

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KANNABİDİOL'ÜN İSKEMİ/REPERFÜZYON İLE UYARILAN ARİTMİLER
ÜZERİNE ARTKOŞULLAMA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÜLSELİN BAŞOĞLU

HAZİRAN 2019

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KANNABİDİOL'ÜN İSKEMİ/REPERFÜZYON İLE UYARILAN ARİTMİLER
ÜZERİNE ARTKOŞULLAMA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gülselin BAŞOĞLU

DANIŞMAN: Doç. Dr. Ersöz GONCA

ZONGULDAK

Haziran 2019

KABUL:

Gülşelin BAŞOĞLU tarafından hazırlanan “Kannabidiol’un İskemi/Reperfüzyon ile Uyarılan Aritmiler Üzerine Artkoşullama Etkisinin Araştırılması” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 20/06/2019

Danışman: Doç. Dr. Ersöz GONCA

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Üye : Doç. Dr. Fatma PEHLİVAN KARAKAŞ

Bolu İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Üye : Doç. Dr. Muhammet ÖREN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

ONAY:

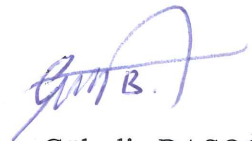
Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

..../..../2019



Prof. Dr. Ahmet ÖZARSLAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”



Gülselin BAŞOĞLU

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KANNABİDİOL'ÜN İSKEMİ/REPERFÜZYON İLE UYARILAN ARİTMİLER ÜZERİNE ARTKOŞULLAMA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Gülselin BAŞOĞLU

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ersöz GONCA

Haziran 2019, 43 sayfa

Kannabidiol (KBD) psikolojik etkileri bulunmayan bir bitkisel kannabinoiddir. Klinik uygulamada huntington hastalığı ve mutipl skleroz tedavisinde kullanılmaktadır. Önceki çalışmamızda sıçanlarda ligasyon öncesi verilen KBD'nin iskemi reperfüzyon (İ/R) ile uyarılan aritmilere karşı koruyucu etkili olduğu bildirilmiştir. İlaç ve etken maddelerin reperfüzyon aritmelerinin klinik tedaviye uyarlanabilmesi için iskemi sırasında veya reperfüzyonda verildiğinde de etkili olduğu gösterilmelidir. KBD'nin bir çalışmada iskemi periyodunun sonunda reperfüzyondan hemen önce verildiğinde İ/R sonucu meydana gelen miyokardiyal hasarı azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı sıçanlarda iskemi ve reperfüzyon periyotları boyunca infüzyon yoluyla uygulanan KBD tedavisinin reperfüzyon aritmelerine olan etkisini araştırmaktır.

Miyokardiyal iskemi ve reperfüzyon anestezi altındaki erkek sıçanlarda sırasıyla sol ana koroner arter 6 dk süreyle bağlanarak ve bağlanan damar çözüldükten sonra 6 dk süre

ÖZET (devam ediyor)

boyunca serbest bırakılarak gerçekleştirildi. KBD infüzyon pompasıyla sırasıyla ligasyon ve reperfüzyon boyunca 9 µg/90µL/dk/kg dozda verildi. Çalışmanın deney grupları: (1) Kontrol (n=6), (2) Ligasyon KBD (n=6), (3) Reperfüzyon KBD (n=6) olarak belirlendi. Aritmi süreleri, kalp atımı ve kan basıncı değerleri her bir denek için belirlendi. Verilerin analizinde Tek Yönlü Varyans analizi ve Dunnet post-hok testi kullanıldı. Veriler ortalama ± standart hata olarak verildi. Ligasyon boyunca verilen KBD, ventriküler prematüre kasılma (VPK) süresini kontrol grubuna göre anlamlı azalttı (P<0.05). Reperfüzyon boyunca verilen KBD ise VPK, ventriküler taşikardi (VT) ve toplam aritmi sürelerini kontrol grubuna göre anlamlı azalttı (Toplam aritmi süresi: kontrol; 39 ± 10 sn, KBD-Lig; 14 ± 7 sn, KBD-Rep; 8 ± 4 sn, P<0.05).

Çalışmanın sonuçları reperfüzyon periyodu boyunca verilen KBD'nin İ/R ile uyarılan aritmilere karşı güçlü antiaritmik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu sonuç KBD'nin reperfüzyon aritmilerinin klinik tedavisinde kullanılabilme potansiyelini güçlendirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kannabidiol, İskemi/reperfüzyon aritmileri, sıçan, infüzyon

Bilim Kodu: 401.04.02

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

THE RESEARCH OF THE POSTCONDITIONING EFFECT OF CANNABIDIOL ON ISCHEMIA/REPERFUSION-INDUCED VENTRICULAR ARRHYTHMIAS

Gülselin BAŞOĞLU

**Zonguldak Bülent Ecevit University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology**

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Ersöz GONCA

June 2019, 43 pages

Cannabidiol (CBD) is a non-psychoactive plant cannabinoid. In clinical practice, it has been used in the treatment of huntington's disease and multiple sclerosis. In our previous study CBD given before the ligation has been reported to be protective against ischemia-reperfusion (I/R)-induced arrhythmia in rats. However, It should also be demonstrated that drugs and agents are effective against ventricular arrhythmias during ischemia or reperfusion in order to be adapted to the clinical treatment of reperfusion arrhythmias. Therefore the aim of this study is to investigate the effects of CBD applied by infusion during both ischemia and reperfusion periods on reperfusion-induced arrhythmias in rats.

Myocardial ischemia and reperfusion were accomplished by ligation of the left main coronary artery for 6 min and release of the tie on the vessel for 6 min in male anesthetized rats, respectively. CBD was administered by infusion pump at a dose of 9 µg/90µL/min/kg during the ligation and reperfusion, respectively. Experimental groups of the study were: (1) Control (n=6), (2) Ligation CBD (n=6), and (3) Reperfusion CBD (n=6). Arrhythmia durations, heart rate and blood pressure values were determined for each rats. One-way analysis of variance

ABSTRACT (continued)

and Dunnet post-hoc test were used in the analysis of the data. The data were given as mean \pm standard error.

CBD treatment during the ligation significantly decreased the duration of ventricular premature contraction (VPC) compared to the control group ($P < 0.05$). CBD that was given during the reperfusion period significantly decreased the VPC, ventricular tachycardia (VT) and total length of arrhythmias compared to the control group (total length of arrhythmias: control: 39 ± 10 sec, CBD-Lig: 14 ± 7 sec, CBD-Rep: 8 ± 4 sec, $P < 0.05$).

The results of the study indicate that CBD given during the reperfusion period has a strong antiarrhythmic effect on I/R-induced arrhythmia. These results strengthen the potential use of CBD in the clinical treatment of reperfusion arrhythmias.

Keywords: Cannabidiol, Ischemia/reperfusion arrhythmias, rat, infusion

Science Code: 401.04.02

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, yüksek lisans öğretimim boyunca değerli bilgilerini bizlerle paylaşan, kullandığı her kelimenin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım saygıdeğer danışman hocam, Sayın Doç. Dr. Ersöz GONCA'ya teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Tezin düzeltilerek son haline getirilmesinde değerli katkılarını esirgemeyen tez komitesi üyeleri Sayın Doç. Dr. Muhammet ÖREN ve Sayın Doç. Dr. Fatma KARAKAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen değerli arkadaşım Burak GÖKYÜREK'e teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her aşamasında yanımda olan aldığım her türlü kararların arkasında duran, benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürler ederim.

Bu çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Proje no: 2016-84906727-04) tarafından desteklenmiştir.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
BÖLÜM 1 GİRİŞ	1
1.1 MİYOKARDİYAL DOKUDA İSKEMİ REPERFÜZYON	2
1.1.1 Miyokardiyal İskemiden Sonra Meydana Gelen Hücresel Değişiklikler	3
1.1.2 Miyokardiyal Reperfüzyondan Sonra Meydana Gelen Hücresel Değişiklikler	4
1.1.2.1 Serbest Oksijen Radikalleri (SOR)	5
1.1.2.2 Kalsiyum Yüklemesi	6
1.1.2.3 Renin Anjiotensin Sistemleri	7
1.1.2.4 Nötrofil Aktivasyonu.....	7
1.1.2.5 Trombositler	8
1.2 KALP ARİTMİLERİ.....	8
1.2.1 Aritmi Mekanizması	9
1.2.1.1 Anormal Uyarı Odaklarının Oluşumu	9
1.2.1.2 Tetikleme Aktivitesi	9
1.2.1.3 Re-entry Döngüsü	10
1.2.2 Deneysel İskemi /Reperfüzyon Aritmi Modelinde Meydana Gelen Aritmiler.....	12
1.3 KANNABİNOİDLER	14
1.3.1 Kannabinoid Reseptörleri	14

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
1.3.1.1 Tip 1 Kannabinoid Reseptörü	14
1.3.1.2 Tip 2 Kannabinoid Reseptörü	14
1.3.2 Fitokannabinoidler	15
1.3.2.1 Kannabidiol (KBD)	15
1.3.2.2 KBD'nin Hemodinamik Etkisi	15
1.3.2.3 KBD'nin Kalp Koruyucu Etkisi	16
BÖLÜM 2 MATERYAL METOD	17
2.1 KULLANILAN HAYVANLAR	17
2.2 CERRAHİ İŞLEMLER	17
2.3 RİSK ALANININ ÖLÇÜLMESİ	18
2.4 DENEY GRUPLARI VE İLAÇLARIN UYGULANMASI	20
2.5 ARİTMİ ANALİZİ	20
2.6 İSTATİSTİKSEL ANALİZ	21
BÖLÜM 3 BULGULAR	23
BÖLÜM 4 TARTIŞMA	29
BÖLÜM 5 SONUÇLAR	33
KAYNAKLAR	35
ÖZGEÇMİŞ	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 Miyokardiyal iskemiden sonra meydana gelen hücresel değişiklikler.	3
Şekil 1.2 Miyokardiyal reperfüzyondan sonra meydana gelen hücresel değişiklikler.....	5
Şekil 1.3 Serbest oksijen radikalleri.....	6
Şekil 1.4 Nötrofillerin hücre içerisine girişi.....	8
Şekil 1.5 Tetikleme aktivitesi, a. erken art depolarizasyon b. geç art depolarizasyon.....	10
Şekil 1.6 Aksiyon potansiyelinin normal iletimi.....	11
Şekil 1.7 Deney sırasında kayıt edilen orjinal EKG kayıtları ve kan basınçları	13
Şekil 1.8 Kannabidiol moleküler yapısı.	15
Şekil 2.1 Cerrahi operasyondan sonra ligasyon işlemi uygulanmadan önce anestezi altındaki bir sıçan.....	18
Şekil 2.2 Alkolle perfüze edildikten sonra görüntülenen bir kalp dokusu	19
Şekil 2.3 Risk bölgesi ve perfüze olan bölgenin ayrılmış görüntüsü.	19
Şekil 2.4 Deney gruplarında ilaç ve çözücü uygulama protokolleri	20
Şekil 3.1 Kannabidiol'ün reperfüzyonla uyarılan ventriküler aritmi süreleri üzerine etkileri..	24



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 İlaç uygulamalarının ligasyon öncesi ve iskemi reperfüzyon periyotlarında ölçülen ortalama arteriyal kan basıncı (mmHg) değerlerine etkisi.	25
Çizelge 3.2 İlaç uygulamalarının ligasyon öncesi ve iskemi reperfüzyon periyotlarında ölçülen kalp atımı (atım/dakika) değerlerine etkisi.	26
Çizelge 3.3 İlaç tedavilerinin iskemi periyodu boyunca görülen aritmiler üzerine etkisi.....	27
Çizelge 3.4 İlaç tedavilerinin reperfüzyon periyodu boyunca görülen aritmiler üzerine etkisi.	28



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

%	: yüzde+
°C	: santigrad derece
µg	: mikrogram
µm	: mikrometre
g	: gram
kg	: kilogram
mg	: miligram
ml	: mililitre
mm	: milimetre
mmHg	: milimetre – civa
mV	: milivolt

KISALTMALAR

Δ9-THC	: Tetrahidrokannabinol
AEA	: Anandamid
ADP	: Adenozin di fosfat
AMP	: Adenozin mono fosfat
ATP	: Adenozin tri fosfat
AV	: Atriyoventriküler
Ca ⁺⁺	: Kalsiyum
Cl ⁻	: Klor
COX-2	: Siklooksijenaz-2
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DPCPX	: 8-Siklopentill-1,3-dipropylxanthine
EKG	: Elektrokardiyogram

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

GPR55	: G-protein reseptörü 55
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
ip	: İntraperitoneal
iv	: İntravenöz
K ⁺	: Potasyum
K _{atp}	: ATP bağımlı potasyum kanalı
KBD	: Kannabidiol
KB ₁	: Tip 1 kannabinoid reseptörü
KB ₂	: Tip 2 kannabinoid reseptörü
KBN	: Kannabinol
KP	: Keretininfosfat
Na ⁺	: Sodyum
NADA	: N-araşidonin dopamin
NO	: Nitrik oksit
OAE	: O-araşidonil etanolamin
SA	: Sinoatrial
SF	: Serum fizyolojik
SOR	: Süper oksit radikalleri
SK	: Sentetik kannabinoid
VT	: Ventriküler taşikardi
VF	: Ventriküler fibrilasyon
VES	: Ventriküler ekstrasistol

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Koroner arter hastalarında iskemi sonucu meydana gelen ventriküler aritmiler miyokart enfarktüsün (kalp krizi) akut fazı sırasında ani hasta ölümlerine neden olmaktadır. İskemik miyokardın reperfüzyonu, hastanede yatan bir hastada miyokardı nekrozdan korumak amacıyla tıkalı arterlerden kan akışını tekrar sağlamak için uygulanmaktadır. Ancak reperfüzyon tek başına ölümcül ventriküler aritmilere yol açar (Bonnemeier vd. 2003, Tatlı vd. 2013).

Kannabidiol (KBD) *Cannabis sativa* L. bitkisinden elde edilen psikoaktif olmayan bir bitkisel kannabinoiddir (Pertwee 2005). KBD'nin farmakolojik etkilerine kannabinoid reseptörü 1 (KB₁), kanabinoid reseptörü 2 (KB₂) ve bir kannabinoid reseptörü olmayan G protein-bağlı reseptör 55 modülasyonunun aracılık ettiği bilinmektedir (Bisogno vd. 2001, Ryberg vd. 2007, Zhong vd. 2009).

KBD'nin kronik kullanımının insanlarda yan etki göstermeksizin iyi tolere edildiği bildirilmiştir (Bergamaschi vd. 2011). Klinik pratikte multipl skleroz (MS) ve huntington hastalıklarında, ağrı ve inflamasyon tedavisinde kullanılmaktadır (Peat 2010, Valdeolivas vd. 2012, Lorente Ferná'ndez vd. 2013, Naftali vd. 2013). KBD, antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-nekrotik etkileri de içeren çok çeşitli farmakolojik etkilere sahiptir (Stanley vd. 2013). Tüm bu farmakolojik etkiler, potansiyel olarak doku koruyucu ve antiaritmik bir ajan olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

KBD'nin miyokardiyal iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarında kalbi koruyucu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Durst vd. 2007, Walsh vd. 2010). Walsh ve ark. (2010) sıçanlarda yapmış oldukları çalışmada KBD'nin iskemi ile uyarılan ventriküler aritmilerin toplam sayısını azalttığını ilk kez göstermiştir. Gonca ve Darıcı (2015) ise sıçanlarda KBD'nin reperfüzyon sırasında meydana gelen toplam aritmi süresini, ventriküler taşikardi (VT) süre

ve sıklığını azaltarak reperfüzyon aritmilerine karşı koruyucu etki gösterdiğini ilk kez göstermişlerdir.

Deneysel çalışmalarda farmakolojik olarak etken maddelerin reperfüzyon ile uyarılan aritmilere olan etkileri çoğunlukla iskemik periyod öncesi tedavi uygulanarak araştırılmaktadır (Vajda vd. 2007, Abdel-Kawy 2015, Perdicaro vd. 2017). Klinik uygulamada ise reperfüzyon aritmilerinin tedavisi, hastaneye kaldırılan koroner hastalarında anjio ve antitrombolitik tedavi öncesi veya damar açıldıktan sonra reperfüzyon aşamasında gerçekleştirilebilir (Tatli vd. 2013). Bu nedenle bu tür etken maddelerin reperfüzyon aritmilerinin klinik tedavisinde kullanılabilmesi için iskemi ve reperfüzyon periyotlarındaki uygulamalarının tedaviye olan etkisi araştırılmalıdır.

Önceki çalışmamızda iskemiden önce tek doz verilen KBD'nin reperfüzyon aritmilerini azalttığı gösterilmiştir (Gonca ve Darıcı 2015). Ancak elde edilen bu sonuçlar, tedavi reperfüzyon periyodunda ya da reperfüzyon periyodundan hemen önce uygulanmadığı için klinik uygulamaya uygun değildir. KBD'nin reperfüzyon aritmilerine olan etkisi farklı zamanlarda tedavi uygulamaları ile araştırılmamıştır.

Walsh vd. (2010) iskemi periyodunun sonunda ve reperfüzyondan hemen önce tek doz uygulanan KBD tedavisinin I/R hasarına karşı koruyucu etkili olduğunu göstermişlerdir. KBD'nin farklı uygulama zamanlarında iskemi reperfüzyon aritmilerine olan etkisi araştırılmamıştır. Tez çalışmamızın amacı sıçanlarda iskemi ve reperfüzyon periyotları boyunca infüzyon yolu ile uygulanan KBD tedavisinin reperfüzyon aritmilerine olan etkisini göstermiştir. Böylece bu çalışma ile KBD'nin reperfüzyon ile uyarılan aritmilerin tedavisinde klinik kullanım olanağı araştırılacaktır.

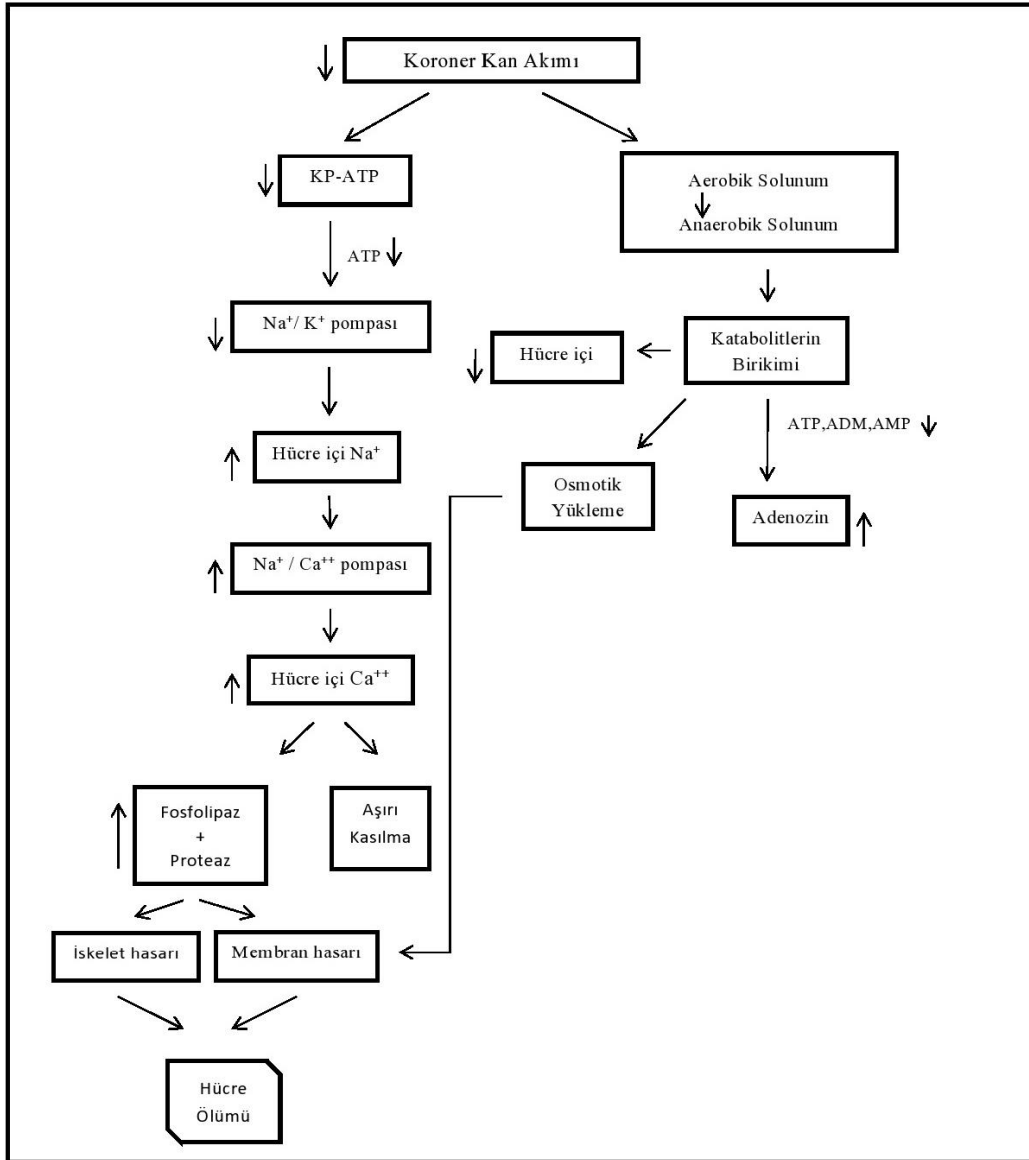
1.1 MİYOKARDİYAL DOKUDA İSKEMİ REPERFÜZYON

Koroner arterlerin tıkanması ile miyokardiyuma olan kan akımı kesilmektedir. Bu durum miyokardiyumun gereksinim duyduğu besin maddeleri ve oksijenin sağlanamamasına yol açmaktadır. Miyokardiyal iskemi olarak adlandırılan bu durum ani ölümlere ve doku hasarına neden olmaktadır (Ytrehus 2000). Miyokardiyal iskeminin yol açtığı ventriküler aritmiler sonucunda doku hasarı ve ani ölümler gelişebilmektedir (Black 2000, Boerma vd. 2003).

Koronar arterde tıkanıklığın ortadan kaldırılmasıyla iskemiye maruz kalan organ ya da dokuya kan akışı yeniden sağlanmakta, besin ve oksijen gereksinimi giderilebilmektedir. Bu durum da miyokardiyal reperfüzyon olarak adlandırılmaktadır (Buja 1991, Akkoç 2008).

1.1.1 Miyokardiyal İskemiden Sonra Meydana Gelen Hüresel Değişiklikler

Miyokardiyal iskemiden sonra hücrelerde birtakım metabolik ve biyokimyasal değişiklikler görülmektedir. Bu hüresel değişiklikler genel olarak vasküler endotelial ve miyokardiyal fonksiyon bozuklukları, serbest oksijen radikallerinin oluşumu, hücre içinde kalsiyum birikimi şeklinde özetlenebilir. Bu değişimler Şekil 1.1’de özetlenmiştir.



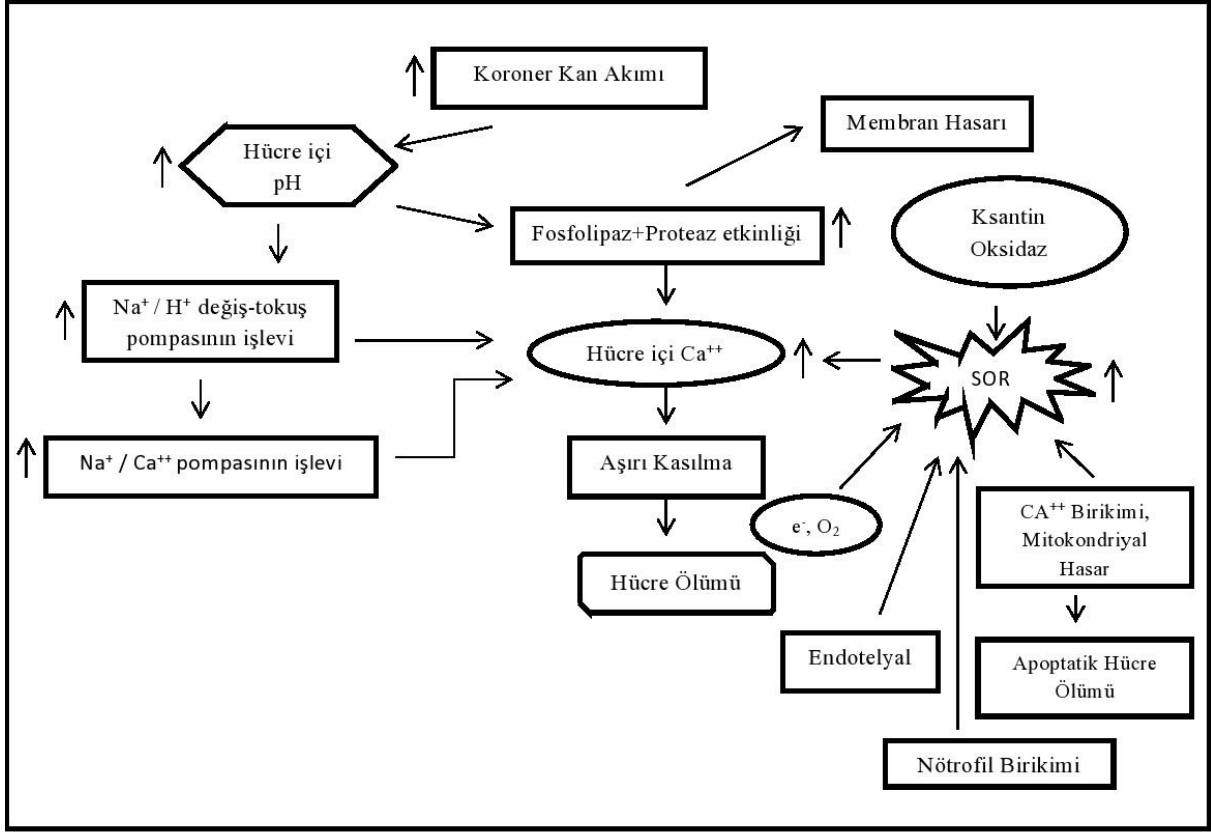
Şekil 1.1 Miyokardiyal iskemiden sonra meydana gelen hüresel değişiklikler. [Kreatinin fosfat (KP)] (Çizen: Gülselin Başoğlu 2019).

Miyokardiyal iskemi ile birlikte hücre içinde bulunan Kreatin fosfat (KP) ve ATP gibi yüksek enerjili fosfat içeren bileşikler yıkılmaktadır. Oksijenin yetersiz olması, mitokondriyal aerobik solunum yerine anaerobik solunumu başlatmaktadır (Depre and Taegtmeyer 2000, Reimer vd. 1987). Anaerobik solunumun sonucu oluşan katabolik ürünler kademeli olarak hücre dışı ve içinde asidoz gelişimine neden olmaktadır. Bu ürünler ile birlikte hücre homeostazisi bozulmakta ve membran hasarı görülmektedir. İskemiyle birlikte adenozin mono fosfat (AMP), Adenozin difosfat (ADP) ve Adenozin trifosfat (ATP) gibi yüksek enerjili fosfatların hidroliz edilmesiyle ortamdaki adenozin artmakta ATP azaldığı için ATP'ye bağlı olan Na^+/K^+ pompasının çalışması önlenmektedir (Stanley 2000, Luqman vd. 2007). Na^+/K^+ pompasının çalışması önlenmesi için miyokardiyal hücrelerde Na^+ birikimi görülmektedir (Moensa vd. 2005). Böylece sodyum iyonların hücre içerisinde birikimi ile birlikte Na^+/Ca^{++} pompası devreye girmektedir. Bu kanalın çalışması ile hücre içi Na^+ dışarı atılırken Ca^{++} hücre içine alınmaktadır ve hücre içinde bu kez Ca^{++} birikimi olmaktadır. Kalsiyum miktarının artması ile sitoplazmada bazı enzimler de aktive olmaktadır. Bu enzimlerden özellikle proteaz ve fosfolipaz hücre iskeleti ve hücre membranı hasarına neden olarak hücre ölümünü hızlandırmaktadır. Proteazlar özellikle hücre iskeletine etki ederken, fosfolipaz enzimi membran fosfolipitlerini yıkarak hücre hasarına neden olmaktadır.

Miyokardiyal iskemi ile birlikte adrenarjik aktivasyon artmakta ve arteriyal adrenalin konsantrasyonu yükselmektedir. Adrenalin siklik adenozin monofosfat (sAMP) konsantrasyonunun hücre içinde yükselmesine, dolayısıyla hücre içi kalsiyum miktarının artmasına ve hücre hasarına neden olmaktadır. Katekolaminler ise koroner arterlerin kasılmasına neden olmaktadır. Bu durum koroner kan akışını azaltmaktadır (Godin vd. 1984, Fosfar vd. 1985, Drummond ve Severson 1979).

1.1.2 Miyokardiyal Reperfüzyondan Sonra Meydana Gelen Hücresel Değişiklikler

Miyokardiyal reperfüzyonu takiben iskemi süresince iskemik dokuda biriken elektrolit ve metabolitlerin uzaklaştırılması iskemik ve iskemik olmayan doku alanı arasında elektriksel düzenin bozulmasına yol açmaktadır. Bu durum da reperfüzyon aritmilerine sebep olmaktadır (Buja 1991). Reperfüzyon hasarından serbest oksijen radikalleri, kalsiyum, renin anjiotensin sistemi, nötrofil ve trombosit birikim ve aktivasyonları sorumlu tutulmaktadır (Kramer vd. 1994). Reperfüzyon periyodunda gözlemlenen hücresel değişiklikler Şekil 1.2'de özetlenmiştir.

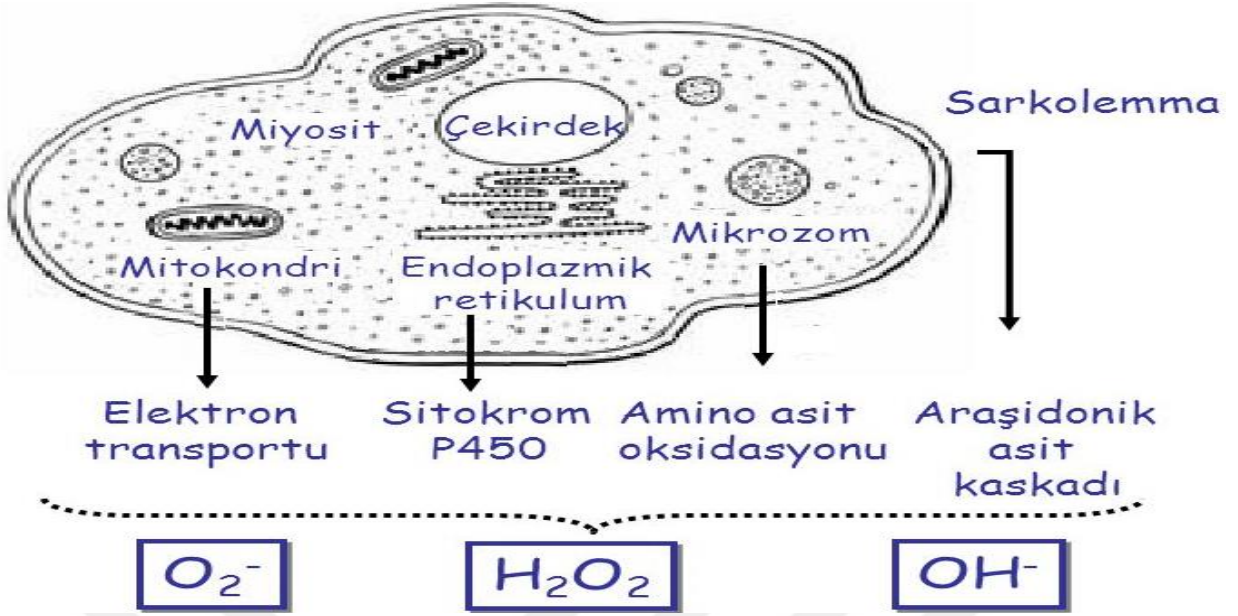


Şekil 1.2 Miyokardiyal reperfüzyondan sonra meydana gelen hücresel değişiklikler. [SOR (Süper Oksit Radikalleri)] (Çizen: Gülselin Başoğlu 2019).

1.1.2.1 Serbest Oksijen Radikalleri (SOR)

Son orbitalinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron içeren moleküller serbest radikaller olarak adlandırılır. Hücre içerisinde meydana gelen düşük konsantrasyonlardaki reaktif oksijen türleri hücrenin fizyolojik proseslerinde ortaya çıkar ve zararsızdır. Ancak yüksek konsantrasyonlara ulaştığında yağlar, proteinler ve DNA gibi hücre bileşenlerinde hasara yol açar (Birben vd. 2012).

Reperfüzyon ile hücre içerisine yeniden giren O_2 , Serbest Oksijen radikallerinin (SOR) oluşumuna neden olmaktadır. Bu durum hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH) ve süperoksit anyonu (O_2^-) gibi SOR üretiminin artarak hücrede aşırı birikimine sebep olmaktadır (Schnockenberg 2002).



Şekil 1.3 Serbest oksijen radikalleri. [O_2^- (Süperoksit anyon), H_2O_2 (Hidrojen Peroksit), OH^\cdot (Hidroksil radikali)] (Schnockenberg 2002).

Reperfüzyonda SOR oluşumu; ksantin oksidaz enzim aktivitesi, reperfüzyonla beraber bölgeye taşınan nötrofillerin aktivasyonu ve mitokondriyal ETS (Elektron Transport Sistemi) mekanizmaları ile artış göstermektedir.

Hücre fizyolojik koşullarda üretilen SOR'u etkisiz hale getirmek için antioksidan enzimleri kullanır. Ancak iskemi ve reperfüzyonda antioksidan enzim aktivitesi azalır. Reperfüzyonun erken aşamalarında oluşan serbest radikallerinin yanı sıra antioksidan enzim aktivitesinde düşüş de miyokardiyum hücre hasarına sebep olabilmektedir. SOR miyokardiyal hücre membranında lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Bu durum hücre bütünlüğünün bozulmasına yol açarak nekroza neden olmaktadır (Lazzarino vd. 1994).

1.1.2.2 Kalsiyum Yüklemesi

Reperfüzyonla beraber hücre için pH değeri fizyolojik sınırlarına geri dönmektedir. Bu durum proteaz ve fosfolipaz enzimlerini aktive etmektedir. Hücre içi pH'ın fizyolojik sınırlarına dönmesi hücre içi Na^+/H^+ iyon kanalları da aktive etmektedir. Na^+/H^+ iyonlarının çalışması hücre içi Na^+ miktarını artırır. Hücre içerisinde Na^+ konsantrasyonu artışı sonucunda iyon konsantrasyonunun dengelenmesi için Na^+/Ca^{++} değiş tokuş pompası çalışmaktadır. Hücre içi Ca^{++} girişi artarken Na^+ dışarı atılmaktadır. Bu durum Ca^{++} hücre içerisinde birikmesine yol

açar. Kalsiyum dengesinin hücre içerisindeki bu değişimi, reperfüzyon hasarının oluşumunda önemli rol oynamaktadır (Gros vd. 1999).

Kalsiyumun hücre içerisinde aşırı artması, miyokardiyal hücrelerin kasılmasını artırmakta, kasılma ise hücre hasarını artırıcı etki göstermektedir (Jordan vd. 1999). Sitoplazmik kalsiyum miktarının artması, mitokondriyal kalsiyumun da artmasına yol açmakta bu durum Bax ve Bcl₂ adı verilen pro-apoptik proteinlerin mitokondriden çıkışına sebep olarak hücrede apoptotik ölüm sürecine yol açmaktadır (Eefting vd. 2004).

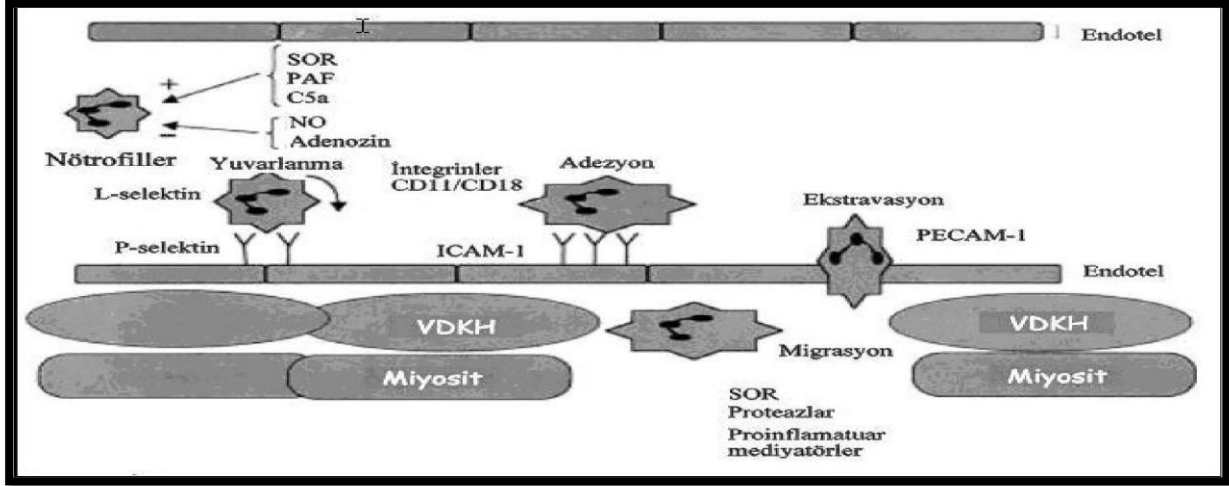
1.1.2.3 Renin Anjiotensin Sistemleri

Renin–anjiotensin sisteminin ürünü olan anjiotensin II reperfüzyon periyodunda artış göstermektedir. Bu ürünün artışı koroner damarlarda kasılmaya ve hücre içerisinde kalsiyum iyonlarının artışına neden olmaktadır. Bu durum miyokardiyal hasarın oluşmasına katkıda bulunur.

1.1.2.4 Nötrofil Aktivasyonu

Kanın temel granülosit hücrelerinden birisi olan nötrofiller, insan bağışıklık sisteminde vücuda giren yabancı organizmalar ve bakterilerle savaşmaktadır. Nötrofiller kemik iliği tarafından üretilmektedir. Yabancı organizmalar ve bakterilere karşı inflamatuvar cevabın gelişmesi ve nötrofilin aktivasyonu, nötrofilin vasküler endotele adezyonu, kemotaktik sinyallere doğru ekstrasvazasyonu ve mikroorganizmaların eliminasyonu süreçlerini içerir (Şekil 1.4).

Referfüzyon sonrasında nötrofillerin aktive olması ve iskemik dokuya göç etmesi, hücre hasarında oldukça önemli rol oynar. Damar endotelinde bulunan trombosit aktive edici faktörler, kompleman sistem aktivasyonu ve pro-inflamatuvar mediyatörler gibi etmenler, iskemik miyokardiyuma nötrofil hareketini artırmaktadır. Aktif nötrofiller, proteaz ve serbest radikallerin oluşumuna sebep olarak iskemik dokuda hasar oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra nötrofillerin oluşturduğu proinflamatuvar maddeler de nötrofil aktivasyonu ve artan nötrofil göçü yoluyla, koroner damarlarda tıkanmaya neden olmaktadır. Bu durum İ/R sonucu mikrovasküler fonksiyon bozukluğu olarak adlandırılmaktadır (Shen ve Jennings 1972).



Şekil 1.4 Nötrofillerin hücre içerisine girişi. [SOR: Süper Oksit Radikalleri, PAF: Plaketalet Aktive edici Faktör, C5_a: Anafilotoksin, NO: Nitrik Oksit, ICAN-1: Hücre İçi Adezyon Molekülü-1, PECAM-1: Platelet-endotel adezyon molekülü, VDKH: Vasküler düz kas hücreleri] (Baxter 2002).

1.1.2.5 Trombositler

Trombositler, kemik iliğindeki megakaryositlerin parçalanması ile oluşurlar. Kanamayı durdurmakla görevli olup, insan kanında sayıca az olduğunda kanama, çok olduğunda pıhtı riski oluşmaktadır (Williams vd. 2016).

Trombositlerin aktivasyonu iskemi/reperfüzyon periyodunda da gerçekleşmektedir. Bu aktivasyon ile hasarlı bölgeye göç başlamaktadır. Trombosit ürünü olan serotonin, tromboksan A₂ koroner spazma neden olarak koroner akımı azaltmaktadır (Özgen vd. 2007).

1.2 KALP ARİTMİLERİ

Sinoatriyal (SA) düğümde düzenli zaman aralıklarında üretilerek tüm kalbe yayılan aksiyon potansiyelleri kalbin normal ritmini oluşturmaktadır (Escande ve Coraboeuf 1985).

Aritmilerin oluşum mekanizmaları arasında SA düğümde anormal ritm, kalbin herhangi bir kısmında kendiliğinden oluşan anormal uyarıların meydana gelmesi, uyarıların anormal yollar izlemesi, uyarı iletiminin farklı yerlerinde blokaj oluşumu ve uyarı odağının kalpte SA düğümünden başka yere kayması sayılabilir (Escande ve Coraboeuf 1985).

1.2.1 Aritmi Mekanizması

Aritmi mekanizmaları genel olarak anormal uyarı odaklarının oluşumu, tetikleme aktivitesi ve re-entry (tekrar giriş) döngüsü olmak üzere üçe ayrılmaktadır.

1.2.1.1 Anormal Uyarı Odaklarının Oluşumu

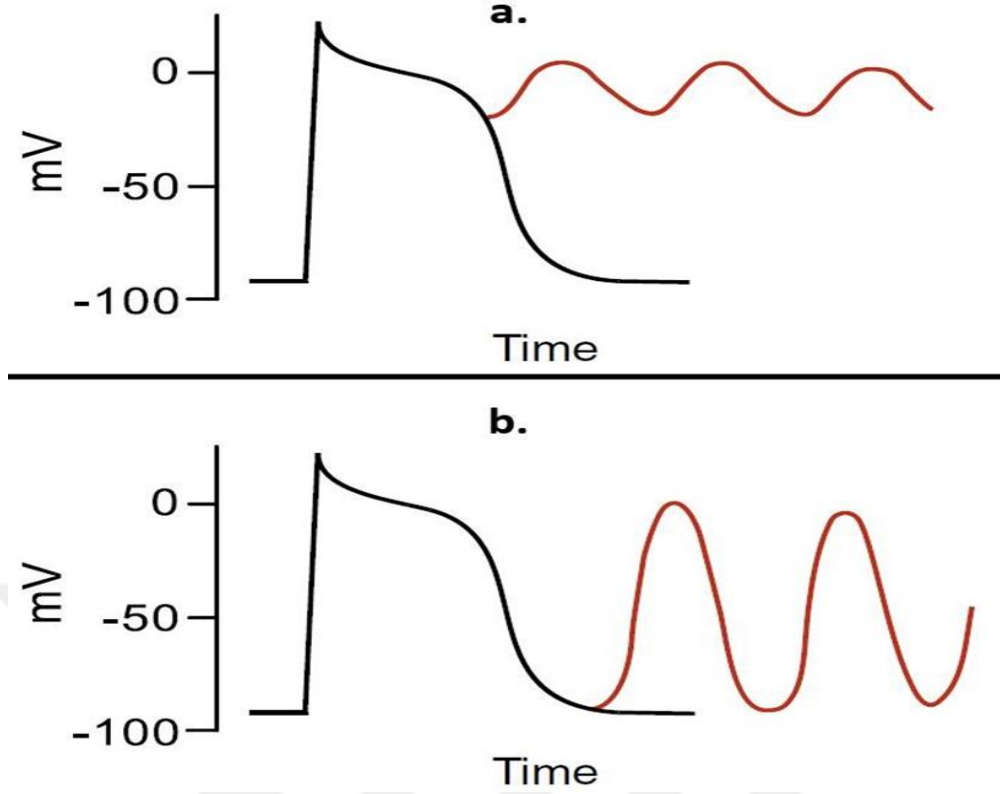
SA düğüm haricinde oluşan uyarı odakları ektopik odak olarak adlandırılmaktadır. SA düğümünden başka purkinje lifleri, atrioventriküler (A-V) demet ve A-V düğümlerinde intrinsik ritimler meydana gelebilmektedir.

SA düğümünde meydana gelen intrinsik ritim purkinje lifleri ve A-V düğüm liflerinden daha fazla ve dakikada ortalama 70-80 kadardır. Bu uyarı purkinje liflerinde 15-40 arasındayken, A-V düğümde 40-60 arasında görülmektedir. SA düğümünün hızı purkinje, A-V demet ve A-V düğüm liflerinden çok olduğu için kalbin ritmini bu düğüm sağlamaktadır. SA düğümü en hızlı ateşleme hızına sahip olduğundan, AV düğümü ve Purkinje sistemi, SA düğümü tarafından bastırılmaktadır. İskemi uyarı odağına neden olabilmekte ve uyarı odağını değiştirebilmektedir (Phibbs 1963).

Anormal uyarı odaklarının oluşumu anormal otomatisite şeklinde meydana gelebilir. SA düğüm ritminin bastırılması aritmilere yol açabilecek anormal bir başka odağa zemin hazırlar. İskemi reperfüzyonda otomatisite atriyal taşikardi ve ventriküler taşikardi gibi ritim bozukluklarına neden olur (Gaztanaga 2011).

1.2.1.2 Tetikleme Aktivitesi

Tetikleme aktivitesi Cranefield ve Wit (1979) tarafından aksiyon potansiyeli tamamlanmadan oluşan yeni bir aksiyon potansiyeli şeklinde ifade edilmektedir. Tetikleme aktivitesi ile erken ve geç art depolarizasyon olmak üzere iki tip depolarizasyon oluşmaktadır (Ferrier 1973).



Şekil 1.5 Tetikleme aktivitesi, a. erken art depolarizasyon b. geç art depolarizasyon (Klabunde 2011).

Erken artdepolarizasyon aksiyon potansiyelinin reperfüzyon fazında (aksiyon potansiyelinin 2 veya 3. fazında) meydana gelebilir. İskemik hücrelerde aksiyon potansiyeli süresinin uzaması bu mekanizmanın oluşmasına zemin hazırlar.

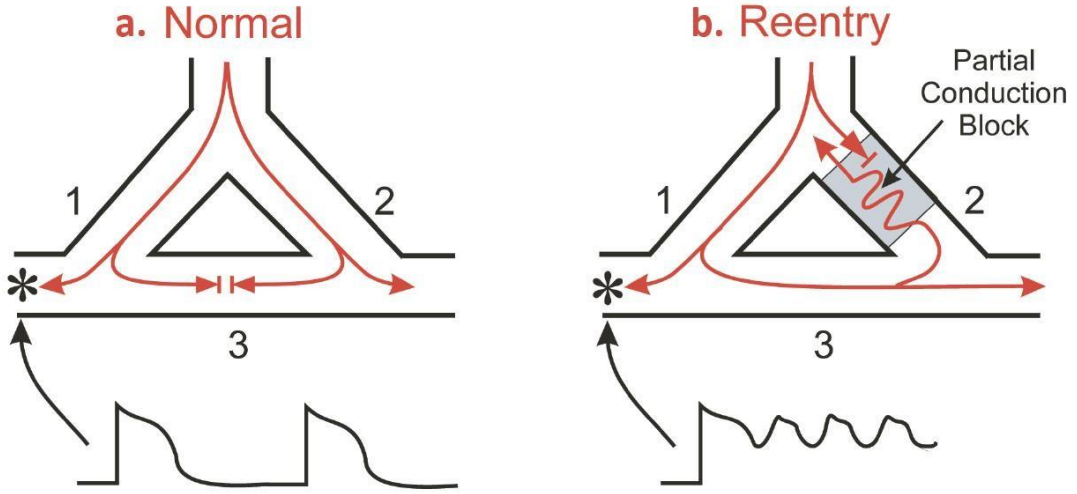
Geç artdepolarizasyon, repolarizasyon tamamladıktan sonra (aksiyon potansiyelinin 4. fazında) meydana gelmektedir. İskemi ve reperfüzyonda artan hücre içi Ca^{++} konsantrasyonu ve arteriyal katekolamin seviyesi, bu mekanizmayı harekete geçirerek şiddetli ventriküler aritmilerin oluşumuna neden olmaktadır (Cranefield ve Wit 1979, Spear ve More 1985).

1.2.1.3 Re-entry Döngüsü

Normal kalp döngüsünde, SA düğümü tarafından başlatılan bir uyarı, ventriküllerin içinden geçmekte ve tüm kas hücrelerini uyardıktan sonra ortadan kalkmaktadır. Tüm kas hücreleri refrakter dönemdeyken, uyarı sinyali hücrelerin hiçbirini uyaramamaktır. Ancak, bazı durumlarda, örneğin iskemi sırasında, bir uyarı sinyali gecikebilmekte veya kalbin iskemik bölgesinde impulsların iletimi yavaşlayabilmektedir. Bu durumda iskemik bölgeden gelen

impuls, komşu hücreleri yeniden uyarmaktadır. Bu durum yeniden giriş adını alır. Yeniden giriş (re-entry), dairesel bir bölgede yeniden uyarı oluştuğunda ortaya çıkmaktadır.

Yeniden giriş devresinin gerçekleşmesi farklı elektrofizyolojik özelliklere sahip miyokardiyal doku alanlarını gerektirir. Bir blok (anatomik veya fonksiyonel) tek yönlü bir iletim bloğu içinde meydana gelir (Şekil 1.6).



Şekil 1.6 Aksiyon potansiyelinin normal iletimi (a); İmpuls, 2 dal (1 ve 2) boyunca ilerler ve dal 3'te birbirlerini sönümler. Yeniden giriş (b); Dal 2'deki kısmi iletim bloğu ileri yönlü impulsu bloke etmekte ancak geri yönde impulsu iletmektedir (Klabunde 2011).

Diğer bir ifadeyle sağlıklı bir kalpte sinüs düğümünde başlayan impuls iletimi (elektriksel iletim), tüm ventriküler kas kitlesini Purkinje sistemi yoluyla depolarize etmektedir. Depolarizasyon dalgası eş zamanlı şekilde kas kitlesini depolarize etmekte bu da koordineli biçimde ventrikül kasılmasına neden olmaktadır. Ventrikülün tamamına ulaşan depolarizasyon dalgası refraktör dönemde olan hücreleri uyaramamakta, iskemide hücreler yeniden uyurabildiği için yeniden giriş devresi (döngüsü) oluşmaktadır.

Re-entry mekanizması ilk defa Schmitt ve Enlarger (1928) tarafından tanımlanmıştır. İskemi gerçekleştiğinde impuls iletim hızı yavaşlamakta ve miyokardiyal kas kitlesinin çeşitli kısımlarında refraktör döneme geçen hücre grupları oluşmaktadır. Kalbin dilatasyonu sonucu impulsun izleyeceği yol uzar ve bazı hücreler refraktör dönemden çıkar böylece hücreler yeniden uyarılarak re-entry mekanizması aktive olur. Re-entry kalbin çeşitli kısımlarında sıra dışı uyarılar

ile ventrikülleri uyarmakta, pompalama gücü azaldığı için ölümlerle sonlanabilen ölümcül ventriküler aritmiler oluşabilmektedir (Hoffman ve Rosen 1981, Lionel ve Dphil 1998).

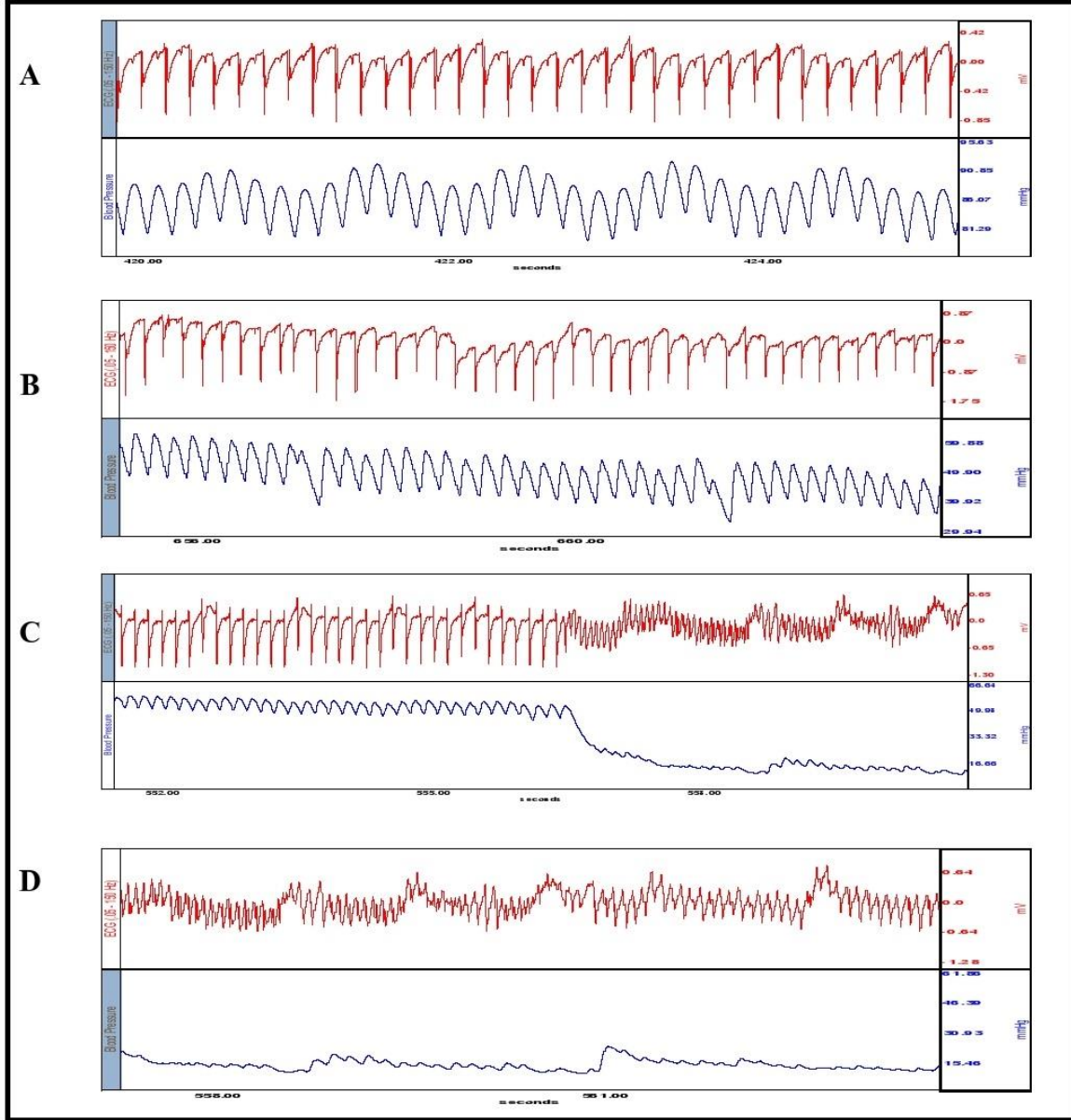
1.2.2 Deneysel İskemi /Reperfüzyon Aritmi Modelinde Meydana Gelen Aritmiler

Deney hayvanlarında iki tip (erken ve geç dönem) aritmi periyodu görülmektedir. Büyük hayvanlar olan köpek ve domuzlarda erken dönem ligasyonun ilk yarım saatini kapsamakta ve bu fazı sessiz periyot olarak adlandırılan hiçbir aritminin olmadığı devre takip etmektedir. Ligasyondan sonra dört ila sekiz saat içerisinde aritmiler yeniden başlamakta, iki-dört gün sonunda bitmektedir. Bu periyoda ise, geç dönem adı verilmektedir (Bozdoğan ve Bölükbaşı 1994, İskit ve Güç 1996).

Küçük hayvanlar olan fare ve sıçanlarda ise ligasyonun ilk üç-dört dakikalık kısmında erken dönem, altı-on iki dakika sonraki kısmında ise geç dönem aritmileri görülmektedir (İskit ve Güç 1996, Bozdoğan vd. 2004).

Deneysel miyokardiyal iskemi reperfüzyon aritmi modelinde genel olarak üç aritmi meydana gelmektedir:

1. Ventriküler fibrilasyon (VF)
2. Ventriküler taşikardi (VT)
3. Ventriküler ekstrasistol (VE).



Şekil 1.7 Deney sırasında kayıt edilen orjinal EKG kayıtları ve kan basınçları A) Normal sinüzal atım, B) Ventriküler prematüre kasılma (VPK), C) Ventriküler taşikardi (VT), D) Ventriküler fibrilasyon (VP).

İskeminin erken aşamalarında miyokardiyal hücrelerde elektrofizyolojik değişimler gözlemlenmektedir. Bu durum elektriksel homojenite bozulduğu için re-entry aritmilerinin oluşmasına neden olmaktadır (Hoffman ve Rosen 1981). Reperfüzyon aritmileri genellikle reperfüzyonun ilk saniyelerinde oluşmaktadır. Renin anjiyotensin sistemi, nötrofil aktivasyonu, serbest radikal oluşumu ve hücre içinde kalsiyum birikimi aritmilerin oluşumunda oldukça önemli rol oynamaktadır (Bolli vd. 1989). Tetikleme aktivitesi reperfüzyon aritmilerinin oluşumunda diğer mekanizmalardan daha önemli görülmektedir (Hoffmann ve Rosen 1981).

1.3 KANNABİNOİDLER

Kannabinoidler, *Cannabis sativa* L. (hint keneviri) bitkisinden elde edilen fitokannabinoidler, kimyasal yollarla üretilen sentetik cannabinoidler, hayvan ve insanların vücudunda doğal olarak üretilen endojen cannabinoidler olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Kannabinoidler farmakolojik olarak aktif ajanlardır (Pertwee 2005).

1.3.1 Kannabinoid Reseptörleri

Kannabinoidlerin davranışsal ve fizyolojik etkilerinin cannabinoidlerin reseptörler aracılığıyla etkisini gösterdiği ortaya koyulmuş ve ilk reseptör olan cannabinoid reseptör 1 keşfedilmiştir. Bu reseptör sürüngen, kuş ve balıklarda bulunmaktadır (Herkenham vd. 1990). Günümüzde cannabinoid reseptörü tip 1 ve tip 2 olarak ikiye ayrılmakta ve cannabinoidlerin farmakolojik etkilerini bu iki reseptör üstünden sağladıkları düşünülmektedir (Begg vd. 2005, Pacher vd. 2006).

1.3.1.1 Tip 1 Kannabinoid Reseptörü

Tip 1 Kannabinoid reseptörleri ilk kez limbik sistem ve bazal gangliyonda keşfedilmiştir (Herkenham vd. 1990). G protein bağlı reseptörler olan tip 1 cannabinoid reseptörleri, beyinde oldukça yüksek oranlarda bulunmakta, glutamat ve gamma-aminobütirik asit (GAMA) nörotransmitter sağlanmasında görev yapmaktadır. Ayrıca periferik ve santral nöronlarda sinir sistemi içerisinde de salgılanmaktadır. Tip 1 cannabinoid reseptörünün aktivitesi nörotransmitter salgılanmasını baskılamaktadır. Endokannabinoid sistem işitsel ve görsel algı ve hafıza işlemlerini etkilenmektedir. Kannabinoid reseptörleri ayrıca yağ dokuları, sindirim sistemi ve kas dokularında bulunmaktadır (Herkenkam vd. 1990).

1.3.1.2 Tip 2 Kannabinoid Reseptörü

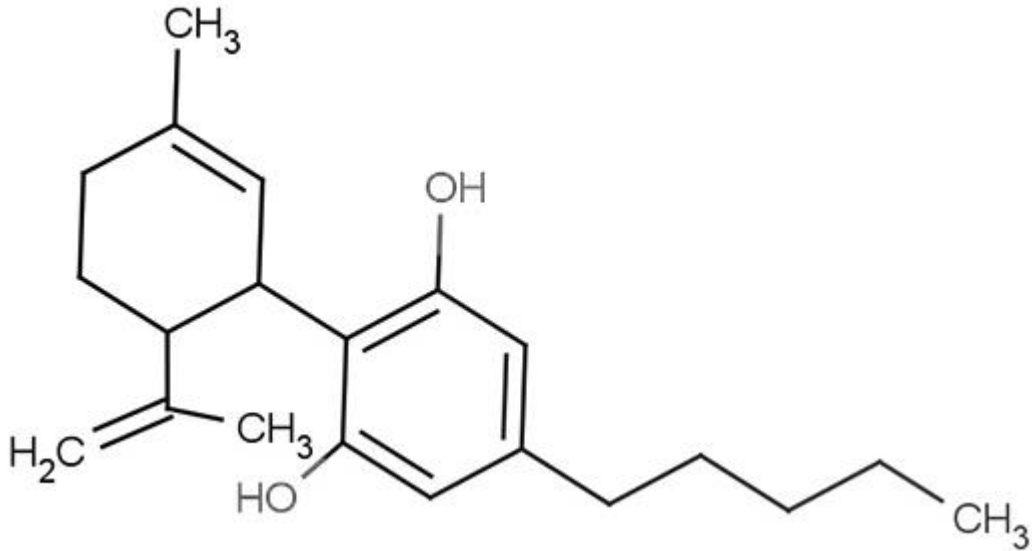
Tip 2 cannabinoid reseptörleri dalakta, lenfositlerde, monosit ve immun sistemde oldukça yoğun bulunmaktadır (Mechoulam ve Parker 2013). Bu reseptörlerin özellikle enerji ve besin alımı ve homeostazında önemli rolü olduğu öne sürülmektedir (Cota ve Woods 2005). Endojen cannabinoidler yapılan çalışmalarda glikoz, hepatik lipogeneze ve yeme davranışı homeostazında oldukça etkili bulunmuştur (Cota vd. 2003, Mattes vd. 2007).

1.3.2 Fitokannabinoidler

Cannabis sativa L. (hint keneviri) bitkisinden elde edilen fitokannabinoidlerin toplamda 85 farklı türü olduğu düşünülmektedir. Kannibidiol, kannabinol ve tetrahidrokannibol üstünde en çok çalışılan bitkisel kannabinoidleri oluşturmaktadır (El-Alfy vd. 2010).

1.3.2.1 Kannabidiol (KBD)

Cannabis sativa L. bitkisinden elde edilen kannabidiol (KBD), psikolojik etkileri olmayan bir bitkisel kannabinoiddir (Pertwee 2005). Halkalı yapıya sahip bu organik bileşik, tip 1 ve tip 2 kannabidiol reseptörlerine karşı zayıf affinite göstermektedir (Thomas vd. 2007).



Şekil 1.8 Kannabidiol moleküler yapısı.

Yapılan çalışmalar KBD'nin gastrointestinal bozukluk, diyabet, kanser, oksidatif stres ve inflamasyona karşı tedavi edici etkisi olduğunu ortaya koymaktadır (Booz 2011, Russo and Guy 2006). Ticari olarak satışa sunulan bu bitkisel kannabinoid özellikle inflamasyon, ağrı, huntington hastalığı ve skleroz tedavisinde kullanılmaktadır (Peat 2010, Valdeolivas vd. 2012, Lorente Fernandez vd. 2013, Naftali vd. 2013).

1.3.2.2 KBD'nin Hemodinamik Etkisi

KBD'nin hemodinamik etkisiyle ilgili literatürde çok az çalışmaya rastlanmaktadır. Walsh vd. (2010), gerçekleştirdikleri araştırmada hayvanları pentoharbital (60 mg/kg ip.) ile anestezi

etmiş ve iskemi reperfüzyon aritmi modelinde KBD uygulayarak (50 µg/kg), hipotansif etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

KBD'nin insanda kan basıncı ve kalp atımı üstünde herhangi bir hemodinamik etkisi olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Bergamaschi vd. 2011). Bu çalışmaların yanı sıra KBD'nin korku ve stresin etkisini azalttığını kanıtlayan (Resstell vd. 2006, 2009) ve stres durumunda KBD'nin kardiyovasküler yanıtı azaltabileceği, hipertansiyon ve ateroskleroz gelişimini önleyebileceğini öne süren çalışmalar da bulunmaktadır (Fouad ve Jresat 2011).

1.3.2.3 KBD'nin Kalp Koruyucu Etkisi

KBD'nin I/R sonrası meydana gelen miyokardiyal hasar üzerine olan etkisi iki çalışma ile araştırılmıştır. Durst vd. (2007) anestezi altındaki sıçanlarda kronik KBD tedavisinin iskemi/reperfüzyon hasarını azalttığını göstermişlerdir. Durst vd. (2007) KBD'nin kardiyovasküler etkisinin kalp üzerine olan direkt etkisine bağlı olmadığını sistemik antiinflamatuvar etkisi sonucu meydana geldiğini ileri sürmüşlerdir. Zira bu çalışmada KBD tedavisi izole sıçan kalbinde koruyucu etkili bulunmamıştır.

Walsh vd. (2010) ise KBD tedavisinin akut uygulanması halinde de anestezi altındaki sıçanlarda iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkili olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca bu çalışmada KBD tedavisinin iskemi periyodunda meydana gelen ventriküler aritmileri azalttığı ilk kez gösterilmiştir. Rajesh vd. (2010) farelerde yaptıkları çalışmada KBD'nin diyabetik kardiyomyopatiye görülen kardiyak fonksiyon bozukluğunu önlediğini göstermişlerdir.

BÖLÜM 2

MATERYAL METOD

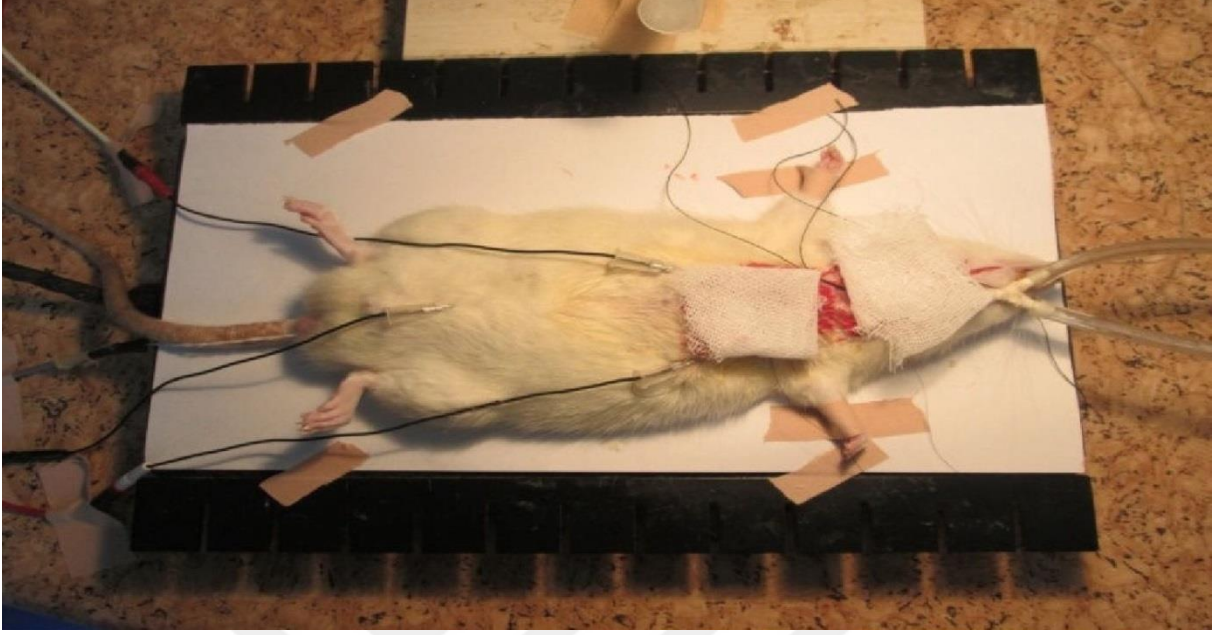
2.1 KULLANILAN HAYVANLAR

Bu çalışmada 250-300 gr. ağırlığında 38 adet Wistar albino türü sıçan kullanıldı. Deney hayvanları Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi'nden (Ankara/Türkiye) satın alındı. Hayvanlar sıcaklığı 21 ± 2 °C, nem oranı %40 -%65 ve 12 saat aydınlık/karanlık döngüsü olan bir odada tutuldu. Standart pelet yem ile beslenerek istedikleri kadar şebeke suyu verildi. Bu çalışmada uygulanan tüm deneysel operasyonlar Zonguldak BEÜ Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (protokol no: 2016-84906727-04).

2.2 CERRAHİ İŞLEMLER

Cerrahi işlemler Bozdoğan ve ark. (2004) tanımladığı gibi yapıldı. Üretan (1,5 g/kg, ip) ile anestezi edilen hayvanlar iskemi ve reperfüzyon sırasında rektal sıcaklık kontrollü ısı tablası üzerine yerleştirildi ve vücut sıcaklıkları 37 ± 1 °C'de sabit tutuldu (Deney hayvanı operasyon masası, model 9404-A; Commat Ltd, Ankara, Türkiye). Suni solunum ve arteriyal kan basıncı ölçümü için trake ve sağ karotid arter kanülasyonu yapıldı (kan basınç ölçüm cihazı, SS 13 L; Biopac Sistemleri, Kaliforniya, ABD). Deney süresince elektrokardiyogram (EKG) (derivasyon II) ve arteriyal kan basıncı monitörize edilerek deney sonunda kayıt edildi (Veri ölçüm ve analiz sistemi MP 35; Biopac sistemleri, Kaliforniya, ABD). Göğüsün sol tarafında dördüncü ve beşinci kaburgalar kesilerek torakotomi yapıldı. Suni solunumu sağlamak için hayvanlar sıçan solunum cihazına bağlandı (Life Science, Kaliforniya, ABD, hız: 60 atım/dk, hacim: 1,5 ml/100 g;). Perikard açıldıktan sonra kalp nazikçe dışarı alındı. Aort köküne yaklaşık 2-3 mm uzaklıktan sol koroner arter (LAD) altından 5/0'lık ipek sutur geçirildi. Kalp tekrar yerine konulduktan sonra stabil olması için 10 dakika beklenildi. Bu periyot sırasında ortalama arteriyal kan basıncı 70 mmHg'nın altında olan veya ligasyon öncesi ventriküler aritmisi olan hayvanlar deney dışı bırakıldı. Kalp hızı ve kan basıncı stabilizasyonundan sonra

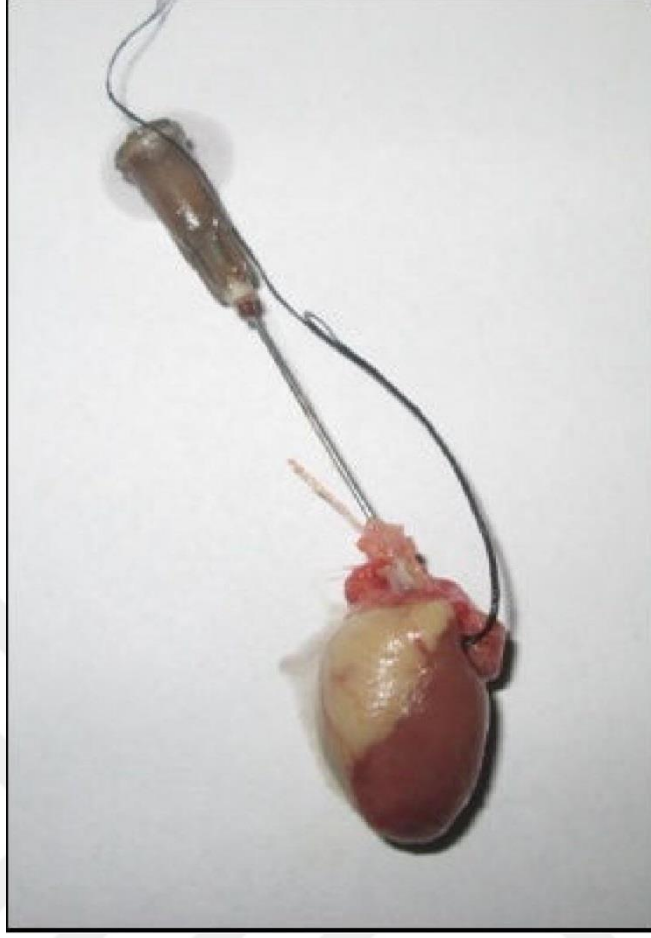
LAD çevresinden geçirilen ipek suturun serbest olan uçları fiyonk yapılarak bağlandı. 6 dakika iskemi sonrası fiyonk gevşetilerek 6 dakika reperfüzyon yapıldı.



Şekil 2.1 Cerrahi operasyondan sonra ligasyon işlemi uygulanmadan önce anestezi altındaki bir sıçan.

2.3 RİSK ALANININ ÖLÇÜLMESİ

Reperfüzyon periyodu sonunda kalp çıkarıldı ve aort kanüle edildi. Koroner damarlar 37 C° de 10 mL serum fizyolojik (SF) çözeltisi ile yıkandı. Risk alanını belirlemek için sol koroner arter tekrar bağlandı ve %96'lık 2 mL etanol ile kalp perfüze edildi. Kalbin iskemik olmayan bölgesi etanol ile tamamen perfüze oldu ve beyaz bir renk aldı. Etanol ile perfüze olmayan bölge kırmızı (orijinal doku rengi) renkte kaldı ve risk alanı olarak belirlendi. Bu iki bölge arasındaki sınır kesilerek risk alanı kalbin geri kalan diğer kısmından ayrıldı. Risk alanı ve toplam ventrikül ağırlıkları tartıldı. Risk alanının toplam ventrikül ağırlığına oranı yüzde olarak hesaplandı (Vajda vd. 2007). Koroner arter oklüzyonunun başarıyla yapıldığı tüm sıçanlarda, EKG üzerinde ST-segmentinde yükselme ve QRS boyunda artış ile birlikte arteriyel kan basıncında pre-iskemik değerlerle karşılaştırıldığında %20 - %40'lık bir azalma görüldü. Risk alanı %40'dan daha az olan denekler değerlendirme dışı bırakıldı. Başarılı reperfüzyon işlemi sonrası ise tüm sıçanlarda ST-segment yükselmesi ortadan kalktı ve ortalama arteriyel kan basıncında (OAKB) tekrar bir artış olduğu gözlemlendi. Buna göre 11 hayvan değerlendirme dışı bırakıldı.



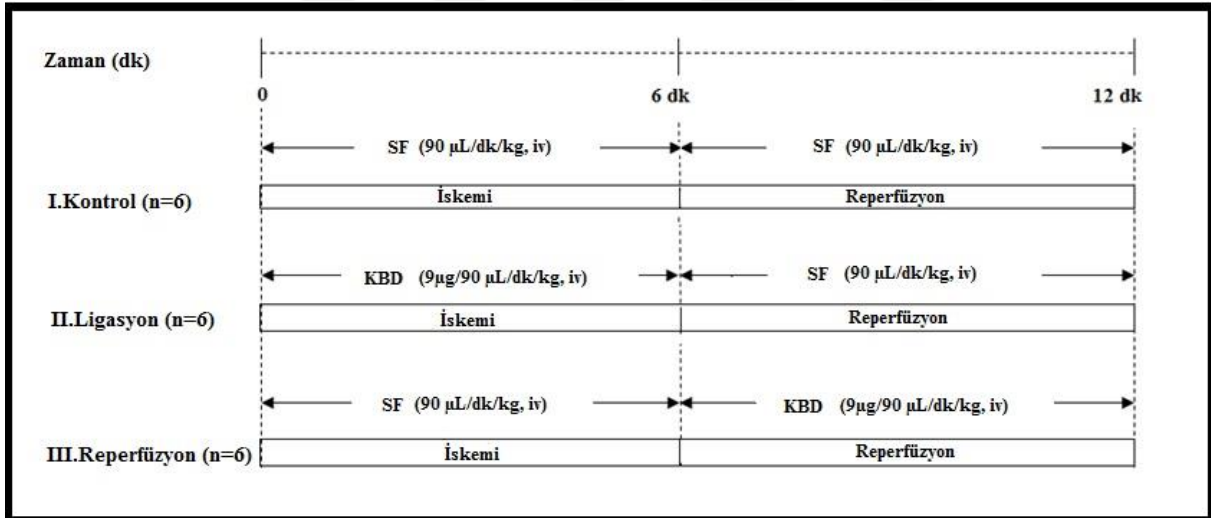
Şekil 2.2 Alkolle perfüze edildikten sonra görüntülenen bir kalp dokusu. Doku renginde olan bölge risk alanıdır. Beyaz bölge alkolle perfüze olan doku.



Şekil 2.3 Risk bölgesi ve perfüze olan bölgenin ayrılmış görüntüsü. Alkol perfüzyonundan sonra doku renginde görünen bölge (A) ile beyaz renkte kalan bölgenin (B) birbirinden ayrıldıktan sonraki görüntüsü.

2.4 DENEY GRUPLARI VE İLAÇLARIN UYGULANMASI

Rastgele seçilen sıçanlar üç gruba ayrıldı: (1) Kontrol, (2) Ligasyon KBD (9 µg/90 µL/dk/kg), (3) Reperfüzyon KBD (9 µg/90 µL/dk/kg) (Şekil 1). KBD Enzo-Life Sciences firmasından satın alındı (No: ALX-430-152, Farmingdale, New York). İlaç içeren çözeltiler günlük olarak hazırlandı. KBD ve çözücüsü olan SF çözeltisi femoral venden infüzyon pompası (Enzo-Life Sciences; ALX-430-152, Farmingdale, New York) kullanılarak verildi. Kontrol grubuna SF çözeltisi (90 µL/dk/kg), iskemi ve reperfüzyon boyunca verildi. Ligasyon KBD ve reperfüzyon KBD gruplarında ise sırasıyla reperfüzyon ve ligasyon periyotlarında verildi. KBD, 9 µg/90µL/dk/kg dozda Ligasyon KBD ve reperfüzyon KBD gruplarında sırasıyla ligasyon ve reperfüzyon periyotlarında altı dakika boyunca verildi. Bu çalışmada uygulanan KBD dozu (6 dk'lık periyot için infüzyon ile 9 µg/90µL/dk/kg) toplamda 50 µg/kg olacak şekilde hesaplandı. Bu doz (50 µg/kg) ise önceki çalışmalar temel alınarak seçildi (Walsh vd. 2010, Gonca ve Darıcı 2015). (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Deney gruplarında ilaç ve çözücü uygulama protokolleri. [(KBD: Kannabidiol, SF: Serum fizyolojik)] (Çizen: Gülselin Başoğlu 2019).

2.5 ARİTMİ ANALİZİ

EKG ve kan basıncı kayıtlarından iskemi ve reperfüzyon periyotları boyunca ortalama arteriyel kan basıncı (OAKB) ve kalp atım hızı parametreleri analiz edildi (Veri ölçüm ve analiz sistemi MP35; Biopac sistemleri, Kaliforniya, ABD). Aritmiler her iki periyottada Lambeth Anlaşmasına göre ventriküler fibrilasyon (VF), ventriküler taşikardi (VT) ve

ventriküler prematüre kasılma (VPK) olarak belirlendi (Walker vd. 1988). Aritmi şiddetinin bir göstergesi olarak (aritmi skoru) aşağıdaki skalaya göre her hayvana bir derece verildi (Lepran vd. 1983).

Buna göre: 0) aritmi yok; 1) 10 saniyeden daha az süreli VPK ve/veya VT, VF yok; 2) 11-30 saniye arasında VPK ve/veya VT, VF yok; 3) 31-90 saniye arasında VPK ve/veya VT, VF yok; 4) 91-180 saniye arasında VPK ve/veya VT yada 10 saniyeden daha az süreli VF; 5) 180 saniyeden daha uzun süreli VPK ve/veya VT yada 10 saniyeden uzun süreli VF; 6) Dönüşümsüz VF. Tüm gruplarda aritmik atakların sıklığı, aritmi tiplerinin süresi, toplam aritmi süresi ve ölüm oranı hesaplandı.

2.6 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler GraphPad Prism 5 kullanılarak analiz edildi (GraphPad yazılımı, versiyon II, La Jolla, Kaliforniya). Aritmi sıklığı ve ölüm oranının istatistiksel analizi için Fisher kesinlik testi kullanıldı. Diğer tüm veriler ortalama \pm standart hata olarak verildi. Kalp atımı, kan basıncı, aritmi süreleri, aritmi skoru gibi parametrik verilerin analizinde Tek Yönlü Varyans analizi ve Dunnet post-hok testi kullanıldı. *P* değerleri 0.05'ten küçük olan karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



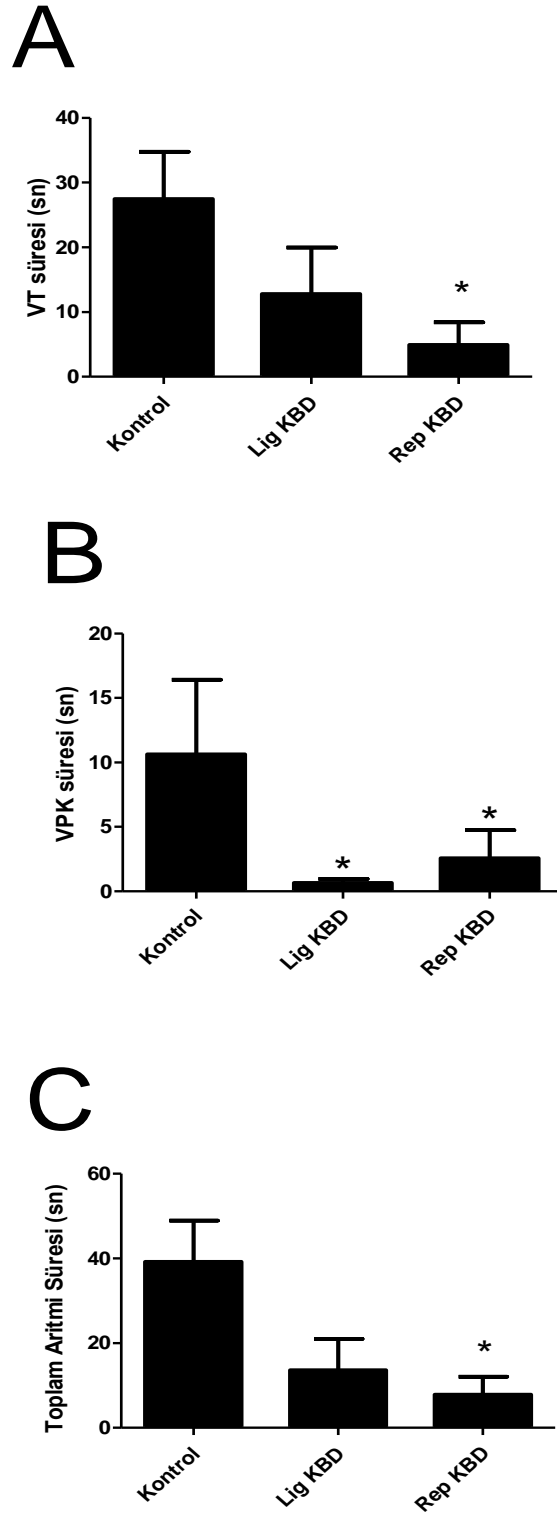
BÖLÜM 3

BULGULAR

İlaç uygulamaları ligasyon öncesi, iskemi ve reperfüzyon periyotlarında ölçülen ortalama arteriyal kan basıncı (OAKB) değerleri üzerine anlamlı bir etki göstermemiştir (Çizelge 3.1). Benzer şekilde ilaç uygulamaları ligasyon öncesi, iskemi ve reperfüzyon periyotlarında ölçülen kalp atımı değerlerini de değiştirmemiştir (Çizelge 3.2).

Deneklerde ölçülen risk alanları gruplar arasında farklılık göstermemiştir (Kontrol: 49 ± 3 , KBD-LG: 50 ± 3 , KBD-REP: 52 ± 2). Ligasyon periyodunda perfüzyonla KBD verilen grupta, ölüm oranı kontrole göre farklılık göstermemiştir. Ligasyon periyodunda perfüzyonla KBD verilen grupta, ligasyon boyunca kayıt edilen aritmi tiplerinin görülme sıklığı kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Benzer şekilde ligasyonda KBD verilen grupta; ligasyon periyodunda ölçülen aritmi tiplerinin süreleri kontrole göre farklılık göstermemiştir (Çizelge 3.3).

Ligasyon periyodunda infüzyon ile verilen KBD aritmi sürelerini kontrole göre değiştirmez iken, reperfüzyon periyodu boyunca ölçülen VPC süresini kontrole göre anlamlı azaltmıştır. Ligasyon ve reperfüzyonda verilen KBD reperfüzyon periyodunda gözlenen aritmi tip ve sürelerine göre belirlenen aritmi skorunu kontrole göre azaltmıştır. Ancak bu azalma anlamlı ölçüde gerçekleşmemiştir. Reperfüzyon periyodu sonunda gerçekleşen ölüm oranları gruplar arasında farklılık göstermemiştir. Ligasyon boyunca verilen KBD reperfüzyonda ölçülen aritmi sıklığı ve ölüm oranını kontrole göre değiştirmemiştir. Reperfüzyonda verilen KBD reperfüzyon boyunca ölçülen VT, VPK ve toplam aritmi sürelerini kontrole göre anlamlı azaltmıştır (Çizelge 3.4).



Şekil 3.1 Kannabidiol'ün reperfüzyonla uyarılan ventriküler aritmi süreleri üzerine etkileri. VT: Ventriküler taşikardi, VPK: Ventriküler prematüre kasılma. Lig KBD: Ligasyon boyunca kannabidiol verilen grup. Rep KBD: Reperfüzyon boyunca kannabidiol verilen grup.

Çizelge 3.1 İlaç uygulamalarının ligasyon öncesi ve iskemi reperfüzyon periyotlarında ölçülen ortalama arteriyel kan basıncı (mmHg) değerlerine etkisi.

Ortalama Arteriyel Kan Basıncı (mmHg)	I. Kontrol	II. KBD-LG	III. KBD-REP
Zaman(dk.)			
0 (bazal)	79±5	81±5	79±6
1 (lig 1dk.)	62±8	73±5	65±4
3 (lig 3 dk.)	61±7	67±7	56±7
5 (lig 5 dk.)	56±6	63±7	58±6
1 (rep 1 dk.)	65±5	65±6	55±8
3 (rep 3 dk.)	62±5	61±7	55±7
5 (rep 5 dk.)	58±5	60±8	54±7

Lig: Ligasyon, **Rep:** Reperfüzyon, **KBD:** Kannabidiol.

Çizelge 3.2 İlaç uygulamalarının ligasyon öncesi ve iskemi reperfüzyon periyotlarında ölçülen kalp atımı (atım/dakika) değerlerine etkisi.

Kalp Atımı	I. Kontrol	II. KBD-LG	III. KBD-REP
Zaman (dk.)			
0 Bazal	393±25	388±27	400±20
1 (lig 1dk)	362±33	401±28	386±22
3 (lig 3 dk.)	358±33	380±34	336±47
5 (lig 5 dk.)	350±38	370±34	352±48
1 (rep 1 dk.)	403±13	386±25	332±36
3 (rep 3 dk.)	387±17	368±29	346±23
5 (rep 5 dk.)	383±18	363±26	354±18

Lig: Ligasyon, **Rep:** Reperfüzyon, **KBD:** Kannabidiol, **KBD-LG:** Ligasyonda verilen KBD, **KBD-REP:** Reperfüzyonda verilen KBD.

Çizelge 3.3 İlaç tedavilerinin iskemi periyodu boyunca görülen aritmiler üzerine etkisi.

Gruplar	N	Risk Bölgesi (%)	Ölüm Oranı (N/%)	Aritmilerin görülme sıklığı (N/%)			Aritmi Süreleri (sn)			
				VF	VT	VPK	VF	VT	VPK	Toplam
Kontrol	9	49±3	3/33	0/0	1/11	8/89	0	0	2±1	2±1
KBD-LG	9	50±3	3/33	2/25	3/38	8/100	6±5	1±1	3±1	10±5

n: Ligasyon öncesi hayvan sayısı

N: Ligasyon periyodundan sonra ölen hayvan sayısı. **N:** Aritmilerin görülme sayısı **VF:** ventriküler fibrilasyon; **VT:** ventriküler taşikardi; **VPK:** Ventriküler prematüre kasılma, ekstra sistol, salvos, bigemini; **Toplam:** VF, VT ve diğer tip aritmilerin toplam uzunluğu. *P<0.05 kontrole göre.

Çizelge 3.4 İlaç tedavilerinin reperfüzyon periyodu boyunca görülen aritmiler üzerine etkisi.

Gruplar	N	Risk Bölgesi (%)	Ölüm Oranı (N/%)	Aritmilerin görülme sıklığı (N/%)			Aritmi Süreleri (sn)				Aritmi Skoru
				VF	VT	VPK	VF	VT	VPK	Total	
Kontrol	9	46±3	3/33	0/0	5/56	9/100	1±1	27±7	11±6	39±10	2.8±0.4
KBD-LG	9	50±3	3/33	0/0	4/50	6/67	0.1±0.1	13±7	0.7±0.3*	14±7	1.6±0.6
KBD-REP	9	48±3	3/33	0/0	3/33	9/100	0.1±0.1	5±4*	0.4±0.1*	8±4*	1.8±0.4

n: Ligasyon öncesi hayvan sayısı

N: Ligasyon periyodundan sonra ölen hayvan sayısı. **N:** Aritmilerin görülme sayısı **VF:** Ventriküler fibrilasyon; **VT:** Ventriküler taşikardi; **VPK:** Ventriküler prematür kasılma, ekstra sistol, salvos, bigemini; **Toplam:** VF, VT ve diğer tip aritmilerin toplam uzunluğu.

*P<0.05 kontrole göre. Değerler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir.

BÖLÜM 4

TARTIŞMA

Çalışmamızdan elde edilen bulgular 50 µg/kg toplam dozda KBD'nin reperfüzyonla uyarılan ventriküler aritmileri baskıladığını göstermektedir. Bu sonuçlar Gonca ve Darıcı (2015)'nin yaptıkları çalışmanın sonuçlarını doğrulamaktadır. Gonca ve Darıcı (2015) 50 µg/kg dozda iskemiden önce bolus olarak verdikleri KBD'nin reperfüzyon periyodunda kayıt edilen ventriküler aritmileri azalttığını göstermişlerdir. Bu çalışmada kannabidiol'ün antiaritmik etkisi adenozin A₁ reseptör aktivasyonuna bağlı olabileceği ileri sürülmüştür.

Walsh vd. (2010) anestezi altındaki sıçanlarda yaptıkları çalışmada iskemiden önce verilen 50 µg/kg dozda KBD'nin iskemi aritmelerini azalttığını göstermiştir. Bu etki KBD'nin antiplatelet etkinliğine bağlanmıştır. Bununla birlikte tez sonuçlarımızdan farklı olarak Walsh vd. (2010) KBD'nin reperfüzyon aritmelerinin azaltmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamız ile Walsh vd. (2010) yaptıkları çalışmadan elde edilen bulgulardaki farklılık reperfüzyon periyodundan önce uygulanan iskemi periyodunun uzunluğunun farklı olmasına bağlı olabilir. Walsh vd. (2010) çalışmasında uygulanan 30 dk'lık iskemi periyodu kontrol hayvanlarında yeterli sayıda ventriküler aritmi oluşumuna neden olmadığından KBD'nin reperfüzyon aritmelerine olan etkisini test etmek için uygun olmayabilir. Sıçanlarda etken maddelerin reperfüzyon ile uyarılan aritmiler üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarda reperfüzyondan önce uygulanan iskemi periyodunun uzunluğu genellikle 5, 6 ve 7 dk olarak uygulanmıştır (Vajda vd. 2007, Ek vd. 2008, Otani vd. 2013). Çalışmamızda KBD'nin özellikle reperfüzyon ile uyarılan aritmilere olan etkisi araştırılmıştır. Bu nedenle iskemi periyodunun uzunluğu önceki çalışmalarımızda kontrol gruplarında şiddetli reperfüzyon aritmelerine neden olan 6 dk olarak seçilmiştir (Gonca ve Bozdoğan 2010, Gonca 2013).

Çalışmamızda toplam 50 µg/kg olmak üzere 9 µg/90µL/dk/kg dozda infüzyonla KBD uygulaması iskemi reperfüzyonda kayıt edilen kap atımı ve OAKB'nı üretan ile anestezi edilen sıçanlarda (1,5 g/kg, ip) etkilememiştir. Walsh vd. (2010) ise yaptıkları çalışmada

pentobarbitol ile anestezi edilen sıçanlarda (60 mg/kg) bolus olarak 50 µg/kg dozda verilen KBD'nin iskemi öncesi ve iskemik periyotta kalp atımı ve OAKB'yi azalttığını göstermişlerdir. Sonuçlardaki farklılığın olası nedenleri kullanılan farklı anesteziik maddeler ve/veya KBD'nin verilmiş yoluyla açıklanabilir.

Bu çalışmada ilk kez iskemiden sonra reperfüzyon boyunca infüzyonla 9 µg/90µL/dk/kg (toplam doz 50 µg/kg) dozda verilen KBD'nin antiaritmik etkili olduğunu gösterilmiştir. Benzer şekilde Walsh vd. (2010) iskemi sonrası reperfüzyondan hemen önce bolus olarak verilen KBD'nin iskemi/reperfüzyon hasarını azalttığını bildirmişlerdir. Serbest oksijen radikal (SOR) oluşumu reperfüzyon aritmilerinin meydana gelmesinde başlıca rolü oynamaktadır (Birben vd. 2012). Reperfüzyon sonucu iskemik dokuda oksijen konsantrasyonundaki artış ve yoğun polimorf çekirdekli nötrofil infiltrasyonuna bağlı olarak serbest oksijen radikal üretimi gerçekleşir (Rao vd. 1983). Dokudan salınan sitokinler inflamatuvar reaksiyonları ve SOR üretimini artırıp oksidatif strese neden olur ve aritmi artışında rol oynayan sitotoksik mekanizmaları aktive eder (Hausenloy ve Yellon 2013, Brown ve Griendling 2015). KBD'nin antioksidan ve antiinflamatuvar etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Bergamaschi vd. 2011). Çalışmamızda iskemi sonrası reperfüzyonda verilen KBD'nin reperfüzyon aritmilerine karşı gösterdiği antiaritmik etki KBD'nin antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerine bağlı olabilir (Rajan vd. 2016). Benzer şekilde, Durst vd. (2007) kronik KBD tedavisinin miyokardiyal hasarı azaltıcı etkisinin, KBD'nin miyokardiyumda inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve serum interleükin-6 seviyelerini azaltarak antiinflamatuvar etki göstermesine bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Antiinflamatuvar antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkileri iyi bilinen birçok farklı molekülün reperfüzyon ile uyarılan aritmilere karşı koruyucu etkili olduğu bildirilmiştir (Gonca ve Kurt 2015, Tada vd. 1990, Diez vd. 2013).

Çalışmamızda iskemi boyunca infüzyonla 50 µg/kg dozda verilen KBD, VPK süresini azalttı. Ancak toplam aritmi süresi ve VT süresini değiştirmedi. KBD iskemi boyunca verildiğinde reperfüzyon periyodu boyunca verildiğinde göstermiş olduğu güçlü antiaritmik etkiyi göstermedi. Bu sonuç iskemi ve reperfüzyon aritmilerinin oluşum mekanizmalarındaki farklılıkla açıklanabilir. Serbest oksijen radikal oluşumu ve inflamasyona bağlı oksidatif stres reperfüzyon aritmilerinin oluşumunda başlıca rol oynarken iskemi aritmilerinin oluşumunda daha az etkindir (Sedlis 1992). Çalışmamızda KBD'nin olası antiaritmik mekanizması sahip

olduğu antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerine bağlı olabilir. Bu nedenle KBD aritmi oluşumunda oksidatif stresin daha fazla rol oynadığı reperfüzyon periyodunda daha güçlü bir antiaritmik etki göstermiş olabilir.





BÖLÜM 5

SONUÇLAR

Kalp krizi geçirerek hastaneye kaldırılan hastalarda anjio ve antitrombolitik tedavi sonrasında iskemik dokuda gerçekleştirilen reperfüzyon ölümcül ventriküler aritmilere neden olarak hasta ölümlerine yol açmaktadır. Bu nedenle reperfüzyon aritmilerinin etkili tedavisi hasta ölümlerini azaltmak için büyük önem arz etmektedir. Ancak klinik uygulamaya aktarılabilmesi için aday ilaçların iskemiden hemen sonra reperfüzyondan önce verildiğinde de ventriküler aritmilere karşı koruyucu etkili olmalıdır. Önceki çalışmamızda KBD iskemiden önce verildiğinde reperfüzyon aritmilerini azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada ise sıçanlarda reperfüzyon boyunca infüzyon ile verilen KBD'nin güçlü antiaritmik etkili bulunması klinik uygulamada reperfüzyon aritmilerinin tedavisinde kullanılabileceğini göstermektedir. KBD klinikte tedavide kullanılıyor olması, antiaritmik bir ilaç olarak reperfüzyon aritmilerinin tedavisinde de kullanılabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu sonuçların klinik uygulamaya aktarılabilmesi için farklı deney hayvanlarında tekrarlanarak klinik ön çalışmalarının yapılması gerekmektedir.



KAYNAKLAR

- Abdel-Kawy H S** (2015). Chronic pantoprazole administration and ischemia—reperfusion arrhythmias in vivo in rats—antiarrhythmic or arrhythmogenic? *Cardiovascular Therapeutics*, 33 (2): 27-34.
- Akkoç H** (2008). Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Dicle Tıp Dergisi*, 35 (3): 211-215.
- Baxter AJ** (2002). Diastolic heart failure in older people—myth or lost tribe. *Clin Med*, 2;539-543.
- Begg M, Pacher P, Bátkai S, Osei-Hyiaman D, Offertáler L, Mo F M, Liu J and Kunos G** (2005). Evidence for novel cannabinoid receptors. *Pharmacol Therapeutics*, 106: 133-145.
- Bergamaschi M M, Queiroz R H, Zuardi A W and Crippa J A** (2011). Safety and side effects of cannabidiol, a Cannabis sativa constituent. *Current Drug Safety*, 6 (4): 237-249.
- Birben E, Sahiner U M, Sackesen C, Erzurum S and Kalayci O** (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5 (1): 1.
- Bisogno T, Hanus L, De Petrocellis L, Tchilibon S, Ponde D E, Brandi I, Moriella A S, Davis J B, Mechoulom R and Di Marzo V** (2001). Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. *British Journal of Pharmacology*, 134 (4): 845-852.
- Black S C** (2000). In vivo models of myocardial ischemia and reperfusion injury. *Journal Pharmacological Toxicological Methods*, 43: 153-167.
- Boerma E, Mercado N, Poldermans D, Gardien M, Vos J and Simoons M L** (2003). Acute Myocardial Infarction. *The Lancet*, 42: 361-362.
- Bolli R, Jeroudi M O and Patel B S** (1989). Direct evidence that oxygen-derived free radicals contribute to postischemic myocardial dysfunction in the intact dog. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86: 4695- 4699.
- Bonnemeier H, Wiegand U K, Giannitsis E, Hartman F, Kurowski V, Bode F and Katus H A** (2003). Temporal repolarization inhomogeneity and reperfusion arrhythmias in patients undergoing successful primary percutaneous coronary intervention for acute ST-segment elevation myocardial infarction: impact of admission troponin T. *American Heart Journal*, 145 (3): 484-492.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Booz G W** (2011) Cannabidiol as an emergent therapeutic strategy for lessening the impact of inflammation on oxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine*, 51: 1054-1061.
- Bozdoğan Ö and Bölükbaşı F** (1994). The arrhythmias occurring in the late period of experimentally induced myocardial infarction in dogs. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 8: 17-151.
- Bozdoğan Ö, Gonca E, Suveren E and Gökçe F** (2004). Mechanism of glibenclamide mediated anti arrhythmic and ischemic conditioning in a rat model of myocardial infarction: role of yohimbine treatment. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 34: 21-27.
- Brown D L and Griendling K K** (2015). Regulation of signal transduction by reactive oxygen species in the cardiovascular system . *Circulation Research*, 116 (3): 531-549.
- Buja L M** (1991). Lipid abnormalities in myocardial cell injury. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 1: 40-41.
- Cota D and Woods S C** (2005). The role of the endocannabinoid system in the regulation of energy homeostasis. *Experimental and Clinical Endocrinology*, 12: 338-351.
- Cota D, Marssicano G N and Tschop M** (2003). The endogenous cannabinoid system effects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *Journal of Clinical Investigation Insight*, 112: 423-431.
- Cranefield P F and Wit A L** (1979). Cardiac Arrhythmias. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 41: 459-472.
- Depre C and Taegtmeyer H** (2000). Metabolic aspects of programmed cell survival and cell death in the heart. *International Journal of Cardiovascular Research*, 45: 538-548.
- Deree J, Lall R, Melbostad H, Grant M, Hoyt D B and Coimbra R** (2006). Neutrophil degranulation and the effects of phosphodiesterase inhibition. *Journal of Surgical Research*, 133 (1): 22-28.
- Diez E R, Renna N F, Prado N J, Lembo C, Ponce Zumino A Z, Vazquez-Prieto M and Miatello R M** (2013). Melatonin, given at the time of reperfusion, prevents ventricular arrhythmias in isolated hearts from fructose-fed rats and spontaneously hypertensive rats. *Journal of Pineal Research*, 55 (2): 166-173.
- Drummond G L and Severson D L** (1979). Cyclic nucleotides and cardiac function. *Circulation Research*, 44: 145-153.
- Durst R, Danenberg H, Gallily R, Mechoulam R, Meir K, Grad E, Beeri R, Pugatsch T, Tarsish E and Lotan C** (2007). Cannabidiol, a nonpsychoactive Cannabis constituent, protects against myocardial ischemic reperfusion injury. *American Journal of Physiology*, 293 (6): 3602-3607.
- Eefting F, Rensing B, Wigman J, Pannekoek W J, Liu W M, Cramer M J, Lips D J and Doevendans P A** (2004). Role of apoptosis in reperfusion injury. *International Journal of Cardiovascular Research*, 15: 414-426.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ek R O, Yildiz Y, Cecen S, Yenisey C and Kavak T** (2008). Effects of tamoxifen on myocardial ischemia–reperfusion injury model in ovariectomized rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 308 (1-2): 227-235.
- El-Alfy A, Ivey K, Robinson K, Ahmed S, Radwan M, Slade D, Khan I, El-Sohly M and Ross S** (2010). Antidepressant-like effect of [Delta]9-tetrahydrocannabinol and other cannabinoids isolated from Cannabis sativa L. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 95: 434-442.
- Escande D and Coraboeuf E** (1985). Cellular electrophysiology of abnormal automaticity foci. *Archives des maladies du coeur et des vaisseaux*, 78(13):1969-77.
- Ferrier F L** (1973). Direct coronary revascularization. *Journal of the Medical Association of Georgia*, 62: 269-270.
- Fosfar J C, Rusell D C and Riemersma R A** (1985). Control of myocardial catecholamine release during acute ischemia. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 7: 33-39.
- Fouad A A and Jresat I** (2011). Therapeutic potential of Cannabidiol against ischemia/reperfusion liver injury in rats. *European Journal of Pharmacology*, 670: 216-223.
- Gaztañaga L, Marchlinski F E and Betensky B P** (2011). Mechanisms of cardiac arrhythmias. *Revista Española de Cardiología*, 65 (2): 174-185.
- Godin D, SamPeu N and Nadeau R** (1984). Catecholamine release and ventricular arrhythmias during coronary occlusion and reperfusion in the dog. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 63: 1088-1095.
- Gonca E and Bozdoğan O** (2010). Both mitochondrial KATP channel opening and sarcolemmal KATP channel blockage confer protection against ischemia/reperfusion induced arrhythmia in anesthetized male rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 15 (4): 403-411.
- Gonca E and Darıcı F** (2015). The effect of cannabidiol on ischemia/reperfusion-induced ventricular arrhythmias: the role of adenosine A1 receptors. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 20 (1): 76-83.
- Gonca E and Kurt Ç** (2015). Cardioprotective effect of Thymoquinone: A constituent of Nigella sativa L.. against myocardial ischemia/reperfusion injury and ventricular arrhythmias in anaesthetized rats. *Pakistan Journal Pharmacology Sciences*, 28 (4): 1267-1273.
- Gonca E** (2013). The effects of zileuton and montelukast in reperfusioninduced Arrhythmias in anesthetized rats. *Current Therapeutic Research, Clinical and Experimental*, 75: 27-32.
- Gross G J, Kersten J R and Wartier D C** (1999). Mechanisms of postischemic contractile dysfunction. *The Annals of thoracic surgery*, 68: 1898-1904.
- Hausenloy D J and Yellon D M** (2013). Myocardial ischemia-reperfusion injury: a therapeutic target. *Journal of Clinical Investigation*, 123 (1): 92-100.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Herkenham M, Lynn A B, Little M D, Johnson M R, Melvin L S and De Costa B R** (1990). Cannabinoid receptor localization in brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87: 1932-1936.
- Hoffman B F and Rosen M R** (1981). Cellular mechanisms for cardiac arrhythmias. *Circulation research*, 49: 1-14.
- İskit A B and Güç M O** (1996). Comparison of sodium pentobarbitane and urethane anaesthesia in rat model of coronary artery occlusion and reperfusion arrhythmias: Interaction with L-NAME. *Journal of Biochemical and Pharmacological Research*, 33: 13-18.
- Jordan J E, Zhao Z Q and Vinten-Johansen J** (1999). The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovascular Research*, 43: 860-878.
- Klabunde R E** (2011). *Cardiovascular Physiology Concepts*, 978-0-07-183301-1, Lippincott Williams & Wilkins, USA, 21.
- Kramer J H, Mısıık V and Weblicki W B** (1994). Lipid peroxidation-derived free radical production and post ischemic myocardial reperfusion injury. *The New York Academy of Sciences*, 723: 180-183.
- Lazzorino G, Raatikainen P, Nuutinen M, Nissinen J, Tavazzi B, Di Pierro D and Giardina B** (1994). Myocardial release of malondialdehyde and purine compounds during coronary bypass surgery. *Circulation*, 90: 291-297.
- Lepran I, Koltai M, Siegmund W and Szekeres L** (1983). Coronary artery ligation, early arrhythmias, and determination of the ischemic area in conscious rats. *Journal of Pharmacological Methods*, 9 (3): 219-230.
- Lionel H O and Dphil M D** (1998). *The Heart: physiology, from Cell to Circulation*, 3rd edition. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 978-0781742788, 954-1024.
- Lorente Ferna´ndez L, Monte Boquet E, Pe´rez-Miralles F, Gil Gomes I, Bosca Blasco and Casanova-Estruch B** (2013). Clinical experiences with cannabinoids in spasticity management in multiple sclerosis. *Neurologia*, 10: 213-4853.
- Luqman N, Sung R J, Wang C L and Kuo C T** (2007). Myocardial ischemia and Ventricular fibrillation: Pathophysiology and clinical implications. *International Journal of Cardiology*, 119: 283-290.
- Mattes R D, Engelman K, Shaw L M and Elsohly M A** (2007). Cannabinoids and appetite stimulation. *Pharmacology Biochemistry Behavior*, 49: 187-195.
- Mechoulam R and Parker L A** (2013). The endocannabinoid system and the brain. *Annual Review of Psychology*, 64: 21-47.
- Moensa A L, Claeysa J P and Timmermansb C J** (2005). Myocardial ischemia/reperfusion injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *International Journal of Cardiology*, 20: 179-190.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Naftali T, Bar-Lev S L, Dotan I, Lansky E P, Sklerovsky Benjaminov F and Konikoff F M** (2013). Cannabis induces a clinical response in patients with Crohn's disease: a prospective placebo-controlled study. *Clinical Gastroenterology Hepatology*, 11 (10): 1276-1280.
- Otani N, Matsuda R, Oda K, Nishino S, Inoue T and Kaneko N** (2013). Protective effect of K201 on isoproterenol-induced and ischemic-reperfusion-induced ventricular arrhythmias in the rat: comparison with diltiazem. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 18 (2): 184-190.
- Özgen Ü, Özerol E and Aminci M** (2007). Relationship between activation and apoptosis in platelets. *Turkish journal of haematology : official journal of Turkish Society of Haematology*, 24(4): 171-6.
- Pacher P, Bátkai S and Kunos G** (2006). The Endocannabinoid System as an Emerging Target of Pharmacotherapy. *Pharmacology Review*, 58: 389-462.
- Peat S** (2010). Using cannabinoids in pain and palliative care. *International Journal of Palliative Nursing*, 16 (10): 481-485.
- Perdicaro D J, Rodriguez Lanzi C, Fontana A R, Antonioli A, Piccoli P, Miatello R M, Diez E R and Vazquez Prito M A** (2017). Grape pomace reduced reperfusion arrhythmias in rats with a high-fat-fructose diet. *Food & Function*, 8 (10): 3501-3509.
- Pertwee R G** (2005). Pharmacological actions of cannabinoids. *Cannabinoids*, 12: 1-51.
- Phibbs B.** (1969). Paroxysmal Atrial Tachycardia with Block Around the Ectopic Pacemaker: Report of a Case. *Circulation*, 28: 949-950.
- Rao AK, Sinha AK, Willis J and Colman RV** (1983). Inhibition of thromboxane A2 synthesis in human platelets by coagulation factor Xa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 80(19): 6086-90.
- Rajan T S, Giacoppo S, Iori S, De Nicola G R, Grassi G, Pollastro F, Bramanti P and Mazzon E** (2016). Anti-inflammatory and antioxidant effect of a combination of cannabidiol and moringin in LPS-stimulated macrophages. *Fitoterapia*, 112: 104-15.
- Rajesh M, Mukkopadhyay P, Batakai S, Patel V, Saito K, Matsumoto S, Kashiwaya Y, Horvath B, Mukkopadhyay B, Becker L, Hasko G, Liaudet L, Wink DA, Veves A, Mechoulam R and Pacher P** (2010). Cannabidiol attenuates cardiac dysfunction, oxidative stress, fibrosis, inflammatory and cell death signaling pathways in diabetic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*, 56: 2115-2125.
- Reimer K A, Richard V J, Murrly C E and Ideker R E** (1987). Myocardial Ischemia and Infarction: Anatomic and Biochemical Substrates for Ischemic Cell Death and Ventricular Arrhythmias. *Human Pathology*, 18: 462-475.
- Resstel L B, Joca S R, Moreire F A, Correa F M and Guimaraes F S** (2006). Effects of cannabidiol and diazepam on behavioral and cardiovascular responses induced by contextual conditioned fear in rats. *Behavior Brain Research*, 172: 294-298.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Restell L B, Tavares R F, Lisboa S F, Joca S R,Correa F M and Guimaraes F S** (2009). 5-HT_{1A} receptors areinvolvedin the cannabidiol- induced attenuation of behavioural and cardiovascular responses to acute restraint stress in rats. *British Journal of Pharmacology*, 156: 181-188.
- Russo E and Guy G W** (2006). A tale of two cannabinoids: the theraoeotic rationale for combining tetrahydrocannabinol and cannabidiol. *Medical Hypotheses and Research*, 66: 234-246.
- Ryberg E, Larsson N, Sjögren S, Hjorth H, Hermansson N O, Leonava J, Elebring T and Greyasley P J** (2007.) The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *British Journal of Pharmacology*, 152 (7): 1092-1101.
- Sedlis SP** (1992). Mechanisms of ventricular arrhythmias in acute ischemia and reperfusion. *Cardiovasc Clin*, 22 (1): 3-18.
- Schmitt F and Erlanger J** (1928). Directional differances in the conduction of the impulse through heart muscle and their possible relation to extrasystolic and fibrillatory contractions. *American Journal of Physiology*, 87: 326-347.
- Schnockenberg CG** (2002). (2002). Physiological and pathophysiological roles of oxygen radicals in the renal microvasculature. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 282 (2): 335-42.
- Shen A C and Jennings R B** (1972). Kinetics of calcium accumulation in acute myocardial ischemic injury. *The American Journal of Pathology*, 67: 441-452.
- Shiki K and Hearse D J** (1987). Preconditioning of ischemic myocardium reperfusion- induce arrhythmias. *American Journal of Physiology*, 253: 1470-1476.
- Spear J F and More E N** (1985). Mechanism of cardiac arrhythmias. *Annual Review of Physiology*, 44: 485-497.
- Stanley W C (2000)**. In vivo models of myocardial metabolism during ischemia. *Journal Pharmacological and Toxicological Methods*, 43: 131-140.
- Stanley C P, Hind W H and O’Sullivan S E** (2013). Is the cardiovascular system a therapeutic target for cannabidiol? *British Journal of Clinical Pharmacology*, 75 (2): 313-322.
- Tada H, Kutsumi Y, Misawa T, Shimamoto N, Nakai T and Miyabo S** (1990). Effects of pretreatment with 2-O-octadecylascorbic acid, a novel free radical scavenger, on reperfusion-induced arrhythmias in isolated perfused rad hearts. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 16 (6): 984-991.
- Tatli E, Alicik G, Buturak A, Yilmaztepe M and Aktoz M** (2013). Arrhythmias following Revascularization Procedures in the Course of Acute Myocardial Infarction: are they indicators of reperfusion or ongoing ischemia? *Scientific World Journal*, doi:10.1155/2013/160380.
- Thomas A, Baillie G L, Phillips A M, Razdan R K, Ross R A and Pertwee R G** (2007). Cannabidiol displays unexpectedly high potency as an antagonist of CB₁ and CB₂ recepyor agonists in vitro. *British Journal of Pharmacology*, 150: 613-623.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Vajda S, Baczkó I and Leprán I** (2007). Selective cardiac plasma membrane K(ATP) channel inhibition is defibrillatory and improves survival during acute myocardial ischemia and reperfusion. *European Journal of Pharmacology*, 577 (1-3): 115-123.
- Valdeolivas S, Satta V, Pertwee R G, Fernández-Ruiz J and Sagredo O** (2012). Sativex-like combination of phytocannabinoids is neuroprotective in malonate-lesioned rats, an inflammatory model of Huntington's disease: role of CB1 and CB2 receptors. *ACS Chemical Neuroscience*, 3 (5): 400-406.
- Ytrehus K** (2000). The Ischemic Heart – Experimental Models. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 42: 193-203.
- Walker M J, Curtis M J, Hearse D J, Campbell R W, Janse M J, Yellon D M, Cobbe S M, Coker S J, Harness J B and Harron D W** (1988). The Lambeth Conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischemia infarction and reperfusion. *Cardiology Research and Cardiovascular Medicine*, 22 (7): 447-455.
- Walsh S K, Hepburn C Y, Kane K A and Wainwright C L** (2010). Acute administration of cannabidiol in vivo suppresses ischaemia-induced cardiac arrhythmias and reduces infarct size when given at reperfusion. *British Journal of Pharmacology*, 160 (5): 1234-1242.
- Williams W, Beutler E, Erslew A and Lichtman M** (1991). *Platelet morphology and function*. *Heamatology*, 9th Edition, 987-0-07-183301-1, USA, McGraw-Hill Book Company, 1172.
- Zhong B and Wang D H** (2009). Protease-activated receptor 2-mediated protection of myocardial ischemia–reperfusion injury: role of transient receptor potential vanilloid receptors. *American Journal Physiology Regulatory Integrative and Comporative Physiology*, 297 (6): 1681-1690.



ÖZGEÇMİŞ

Gülşelin BAŞOĞLU 1991’de Zonguldak’ta doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini Çaycuma’da tamamladı. 2010-2014 yılları arasında Ömer Halisdemir Üniversite’nin Biyoloji Bölümünde lisans eğitimi aldı. 2015 yılında Kastamonu Üniversitesin’ de pedagojik formasyonu aldı. 2016 yılında Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres: Sandallar köyü Yahyabaşoğlu mah. No: 123 Çaycuma/ ZONGULDAK

Tel: (507) 305 78 85

E-posta: g.selin-b@hotmail.com