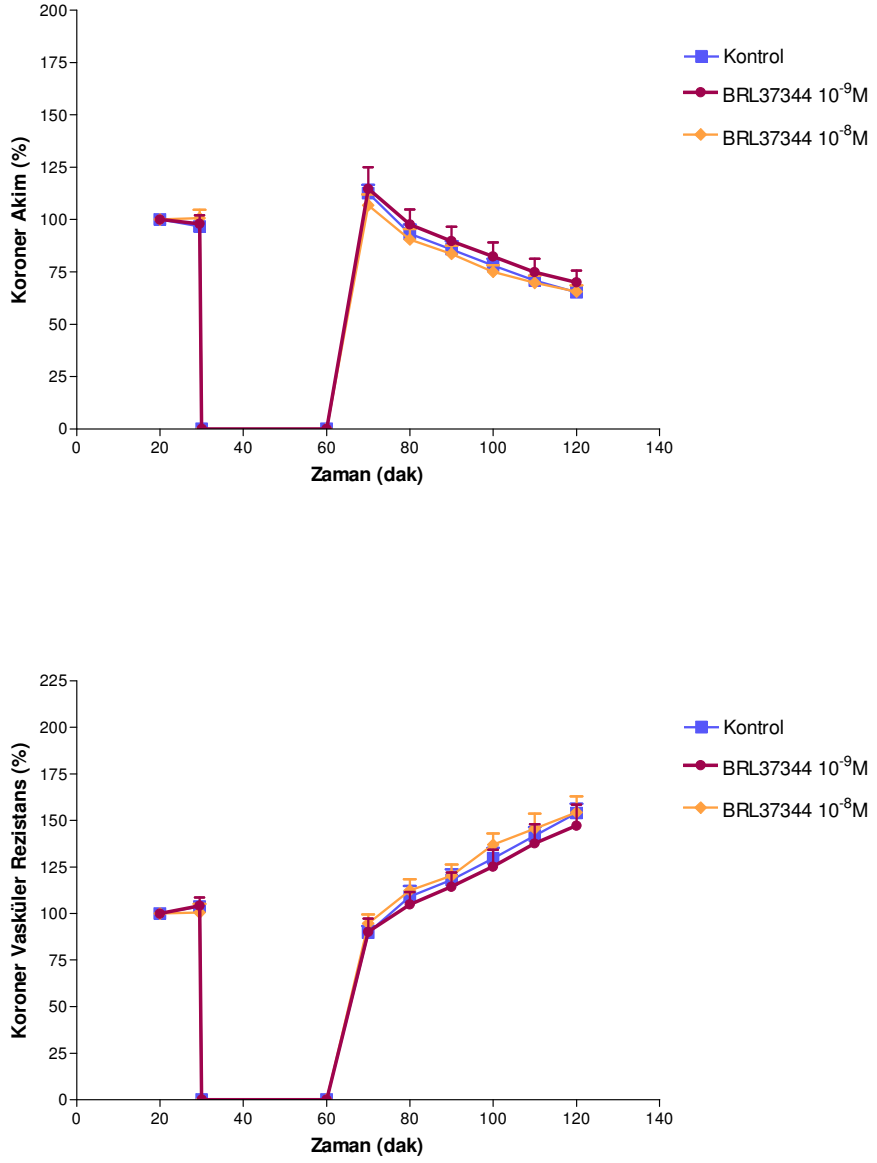
Şekil 4-7: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-8} M) uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi



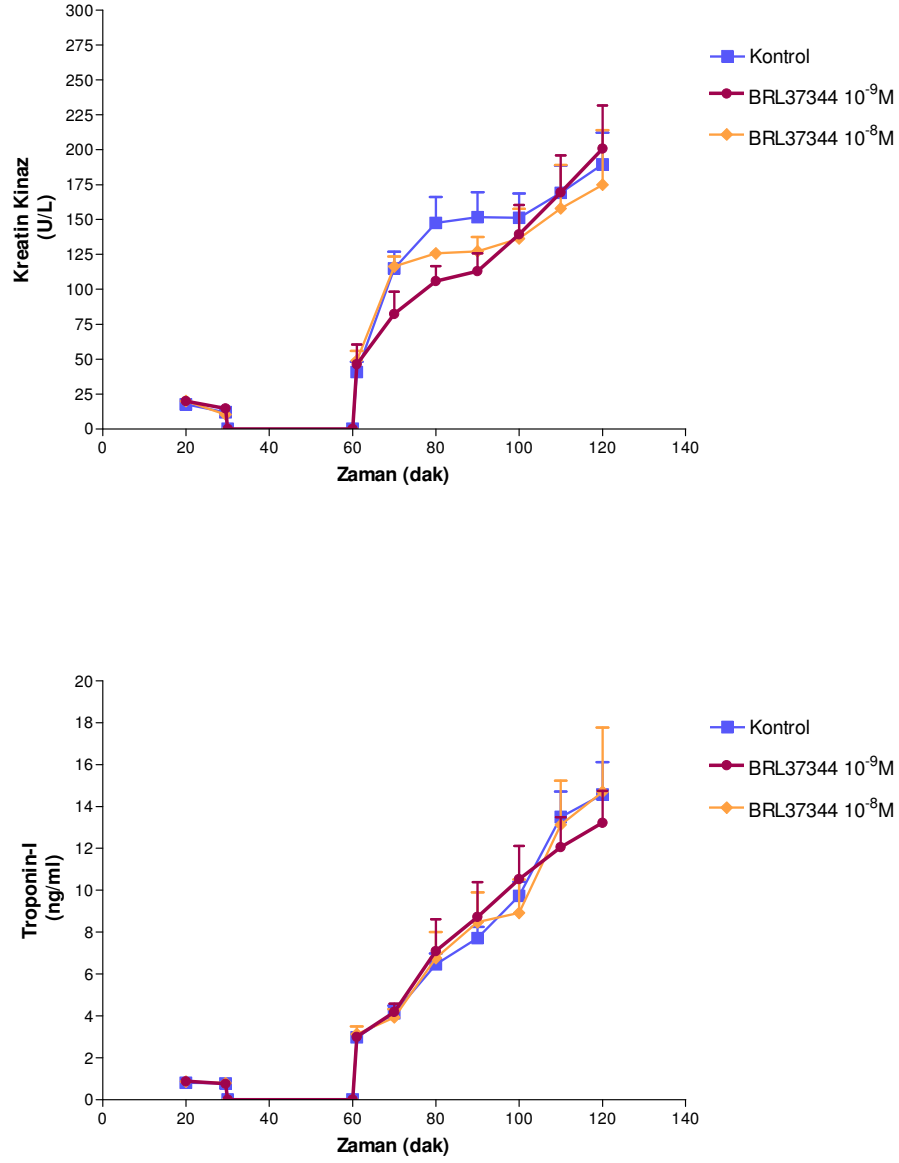
Şekil 4-8: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - $10^{-8}M$) uygulanmasının $+dp/dt_{maks}$ ve $-dp/dt_{min}$ parametreleri üzerine etkisi



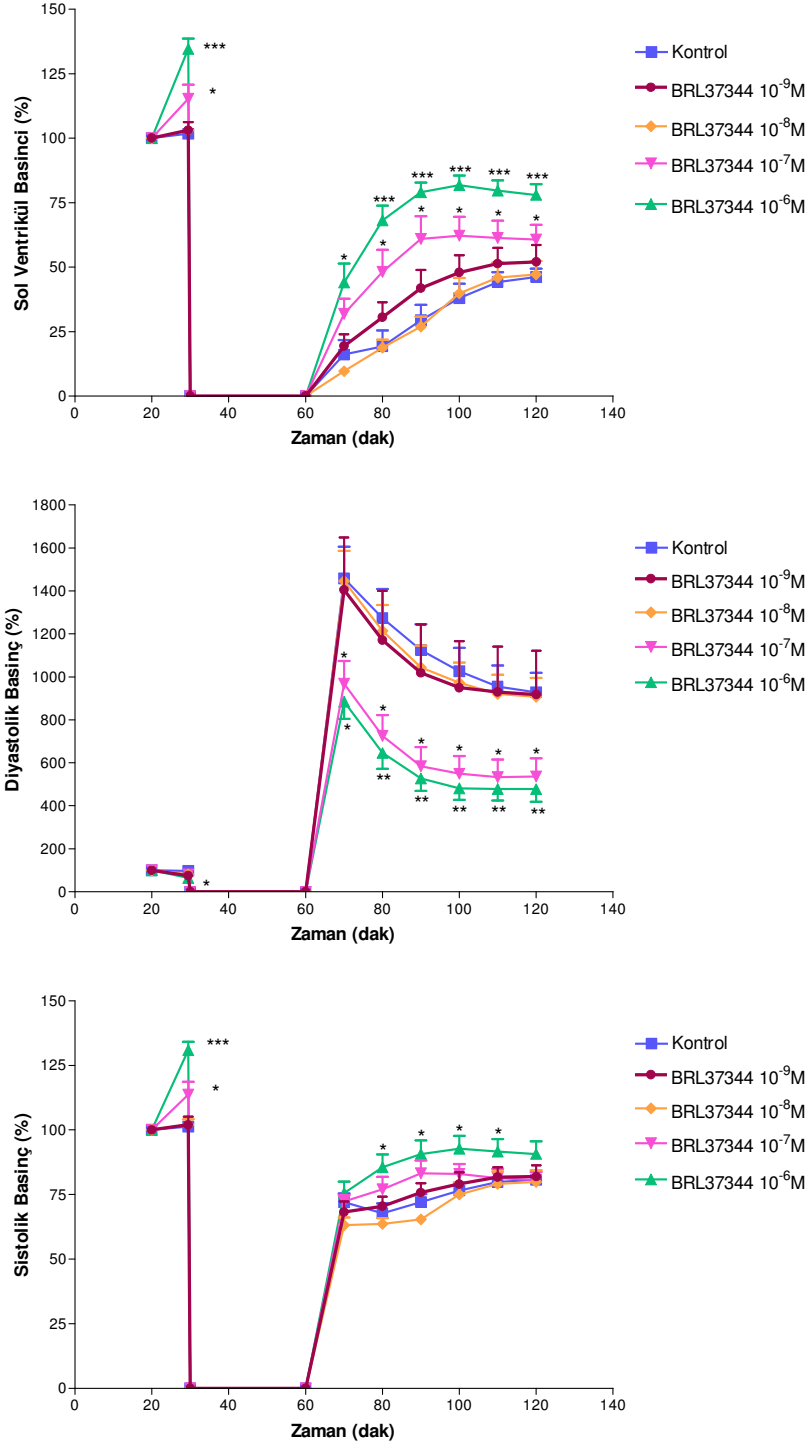
Şekil 4-9: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10⁻⁹-10⁻⁸M) uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi



Şekil 4-10: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - $10^{-8}M$) uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi

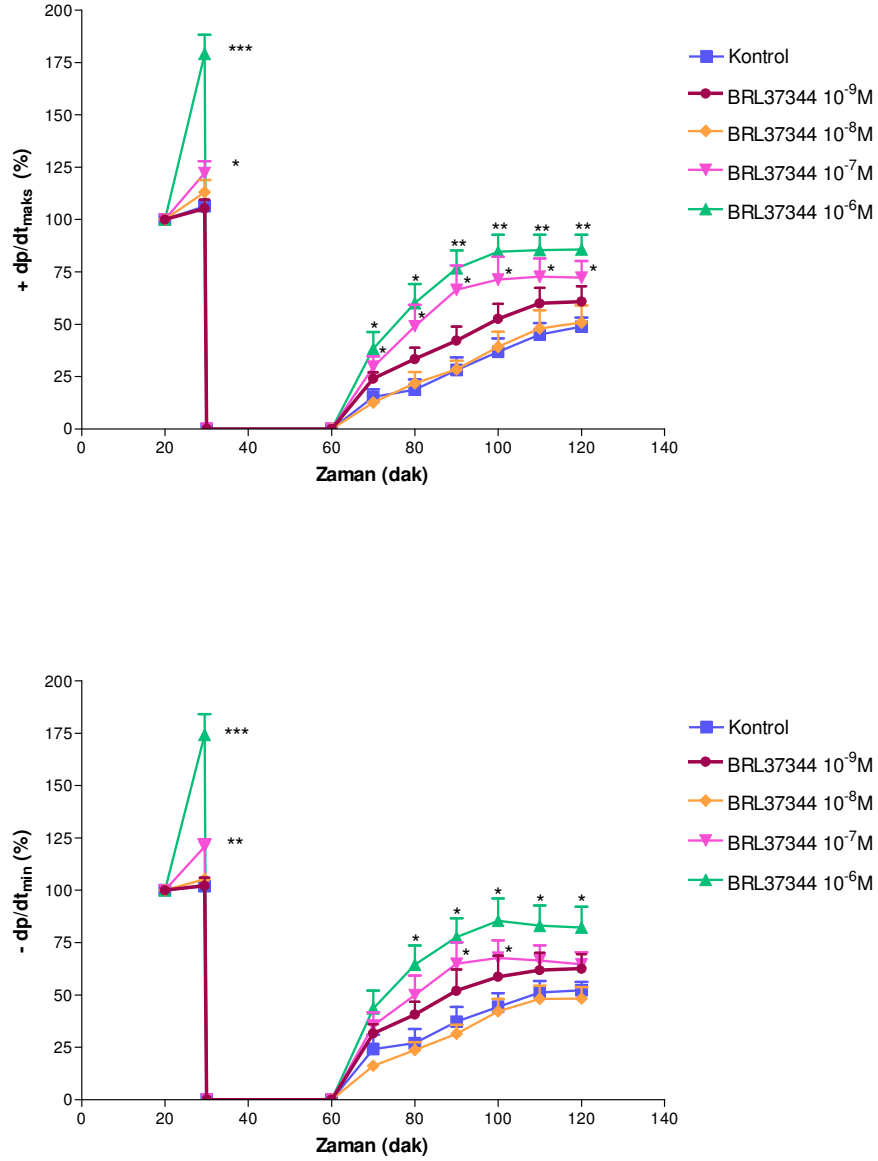


Şekil 4-11: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-8} M) uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeylerine etkisi



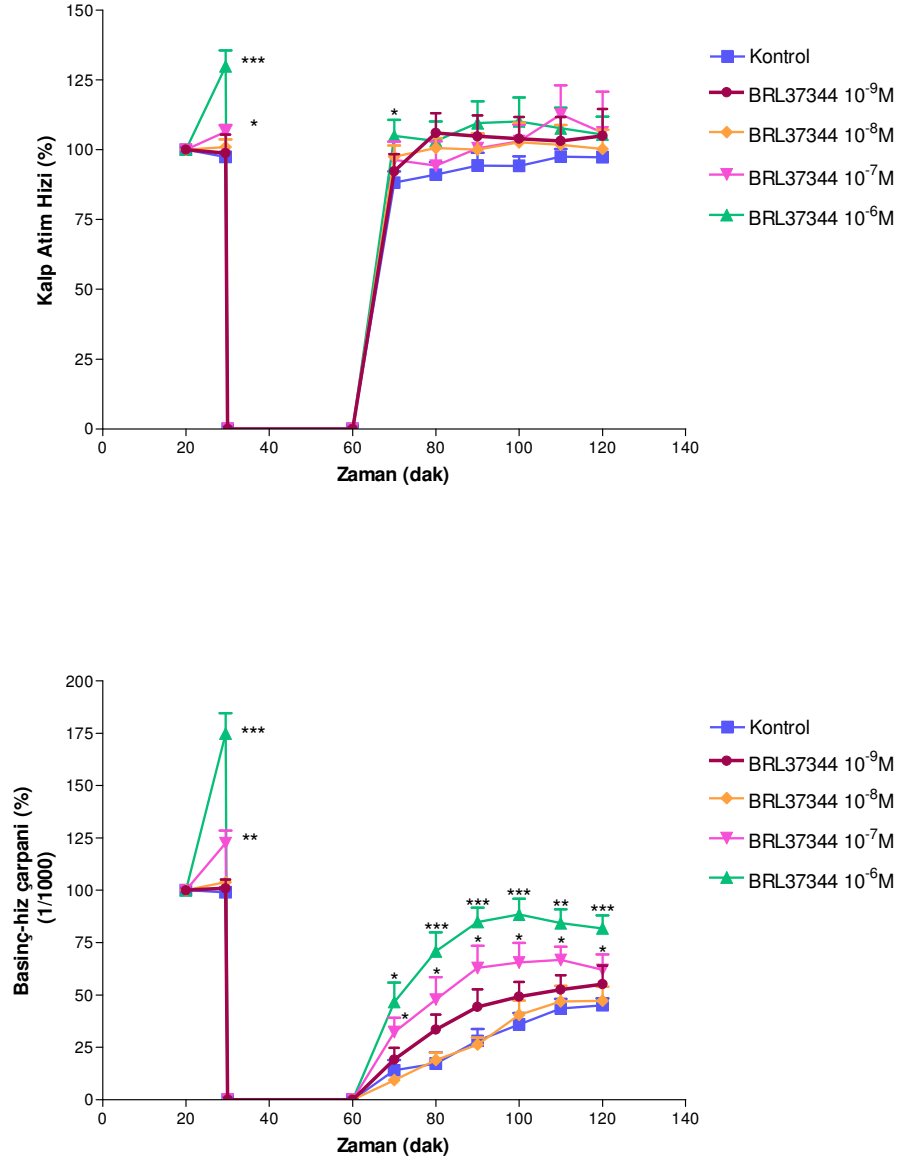
Şekil 4-12: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10⁻⁹-10⁻⁶M) uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9). * kontrol'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



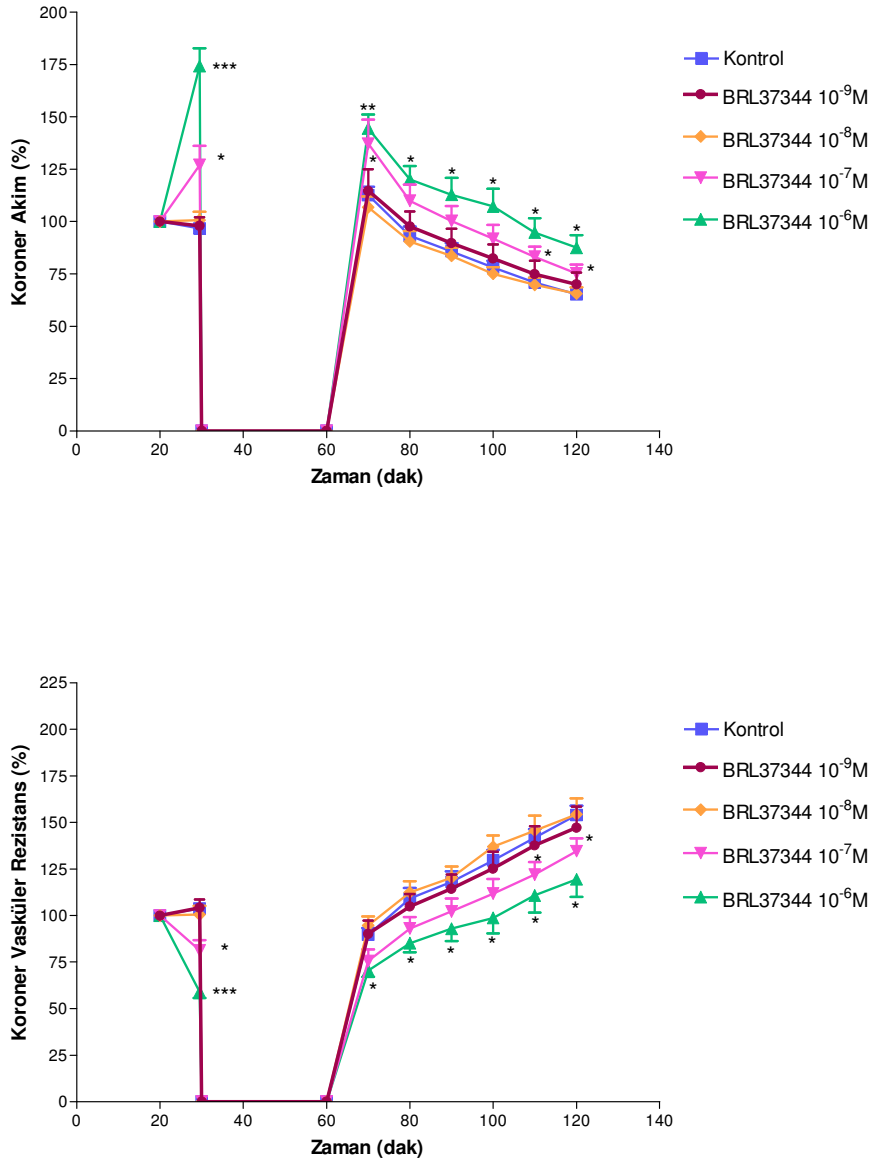
Şekil 4-13: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10⁻⁹-10⁻⁶M) uygulanmasının +dp/dt_{maks} ve -dp/dt_{min} parametreleri üzerine etkisi

(* p<0.05, ** p<0.001, *** p<0.0001, n=6-9). * kontrol'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



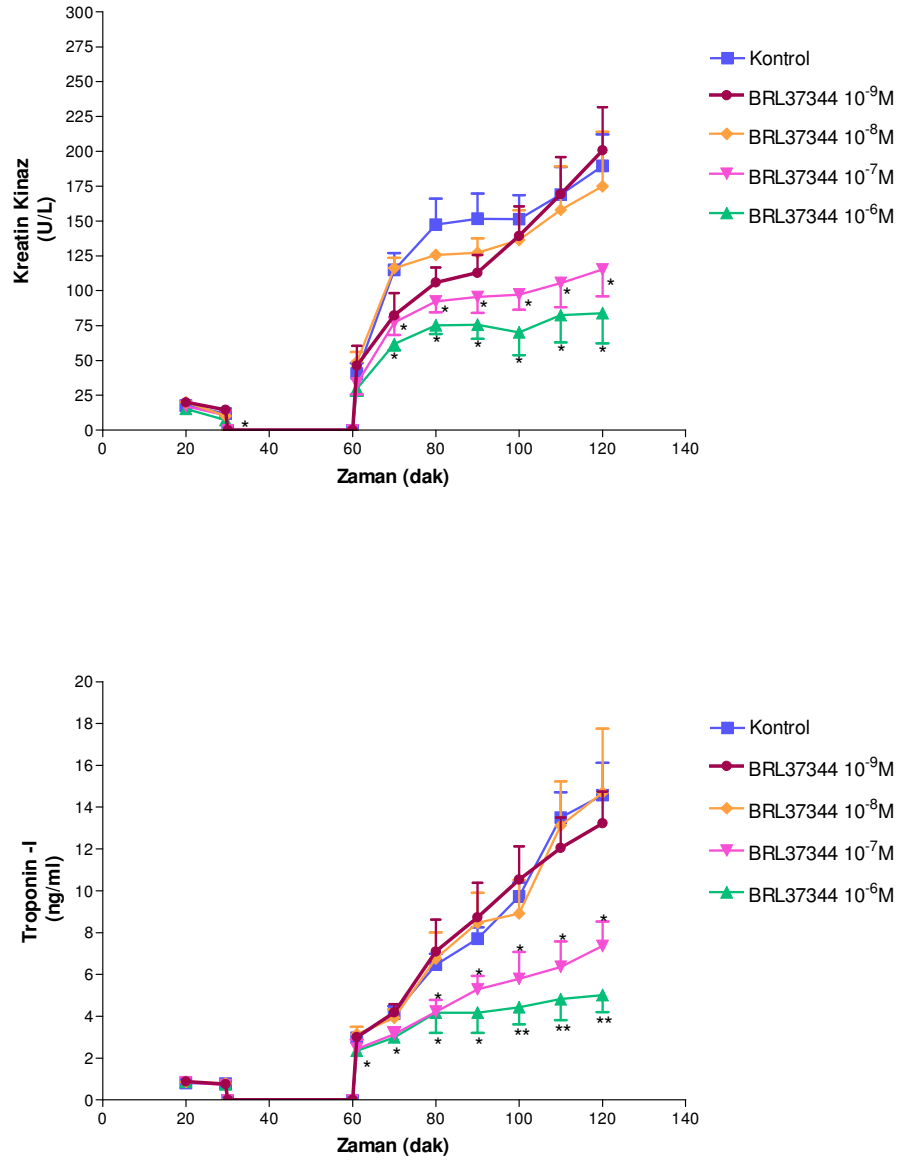
Şekil 4-14: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi

(* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$, $n = 6-9$). * kontrol'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



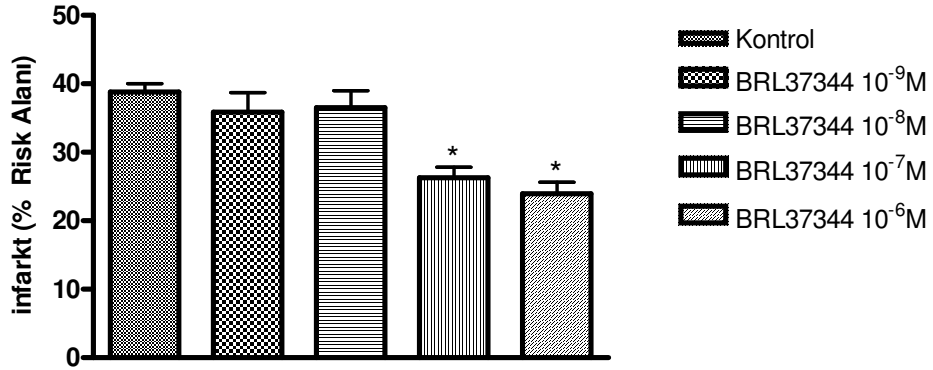
Şekil 4-15: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10⁻⁹-10⁻⁶M) uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi

(* p<0.05, ** p<0.001, *** p<0.0001, n=6-9). * kontrol'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-16: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10⁻⁹-10⁻⁶M) uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeyleri üzerine etkisi

(* p<0.05, ** p<0.001, *** p<0.0001, n=6-9). * kontrol'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-17: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - $10^{-6}M$) uygulanmasının infarkt alanı üzerine etkisi

(* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$, $n=6-9$). * kontrol'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

4.2. BRL37344'ün İskemi Öncesi SR59230A Varlığındaki Etkisi

Sol ventrikül basıncı üzerine etkisi

Selektif β_3 -reseptör agonisti BRL37344'ün (10^{-6} M) iskemi öncesinde sol ventrikül basıncını (%) artırıcı etkisi, spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) varlığında tamamen ortadan kalkmıştır (Şekil 4-23). Buna karşın, BRL37344'ün sol ventrikül basıncını artırıcı (%) etkisinde reperfüzyonun erken döneminde (30') kısmen inhibe olurken, ilerleyen dönemde bu etki BRL37344'ten farklı bulunmamıştır. Paralel olarak, iskemi öncesinde BRL37344 (10^{-6} M) ile artan sol ventrikül basıncının β_3 -reseptör antagonist SR59230A varlığında kontrol grubu değerlerine yaklaştığı, reperfüzyon döneminde ise kontrolden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4-18).

Diyastolik basınç üzerine etkisi

Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen diyastolik basınç (%) değerleri iskemi öncesinde anlamlı olarak yükselmiş, reperfüzyon döneminde ise BRL37344 (10^{-6} M)'e göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Buna karşın, spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen diyastolik basınç (%) değerlerinin iskemi öncesinde kontrol değerlerden farklı olmadığı, reperfüzyon döneminde ise kontrolden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4-18).

Sistolik basınç üzerine etkisi

Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen sistolik basınç (%) değerleri, iskemi öncesinde BRL37344 (10^{-6} M)'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalırken, reperfüzyon döneminde

BRL37344 (10^{-6} M) uygulamasından herhangi bir farklılık göstermemiştir. Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen sistolik basınç (%) değerleri gerek iskemi öncesinde gerekse reperfüzyon döneminde kontrol değerlerden istatistiksel olarak anlamlı farklı olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4-18).

+dp/dt_{maks} üzerine etkisi

Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) varlığında BRL37344'ün (10^{-6} M) +dp/dt_{maks} (%) değerlerine olan etkisi iskemi öncesinde BRL37344 (10^{-6} M)'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalırken, reperfüzyon döneminde BRL37344 (10^{-6} M) uygulamasından herhangi bir farklılık göstermemiştir. Paralel olarak, spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen +dp/dt_{maks} (%) değerlerinin iskemi öncesinde kontrol değerlerden farklı olmadığı, reperfüzyon döneminde ise kontrolden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4-19).

-dp/dt_{min} üzerine etkisi

Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) varlığında BRL37344'ün (10^{-6} M) -dp/dt_{min} (%) değerlerine olan etkisi iskemi öncesinde BRL37344 (10^{-6} M)'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalırken, reperfüzyon döneminde BRL37344 (10^{-6} M) uygulamasından herhangi bir farklılık göstermemiştir. Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen -dp/dt_{min} (%) değerlerinin gerek iskemi öncesinde gerekse reperfüzyon döneminde kontrol değerlerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4-19).

Kalp atım hızı üzerine etkisi

Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M), BRL37344'ün (10^{-6} M) iskemi öncesinde kalp atım hızını (%) artırıcı etkisini önemli ölçüde ortadan kaldırmış, reperfüzyon döneminde ise herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir (Şekil). Paralel olarak, β_3 -reseptör antagonisti SR59230A varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen kalp atım hızı (%) gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmamıştır (Şekil 4-20).

Basınç-hız çarpanı (1/1000) üzerine etkisi

Selektif β_3 -reseptör agonisti BRL37344'ün (10^{-6} M) etkisiyle artan basınç hız çarpanı (%) değerleri gerek iskemi öncesi dönemde gerekse spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) ile istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır (Şekil..). İnhibitör varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen basınç-hız çarpanı (%) değerleri gerek iskemi gerekse reperfüzyon döneminde halen kontrol grubundan istatistiksel olarak daha yüksek düzeydedir (Şekil 4-20).

Koroner akım üzerine etkisi

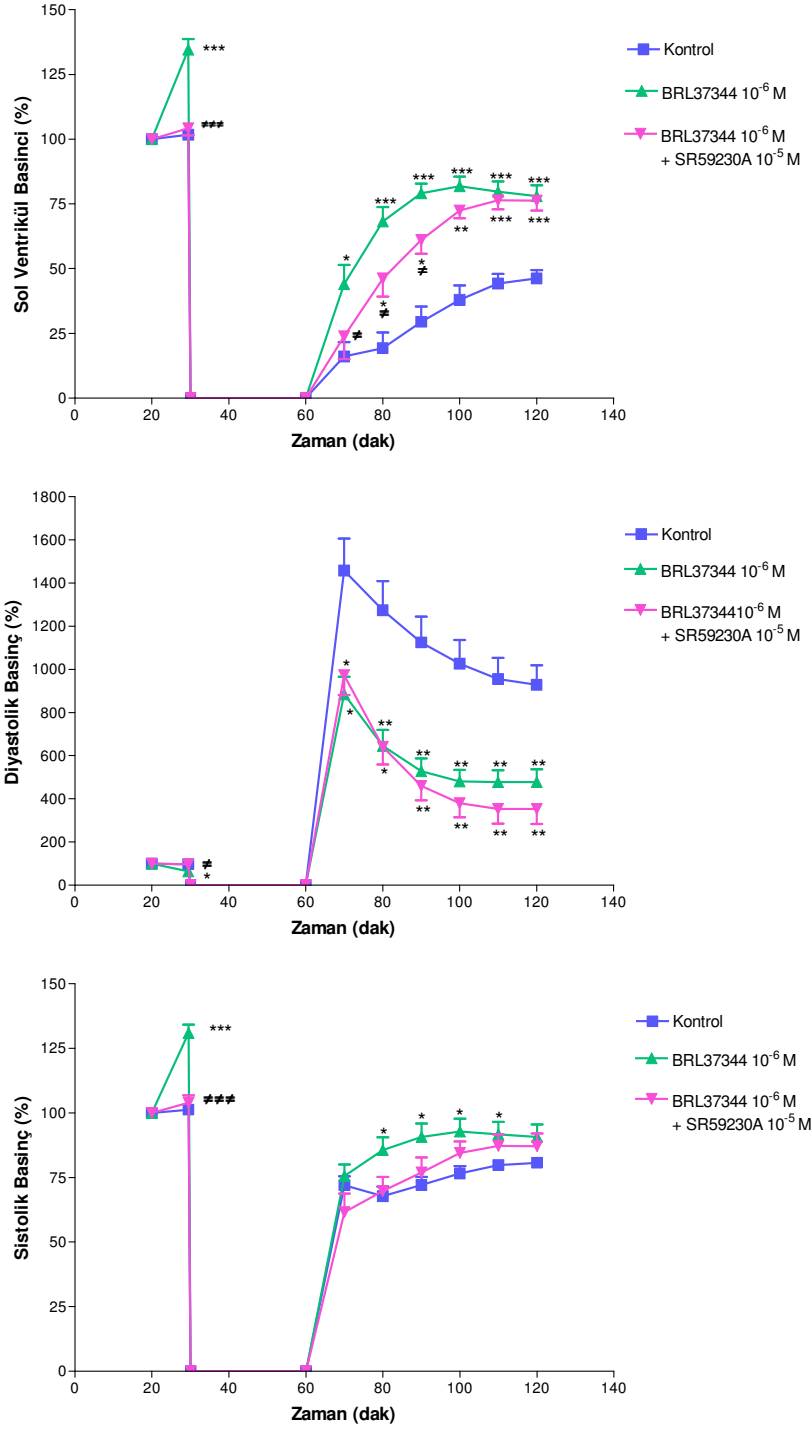
Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M), BRL37344'ün (10^{-6} M) koroner akımı (%) artırıcı etkisini gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltmıştır (Şekil..). Buna karşın spesifik inhibitör SR59230A varlığında BRL37344'ün (10^{-6} M) koroner akım (%) üzerindeki etkisinin iskemi öncesinde kontrolden halen anlamlı olarak yüksek olduğu, reperfüzyon döneminde ise kontrol değerlerden farklı olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4-21).

Koroner vasküler rezistans üzerine etkisi

Koroner vasküler rezistans (%) spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-6} M) uygulaması ile gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde BRL37344 (10^{-6} M)'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükselmiştir (Şekil..). Buna karşın spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A varlığında BRL37344'ün (10^{-6} M) koroner vasküler rezistans (%) üzerindeki etkisinin iskemi öncesinde kontrolden halen anlamlı düzeyde düşük olduğu, reperfüzyon döneminde ise kontrolden istatistiksel olarak anlamlı farklı olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4-21).

Kardiyak biyokimyasal belirteçler ve infarkt alanı üzerine etkisi;

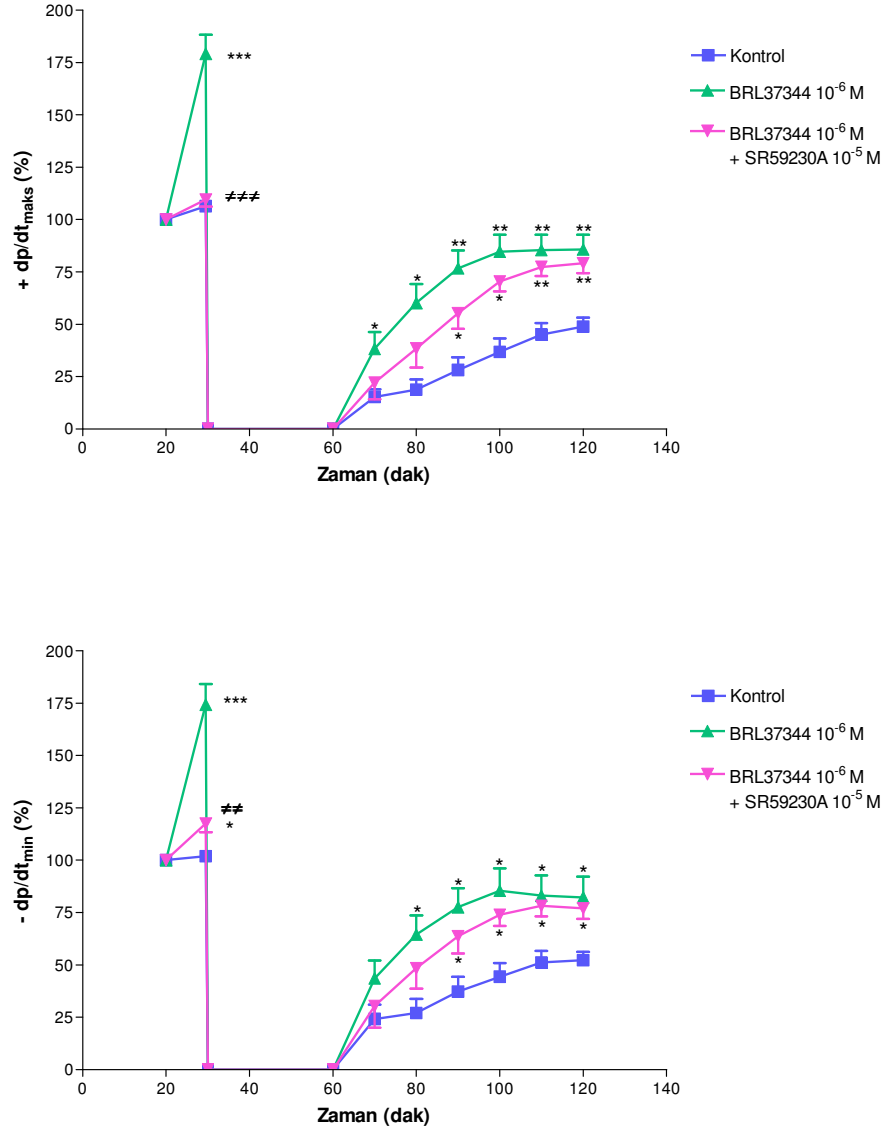
İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-6} M) uygulanması ile CK, Troponin-I düzeyleri, ve infarkt alanında istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyon gözlenmiştir (Şekil 4-22, 4-34).



Şekil 4-18: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁶M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9).

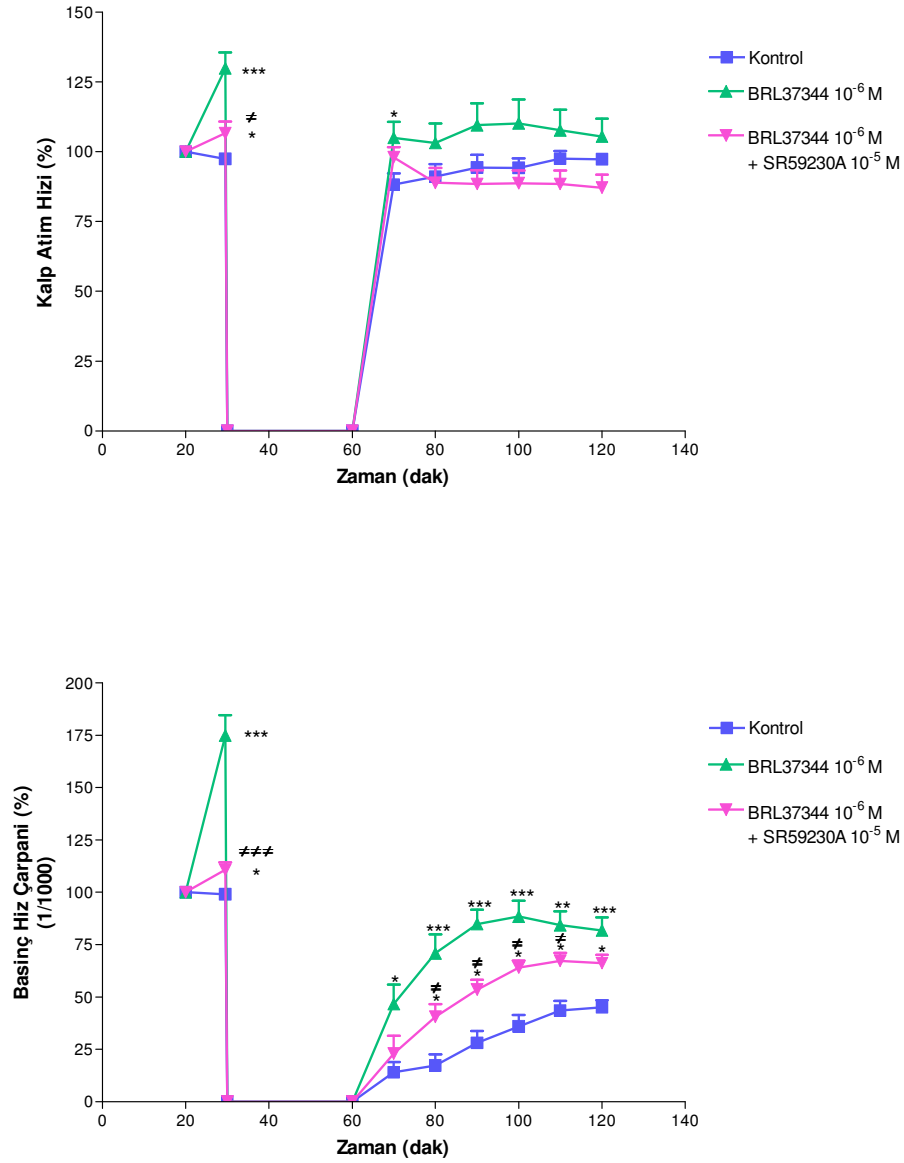
* kontrol'e göre, # BRL37344 10⁻⁶M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-19: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁶M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M uygulanmasının +dp/dt_{max} ve -dp/dt_{min} parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9).

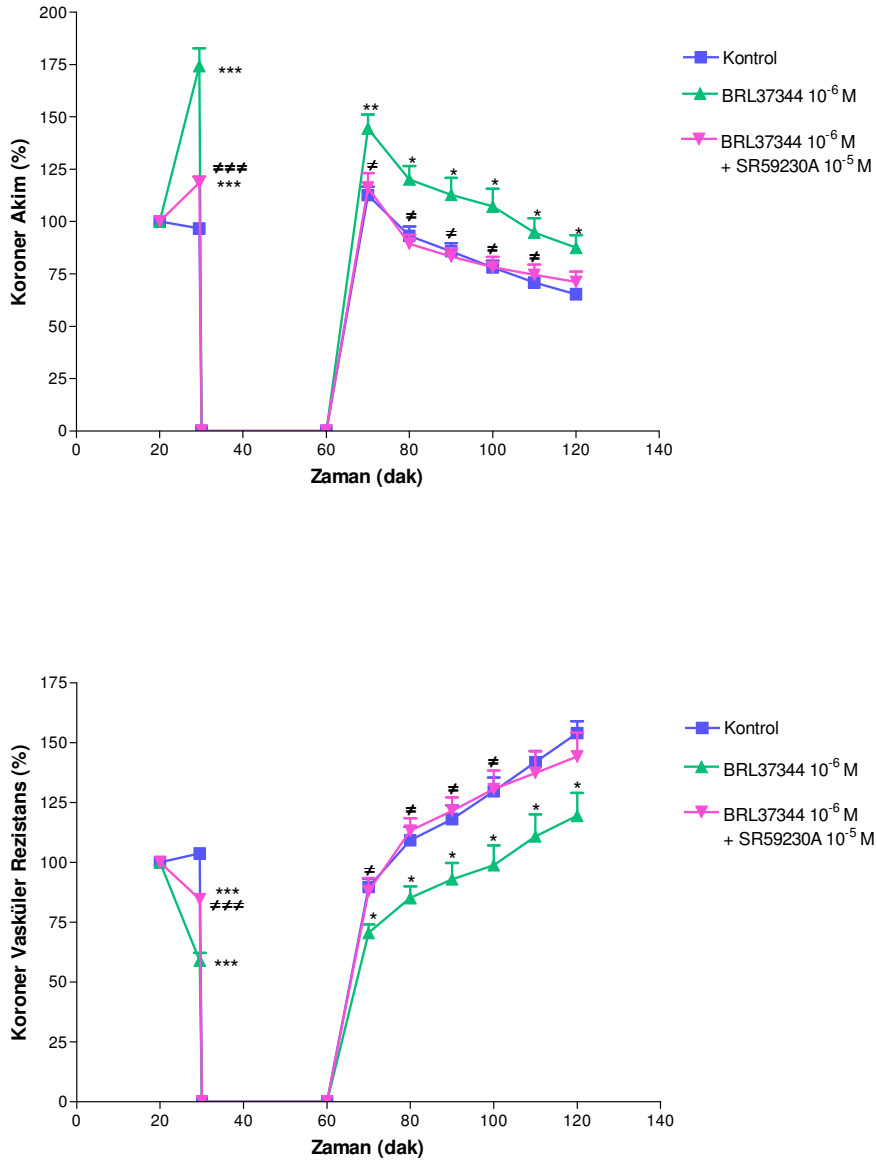
* kontrol'e göre, # BRL37344 10⁻⁶M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-20: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁶M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9).

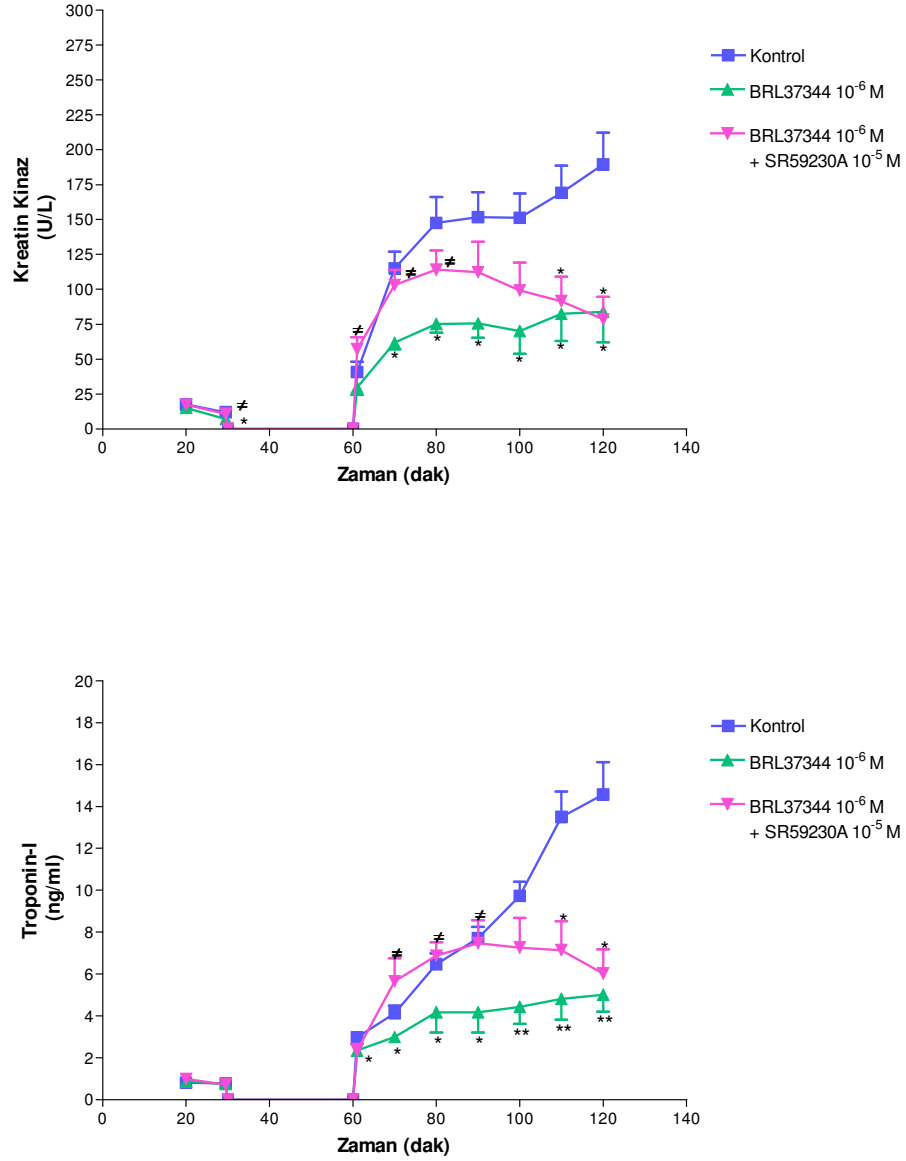
* kontrol'e göre, [#] BRL37344 10⁻⁶M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-21: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁶M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9).

* kontrol'e göre, # BRL37344 10⁻⁶M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-22: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁶M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeylerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9).

* kontrol'e göre, # BRL37344 10⁻⁶M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

4.3. BRL37344'ün İskemi Öncesi SR59230A ve Nadolol Varlığındaki Etkisi

Sol ventrikül basıncı üzerindeki etkisi:

Selektif β_3 -reseptör agonisti BRL37344'ün ($10^{-6}M$), iskemi öncesi ve reperfüzyon döneminde sol ventrikül basıncını (%) arttırıcı etkisi spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A ($10^{-5}M$) + nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol ($10^{-5}M$) varlığında belirgin olarak ortadan kalkmıştır. Her iki inhibitörün varlığında BRL37344 ($10^{-6}M$) ile iskemi öncesindeki etkisi halen kontrolden farklı iken reperfüzyon döneminde ise elde edilen sol ventrikül basıncı (%) değerleri kontrol grubuyla uyumludur (Şekil 4-23, Şekil 4-24).

İskemi öncesinde SR59230A ($10^{-5}M$) + BRL37344 ($10^{-6}M$) uygulanan grup ile SR59230A ($10^{-5}M$) + nadolol ($10^{-5}M$) + BRL37344 ($10^{-6}M$) uygulanan grup arasında sol ventrikül basıncı (%) üzerinde iskemi öncesi dönemde fark gözlenmezken, reperfüzyon döneminde her iki grubun arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu görülmektedir (Şekil 4-29).

Diyastolik basınç üzerine etkisi:

Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A ($10^{-5}M$) + nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol ($10^{-5}M$) varlığında BRL37344 ($10^{-6}M$) ile elde edilen diyastolik basınç (%) değerleri, gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde BRL37344'e ($10^{-6}M$) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmıştır. Paralel olarak, her iki inhibitör varlığında BRL37344 ($10^{-6}M$) ile iskemi öncesi ve reperfüzyon döneminde elde edilen diyastolik basınç (%) değerleri kontrol grubuyla benzer bulunmuştur (Şekil 4-24).

İskemi öncesinde SR59230A ($10^{-5}M$) + BRL37344 ($10^{-6}M$) uygulanan grup ile SR59230A ($10^{-5}M$) + nadolol ($10^{-5}M$) + BRL37344 ($10^{-6}M$) uygulanan grup arasında

diyastolik basınç (%) değerleri açısından iskemi öncesi dönemde anlamlı bir farklılık gözlenmezken, reperfüzyon döneminde ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmektedir (Şekil 4-29).

Sistolik basınç üzerine etkisi:

Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) + nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen sistolik basınç (%) değerleri, iskemi öncesinde BRL37344 (10^{-6} M) uygulamasına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalırken, reperfüzyon döneminde BRL37344 (10^{-6} M)'dan herhangi bir farklılık göstermemiştir. Her iki inhibitörün varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen sistolik basınç (%) değerleri iskemi öncesinde kontrol değerlere yaklaşmış olmakla birlikte halen anlamlı farklı, reperfüzyon döneminde ise kontrol grubundan istatistiksel olarak daha yüksek düzeydedir (Şekil 4-24)

İskemi öncesinde SR59230A (10^{-5} M) + BRL37344 (10^{-6} M) uygulanan grup ile SR59230A (10^{-5} M) + nadolol (10^{-5} M) + BRL37344 (10^{-6} M) uygulanan grup arasında sistolik basınç (%) değerleri açısından gerek iskemi öncesi dönemde gerekse reperfüzyon döneminde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4-29).

+dp/dt_{maks} üzerine etkisi:

Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) + nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol (10^{-5} M) varlığında BRL37344'ün (10^{-6} M) +dp/dt_{maks} (%) değerlerine olan etkisi sadece BRL37344 (10^{-6} M) uygulamasına göre gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır. Her iki inhibitörün varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen +dp/dt_{maks} (%) değerleri kontrol değerler ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Şekil 4-25).

İskemi öncesinde SR59230A (10^{-5} M) + BRL37344 (10^{-6} M) uygulanan grup ile SR59230A (10^{-5} M) + nadolol (10^{-5} M) + BRL37344 (10^{-6} M) uygulanan grup arasında $+dp/dt_{maks}$ (%) değerleri açısından iskemi öncesi dönemde fark gözlenmezken, reperfüzyon döneminde her iki grubun arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (Şekil 4-30).

-dp/dt_{min} üzerine etkisi:

Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) + nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol (10^{-5} M) varlığında BRL37344'ün (10^{-6} M) $-dp/dt_{min}$ (%) değerlerine olan etkisi sadece BRL37344 (10^{-6} M) uygulamasına göre gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır. Her iki inhibitör varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen $-dp/dt_{min}$ (%) değerleri kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4-25).

İskemi öncesinde SR59230A (10^{-5} M) + BRL37344 (10^{-6} M) uygulanan grup ile SR59230A (10^{-5} M) + nadolol (10^{-5} M) + BRL37344 (10^{-6} M) uygulanan grup arasında $-dp/dt_{min}$ (%) değerleri açısından iskemi öncesi dönemde fark gözlenmezken, reperfüzyon döneminde her iki grubun arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (Şekil 4-30).

Kalp atım hızı üzerine etkisi:

Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) + nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol (10^{-5} M) kombinasyonu, BRL37344'ün (10^{-6} M) iskemi öncesinde kalp atım hızını (%) artırıcı etkisini tamamen ortadan kaldırmış, reperfüzyon döneminde ise BRL37344'ün (10^{-6} M) etkisinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Paralel olarak, her iki inhibitörün varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen kalp atım hızının (%) gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmamıştır (Şekil 4-26).

İskemi öncesinde SR59230A (10^{-5} M) + BRL37344 (10^{-6} M) uygulanan grup ile SR59230A (10^{-5} M) + nadolol (10^{-5} M) + BRL37344 (10^{-6} M) uygulanan grup arasında kalp atım hızı (%) değerleri arasında gerek iskemi öncesi dönemde gerekse reperfüzyon döneminde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4-31).

Basınç-hız çarpanı (1/1000) üzerine etkisi:

Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) + nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol (10^{-5} M) varlığında BRL37344'ün (10^{-6} M) basınç hız çarpanı (%) değerleri üzerindeki etkisi gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır. Paralel olarak, her iki inhibitörün varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen basınç hız çarpanı (%) değerleri gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmamıştır (Şekil 4-26).

İskemi öncesinde SR59230A (10^{-5} M) + BRL37344 (10^{-6} M) uygulanan grup ile SR59230A (10^{-5} M) + nadolol (10^{-5} M) + BRL37344 (10^{-6} M) uygulanan grup arasında basınç-hız çarpanı (%) değerleri açısından iskemi öncesi dönemde fark gözlenmezken, reperfüzyon döneminde her iki grubun arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (Şekil 4-31).

Koroner akım üzerine etkisi:

Spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5} M) + nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol (10^{-5} M) kombinasyonu, BRL37344'ün (10^{-6} M) koroner akımı (%) arttırıcı etkisini gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde inhibe etmiştir. Ancak her iki inhibitörün varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen koroner akım (%) değerlerinin iskemi öncesinde halen kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı farklı olduğu gözlenmektedir. Buna karşılık,

reperfüzyon döneminde inhibitörler varlığında BRL37344 (10^{-6}M) ile elde edilen koroner akım (%) değerleri kontrol grubundan farklı bulunmamıştır (Şekil 4-27).

İskemi öncesinde SR59230A (10^{-5}M) + BRL37344 (10^{-6}M) uygulanan grup ile SR59230A (10^{-5}M) + nadolol (10^{-5}M) + BRL37344 (10^{-6}M) uygulanan grup arasında koroner akım (%) değerleri açısından gerek iskemi öncesi dönemde gerekse reperfüzyon döneminde her iki grubun arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4-32).

Koroner vasküler rezistans üzerine etkisi:

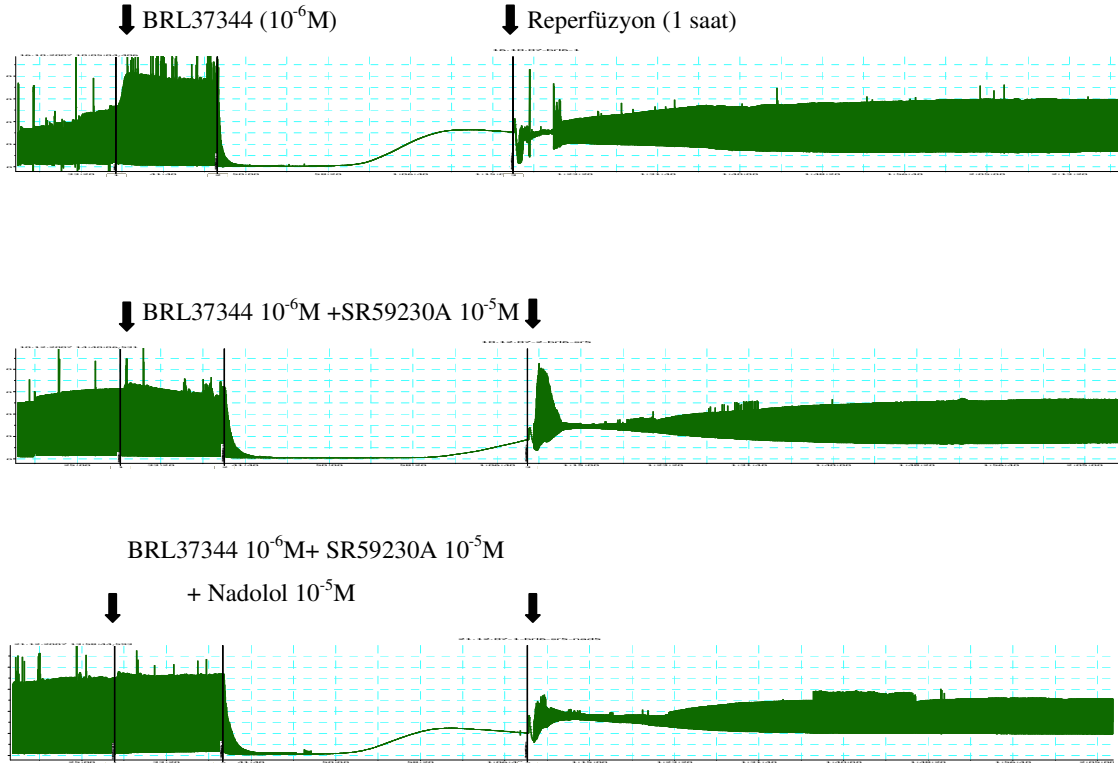
Koroner vasküler rezistans üzerinde spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5}M) + nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol (10^{-5}M) varlığında BRL37344'ün (10^{-6}M) etkisi, gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde, BRL37344 (10^{-6}M)'a göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır. Her iki inhibitörün varlığında elde edilen koroner vasküler rezistans (%) değerleri gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyonun son dönemlerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (Şekil 4-27).

İskemi öncesinde SR59230A (10^{-5}M) + BRL37344 (10^{-6}M) uygulanan grup ile SR59230A (10^{-5}M) + nadolol (10^{-5}M) + BRL37344 (10^{-6}M) uygulanan grup arasında koroner vasküler rezistans (%) değerleri açısından iskemi öncesi dönemde fark gözlenmezken, reperfüzyonun son dönemlerinde her iki grubun arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (Şekil 4-32).

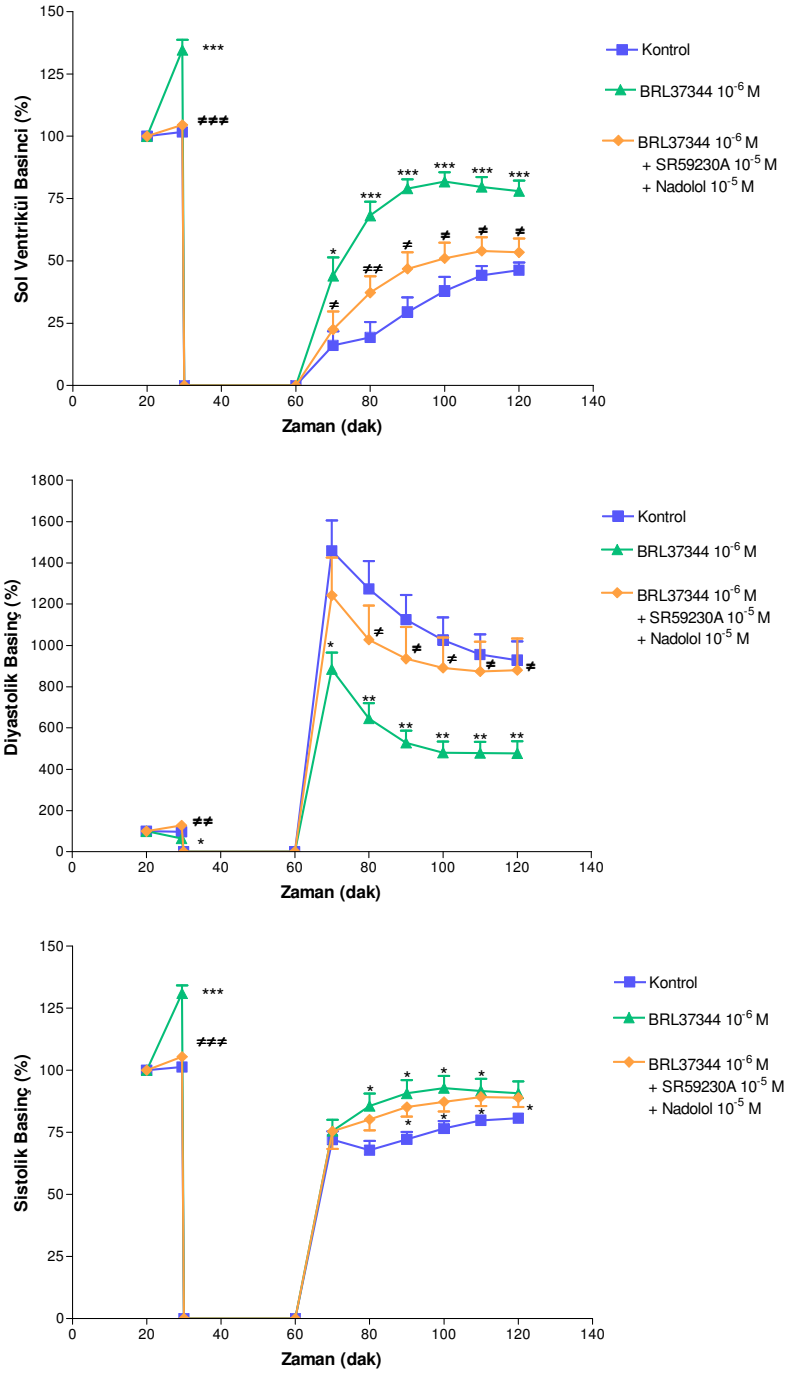
Kardiyak biyokimyasal belirteçler ve infarkt alanı üzerine etkisi;

Koroner vasküler rezistans üzerinde spesifik β_3 -reseptör antagonisti SR59230A (10^{-5}M) + nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol (10^{-5}M) varlığında

BRL37344'ün (10^{-6} M) CK, Troponin-I düzeyleri ve infarkt alanı üzerindeki etkisi ortadan kalkmıştır (Şekil 4-28, Şekil 4-34). İskemi öncesinde SR59230A (10^{-5} M) + BRL37344 (10^{-6} M) uygulanan grup ile SR59230A (10^{-5} M) + nadolol (10^{-5} M) + BRL37344 (10^{-6} M) uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (Şekil 4-33, Şekil 4-34).



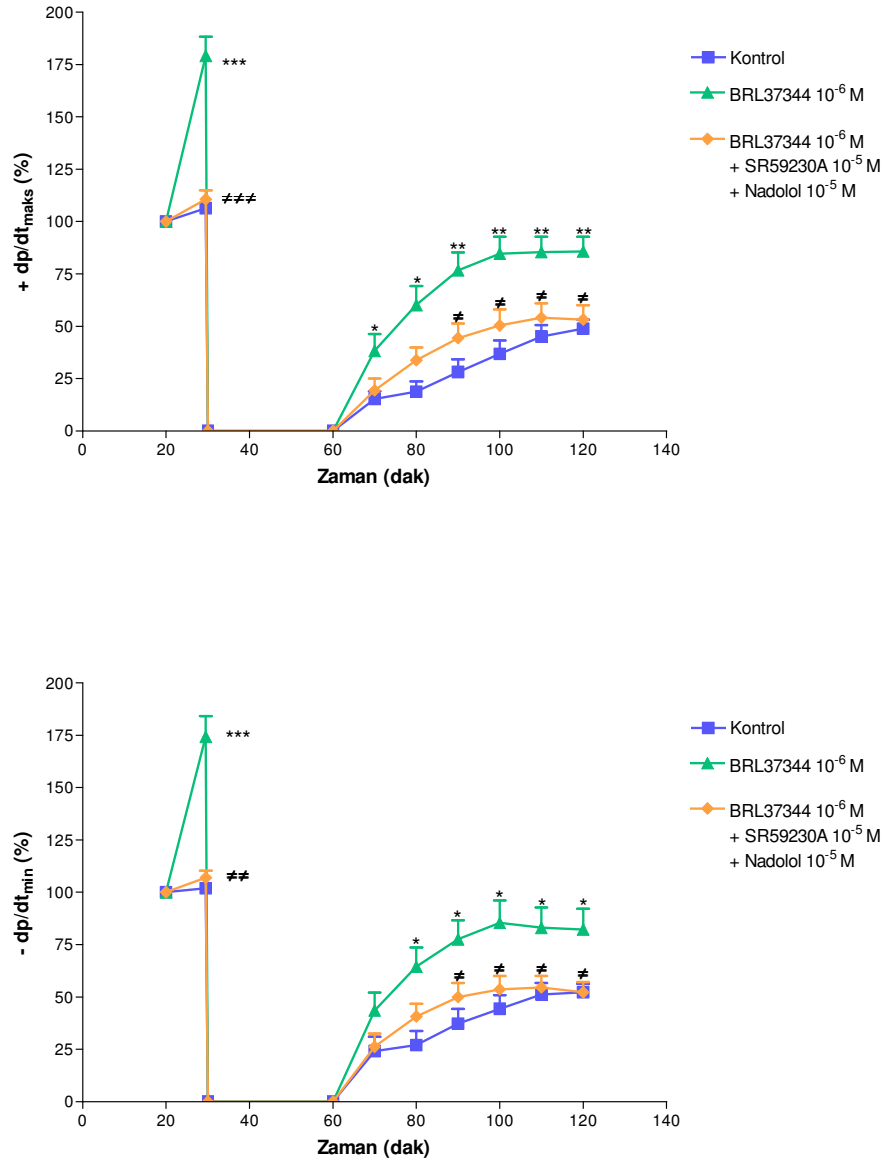
Şekil 4-23: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10^{-6} M, BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M ve BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M + Nadolol 10^{-5} M uygulanmasının sol ventrikül basıncı üzerine etkisini gösteren orijinal trase örnekleri



Şekil 4-24: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁶M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9)

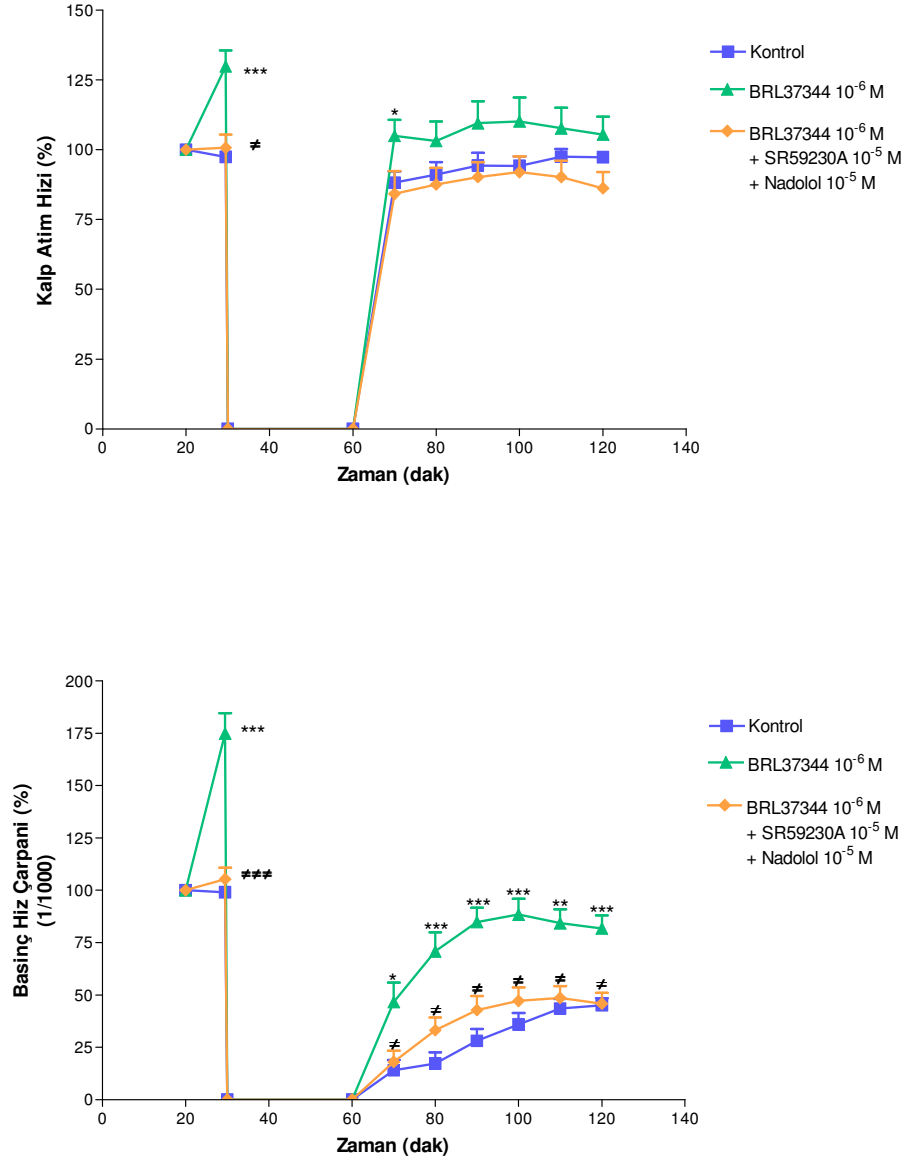
* kontrol'e göre, # BRL37344 10⁻⁶M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-25: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁶M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının +dp/dt_{maks} ve -dp/dt_{min} parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9)

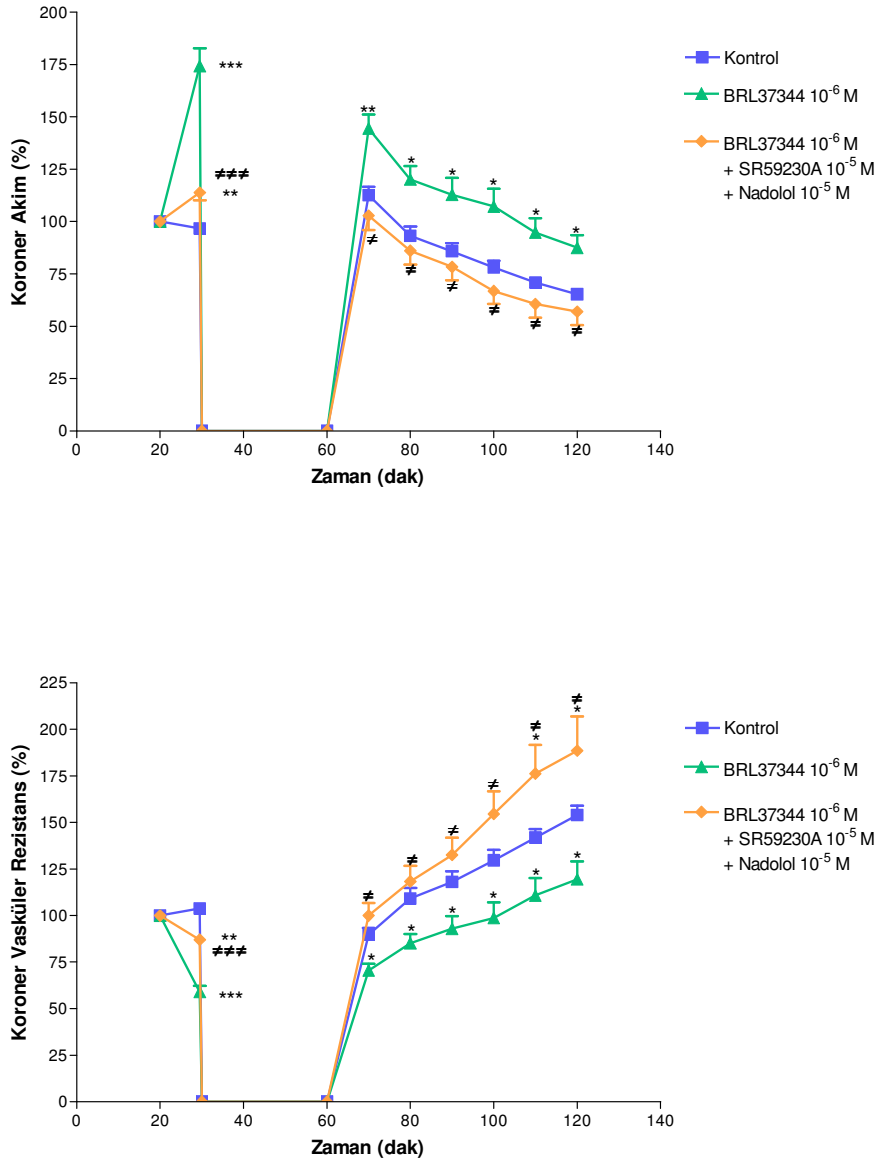
* kontrol'e göre, # BRL37344 10⁻⁶M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-26: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁶M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9)

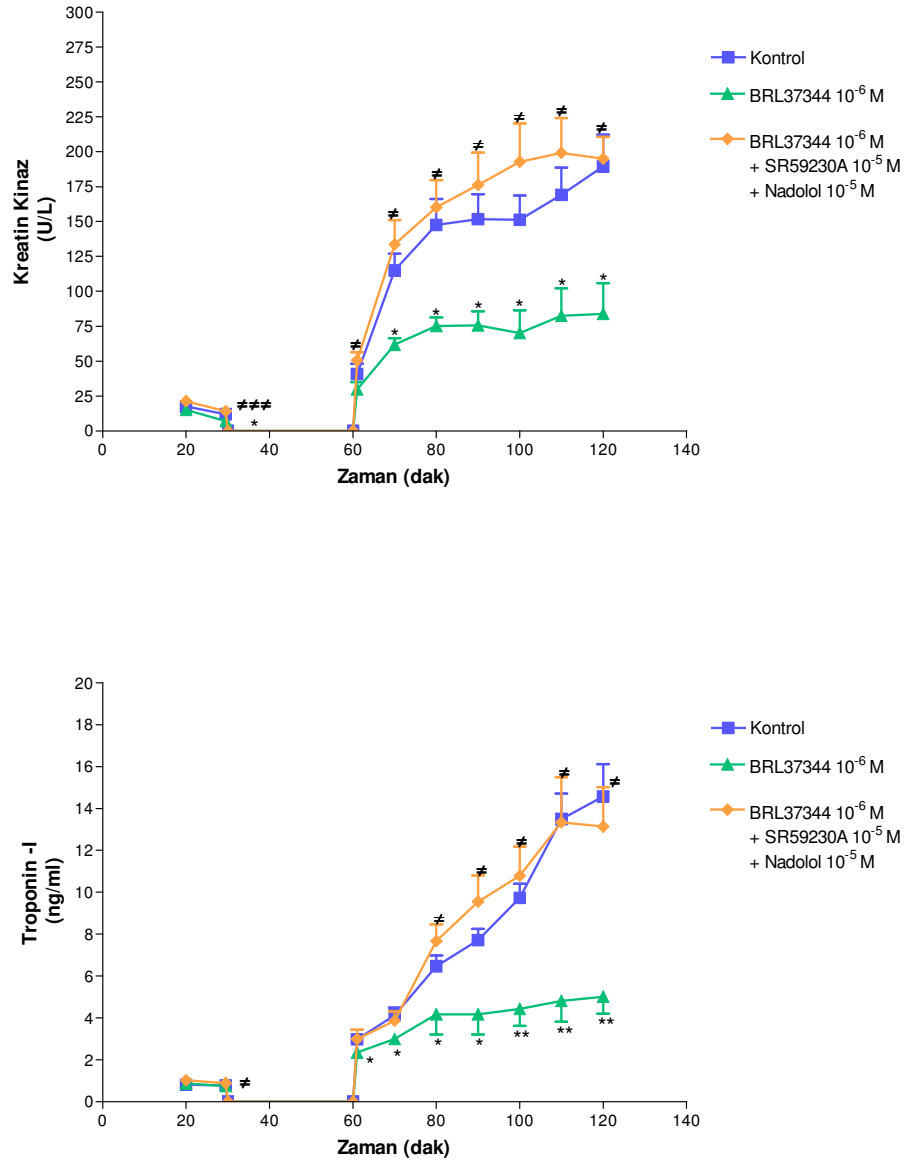
* kontrol'e göre, # BRL37344 10⁻⁶M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-27: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁶M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9)

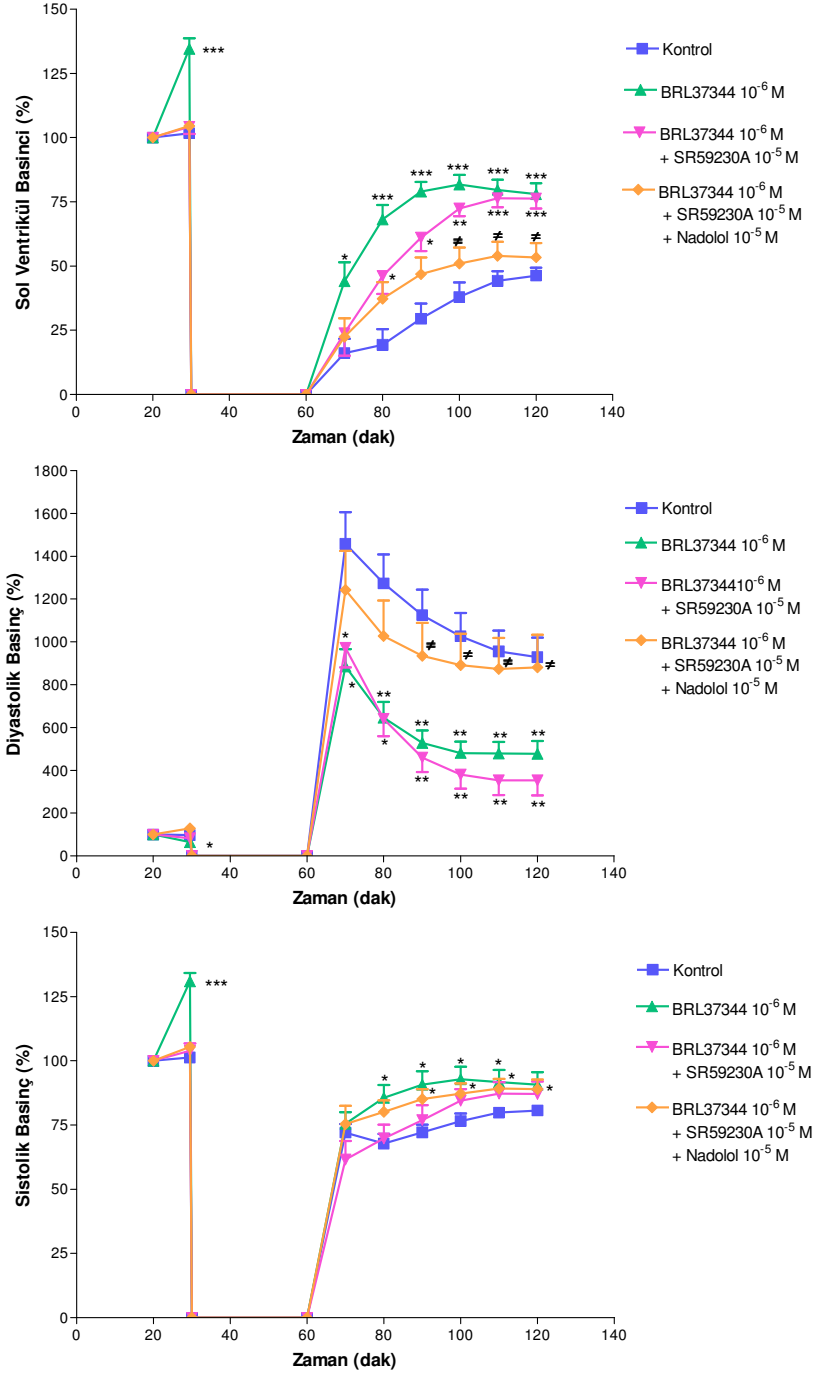
* kontrol'e göre, [#] BRL37344 10⁻⁶M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-28: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁶M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeylerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9)

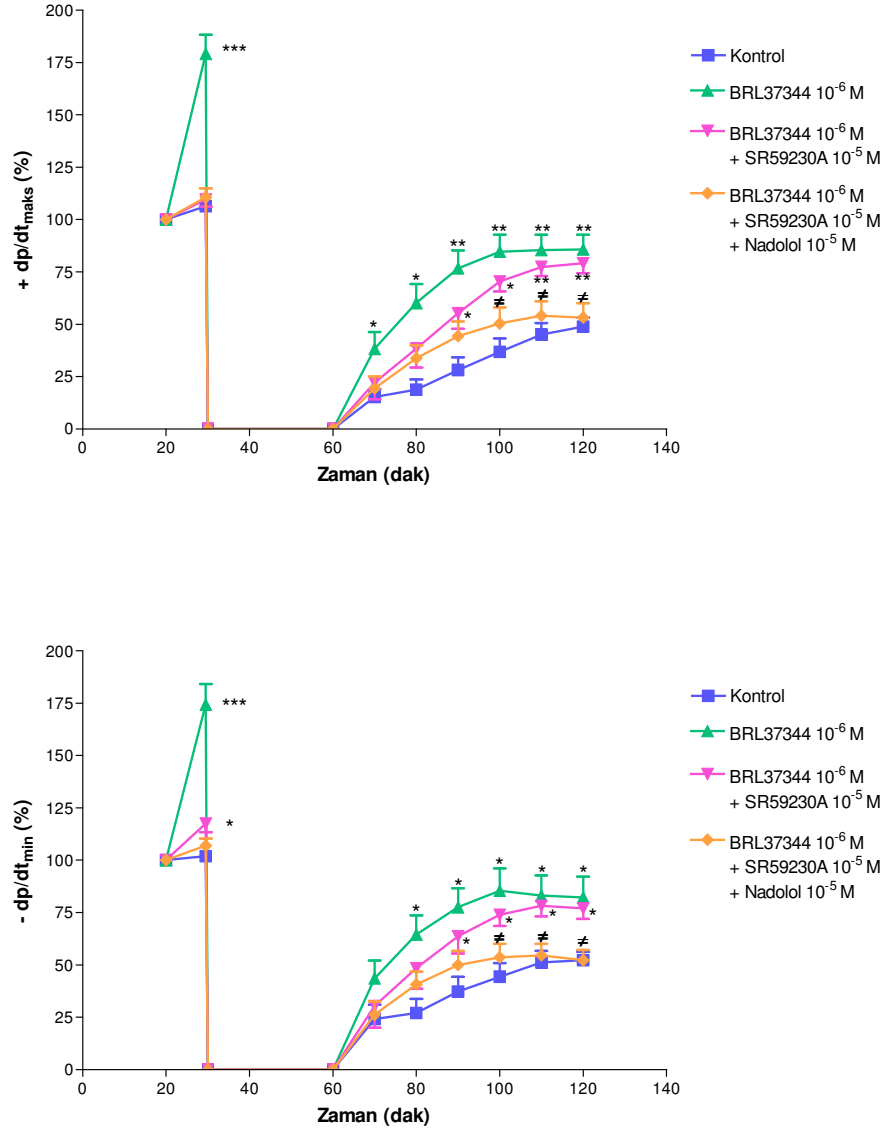
* kontrol'e göre, # BRL37344 10⁻⁶M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-29: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁶M, BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9)

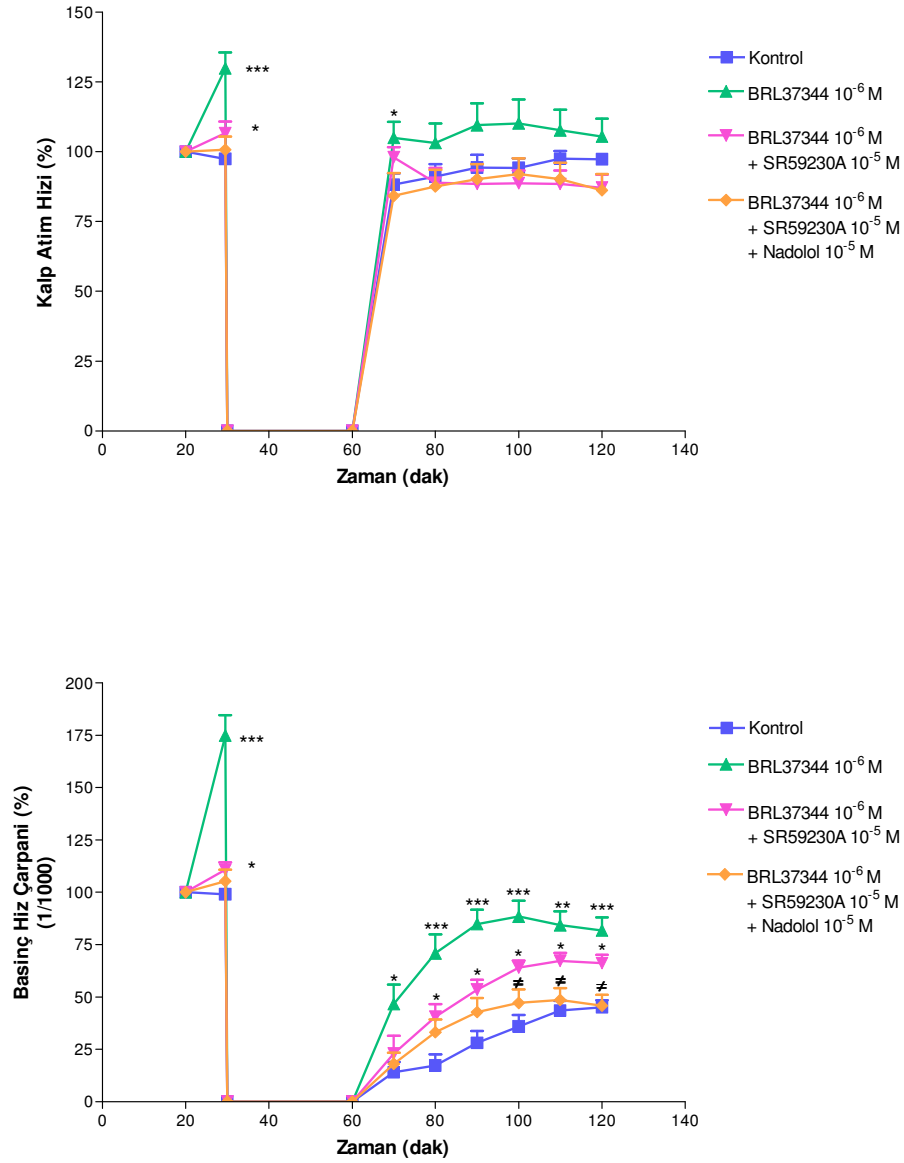
* kontrol'e göre, † ikili ve üçlü uygulamalar arasındaki istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-30: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁶M, BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının +dp/dt_{maks} ve -dp/dt_{min} parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9).

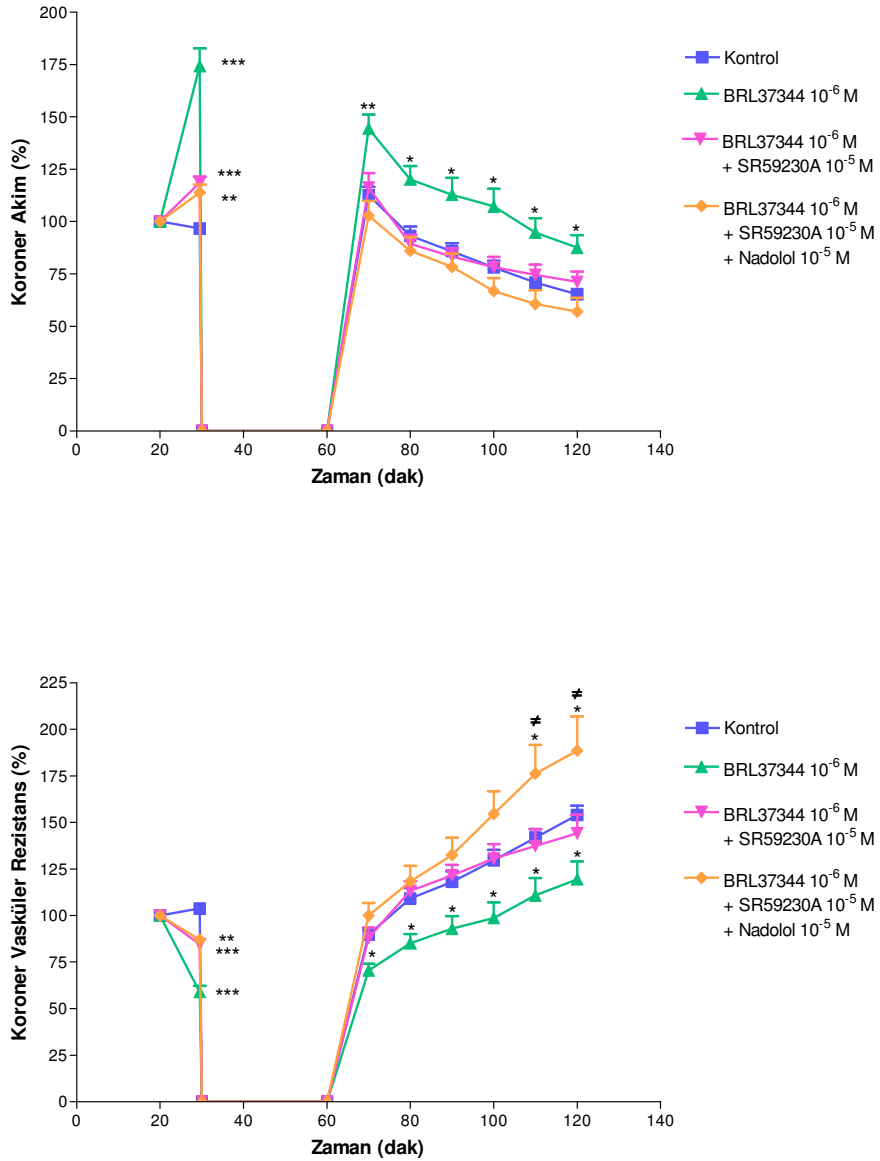
* kontrol'e göre, † ikili ve üçlü uygulamalar arasındaki istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-31: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak süreyle BRL37344 10⁻⁶M, BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının kalp atım hızı ve basıç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9).

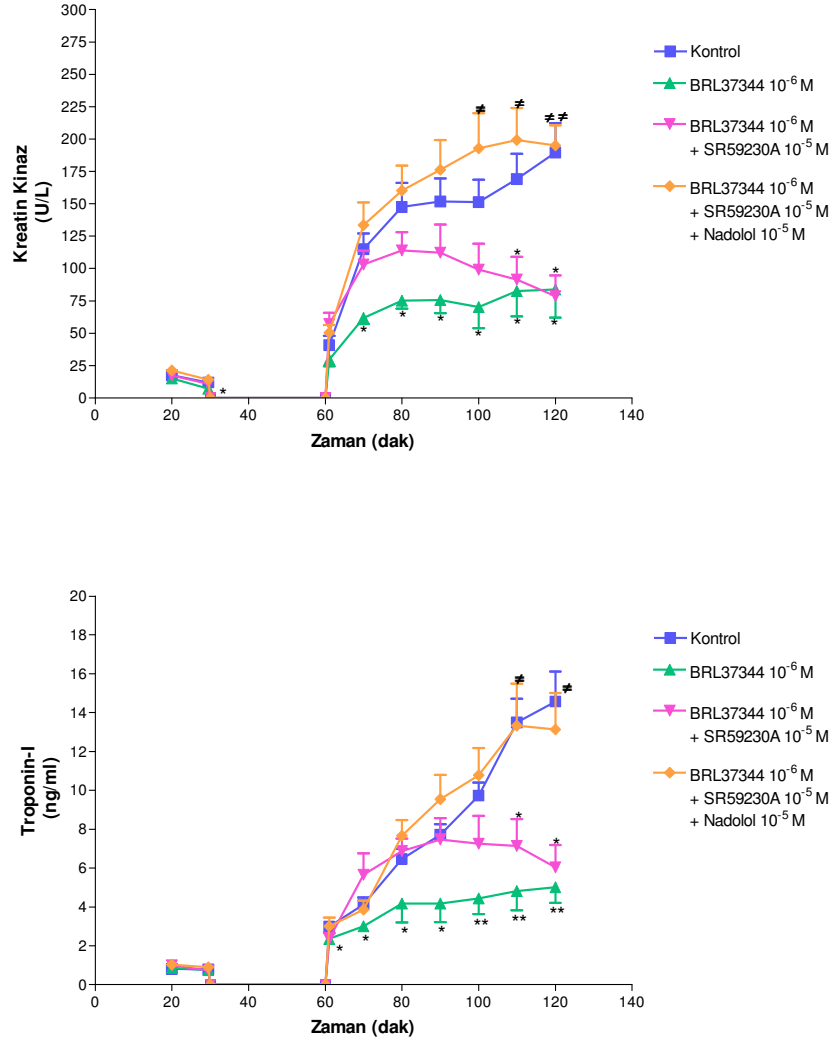
* kontrol'e göre, † ikili ve üçlü uygulama arasındaki istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-32: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10^{-6} M, BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M ve BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M + Nadolol 10^{-5} M uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9).

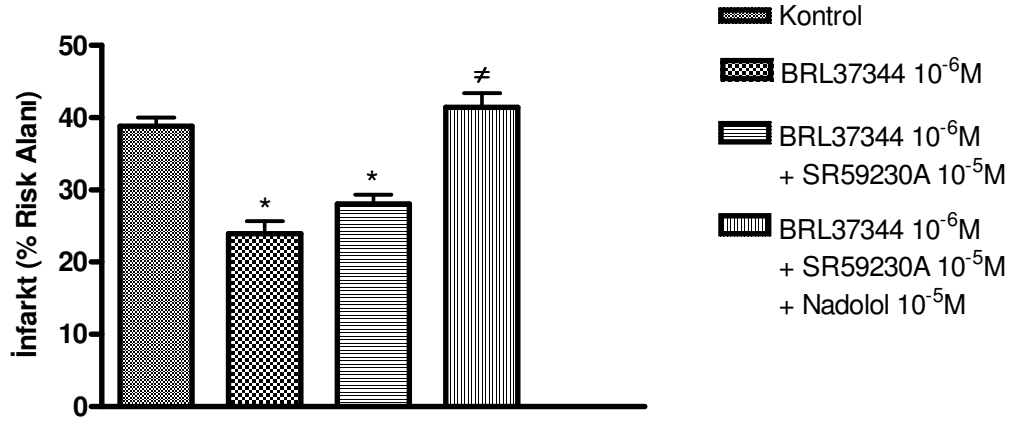
* kontrol'e göre, † ikili ve üçlü uygulama arasındaki istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-33: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁶M, BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeyleri üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9).

* kontrol'e göre, † ikili ve üçlü uygulama arasındaki anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-34: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁶M, BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M ve BRL37344 10⁻⁶M + SR59230A 10⁻⁵M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının infarkt alanı üzerine etkisi

(*p<0,05, **p<0,001, ***p<0,0001, n=6-9).

* kontrol'e göre, ≠ ikili ve üçlü uygulama arasındaki anlamlılığı göstermektedir.

4.4. BRL37344'ün Nadolol Varlığında İskemi Öncesi Etkisi

Sol ventrikül basıncı üzerine etkisi:

İzole sıçan kalbinde nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol ($10^{-5}M$) varlığında BRL37344 ($10^{-8}M$) ile elde edilen sol ventrikül basıncı (%) değerleri gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde sadece BRL37344 ($10^{-8}M$) uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-35). Buna karşın, nadolol ($10^{-5}M$) varlığında BRL37344 ($10^{-8}M$) uygulaması ile elde edilen sol ventrikül basıncı (%) değerleri iskemi öncesinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmış, reperfüzyon döneminde ise kontrol grubuyla benzer bulunmuştur (Şekil 4-36).

Diyastolik basınç üzerine etkisi:

İzole sıçan kalbinde nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol ($10^{-5}M$) varlığında BRL37344 ($10^{-8}M$) ile elde edilen diyastolik basınç (%) değerleri gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde sadece BRL37344 ($10^{-8}M$) uygulanan grubun değerleriyle uyumludur. Paralel olarak nadolol ($10^{-5}M$) varlığında BRL37344 ($10^{-8}M$) uygulaması ile elde edilen diyastolik basınç (%) değerleri, gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-36).

Sistolik basınç üzerine etkisi:

İzole sıçan kalbinde nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol ($10^{-5}M$) varlığında BRL37344 ($10^{-8}M$) ile elde edilen sistolik basınç (%) değerleri gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde sadece BRL37344 ($10^{-8}M$) uygulaması sonucu elde edilen değerler ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Buna karşın, nadolol ($10^{-5}M$) varlığında BRL37344 ($10^{-8}M$)

uygulanması ile elde edilen sistolik basınç (%) değerleri, iskemi öncesinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir. Nadolol (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-8} M) uygulaması ile reperfüzyon döneminde elde edilen değerler ise kontrol grubuyla uyumludur (Şekil 4-36).

+dp/dt_{maks} üzerine etkisi:

İzole sıçan kalbinde nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti , nadolol (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-8} M) ile elde edilen +dp/dt_{maks} (%) değerleri sadece BRL37344 (10^{-8} M) uygulanan grup ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Buna paralel olarak nadolol (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-8} M) uygulaması ile elde edilen +dp/dt_{maks} (%) değerleri, gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde kontrol grubuyla benzer bulunmuştur (Şekil 4-37).

-dp/dt_{min} üzerine etkisi:

İzole sıçan kalbinde nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-8} M) ile elde edilen -dp/dt_{min} (%) değerleri iskemi öncesi sadece BRL37344 (10^{-8} M) uygulamasına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalırken, reperfüzyon döneminde BRL37344 (10^{-6} M)'dan herhangi bir farklılık göstermemiştir. Paralel olarak, nadolol (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-8} M) uygulaması ile elde edilen -dp/dt_{min} (%) değerleri, gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde kontrol grubuyla benzer bulunmuştur (Şekil 4-37).

Kalp atım hızı üzerine etkisi:

İzole sıçan kalbinde nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-8} M) ile elde edilen kalp atım hızı (%) değerleri gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde sadece BRL37344 (10^{-8} M) uygulanan grubun

değerleri ile uyumludur. Paralel olarak, nadolol ($10^{-5}M$) varlığında BRL37344 ($10^{-8}M$) uygulaması ile elde edilen kalp atım hızı (%) değerleri, gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-38).

Basınç-hız çarpanı (1/1000) üzerine etkisi:

İzole sıçan kalbinde nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol ($10^{-5}M$) varlığında BRL37344 ($10^{-8}M$) ile elde edilen basınç-hız çarpanı (%) değerleri gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde sadece BRL37344 ($10^{-8}M$) uygulanan grubun değerleri ile uyumludur. Paralel olarak, nadolol ($10^{-5}M$) varlığında BRL37344 ($10^{-8}M$) uygulaması ile elde edilen basınç-hız çarpanı (%) değerleri, gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-38).

Koroner akım üzerine etkisi:

İzole sıçan kalbinde nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol ($10^{-5}M$) varlığında BRL37344 ($10^{-8}M$) ile elde edilen koroner akım (%) değerleri sadece BRL37344 ($10^{-8}M$) uygulanan grubun değerleri ile uyumludur. Paralel olarak, nadolol ($10^{-5}M$) varlığında BRL37344 ($10^{-8}M$) uygulaması ile elde edilen koroner akım (%) değerleri, gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-39).

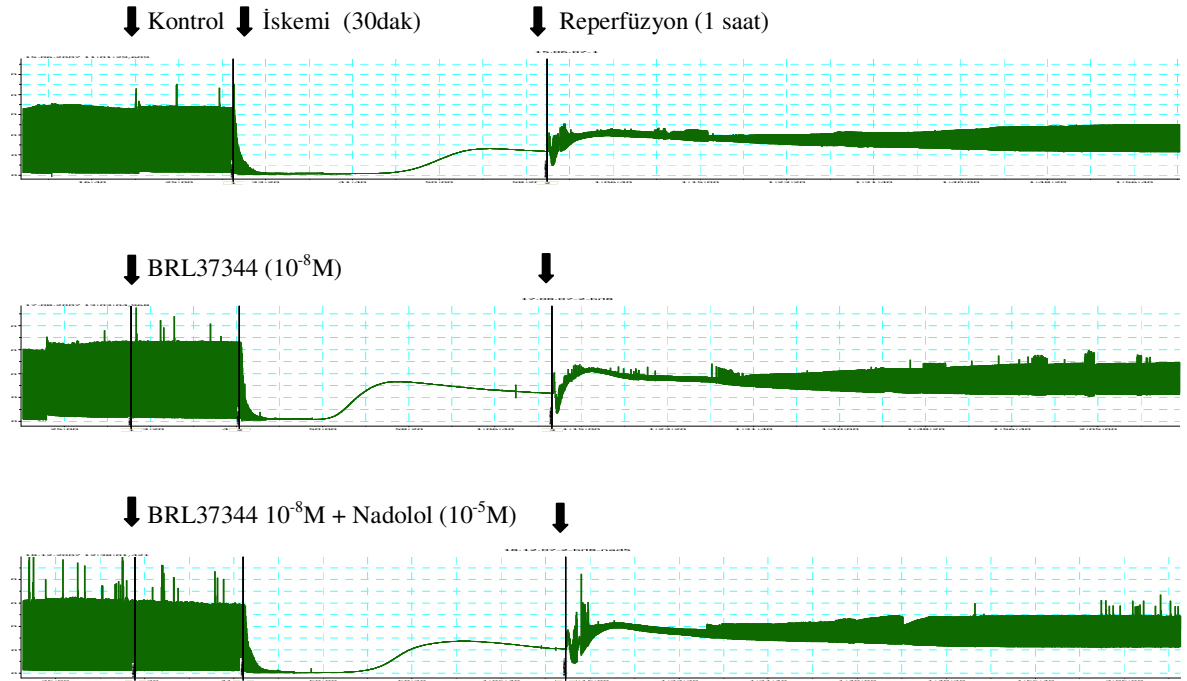
Koroner vasküler rezistans üzerine etkisi:

İzole sıçan kalbinde nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol ($10^{-5}M$) varlığında BRL37344 ($10^{-8}M$) ile elde edilen koroner vasküler rezistans (%) değerleri sadece BRL37344 ($10^{-8}M$) uygulanan grubun değerleri ile uyumludur. Paralel olarak,

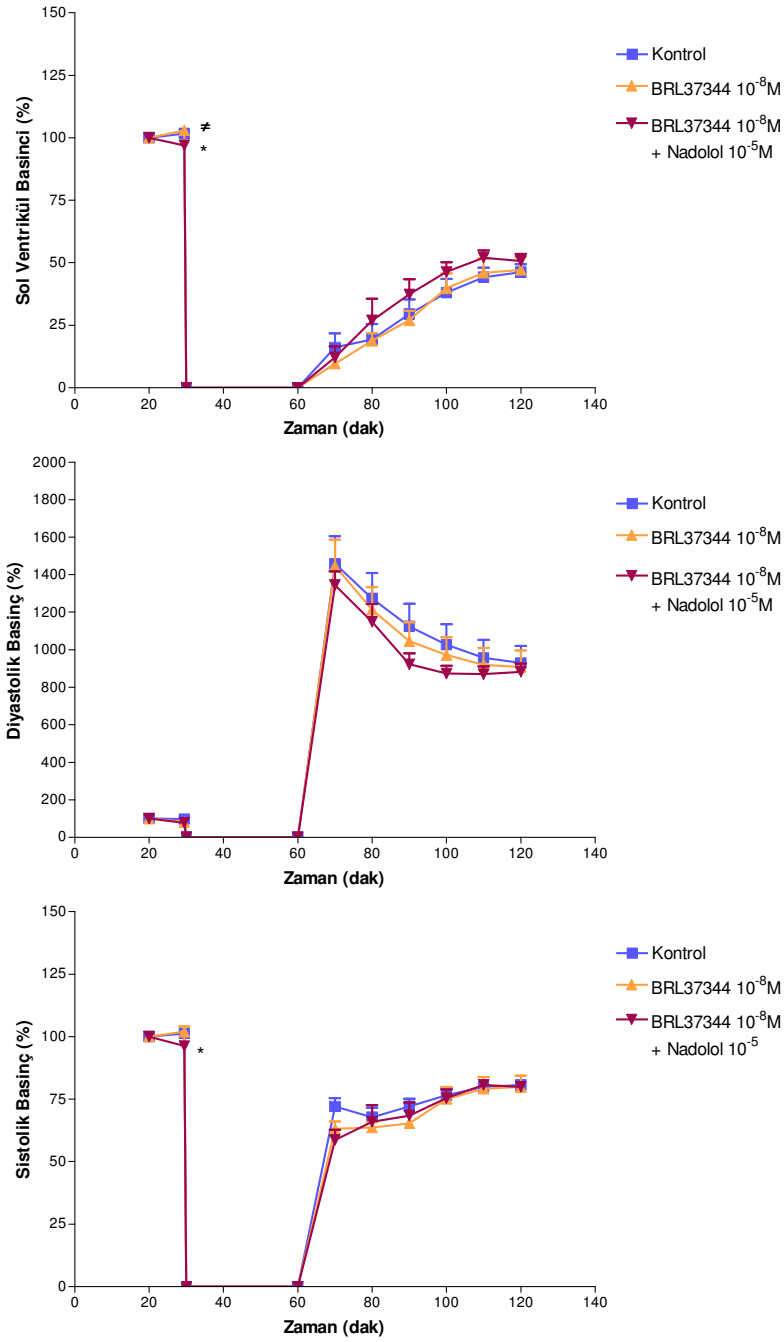
nadolol (10^{-5}M) varlığında BRL37344 (10^{-8}M) uygulaması ile elde edilen koroner vasküler rezistans (%) değerleri, gerek iskemi öncesi gerekse reperfüzyon döneminde, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-39).

Kardiyak biyokimyasal belirteçler ve infarkt alanı üzerine etkisi;

İzole sıçan kalbinde nonselektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol (10^{-5}M) varlığında BRL37344 (10^{-8}M) uygulanması ile CK, Troponin-I düzeyleri, ve infarkt alanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmiştir (Şekil 4-40, Şekil 4-41).



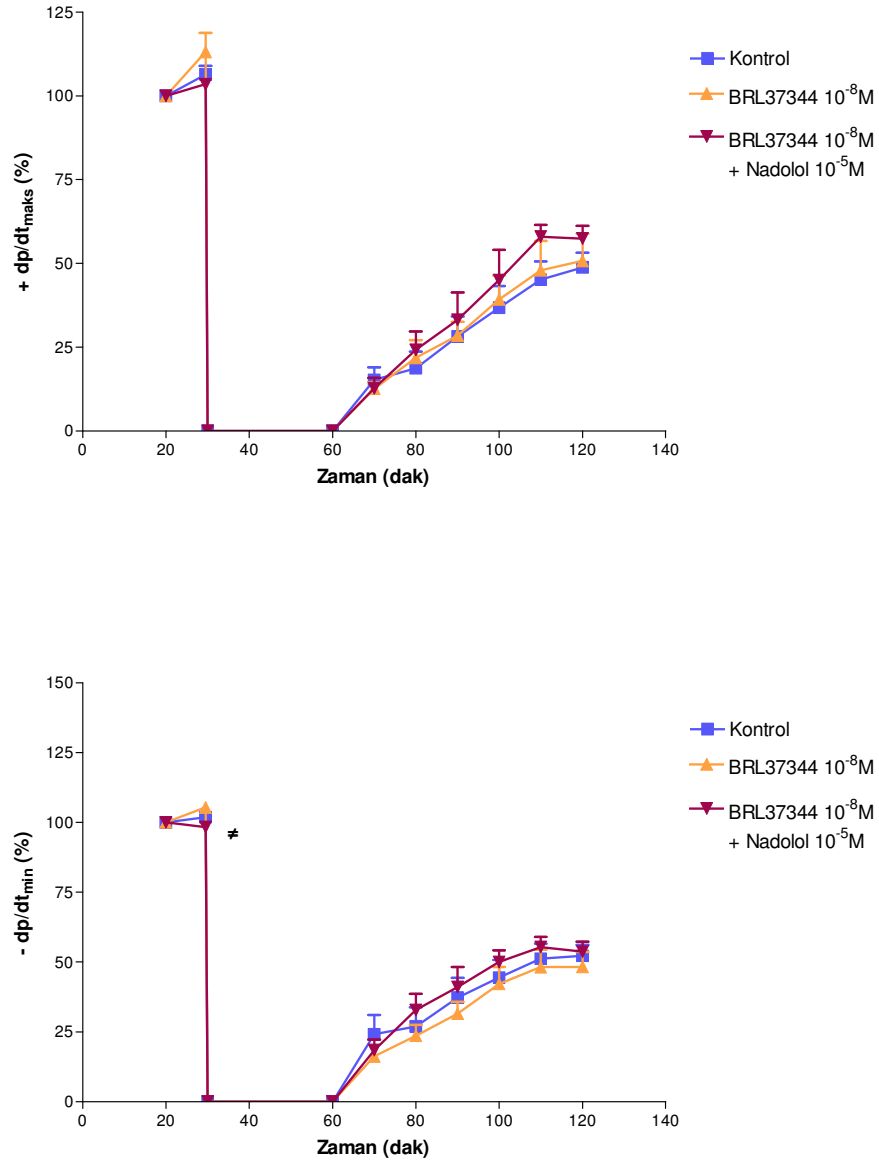
Şekil 4-35: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10^{-8}M ve BRL37344 10^{-8}M + Nadolol 10^{-5}M uygulanmasının sol ventrikül basıncı üzerine etkisini gösteren orijinal trase örnekleri



Şekil 4-36: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁸M ve BRL37344 10⁻⁸M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi

(* p<0.05, ** p<0,001, *** p<0,0001, n=6-9)

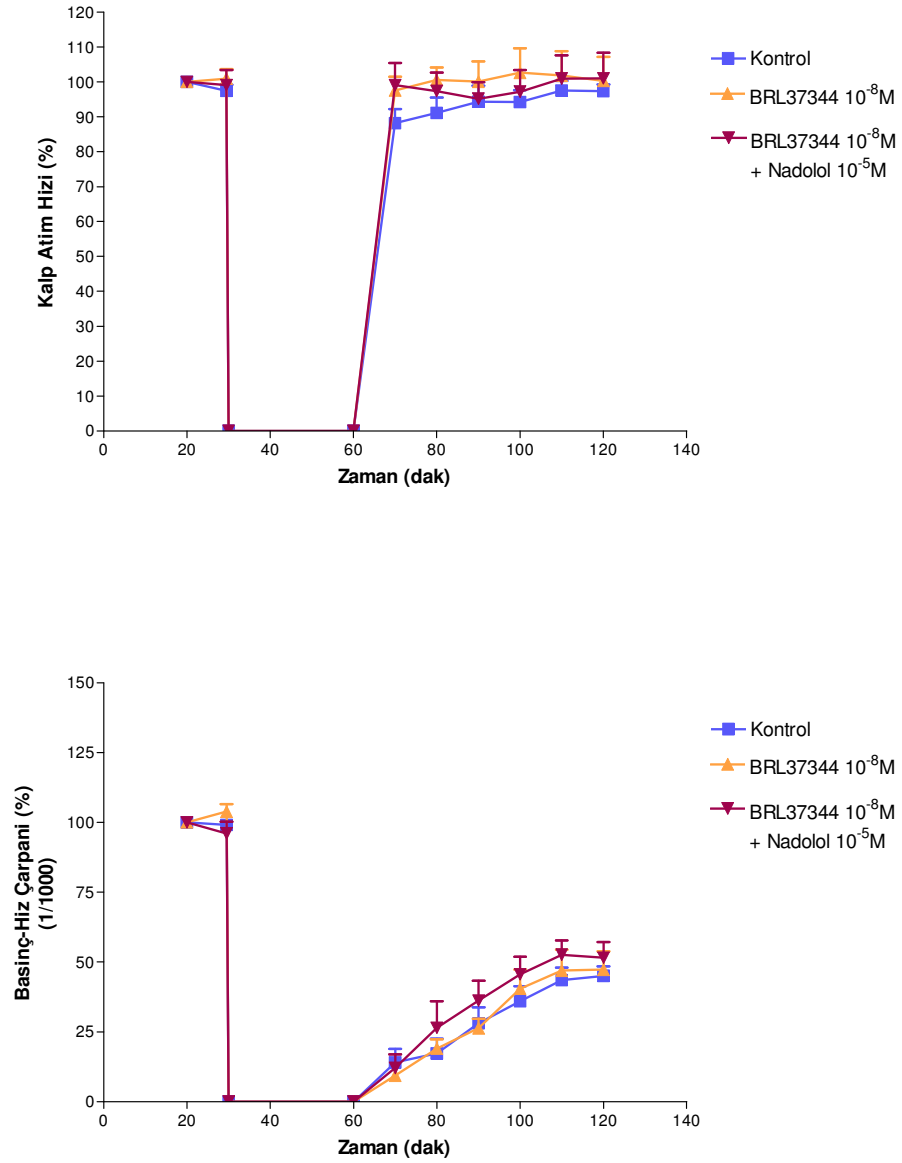
* kontrol'e göre, # BRL37344 10⁻⁸M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



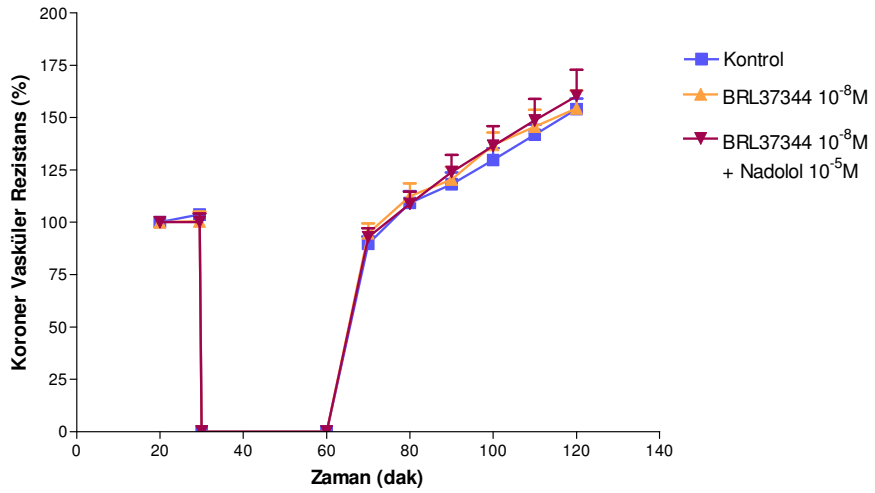
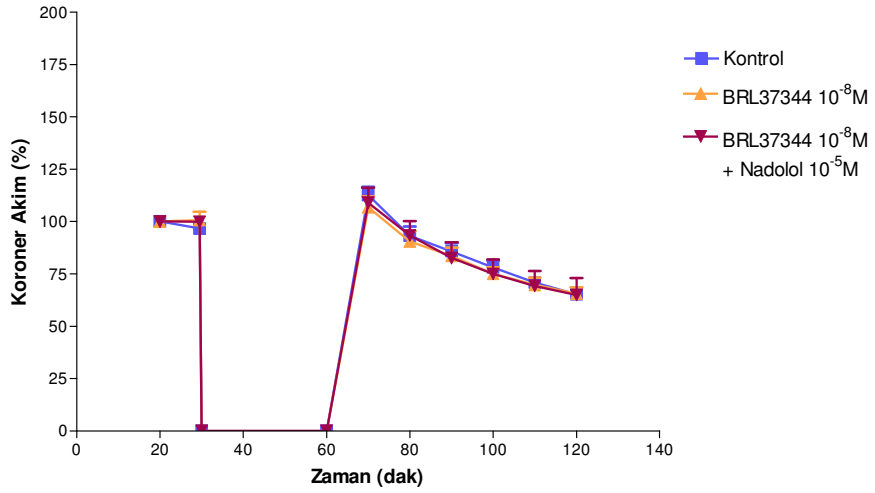
Şekil 4-37: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁸M ve BRL37344 10⁻⁸M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının +dp/dt_{maks} ve -dp/dt_{min} parametreleri üzerine etkisi

(* p<0.05, ** p<0.001, *** p<0.0001, n=6-9)

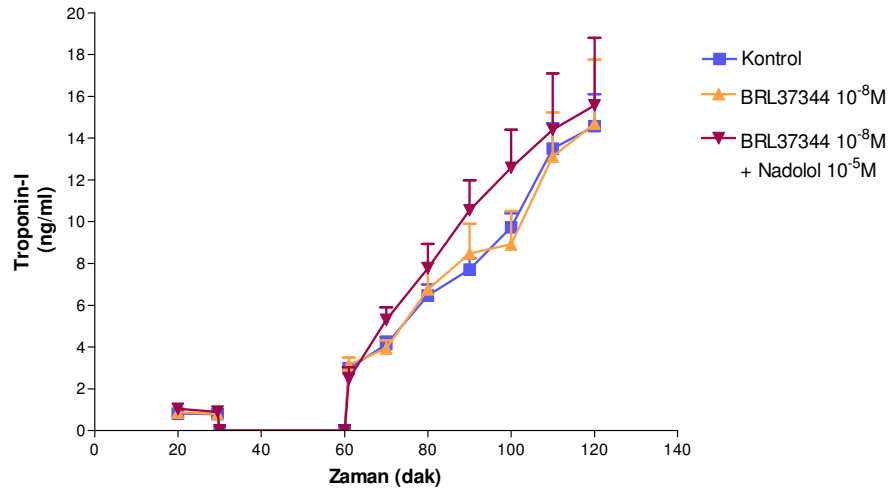
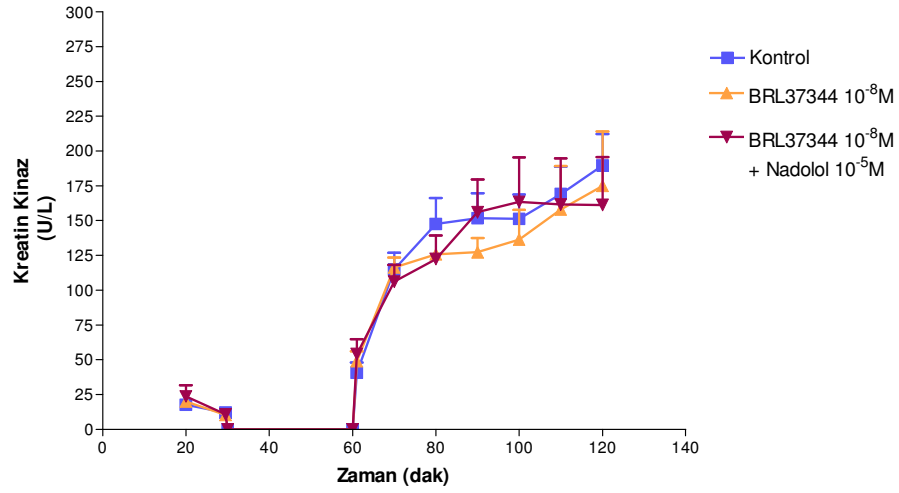
* kontrol'e göre, [#] BRL37344 10⁻⁸M'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



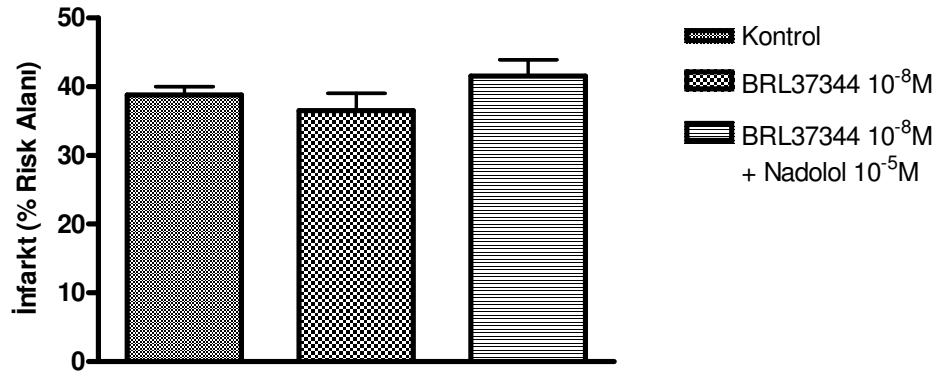
Şekil 4-38: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁸M ve BRL37344 10⁻⁸M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpımı parametreleri üzerine etkisi



Şekil 4-39: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁸M ve BRL37344 10⁻⁸M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi



Şekil 4-40: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 $10^{-8}M$ ve BRL37344 $10^{-8}M$ + Nadolol $10^{-5}M$ uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeyleri üzerine etkisi



Şekil 4-41: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10⁻⁸M ve BRL37344 10⁻⁸M + Nadolol 10⁻⁵M uygulanmasının infarkt alanı üzerine etkisi

4.5. BRL37344'ün Reperfüzyon Dönemindeki Etkisi

Sol ventrikül basıncı üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti olan BRL37344'ün izole sıçan kalbinde reperfüzyonun ilk 20 dakikası süresince, $10^{-8}M$ ve $10^{-6}M$, konsantrasyonlarda uygulanmasının sol ventrikül basıncı (%) değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Paralel olarak, elde edilen değerler kontrol değerler ile uyumludur (Şekil 4-42, Şekil 4-43).

Diyastolik basınç üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti olan BRL37344'ün izole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası süresince $10^{-8}M$ ve $10^{-6}M$ konsantrasyonlarda uygulanması ile diyastolik basınç (%) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Paralel olarak, elde edilen değerler kontrol değerler ile uyumludur (Şekil 4-43).

Sistolik basınç üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti olan BRL37344'ün izole sıçan kalbinde reperfüzyonun ilk 20 dakikası süresince $10^{-8}M$ konsantrasyonlarda uygulanması, reperfüzyonun başlangıcında (ilk 30 dakika) sistolik basınç (%) değerlerinde hafif bir artış oluşturmuş ancak reperfüzyonun ilerleyen dönemlerinde sistolik basınç (%) değerleri kontrol değerler ile uyumlu bulunmuştur. BRL37344'ün $10^{-6}M$ konsantrasyonda uygulanması ile sistolik basınç (%) değerlerinde kontrole göre herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4-43).

+dp/dt_{maks} üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti olan BRL37344'ün izole sıçan kalbinde reperfüzyonun ilk 20 dakikası süresince 10^{-8} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda uygulanması ile elde edilen +dp/dt_{maks} (%) değerlerinin kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği belirlenmiştir (Şekil 4-44).

-dp/dt_{min} üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti olan BRL37344'ün izole sıçan kalbinde reperfüzyonun ilk 20 dakikası süresince 10^{-8} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda uygulanması ile elde edilen -dp/dt_{min} (%) değerlerinin kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği belirlenmiştir (Şekil 4-44).

Kalp atım hızı üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti olan BRL37344'ün 10^{-6} M konsantrasyonunun izole sıçan kalbinde reperfüzyonun ilk 20 dakikası süresince uygulanması ile kalp atım hızı (%) uygulama süresince (20') kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış, sonrasında ise kontrol değerler ile uyumlu bulunmuştur. BRL37344'ün düşük konsantrasyonunun (10^{-8} M) ise kalp atım hızı (%) üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4-45).

Basınç-hız çarpanı (1/1000) üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti olan BRL37344'ün izole sıçan kalbinde reperfüzyonun ilk 20 dakikası süresince 10^{-8} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda uygulanması ile elde edilen basınç-hız çarpanı (%) değerlerinin kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği belirlenmiştir (Şekil 4-45).

Koroner akım üzerine etkisi:

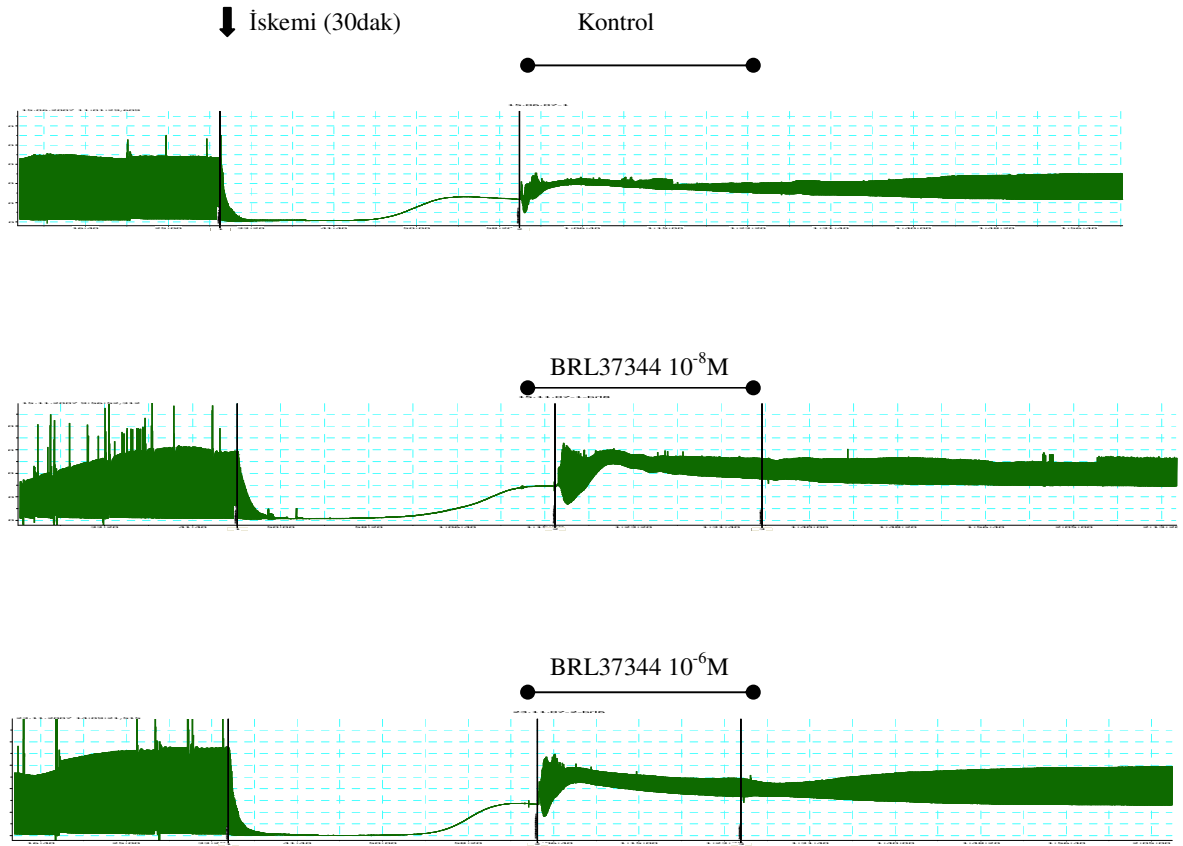
Selektif bir β_3 -reseptör agonisti olan BRL37344'ün izole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası süresince 10^{-8} M ve 10^{-6} M konsantrasyonda uygulanması ile koroner akım (%) değerlerinde kontrol grubuna göre herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4-46)

Koroner vasküler rezistans üzerine etkisi:

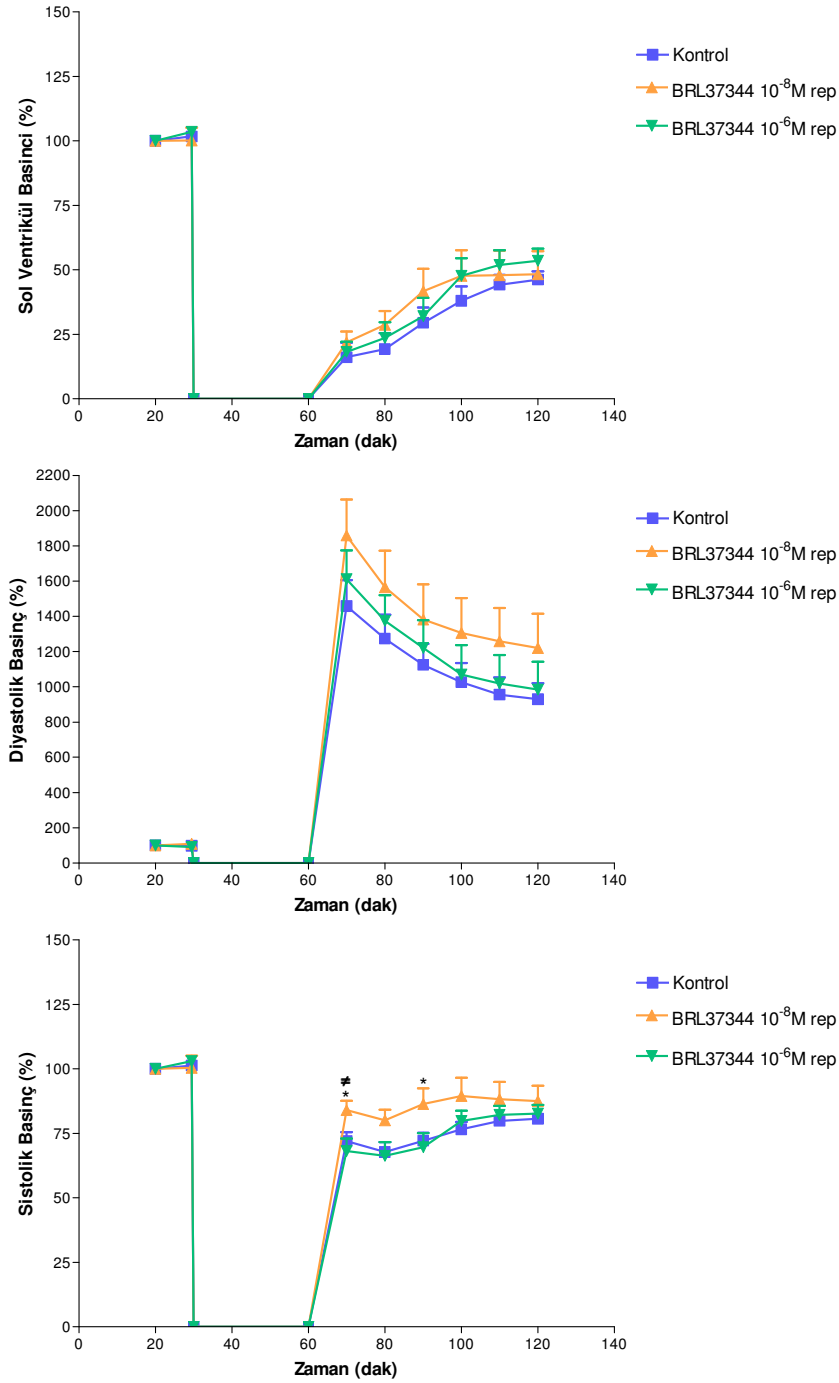
Selektif bir β_3 -reseptör agonisti olan BRL37344'ün izole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası süresince 10^{-8} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda uygulanması ile koroner vasküler rezistans (%) değerlerinde kontrol grubuna göre herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4-46)

Kardiyak biyokimyasal belirteçler ve infarkt alanı üzerine etkisi;

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti olan BRL37344'ün izole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası süresince 10^{-8} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda uygulanması ile CK, Troponin-I düzeyleri, ve infarkt alanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4-47, Şekil 4-48).



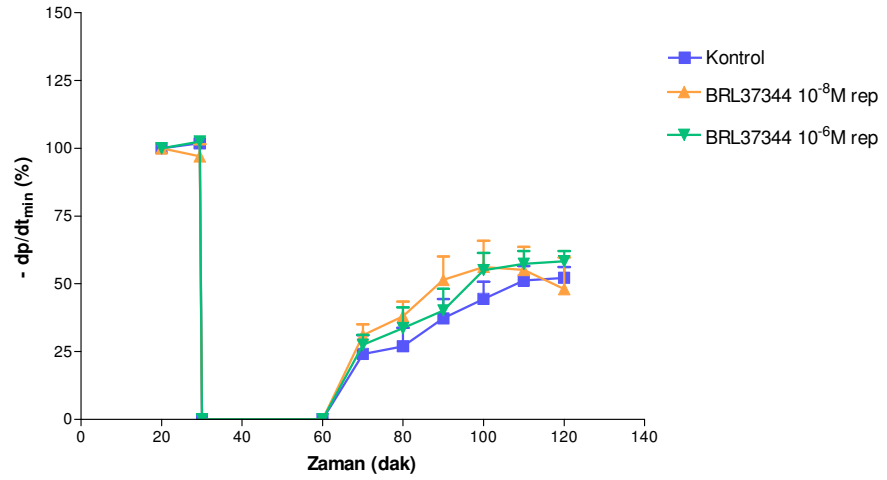
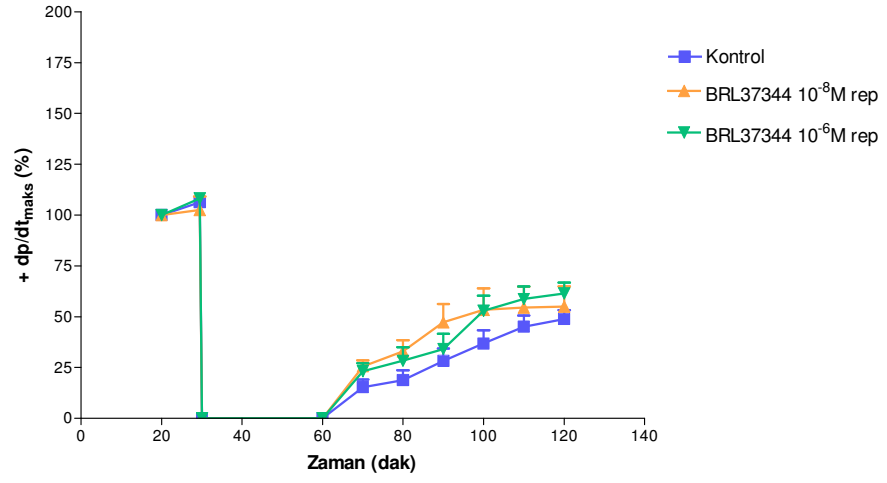
Şekil 4-42: İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 10⁻⁸M ve BRL37344 10⁻⁶M uygulanmasının sol ventrikül basıncı üzerine etkisini gösteren orijinal trase örnekleri



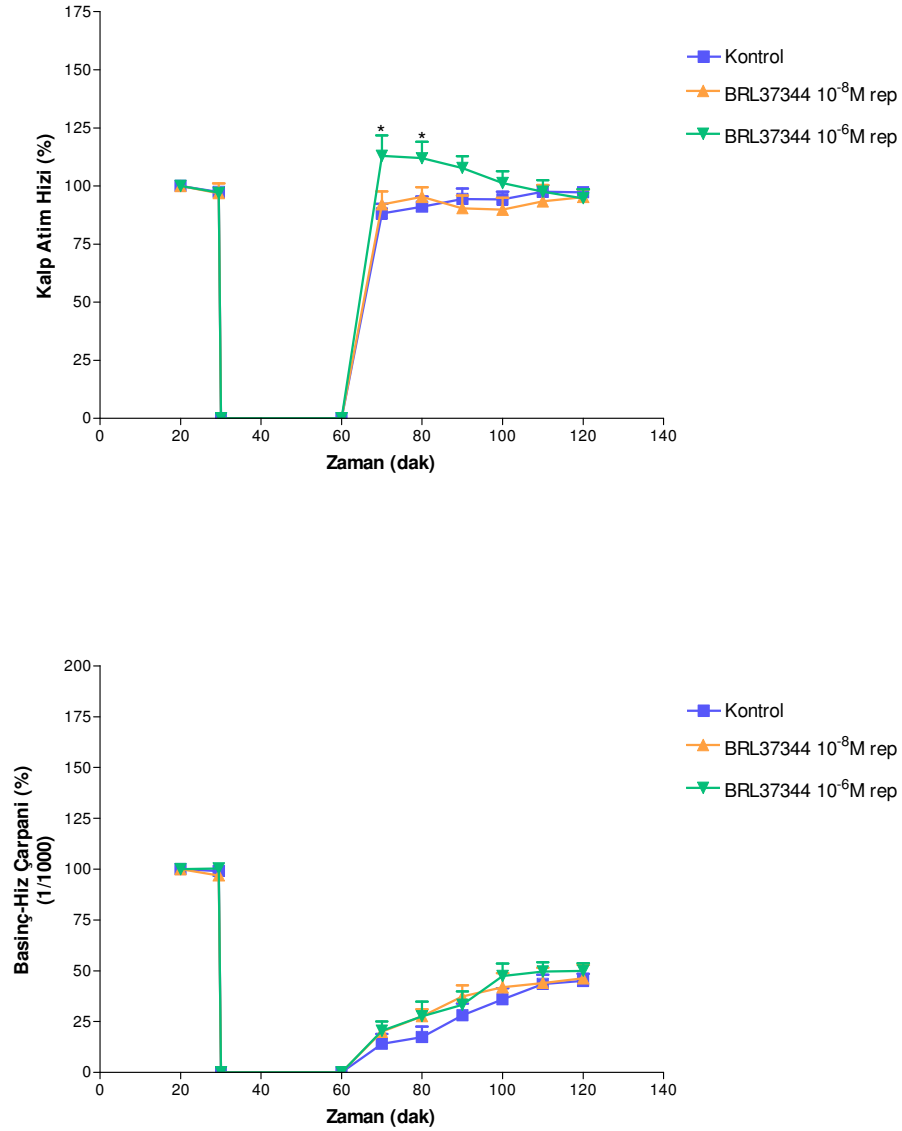
Şekil 4-43: İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 10⁻⁸M ve BRL37344 10⁻⁶M uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi

(*p<0.05, ** p<0.001, *** p<0.0001, n=6-9).

* kontrol'e göre, # BRL37344 10⁻⁶M rep'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

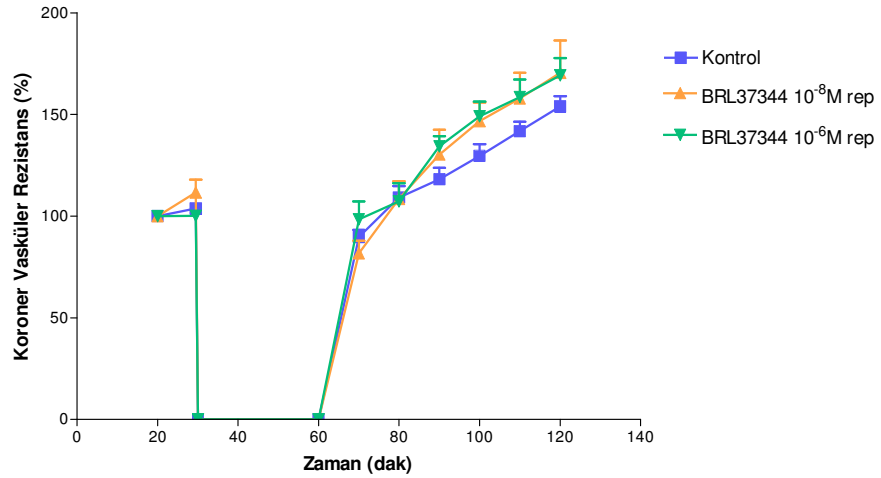
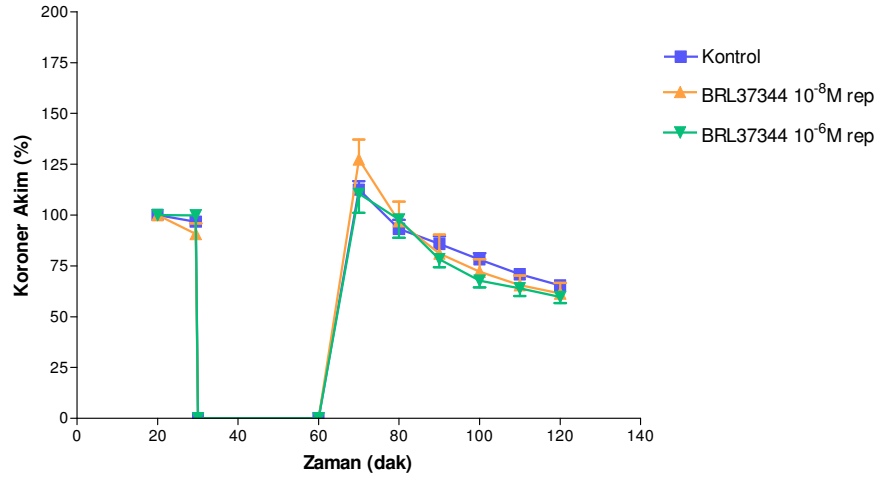


Şekil 4-44: İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 10⁻⁸M ve BRL37344 10⁻⁶M uygulanmasının +dp/dt_{maks} ve -dp/dt_{min} parametreleri üzerine etkisi

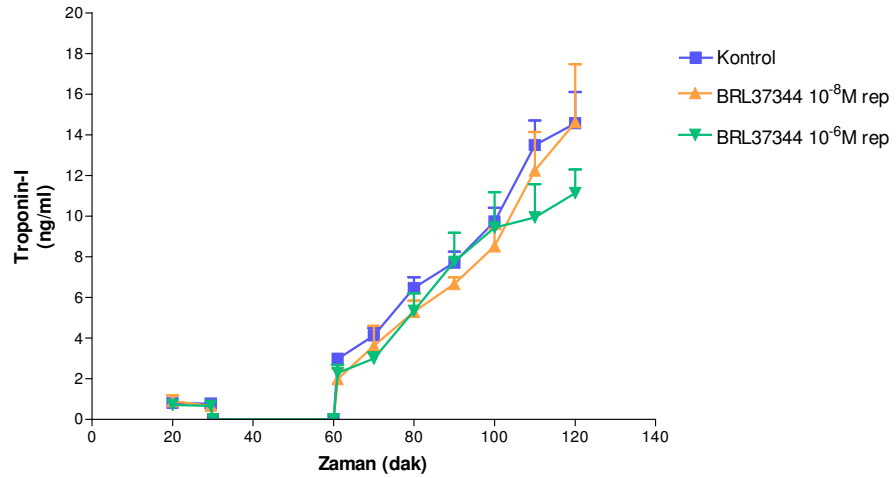
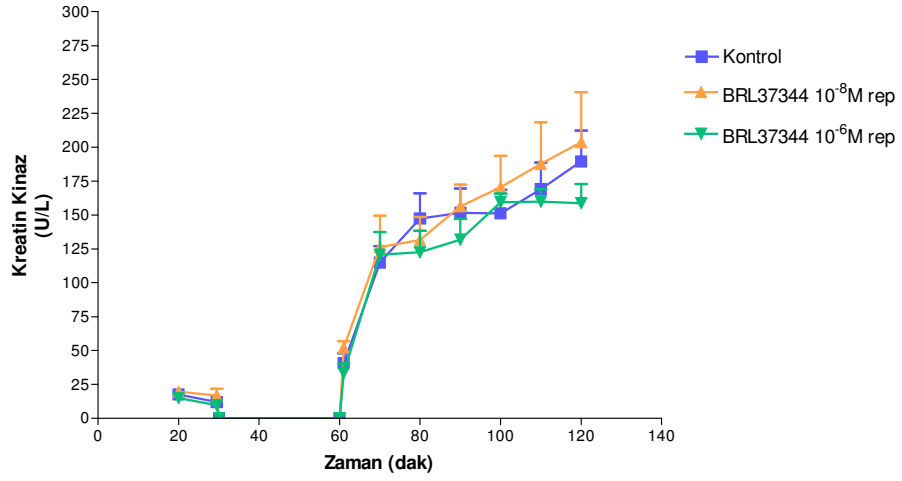


Şekil 4-45: İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 10⁻⁸M ve BRL37344 10⁻⁶M uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi

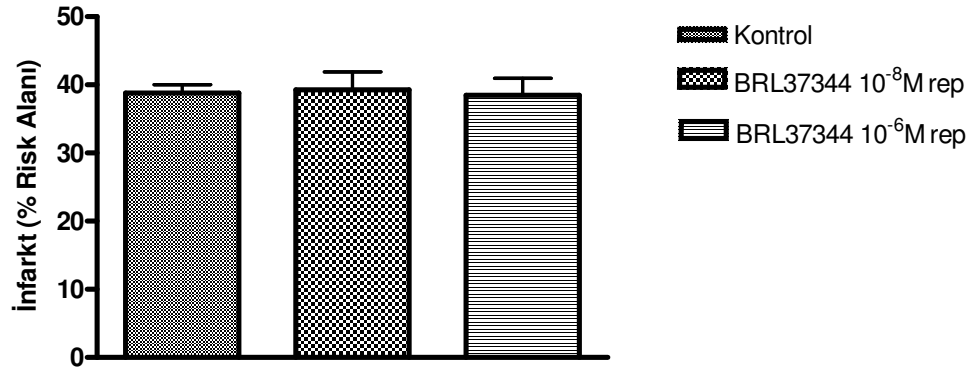
(*p<0.05, ** p<0.001, *** p<0.0001, n=6-9). * kontrol'e göre istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.



Şekil 4-46: İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 10⁻⁸M ve BRL37344 10⁻⁶M uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi



Şekil 4-47: İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 10⁻⁸M ve BRL37344 10⁻⁶M uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeylerine etkisi



Şekil 4-48: İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 10⁻⁸M ve BRL37344 10⁻⁶M uygulanmasının infarkt alanı üzerine etkisi

4.6. SR59230A'nın Çözücüsü DMSO'nun (% 0,4) Etkisi

Sol ventrikül basıncı üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti SR59230A'nın çözücüsü DMSO'nun (% 0,4) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması sol ventrikül basıncında (%) gerek iskemi öncesinde gerekse reperfüzyon döneminde kontrol değerlerden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-49, Şekil 4-50).

Diyastolik basınç üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti SR59230A'nın çözücüsü DMSO'nun (% 0,4) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması diyastolik basınçta (%) gerek iskemi öncesinde gerekse reperfüzyon döneminde kontrol değerlerden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-50).

Sistolik basınç üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti SR59230A'nın çözücüsü DMSO'nun (% 0,4) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması sistolik basınçta (%) gerek iskemi öncesinde gerekse reperfüzyon döneminde kontrol değerlerden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-50).

+dp/dt_{maks} üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti SR59230A'nın çözücüsü DMSO'nun (% 0,4) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması ile +dp/dt_{maks} (%)

değerleri gerek iskemi öncesinde gerekse reperfüzyon döneminde kontrol değerlerden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-51).

-dp/dt_{min} üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti SR59230A'nın çözücüsü DMSO'nun (% 0,4) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması ile -dp/dt_{min} (%) değerleri gerek iskemi öncesinde gerekse reperfüzyon döneminde kontrol değerlerden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-51).

Kalp atım hızı üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti SR59230A'nın çözücüsü DMSO'nun (% 0,4) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması kalp atım hızı (%) değerlerinde gerek iskemi öncesinde gerekse reperfüzyon döneminde kontrol değerlerden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-52).

Basınç-hız çarpanı (1/1000) üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti SR59230A'nın çözücüsü DMSO'nun (% 0,4) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması ile basınç-hız çarpanı (%) değerleri gerek iskemi öncesinde gerekse reperfüzyon döneminde kontrol değerlerden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-52).

Koroner akım üzerine etkisi:

Selektif bir β_3 -reseptör agonisti SR59230A'nın çözücüsü DMSO'nun (% 0,4) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması ile koroner akım (%)

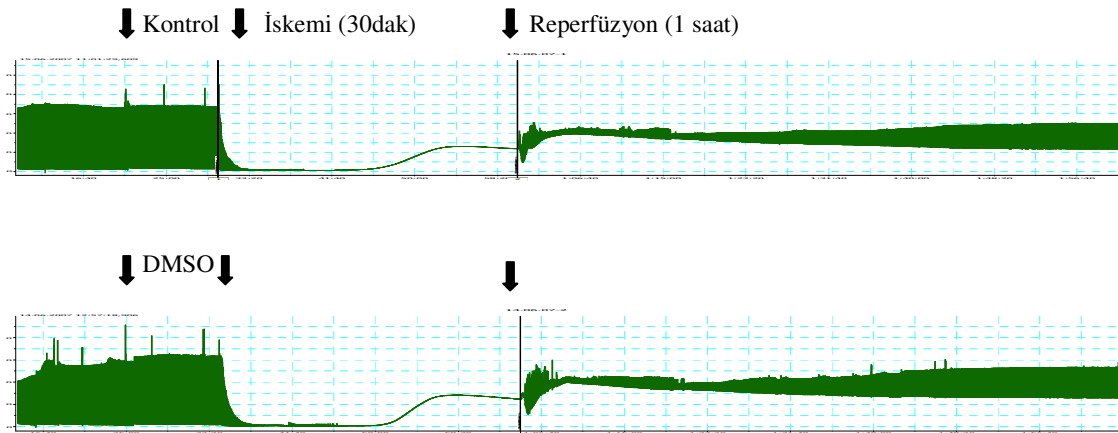
değerleri gerek iskemi öncesinde gerekse reperfüzyon döneminde kontrol değerlerden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-53).

Koroner vasküler rezistans üzerine etkisi:

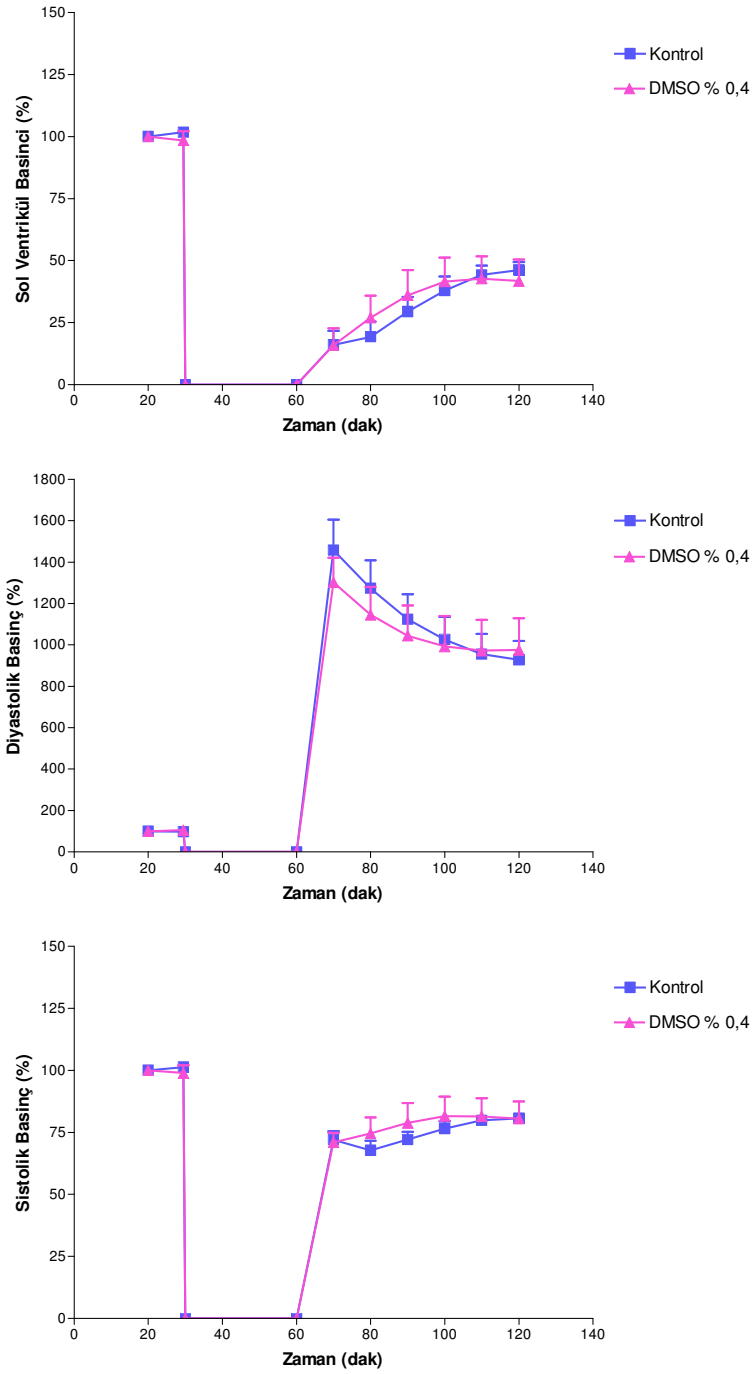
Selektif bir β_3 -reseptör agonisti SR59230A'nın çözücüsü DMSO'nun (% 0,4) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması ile koroner vasküler rezistans (%) değerleri gerek iskemi öncesinde gerekse reperfüzyon döneminde kontrol değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa neden olmamıştır (Şekil 4-53).

Kardiyak biyokimyasal belirteçler ve infarkt alanı üzerine etkisi;

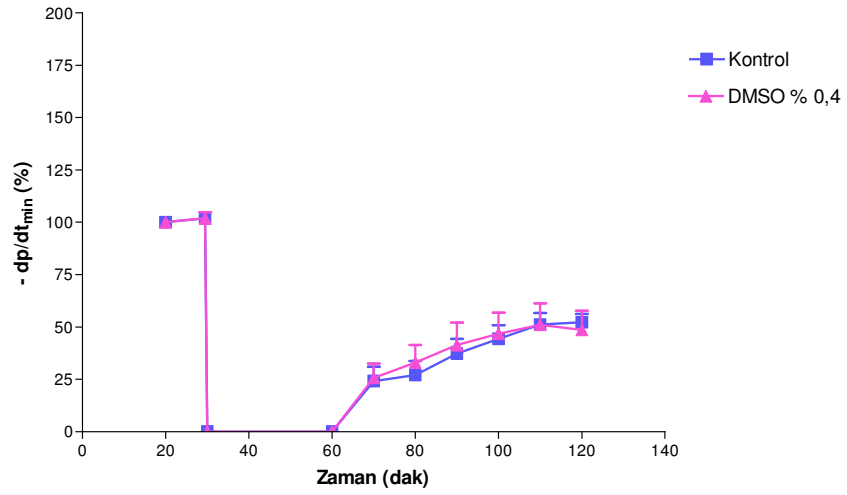
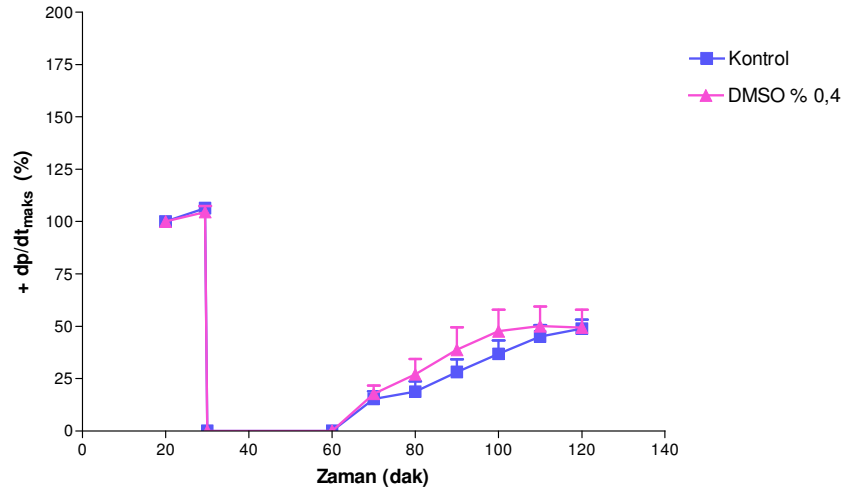
Selektif bir β_3 -reseptör agonisti SR59230A'nın çözücüsü DMSO'nun (% 0,4) izole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dakika süreyle uygulanması ile CK, Troponin-I düzeyleri, ve infarkt alanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4-54, Şekil 4-55).



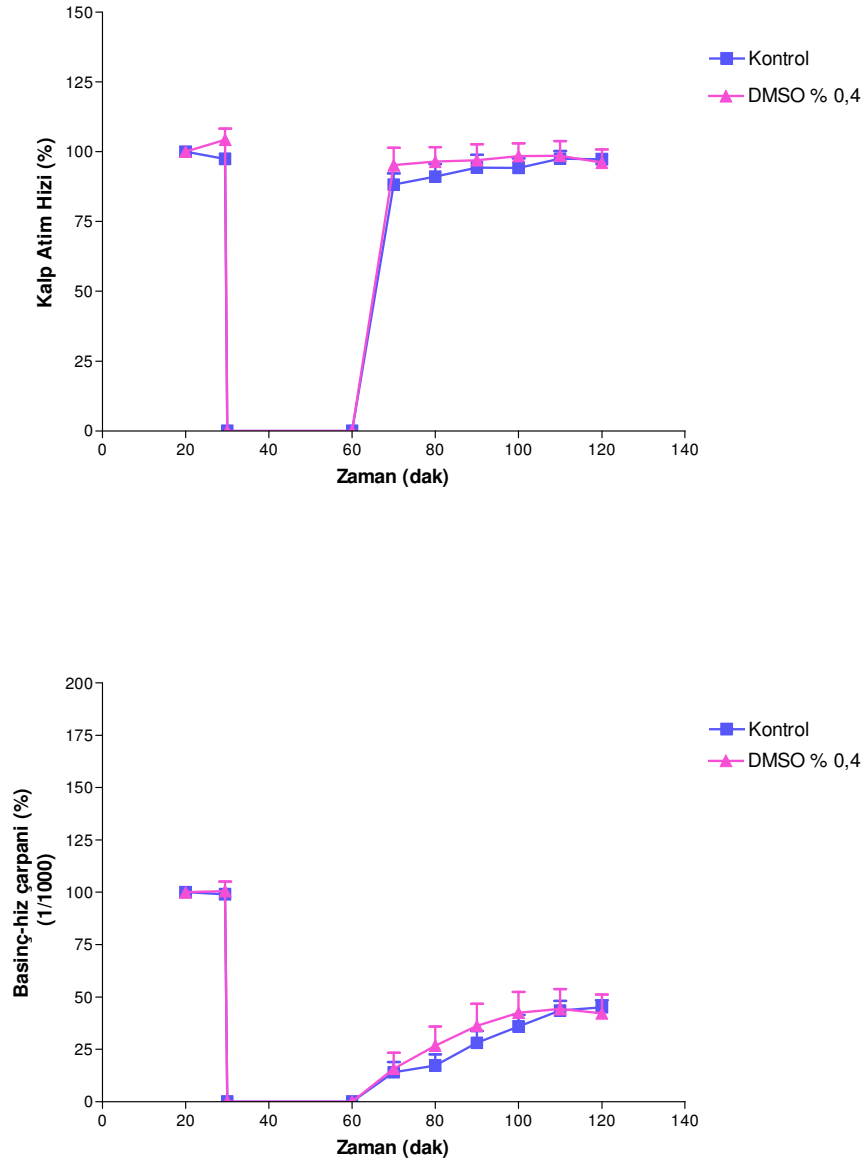
Şekil 4-49: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle SR59230A'nın çözücüsü DMSO'nun (% 0,4) uygulanmasının sol ventrikül basıncı üzerine etkisini gösteren orijinal trase örnekleri.



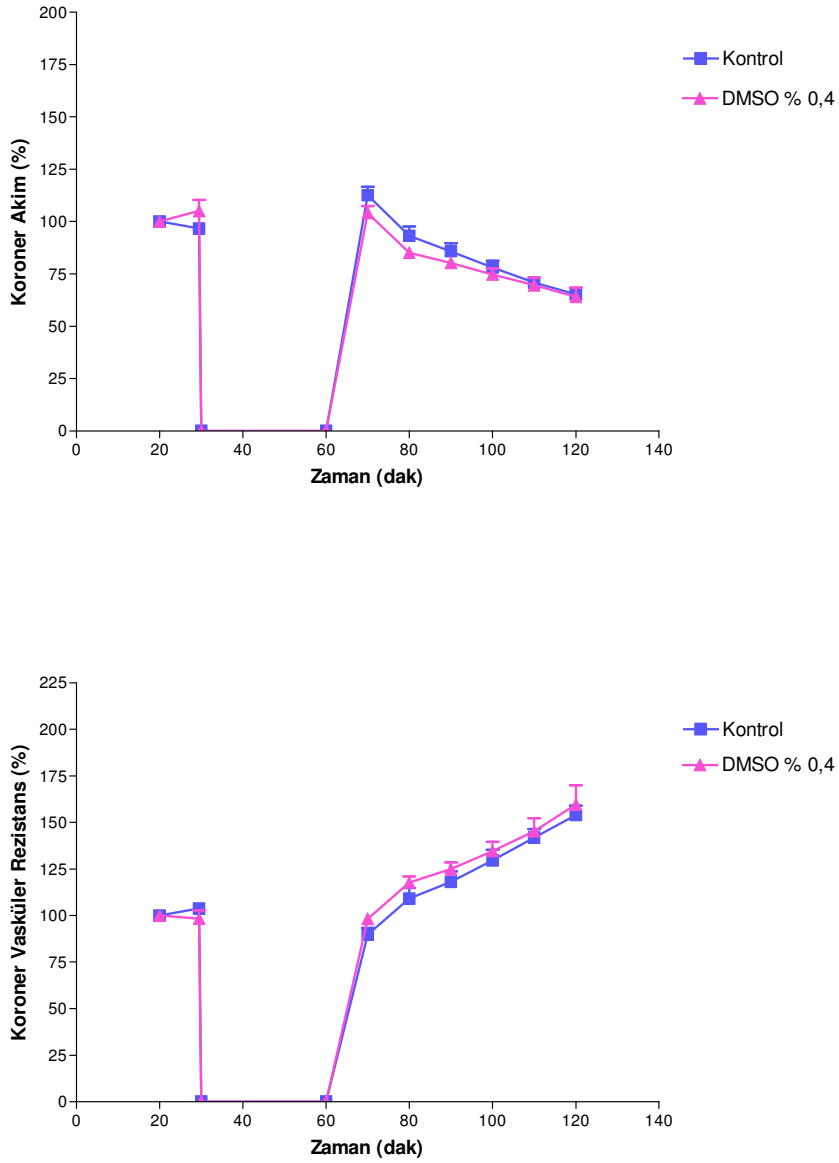
Şekil 4-50: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle DMSO (% 0,4) uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi



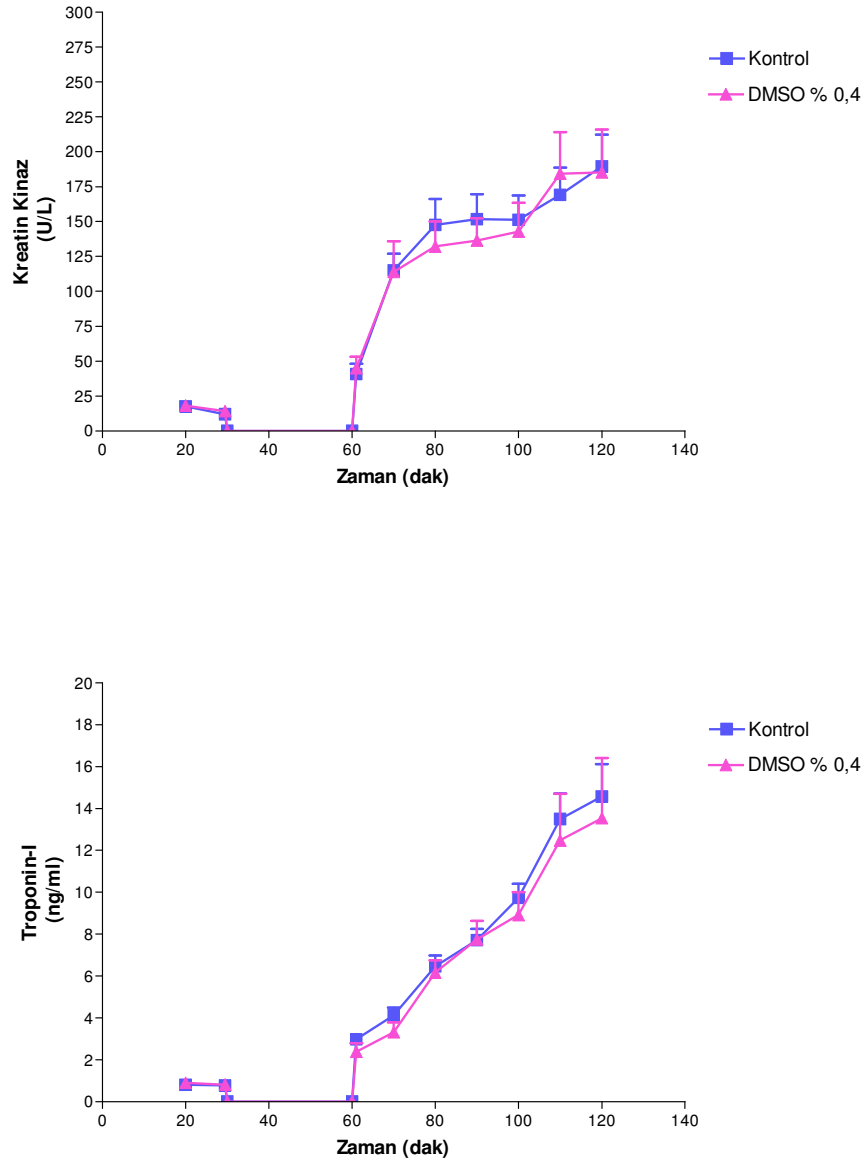
Şekil 4-51: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle DMSO (% 0,4) uygulanmasının $+dp/dt_{maks}$ ve $-dp/dt_{min}$ parametreleri üzerine etkisi



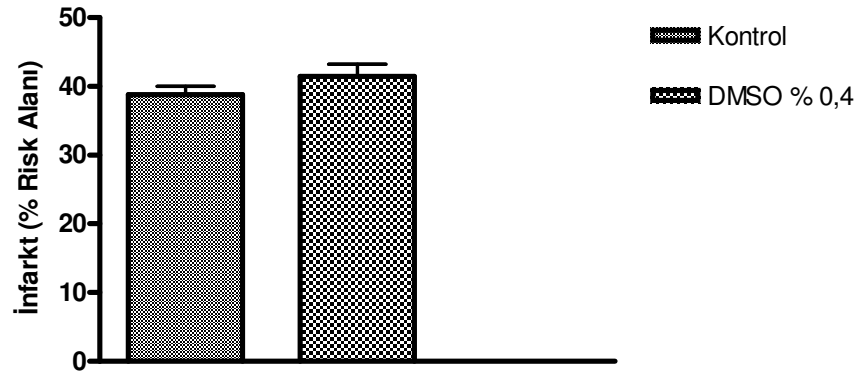
Şekil 4-52: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle DMSO (% 0,4) uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpanı parametreleri üzerine etkisi



Şekil 4-53: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle DMSO (% 0,4) uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi



Şekil 4-54: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle DMSO (% 0,4) uygulanmasının Kreatin Kinaz ve Troponin-I düzeylerine etkisi



Şekil 4-55: İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle DMSO (%0,4) uygulanmasının infarkt alanı üzerine etkisi

5. TARTIŞMA

Kalpde akut veya kronik strese karşı yanıt olarak kardiyak performansı arttırmaktan esas olarak β -AR'ler sorumludur. Kalpte predominant olan β_1 -AR'lerin yanında β_2 -AR'ler de artan sempatik stimülasyona pozitif inotropik ve kronotropik yanıtla eşlik etmektedir. Son yıllarda moleküler yapısı, farmakolojik profili ve biyolojik etkileri bakımından β_1 ve β_2 -AR'lerden farklı yeni bir alttip olan β_3 -AR'lerin kalpteki varlığı, insan da dahil olmak üzere çeşitli türlerde gösterilmiştir. Ancak, literatürde β_3 -AR'lerin kalpteki etkileriyle ilgili çalışmalar tartışmalıdır. İn vivo ve in vitro koşullarda yapılan çalışmalardan bazıları β_3 -AR stimülasyonunun Gi/NO aracılıklı bir yolak üzerinden kalpte negatif inotropik etkilere neden olduğunu ileri sürmektedir (Gauthier ve ark. 2000; Lohse ve ark. 2003; Skeberdis 2004; Rozec ve Gauthier 2006, Gauthier ve ark. 2007). β_3 -AR'lerin β_1 ve β_2 -AR'lere göre daha yüksek düzeyde katekolaminler ile stimüle olduğunun gösterilmesi (Pelat ve ark. 2003) nedeniyle, β_3 -AR yolağının stres vb sebeplerle aşırı sempatik stimülasyona maruz kalan kalpte artan pozitif inotropik etkinliğini karşılayacak koruyucu bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. Buna karşın, bazı deneysel çalışmalarda, β_3 -AR stimülasyonunun β_1 ve β_2 -AR'ler de olduğu gibi, muhtemelen Gs/sAMP aracılıklı bir mekanizma ile pozitif inotropik ve kronotropik etkilere aracılık ettiği bildirilmektedir. β_3 -AR'lerin kardiyak kontraktilite dışında vasküler tonusun regülasyonunda da rol oynadığı belirlenmiştir. Koroner arterlerde dahil olmak üzere çeşitli kapasitans ve rezistans damarlarda β_3 -AR agonistlerin direkt vazodilatör etkilerinin olduğu gösterilmiştir.

Esasen ilk kez yağ dokusunda tanımlanması ile lipoliz ve termogenezin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı ortaya konulan β_3 -AR'lerin daha sonra kalp, damarlar, gastrointestinal kanal, prostat ve mesane gibi diğer organ ve dokularda varlığının gösterilmesi, selektif agonist ve antagonistlerinin kullanımı ile aracılık ettiği etkilerinin belirlenmesine yönelik çalışmaları hızlandırmıştır. Ancak, in vitro ve in vivo koşullarda gerçekleştirilen bu çalışmalarda β_3 -AR agonistlerine alınan farmakolojik yanıtlarda gözlenen türler arasındaki farklılık veya belirli bir türün agoniste olan yanıtındaki farmakolojik heterojenite, β_3 -AR'lerin etki profilinin belirlenmesini

zorlaştırmaktadır. Bu bağlamda, β_3 -AR'lerin kardiyovasküler sistemdeki etkileri ve patofizyolojik rolleri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (Gauthier ve ark. 2000; Lohse ve ark. 2003; Skeberdis 2004; Rozec ve Gauthier 2006).

Kalp yetmezliği (Monioette ve ark. 2001), diyabet (Dincer ve ark. 2001; Altan ve ark. 2007), hipertansiyon (Mallem ve ark. 2004) ve hamilelik (Rouget ve ark. 2005) gibi sempatik etkinliğin yükseldiği çeşitli durumlarda β -AR'lerin düzeyinin değiştiği ya da G-proteinleri ile kenetlenmesinin bozulduğu bildirilmektedir. İnsan sol ventrikül biyopsilerinde yapılan bir çalışmada, β_3 -AR protein miktarlarının kalp yetmezliğinde 2-3 kat arttığı, ayrıca kenetlendiği düşünülen Gi protein düzeylerinin de benzer şekilde yükseldiği gösterilmiştir (Monioette ve ark. 2001). Özellikle kronik konjestif kalp yetmezliğinde, kardiyak myositlerdeki β_3 -AR'lerin ekspresyonundaki artışının kardiyak kasılmayı daha da inhibe ederek, gelişen kardiyak disfonksiyonda etkin bir rol oynayabileceği öngörülmektedir. Bu görüşü destekleyici olarak, in vivo koşullarda köpekte oluşturulan deneysel kalp yetmezliği modelinde (Cheng ve ark. 2001) ve in vitro koşullarda kalp yetmezliği geliştirilen sıçanların kardiyomyositlerinde (Zhang ve ark. 2005) β_3 -AR'lerin gen ekspresyonunun ve protein düzeylerinin upregüle olduğu ve selektif β_3 -AR agonist BRL37344 (10^{-8} M) ile β_3 -AR stimülasyonuna bağlı negatif inotropik yanıtta artış olduğu gösterilmiştir. Bu deneysel verilere karşın, kalp yetmezliği olan insanlardan alınan sol ventrikül biyopsilerinde β_3 -AR upregülasyonunun belirlenmesine rağmen β_3 -AR agonist BRL37344 (10^{-6} M) uygulanması ile negatif inotropik etkide beklenen artışın gözlenmediği bildirilmiştir (Monioette ve ark. 2001).

Yüksek katekolamin düzeylerinin izlendiği bir diğer patolojik durum ise miyokardiyal iskemidir. Eksojen katekolaminlerin iskemi öncesi önkoşullama veya iskemi sonrası geçkoşullama uyararı olarak verilmesi ile miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarındaki etkilerini inceleyen bir çok çalışma bulunmaktadır. Genel olarak, β_1 -AR aktivasyonunun farmakolojik önkoşullamada kardiyak fonksiyonlar üstünde yararlı etkilerinin olduğu, geçkoşullamada ise olumsuz etkilerinin olduğu bildirilirken, β_2 -AR aktivasyonunun her iki durumda da iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkilerinin olduğu öne sürülmektedir. İn vivo ve in vitro çalışmalar ile β_1 ve β_2 -AR'lerin miyokardiyal iskemi-reperfüzyon patojenezindeki rolü yaygın olarak

incelenmesine rağmen, β_3 -AR'lerin bu patolojideki rolünü inceleyen herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarının patojenezinde β_3 -AR'lerinin fizyolojik rolünün belirlenmesi miyokard infarktüsü, kalp yetmezliği gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yeni bir terapötik yaklaşımın sağlanması açısından önemlidir. Çalışmamızda Langendorff izole perfüze sıçan kalbinde in vitro koşullarda oluşturulan deneysel miyokardiyal iskemi-reperfüzyon modelinde selektif β_3 -AR agonisti BRL37344'ün konsantrasyon bağımlı etkileri incelenmiştir. BRL37344'ün iskemi öncesi, ve iskemi sonrası reperfüzyon döneminde uygulanması ile araştırılan olası kardiyoprotektif etkisi selektif β_3 -AR veya nonselektif β_1/β_2 -AR antagonistleri varlığında değerlendirilmiştir.

Bulgularımız selektif bir β_3 -AR agonisti olan BRL37344'ün (10^{-9} - 10^{-6} M) izole sıçan kalbine iskemi öncesinde kısa süreli (10dk.) uygulanması ile, 10^{-7} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda, doza bağımlı olarak, pozitif inotropik, kronotropik ve koroner akımı artırıcı etkilere neden olduğunu göstermektedir. Akut olarak gözlenen bu etkilerin yanı sıra, selektif β_3 -AR agonisti BRL37344'ün aynı konsantrasyonlarda iskemi sonrası miyokard fonksiyonlarını iyileştirdiği de görülmektedir. Fonksiyonel bulguları destekleyici olarak, selektif β_3 -AR agonisti BRL37344 (10^{-7} - 10^{-6} M), koroner perfüze örneklerinde iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı olarak yükselen CK ve Troponin-I düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya ve ayrıca infarkt alanında belirgin bir inhibisyona neden olmuştur. BRL37344'ün daha düşük konsantrasyonlarının (10^{-9} - 10^{-8} M) ise gerek iskemi öncesi dönemde gerekse reperfüzyon döneminde kardiyak fonksiyon ve koroner hemodinami üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Benzer şekilde, BRL37344'ün düşük konsantrasyonlarının iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı olarak yükselen CK, Troponin-I düzeyleri ve ölçülen infarkt alanı üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

BRL37344'ün iskemi öncesinde 10^{-7} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda uygulanması ile oluşan akut pozitif inotropik, pozitif kronotropik ve koroner akımı artırıcı etkileri, β_3 -AR stimülasyonunun kardiyak kontraktilite ve hemodinamide benzer etkilere aracılık ettiğini gösteren çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Bu çalışmalarda, selektif β_3 -AR agonistleri BRL37344 ve ZD7114'ün izole insan (Pott ve

ark. 2003) ve sıçan miyokardiyal atriumu (Sterin-Borda ve ark. 2006) ile kobay (Kozlovski ve ark. 2003) ve gelincik (Gauthier ve ark. 1999) kalbinde pozitif inotropik, pozitif kronotropik ve koroner akımı artırıcı etkileri gözlenmiştir. Benzer şekilde, selektif β_3 -AR agonistleri BRL37344, CL316243, CGP12177A ve SR58611A'in in vivo koşullarda uygulanması ile deney hayvanlarında (Tavernier ve ark. 1992; Berlan ve ark. 1994; Shen ve ark. 1996; Donckier ve ark. 2001) ve insanlarda (Wheeldon ve ark. 1993; 1994) pozitif inotropik ve kronotropik etkiler ile arteriyal hipotansiyon gözlenmiştir. Ayrıca, insan β_3 -AR'nin aşırı ekspresyonunun sağlandığı transgenik farelerde (TG β_3) selektif β_3 -AR agonisti L-755,507 uygulanması ile in vivo koşullarda belirgin pozitif inotropik ve kronotropik etkiler gösterilmiştir (Kohout ve ark. 2001). β_3 -AR stimülasyonunun kalpte kontraktileti ve atım hızını artırdığını gösteren ve bizim bulgularımızı destekleyen bu çalışmalara karşın, literatürde β_3 -AR stimülasyonunun kalpte negatif inotropik etkilere neden olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin, transplante insan kalplerinden elde edilen ventriküler endomiyokardiyal biyopsilerinde β_3 -AR agonistleri BRL37344, CL316243, CGP12177A ve SR58611A ile doz bağımlı negatif inotropik etkiler elde edilmiştir (Gauthier ve ark. 1996; 1998; 1999). Benzer şekilde, izole köpek atriumunda (Takayama ve ark. 1993), sıçan (Barbier ve ark. 2007; Angelone ve ark. 2008) ve kobay kalbinde (Kitamura ve ark. 2000) selektif β_3 -AR agonisti BRL37344 ile negatif inotropik ve lusitropik (Angelone ve ark. 2008) etkilerin oluştuğu bildirilmiştir. Buna karşın, izole kobay atriumunda yapılan çalışmalarda ise β_3 -AR agonistleri SR58611A (Bianchetti ve Manara 1990) ve CL316243 (Dolan ve ark. 1994) ile gerek kontraktilete gerekse kalp atım hızında herhangi bir değişikliğin gözlenmediği rapor edilmiştir.

β_3 -AR'lerin kalp üzerindeki farmakolojik etkisini inceleyen araştırmaların sonuçlarındaki farklılık dikkat çekicidir. Çalışmanın yapıldığı hayvan türü, deney modeli, incelenen doku, reseptör yoğunluğu ve uygulanan agoniste bağlı olarak β_3 -AR'lerin stimülasyonu sonrasında kalpte oluşan etkilerde farklılık olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, β_3 -AR agonistinin kullanılan dozunun da etkiyi belirleyici olduğu görülmektedir. Örneğin, β_3 -AR agonisti ZD7114 ile sıçan atriumunda yapılan bir çalışmada yüksek konsantrasyonlarda pozitif kronotropik etkiler gözlenirken düşük konsantrasyonlarda herhangi bir etki gözlenmemiştir (Sterin-Borda ve ark. 2006). Bir

başka çalışmada, β_3 -AR agonisti BRL37344 ile izole sıçan kalbinde düşük konsantrasyonda negatif inotropik etkiler gözlenirken yüksek konsantrasyonda bu etkinin pozitif inotropik etkiye döndüğü gözlenmiştir (Barbier ve ark. 2007). İnsan endomiyokardiyal biyopsilerinde yapılan bir çalışmada ise β_1/β_2 -AR antagonisti nadolol varlığında uygulanan isoprenalin'in düşük konsantrasyonlarda negatif inotropik etkiye neden olurken yüksek konsantrasyonlarda pozitif inotropik etki gösterdiği gözlenmiştir (Gauthier ve ark. 1998). İsoiprenalin'in, muhtemelen β_3 -AR'leri aktive etmesi ile ilişkili olduğu düşünülen, ve ancak β_1 -AR ve β_2 -AR'lerin bloke edilmesi halinde ortaya çıkan bu etkilerinde gözlenen doza bağlı değişim, β_3 -AR'lerin düşük ve yüksek agonist konsantrasyonlarının kalpte farklı etkilere aracılık ettiği görüşünü desteklemektedir. Bu verilere göre, β_3 -AR agonistlerinin genellikle düşük (nM) konsantrasyonlarının β_3 -AR stimülasyonu sonucu negatif inotropik ve kronotropik etkilere aracılık ettiği, buna karşın pozitif inotropik ve kronotropik etkilerin ise β_3 -AR agonistlerin yüksek (1 μ M) konsantrasyonlarında olduğu görülmektedir. BRL37344'ün insan kalbinde düşükte olsa β_1 ve β_2 -AR'lere afinitesi olduğu bildirilmektedir (Pott ve ark. 2003). Bu doğrultuda, çalışmamızda BRL37344'ün düşük konsantrasyonları (10^{-9} - 10^{-8} M) ile negatif inotropik etkinin gözlenmemesi, inhibitör β_3 -AR etkinliğinin β_1 ve β_2 -AR'lerin aktivasyonu sebebi ile maskelendiğini düşündürmüştür. Bu nedenle BRL37344'ün etkisi negatif inotropik etkinliğin görüldüğü diğer çalışmalarda kullanılan düşük (10^{-8} M) konsantrasyonda, ve β_1/β_2 -AR'lerin nonselektif antagonisti nadolol ile inhibisyonu varlığında çalışılmıştır. Bu koşullarda akut olarak çok düşük fakat istatistiksel olarak anlamlı bir negatif inotropik etki gözlenmiş ancak, kronotropi veya koroner akım üzerinde herhangi bir değişiklik oluşmamıştır. Ayrıca, miyokardiyal iskemi sonrası kardiyak fonksiyonlar kontrol grubuyla benzer bulunmuştur. Bulgularımız, BRL37344'ün düşük (10^{-8} M) konsantrasyonda zayıf negatif inotropik etkilerinin olduğunu ve bu etkinin muhtemelen β_1 ve β_2 -AR aracılıklı stimulan etki nedeni ile maskelendiğini göstermektedir. β_3 -AR aracılıklı negatif inotropik etkinin, miyokardiyumda enerji tüketimini azaltmak suretiyle iskemi-reperfüzyon hasarına karşı kalsiyum antagonistlerine benzer şekilde kardiyoprotektif etkiler gösterebileceği hipotez edilmektedir (Rozec ve Gauthier 2006). Ancak bulgularımız, selektif β_3 -AR agonisti BRL37344 ile β_1 ve β_2 -AR'lerin inhibisyonu varlığında elde edilen negatif inotropik etkinin miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

β_3 -agonistlerinin kardiyak etkilerindeki farklılıkların açıklanmasında β_3 -AR'lerin stimülasyonu ile aktive olan hücre içi sinyal yollarının aydınlatılmasının da yararlı olacağı düşünülmektedir. β_3 -AR'ler, β_1 -AR ve β_2 -AR gibi G proteini ile kenetli reseptörlerdir. Kardiyak fonksiyonun β_3 -AR aracılıklı regülasyonu G_s ve/veya G_i proteinleri üzerinden gerçekleştiği düşünülmektedir. β_3 -AR'lerin kenetli olduğu düşünülen G_i aracılıklı yolda, eNOS aktivasyonu ile sentezi artan NO ve yükselen hücre içi sGMP düzeylerinin kalpte negatif inotropik ve kronotropik etkilere aracılık ettiğini bildirmektedir (Gauthier ve ark. 1996; 1999). Buna karşın, β_1 ve β_2 -AR'ler gibi, β_3 -AR'lerin de kalp dahil olmak üzere çeşitli dokularda G_s proteini ile kenetlendiği ve adenilat siklazı aktive ettiği gösterilmiştir (Strosberg 1997). Buna göre, β_3 -AR stimülasyonu ile gözlenen in vivo pozitif inotropik/kronotropik etkinin G_s aracılıklı olduğu bildirilmiştir (Kohout ve ark. 2001). G_s aracılıklı yolda adenilat siklazın aktivasyonu ile artan sAMP düzeylerinin kalp kasında intrasellüler kalsiyumun ve/veya kalsiyuma karşı duyarlılığın artırılmasını sağlayarak pozitif inotropik/kronotropik etkilere neden olduğu bildirilmektedir (Brodde 1999). İlginç olarak bir çalışmada, miyokardiyumda endojen olarak oluşan ve birbiriyle zıt etkili sekonder haberciler olan sAMP ve sGMP arasındaki dengenin, β_3 -AR stimülasyonu ile kalpte gözlenen etkiyi belirleyici bir faktör olduğu ve bu dengenin agonist dozu ile ilişkili olarak düzenlendiği öne sürülmektedir. İzole sıçan atriumunda yapılan bu çalışmada, yüksek agonist konsantrasyonunda gözlenen belirgin pozitif kronotropik etkide NO sentaz aktivitesinin inhibisyonu ve sAMP düzeylerindeki artışın rol oynadığı bildirilirken, düşük agonist konsantrasyonu ile gözlenen negatif kronotropinin ise artmış NOS aktivitesi ve azalmış sAMP düzeyleri üzerinden gerçekleştiği ileri sürülmektedir (Sterin-Borda ve ark. 2006). Buna göre, β_3 -AR agonistlerinin kardiyak etkisinde görülen farklılıkların kullanılan β_3 -AR agonistin dozuna bağlı olarak, β_3 -AR'in G_s veya G_i proteinine bağlanabilme özelliği ile ilişkili olduğu öngörülmektedir (Sterin-Borda ve ark. 2006). Çalışmamızda izole perfüze sıçan kalbinde selektif β_3 -AR agonist BRL37344'ün yüksek (10^{-7} M ve 10^{-6} M) konsantrasyonlarda uygulanması ile gözlenen konsantrasyon bağımlı akut pozitif inotropik ve kronotropik etkilere yüksek agonist konsantrasyonu ile aktive olan G_s aracılıklı sinyal yolağının aracılık ettiği düşünülmektedir. Buna göre, BRL37344'ün düşük (10^{-8} M) konsantrasyonda nadolol varlığında oluşan negatif inotropik etkisinde ise G_i /NO yolağının rolü olabilir.

Damar endoteli veya kardiyomiyositlerden salıverilerek miyokardiyal kontraktilitenin regülasyonunda rol oynayan NO, konsantrasyon bağımlı olarak etki göstermektedir. NO'nun düşük konsantrasyonlarda (0.01 ve 0.1 μM) miyokardiyal kontraktilitede artışa, yüksek konsantrasyonlarda ($> 10\mu\text{M}$) ise negatif inotropik etkiye neden olduğu gösterilmiştir (Kojda ve ark. 1996; Moha ve ark. 1996; Kojda ve Kottenberg 1999). Kalpte düşük konsantrasyonlardaki NO varlığında oluşan pozitif inotropik etkiye PKA ve PKG aracılıklı yollar üzerinden çeşitli hücresel mekanizmalar aracılık etmektedir. Düşük konsantrasyondaki NO'nun; FDEIII'ün inhibisyonu (Kojda ve ark. 1996; Kojda 2001) veya adenilat siklazın aktivasyonu ile (Vila-Petroff ve ark. 1999) hücre içi sAMP düzeylerini arttırarak, ya da sarkoplazmik ryanodin reseptör (Ry/R) kanallarının açılmasını sağlayarak (Willmott ve ark. 1996), hücre içi Ca^{2+} düzeylerini yükselttiği ve böylece kardiyak kontraktiliteyi arttırdığı bildirilmektedir. NO'nun yüksek konsantrasyonlarının ise artan sGMP ve PKG aktivasyonu üzerinden oluşan membran hiperpolarizasyonu, voltaj duyarlı kalsiyum kanallarının kapatılması veya Troponin'in kalsiyuma duyarlılığını azaltılması aracılığı ile kalpte negatif inotropik etkiye neden olduğu bildirilmektedir (Massion ve Balligand 2003). Öte yandan, NO'nun yalnızca miyokardiyal kontraktilitenin değil aynı zamanda kronotropinin regülasyonunda da rol oynadığı öne sürülmektedir. sGMP analogları ile yapılan çalışmalarda, yüksek NO konsantrasyonlarının negatif kronotropiye, düşük konsantrasyondaki NO düzeylerinin ise pozitif kronotropik etkiye aracılık ettiği gösterilmiştir (Rastaldo ve ark. 2007). Bu verilere göre, miyokardiyumda oluşan NO düzeyleri hücresel etkiyi belirleyici bir rol oynamaktadır. NO düzeylerinin düşük veya yüksek olması ise kullanılan agonist konsantrasyonu ile ilişkili görünmektedir. Selektif β_3 -AR agonisti BRL37344'ün NO sentezini arttırdığı bildirilmektedir (Pott ve ark. 2003). Ancak, çalışmamızda BRL37344'ün izole sıçan kalbinde görülen akut ve kardiyoprotektif etkilerinin NO düzeyleri ile ilişkisi henüz araştırılmamıştır.

β_3 -AR agonistlerinin kalp üzerinde stimülan etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalarda bu etkilere diğer β -AR'lerin de aracılık ettiği yönünde görüşler bulunmaktadır. Bazı çalışmalar, β_3 -AR agonistlerin düşükte olsa β_1 ve β_2 -AR'lere afinitesi olduğunu ve kalp üzerindeki stimülan etkilerine bu reseptörlerin aracılık ettiğini bildirmektedir (Pott ve ark. 2003). Örneğin, in vivo koşullarda köpek ve sıçanda

β_3 -AR agonistleri BRL37344, CL316243, CGP12177'nin uygulanması ile oluşan pozitif kronotropik etkinin sinoaortik denervasyon veya β_1/β_2 -AR'lerin inhibisyonu sonrası ortadan kalkması nedeniyle, kardiyostimülan etkinin β_3 -AR agonistlerinin vazodilatör etkisiyle oluşan hipotansiyonun aktive ettiği barorefleks mekanizmalar ve β_1/β_2 -AR'lerin aktivasyonu aracılığı ile gerçekleştiği bildirilmiştir (Tavernier ve ark. 1992; Berlan ve ark. 1994). Benzer şekilde, izole insan (Pott ve ark. 2003) ve köpek atriumunda (Takayama ve ark. 1993), ve kobay kalbinde (Kozlovski ve ark. 2003) β_3 -AR agonistleri ile gözlenen pozitif inotropik ve kronotropik etkiler β_1/β_2 -AR'lerin inhibisyonu ile büyük ölçüde ortadan kalkmıştır. Buna karşın, bazı çalışmalar ise β_3 -AR agonistlerin direkt olarak kardiyak β_3 -AR'leri aktive etmeleri ile kontraktilite ve kalp atım hızını arttırdığını öne sürmektedir. Örneğin, köpeklerde selektif β_3 -AR agonistleri BRL37344 ve CL316243 uygulamasının β_1/β_2 -AR antagonisti varlığında bile belirgin pozitif inotropik ve kronotropik etkilere ve periferik vazodilatasyona neden olduğunu gösterilmiştir (Shen ve ark. 1996). Literatürde belirlenen bu farklı bulguların doğrultusunda, çalışmamızda selektif β_3 -AR agonist BRL37344'ün (10^{-6} M) iskemi öncesinde uygulanması ile izole perfüze sıçan kalbinde gözlenen akut pozitif inotropik ve kronotropik etkilerde ve ayrıca iskemi sonrasında gözlenen koruyucu etkide, gerek β_3 -AR'lerin gerekse β_1 ve β_2 -AR'lerin rolü araştırılmıştır. Selektif β_3 -AR antagonisti SR59230A (10^{-5} M) varlığında BRL37344 (10^{-6} M) ile elde edilen akut pozitif inotropik etki tamamen geriye dönmüştür. Selektif β_3 -AR antagonisti SR59230A ile birlikte β_1 ve β_2 -AR antagonisti nadololün (10^{-5} M) kullanılması ise pozitif inotropik etkide ilave bir inhibisyona neden olmamıştır. Buna karşın, BRL37344 ile elde edilen akut pozitif kronotropik etkinin β_3 -AR antagonisti varlığında kısmen engellendiği ve ancak β_1 ve β_2 -AR'lerin de β_3 -AR ile birlikte bloke edilmesiyle tamamen geriye döndüğü belirlenmiştir. Koroner akımda ise β_1 ve β_2 -AR inhibisyonu, β_3 -AR inhibisyonuna ilave bir katkıda bulunmamıştır. Bulgularımız BRL37344 aracılıklı gözlenen akut pozitif inotropik ve koroner akımı artırıcı etkilerde β_3 -AR'lerin, pozitif kronotropik etkide ise β_3 -AR'lere ilaveten β_1 ve β_2 -AR'lerin aktivasyonunda eşlik ettiğini düşündürmektedir. Öte yandan, selektif β_3 -AR agonist BRL37344 ile iskemi sonrası kardiyak kontraktilitede sağlanan iyileşmenin selektif β_3 -AR antagonisti SR5930A varlığında reperfüzyonun ilk dönemlerinde anlamlı düzeyde azalmasına rağmen ileri dönemlerde korunması ve ancak, nonselektif β_1/β_2 -AR antagonisti nadolol ilavesiyle bu koruyucu etkinin tamamen ortadan kalkması, BRL37344'ün izole sıçan kalbinde

oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisinde gerek β_3 'lerin gerekse β_1 ve β_2 -AR'lerin aktivasyonunun rol oynadığını göstermektedir.

İskemi öncesi kısa süreli olarak uygulanan selektif β_3 -AR agonist BRL37344 ile iskemi sonrası kardiyak fonksiyonlarda elde ettiğimiz koruyucu etki, deneysel miyokardiyal-iskemi reperfüzyon çalışmalarında kısa süreli önkoşullamaya benzer şekilde uygulanan nonselektif β -AR agonistler ile gösterilen kardiyoprotektif etki ile paralellik göstermektedir (Banerjee ve ark. 1993; Asimakis ve ark. 1994; Nasa ve ark. 1997; Yabe ve ark. 1998; Hearse ve Sutherland 1999; Yates ve ark. 2003. Bulgularımıza benzer şekilde, akut pozitif inotropik ve koroner akımı artırıcı etkiye sahip FDEIII inhibitörleri (Sanada ve ark. 2001) ve kalsiyum duyarlılaştırıcı ajan Levosimendan'ın (Du Toit ve ark. 2008) iskemi öncesi uygulanması ile de benzer kardiyoprotektif etkiler gözlenmiştir. Çalışmamızda iskemi öncesi selektif β_3 -AR agonist BRL37344 uygulanması ile, iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı olarak gelişen miyokardiyal nekrozun göstergelerinden olan, kardiyak CK ve Troponin-I düzeyleri ile infarkt alanının azaltılması da fonksiyonel sonuçlarımızı desteklemektedir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda aşırı katekolamin serbestlenmesine bağlı kronik β_1 -AR stimülasyonunun kardiyomiyositlerde hipertrofi ve apoptozise neden olurken, β_2 -AR stimülasyonunun tam tersi kardiyoprotektif etkilere neden olduğu gösterilmiştir (Patterson ve ark. 2004; Xiao ve ark. 2004). Benzer şekilde, isoprenalinin önkoşullayıcı etkisinde fonksiyonel iyileşmenin β_1 -AR ve β_2 -AR üzerinden gerçekleştiği buna karşın infarkt alanı ve CK düzeylerindeki azalmanın yalnızca β_1 -AR'lerin inhibisyonu ile sağlandığı gösterilmiştir (Frances ve ark. 2003). Çalışmamızda β_3 -AR veya β_1/β_2 -AR antagonistleri varlığında elde ettiğimiz veriler iskemi-reperfüzyon hasarına karşı BRL37344 ile elde edilen kardiyoprotektif etkide β_3 -AR'lerin yanısıra β_1 ve β_2 -AR'lerin de katkısının olduğunu göstermektedir. İnhibitörler varlığında, kardiyak enzim ve protein düzeyleri ile infarkt alanı üzerindeki etkilerde fonksiyonel sonuçlara benzerlik göstermektedir. Ancak, β_1 -AR stimülasyonuna bağlı olarak olduğu ileri sürülen kardiyak remodeling, hipertrofi veya apoptoz gelişimini çalıştığımız deney modelinde değerlendirmek mümkün değildir. Çünkü, yapılan bazı araştırmalar kısa süreli (10dak) ve uzun süreli (24saat) β_1 -AR stimülasyonunun farklı sinyal yolları üzerinden pozitif inotropik, kronotropik ve lusitropik etkilere aracılık ettiğini göstermektedir. Buna göre, kısa süreli

β_1 -AR stimülasyonunun sAMP/PKA sinyalizasyonu üzerinden etki gösterirken, sürenin uzaması ile desensitizasyona uğrayan bu sinyal yolağının yerini, desensitizasyona dirençli ve kardiyomiyositlerdeki kardiyak patolojilerden sorumlu tutulan CAMKII'nin aktivasyonuna bıraktığı bildirilmektedir (Bishopric ve ark. 1992; Morisco ve ark. 2000; Wang ve ark. 2004).

β_3 -AR agonistlerinin damar düz kasını gevşetici etkileri çeşitli türlerde gerek in vivo gerekse in vitro koşullarda ortaya konmuştur (Gauthier ve ark. 2007). İnsanlarda ve deney hayvanlarında in vivo koşullarda β_3 -AR agonistlerinin uygulanması arteriyal hipotansiyona neden olmaktadır. Gevşetici etkinin mekanizmasına yönelik çalışmalarda hipotansif etkinin β_1/β_2 -AR antagonistleri veya sinoaortik denervasyon ile engellenmediği belirlenmiş ve bu etkiye β_3 -AR'lerin aracılık ettiği bildirilmiştir (Tavernier ve ark. 1992; Wheeldon ve ark. 1993; 1994; Berlan ve ark. 1994; Shen ve ark. 1996; Donckier 2001). İzole damar preparatlarında yürütülen in vitro çalışmalarda da β_3 -AR agonistlerinin damar düz kasını gevşetici etkilerinin olduğu gösterilmiştir. İnsan koroner mikroarteri (Dessy ve ark. 2005), umbilikal (Dennedy ve ark. 2002), plasental (Rouget ve ark. 2005; 2006), internal meme arteri (Rozec ve ark. 2005), sıçan aortası (Trochu ve ark. 1999), sıçan karotid arteri (Oriowo 1994) ve köpek pulmoner arterinde (Tagaya ve ark. 1999) yapılan çalışmalarda ortaya konulan bu gevşetici etkinin β_1/β_2 -AR antagonistleri varlığında inhibe olmadığı, nonselektif $\beta_1/\beta_2/\beta_3$ -AR veya selektif β_3 -AR antagonisti ile ortadan kalktığı ve esas olarak endotel bağımlı mekanizmalar aracılığı ile gerçekleştiği belirlenmiştir. İnsan koroner mikroarterlerinde, etki mekanizmasına yönelik olarak yürütülen çalışmalarda ise bu gevşetici etkiye NO'nun ya da kalsiyum ile aktive K^+ kanallarının aktivasyonu ile oluşan membran hiperpolarizasyonunun aracılık ettiği gösterilmiştir (Dessy ve ark. 2004; 2005). Çalışmamızda β_3 -AR agonisti BRL37344, $10^{-7}M$ ve $10^{-6}M$ konsantrasyonlarda, koroner akımda kontrole göre anlamlı ve doza bağımlı bir artış oluşturmuştur. Paralel olarak koroner vasküler rezistansta da doza bağımlı bir azalma olduğu gözlenmiştir. BRL37344'ün koroner arterleri gevşetmesi ile ilişkili olduğu düşünülen bu etki, β_3 -AR stimülasyonu ile çeşitli damarlarda gözlenen vazodilatör yanıtlar ile desteklenmektedir. Çalışmamızda BRL37344'ün uygulanması ile gözlenen koroner akımdaki artış yalnız akut olarak iskemi öncesi dönemde gözlenmemiş, bu etki iskemi sonrası reperfüzyon

döneminde de devam etmiştir. Bulgularımıza paralel olarak, in vivo koşullarda köpekte yapılan bir çalışmada β_3 -AR stimülasyonu sonucu ortaya çıkan vazodilatör etkinin agonist infüzyonunun 8.dakikasında en yüksek değerini aldığı ve yaklaşık 2 saat boyunca stabil kaldığı gözlenmiştir (Shen ve ark. 1996). İzole sıçan kalbinde noradrenalin gibi nonselektif β_1/β_2 -AR agonistler ile yapılan önkoşullamada sağlanan miyokardiyal koruyucu etkide reperfüzyon döneminde artmış koroner akımın önemli rolü olduğu öne sürülmektedir (Hearse ve Sutherland 1999). Benzer şekilde bu çalışmada, BRL37344'ün 10^{-7} M ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda uygulanması ile iskemi sonrasında gözlenen kardiyoprotektif etkide artmış koroner akımın rolü olduğu düşünülmektedir. β_3 -AR aracılıklı vazodilatör yanıtların perinefritik hipertansiyon gibi bazı patolojik durumlarda değişmediği bildirilen çalışmalar dikkate alındığında, β_3 -AR stimülasyonunun damar fonksiyonunu etkileyen patolojik koşullarda korunan etkisiyle yararlı olabileceği düşünülmektedir (Donckier ve ark. 2001).

Çalışmamızda, selektif β_3 -AR antagonisti SR59230A varlığında BRL37344'ün (10^{-6} M) koroner akımdaki akut etkisinin büyük ölçüde inhibe olması, ve ayrıca β_1/β_2 -AR antagonisti nadolol ilavesiyle ileri bir inhibisyonun gözlenmemesi bu etkiye esas olarak β_3 -AR stimülasyonunun aracılık ettiğini göstermektedir. Öte yandan, β_1/β_2 -AR ve β_3 -AR antagonistlerinin bir arada kullanıldığı koşulda bile koroner akımda elde edilen akut artışın kontrol değerlere tamamen dönmediği görülmektedir. β_1/β_2 -AR ve β_3 -AR antagonistlerine dirençli kalan bu akut etkinin farklı bir mekanizma aracılığı ile gerçekleşmesi mümkündür. Son yıllarda BRL37344'ün mikromolar (μ M) konsantrasyonlarda α_1 -AR'leri antagonize ettiği yönünde bulgular elde edilmiştir (Brahmadevara ve ark. 2003; 2004; Briones ve ark. 2005; Leblais ve ark. 2005). Buna göre, koroner akımda BRL37344 (10^{-7} - 10^{-6} M) uygulaması ile gözlenen ve β_3 -AR antagonisti SR59230A ve β_1/β_2 -AR antagonisti nadolol varlığında inhibe olmayan bu akut arttırıcı etkinin, muhtemelen BRL37344'ün nonselektif olarak α_1 -AR antagonize etmesi üzerinden gerçekleşmesi mümkündür. Öte yandan, BRL37344 uygulaması ile iskemi sonrası reperfüzyon döneminde koroner akımda gözlenen artıştan ise esas olarak β_3 -AR'lerin aktivasyonunun rol oynadığı düşünülmektedir.

Reperfüzyon esnasında uygulanan tek veya tekrarlayan kısa süreli iskemi-reperfüzyon periyotlarının da infarkt alanı azaltıcı etkisi olduğu gösterilmiş, ve bu fenomen “geçkoşullama” olarak adlandırılmıştır. Reperfüzyon döneminde uygulanarak iskemik geçkoşullamanın aktive ettiği sinyal yollarını stimüle eden ve böylece kardiyoprotektif etki gösteren ajanlar ise farmakolojik geçkoşullayıcı olarak tanımlanmaktadır. Farmakolojik geçkoşullamanın önkoşullamaya göre kliniğe daha uyumlu olması nedeniyle iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkileri araştırılan çoğu ajanın geçkoşullayıcı etkileri de incelenmektedir. Bununla birlikte, β_3 -AR’lerin geçkoşullayıcı etkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Bu doğrultuda çalışmamızda miyokardiyal iskemi sonrası gözlenen kardiyak disfonksiyonda, akut pozitif inotropik ve kronotropik ve koroner akımı arttırıcı etkisi ile yararlı bulduğumuz BRL37344’ün reperfüzyon esnasında uygulanması ile kardiyak performans üzerinde olumlu etkilerinin olabileceği düşünülmüştür. Ancak, selektif β_3 -AR agonisti BRL37344’ün düşük (10^{-8} M) ve yüksek konsantrasyonlarının (10^{-6} M) iskemi sonrası reperfüzyon döneminde kısa süreli (20 dk.) uygulanmasının miyokardiyal iskemiye bağlı hasarda herhangi bir değişiklik oluşturmadığı, fonksiyonel ve biyokimyasal parametreler ile infarkt alanında da olumlu bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Bulgularımız selektif β_3 -AR agonist BRL37344’ün reperfüzyon esnasında uygulandığında kardiyoprotektif etkisinin olmadığını göstermektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda Langendorff izole perfüze sıçan kalbinde oluşturulan deneysel miyokardiyal iskemi-reperfüzyon modelinde selektif β_3 -AR agonisti BRL37344’ün yüksek (10^{-7} - 10^{-6} M) konsantrasyonlarda kısa süreli (10dk.) uygulanması ile akut pozitif inotropik ve kronotropik etkiler ile koroner akımda artış gözlenmiştir. Bu bulgulara paralel olarak, iskemi sonrası reperfüzyon döneminde kardiyak kontraktilite belirgin olarak güçlenmiş ve miyokardi koruyucu bu etki kardiyak CK ve Troponin-I düzeyleri ile infarkt alanı üzerindeki iyileştirici etkileri ile desteklenmiştir. Selektif β_3 -AR antagonisti ve non-selektif β_1/β_2 -AR antagonisti varlığında yapılan çalışmalar, BRL37344’ün iskemi öncesindeki akut etkileri ile iskemi sonrasında ortaya çıkan kardiyoprotektif etkilerine kısmen β_3 -AR ve kısmen de β_1/β_2 -AR stimülasyonunun aracılık ettiğini ortaya koymuştur. BRL37344’ün düşük konsantrasyonları (10^{-9} - 10^{-8} M) ise gerek iskemi öncesi akut dönemde gerekse iskemi

sonrası miyokardiyal koruma üzerinde etkili bulunmamıştır. Ancak, non-selektif β_1/β_2 -AR antagonisti varlığında gözlenen zayıf negatif inotropik etki ise BRL37344'ün düşük konsantrasyonlarının β_3 -AR'leri üzerindeki etkisinin, kısmen β_1/β_2 -AR aktivasyonu üzerinden maskelenebileceğini ortaya koymuştur. BRL37344 ile oluşturulan negatif inotropik etkiye gerek iskemi öncesi dönemde gerekse iskemi sonrası dönemde fonksiyonel ya da biyokimyasal parametrelerde herhangi bir değişiklik eşlik etmemiştir. BRL37344'ün reperfüzyon döneminde kısa süreli uygulanması ise incelenen hemodinamik, fonksiyonel, biyokimyasal parametrelerde ve infarkt alanı üzerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Tüm bu veriler, selektif β_3 -AR agonisti BRL37344'ün kalpte esas olarak stimülan etkilerinin olduğunu ve iskemi öncesi özellikle yüksek konsantrasyonda uygulandığında kardiyoprotektif etkilerinin olabileceğini göstermektedir. Bulgularımız, selektif β_3 -AR agonisti BRL37344'ün iskemi öncesi uygulandığı takdirde akut kardiyovasküler etkileri nedeni ile kalp üzerinde iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkinliğinin olabileceğini, reperfüzyon esnasında uygulandığında ise kardiyak fonksiyonlar ve hemodinami üzerinde belirgin bir etkisinin olmayacağını göstermektedir. β_3 -AR agonistlerinin kardiyoprotektif etkilerinin belirlenmesinin miyokard infarktüsü, kalp yetmezliği, gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yeni bir terapötik yaklaşım sağlaması açısından önemli olacağı düşünülmektedir. Çalışmamızın ilerleyen aşamasında selektif β_3 -AR agonisti BRL37344'ün kardiyoprotektif etkisine aracılık eden olası sinyal yollarının aydınlatılması üzerinde çalışılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

- Alles, A., Alley, K., Barrett, J. C., Buttyan, R., Columbano, A., Cope, F. O., Copelan, E. A., Duke, R. C., Farel, P. B., Gershenson, L. E., et al. (1991). Apoptosis: a general comment. *Faseb J*, **5**, 2127-8.
- Allison, T. B., Ramey, C. A., Holsinger, J. W., Jr. (1977). Transmural gradients of left ventricular tissue metabolites after circumflex artery ligation in dogs. *J Mol Cell Cardiol*, **9**, 837-52.
- Altan, V. M., Arioglu, E., Guner, S., Ozcelikay, A. T. (2007). The influence of diabetes on cardiac beta-adrenoceptor subtypes. *Heart Fail Rev*, **12**, 58-65.
- Altug, S., Demiryurek, A. T., Kane, K. A., Kanzik, I. (2000). Evidence for the involvement of peroxynitrite in ischaemic preconditioning in rat isolated hearts. *Br J Pharmacol*, **130**, 125-31.
- Ambrosio, G., Tritto, I. (2002). Myocardial reperfusion injury. *EHJ Suppl*, **4**; B28-B30.
- Andrukhiv, A., Costa, A. D., West, I. C., Garlid, K. D. (2006). Opening mitoK_{ATP} increases superoxide generation from complex I of the electron transport chain. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **291**, H2067-74.
- Angelone, T., Filice, E., Quintieri, A. M., Imbrogno, S., Recchia, A., Pulera, E., Mannarino, C., Pellegrino, D., Cerra, M. C. (2008). beta(3)-Adrenoceptors modulate left ventricular relaxation in the rat heart via the NO-cGMP-PKG pathway. *Acta Physiol (Oxf)*, (henüz yayınlanmamış).
- Anselmi, A., Abbate, A., Girola, F., Nasso, G., Biondi-Zoccai, G. G., Possati, G., Gaudino, M. (2004). Myocardial ischemia, stunning, inflammation, and apoptosis during cardiac surgery: a review of evidence. *Eur J Cardiothorac Surg*, **25**, 304-11.
- Anversa, P., Kajstura, J. (1998). Ventricular myocytes are not terminally differentiated in the adult mammalian heart. *Circ Res*, **83**, 1-14.
- Anversa, P., Nadal-Ginard, B. (2002). Myocyte renewal and ventricular remodelling. *Nature*, **415**, 240-3.
- Anversa, P., Kajstura, J., Leri, A., Bolli, R. (2006). Life and death of cardiac stem cells: a paradigm shift in cardiac biology. *Circulation*, **113**, 1451-63.
- Apple, F. S., Murakami, M. M., Pearce, L. A., Herzog, C. A. (2002). Predictive value of cardiac troponin I and T for subsequent death in end-stage renal disease. *Circulation*, **106**, 2941-5.

- Apple, F. S., Murakami, M. M. (2005). The diagnostic utility of cardiac biomarkers in detecting myocardial infarction. *Clin Cornerstone*, **7** Suppl 1, S25-30.
- Arch, J. R., Ainsworth, A. T., Cawthorne, M. A., Piercy, V., Sennitt, M. V., Thody, V. E., Wilson, C., Wilson, S. (1984). Atypical beta-adrenoceptor on brown adipocytes as target for anti-obesity drugs. *Nature*, **309**, 163-5.
- Argaud, L., Gateau-Roesch, O., Raisky, O., Loufouat, J., Robert, D., Ovize, M. (2005). Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation*, **111**, 194-7.
- Arlati, S., Brenna, S., Prencipe, L., Marocchi, A., Casella, G. P., Lanzani, M., Gandini, C. (2000). Myocardial necrosis in ICU patients with acute non-cardiac disease: a prospective study. *Intensive Care Med*, **26**, 31-7.
- Asakura, M., Jiyoong, K., Minamino, T., Shintani, Y., Asanuma, H., Kitakaze, M. (2004). Rationale and design of a large-scale trial using atrial natriuretic peptide (ANP) as an adjunct to percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation acute myocardial infarction: Japan-Working groups of acute myocardial infarction for the reduction of Necrotic Damage by ANP (J-WIND-ANP). *Circ J*, **68**, 95-100.
- Asimakis, G. K., Inners-McBride, K., Conti, V. R., Yang, C. J. (1994). Transient beta adrenergic stimulation can precondition the rat heart against postischaemic contractile dysfunction. *Cardiovasc Res*, **28**, 1726-34.
- Avkiran, M. (1999). Rational basis for use of sodium-hydrogen exchange inhibitors in myocardial ischemia. *Am J Cardiol*, **83**, 10G-17G; discussion 17G-18G.
- Aye, N. N., Xue, Y. X., Hashimoto, K. (1997). Antiarrhythmic effects of cariporide, a novel Na⁺-H⁺ exchange inhibitor, on reperfusion ventricular arrhythmias in rat hearts. *Eur J Pharmacol*, **339**, 121-7.
- Banerjee, A., Locke-Winter, C., Rogers, K. B., Mitchell, M. B., Brew, E. C., Cairns, C. B., Bensard, D. D., Harken, A. H. (1993). Preconditioning against myocardial dysfunction after ischemia and reperfusion by an alpha 1-adrenergic mechanism. *Circ Res*, **73**, 656-70.
- Bakalım, T., Dişçigil, B., Badak, M.İ., Boğa, M., Gürcün, U., İslamoğlu, F., Yağdı, T., Büket, S., Durmaz, İ., Bilkay, Ö. (2000). Miyokardiyal Nitrikoksit ve kardiyak performans üzerine Deferoksaminli kan kardiyoplejisinin etkileri. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* **1,1**; 21-26 .

- Bankwala, Z., Hale, S. L., Kloner, R. A. (1994). Alpha-adrenoceptor stimulation with exogenous norepinephrine or release of endogenous catecholamines mimics ischemic preconditioning. *Circulation*, **90**, 1023-8.
- Barbier, J., Mouas, C., Rannou-Bekono, F., Carre, F. (2007). Existence of beta(3)-adrenoceptors in rat heart: functional implications. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **34**, 796-8.
- Barner, H. B. (1991). Blood cardioplegia: a review and comparison with crystalloid cardioplegia. *Ann Thorac Surg*, **52**, 1354-67.
- Bartling, B., Holtz, J., Darmer, D. (1998). Contribution of myocyte apoptosis to myocardial infarction? *Basic Res Cardiol*, **93**, 71-84.
- Baxter, G. F., Mocanu, M. M., Brar, B. K., Latchman, D. S., Yellon, D. M. (2001). Cardioprotective effects of transforming growth factor-beta1 during early reoxygenation or reperfusion are mediated by p42/p44 MAPK. *J Cardiovasc Pharmacol*, **38**, 930-9.
- Bell, R. M., Yellon, D. M. (2003). Atorvastatin, administered at the onset of reperfusion, and independent of lipid lowering, protects the myocardium by up-regulating a pro-survival pathway. *J Am Coll Cardiol*, **41**, 508-15.
- Beltrami, A. P., Urbanek, K., Kajstura, J., Yan, S. M., Finato, N., Bussani, R., Nadal-Ginard, B., Silvestri, F., Leri, A., Beltrami, C. A., Anversa, P. (2001). Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med*, **344**, 1750-7.
- Berlan, M., Galitzky, J., Bousquet-Melou, A., Lafontan, M., Montastruc, J. L. (1994). Beta-3 adrenoceptor-mediated increase in cutaneous blood flow in the dog. *J Pharmacol Exp Ther*, **268**, 1444-51.
- Bernardi, P., Krauskopf, A., Basso, E., Petronilli, V., Blachly-Dyson, E., Di Lisa, F., Forte, M. A. (2006). The mitochondrial permeability transition from in vitro artifact to disease target. *Febs J*, **273**, 2077-99.
- Bianchetti, A., Manara, L. (1990). In vitro inhibition of intestinal motility by phenylethanolaminotetralines: evidence of atypical beta-adrenoceptors in rat colon. *Br J Pharmacol*, **100**, 831-9.
- Birnbaum, Y., Hale, S. L., Kloner, R. A. (1997). Ischemic preconditioning at a distance: reduction of myocardial infarct size by partial reduction of blood supply combined

- with rapid stimulation of the gastrocnemius muscle in the rabbit. *Circulation*, **96**, 1641-6.
- Bishopric, N. H., Sato, B., Webster, K. A. (1992). Beta-adrenergic regulation of a myocardial actin gene via a cyclic AMP-independent pathway. *J Biol Chem*, **267**, 20932-6.
- Bisognano, J.D., Weinberger, H.D., Bohlmeyer, T.J., Pende, A., Raynolds, M.V., Sastravaha, A., Roden, R., Asano, K., Blaxall, B.C., Wu, S.C., Communal, C., Singh, K., Colucci, W., Bristow, M.R., Port, D.J. (2000). Myocardial-directed overexpression of the human beta(1)-adrenergic receptor in transgenic mice. *J Mol Cell Cardiol*, **817**-30.
- Blinks J. R., Endoh M. (1986). Modification of myofibrillar responsiveness to Ca^{2+} as an inotropic mechanism. *Circulation* .**73**; 85–98.
- Bock-Marquette, I., Saxena, A., White, M. D., Dimaio, J. M. ,Srivastava, D. (2004). Thymosin beta4 activates integrin-linked kinase and promotes cardiac cell migration, survival and cardiac repair. *Nature*, **432**, 466-72.
- Bolli, R. (1996). The early and late phases of preconditioning against myocardial stunning and the essential role of oxyradicals in the late phase: an overview. *Basic Res Cardiol*, **91**, 57-63.
- Bolli, R., Patel, B. S., Jeroudi, M. O., Lai, E. K., McCay, P. B. (1988). Demonstration of free radical generation in "stunned" myocardium of intact dogs with the use of the spin trap alpha-phenyl N-tert-butyl nitron. *J Clin Invest*, **82**, 476-85.
- Bopassa, J. C., Ferrera, R., Gateau-Roesch, O., Couture-Lepetit, E. ,Ovize, M. (2006). PI 3-kinase regulates the mitochondrial transition pore in controlled reperfusion and postconditioning. *Cardiovasc Res*, **69**, 178-85.
- Bose, A. K., Mocanu, M. M., Carr, R. D., Brand, C. L., Yellon, D. M. (2005a). Glucagon-like peptide 1 can directly protect the heart against ischemia/reperfusion injury. *Diabetes*, **54**, 146-51.
- Bose, A. K., Mocanu, M. M., Carr, R. D., Yellon, D. M. (2005b). Glucagon like peptide-1 is protective against myocardial ischemia/reperfusion injury when given either as a preconditioning mimetic or at reperfusion in an isolated rat heart model. *Cardiovasc Drugs Ther*, **19**, 9-11.

- Boyle, E. M., Jr., Lille, S. T., Allaire, E., Clowes, A. W., Verrier, E. D. (1997). Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: atherosclerosis. *Ann Thorac Surg*, **63**, 885-94.
- Bozkurt, A. K., Suzer, O., Kaynar, M. (1997). Benefits of supplementing St Thomas' Hospital cardioplegic solution with tetraethylammonium on functional and metabolic recovery of isolated rat hearts. *Cardiovasc Surg*, **5**, 117-24.
- Brahmadevara, N., Shaw, A. M., MacDonald, A. (2003). Evidence against beta 3-adrenoceptors or low affinity state of beta 1-adrenoceptors mediating relaxation in rat isolated aorta. *Br J Pharmacol*, **138**, 99-106.
- Brahmadevara, N., Shaw, A. M., MacDonald, A. (2004). ALpha1-adrenoceptor antagonist properties of CGP 12177A and other beta-adrenoceptor ligands: evidence against beta(3)- or atypical beta-adrenoceptors in rat aorta. *Br J Pharmacol*, **142**, 781-7.
- Brandt, R. R., Filzmaier, K., Hanrath, P. (2001). Circulating cardiac troponin I in acute pericarditis. *Am J Cardiol*, **87**, 1326-8.
- Brar, B. K., Jonassen, A. K., Stephanou, A., Santilli, G., Railson, J., Knight, R. A., Yellon, D. M., Latchman, D. S. (2000). Urocortin protects against ischemic and reperfusion injury via a MAPK-dependent pathway. *J Biol Chem*, **275**, 8508-14.
- Brat, R., Tosovsky, J., Januska, J. (2004). Myocardial function in early hours after coronary artery bypass grafting in patients with left ventricular dysfunction: comparison of blood and crystalloid cardioplegia. *J Cardiovasc Surg (Torino)*, **45**, 265-9.
- Briones, A. M., Daly, C. J., Jimenez-Altayo, F., Martinez-Revelles, S., Gonzalez, J. M., McGrath, J. C., Vila, E. (2005). Direct demonstration of beta1- and evidence against beta2- and beta3-adrenoceptors, in smooth muscle cells of rat small mesenteric arteries. *Br J Pharmacol*, **146**, 679-91.
- Broadley, K.J. (1979). The Langendorff. *Journal of Pharmacological methods*.
- Brodde, O. E. (1993). Beta-adrenoceptors in cardiac disease. *Pharmacol Ther*, **60**, 405-30.
- Brodde, O. E., Michel, M. C. (1999). Adrenergic and muscarinic receptors in the human heart. *Pharmacol Rev*, **51**, 651-90.

- Buckberg, G. D. (1991). Myocardial temperature management during aortic clamping for cardiac surgery. Protection, preoccupation, and perspective. *J Thorac Cardiovasc Surg*, **102**, 895-903.
- Bullard, A. J., Govewalla, P., Yellon, D. M. (2005). Erythropoietin protects the myocardium against reperfusion injury in vitro and in vivo. *Basic Res Cardiol*, **100**, 397-403.
- Cardinale, D., Sandri, M. T., Martinoni, A., Tricca, A., Civelli, M., Lamantia, G., Cinieri, S., Martinelli, G., Cipolla, C. M., Fiorentini, C. (2000). Left ventricular dysfunction predicted by early troponin I release after high-dose chemotherapy. *J Am Coll Cardiol*, **36**, 517-22.
- Chance, J. J., Segal, J. B., Wallerson, G., Kasper, E., Hruban, R. H., Kickler, T. S., Chan, D. W. (2001). Cardiac troponin T and C-reactive protein as markers of acute cardiac allograft rejection. *Clin Chim Acta*, **312**, 31-9.
- Charriaut-Marlangue, C., Ben-Ari, Y. (1995). A cautionary note on the use of the TUNEL stain to determine apoptosis. *Neuroreport*, **7**, 61-4.
- Cheng, H. J., Zhang, Z. S., Onishi, K., Ukai, T., Sane, D. C., Cheng, C. P. (2001). Upregulation of functional beta(3)-adrenergic receptor in the failing canine myocardium. *Circ Res*, **89**, 599-606.
- Chiari, P. C., Bienengraeber, M. W., Pagel, P. S., Krolikowski, J. G., Kersten, J. R., Warltier, D. C. (2005). Isoflurane protects against myocardial infarction during early reperfusion by activation of phosphatidylinositol-3-kinase signal transduction: evidence for anesthetic-induced postconditioning in rabbits. *Anesthesiology*, **102**, 102-9.
- Chopra, M., Beswick, H., Clapperton, M., Dargie, H. J., Smith, W. E., McMurray, J. (1992). Antioxidant effects of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors: free radical and oxidant scavenging are sulfhydryl dependent, but lipid peroxidation is inhibited by both sulfhydryl- and nonsulfhydryl-containing ACE inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol*, **19**, 330-40.
- Cohen, M. V., Yang, X. M., Liu, G. S., Heusch, G., Downey, J. M. (2001). Acetylcholine, bradykinin, opioids, and phenylephrine, but not adenosine, trigger preconditioning by generating free radicals and opening mitochondrial K(ATP) channels. *Circ Res*, **89**, 273-8.

- Communal, C., Singh, K., Sawyer, D.B., Colucci, W.S. (1999). Opposing effects of beta(1)- and beta(2)-adrenergic receptors on cardiac myocyte apoptosis : role of a pertussis toxin-sensitive G protein. *Circulation*, **100**, 2210-2.
- Communal, C., Colucci, W.S., Singh, K. (2000). p38 mitogen-activated protein kinase pathway protects adult rat ventricular myocytes against beta -adrenergic receptor-stimulated apoptosis. Evidence for Gi-dependent activation. *J Biol Chem*, **275**, 19395-400.
- Costa, A. D., Garlid, K. D., West, I. C., Lincoln, T. M., Downey, J. M., Cohen, M. V., Critz, S. D. (2005). Protein kinase G transmits the cardioprotective signal from cytosol to mitochondria. *Circ Res*, **97**, 329-36.
- Costa, A. D., Jakob, R., Costa, C. L., Andrukhiv, K., West, I. C. ,Garlid, K. D. (2006). The mechanism by which the mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel opening and H₂O₂ inhibit the mitochondrial permeability transition. *J Biol Chem*, **281**, 20801-8.
- Couvreur, N., Lucats, L., Tissier, R., Bize, A., Berdeaux, A., Ghaleh, B. (2006). Differential effects of postconditioning on myocardial stunning and infarction: a study in conscious dogs and anesthetized rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **291**, H1345-50.
- Crisostomo, P. R., Wairiuko, G. M., Wang, M., Tsai, B. M., Morrell, E. D., Meldrum, D. R. (2006a). Preconditioning versus postconditioning: mechanisms and therapeutic potentials. *J Am Coll Surg*, **202**, 797-812.
- Crisostomo, P. R., Wang, M., Wairiuko, G. M., Terrell, A. M., Meldrum, D. R. (2006b). Postconditioning in females depends on injury severity. *J Surg Res*, **134**, 342-7.
- Crompton, M., Barksby, E., Johnson, N., Capano, M. (2002). Mitochondrial intermembrane junctional complexes and their involvement in cell death. *Biochimie*, **84**, 143-52.
- Çümen, B., Dişçigil, B., Badak, M.İ., Gürcün, U., Boğa, M., Özkısacık, E.A., Özbaran M., Büket, S., Bilkay, Ö. (2000). Kan kardiyoplejisine Diltiazem eklenmesinin miyokard korunmasındaki yeri. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* **1,2**; 23-28.
- da Silva, R., Grampp, T., Pasch, T., Schaub, M. C., Zaugg, M. (2004). Differential activation of mitogen-activated protein kinases in ischemic and anesthetic preconditioning. *Anesthesiology*, **100**, 59-69.

- Darling, C. E., Jiang, R., Maynard, M., Whittaker, P., Vinten-Johansen, J., Przyklenk, K. (2005). Postconditioning via stuttering reperfusion limits myocardial infarct size in rabbit hearts: role of ERK1/2. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **289**, H1618-26.
- de Jong, J. W., van der Meer, P., Nieukoop, A. S., Huizer, T., Stroeve, R. J., Bos, E. (1990). Xanthine oxidoreductase activity in perfused hearts of various species, including humans. *Circ Res*, **67**, 770-3.
- Dennedy, M. C., Houlihan, D. D., McMillan, H., Morrison, J. J. (2002). Beta2- and beta3-adrenoreceptor agonists: human myometrial selectivity and effects on umbilical artery tone. *Am J Obstet Gynecol*, **187**, 641-7.
- Dessy, C., Moniotte, S., Ghisdal, P., Havaux, X., Noirhomme, P., Balligand, J. L. (2004). Endothelial beta3-adrenoceptors mediate vasorelaxation of human coronary microarteries through nitric oxide and endothelium-dependent hyperpolarization. *Circulation*, **110**, 948-54.
- Dessy, C., Saliez, J., Ghisdal, P., Daneau, G., Lobysheva, II, Frerart, F., Belge, C., Jnaoui, K., Noirhomme, P., Feron, O., Balligand, J. L. (2005). Endothelial beta3-adrenoreceptors mediate nitric oxide-dependent vasorelaxation of coronary microvessels in response to the third-generation beta-blocker nebivolol. *Circulation*, **112**, 1198-205.
- Dimmeler, S., Zeiher, A. M., Schneider, M. D. (2005). Unchain my heart: the scientific foundations of cardiac repair. *J Clin Invest*, **115**, 572-83.
- Dincer, U. D., Bidasee, K. R., Guner, S., Tay, A., Ozcelikay, A. T., Altan, V. M. (2001). The effect of diabetes on expression of beta1-, beta2-, and beta3-adrenoreceptors in rat hearts. *Diabetes*, **50**, 455-61.
- Dirksen, M. T., Laarman, G. J., Simoons, M. L., Duncker, D. J. (2007). Reperfusion injury in humans: a review of clinical trials on reperfusion injury inhibitory strategies. *Cardiovasc Res*, **74**, 343-55.
- Dispenzieri, A., Kyle, R. A., Gertz, M. A., Therneau, T. M., Miller, W. L., Chandrasekaran, K., McConnell, J. P., Burritt, M. F., Jaffe, A. S. (2003). Survival in patients with primary systemic amyloidosis and raised serum cardiac troponins. *Lancet*, **361**, 1787-9.
- Dişçiğil, B., Badak, M.İ., Bakalım, T., Boğa, M., İslamoğlu, F., Gürcün, U., Özkısacık, E.A., Büket, S., Telli, A. (1999). Aspartat ve Glutamatlı kan kardiyoplejisinin sol

- ventrikül fonksiyonları üzerine olan etkisinin miyokardiyal Nitrikoksit değerleri ile değerlendirilmesi. *GKDC Dergisi* **7**,**4**; 291-295.
- Dobson, G. P. (2004). Organ arrest, protection and preservation: natural hibernation to cardiac surgery. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, **139**, 469-85.
- Dolan, J. A., Muenkel, H. A., Burns, M. G., Pellegrino, S. M., Fraser, C. M., Pietri, F., Strosberg, A. D., Largis, E. E., Dutia, M. D., Bloom, J. D. ,et al. (1994). Beta-3 adrenoceptor selectivity of the dioxolane dicarboxylate phenethanolamines. *J Pharmacol Exp Ther*, **269**, 1000-6.
- Dolci, A., Panteghini, M. (2006). The exciting story of cardiac biomarkers: from retrospective detection to gold diagnostic standard for acute myocardial infarction and more. *Clin Chim Acta*, **369**, 179-87.
- Donckier, J. E., Massart, P. E., Van Mechelen, H., Heyndrickx, G. R., Gauthier, C., Balligand, J. L. (2001). Cardiovascular effects of beta 3-adrenoceptor stimulation in perinephritic hypertension. *Eur J Clin Invest*, **31**, 681-9.
- Donnelly, R. ,Millar-Craig, M. W. (1998). Cardiac troponins: IT upgrade for the heart. *Lancet*, **351**, 537-9.
- Doring, H.J., Dehnert, H. (1987) *The isolated perfused heart according to Langendorff*. Germany, BVM-BiomesstechnikVerlag.
- Dos Santos, P., Kowaltowski, A. J., Laclau, M. N., Seetharaman, S., Paucek, P., Boudina, S., Thambo, J. B., Tariosse, L., Garlid, K. D. (2002). Mechanisms by which opening the mitochondrial ATP-sensitive K(+) channel protects the ischemic heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **283**, H284-95.
- Dowell, J. D., Rubart, M., Pasumarthi, K. B., Soonpaa, M. H., Field, L. J. (2003). Myocyte and myogenic stem cell transplantation in the heart. *Cardiovasc Res*, **58**, 336-50.
- Downey, J.M. Measuring infarct size by the tetrazolium method. Erişim 30.01.06. <http://www.usouthal.edu/isshr/help/ttc>.
- Dragoni, S., Di Stolfo, G., Sicuro, S., Lisi, M., Parker, J. D., Forconi, S., Gori, T. (2006). Postconditioning fails to prevent radial artery endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion: evidence from a human in vivo study. *Can J Physiol Pharmacol*, **84**, 611-5.
- Du Toit, E. F., Opie, L. H. (1993). Role for the Na⁺/H⁺ exchanger in reperfusion stunning in isolated perfused rat heart. *J Cardiovasc Pharmacol*, **22**, 877-83.

- Du Toit E.F., Muller C.A., McCarthy J., Opie L.H.(1999). Levosimendan: effects of a calcium sensitizer on function and arrhythmias and cyclic nucleotide levels during ischemia/ reperfusion in the Langendorff-perfused guinea pig heart. *J Pharmacol Exp Ther.* **290**; 505–514.
- Du Toit E.F., Genis A., Opie L.H., Pollesello P., Lochner A. (2008). A role for the RISK pathway and K_{ATP} channels in pre- and post-conditioning induced by levosimendan in the isolated guinea pig heart. *British Journal of Pharmacology.* **154**; 41–50.
- Dworschak, M., Franz, M., Khazen, C., Czerny, M., Haisjackl, M., Hiesmayr, M. (2001). Mechanical trauma as the major cause of troponin T release after transvenous implantation of cardioverter/defibrillators. *Cardiology*, **95**, 212-4.
- Eefting, F., Rensing, B., Wigman, J., Pannekoek, W. J., Liu, W. M., Cramer, M. J., Lips, D. J. ,Doevendans, P. A. (2004). Role of apoptosis in reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, **61**, 414-26.
- Efthymiou C.A., Mocanu M.M., Yellon D.M. (2005). Atorvastatin and myocardial reperfusion injury: new pleiotropic effect implicating multiple prosurvival signaling. *J Cardiovasc Pharmacol.* **45**:247-52.
- Emorine, L. J., Marullo, S., Briend-Sutren, M. M., Patey, G., Tate, K., Delavier-Klutchko, C., Strosberg, A. D. (1989). Molecular characterization of the human beta 3-adrenergic receptor. *Science*, **245**, 1118-21.
- Engelhardt, S., Bohm, M., Erdmann, E., Lohse, M. J. (1996). Analysis of beta-adrenergic receptor mRNA levels in human ventricular biopsy specimens by quantitative polymerase chain reactions: progressive reduction of beta 1-adrenergic receptor mRNA in heart failure. *J Am Coll Cardiol*, **27**, 146-54.
- Erlebacher, J. A., Weiss, J. L., Weisfeldt, M. L., Bulkley, B. H. (1984). Early dilation of the infarcted segment in acute transmural myocardial infarction: role of infarct expansion in acute left ventricular enlargement. *J Am Coll Cardiol*, **4**, 201-8.
- Fadok, V. A., Savill, J. S., Haslett, C., Bratton, D. L., Doherty, D. E., Campbell, P. A., Henson, P. M. (1992). Different populations of macrophages use either the vitronectin receptor or the phosphatidylserine receptor to recognize and remove apoptotic cells. *J Immunol*, **149**, 4029-35.

- Fantinelli, J. C., Mosca, S. M. (2007). Comparative effects of ischemic pre and postconditioning on ischemia-reperfusion injury in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Mol Cell Biochem*, **296**, 45-51.
- Ferdinandy, P., Szilvássy, Z., Balogh, N., Csonka, C., Csont, T., Koltai, M., Dux, L. (1996). Nitric oxide is involved in active preconditioning in isolated working rat hearts. *Ann N Y Acad Sci*, **793**:489-93.
- Ferdinandy, P., Csont, T., Csonka, C., Török, M., Dux, M., Németh, J., Horváth, L.I., Dux, L., Szilvássy, Z., Jancsó, G. (1997). Capsaicin-sensitive local sensory innervation is involved in pacing-induced preconditioning in rat hearts: role of nitric oxide and CGRP? *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, **356**, 356-63.
- Ferdinandy, P., Schulz, R., Baxter, G. F. (2007). Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning. *Pharmacol Rev*, **59**, 418-58.
- Ferrara, N., Kerbel, R. S. (2005). Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature*, **438**, 967-74.
- Feuerstein, G., Liu, G. L., Yue, T. L., Cheng, H. Y., Hieble, J. P., Arch, J. R., Ruffolo, R. R., Jr., Ma, X. L. (1998). Comparison of metoprolol and carvedilol pharmacology and cardioprotection in rabbit ischemia and reperfusion model. *Eur J Pharmacol*, **351**, 341-50.
- Fishbein, M. C., Meerbaum, S., Rit, J., Lando, U., Kanmatsuse, K., Mercier, J. C., Corday, E., Ganz, W. (1981). Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *Am Heart J*, **101**, 593-600.
- Fleet, W. F., Johnson, T. A., Graebner, C. A., Gettes, L. S. (1985). Effect of serial brief ischemic episodes on extracellular K⁺, pH, and activation in the pig. *Circulation*, **72**, 922-32.
- Fliss, H., Gattinger, D. (1996). Apoptosis in ischemic and reperfused rat myocardium. *Circ Res*, **79**, 949-56.
- Frances, C., Nazeyrollas, P., Prevost, A., Moreau, F., Pisani, J., Davani, S., Kantelip, J. P., Millart, H. (2003). Role of beta 1- and beta 2-adrenoceptor subtypes in preconditioning against myocardial dysfunction after ischemia and reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol*, **41**, 396-405.

- Freude, B., Masters, T. N., Robicsek, F., Fokin, A., Kostin, S., Zimmermann, R., Ullmann, C., Lorenz-Meyer, S., Schaper, J. (2000). Apoptosis is initiated by myocardial ischemia and executed during reperfusion. *J Mol Cell Cardiol*, **32**, 197-208.
- Galagudza, M., Kurapeev, D., Minasian, S., Valen, G., Vaage, J. (2004). Ischemic postconditioning: brief ischemia during reperfusion converts persistent ventricular fibrillation into regular rhythm. *Eur J Cardiothorac Surg*, **25**, 1006-10.
- Gao, F., Chen, J., Lopez, B. L., Christopher, T. A., Gu, J., Lysko, P., Ruffolo, R. R., Jr., Ohlstein, E. H., Ma, X. L., Yue, T. L. (2000). Comparison of bisoprolol and carvedilol cardioprotection in a rabbit ischemia and reperfusion model. *Eur J Pharmacol*, **406**, 109-16.
- Gao, F., Gao, E., Yue, T. L., Ohlstein, E. H., Lopez, B. L., Christopher, T. A., Ma, X. L. (2002). Nitric oxide mediates the antiapoptotic effect of insulin in myocardial ischemia-reperfusion: the roles of PI3-kinase, Akt, and endothelial nitric oxide synthase phosphorylation. *Circulation*, **105**, 1497-502.
- Garcia-Dorado, D., Theroux, P., Fernandez-Aviles, F., Elizaga, J., Solares, J., Galinanes, M. (1987). Diltiazem and progression of myocardial ischemic damage during coronary artery occlusion and reperfusion in porcine hearts. *J Am Coll Cardiol*, **10**, 906-11.
- Garcia-Dorado, D., Vinten-Johansen, J., Piper, H. M. (2006). Bringing preconditioning and postconditioning into focus. *Cardiovasc Res*, **70**, 167-9.
- Gauthier, C., Tavernier, G., Charpentier, F., Langin, D., Le Marec, H. (1996). Functional beta3-adrenoceptor in the human heart. *J Clin Invest*, **98**, 556-62.
- Gauthier, C., Leblais, V., Kobzik, L., Trochu, J. N., Khandoudi, N., Bril, A., Balligand, J. L., Le Marec, H. (1998). The negative inotropic effect of beta3-adrenoceptor stimulation is mediated by activation of a nitric oxide synthase pathway in human ventricle. *J Clin Invest*, **102**, 1377-84.
- Gauthier, C., Tavernier, G., Trochu, J. N., Leblais, V., Laurent, K., Langin, D., Escande, D., Le Marec, H. (1999). Interspecies differences in the cardiac negative inotropic effects of beta(3)-adrenoceptor agonists. *J Pharmacol Exp Ther*, **290**, 687-93.
- Gauthier, C., Langin, D., Balligand, J. L. (2000). Beta3-adrenoceptors in the cardiovascular system. *Trends Pharmacol Sci*, **21**, 426-31.

- Gauthier, C., Seze-Goismier, C., Rozec, B. (2007). Beta 3-adrenoceptors in the cardiovascular system. *Clin Hemorheol Microcirc*, **37**, 193-204.
- Gho, B. C., Schoemaker, R. G., van den Doel, M. A., Duncker, D. J., Verdouw, P. D. (1996). Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue. *Circulation*, **94**, 2193-200.
- Giannitsis, E., Muller-Bardorff, M., Kurowski, V., Weidtmann, B., Wiegand, U., Kampmann, M., Katus, H. A. (2000). Independent prognostic value of cardiac troponin T in patients with confirmed pulmonary embolism. *Circulation*, **102**, 211-7.
- Gottlieb, R. A., Burleson, K. O., Kloner, R. A., Babior, B. M., Engler, R. L. (1994). Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. *J Clin Invest*, **94**, 1621-8.
- Gounis, M. J., Spiga, M. G., Graham, R. M., Wilson, A., Haliko, S., Lieber, B. B., Wakhloo, A. K., Webster, K. A. (2005). Angiogenesis is confined to the transient period of VEGF expression that follows adenoviral gene delivery to ischemic muscle. *Gene Ther*, **12**, 762-71.
- Guimaraes, S., Moura, D. (2001). Vascular adrenoceptors: An update. *Pharmacol Rev*. **53**; 319-356.
- Guyton & Hall. (1996). *Tıbbi Fizyoloji*. (Dokuzuncu Edisyon). İzmir, Asya Tıp Kitabevi.
- Gupta, M., Lent, R. W., Kaplan, E. L., Zabriskie, J. B. (2002). Serum cardiac troponin I in acute rheumatic fever. *Am J Cardiol*, **89**, 779-82.
- Guru, V., Omura, J., Alghamdi, A. A., Weisel, R., Fremes, S. E. (2006). Is blood superior to crystalloid cardioplegia? A meta-analysis of randomized clinical trials. *Circulation*, **114**, I331-8.
- Halestrap, A. P., Brennerb, C. (2003). The adenine nucleotide translocase: a central component of the mitochondrial permeability transition pore and key player in cell death. *Curr Med Chem*, **10**, 1507-25.
- Halestrap, A. P., Clarke, S. J., Javadov, S. A. (2004). Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion--a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res*, **61**, 372-85.
- Halkos, M. E., Kerendi, F., Corvera, J. S., Wang, N. P., Kin, H., Payne, C. S., Sun, H. Y., Guyton, R. A., Vinten-Johansen, J., Zhao, Z. Q. (2004). Myocardial protection

- with postconditioning is not enhanced by ischemic preconditioning. *Ann Thorac Surg*, **78**, 961-9; discussion 969.
- Hamacher-Brady, A., Brady, N. R., Gottlieb, R. A. (2006). The interplay between pro-death and pro-survival signaling pathways in myocardial ischemia/reperfusion injury: apoptosis meets autophagy. *Cardiovasc Drugs Ther*, **20**, 445-62.
- Hansen, P. R. (1995). Role of neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation*, **91**, 1872-85.
- Haga, Y., Hatori, N., Nordlander, M., Nordlander, R., Sjöquist, P.O., Rydén, L.(1993). Coronary venous retroinfusion of felodipine reducing infarct size without affecting regional myocardial blood flow. *Eur Heart J*.**14**;1386-93.
- Hausenloy, D. J., Yellon, D. M. (2003). The mitochondrial permeability transition pore: its fundamental role in mediating cell death during ischaemia and reperfusion. *J Mol Cell Cardiol*, **35**, 339-41.
- Hausenloy, D. J., Duchen, M. R., Yellon, D. M. (2003). Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening at reperfusion protects against ischaemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, **60**, 617-25.
- Hausenloy, D. J., Yellon, D. M. (2004). New directions for protecting the heart against ischaemia-reperfusion injury: targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK)-pathway. *Cardiovasc Res*, **61**, 448-60.
- Hausenloy, D. J., Tsang, A., Mocanu, M. M., Yellon, D. M. (2005). Ischemic preconditioning protects by activating prosurvival kinases at reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **288**, H971-6.
- Hausenloy, D. J., Yellon, D. M. (2007a). Preconditioning and postconditioning: new strategies for cardioprotection. *Diabetes Obes Metab*,
- Hausenloy, D. J., Yellon, D. M. (2007b). Preconditioning and postconditioning: united at reperfusion. *Pharmacol Ther*, **116**, 173-91.
- Hearse, D. J. (1983). Cardioplegia. *Postgrad Med J*, **59 Suppl 2**, 11-24.
- Hearse, D.J., Yellon, D.M. (1984). *Therapeutic approaches to myocardial infarct size limitation*. New York: Raven Pres.
- Hearse, D. J. (1988). The protection of the ischemic myocardium: surgical success v clinical failure? *Prog Cardiovasc Dis*, **30**, 381-402.
- Hearse, D. J. (1991). Stunning: a radical re-view. *Cardiovasc Drugs Ther*, **5**, 853-76.

- Hearse, D. J. (1998). Myocardial protection during ischemia and reperfusion. *Mol Cell Biochem*, **186**, 177-84.
- Hearse, D. J., Sutherland, F. J. (1999). Catecholamines and preconditioning: studies of contraction and function in isolated rat hearts. *Am J Physiol*, **277**, H136-43.
- Hearse, D. J., Sutherland, F. J. (2000). Experimental models for the study of cardiovascular function and disease. *Pharmacol Res*, **41**, 597-603.
- Herzog, W.R., Vogel, R.A., Schlossberg, M.L., Edenbaum, L.R., Scott, H.J., Serebruany, V.L. (1997). Short-term low dose intracoronary diltiazem administered at the onset of reperfusion reduces myocardial infarct size. *Int J Cardiol*. **59**; 21-7
- Heusch, G., Buchert, A., Feldhaus, S., Schulz, R. (2006). No loss of cardioprotection by postconditioning in connexin 43-deficient mice. *Basic Res Cardiol*, **101**, 354-6.
- Hoffman, J. W., Jr., Gilbert, T. B., Poston, R. S., Silldorff, E. P. (2004). Myocardial reperfusion injury: etiology, mechanisms, and therapies. *J Extra Corpor Technol*, **36**, 391-411.
- Holly, T. A., Drincic, A., Byun, Y., Nakamura, S., Harris, K., Klocke, F. J., Cryns, V. L. (1999). Caspase inhibition reduces myocyte cell death induced by myocardial ischemia and reperfusion in vivo. *J Mol Cell Cardiol*, **31**, 1709-15.
- Horwich, T. B., Patel, J., MacLellan, W. R., Fonarow, G. C. (2003). Cardiac troponin I is associated with impaired hemodynamics, progressive left ventricular dysfunction, and increased mortality rates in advanced heart failure. *Circulation*, **108**, 833-8.
- Hsieh, P. C., Segers, V. F., Davis, M. E., MacGillivray, C., Gannon, J., Molkentin, J. D., Robbins, J., Lee, R. T. (2007). Evidence from a genetic fate-mapping study that stem cells refresh adult mammalian cardiomyocytes after injury. *Nat Med*, **13**, 970-4.
- Iliodromitis, E. K., Georgiadis, M., Cohen, M. V., Downey, J. M., Bofilis, E., Kremastinos, D. T. (2006). Protection from post-conditioning depends on the number of short ischemic insults in anesthetized pigs. *Basic Res Cardiol*, **101**, 502-7.
- Jaburek, M., Costa, A. D., Burton, J. R., Costa, C. L., Garlid, K. D. (2006). Mitochondrial PKC epsilon and mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel copurify and coreconstitute to form a functioning signaling module in proteoliposomes. *Circ Res*, **99**, 878-83.
- Jaffe, A. S., Ravkilde, J., Roberts, R., Naslund, U., Apple, F. S., Galvani, M., Katus, H. (2000). It's time for a change to a troponin standard. *Circulation*, **102**, 1216-20.

- Jennings, R.B., Kaltenbach, J.P. ve Sommers H.M.(1963). *The Etiology of Myocardial Infarction*. Boston, Mass:Little, Brown and Co.
- Jennings, R. B., Reimer, K. A., Hill, M. L., Mayer, S. E. (1981). Total ischemia in dog hearts, in vitro. 1. Comparison of high energy phosphate production, utilization, and depletion, and of adenine nucleotide catabolism in total ischemia in vitro vs. severe ischemia in vivo. *Circ Res*, **49**, 892-900.
- Jennings, R. B., Schaper, J., Hill, M. L., Steenbergen, C., Jr., Reimer, K. A. (1985). Effect of reperfusion late in the phase of reversible ischemic injury. Changes in cell volume, electrolytes, metabolites, and ultrastructure. *Circ Res*, **56**, 262-78.
- Jennings, R. B., Steenbergen, C., Jr. (1985). Nucleotide metabolism and cellular damage in myocardial ischemia. *Annu Rev Physiol*, **47**, 727-49.
- Jennings, R. B., Reimer, K. A., Steenbergen, C. (1986). Myocardial ischemia revisited. The osmolar load, membrane damage, and reperfusion. *J Mol Cell Cardiol*, **18**, 769-80.
- Jennings, R. B., Murry, C. E., Steenbergen, C., Jr., Reimer, K. A. (1990). Development of cell injury in sustained acute ischemia. *Circulation*, **82**, II2-12.
- Jennings, R. B., Reimer, K. A. (1991). The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med*, **42**, 225-46.
- Jennings, R. B., Sebbag, L., Schwartz, L. M., Crago, M. S., Reimer, K. A. (2001). Metabolism of preconditioned myocardium: effect of loss and reinstatement of cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol*, **33**, 1571-88.
- Jolly, S. R., Kane, W. J., Bailie, M. B., Abrams, G. D., Lucchesi, B. R. (1984). Canine myocardial reperfusion injury. Its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase. *Circ Res*, **54**, 277-85.
- Jonassen, A. K., Sack, M. N., Mjos, O. D., Yellon, D. M. (2001). Myocardial protection by insulin at reperfusion requires early administration and is mediated via Akt and p70s6 kinase cell-survival signaling. *Circ Res*, **89**, 1191-8.
- Jordan, J. E., Zhao, Z. Q., Vinten-Johansen, J. (1999). The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, **43**, 860-78.
- Kang, P. M., Izumo, S. (2003). Apoptosis in heart: basic mechanisms and implications in cardiovascular diseases. *Trends Mol Med*, **9**, 177-82.
- Kannankeril, P. J., Pahl, E., Wax, D. F. (2002). Usefulness of troponin I as a marker of myocardial injury after pediatric cardiac catheterization. *Am J Cardiol*, **90**, 1128-32.

- Kaplan, S. H., Yang, H., Gilliam, D. E., Shen, J., Lemasters, J. J., Cascio, W. E. (1995). Hypercapnic acidosis and dimethyl amiloride reduce reperfusion induced cell death in ischaemic ventricular myocardium. *Cardiovasc Res*, **29**, 231-8.
- Karmazyn, M., Sostaric, J. V., Gan, X. T. (2001). The myocardial Na⁺/H⁺ exchanger: a potential therapeutic target for the prevention of myocardial ischaemic and reperfusion injury and attenuation of postinfarction heart failure. *Drugs*, **61**, 375-89.
- Karmen, A., Wroblewski, F., Ladue, J. S. (1955). Transaminase activity in human blood. *J Clin Invest*, **34**, 126-31.
- Kaumann, A. J. (1996). (-)-CGP 12177-induced increase of human atrial contraction through a putative third beta-adrenoceptor. *Br J Pharmacol*, **117**, 93-8.
- Kaumann, A. J., Engelhardt, S., Hein, L., Molenaar, P., Lohse, M. (2001). Abolition of (-)-CGP 12177-evoked cardiostimulation in double beta1/beta2-adrenoceptor knockout mice. Obligatory role of beta1-adrenoceptors for putative beta4-adrenoceptor pharmacology. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, **363**, 87-93.
- Kazimoglu, K., Bozkurt, A. K., Suzer, O., Konukoglu, D., Koksall, C., Kurdal, T., Turhan, M. S. (2004). The role of antioxidant supplementation in cardiac transplantation: an experimental study in rats. *Transplant Proc*, **36**, 2939-43.
- Kayaalp O. (2005). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tibbi Farmakoloji*.1.cilt (8. basım). Ankara. Hacettepe Taş.
- Kerendi, F., Kin, H., Halkos, M. E., Jiang, R., Zatta, A. J., Zhao, Z. Q., Guyton, R. A., Vinten-Johansen, J. (2005). Remote postconditioning. Brief renal ischemia and reperfusion applied before coronary artery reperfusion reduces myocardial infarct size via endogenous activation of adenosine receptors. *Basic Res Cardiol*, **100**, 404-12.
- Kerr, J. F., Wyllie, A. H., Currie, A. R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, **26**, 239-57.
- Kin, H., Zhao, Z. Q., Sun, H. Y., Wang, N. P., Corvera, J. S., Halkos, M. E., Kerendi, F., Guyton, R. A., Vinten-Johansen, J. (2004). Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res*, **62**, 74-85.
- Kin, H., Zatta, A. J., Lofye, M. T., Amerson, B. S., Halkos, M. E., Kerendi, F., Zhao, Z. Q., Guyton, R. A., Headrick, J. P., Vinten-Johansen, J. (2005). Postconditioning

- reduces infarct size via adenosine receptor activation by endogenous adenosine. *Cardiovasc Res*, **67**, 124-33.
- Kitamura, T., Onishi, K., Dohi, K., Okinaka, T., Isaka, N., Nakano, T. (2000). The negative inotropic effect of beta3-adrenoceptor stimulation in the beating guinea pig heart. *J Cardiovasc Pharmacol*. **35**;786-90.
- Kiuchi, K., Shannon, R. P., Komamura, K., Cohen, D. J., Bianchi, C., Homcy, C. J., Vatner, S. F., Vatner, D. E. (1993). Myocardial beta-adrenergic receptor function during the development of pacing-induced heart failure. *J Clin Invest*, **91**, 907-14.
- Kiziltepe, U., Tunctan, B., Eyileten, Z. B., Sirlak, M., Arikbuku, M., Tasoz, R., Uysalel, A., Ozyurda, U. (2004). Efficiency of L-arginine enriched cardioplegia and non-cardioplegic reperfusion in ischemic hearts. *Int J Cardiol*, **97**, 93-100.
- Klein, H.H., Puschmann, S., Schaper, W. (1981). The mechanism of the tetrazolium reaction in identifying experimental myocardial infarction. *Virchows Arch*. **393**; 287-297.
- Klein, H. H., Schubothe, M., Nebendahl, K., Kreuzer, H. (1984). The effect of two different diltiazem treatments on infarct size in ischemic, reperfused porcine hearts. *Circulation*, **69**, 1000-5.
- Klein, H. H., Pich, S., Bohle, R. M., Wollenweber, J., Nebendahl, K. (1995). Myocardial protection by Na⁽⁺⁾-H⁺ exchange inhibition in ischemic, reperfused porcine hearts. *Circulation*, **92**, 912-7.
- Kloner, R. A., Jennings, R. B. (2001a). Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 1. *Circulation*, **104**, 2981-9.
- Kloner, R. A., Jennings, R. B. (2001b). Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 2. *Circulation*, **104**, 3158-67.
- Kloner, R. A., Rezkalla, S. H. (2006). Preconditioning, postconditioning and their application to clinical cardiology. *Cardiovasc Res*, **70**, 297-307.
- Kluck, R. M., Bossy-Wetzel, E., Green, D. R., Newmeyer, D. D. (1997). The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. *Science*, **275**, 1132-6.
- Knabb, R. M., Rosamond, T. L., Fox, K. A., Sobel, B. E., Bergmann, S. R. (1986). Enhancement of salvage of reperfused ischemic myocardium by diltiazem. *J Am Coll Cardiol*, **8**, 861-71.

- Kohout, T. A., Takaoka, H., McDonald, P. H., Perry, S. J., Mao, L., Lefkowitz, R. J., Rockman, H. A. (2001). Augmentation of cardiac contractility mediated by the human beta(3)-adrenergic receptor overexpressed in the hearts of transgenic mice. *Circulation*, **104**, 2485-91.
- Kojda, G. (2001). Mechanisms of inotropic effects induced by nitric oxide. *Ital Heart J*, **2 Suppl 3**, 48S-49S.
- Kojda, G., Kottenberg, K., Nix, P., Schluter, K. D., Piper, H. M., Noack, E. (1996). Low increase in cGMP induced by organic nitrates and nitrovasodilators improves contractile response of rat ventricular myocytes. *Circ Res*, **78**, 91-101.
- Kojda, G., Kottenberg, K. (1999). Regulation of basal myocardial function by NO. *Cardiovasc Res*, **41**, 514-23.
- Koksal, C., Suzer, O., Bozkurt, A. K., Koseoglu, S. (2002). Comparison of enoximone, amrinone, or levosimendan enriched St. Thomas' hospital cardioplegic solutions used for myocardial preservation in isolated guinea pig hearts. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, **45**, 93-7.
- Konkar, A. A., Zhai, Y., Granneman, J. G. (2000). beta1-adrenergic receptors mediate beta3-adrenergic-independent effects of CGP 12177 in brown adipose tissue. *Mol Pharmacol*, **57**, 252-8.
- Kozlovski, V. I., Chlopicki, S., Gryglewski, R. J. (2003). Effects of two beta3-agonists, CGP 12177A and BRL 37344, on coronary flow and contractility in isolated guinea pig heart. *J Cardiovasc Pharmacol*, **41**, 706-13.
- Kuhn, B., del Monte, F., Hajjar, R. J., Chang, Y. S., Lebeche, D., Arab, S., Keating, M. T. (2007). Periostin induces proliferation of differentiated cardiomyocytes and promotes cardiac repair. *Nat Med*, **13**, 962-9.
- Kuzuya, T., Hoshida, S., Yamashita, N., Fuji, H., Oe, H., Hori, M., Kamada, T., Tada, M. (1993). Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia. *Circ Res*, **72**, 1293-9.
- Kwiterovich, P. O., Jr. (1998). The antiatherogenic role of high-density lipoprotein cholesterol. *Am J Cardiol*, **82**, 13Q-21Q.
- Laclau, M. N., Boudina, S., Thambo, J. B., Tariosse, L., Gouverneur, G., Bonoron-Adele, S., Saks, V. A., Garlid, K. D., Dos Santos, P. (2001). Cardioprotection by ischemic preconditioning preserves mitochondrial function and functional coupling

- between adenine nucleotide translocase and creatine kinase. *J Mol Cell Cardiol*, **33**, 947-56.
- Laflamme, M. A., Murry, C. E. (2005). Regenerating the heart. *Nat Biotechnol*, **23**, 845-56.
- Lands, A. M., Arnold, A., McAuliff, J. P., Luduena, F. P., Brown, T. G., Jr. (1967). Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature*, **214**, 597-8.
- Langendorff O. (1895). Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen. *Pflügers Archiv*. **61**; 291-332.
- Laskey, W. K. (2005). Brief repetitive balloon occlusions enhance reperfusion during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: a pilot study. *Catheter Cardiovasc Interv*, **65**, 361-7.
- Lauer, B., Niederau, C., Kuhl, U., Schannwell, M., Pauschinger, M., Strauer, B. E., Schultheiss, H. P. (1997). Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis. *J Am Coll Cardiol*, **30**, 1354-9.
- Leblais, V., Pourageaud, F., Ivorra, M. D., Marthan, R., Muller, B. (2005). Comparison of the alpha-adrenoceptor-mediated effects of beta3-adrenoceptor ligands in rat pulmonary artery. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, **371**, 535-9.
- Lecour, S., Suleman, N., Deuchar, G. A., Somers, S., Lacerda, L., Huisamen, B., Opie, L. H. (2005). Pharmacological preconditioning with tumor necrosis factor-alpha activates signal transducer and activator of transcription-3 at reperfusion without involving classic prosurvival kinases (Akt and extracellular signal-regulated kinase). *Circulation*, **112**, 3911-8.
- Lee, M. S., Makkar, R. R. (2004). Stem-cell transplantation in myocardial infarction: a status report. *Ann Intern Med*, **140**, 729-37.
- Li, R. K., Shaikh, N., Weisel, R. D., Williams, W. G., Mickle, D. A. (1994). Oxyradical-induced antioxidant and lipid changes in cultured human cardiomyocytes. *Am J Physiol*, **266**, H2204-11.
- Linzbach, A. J. (1960). Heart failure from the point of view of quantitative anatomy. *Am J Cardiol*, **5**, 370-82.
- Litt, M. R., Jeremy, R. W., Weisman, H. F., Winkelstein, J. A., Becker, L. C. (1989). Neutrophil depletion limited to reperfusion reduces myocardial infarct size after 90

- minutes of ischemia. Evidence for neutrophil-mediated reperfusion injury. *Circulation*, **80**, 1816-27.
- Lochner, A., Genade, S., Tromp, E., Podzuweit, T., Moolman, J.A. (1999). Ischemic preconditioning and the beta-adrenergic signal transduction pathway. *Circulation*, **31**; 958-66.
- Lohse, M. J., Engelhardt, S., Eschenhagen, T. (2003). What is the role of beta-adrenergic signaling in heart failure? *Circ Res*, **93**, 896-906.
- Lopez-Jimenez, F., Goldman, L., Sacks, D. B., Thomas, E. J., Johnson, P. A., Cook, E. F., Lee, T. H. (1997). Prognostic value of cardiac troponin T after noncardiac surgery: 6-month follow-up data. *J Am Coll Cardiol*, **29**, 1241-5.
- Loukogeorgakis, S. P., Panagiotidou, A. T., Broadhead, M. W., Donald, A., Deanfield, J. E., MacAllister, R. J. (2005). Remote ischemic preconditioning provides early and late protection against endothelial ischemia-reperfusion injury in humans: role of the autonomic nervous system. *J Am Coll Cardiol*, **46**, 450-6.
- Ma, X., Zhang, X., Li, C., Luo, M. (2006). Effect of postconditioning on coronary blood flow velocity and endothelial function and LV recovery after myocardial infarction. *J Interv Cardiol*, **19**, 367-75.
- MacLellan, W. R., Schneider, M. D. (2000). Genetic dissection of cardiac growth control pathways. *Annu Rev Physiol*, **62**, 289-319.
- Mallem, M. Y., Toumaniantz, G., Serpillon, S., Gautier, F., Gogny, M., Desfontis, J. C., Gauthier, C. (2004). Impairment of the low-affinity state beta1-adrenoceptor-induced relaxation in spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol*, **143**, 599-605.
- Marais, E., Genade, S., Strijdom, H., Moolman, J.A., Lochner, A. (2001) p38 MAPK activation triggers pharmacologically-induced beta-adrenergic preconditioning, but not ischaemic preconditioning. *J Mol Cell Cardiol*, **33**, 2157-77.
- Martorana, P. A., Kettenbach, B., Breipohl, G., Linz, W., Scholkens, B. A. (1990). Reduction of infarct size by local angiotensin-converting enzyme inhibition is abolished by a bradykinin antagonist. *Eur J Pharmacol*, **182**, 395-6.
- Massion, P. B., Balligand, J. L. (2003). Modulation of cardiac contraction, relaxation and rate by the endothelial nitric oxide synthase (eNOS): lessons from genetically modified mice. *J Physiol*, **546**, 63-75.

- Maulik, N., Yoshida, T., Engelman, R. M., Deaton, D., Flack, J. E., 3rd, Rousou, J. A., Das, D. K. (1998). Ischemic preconditioning attenuates apoptotic cell death associated with ischemia/reperfusion. *Mol Cell Biochem*, **186**, 139-45.
- Maulik, N., Engelman, R. M., Rousou, J. A., Flack, J. E., 3rd, Deaton, D., Das, D. K. (1999). Ischemic preconditioning reduces apoptosis by upregulating anti-death gene Bcl-2. *Circulation*, **100**, II369-75.
- Mauney, M. C., Kron, I. L. (1995). The physiologic basis of warm cardioplegia. *Ann Thorac Surg*, **60**, 819-23.
- McCarthy, N. J., Evan, G. I. (1998). Methods for detecting and quantifying apoptosis. *Curr Top Dev Biol*, **36**, 259-78.
- McMullen, N. M., Pasumarthi, K. B. (2007). Donor cell transplantation for myocardial disease: does it complement current pharmacological therapies? *Can J Physiol Pharmacol*, **85**, 1-15.
- Menasche, P. (2003). Cell transplantation in myocardium. *Ann Thorac Surg*, **75**, S20-8.
- Miki, T., Liu, G. S., Cohen, M. V., Downey, J. M. (1998). Mild hypothermia reduces infarct size in the beating rabbit heart: a practical intervention for acute myocardial infarction? *Basic Res Cardiol*, **93**, 372-83.
- Misao, J., Hayakawa, Y., Ohno, M., Kato, S., Fujiwara, T., Fujiwara, H. (1996). Expression of bcl-2 protein, an inhibitor of apoptosis, and Bax, an accelerator of apoptosis, in ventricular myocytes of human hearts with myocardial infarction. *Circulation*, **94**, 1506-12.
- Mocanu, M. M., Baxter, G. F., Yellon, D. M. (2000). Caspase inhibition and limitation of myocardial infarct size: protection against lethal reperfusion injury. *Br J Pharmacol*, **130**, 197-200.
- Mocanu, M. M., Yellon, D. M. (2003). p53 down-regulation: a new molecular mechanism involved in ischaemic preconditioning. *FEBS Lett*, **555**, 302-6.
- Mohan, P., Brutsaert, D. L., Paulus, W. J., Sys, S. U. (1996). Myocardial contractile response to nitric oxide and cGMP. *Circulation*, **93**, 1223-9.
- Moniotte, S., Kobzik, L., Feron, O., Trochu, J. N., Gauthier, C., Balligand, J. L. (2001). Upregulation of beta(3)-adrenoceptors and altered contractile response to inotropic amines in human failing myocardium. *Circulation*, **103**, 1649-55.
- Morisco, C., Zebrowski, D., Condorelli, G., Tschlis, P., Vatner, S. F., Sadoshima, J. (2000). The Akt-glycogen synthase kinase 3beta pathway regulates transcription of

- atrial natriuretic factor induced by beta-adrenergic receptor stimulation in cardiac myocytes. *J Biol Chem*, **275**, 14466-75.
- Muller, C. A., Opie, L. H., McCarthy, J., Hofmann, D., Pineda, C. A., Peisach, M. (1998). Effects of mibefradil, a novel calcium channel blocking agent with T-type activity, in acute experimental myocardial ischemia: maintenance of ventricular fibrillation threshold without inotropic compromise. *J Am Coll Cardiol*, **32**, 268-74.
- Murry, C. E., Jennings, R. B., Reimer, K. A. (1986). Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, **74**, 1124-36.
- Mutch, W.J., Kulkarni, U.V., Croal, B.L., Simpson, W.G. (2001). Cardiac marker levels in hypothyroidism. *Clin Chem Suppl.* **47**; A199.
- Muzzin, P., Revelli, J. P., Kuhne, F., Gocayne, J. D., McCombie, W. R., Venter, J. C., Giacobino, J. P., Fraser, C. M. (1991). An adipose tissue-specific beta-adrenergic receptor. Molecular cloning and down-regulation in obesity. *J Biol Chem*, **266**, 24053-8.
- Nahmias, C., Blin, N., Elalouf, J. M., Mattei, M. G., Strosberg, A. D., Emorine, L. J. (1991). Molecular characterization of the mouse beta 3-adrenergic receptor: relationship with the atypical receptor of adipocytes. *Embo J*, **10**, 3721-7.
- Nakamura, M., Wang, N. P., Zhao, Z. Q., Wilcox, J. N., Thourani, V., Guyton, R. A., Vinten-Johansen, J. (2000). Preconditioning decreases Bax expression, PMN accumulation and apoptosis in reperfused rat heart. *Cardiovasc Res*, **45**, 661-70.
- Nasa, Y., Yabe, K., Takeo, S. (1997). Beta-adrenoceptor stimulation-mediated preconditioning-like cardioprotection in perfused rat hearts. *J Cardiovasc Pharmacol*, **29**, 436-43.
- Neely, J. R., Liebermeister, H., Battersby, E. J., Morgan, H. E. (1967). Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart. *Am J Physiol*, **212**, 804-14.
- Noda, K., Sasaguri, M., Ideishi, M., Ikeda, M., Arakawa, K. (1993). Role of locally formed angiotensin II and bradykinin in the reduction of myocardial infarct size in dogs. *Cardiovasc Res*, **27**, 334-40.
- Nomura, Y., Horimoto, H., Mieno, S., Nakahara, K., Okawa, H., Yoshida, M., Shinjiro, S. (2003). Repetitive preischemic infusion of phosphodiesterase III inhibitor olprinone elicits cardioprotective effects in the failing heart after myocardial infarction. *Mol Cell Biochem.* **248**; 179-84.

- Olafsson B., Forman M.B., Puett D.W., et al. (1987). Reduction of reperfusion injury in the canine preparation by intracoronary adenosine: importance of endothelium and the no-reflow phenomenon. *Circulation*, **76**; 1135-1145.
- Opie, L. H., Coetzee, W. A., Dennis, S. C., Thandroyen, F. T. (1988). A potential role of calcium ions in early ischemic and reperfusion arrhythmias. *Ann N Y Acad Sci*, **522**, 464-77.
- Oriowo, M. A. (1994). Atypical beta-adrenoceptors in the rat isolated common carotid artery. *Br J Pharmacol*, **113**, 699-702.
- Panteghini, M. (2002). Acute coronary syndrome: biochemical strategies in the troponin era. *Chest*, **122**, 1428-35.
- Panteghini, M. (2004). Role and importance of biochemical markers in clinical cardiology. *Eur Heart J*, **25**, 1187-96.
- Panteghini, M. (2006). The new definition of myocardial infarction and the impact of troponin determination on clinical practice. *Int J Cardiol*, **106**, 298-306.
- Parsa, C. J., Matsumoto, A., Kim, J., Riel, R. U., Pascal, L. S., Walton, G. B., Thompson, R. B., Petrofski, J. A., Annex, B. H., Stamler, J. S., Koch, W. J. (2003). A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart. *J Clin Invest*, **112**, 999-1007.
- Pasumarthi, K. B., Field, L. J. (2002). Cardiomyocyte cell cycle regulation. *Circ Res*, **90**, 1044-54.
- Paton, W. (1984) *Man and Mouse: animals in medical research*. Oxford:Oxford University Pres.
- Patterson, A. J., Zhu, W., Chow, A., Agrawal, R., Kosek, J., Xiao, R. P., Kobilka, B. (2004). Protecting the myocardium: a role for the beta2 adrenergic receptor in the heart. *Crit Care Med*, **32**, 1041-8.
- Pelat, M., Verwaerde, P., Galitzky, J., Lafontan, M., Berlan, M., Senard, J. M., Montastruc, J. L. (2003). High isoproterenol doses are required to activate beta3-adrenoceptor-mediated functions in dogs. *J Pharmacol Exp Ther*, **304**, 246-53.
- Penna, C., Rastaldo, R., Mancardi, D., Raimondo, S., Cappello, S., Gattullo, D., Losano, G., Pagliaro, P. (2006). Post-conditioning induced cardioprotection requires signaling through a redox-sensitive mechanism, mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel and protein kinase C activation. *Basic Res Cardiol*, **101**, 180-9.

- Pfeffer, M. A., Braunwald, E. (1990). Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. *Circulation*, **81**, 1161-72.
- Piot, C. A., Padmanaban, D., Ursell, P. C., Sievers, R. E., Wolfe, C. L. (1997). Ischemic preconditioning decreases apoptosis in rat hearts in vivo. *Circulation*, **96**, 1598-604.
- Piper, H. M., Garcia-Dorado, D., Ovize, M. (1998). A fresh look at reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, **38**, 291-300.
- Pott, C., Brixius, K., Bundkirchen, A., Bolck, B., Bloch, W., Steinritz, D., Mehlhorn, U., Schwinger, R. H. (2003). The preferential beta3-adrenoceptor agonist BRL 37344 increases force via beta1-/beta2-adrenoceptors and induces endothelial nitric oxide synthase via beta3-adrenoceptors in human atrial myocardium. *Br J Pharmacol*, **138**, 521-9.
- Przyklenk, K., Bauer, B., Ovize, M., Kloner, R. A., Whittaker, P. (1993). Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation*, **87**, 893-9.
- Puceat, M. (2008). Pharmacological approaches to regenerative strategies for the treatment of cardiovascular diseases. *Curr Opin Pharmacol*, **8**, 189-92.
- Ramzy, D., Rao, V., Weisel, R. D. (2006). Clinical applicability of preconditioning and postconditioning: the cardiothoracic surgeons's view. *Cardiovasc Res*, **70**, 174-80.
- Rautureau, Y., Toumaniantz, G., Serpillon, S., Jourdon, P., Trochu, J.N., Gauthier, C. (2002). Beta 3-adrenoceptor in rat aorta: molecular and biochemical characterization and signalling pathway. *Br J Pharmacol*. **137**, 153-61.
- Rastaldo, R., Pagliaro, P., Cappello, S., Penna, C., Mancardi, D., Westerhof, N., Losano, G. (2007). Nitric oxide and cardiac function. *Life Sci*, **81**, 779-93.
- Regula, K. M., Kirshenbaum, L. A. (2005). Apoptosis of ventricular myocytes: a means to an end. *J Mol Cell Cardiol*, **38**, 3-13.
- Reimer, K. A., Jennings, R. B. (1979). The "wavefront phenomenon" of myocardial ischemic cell death. II. Transmural progression of necrosis within the framework of ischemic bed size (myocardium at risk) and collateral flow. *Lab Invest*, **40**, 633-44.
- Remondino, A., Kwon, S.H., Communal, C., Pimentel, D.R., Sawyer, D.B., Singh, K., Colucci, W.S. (2003). Beta-adrenergic receptor-stimulated apoptosis in cardiac myocytes is mediated by reactive oxygen species/c-Jun NH2-terminal kinase-dependent activation of the mitochondrial pathway. *Circ Res*, **92**, 136-8.

- Reynolds, J. E., Li, J., Craig, R. W., Eastman, A. (1996). BCL-2 and MCL-1 expression in Chinese hamster ovary cells inhibits intracellular acidification and apoptosis induced by staurosporine. *Exp Cell Res*, **225**, 430-6.
- Rezvani, M., Barrans, J. D., Dai, K. S., Liew, C. C. (2000). Apoptosis-related genes expressed in cardiovascular development and disease: an EST approach. *Cardiovasc Res*, **45**, 621-9.
- Richard, V., Kaeffer, N., Tron, C., Thuillez, C. (1994). Ischemic preconditioning protects against coronary endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion. *Circulation*, **89**, 1254-61.
- Roberts, R., Morris, D., Pratt, C.M. ve Alexander, R.W. (1994) *Pathophysiology, recognisiton, and treatment of acute myocardial infarction and its complications*. New York, USA: McGrawHill Inc.
- Rohmann, S., Weygandt, H., Minck, K. O. (1995). Preischaeamic as well as postschaemic application of a Na^+/H^+ exchange inhibitor reduces infarct size in pigs. *Cardiovasc Res*, **30**, 945-51.
- Romson, J. L., Hook, B. G., Kunkel, S. L., Abrams, G. D., Schork, M. A. ,Lucchesi, B. R. (1983). Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation*, **67**, 1016-23.
- Rosenbaum, D. M., Rosenbaum, P. S., Gupta, H., Singh, M., Aggarwal, A., Hall, D. H., Roth, S., Kessler, J. A. (1998). The role of the p53 protein in the selective vulnerability of the inner retina to transient ischemia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **39**, 2132-9.
- Rouget, C., Breuiller-Fouché, M., Mercier, F.J., Leroy, M.J., Loustalot, C., Naline, E., Frydman, R., Croci, T., Morcillo, E.J., Advenier, C., Bardou, M. (2004). The human near-term myometrial beta 3-adrenoceptor but not the beta 2-adrenoceptor is resistant to desensitisation after sustained agonist stimulation. *Br J Pharmacol*. **141**; 831-41.
- Rouget, C., Bardou, M., Breuiller-Fouché, M., Loustalot, C., Qi, H., Naline, E., Croci, T., Cabrol, D., Advenier, C., Leroy, M.J. (2005). Beta3-adrenoceptor is the predominant beta-adrenoceptor subtype in human myometrium and its expression is up-regulated in pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*. **90**:1644-50.
- Rouget, C., Barthez, O., Goirand, F., Leroy, M.J., Breuiller-Fouché, M., Rakotoniaina, Z., Guérard, P., Morcillo, E.J., Advenier, C., Sagot, P., Cabrol, D., Dumas, M., Bardou, M. (2006). Stimulation of the ADRB3 adrenergic receptor induces

- relaxation of human placental arteries: influence of preeclampsia. *Biol Reprod.* **74**; 209-16.
- Rouleau, J. L., de Champlain, J., Klein, M., Bichet, D., Moye, L., Packer, M., Dagenais, G. R., Sussex, B., Arnold, J. M., Sestier, F., et al. (1993). Activation of neurohumoral systems in postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol*, **22**, 390-8.
- Rovetto, M. J., Lamberton, W. F., Neely, J. R. (1975). Mechanisms of glycolytic inhibition in ischemic rat hearts. *Circ Res*, **37**, 742-51.
- Rozec, B., Serpillon, S., Toumaniantz, G., Sèze, C., Rautureau, Y., Baron, O., Noireaud, J., Gauthier, C. (2005). Characterization of beta3-adrenoceptors in human internal mammary artery and putative involvement in coronary artery bypass management. *J Am Coll Cardiol.* **46**; 351-9.
- Rozec, B., Gauthier, C. (2006). Beta3-adrenoceptors in the cardiovascular system: putative roles in human pathologies. *Pharmacol Ther*, **111**, 652-73.
- Rump, A.F., Acar, D., Klaus, W. (1994). A quantitative comparison of functional and anti-ischaemic effects of the phosphodiesterase-inhibitors, amrinone, milrinone and levosimendan in rabbit isolated hearts. *Br. J. Pharmacol.* **112**; 757-762.
- Rydén, L., Sjöquist, P.O., Wang, Q.D. (2001). Pharmacological tools for the limitation of myocardial reperfusion injury. *EHJ Suppl.* **3**; C38-C35.
- Sack, S., Mohri, M., Schwarz, E. R., Arras, M., Schaper, J., Ballagi-Pordany, G., Scholz, W., Lang, H. J., Scholkens, B. A., Schaper, W. (1994). Effects of a new Na⁺/H⁺ antiporter inhibitor on postischemic reperfusion in pig heart. *J Cardiovasc Pharmacol*, **23**, 72-8.
- Sahna, E., Acet, A., Ozer, M. K., Olmez, E. (2002). Myocardial ischemia-reperfusion in rats: reduction of infarct size by either supplemental physiological or pharmacological doses of melatonin. *J Pineal Res*, **33**, 234-8.
- Sanada S., Kitakaze M., Papst P.J. et al.(2001). Cardioprotective effect afforded by transient exposure to phosphodiesterase III inhibitors: the role of protein kinase A and p38 mitogen activated protein kinase. *Circulation.***104**; 705-10.
- Santini, M. P., Tsao, L., Monassier, L., Theodoropoulos, C., Carter, J., Lara-Pezzi, E., Slonimsky, E., Salimova, E., Delafontaine, P., Song, Y. H., Bergmann, M., Freund, C., Suzuki, K., Rosenthal, N. (2007). Enhancing repair of the mammalian heart. *Circ Res*, **100**, 1732-40.

- Sato, Y., Yamada, T., Taniguchi, R., Nagai, K., Makiyama, T., Okada, H., Kataoka, K., Ito, H., Matsumori, A., Sasayama, S., Takatsu, Y. (2001). Persistently increased serum concentrations of cardiac troponin t in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy are predictive of adverse outcomes. *Circulation*, **103**, 369-74.
- Schafer, C., Ladilov, Y., Inserte, J., Schafer, M., Haffner, S., Garcia-Dorado, D., Piper, H. M. (2001). Role of the reverse mode of the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger in reoxygenation-induced cardiomyocyte injury. *Cardiovasc Res*, **51**, 241-50.
- Schomig, A. (1990). Catecholamines in myocardial ischemia. Systemic and cardiac release. *Circulation*, **82**, II13-22.
- Schultz, J. E., Rose, E., Yao, Z., Gross, G. J. (1995). Evidence for involvement of opioid receptors in ischemic preconditioning in rat hearts. *Am J Physiol*, **268**, H2157-61.
- Schwartz, L. M., Lagranha, C. J. (2006). Ischemic postconditioning during reperfusion activates Akt and ERK without protecting against lethal myocardial ischemia-reperfusion injury in pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **290**, H1011-8.
- Shen, A. C., Jennings, R. B. (1972a). Kinetics of calcium accumulation in acute myocardial ischemic injury. *Am J Pathol*, **67**, 441-52.
- Shen, A. C., Jennings, R. B. (1972b). Myocardial calcium and magnesium in acute ischemic injury. *Am J Pathol*, **67**, 417-40.
- Shen, Y. T., Cervoni, P., Claus, T., Vatner, S. F. (1996). Differences in beta 3-adrenergic receptor cardiovascular regulation in conscious primates, rats and dogs. *J Pharmacol Exp Ther*, **278**, 1435-43.
- Shimada, Y., Hearse, D. J., Avkiran, M. (1996). Impact of extracellular buffer composition on cardioprotective efficacy of Na^+/H^+ exchanger inhibitors. *Am J Physiol*, **270**, H692-700.
- Silver, P.J., Hamel, L.T., Perrone, M. H., Bentley, R.G., Bushover, C.R., Evans, D.B. (1988). Differential pharmacologic sensitivity of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes isolated from cardiac muscle, arterial and airway smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.* **150**, 85-94.
- Skeberdis, V. A. (2004). Structure and function of beta3-adrenergic receptors. *Medicina (Kaunas)*, **40**, 407-13.

- Skrzypiec-Spring, M., Grotthus, B., Szelag, A., Schulz, R. (2007). Isolated heart perfusion according to Langendorff---still viable in the new millennium. *J Pharmacol Toxicol Methods*, **55**, 113-26.
- Solenkova, N. V., Solodushko, V., Cohen, M. V., Downey, J. M. (2006). Endogenous adenosine protects preconditioned heart during early minutes of reperfusion by activating Akt. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **290**, H441-9.
- Spies, C., Haude, V., Fitzner, R., Schroder, K., Overbeck, M., Runkel, N., Schaffartzik, W. (1998). Serum cardiac troponin T as a prognostic marker in early sepsis. *Chest*, **113**, 1055-63.
- Staat, P., Rioufol, G., Piot, C., Cottin, Y., Cung, T. T., L'Huillier, I., Aupetit, J. F., Bonnefoy, E., Finet, G., Andre-Fouet, X., Ovize, M. (2005). Postconditioning the human heart. *Circulation*, **112**, 2143-8.
- Stefan, D., Friedrich, W. M. ve Mario D. (2005) *The Langendorff Heart. Practical Methods in Cardiovascular Research*. Berlin Heidelberg , Springer-Verlag
- Steinberg, S. F. (1999). The molecular basis for distinct beta-adrenergic receptor subtype actions in cardiomyocytes. *Circ Res*, **85**, 1101-11.
- Sterin-Borda, L., Bernabeo, G., Ganzinelli, S., Joensen, L., Borda, E. (2006). Role of nitric oxide/cyclic GMP and cyclic AMP in beta3 adrenoceptor-chronotropic response. *J Mol Cell Cardiol*, **40**, 580-8.
- Strosberg, A. D. (1997). Structure and function of the beta 3-adrenergic receptor. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, **37**, 421-50.
- Strosberg, A. D., Pietri-Rouxel, F. (1996). Function and regulation of the beta 3-adrenoceptor. *Trends Pharmacol Sci*, **17**, 373-81.
- Sun, K., Liu, Z. S., Sun, Q. (2004). Role of mitochondria in cell apoptosis during hepatic ischemia-reperfusion injury and protective effect of ischemic postconditioning. *World J Gastroenterol*, **10**, 1934-8.
- Sutherland, F. J., Hearse, D. J. (2000). The isolated blood and perfusion fluid perfused heart. *Pharmacol Res*, **41**, 613-27.
- Sutherland, F.J., Shattock, M.J., Baker, K.E., Hearse, D.J. (2003). Mouse isolated perfused heart: characteristics and cautions. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **30**, 867-78.

- Swain, J. L., Sabina, R. L., Hines, J. J., Greenfield, J. C., Jr., Holmes, E. W. (1984). Repetitive episodes of brief ischaemia (12 min) do not produce a cumulative depletion of high energy phosphate compounds. *Cardiovasc Res*, **18**, 264-9.
- Sybrandy, K. C., Cramer, M. J., Burgersdijk, C. (2003). Diagnosing cardiac contusion: old wisdom and new insights. *Heart*, **89**, 485-9.
- Taegtmeyer, H. (1995). One hundred years ago: Oscar Langendorff and the birth of cardiac metabolism. *Can J Cardiol*, **11**, 1030-5.
- Tagaya, E., Tamaoki, J., Takemura, H., Isono, K., Nagai, A. (1999). Atypical adrenoceptor-mediated relaxation of canine pulmonary artery through a cyclic adenosine monophosphate-dependent pathway. *Lung*, **177**, 321-32.
- Takayama, S., Furukawa, Y., Ren, L. M., Inoue, Y., Sawaki, S., Chiba, S. (1993). Positive chronotropic and inotropic responses to BRL 37344, a beta 3-adrenoceptor agonist in isolated, blood-perfused dog atria. *Eur J Pharmacol*, **231**, 315-21.
- Tang, X. L., Sato, H., Tiwari, S., Dawn, B., Bi, Q., Li, Q., Shirk, G., Bolli, R. (2006). Cardioprotection by postconditioning in conscious rats is limited to coronary occlusions <45 min. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **291**, H2308-17.
- Tavernier, G., Galitzky, J., Bousquet-Melou, A., Montastruc, J. L., Berlan, M. (1992). The positive chronotropic effect induced by BRL 37344 and CGP 12177, two beta-3 adrenergic agonists, does not involve cardiac beta adrenoceptors but baroreflex mechanisms. *J Pharmacol Exp Ther*, **263**, 1083-90.
- Trochu, J. N., Leblais, V., Rautureau, Y., Beverelli, F., Le Marec, H., Berdeaux, A., Gauthier, C. (1999). Beta 3-adrenoceptor stimulation induces vasorelaxation mediated essentially by endothelium-derived nitric oxide in rat thoracic aorta. *Br J Pharmacol*, **128**, 69-76.
- Tsang, A., Hausenloy, D. J., Mocanu, M. M., Yellon, D. M. (2004). Postconditioning: a form of "modified reperfusion" protects the myocardium by activating the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway. *Circ Res*, **95**, 230-2.
- Tsang, A., Hausenloy, D. J., Yellon, D. M. (2005a). Myocardial postconditioning: reperfusion injury revisited. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **289**, H2-7.
- Tsang, A., Hausenloy, D. J., Mocanu, M. M., Carr, R. D., Yellon, D. M. (2005b). Preconditioning the diabetic heart: the importance of Akt phosphorylation. *Diabetes*, **54**, 2360-4.

- Umansky, S. R., Shapiro, J. P., Cuenco, G. M., Foehr, M. W., Bathurst, I. C., Tomei, L. D. (1997). Prevention of rat neonatal cardiomyocyte apoptosis induced by simulated in vitro ischemia and reperfusion. *Cell Death Differ*, **4**, 608-16.
- Valen, G., Vaage, J. (2005). Pre- and postconditioning during cardiac surgery. *Basic Res Cardiol*, **100**, 179-86.
- van Heerde, W. L., Robert-Offerman, S., Dumont, E., Hofstra, L., Doevendans, P. A., Smits, J. F., Daemen, M. J., Reutelingsperger, C. P. (2000). Markers of apoptosis in cardiovascular tissues: focus on Annexin V. *Cardiovasc Res*, **45**, 549-59.
- van Rooij, E., Olson, E. N. (2007). MicroRNAs: powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic targets. *J Clin Invest*, **117**, 2369-76.
- Vanden Hoek, T., Becker, L. B., Shao, Z. H., Li, C. Q., Schumacker, P. T. (2000). Preconditioning in cardiomyocytes protects by attenuating oxidant stress at reperfusion. *Circ Res*, **86**, 541-8.
- Vatner, S. F., Patrick, T. A., Knight, D. R., Manders, W. T., Fallon, J. T. (1988). Effects of calcium channel blocker on responses of blood flow, function, arrhythmias, and extent of infarction following reperfusion in conscious baboons. *Circ Res*, **62**, 105-15.
- Vila-Petroff, M. G., Younes, A., Egan, J., Lakatta, E. G., Sollott, S. J. (1999). Activation of distinct cAMP-dependent and cGMP-dependent pathways by nitric oxide in cardiac myocytes. *Circ Res*, **84**, 1020-31.
- Vincent, K. A., Jiang, C., Boltje, I., Kelly, R. A. (2007). Gene therapy progress and prospects: therapeutic angiogenesis for ischemic cardiovascular disease. *Gene Ther*, **14**, 781-9.
- Vinten-Johansen, J., Zhao, Z. Q., Zatta, A. J., Kin, H., Halkos, M. E., Kerendi, F. (2005). Postconditioning--A new link in nature's armor against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Basic Res Cardiol*, **100**, 295-310.
- Vinten-Johansen, J. (2007). Postconditioning: a mechanical maneuver that triggers biological and molecular cardioprotective responses to reperfusion. *Heart Fail Rev*, **12**, 235-44.
- Vinten-Johansen, J., Zhao, Z. Q., Jiang, R., Zatta, A. J., Dobson, G. P. (2007). Preconditioning and postconditioning: innate cardioprotection from ischemia-reperfusion injury. *J Appl Physiol*, **103**, 1441-8.

- Walker, D. M., Walker, J. M., Pugsley, W. B., Pattison, C. W., Yellon, D. M. (1995). Preconditioning in isolated superfused human muscle. *J Mol Cell Cardiol*, **27**, 1349-57.
- Wall, T. M., Sheehy, R., Hartman, J. C. (1994). Role of bradykinin in myocardial preconditioning. *J Pharmacol Exp Ther*, **270**, 681-9.
- Walsh, M.P., Kargacin, G.J., Kendrick-Jones, J., Lincoln, T.M. (1995) .Intracellular mechanisms involved in the regulation of vascular smooth muscle tone. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **73**; 565–573.
- Wang, H. C., Zhang, H. F., Guo, W. Y., Su, H., Zhang, K. R., Li, Q. X., Yan, W., Ma, X. L., Lopez, B. L., Christopher, T. A., Gao, F. (2006). Hypoxic postconditioning enhances the survival and inhibits apoptosis of cardiomyocytes following reoxygenation: role of peroxynitrite formation. *Apoptosis*, **11**, 1453-60.
- Wang, L., Cherednichenko, G., Hernandez, L., Halow, J., Camacho, S. A., Figueredo, V., Schaefer, S. (2001). Preconditioning limits mitochondrial Ca(2+) during ischemia in rat hearts: role of K(ATP) channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **280**, H2321-8.
- Wang, Q. D., Pernow, J., Sjoquist, P. O., Ryden, L. (2002). Pharmacological possibilities for protection against myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, **55**, 25-37.
- Wang, W., Zhu, W., Wang, S., Yang, D., Crow, M. T., Xiao, R. P., Cheng, H. (2004). Sustained beta1-adrenergic stimulation modulates cardiac contractility by Ca²⁺/calmodulin kinase signaling pathway. *Circ Res*, **95**, 798-806.
- Weir, R. A., McMurray, J. J., Velazquez, E. J. (2006). Epidemiology of heart failure and left ventricular systolic dysfunction after acute myocardial infarction: prevalence, clinical characteristics, and prognostic importance. *Am J Cardiol*, **97**, 13F-25F.
- Westlin, W., Mullane, K. (1988). Does captopril attenuate reperfusion-induced myocardial dysfunction by scavenging free radicals? *Circulation*, **77**, 130-9.
- Wheeldon, N. M., McDevitt, D. G., Lipworth, B. J. (1993). Investigation of putative cardiac beta 3-adrenoceptors in man. *Q J Med*, **86**, 255-61.
- Wheeldon, N. M., McDevitt, D. G., Lipworth, B. J. (1994). Cardiac effects of the beta 3-adrenoceptor agonist BRL35135 in man. *Br J Clin Pharmacol*, **37**, 363-9.

- White, H. D., Norris, R. M., Brown, M. A., Brandt, P. W., Whitlock, R. M., Wild, C. J. (1987). Left ventricular end-systolic volume as the major determinant of survival after recovery from myocardial infarction. *Circulation*, **76**, 44-51.
- Willmott, N., Sethi, J. K., Walseth, T. F., Lee, H. C., White, A. M., Galione, A. (1996). Nitric oxide-induced mobilization of intracellular calcium via the cyclic ADP-ribose signaling pathway. *J Biol Chem*, **271**, 3699-705.
- Wright, D.G., Lefer, D.J. (2005). Statin mediated protection of the ischemic myocardium. *Vascul Pharmacol*.**42**; 265-70.
- Xiao, R. P., Cheng, H., Zhou, Y. Y., Kuschel, M., Lakatta, E. G. (1999). Recent advances in cardiac beta(2)-adrenergic signal transduction. *Circ Res*, **85**, 1092-100.
- Xiao, R. P., Zhu, W., Zheng, M., Chakir, K., Bond, R., Lakatta, E. G., Cheng, H. (2004). Subtype-specific beta-adrenoceptor signaling pathways in the heart and their potential clinical implications. *Trends Pharmacol Sci*, **25**, 358-65.
- Xue, Y. X., Aye, N. N., Hashimoto, K. (1996). Antiarrhythmic effects of HOE642, a novel Na(+)-H+ exchange inhibitor, on ventricular arrhythmias in animal hearts. *Eur J Pharmacol*, **317**, 309-16.
- Yabe, K., Ishishita, H., Tanonaka, K., Takeo, S. (1998). Pharmacologic preconditioning induced by beta-adrenergic stimulation is mediated by activation of protein kinase C. *J Cardiovasc Pharmacol*, **32**, 962-8.
- Yamazaki, K., Miwa, S., Ueda, K., Tanaka, S., Toyokuni, S., Unimonh, O., Nishimura, K., Komeda, M. (2004). Prevention of myocardial reperfusion injury by poly(ADP-ribose) synthetase inhibitor, 3-aminobenzamide, in cardioplegic solution: in vitro study of isolated rat heart model. *Eur J Cardiothorac Surg*, **26**, 270-5.
- Yang, J., Liu, X., Bhalla, K., Kim, C. N., Ibrado, A. M., Cai, J., Peng, T. I., Jones, D. P., Wang, X. (1997). Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science*, **275**, 1129-32.
- Yang, X. M., Baxter, G. F., Heads, R. J., Yellon, D. M., Downey, J. M., Cohen, M. V. (1996). Infarct limitation of the second window of protection in a conscious rabbit model. *Cardiovasc Res*, **31**, 777-83.
- Yang, X. M., Proctor, J. B., Cui, L., Krieg, T., Downey, J. M., Cohen, M. V. (2004). Multiple, brief coronary occlusions during early reperfusion protect rabbit hearts by targeting cell signaling pathways. *J Am Coll Cardiol*, **44**, 1103-10.

- Yang, X. M., Philipp, S., Downey, J. M., Cohen, M. V. (2005). Postconditioning's protection is not dependent on circulating blood factors or cells but involves adenosine receptors and requires PI3-kinase and guanylyl cyclase activation. *Basic Res Cardiol*, **100**, 57-63.
- Yang, X. M., Philipp, S., Downey, J. M., Cohen, M. V. (2006). Atrial natriuretic peptide administered just prior to reperfusion limits infarction in rabbit hearts. *Basic Res Cardiol*, **101**, 311-8.
- Yasutake, M., Ibuki, C., Hearse, D. J., Avkiran, M. (1994). Na⁺/H⁺ exchange and reperfusion arrhythmias: protection by intracoronary infusion of a novel inhibitor. *Am J Physiol*, **267**, H2430-40.
- Yates L, Mardon H.L., Broadley K.J. (2003). Preconditioning against myocardial stunning by beta-adrenoceptor stimulation with isoprenaline. *Auton. Autocoid. Pharmacol.*, **23**; 227-273.
- Yellon, D. M., Baxter, G. F. (1999). Reperfusion injury revisited: is there a role for growth factor signaling in limiting lethal reperfusion injury? *Trends Cardiovasc Med*, **9**, 245-9.
- Yellon, D. M., Downey, J. M. (2003). Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev*, **83**, 1113-51.
- Yellon, D. M., Opie, L. H. (2006). Postconditioning for protection of the infarcting heart. *Lancet*, **367**, 456-8.
- Yoshiyama, M., Kim, S., Yamagishi, H., Omura, T., Tani, T., Yanagi, S., Toda, I., Teragaki, M., Akioka, K., Takeuchi, K., et al. (1994). Cardioprotective effect of the angiotensin II type 1 receptor antagonist TCV-116 on ischemia-reperfusion injury. *Am Heart J*, **128**, 1-6.
- Zatta, A. J., Kin, H., Lee, G., Wang, N., Jiang, R., Lust, R., Reeves, J. G., Mykytenko, J., Guyton, R. A., Zhao, Z. Q., Vinten-Johansen, J. (2006). Infarct-sparing effect of myocardial postconditioning is dependent on protein kinase C signalling. *Cardiovasc Res*, **70**, 315-24.
- Zhang, Z. S., Cheng, H. J., Onishi, K., Ohte, N., Wannenburg, T., Cheng, C. P. (2005). Enhanced inhibition of L-type Ca²⁺ current by beta3-adrenergic stimulation in failing rat heart. *J Pharmacol Exp Ther*, **315**, 1203-11.

- Zhao, Z. Q., Nakamura, M., Wang, N. P., Wilcox, J. N., Shearer, S., Ronson, R. S., Guyton, R. A., Vinten-Johansen, J. (2000). Reperfusion induces myocardial apoptotic cell death. *Cardiovasc Res*, **45**, 651-60.
- Zhao, Z.Q., Morris, C.D., Budde, J.M. et al. (2001). Inhibition of apoptosis with aurinticarboxylic acid reduces extension of infarction and improves regional contractile dysfunction during reperfusion. *Circ. Suppl.* **104**; II11.
- Zhao, Z.Q., Vinten-Johansen, J. (2002). Myocardial apoptosis and ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res*, **55**, 438-55.
- Zhao, Z. Q., Morris, C. D., Budde, J. M., Wang, N. P., Muraki, S., Sun, H. Y., Guyton, R. A. (2003a). Inhibition of myocardial apoptosis reduces infarct size and improves regional contractile dysfunction during reperfusion. *Cardiovasc Res*, **59**, 132-42.
- Zhao, Z. Q., Corvera, J. S., Halkos, M. E., Kerendi, F., Wang, N. P., Guyton, R. A., Vinten-Johansen, J. (2003b). Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **285**, H579-88.
- Zhu, W.Z., Zheng, M., Koch, W.J., Lefkowitz, R.J., Kobilka, B.K., Xiao, R.P. (2001). Dual modulation of cell survival and cell death by beta(2)-adrenergic signaling in adult mouse cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**, 1607-12.
- Zhu, W.Z., Wang, S.Q., Chakir, K., Yang, D., Zhang, T., Brown, J.H., Devic, E., Kobilka, B.K., Cheng, H., Xiao, R.P. (2003). Linkage of beta1-adrenergic stimulation to apoptotic heart cell death through protein kinase A-independent activation of Ca²⁺/calmodulin kinase II. *J Clin Invest*, **111**, 617-25.
- Zimmer, H. G. (1998). The Isolated Perfused Heart and Its Pioneers. *News Physiol Sci*, **13**, 203-210.
- Zimmer, H. G. (1999). The contributions of Carl Ludwig to cardiology. *Can J Cardiol*, **15**, 323-9.
- Zimmer, H. G. (2000). Modifications of the isolated frog heart preparation in Carl Ludwig's Leipzig Physiological Institute: relevance for cardiovascular research. *Can J Cardiol*, **16**, 61-9.
- Zweier, J. L., Flaherty, J. T., Weisfeldt, M. L. (1987). Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **84**, 1404-7.

HAM VERİLER

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç, ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi.

SOL VENTRİK ÜL BASINCI (mmHg)						
	Kontrol	BRL37344 (10^{-9} M)	BRL37344 (10^{-6} M)	BRL 37344 (10^{-7} M)	BRL 37344 (10^{-6} M)	n
Perfüzyon						
20'	146,61 ± 4,33	151,81 ± 6,02	144,41 ± 8,19	149,48 ± 8,08	131,06 ± 5,41	6-9
30'	148,90 ± 3,63	155,68 ± 2,71	148,48 ± 7,91	170,32 ± 5,36	176,20 ± 7,74	6-9
Reperfüzyon						
10'	23,66 ± 8,28	29,87 ± 7,99	13,44 ± 1,81	46,28 ± 8,03	57,07 ± 8,97	6-9
20'	28,29 ± 9,06	46,87 ± 9,09	29,95 ± 4,71	69,46 ± 10,35	88,76 ± 7,19	6-9
30'	43,45 ± 8,86	64,04 ± 11,2	39,12 ± 6,32	89,01 ± 11,58	102,96 ± 4,12	6-9
40'	55,85 ± 8,51	72,86 ± 10,48	56,32 ± 7,57	90,84 ± 8,87	106,59 ± 4,19	6-9
50'	64,99 ± 6,01	78,12 ± 9,63	65,10 ± 6,78	89,36 ± 7,60	104,06 ± 5,24	6-9
60'	67,84 ± 5,06	79,40 ± 10,25	66,92 ± 6,07	88,25 ± 5,33	102,15 ± 6,23	6-9

DİYASTOLİK BASINÇ (mmHg)						
	Kontrol	BRL37344 (10^{-9} M)	BRL37344 (10^{-6} M)	BRL 37344 (10^{-7} M)	BRL 37344 (10^{-6} M)	n
Perfüzyon						
20'	6,29 ± 0,56	5,97 ± 0,68	6,01 ± 0,92	6,87 ± 0,42	6,50 ± 0,37	6-9
30'	5,69 ± 0,43	4,41 ± 0,43	4,61 ± 0,80	5,45 ± 0,32	4,12 ± 0,31	6-9
Reperfüzyon						
10'	85,81 ± 5,6	77,15 ± 8,02	80,61 ± 4,10	65,95 ± 8,12	57,90 ± 6,73	6-9
20'	74,65 ± 5,11	63,60 ± 7,76	68,13 ± 5,04	49,69 ± 7,70	42,61 ± 6,09	6-9
30'	66,30 ± 5,29	54,72 ± 8,12	59,23 ± 5,54	40,25 ± 7,24	34,81 ± 5,06	6-9
40'	60,69 ± 4,92	50,78 ± 7,86	55,43 ± 5,68	37,86 ± 6,64	31,77 ± 4,57	6-9
50'	56,58 ± 4,32	49,81 ± 7,49	52,78 ± 5,83	36,48 ± 5,89	31,42 ± 4,40	6-9
60'	55,06 ± 3,84	49,12 ± 7,29	52,20 ± 5,85	36,50 ± 5,81	31,45 ± 4,66	6-9

SİSTOLİK BASINÇ (mmHg)						
	Kontrol	BRL37344 10^{-9} M	BRL37344 10^{-6} M	BRL 37344 10^{-7} M	BRL 37344 10^{-6} M	n
Perfüzyon						
20'	152,90 ± 4,39	157,78 ± 6,60	150,42 ± 8,84	156,36 ± 8,20	140,19 ± 5,54	6-9
30'	154,59 ± 3,59	160,09 ± 2,95	153,09 ± 8,29	175,77 ± 5,47	183,01 ± 6,41	6-9
Reperfüzyon						
10'	109,47 ± 4,28	107,03 ± 5,59	94,05 ± 3,86	112,23 ± 4,95	104,45 ± 4,05	6-9
20'	102,94 ± 4,93	110,47 ± 4,13	95,08 ± 4,23	119,15 ± 6,61	118,39 ± 6,22	6-9
30'	109,75 ± 4,13	118,75 ± 3,93	98,35 ± 6,31	129,26 ± 7,96	125,45 ± 5,10	6-9
40'	116,54 ± 4,01	123,64 ± 4,20	111,75 ± 5,88	128,70 ± 6,13	128,49 ± 4,90	6-9
50'	121,57 ± 2,63	127,93 ± 3,16	117,87 ± 6,14	125,84 ± 5,15	127,24 ± 5,43	6-9
60'	122,90 ± 2,51	128,52 ± 5,94	119,12 ± 6,39	124,75 ± 3,56	126,08 ± 5,85	6-9

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanmasının $+dp/dt_{maks}$ ve $-dp/dt_{min}$ parametreleri üzerine etkisi.

$+dp/dt_{maks}$ (mmHg.s ⁻¹)						
	Kontrol 1	BRL37344 (10^{-9} M)	BRL37344 (10^{-8} M)	BRL37344 (10^{-7} M)	BRL37344 (10^{-6} M)	n
Perfüzyon						
20'	4947,43 ± 264,06	4019,01 ± 122,05	4434,11 ± 469,25	4100,68 ± 295,38	3546,75 ± 158,63	6-9
30'	5231,44 ± 224,28	4216,72 ± 127,97	4898,40 ± 329,18	4946,03 ± 283,93	6332,53 ± 354,12	6-9
Reperfüzyon						
10'	742,06 ± 191,67	974,79 ± 133,94	518,85 ± 27,87	1163,19 ± 165,67	1290,55 ± 240,65	6-9
20'	916,22 ± 255,37	1365,68 ± 251,51	880,83 ± 124,90	1889,86 ± 297,57	2079,60 ± 285,01	6-9
30'	1383,61 ± 311,80	1727,53 ± 313,90	1197,63 ± 97,61	2614,17 ± 392,98	2663,86 ± 255,58	6-9
40'	1809,76 ± 333,27	2144,55 ± 345,77	1650,84 ± 210,54	2820,00 ± 376,66	2939,64 ± 232,34	6-9
50'	2229,52 ± 297,85	2442,61 ± 351,72	2013,00 ± 246,48	2891,20 ± 277,21	2967,83 ± 199,80	6-9
60'	2409,92 ± 242,74	2475,58 ± 346,27	2149,58 ± 252,83	2871,42 ± 239,57	2983,96 ± 195,33	6-9

$-dp/dt_{min}$ (mmHg.s ⁻¹)						
	Kontrol 1	BRL37344 (10^{-9} M)	BRL37344 (10^{-8} M)	BRL37344 (10^{-7} M)	BRL37344 (10^{-6} M)	n
Perfüzyon						
20'	2544,13 ± 120,87	2461,53 ± 66,58	2676,78 ± 133,55	2576,79 ± 104,54	2348,11 ± 94,42	6-9
30'	2586,20 ± 117,83	2505,23 ± 84,02	2810,07 ± 110,14	3098,79 ± 95,81	4072,79 ± 227,46	6-9
Reperfüzyon						
10'	605,66 ± 178,08	782,74 ± 117,01	423,53 ± 30,60	905,08 ± 159,43	969,60 ± 164,97	6-9
20'	677,10 ± 176,84	1000,63 ± 154,45	624,91 ± 95,03	1263,26 ± 210,59	1463,16 ± 177,69	6-9
30'	935,74 ± 185,89	1278,40 ± 247,40	834,31 ± 107,29	1655,56 ± 247,91	1768,71 ± 164,63	6-9
40'	1112,37 ± 164,98	1439,16 ± 248,37	1101,06 ± 123,46	1733,11 ± 209,07	1946,05 ± 192,83	6-9
50'	1290,21 ± 141,00	1521,04 ± 204,35	1259,47 ± 112,70	1699,18 ± 171,25	1895,10 ± 168,93	6-9
60'	1317,42 ± 107,90	1546,14 ± 178,50	1263,01 ± 94,89	1646,03 ± 134,19	1876,84 ± 173,97	6-9

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç-hız çarpımı parametreleri üzerine etkisi.

KALP ATIM HIZI (atım/dak)						
	Kontroll	BRL37344 (10^{-9} M)	BRL37344 (10^{-6} M)	BRL37344 (10^{-7} M)	BRL37344 (10^{-6} M)	n
Perfüzyon						
20'	281,36 ± 20,91	253,68 ± 19,52	279,36 ± 8,22	259,04 ± 8,07	263,71 ± 16,13	6-9
30'	273,59 ± 19,46	245,17 ± 10,15	281,51 ± 7,79	275,64 ± 10,16	337,26 ± 14,20	6-9
Reperfüzyon						
10'	249,02 ± 22,77	235,22 ± 24,52	271,39 ± 8,62	251,45 ± 21,71	271,29 ± 10,83	6-9
20'	256,33 ± 22,56	263,93 ± 14,17	280,17 ± 8,88	246,14 ± 25,71	265,80 ± 14,19	6-9
30'	264,68 ± 21,15	259,92 ± 10,55	278,75 ± 15,94	261,22 ± 16,44	281,36 ± 13,41	6-9
40'	263,43 ± 17,87	256,99 ± 7,28	285,66 ± 18,08	267,18 ± 17,39	282,03 ± 13,93	6-9
50'	272,57 ± 17,43	254,10 ± 7,36	283,31 ± 17,46	289,37 ± 23,11	277,55 ± 15,36	6-9
60'	273,98 ± 21,28	259,55 ± 14,04	279,08 ± 17,71	273,03 ± 34,27	272,62 ± 14,64	6-9

BASINÇ-HIZ ÇARPIMI (l/1000, mmHg x atım.dak ⁻¹)						
	Kontroll	BRL37344 (10^{-9} M)	BRL37344 (10^{-6} M)	BRL37344 (10^{-7} M)	BRL37344 (10^{-6} M)	n
Perfüzyon						
20'	409,03 ± 26,42	380,73 ± 19,82	404,00 ± 27,41	385,29 ± 17,64	342,77 ± 19,01	6-9
30'	403,96 ± 24,04	381,00 ± 14,29	418,98 ± 28,37	467,11 ± 11,34	594,92 ± 32,88	6-9
Reperfüzyon						
10'	53,52 ± 15,74	75,70 ± 23,01	35,92 ± 3,89	121,01 ± 23,16	150,89 ± 24,81	6-9
20'	67,15 ± 17,53	128,81 ± 30,48	74,81 ± 12,49	178,88 ± 35,73	237,57 ± 25,08	6-9
30'	110,37 ± 20,21	171,13 ± 35,14	105,85 ± 15,08	238,86 ± 37,95	286,46 ± 17,78	6-9
40'	141,74 ± 19,47	190,34 ± 32,01	156,90 ± 18,66	250,12 ± 35,44	297,67 ± 19,70	6-9
50'	173,75 ± 16,25	200,91 ± 29,30	181,81 ± 18,44	255,96 ± 24,46	283,60 ± 16,27	6-9
60'	181,36 ± 13,24	209,25 ± 33,65	183,98 ± 15,43	238,85 ± 28,17	274,70 ± 13,99	6-9

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi

KORONER AKIM (ml/dak)						
	Kontroll	BRL37344 (10^{-9} M)	BRL37344 (10^{-5} M)	BRL37344 (10^{-7} M)	BRL37344 (10^{-6} M)	n
Perfüzyon						
20'	12,71 ± 0,76	10,35 ± 0,61	12,76 ± 0,40	11,54 ± 0,70	9,97 ± 0,76	6-9
30'	12,32 ± 0,81	10,04 ± 0,39	12,87 ± 0,70	14,63 ± 1,28	17,32 ± 1,39	6-9
Reperfüzyon						
10'	14,24 ± 0,93	11,74 ± 0,91	13,58 ± 0,60	15,43 ± 0,63	14,19 ± 0,90	6-9
20'	11,85 ± 0,93	10,02 ± 0,67	11,54 ± 0,75	12,42 ± 0,39	11,73 ± 0,67	6-9
30'	10,90 ± 0,82	9,19 ± 0,59	10,68 ± 0,63	11,32 ± 0,41	11,03 ± 0,83	6-9
40'	9,91 ± 0,72	8,43 ± 0,57	9,57 ± 0,52	10,37 ± 0,40	10,46 ± 0,87	6-9
50'	8,97 ± 0,55	7,66 ± 0,54	8,92 ± 0,55	9,44 ± 0,34	9,24 ± 0,69	6-9
60'	8,28 ± 0,54	7,17 ± 0,50	8,38 ± 0,52	8,54 ± 0,28	8,54 ± 0,63	6-9

KORONER VASKÜLER REZİSTANS (mmHg / ml.dak ⁻¹)						
	Kontroll	BRL37344 (10^{-9} M)	BRL37344 (10^{-5} M)	BRL37344 (10^{-7} M)	BRL37344 (10^{-6} M)	n
Perfüzyon						
20'	6,77 ± 0,43	7,69 ± 0,49	6,27 ± 0,17	7,08 ± 0,39	8,38 ± 0,66	6-9
30'	7,04 ± 0,50	7,93 ± 0,33	6,30 ± 0,33	5,75 ± 0,51	4,98 ± 0,59	6-9
Reperfüzyon						
10'	6,02 ± 0,32	6,86 ± 0,58	5,93 ± 0,31	5,22 ± 0,21	5,84 ± 0,47	6-9
20'	7,34 ± 0,51	7,99 ± 0,60	7,06 ± 0,46	6,46 ± 0,21	7,00 ± 0,49	6-9
30'	7,94 ± 0,52	8,70 ± 0,61	7,57 ± 0,49	7,10 ± 0,25	7,65 ± 0,68	6-9
40'	8,71 ± 0,54	9,52 ± 0,70	8,61 ± 0,49	7,76 ± 0,29	8,11 ± 0,76	6-9
50'	9,55 ± 0,57	10,46 ± 0,80	9,15 ± 0,62	8,50 ± 0,28	9,06 ± 0,74	6-9
60'	10,40 ± 0,69	11,19 ± 0,86	9,71 ± 0,66	9,39 ± 0,30	9,77 ± 0,74	6-9

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanmasının Kreatin kinaz ve Troponin-I düzeyleri üzerine etkisi

KREATİN KİNAZ (U/L)						
	Kontrol I	BRL37344 (10^{-9} M)	BRL37344 (10^{-5} M)	BRL37344 (10^{-7} M)	BRL37344 (10^{-6} M)	n
Perfüzyon						
20'	17,63 ± 1,95	20,00 ± 3,15	20,00 ± 2,65	17,20 ± 3,06	15,20 ± 3,44	6-9
30'	12,00 ± 1,38	14,60 ± 2,54	10,33 ± 2,85	10,60 ± 2,69	7,20 ± 0,49	6-9
Reperfüzyon						
1	40,71 ± 7,36	46,40 ± 14,12	49,00 ± 7,02	33,40 ± 7,49	29,80 ± 5,19	6-9
10'	115,00 ± 11,99	82,40 ± 15,83	116,33 ± 7,22	77,20 ± 8,87	61,80 ± 4,62	6-9
20'	147,50 ± 18,63	106,00 ± 10,77	125,67 ± 0,88	92,40 ± 7,81	75,20 ± 6,11	6-9
30'	151,75 ± 17,89	113,00 ± 12,72	127,33 ± 10,17	95,60 ± 11,56	75,60 ± 10,21	6-9
40'	151,25 ± 17,46	139,40 ± 21,18	136,33 ± 21,37	97,20 ± 10,92	70,20 ± 16,29	6-9
50'	169,13 ± 19,54	169,40 ± 26,58	158,00 ± 31,07	105,60 ± 17,41	82,60 ± 19,58	6-9
60'	189,50 ± 22,82	200,80 ± 30,91	175,00 ± 39,00	115,20 ± 19,17	84,00 ± 21,81	6-9

TROPONİN-I (ng/ml)						
	Kontrol I	BRL37344 (10^{-9} M)	BRL37344 (10^{-5} M)	BRL37344 (10^{-7} M)	BRL37344 (10^{-6} M)	n
Perfüzyon						
20'	0,81 ± 0,03	0,88 ± 0,08	0,87 ± 0,09	0,85 ± 0,07	0,86 ± 0,04	6-9
30'	0,79 ± 0,04	0,76 ± 0,06	0,78 ± 0,08	0,71 ± 0,02	0,76 ± 0,01	6-9
Reperfüzyon						
1	2,98 ± 0,12	3,01 ± 0,18	3,14 ± 0,36	2,44 ± 0,44	2,35 ± 0,22	6-9
10'	4,13 ± 0,36	4,18 ± 0,41	3,94 ± 0,39	3,15 ± 0,33	3,00 ± 0,24	6-9
20'	6,47 ± 0,51	7,10 ± 1,52	6,77 ± 1,24	4,22 ± 0,57	4,17 ± 0,97	6-9
30'	7,71 ± 0,55	8,73 ± 1,65	8,48 ± 1,43	5,28 ± 0,65	4,17 ± 0,96	6-9
40'	9,73 ± 0,67	10,53 ± 1,59	8,92 ± 1,60	5,79 ± 1,28	4,44 ± 0,81	6-9
50'	13,50 ± 1,21	12,06 ± 1,44	13,13 ± 2,10	6,36 ± 1,22	4,82 ± 0,99	6-9
60'	14,57 ± 1,54	13,23 ± 1,52	14,70 ± 3,06	7,36 ± 1,17	5,02 ± 0,81	6-9

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 10^{-6} M, BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M ve BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M + Nadolol 10^{-5} M uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi

SOL VENTRİKÜL BASINCI (mmHg)						
	Kontrol 1	Kontrol 2	BRL37344 (10^{-6} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M) + Nadolol (10^{-5} M)	n
Perfüzyon						
20'	146,61 ± 4,33	138,06 ± 6,62	131,06 ± 5,41	139,03 ± 8,18	141,05 ± 7,10	6-9
30'	148,90 ± 3,63	136,22 ± 9,75	176,20 ± 7,74	143,79 ± 5,78	147,36 ± 7,16	6-9
Reperfüzyon						
10'	23,66 ± 8,28	22,92 ± 10,82	57,07 ± 8,97	32,22 ± 11,75	30,81 ± 9,38	6-9
20'	28,29 ± 9,06	37,68 ± 13,57	88,76 ± 7,19	64,05 ± 10,12	52,75 ± 9,02	6-9
30'	43,45 ± 8,86	49,67 ± 14,79	102,96 ± 4,12	84,00 ± 7,23	66,34 ± 9,56	6-9
40'	55,85 ± 8,51	57,05 ± 14,18	106,59 ± 4,19	99,66 ± 4,36	72,08 ± 8,94	6-9
50'	64,99 ± 6,01	58,62 ± 13,24	104,06 ± 5,24	104,68 ± 3,12	76,02 ± 7,87	6-9
60'	67,84 ± 5,06	57,22 ± 12,78	102,15 ± 6,23	104,36 ± 2,85	75,20 ± 7,88	6-9

DİYASTOLİK BASINÇ (mmHg)						
	Kontrol 1	Kontrol 2	BRL37344 (10^{-6} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M) + Nadolol (10^{-5} M)	n
Perfüzyon						
20'	6,29 ± 0,56	6,20 ± 0,74	6,50 ± 0,37	5,64 ± 0,28	6,61 ± 0,51	6-9
30'	5,69 ± 0,43	6,72 ± 1,39	4,12 ± 0,31	5,39 ± 0,53	8,24 ± 0,48	6-9
Reperfüzyon						
10'	85,81 ± 5,6	79,03 ± 7,59	57,90 ± 6,73	54,49 ± 4,92	78,32 ± 6,91	6-9
20'	74,65 ± 5,11	69,15 ± 7,15	42,61 ± 6,09	35,94 ± 4,51	64,37 ± 6,26	6-9
30'	66,30 ± 5,29	62,94 ± 7,24	34,81 ± 5,06	25,69 ± 3,75	58,40 ± 5,81	6-9
40'	60,69 ± 4,92	59,38 ± 6,58	31,77 ± 4,57	21,18 ± 3,73	55,69 ± 5,56	6-9
50'	56,58 ± 4,32	57,80 ± 6,02	31,42 ± 4,40	19,76 ± 4,02	54,59 ± 5,53	6-9
60'	55,06 ± 3,84	57,83 ± 6,03	31,45 ± 4,66	19,77 ± 4,15	54,92 ± 6,05	6-9

SİSTOLİK BASINÇ (mmHg)						
	Kontrol 1	Kontrol 2	BRL37344 (10^{-6} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M) + Nadolol (10^{-5} M)	n
Perfüzyon						
20'	152,90 ± 4,39	144,26 ± 6,15	140,19 ± 5,54	144,67 ± 8,22	147,65 ± 7,21	6-9
30'	154,59 ± 3,59	142,94 ± 8,81	183,01 ± 6,41	149,19 ± 5,60	155,60 ± 7,54	6-9
Reperfüzyon						
10'	109,47 ± 4,28	101,96 ± 5,12	104,45 ± 4,05	86,71 ± 7,93	109,13 ± 6,79	6-9
20'	102,94 ± 4,93	106,83 ± 7,99	118,39 ± 6,22	99,99 ± 7,94	117,12 ± 3,42	6-9
30'	109,75 ± 4,13	112,61 ± 9,51	125,45 ± 5,10	109,68 ± 7,59	124,74 ± 3,95	6-9
40'	116,54 ± 4,01	116,43 ± 9,27	128,49 ± 4,90	120,84 ± 5,48	127,77 ± 3,75	6-9
50'	121,57 ± 2,63	116,42 ± 8,48	127,24 ± 5,43	124,44 ± 4,75	130,61 ± 2,65	6-9
60'	122,90 ± 2,51	115,04 ± 7,73	126,08 ± 5,85	124,13 ± 4,64	130,11 ± 2,47	6-9

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 10^{-6} M, BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M ve BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M + Nadolol 10^{-5} M uygulanmasının +dp/dt_{maks} ve -dp/dt_{min} parametreleri üzerine etkisi

+dp/dt_{maks} (mmHg.s⁻¹)						
	Kontrol 1	Kontrol 2	BRL37344 (10^{-6}M)	BRL 37344 (10^{-6}M) + SR59230A (10^{-5}M)	BRL 37344 (10^{-6}M) + SR59230A (10^{-5}M) + Nadolol (10^{-5}M)	n
Perfüzyon						
20'	4947,43 ± 264,06	4501,49 ± 100,93	3546,75 ± 158,63	4857,51 ± 260,29	4206,94 ± 169,97	6-9
30'	5231,44 ± 224,28	4705,76 ± 199,18	6332,53 ± 354,12	5280,19 ± 200,22	4641,19 ± 197,57	6-9
Reperfüzyon						
10'	742,06 ± 191,67	784,34 ± 160,53	1290,55 ± 240,65	983,15 ± 320,80	787,5 ± 211,17	6-9
20'	916,22 ± 255,37	1190,94 ± 304,83	2079,60 ± 285,01	1774,03 ± 359,70	1388,22 ± 229,11	6-9
30'	1383,61 ± 311,80	1702,81 ± 440,79	2663,86 ± 255,58	2612,90 ± 276,32	1838,75 ± 270,55	6-9
40'	1809,76 ± 333,27	2102,86 ± 419,79	2939,64 ± 232,34	3380,61 ± 187,58	2090,32 ± 296,82	6-9
50'	2229,52 ± 297,85	2216,07 ± 376,52	2967,83 ± 199,80	3719,83 ± 193,42	2245,46 ± 267,01	6-9
60'	2409,92 ± 242,74	2191,86 ± 345,07	2983,96 ± 195,33	3795,99 ± 186,76	2210,31 ± 255,57	6-9

-dp/dt_{min} (mmHg.s⁻¹)						
	Kontrol 1	Kontrol 2	BRL37344 (10^{-6}M)	BRL 37344 (10^{-6}M) + SR59230A (10^{-5}M)	BRL 37344 (10^{-6}M) + SR59230A (10^{-5}M) + Nadolol (10^{-5}M)	n
Perfüzyon						
20'	2544,13 ± 120,87	2755,52 ± 122,55	2348,11 ± 94,42	2687,27 ± 158,38	2572,43 ± 43,04	6-9
30'	2586,20 ± 117,83	2796,39 ± 82,12	4072,79 ± 227,46	3126,69 ± 121,29	2747,70 ± 78,13	6-9
Reperfüzyon						
10'	605,66 ± 178,08	693,84 ± 176,20	969,60 ± 164,97	753,27 ± 229,49	681,35 ± 168,09	6-9
20'	677,10 ± 176,84	886,95 ± 200,47	1463,16 ± 177,69	1258,21 ± 215,23	1057,06 ± 165,37	6-9
30'	935,74 ± 185,89	1114,23 ± 256,48	1768,71 ± 164,63	1664,27 ± 160,72	1291,52 ± 181,48	6-9
40'	1112,37 ± 164,98	1268,24 ± 237,47	1946,05 ± 192,83	1955,49 ± 107,77	1384,71 ± 171,51	6-9
50'	1290,21 ± 141,00	1391,81 ± 246,90	1895,10 ± 168,93	2067,97 ± 91,26	1407,48 ± 147,10	6-9
60'	1317,42 ± 107,90	1328,86 ± 225,93	1876,84 ± 173,97	2032,32 ± 82,99	1347,17 ± 132,12	6-9

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 10^{-6} M, BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M ve BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M + Nadolol 10^{-5} M uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç-hız çarpımı parametreleri üzerine etkisi

KALP ATIM HIZI (atım/dak)						
	Kontrol 1	Kontrol 2	BRL37344 10^{-6} M	BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M	BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M + Nadolol 10^{-5} M	n
Perfüzyon						
20'	281,36 ± 20,91	305,96 ± 9,08	263,71 ± 16,13	292,94 ± 8,38	257,63 ± 13,37	6-9
30'	273,59 ± 19,46	318,46 ± 11,51	337,26 ± 14,20	311,68 ± 12,76	257,67 ± 11,98	6-9
Reperfüzyon						
10'	249,02 ± 22,77	292,69 ± 24,30	271,29 ± 10,83	287,27 ± 13,88	213,44 ± 14,39	6-9
20'	256,33 ± 22,56	297,15 ± 25,18	265,80 ± 14,19	259,60 ± 15,92	223,28 ± 12,02	6-9
30'	264,68 ± 21,15	298,91 ± 26,79	281,36 ± 13,41	258,45 ± 14,99	230,02 ± 9,45	6-9
40'	263,43 ± 17,87	302,68 ± 23,08	282,03 ± 13,93	259,41 ± 14,07	233,95 ± 7,74	6-9
50'	272,57 ± 17,43	303,42 ± 25,15	277,55 ± 15,35	258,46 ± 14,62	229,17 ± 8,53	6-9
60'	273,98 ± 21,28	295,81 ± 23,00	272,62 ± 14,64	254,89 ± 14,57	218,89 ± 7,32	6-9

BASINÇ-HIZ ÇARPANI (1/1000, mmHg x atım.dak ⁻¹)						
	Kontrol 1	Kontrol 2	BRL37344 (10^{-6} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M) + Nadolol (10^{-5} M)	n
Perfüzyon						
20'	409,03 ± 26,42	423,58 ± 17,01	342,77 ± 19,01	404,30 ± 18,34	359,77 ± 11,84	6-9
30'	403,96 ± 24,04	426,49 ± 27,73	594,92 ± 32,88	446,65 ± 21,06	378,24 ± 20,06	6-9
Reperfüzyon						
10'	53,52 ± 15,74	68,98 ± 35,16	150,89 ± 24,81	89,16 ± 31,45	67,04 ± 20,55	6-9
20'	67,15 ± 17,53	113,23 ± 41,20	237,57 ± 25,08	162,51 ± 22,65	121,92 ± 24,13	6-9
30'	110,37 ± 20,21	151,88 ± 45,01	286,46 ± 17,78	213,93 ± 15,56	155,94 ± 26,29	6-9
40'	141,74 ± 19,47	178,74 ± 42,81	297,67 ± 19,70	257,57 ± 14,75	171,30 ± 25,06	6-9
50'	173,75 ± 16,25	186,23 ± 41,38	283,60 ± 16,27	270,53 ± 16,94	176,05 ± 22,26	6-9
60'	181,36 ± 13,24	177,99 ± 39,99	274,70 ± 13,99	265,91 ± 16,42	166,22 ± 20,61	6-9

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 10^{-6} M, BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M ve BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M + Nadolol 10^{-5} M uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi

KORONER AKIM (ml/dak)						
	Kontrol 1	Kontrol 2	BRL37344 (10^{-6} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M) + Nadolol (10^{-5} M)	n
Perfüzyon						
20'	12,71 ± 0,76	12,10 ± 0,32	9,97 ± 0,76	10,96 ± 0,46	8,83 ± 0,41	6-9
30'	12,32 ± 0,81	12,77 ± 0,92	17,32 ± 1,39	12,94 ± 0,43	10,02 ± 0,48	6-9
Reperfüzyon						
10'	14,24 ± 0,93	12,56 ± 0,30	14,19 ± 0,90	12,76 ± 1,04	9,13 ± 0,88	6-9
20'	11,85 ± 0,93	10,27 ± 0,26	11,73 ± 0,67	9,72 ± 0,36	7,63 ± 0,76	6-9
30'	10,90 ± 0,82	9,70 ± 0,28	11,03 ± 0,83	9,08 ± 0,41	6,9 ± 0,62	6-9
40'	9,91 ± 0,72	9,04 ± 0,39	10,46 ± 0,87	8,51 ± 0,47	5,87 ± 0,55	6-9
50'	8,97 ± 0,55	8,42 ± 0,48	9,24 ± 0,69	8,13 ± 0,52	5,32 ± 0,55	6-9
60'	8,28 ± 0,54	7,75 ± 0,60	8,54 ± 0,63	7,76 ± 0,51	4,96 ± 0,46	6-9

KORONER VASKÜLER REZİSTANS (mmHg / ml.dak ⁻¹)						
	Kontrol 1	Kontrol 2	BRL37344 (10^{-6} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M) + Nadolol (10^{-5} M)	n
Perfüzyon						
20'	6,77 ± 0,43	6,36 ± 0,17	8,38 ± 0,66	7,30 ± 0,34	9,21 ± 0,43	6-9
30'	7,04 ± 0,50	6,29 ± 0,45	4,98 ± 0,59	6,15 ± 0,23	7,99 ± 0,33	6-9
Reperfüzyon						
10'	6,02 ± 0,32	6,22 ± 0,11	5,84 ± 0,47	6,41 ± 0,45	9,25 ± 0,86	6-9
20'	7,34 ± 0,51	7,48 ± 0,23	7,00 ± 0,49	8,20 ± 0,39	10,94 ± 1,01	6-9
30'	7,94 ± 0,52	7,93 ± 0,27	7,65 ± 0,68	8,83 ± 0,49	12,18 ± 1,01	6-9
40'	8,71 ± 0,54	8,55 ± 0,40	8,11 ± 0,76	9,49 ± 0,65	14,22 ± 1,31	6-9
50'	9,55 ± 0,57	9,24 ± 0,56	9,06 ± 0,74	9,99 ± 0,78	16,21 ± 1,63	6-9
60'	10,40 ± 0,69	10,17 ± 0,79	9,77 ± 0,74	10,49 ± 0,84	17,24 ± 1,71	6-9

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10dak. süreyle BRL37344 10^{-6} M, BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M ve BRL37344 10^{-6} M + SR59230A 10^{-5} M + Nadolol 10^{-5} M uygulanmasının kreatin kinaz ve Troponin-I düzeyleri üzerine etkisi

KREATİN KİNAZ (U/L)						
	Kontroll 1	Kontroll 2	BRL37344 (10^{-6} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M) + Nadolol 10^{-5} M	n
Perfüzyon						
20'	17,63 ± 1,95	18,20 ± 2,78	15,20 ± 3,44	17,43 ± 1,56	21,40 ± 1,57	6-9
30'	12,00 ± 1,38	14,20 ± 2,60	7,20 ± 0,49	10,86 ± 1,26	14,20 ± 0,66	6-9
Reperfüzyon						
1	40,71 ± 7,36	45,00 ± 8,03	29,80 ± 5,19	57,14 ± 8,75	50,60 ± 5,71	6-9
10'	115,00 ± 11,99	114,00 ± 21,90	61,80 ± 4,62	103,14 ± 10,66	133,60 ± 17,41	6-9
20'	147,50 ± 18,63	132,20 ± 17,83	75,20 ± 6,11	114,14 ± 13,91	160,20 ± 19,46	6-9
30'	151,75 ± 17,89	136,40 ± 15,94	75,60 ± 10,21	112,29 ± 21,66	176,20 ± 23,20	6-9
40'	151,25 ± 17,46	142,80 ± 20,68	70,20 ± 16,29	99,29 ± 19,82	192,80 ± 27,27	6-9
50'	169,13 ± 19,54	184,40 ± 29,51	82,60 ± 19,58	91,57 ± 17,51	199,20 ± 24,90	6-9
60'	189,50 ± 22,82	185,20 ± 30,55	84,00 ± 21,81	78,57 ± 16,10	195,00 ± 15,61	6-9

TROPONİN-I (ng/ml)						
	Kontroll 1	Kontroll 2	BRL37344 (10^{-6} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M)	BRL37344 (10^{-6} M) + SR59230A (10^{-5} M) + Nadolol 10^{-5} M	n
Perfüzyon						
20'	0,81 ± 0,03	0,90 ± 0,11	0,86 ± 0,04	1,00 ± 0,19	1,03 ± 0,14	6-9
30'	0,79 ± 0,04	0,82 ± 0,07	0,76 ± 0,01	0,72 ± 0,15	0,90 ± 0,05	6-9
Reperfüzyon						
1	2,98 ± 0,12	2,39 ± 0,40	2,35 ± 0,22	2,35 ± 0,31	3,00 ± 0,44	6-9
10'	4,13 ± 0,36	3,31 ± 0,47	3,00 ± 0,24	5,65 ± 1,10	3,87 ± 0,45	6-9
20'	6,47 ± 0,51	6,17 ± 0,58	4,17 ± 0,97	6,87 ± 0,64	7,67 ± 0,80	6-9
30'	7,71 ± 0,55	7,74 ± 0,89	4,17 ± 0,97	7,48 ± 1,10	9,55 ± 1,24	6-9
40'	9,73 ± 0,67	8,92 ± 1,09	4,44 ± 0,81	7,26 ± 1,43	10,79 ± 1,39	6-9
50'	13,50 ± 1,21	12,48 ± 2,23	4,82 ± 0,99	7,14 ± 1,38	13,34 ± 2,15	6-9
60'	14,57 ± 1,54	13,53 ± 2,88	5,02 ± 0,81	6,03 ± 1,16	13,14 ± 1,89	6-9

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 10^{-8} M ve BRL37344 10^{-8} M + nadolol (10^{-5} M) uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi.

SOL VENTRİKÜL BASINCI (mmHg)				
	Kontroll	BRL 37344 (10^{-8}M)	BRL 37344 (10^{-8}M) + Nadolol (10^{-5}M)	n
Perfüzyon				
20'	146,61 ± 4,33	144,41 ± 8,19	149,80 ± 6,13	6-9
30'	148,90 ± 3,63	148,48 ± 7,91	145,08 ± 4,85	6-9
Reperfüzyon				
10'	23,66 ± 8,28	13,44 ± 1,81	17,31 ± 5,60	6-9
20'	28,29 ± 9,06	29,95 ± 4,71	38,73 ± 11,16	6-9
30'	43,45 ± 8,86	39,12 ± 6,32	55,33 ± 8,08	6-9
40'	55,85 ± 8,51	56,32 ± 7,57	69,16 ± 5,67	6-9
50'	64,99 ± 6,01	65,10 ± 6,78	78,24 ± 7,07	6-9
60'	67,84 ± 5,06	66,92 ± 6,07	76,32 ± 6,58	6-9

DİYASTOLİK BASINÇ (mmHg)				
	Kontroll	BRL 37344 (10^{-8}M)	BRL 37344 (10^{-8}M) + Nadolol (10^{-5}M)	n
Perfüzyon				
20'	6,29 ± 0,56	6,01 ± 0,92	5,42 ± 0,15	6-9
30'	5,69 ± 0,43	4,61 ± 0,80	4,19 ± 0,48	6-9
Reperfüzyon				
10'	85,81 ± 5,6	80,61 ± 4,10	73,03 ± 5,05	6-9
20'	74,65 ± 5,11	68,13 ± 5,04	62,38 ± 5,79	6-9
30'	66,30 ± 5,29	59,23 ± 5,54	50,19 ± 4,40	6-9
40'	60,69 ± 4,92	55,43 ± 5,68	47,45 ± 3,52	6-9
50'	56,58 ± 4,32	52,78 ± 5,83	47,24 ± 3,36	6-9
60'	55,06 ± 3,84	52,20 ± 5,85	47,96 ± 3,46	6-9

SİSTOLİK BASINÇ (mmHg)				
	Kontroll	BRL 37344 (10^{-8}M)	BRL 37344 (10^{-8}M) + Nadolol (10^{-5}M)	n
Perfüzyon				
20'	152,90 ± 4,39	150,42 ± 8,84	155,22 ± 6,11	6-9
30'	154,59 ± 3,59	153,09 ± 8,29	149,27 ± 4,96	6-9
Reperfüzyon				
10'	109,47 ± 4,28	94,05 ± 3,86	90,33 ± 3,14	6-9
20'	102,94 ± 4,93	95,08 ± 4,23	101,11 ± 6,13	6-9
30'	109,75 ± 4,13	98,35 ± 6,31	105,52 ± 5,93	6-9
40'	116,54 ± 4,01	111,75 ± 5,88	116,6 ± 5,23	6-9
50'	121,57 ± 2,63	117,87 ± 6,14	125,48 ± 7,45	6-9
60'	122,90 ± 2,51	119,12 ± 6,39	124,29 ± 7,03	6-9

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 10^{-8} M ve BRL37344 10^{-8} M + nadolol (10^{-5} M) uygulanmasının $+dp/dt_{maks}$ ve $-dp/dt_{min}$ parametreleri üzerine etkisi.

	$+dp/dt_{maks}$ (mmHg.s ⁻¹)			n
	Kontroll	BRL37344 (10^{-8} M)	BRL37344 (10^{-8} M) + Nadolol (10^{-5} M)	
Perfüzyon				
20'	4947,43 ± 264,06	4434,11 ± 469,25	4682,80 ± 206,72	6-9
30'	5231,44 ± 224,28	4898,40 ± 329,18	4844,27 ± 220,90	6-9
Reperfüzyon				
10'	742,06 ± 191,67	518,85 ± 27,87	582,25 ± 117,90	6-9
20'	916,22 ± 255,37	880,83 ± 124,90	1111,69 ± 213,20	6-9
30'	1383,61 ± 311,80	1197,63 ± 97,61	1508,78 ± 320,87	6-9
40'	1809,76 ± 333,27	1650,84 ± 210,54	2073,34 ± 371,67	6-9
50'	2229,52 ± 297,85	2013,00 ± 246,48	2698,84 ± 102,42	6-9
60'	2409,92 ± 242,74	2149,58 ± 252,83	2670,38 ± 104,56	6-9

	$-dp/dt_{min}$ (mmHg.s ⁻¹)			n
	Kontroll	BRL37344 (10^{-8} M)	BRL37344 (10^{-8} M) + Nadolol (10^{-5} M)	
Perfüzyon				
20'	2544,13 ± 120,87	2676,78 ± 133,55	2851,56 ± 105,35	6-9
30'	2586,20 ± 117,83	2810,07 ± 110,14	2807,70 ± 141,29	6-9
Reperfüzyon				
10'	605,66 ± 178,08	423,53 ± 30,60	530,83 ± 116,84	6-9
20'	677,10 ± 176,84	624,91 ± 95,03	939,75 ± 179,72	6-9
30'	935,74 ± 185,89	834,31 ± 107,29	1169,63 ± 148,01	6-9
40'	1112,37 ± 164,98	1101,06 ± 123,46	11426,03 ± 77,68	6-9
50'	1290,21 ± 141,00	1259,47 ± 112,70	1568,02 ± 46,93	6-9
60'	1317,42 ± 107,90	1263,01 ± 94,89	1521,69 ± 43,76	6-9

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 10^{-8} M ve BRL37344 10^{-8} M + nadolol (10^{-5} M) uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpını parametreleri üzerine etkisi

KALP ATIM HIZI (atım/dak)				
	Kontroll	BRL37344 (10^{-8}M)	BRL37344 (10^{-8}M) + Nadolol (10^{-5}M)	n
Perfüzyon				
20'	281,36 ± 20,91	279,36 ± 8,22	271,98 ± 22,66	6-9
30'	273,59 ± 19,46	281,51 ± 7,79	269,05 ± 24,32	6-9
Reperfüzyon				
10'	249,02 ± 22,77	271,39 ± 8,62	268,22 ± 24,30	6-9
20'	256,33 ± 22,56	280,17 ± 8,88	263,39 ± 21,82	6-9
30'	264,68 ± 21,15	278,75 ± 15,94	257,13 ± 18,99	6-9
40'	263,43 ± 17,87	285,66 ± 18,08	262,75 ± 22,98	6-9
50'	272,57 ± 17,43	283,31 ± 17,46	272,40 ± 21,78	6-9
60'	273,98 ± 21,28	279,08 ± 17,71	272,20 ± 21,90	6-9

Basınç-hız çarpını (l/1000, mmHg x atım.dak⁻¹)				
	Kontroll	BRL37344 (10^{-8}M)	BRL37344 (10^{-8}M) + Nadolol (10^{-5}M)	n
Perfüzyon				
20'	409,03 ± 26,42	404,00 ± 27,41	404,68 ± 26,72	6-9
30'	403,96 ± 24,04	418,98 ± 28,37	387,98 ± 28,54	6-9
Reperfüzyon				
10'	53,52 ± 15,74	35,92 ± 3,89	48,51 ± 19,79	6-9
20'	67,15 ± 17,53	74,81 ± 12,49	105,80 ± 38,01	6-9
30'	110,37 ± 20,21	105,85 ± 15,08	142,22 ± 23,39	6-9
40'	141,74 ± 19,47	156,90 ± 18,66	180,75 ± 17,46	6-9
50'	173,75 ± 16,25	181,81 ± 18,44	208,94 ± 7,17	6-9
60'	181,36 ± 13,24	183,98 ± 15,43	204,15 ± 9,28	6-9

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 10^{-8} M ve BRL37344 10^{-8} M + nadolol 10^{-5} M uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi

KORONER AKIM (ml/dak)				
	Kontroll	BRL37344 (10^{-8} M)	BRL37344 (10^{-8} M) + Nadolol (10^{-5} M)	n
Perfüzyon				
20'	12,71 ± 0,76	12,76 ± 0,40	11,10 ± 0,53	6-9
30'	12,32 ± 0,81	12,87 ± 0,70	11,09 ± 0,59	6-9
Reperfüzyon				
10'	14,24 ± 0,93	13,58 ± 0,60	12,11 ± 0,98	6-9
20'	11,85 ± 0,93	11,54 ± 0,75	10,38 ± 0,98	6-9
30'	10,90 ± 0,82	10,68 ± 0,63	9,21 ± 1,06	6-9
40'	9,91 ± 0,72	9,57 ± 0,52	8,38 ± 1,07	6-9
50'	8,97 ± 0,55	8,92 ± 0,55	7,75 ± 1,11	6-9
60'	8,28 ± 0,54	8,38 ± 0,52	7,29 ± 1,19	6-9

KORONER VASKÜLER REZİSTANS (mmHg / ml.dak ⁻¹)				
	Kontroll	BRL37344 (10^{-8} M)	BRL37344 (10^{-8} M) + Nadolol (10^{-5} M)	n
Perfüzyon				
20'	6,77 ± 0,43	6,27 ± 0,17	7,09 ± 0,43	6-9
30'	7,04 ± 0,50	6,30 ± 0,33	7,10 ± 0,45	6-9
Reperfüzyon				
10'	6,02 ± 0,32	5,93 ± 0,31	6,59 ± 0,63	6-9
20'	7,34 ± 0,51	7,06 ± 0,46	7,73 ± 0,80	6-9
30'	7,94 ± 0,52	7,57 ± 0,49	8,82 ± 1,03	6-9
40'	8,71 ± 0,54	8,61 ± 0,49	9,74 ± 1,18	6-9
50'	9,55 ± 0,57	9,15 ± 0,62	10,63 ± 1,36	6-9
60'	10,40 ± 0,69	9,71 ± 0,66	11,47 ± 1,59	6-9

İzole sıçan kalbine iskemi öncesi 10 dak. süreyle BRL37344 10^{-8} M ve BRL37344 10^{-8} M + nadolol 10^{-5} M uygulanmasının kreatinin kinaz ve troponin-I düzeylerine etkisi.

KREATİN KİNAZ (U/L)				
	Kontroll	BRL37344 (10^{-8} M)	BRL37344 (10^{-8} M) + Nadolol (10^{-5} M)	n
Perfüzyon				
20'	17,63 ± 1,95	20,00 ± 2,65	23,67 ± 8,04	6-9
30'	12,00 ± 1,38	10,33 ± 2,85	10,67 ± 1,23	6-9
Reperfüzyon				
1	40,71 ± 7,36	49,00 ± 7,02	54,00 ± 10,83	6-9
10'	115,00 ± 11,99	116,33 ± 7,22	106,17 ± 11,96	6-9
20'	147,50 ± 18,63	125,67 ± 0,88	122,33 ± 16,87	6-9
30'	151,75 ± 17,89	127,33 ± 10,17	156,00 ± 23,45	6-9
40'	151,25 ± 17,46	136,33 ± 21,37	163,50 ± 31,78	6-9
50'	169,13 ± 19,54	158,00 ± 31,07	161,50 ± 33,29	6-9
60'	189,50 ± 22,82	175,00 ± 39,00	161,17 ± 34,45	6-9

TROPONİN-I (ng/ml)				
	Kontroll	BRL37344 (10^{-8} M)	BRL37344 (10^{-8} M) + Nadolol (10^{-5} M)	n
Perfüzyon				
20'	0,81 ± 0,03	0,87 ± 0,09	1,03 ± 0,13	6-9
30'	0,79 ± 0,04	0,78 ± 0,08	0,89 ± 0,09	6-9
Reperfüzyon				
1	2,98 ± 0,12	3,14 ± 0,36	2,47 ± 0,56	6-9
10'	4,13 ± 0,36	3,94 ± 0,39	5,30 ± 0,60	6-9
20'	6,47 ± 0,51	6,77 ± 1,24	7,77 ± 1,16	6-9
30'	7,71 ± 0,55	8,48 ± 1,43	10,54 ± 1,45	6-9
40'	9,73 ± 0,67	8,92 ± 1,60	12,58 ± 1,83	6-9
50'	13,50 ± 1,21	13,13 ± 2,10	14,40 ± 2,69	6-9
60'	14,57 ± 1,54	14,70 ± 3,06	15,58 ± 3,23	6-9

İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 10^{-8} M ve BRL37344 10^{-6} M uygulanmasının sol ventrikül basıncı, diyastolik basınç ve sistolik basınç parametreleri üzerine etkisi

SOL VENTRİKÜL BASINCI (mmHg)				
	Kontroll	BRL 37344(10^{-8}M) rep	BRL37344(10^{-6}M) rep	n
Perfüzyon				
20'	146,61 ± 4,33	133,40 ± 6,57	165,67 ± 4,33	6-9
30'	148,90 ± 3,63	133,17 ± 7,32	171,31 ± 4,74	6-9
Reperfüzyon				
10'	23,66 ± 8,28	28,65 ± 5,29	30,16 ± 6,27	6-9
20'	28,29 ± 9,06	36,77 ± 6,07	38,64 ± 9,58	6-9
30'	43,45 ± 8,86	53,30 ± 9,50	52,42 ± 11,35	6-9
40'	55,85 ± 8,51	60,87 ± 10,88	79,58 ± 12,15	6-9
50'	64,99 ± 6,01	61,31 ± 10,22	86,48 ± 10,65	6-9
60'	67,84 ± 5,06	61,88 ± 9,09	89,01 ± 9,11	6-9

DİYASTOLİK BASINÇ (mmHg)				
	Kontroll	BRL 37344(10^{-8}M) rep	BRL37344(10^{-6}M) rep	n
Perfüzyon				
20'	6,29 ± 0,56	4,87 ± 0,45	5,49 ± 0,29	6-9
30'	5,69 ± 0,43	5,27 ± 0,42	4,95 ± 0,36	6-9
Reperfüzyon				
10'	85,81 ± 5,6	87,38 ± 5,97	85,82 ± 5,06	6-9
20'	74,65 ± 5,11	73,44 ± 6,73	73,92 ± 5,84	6-9
30'	66,30 ± 5,29	64,84 ± 6,96	65,56 ± 6,78	6-9
40'	60,69 ± 4,92	61,38 ± 7,08	56,97 ± 7,43	6-9
50'	56,58 ± 4,32	59,21 ± 6,85	54,23 ± 7,11	6-9
60'	55,06 ± 3,84	57,84 ± 7,84	52,33 ± 7,01	6-9

SİSTOLİK BASINÇ (mmHg)				
	Kontroll	BRL 37344(10^{-8}M) rep	BRL37344(10^{-6}M) rep	n
Perfüzyon				
20'	152,90 ± 4,39	138,28 ± 6,58	171,16 ± 4,30	6-9
30'	154,59 ± 3,59	138,44 ± 7,59	176,26 ± 4,59	6-9
Reperfüzyon				
10'	109,47 ± 4,28	116,02 ± 6,99	115,98 ± 6,95	6-9
20'	102,94 ± 4,93	110,21 ± 6,20	112,56 ± 7,36	6-9
30'	109,75 ± 4,13	118,14 ± 7,15	117,99 ± 7,99	6-9
40'	116,54 ± 4,01	122,25 ± 7,94	136,54 ± 7,19	6-9
50'	121,57 ± 2,63	120,51 ± 7,28	140,70 ± 6,52	6-9
60'	122,90 ± 2,51	119,72 ± 6,80	141,34 ± 6,10	6-9

İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 10^{-8} M ve BRL37344 10^{-6} M uygulanmasının $+dp/dt_{maks}$ ve $-dp/dt_{min}$ parametreleri üzerine etkisi

$+dp/dt_{maks}$ (mmHg.s ⁻¹)				
	Kontrol I	BRL37344(10^{-8} M) rep	BRL37344(10^{-6} M) rep	n
Perfüzyon				
20'	4947,43 ± 264,06	3154,72 ± 238,86	4421,04 ± 259,82	6-9
30'	5231,44 ± 224,28	3194,24 ± 210,53	4768,53 ± 244,04	6-9
Reperfüzyon				
10'	742,06 ± 191,67	786,80 ± 83,12	1024,93 ± 180,84	6-9
20'	916,22 ± 255,37	980,43 ± 118,43	1167,49 ± 246,38	6-9
30'	1383,61 ± 311,80	1389,00 ± 181,68	1423,54 ± 271,59	6-9
40'	1809,76 ± 333,27	1571,20 ± 217,61	2354,36 ± 398,19	6-9
50'	2229,52 ± 297,85	1608,35 ± 204,05	2609,72 ± 357,17	6-9
60'	2409,92 ± 242,74	1627,39 ± 202,78	2731,07 ± 332,37	6-9

$-dp/dt_{min}$ (mmHg.s ⁻¹)				
	Kontrol I	BRL37344(10^{-8} M) rep	BRL37344(10^{-6} M) rep	n
Perfüzyon				
20'	2544,13 ± 120,87	2132,91 ± 84,45	2591,02 ± 164,21	6-9
30'	2586,20 ± 117,83	2060,63 ± 84,09	2644,33 ± 133,43	6-9
Reperfüzyon				
10'	605,66 ± 178,08	655,02 ± 80,60	704,96 ± 86,07	6-9
20'	677,10 ± 176,84	793,23 ± 96,88	831,76 ± 170,11	6-9
30'	935,74 ± 185,89	1065,39 ± 153,35	993,91 ± 171,50	6-9
40'	1112,37 ± 164,98	1167,94 ± 168,75	1453,24 ± 229,08	6-9
50'	1290,21 ± 141,00	1147,19 ± 147,92	1506,62 ± 191,62	6-9
60'	1317,42 ± 107,90	1001,05 ± 222,65	1530,20 ± 171,15	6-9

İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 10^{-8} M ve BRL37344 10^{-6} M uygulanmasının kalp atım hızı ve basınç hız çarpımı parametreleri üzerine etkisi

KALP ATIM HIZI (atım/dak)				
	Kontrol 1	BRL37344(10^{-6} M) rep	BRL37344(10^{-8} M) rep	n
Perfüzyon				
20'	281,36 ± 20,91	255,43 ± 17,25	256,09 ± 5,78	6-9
30'	273,59 ± 19,46	247,33 ± 16,89	248,48 ± 7,16	6-9
Reperfüzyon				
10'	249,02 ± 22,77	228,04 ± 27,25	273,81 ± 17,82	6-9
20'	256,33 ± 22,56	237,11 ± 27,80	271,99 ± 14,14	6-9
30'	264,68 ± 21,15	224,54 ± 27,11	264,29 ± 15,23	6-9
40'	263,43 ± 17,87	221,14 ± 22,16	248,17 ± 15,04	6-9
50'	272,57 ± 17,43	228,02 ± 20,82	238,76 ± 13,57	6-9
60'	273,98 ± 21,28	231,40 ± 10,83	231,58 ± 10,68	6-9

BASINÇ-HIZ ÇARPANI (1/1000, mmHg x atım.dak ⁻¹)				
	Kontrol 1	BRL37344(10^{-6} M) rep	BRL37344(10^{-8} M) rep	n
Perfüzyon				
20'	409,03 ± 26,42	336,54 ± 15,02	423,71 ± 11,64	6-9
30'	403,96 ± 24,04	324,42 ± 13,23	424,96 ± 13,46	6-9
Reperfüzyon				
10'	53,52 ± 15,74	62,32 ± 9,53	83,20 ± 18,35	6-9
20'	67,15 ± 17,53	86,50 ± 17,86	107,89 ± 26,73	6-9
30'	110,37 ± 20,21	117,01 ± 24,91	131,12 ± 23,76	6-9
40'	141,74 ± 19,47	131,36 ± 25,22	193,63 ± 29,19	6-9
50'	173,75 ± 16,25	137,83 ± 25,42	202,54 ± 22,98	6-9
60'	181,36 ± 13,24	144,36 ± 23,53	203,87 ± 19,61	6-9

İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 10^{-8} M ve BRL37344 10^{-6} M uygulanmasının koroner akım ve koroner vasküler rezistans parametreleri üzerine etkisi

Koroner Akım (ml/dak)				
	Kontroll	BRL37344(10^{-8} M) rep	BRL37344(10^{-6} M) rep	n
Perfüzyon				
20'	12,71 ± 0,76	8,91 ± 1,10	10,35 ± 0,82	6-9
30'	12,32 ± 0,81	7,95 ± 0,76	10,28 ± 0,69	6-9
Reperfüzyon				
10'	14,24 ± 0,93	11,07 ± 0,96	11,28 ± 0,97	6-9
20'	11,85 ± 0,93	8,39 ± 0,78	10,05 ± 1,02	6-9
30'	10,90 ± 0,82	7,04 ± 0,81	8,05 ± 0,57	6-9
40'	9,91 ± 0,72	6,30 ± 0,70	6,96 ± 0,50	6-9
50'	8,97 ± 0,55	5,79 ± 0,76	6,58 ± 0,54	6-9
60'	8,28 ± 0,54	5,36 ± 0,61	6,15 ± 0,49	6-9

Koroner vasküler Rezistans (mmHg / ml.dak ³)				
	Kontroll	BRL37344(10^{-8} M) rep	BRL37344(10^{-6} M) rep	n
Perfüzyon				
20'	6,77 ± 0,43	9,45 ± 0,82	7,84 ± 0,52	6-9
30'	7,04 ± 0,50	10,41 ± 0,72	7,83 ± 0,45	6-9
Reperfüzyon				
10'	6,02 ± 0,32	7,59 ± 0,55	7,68 ± 0,81	6-9
20'	7,34 ± 0,51	10,10 ± 0,91	8,40 ± 0,91	6-9
30'	7,94 ± 0,52	12,15 ± 1,28	10,53 ± 0,81	6-9
40'	8,71 ± 0,54	13,78 ± 1,27	11,63 ± 0,82	6-9
50'	9,55 ± 0,57	14,83 ± 1,47	12,38 ± 0,98	6-9
60'	10,40 ± 0,69	15,91 ± 1,57	13,23 ± 1,03	6-9

İzole sıçan kalbine reperfüzyonun ilk 20 dakikası boyunca BRL37344 10^{-8} M ve BRL37344 10^{-6} M uygulanmasının kreatinin kinaz ve troponin-I düzeylerine etkisi

Kreatin Kinaz (U/L)				
	Kontrol 1	BRL37344(10^{-8} M) rep	BRL 37344(10^{-6} M) rep	n
Perfüzyon				
20'	17,63 ± 1,95	19,75 ± 4,05	15,00 ± 1,22	6-9
30'	12,00 ± 1,38	16,75 ± 5,12	9,75 ± 1,11	6-9
Reperfüzyon				
1	40,71 ± 7,36	52,25 ± 4,75	33,50 ± 7,01	6-9
10'	115,00 ± 11,99	126,50 ± 23,05	120,75 ± 16,72	6-9
20'	147,50 ± 18,63	131,50 ± 17,04	122,50 ± 15,89	6-9
30'	151,75 ± 17,89	156,50 ± 15,91	131,75 ± 15,43	6-9
40'	151,25 ± 17,46	170,50 ± 23,27	159,50 ± 6,36	6-9
50'	169,13 ± 19,54	187,75 ± 30,89	160,00 ± 9,11	6-9
60'	189,50 ± 22,82	203,75 ± 37,01	158,75 ± 14,15	6-9

Troponin-I (ng/ml)				
	Kontrol 1	BRL37344(10^{-8} M) rep	BRL 37344(10^{-6} M) rep	n
Perfüzyon				
20'	0,81 ± 0,03	0,90 ± 0,28	0,71 ± 0,11	6-9
30'	0,79 ± 0,04	0,67 ± 0,13	0,67 ± 0,08	6-9
Reperfüzyon				
1	2,98 ± 0,12	1,98 ± 0,53	2,29 ± 0,39	6-9
10'	4,13 ± 0,36	3,63 ± 0,98	2,99 ± 0,30	6-9
20'	6,47 ± 0,51	5,29 ± 0,56	5,34 ± 0,87	6-9
30'	7,71 ± 0,55	6,66 ± 0,33	7,76 ± 1,43	6-9
40'	9,73 ± 0,67	8,52 ± 0,85	9,43 ± 1,75	6-9
50'	13,50 ± 1,21	12,25 ± 1,90	9,94 ± 1,64	6-9
60'	14,57 ± 1,54	14,62 ± 2,85	11,13 ± 1,17	6-9

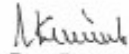
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ
(DETAE)
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU

Ar. Gör. Deniz Kaleli, I.Ü.Eczacılık Fak.Farmakoloji Anabilim Dalı,

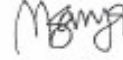
Karar No:42

İlgi:31.10.2005 tarihli yazınız.

Sorumluluğunu üstlendiğiniz "Beta-3-adrenoseptörlerin kardiyak iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki etkileri" isimli projeniz Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İhkeleri'ne uygun bulunmuştur.



Yard. Doç. Dr. Mutlu KÖÇÜK
Deney Hayvanları Etik Kurulu
Başkanı



Prof. Dr. Mehmet KAYA
Üye



Prof. Dr. Müzeyyen MAMAL TORUN
Üye



Doç. Dr. Asiye NÜRTEN
Üye



Uzm. Dr. Mehmet ÖZEK
Üye



Uzm. Dr. Bülent AHİSHALI
Üye



Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Raportör



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Deniz	Soyadı	KALELİ DURMAN
Doğ.Yeri	Tokat	Doğ.Tar.	07/01/1979
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	17879591232
Email	deniz_kaleli@yahoo.com	Tel	0-532 2936145

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2008
Yük.Lis.	İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2002
Lisans	İ.Ü. Eczacılık Fakültesi	2000
Lise	Bahçelievler Adnan Menderes Anadolu Lisesi	1996

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma Görevlisi	İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ab	2000 -
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	78,50	
Almanca	Zayıf	Zayıf	Zayıf		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	67,731	70,075	72,027
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok iyi

YAYINLAR

Orijinal Araştırma Makaleleri

1. Altıntaş H, Ateş O, Uydeş-Doğan BS, Alp FI, **Kaleli D**, Ozdemir O, Birteksöz S, Otük G, Atana D, Uzun M. Synthesis and Evaluation of Antimicrobial and Anticonvulsant Activities of Some New 3-[2-(5-Aryl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)/4-Carboxy methylthiazol-2-yl]imino-4-thiazolidinon-5ylidene]-5-substituted /non-substituted-1H-indole-2-ones. *Arzneimittel-Forschung*, 2006; 56 (3) :239-48.
2. Teskin O, Uydeş-Doğan BS, Enç Y, Alp FI, **Kaleli D**, Keser S, İyigün T, Bilgen F, Dağsalı S, Özdemir O. Comparative Effects Of Tolazoline And Nitropruside On Human Isolated Radial Artery”. *Annals of Thoracic Surgery*, 2005; 81: 125-131.
3. Uydes-Dogan B.S., Topal G., Takır S., Alp F.I., **Kaleli D.**, Ozdemir O. Relaxant effects of pravastatin, atorvastatin and cerivastatin on isolated rat aortic rings. *Life Sciences*, 2005; 76: 1771-1786.

TEBLİĞLER

ULUSLAR ARASI KONGRELER

Posterli Sözlü Sunum

1. **Kaleli D.**, Uydes-Dogan B.S., Ozdemir O. “Evaluation of the relaxant response to atorvastatin on isolated rat gastric fundus strips. 4th EPHAR (European Pharmacological Society) congress 14-17 Temmuz 2004 Porto,Portekiz.

Poster Sunumu

1. **Kaleli D.**, Uydeş-Doğan BS, Kucur M, Özdemir O. The effect of BRL37344 on cardiac ischemia reperfusion injury. *International Society for Heart Research, XXVIII. European Section Meeting, 28-31 Mayıs, 2008, Atina, Yunanistan.*
2. Teskin O, Uydeş-Doğan BS, Enç Y, Alp FI, **Kaleli D**, Keser S, İyigün T, Bilgen F, Dağsalı S, Özdemir O. The relaxant effect of tolazoline on radial artery graft. *The 12th Annual Meeting of the Asain Society fro Cardiovascular Surgery, 18-22 Nisan 2004, İstanbul, Türkiye.*
3. **Kaleli D.**, Uydeş-Doğan BS, Özdemir O. Relaxant effect of atorvastatin on isolated rat gastric fundus strips. *12th International Conference on Advances in Prostaglandin, Leuketrien and Other Bioactive Lipid research, 25-29 Ağustos, 2002, İstanbul, Türkiye.*

ULUSAL KONGRELER

Sözlü Sunum

1. **Kaleli D**, Uydes-Dogan B.S., Ozdemir O. Atorvastatinin Sıçan Gastrik Fundus Şeritlerini Gevşetici Etkisinde Kalsiyum İle İlişkili Mekanizmaların İncelenmesi. Türk Farmakoloji Derneği, 18. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 28 Eylül-1 Ekim 2005, İzmir.

Poster Sunumu

1. **Kaleli D**, Uydeş-Doğan BS, Kucur M, Özdemir O. Beta-3-adrenoseptörlerin kardiyak iskemi reperfüzyon hasarındaki etkisi. Türk Farmakoloji Derneği, 19. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 24-27 Ekim 2007, Trabzon.
2. **Kaleli D**, Benter IF, Ford WR, Broadley KJ, Akhtar S. Kardiyak iskemi reperfüzyon hasarında tirozin kinaz reseptörü ErbB2'nin rolü. Türk Farmakoloji Derneği, 18. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 28 Eylül-1 Ekim 2005, İzmir.
3. **Kaleli D**, Uydeş-Doğan BS, Özdemir O. Atorvastatinin sıçan gastrik fundus şeritleri üzerindeki gevşetici etkileri. 17. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 1. Klinik Farmakoloji Sempozyumu ve Türk-Hollanda Farmakoloji Dernekleri Ortak Toplantısı, 17-21 Ekim 2003, Belek-Antalya.

SERTİFİKALAR

-Deney hayvanı kullanımı ve etik yaklaşım İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Birimi, Ekim 2005.

BURSLAR

-Tınçel Kültür Vakfı, Yurtdışı Araştırma Bursu

BİLİMSEL ÜYELİKLER

- Türk Eczacılar Birliği
- Türk Farmakoloji Derneği
- YPG (FIP-Genç Eczacılar Birliği)
- ISHR (Uluslararası Kalp Araştırmaları Birliği)

Özel İlgi Alanları (Hobileri):