

44646

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DÜŞÜK KALSİYUMLU ORTAMDA TAURİN
EKLENMİŞ REPERFÜZYON SOLÜSYONUNUN
MYOKARDİYUMA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Eser ÖZ

Ankara 1995

TEŐEKKÖR

Çalıőmalarımda ve tezimin hazırlanmasında engin bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, değerli zamanını esirgemeyen danıőman hocam Sayın Doç. Dr. Deniz ERBAŞ'a,

Yakın ilgi ve desteği ile bize güç veren, huzurlu ve dostluk dolu bir çalışma ortamı sağlayan Anabilim Dalı Baőkanımız Sayın Hocam Prof. Dr. Bilge GÖNÖL'e,

Değerli HOCALARIM'a

Deneyisel ve teorik çalıőmalarım esnasında ilgi ve yardımlarından dolayı Prof. Dr. Aysel ARICIOğLU'na ve çalışma arkadaşlarıma teőekkör ederim.

Dr. Eser ÖZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

I. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	3
II.1. Kalp Fizyolojisi ve Kalp İşlevinde Kalsiyumun Yeri ve Önemi.....	3
II.2. Myokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarı.....	6
II.2.1. Myokardiyal İskemi Hasarı.....	6
II.2.2. Myokardiyal Reperfüzyon Hasarı.....	7
II.2.3. Myokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve Lipid Peroksidasyonu.....	14
II.2.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarına Karşı Savunma Mekanizmaları.....	15
II.2.5. Myokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve Arakidonat Sistemi.....	17
II.3. Taurin.....	20
II.3.1. Taurinin Genel Özellikleri.....	20
II.3.2. Taurinin Myokardiyal Fizyoloji Üzerine Etkisi ve Etki Mekanizmaları.....	24
II.3.2.1. Taurinin Myokardiyal Fizyoloji Üzerine Etkisi.....	24
II.3.2.2. Taurinin Etki Mekanizmaları.....	26
II.3.3. Taurinin Antioksidan Özelliği.....	30
II.4. Nifedipin.....	32

III. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	34
III.1. Araştırma Planı.....	34
III.2. Kullanılan Gereç ve Maddeler.....	40
III.3. Tayin Yöntemi.....	40
III.3.1. Doku Lipid Peroksit Düzeylerinin Ölçümü.....	40
III.3.2. Doku PGE Benzeri Aktivitenin Ölçümü.....	41
IV. BULGULAR.....	42
V. TARTIŞMA.....	58
VI. ÖZET.....	66
VII. KAYNAKLAR.....	67

KISALTMALAR

SR	: Sarkoplazmik Retikulum
aa	: Aminoasit
DHP res	: Dihidropridin Reseptörleri
MDA	: Malondialdehit
PGE₂	: Prostaglandin E ₂
NO	: Nitrik Oksit
PMN	: Polimorfonükleer lökosit
GES	: Guanidinoetan Sülfonat
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
PGE B.A.	: Prostaglandin E Benzeri Aktivite

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Kalp hastalıkları gelişmiş ülkelerdeki morbidite ve mortalitenin ilk nedenidir. A.B.D.'de kalp hastalıkları kanserin neden olduğu ölümlerin 2 katı ölüme, tüm ölümlerin %37'sine neden olur. Bu ölümlerin %88'i koroner kalp hastalığı olarak bilinen iskemik kalp hastalığından kaynaklanmaktadır (65). Myokart infarktüsü yaşlı popülasyonda uzun ömürlülüğe tek ve en büyük tehdittir (24). Ancak son 20 yılda iskemik kalp hastalığı mortalitesinin azalmasına bağlı olarak, kalp hastalığından olan ölümler düşüş göstermiştir (65). Geçen 10-15 yıl içinde kalp cerrahlarının başlıca odaklandığı konu olan koroner arter bypas cerrahisindeki atılımlar bu düşüşe katkıda bulunmaktadır (24). Son zamanlarda reperfüzyon hasarı koroner arter bypas cerrahisi sonrası, myokardiyal revaskülarizasyon geçirmiş hastalarda sıklıkla gözlenmeye başlanmıştır. Özellikle arteriyel akımın restorasyonu sırasında, yapısal, fonksiyonel ve biyokimyasal lezyonlar meydana geldiği saptanmıştır. Bu lezyonlar post operatif aritmiyi başlatmaktadır ki bu da sıklıkla ciddi ölüm nedeni olarak gösterilmiştir (49).

İskemi sonrası oksijene kan ile myokardiyumun reperfüzyonu ventriküler yetersizlik yaratırken (25), yüksek düzeyde süperoksit anyon oluşumuna neden olur. Süperoksit anyon yapımını ksantin oksidaz aktivitesi, nötrofil aktivasyonu ve arakidonat zincir reaksiyonu üstlenir (38). Süperoksit anyon birikimi lipit peroksidasyonu sonucu hücre membran hasarına ve

hücrede kalsiyum yüklenmesi sonucu sarkoplazmik retikulum (SR) ve mitokondri fonksiyonlarında depresyona neden olur (24,38).

Taurin (2 Aminoetansülfonik asit) memeli kalbinde en bol bulunan aminoasittir (aa). Total aa havuzunun yaklaşık %50'sini oluşturur. İskemi sonucunda kalbin taurin içeriğinin belirgin şekilde azaldığı tesbit edilmiştir (76). Taurin reperfüzyon döneminde yani membran hasarı oluştuktan sonra koruyucu etki gösteren, yani hasarın boyutunu değil sonuçlarını azaltan bir aa'dir (33). Taurinin myokardiyal kontraksiyonları düzenlediği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (70). Buna göre taurin reoksijenasyon sırasında oluşan ventriküler aritmiyi azaltır ve normal elektriksel ve mekanik aktivitenin geri dönüşünü sağlar. Ayrıca taurin reoksijene kalplerdeki Ca^{2+} birikimini azaltır (17). Kalbin Ca^{2+} homeostazisini açıkça etkilediği görülen taurin, düşük ekstraselüler Ca^{2+} varlığında hücre içi Ca^{2+} 'nu ve kontraktileti artırır ve verapamilin (-) inotropik etkisini antagonize eder (76).

Ayrıca taurin erkek reproduktif sisteminde olduğu gibi membranları doymamış yağ asitlerinden zengin ve peroksidatif hasara karşı korunmasız bölgelerde yüksek düzeylerde bulunup antioksidan özellik göstermektedir (33). Aynı zamanda taurinin reperfüze edilen kalplerdeki doku malondialdehit düzeylerini de belirgin şekilde azalttığı saptanmıştır (35).

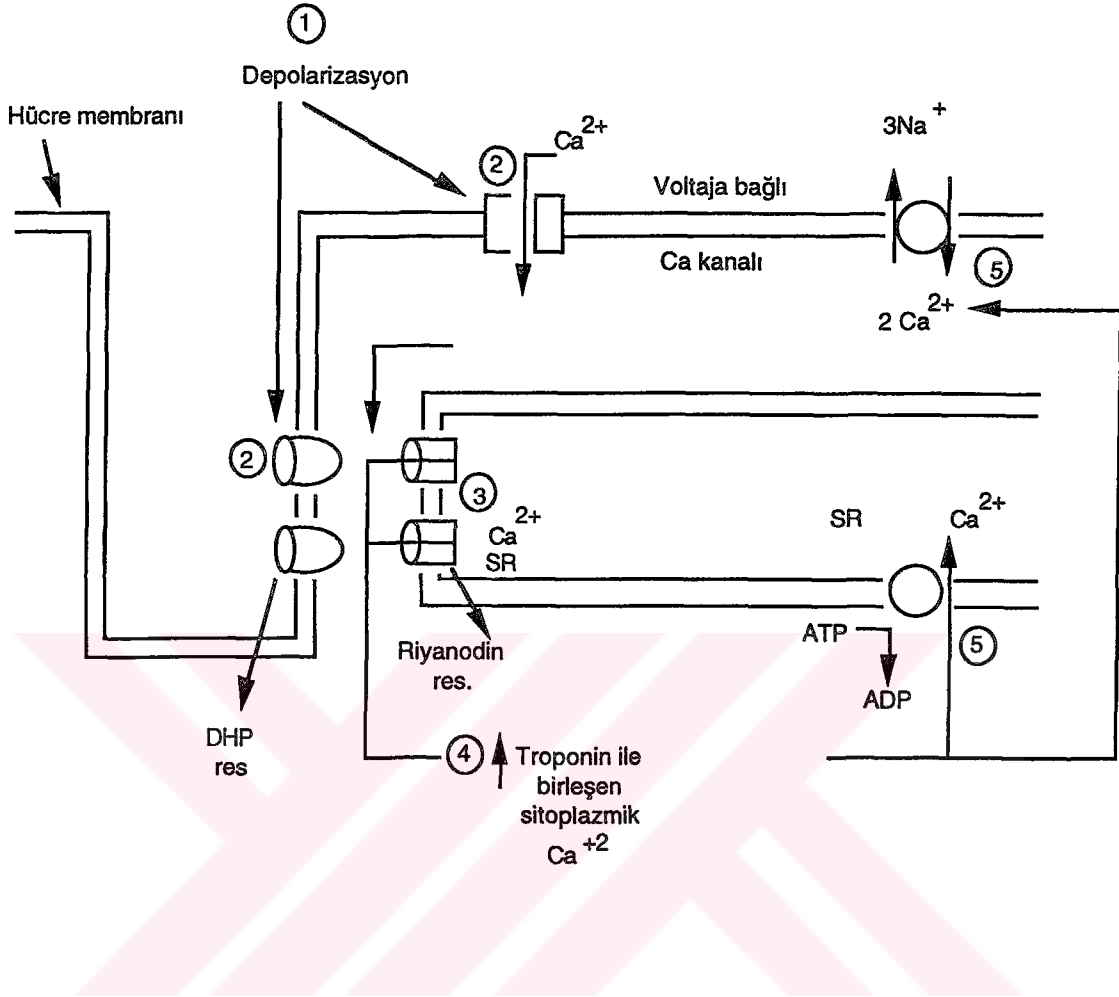
Bu bilgilerden yola çıkarak planlanan çalışmada düşük Ca^{2+} 'lu ekstraselüler sıvıya taurin eklenerek reperfüzyon döneminde meydana gelen doku hasarına karşı koruyucu rolü araştırılmıştır.

II. GENEL BİLGİLER

II.1. Kalp Fizyolojisi ve Kalp İşlevinde Kalsiyumun Yeri ve Önemi

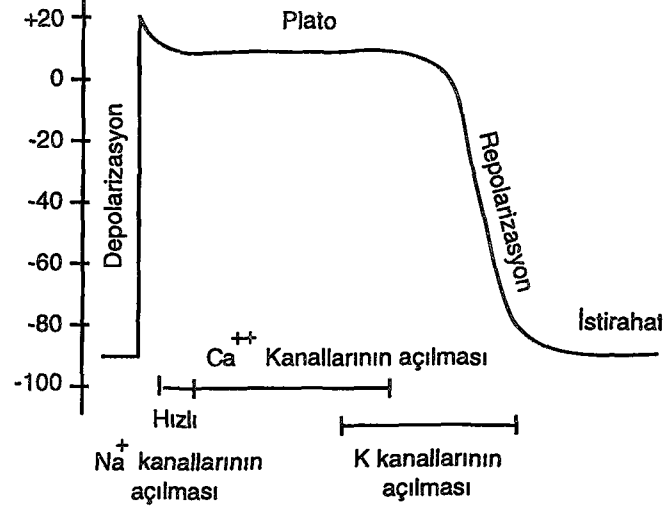
Yaşam süresince yorulmaksızın ve ritmik olarak kasılıp-gevşeyen kalp kasının etkin şekilde işleyebilmesi için ekstraselüler sıvıda oksijen, glukoz ve iyonların uygun konsantrasyonlarda bulunmaları gerekmektedir (53). Kalp kasının kasılması açısından Ca^{2+} 'un önemi ilk kez izole kalbin Ca^{2+} 'suz perfüzyonda çalışmadığını gözleyen Ringer tarafından ortaya konmuştur (64). Ca^{2+} iyonu myokardiyumda hücre bütünlüğünün korunması ve eksitasyon-kontraksiyon çifti için esansiyeldir (4).

Sitoplazmadaki serbest Ca^{2+} yoğunluğu yaklaşık 100 nmol/L, doku sıvısında 1200000 nmol/L olduğundan çok belirgin içe yönelik yoğunluk farkı ve elektriksel farklanım vardır (19). Kalpte Ca^{2+} 'un hücre içine girmesi T tübülü zarının depolarizasyonu sonucu dihidropridin reseptörleri adı verilen voltaja bağlı Ca^{2+} kanalları aracılığıyla olmaktadır. Kalp kası hücre zarında bulunan bu kanallar Ca^{2+} 'un hücre dışından hücre içine girmesine, bu sırada oluşan voltaj değişimleri sayesinde de SR'da depolanan Ca^{2+} 'un salınmasına neden olmaktadır (Ca^{2+} 'un tetiklediği Ca^{2+} salınımı). SR'daki Ca^{2+} 'un dışarı akışını sağlayan Ca^{2+} kanalı ryanodin reseptörüdür. Impuls durur durmaz Ca^{2+} süratle SR membranındaki Ca-Mg ATP'az pompa sistemiyle geri alınır. Aynı zamanda Na^+ - Ca^{2+} alış veriş mekanizması ile de Ca^{2+} hücre dışına alınabilir (20,50) (Şekil 1). Sitoplazmadaki Ca^{2+} miktarı hiç bir zaman bütün kas proteinini aktive edecek düzeyde olmaz. Bunun sonucu, kasılma kuvveti hücreye giren Ca^{2+} miktarı ile değişebilir (9).



Şekil 1: Myokardiyal hücrede eksitasyon-kontraksiyon çiftinin yolları (51)

Kalpde uyarı ile meydana gelen aksiyon potansiyelinin yayılması sonucunda kasılma olayı başlar. İskelet kasında olduğu gibi kalp kasında da depolarizasyon aniden başlar ve ani bir yükselme ile kendini gösterir. Nedeni Na^+ geçirgenliğindeki ani artıştır (Faz 0). Ardından hızlı repolarizasyon (Faz 1), Na^+ kanallarının kapanması ve Cl^- iyonlarının hücre içine girmesiyle oluşur. Plato fazı (Faz 2) yavaş açılan fakat uzun süre açık kalan voltaja bağlı Ca^{2+} kanalları sayesinde olur. Son repolarizasyon fazı (Faz 3) Ca^{2+} kanallarının kapanıp K^+ 'un hücre dışına çıkması sonucu meydana gelir (21, 55) (Şekil 2).



Şekil 2: Myokardiyumda aksiyon potansiyeli sırasında oluşan permeabilite değişiklikleri (50).

Böylece myokardiyum uyarılmasını tamamlamış olur.

II.2. Myokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarı

II.2.1. Myokardiyal İskemi Hasarı

Gelişmiş ülkelerde en yaygın ölüm nedeni olarak bilinen ve nekroze yol açabilen iskemi, özellikle vasküler cerrahilerde ve transplantasyonda sıklıkla karşımıza çıkmaktadır (28). Kalp uzamış oksijen yoksunluğu durumlarında metabolik aktiviteyi koruma yeteneğine sahip olan organizmadaki tek sistemdir. Ancak koroner arter oklüzyonunun devamlı olması myokardiyal iskemi ile sonuçlanmaktadır (24). Bilindiği gibi oksijen hücre fonksiyonu ve aerobik metabolizma için çok önemli ve gereklidir (28).

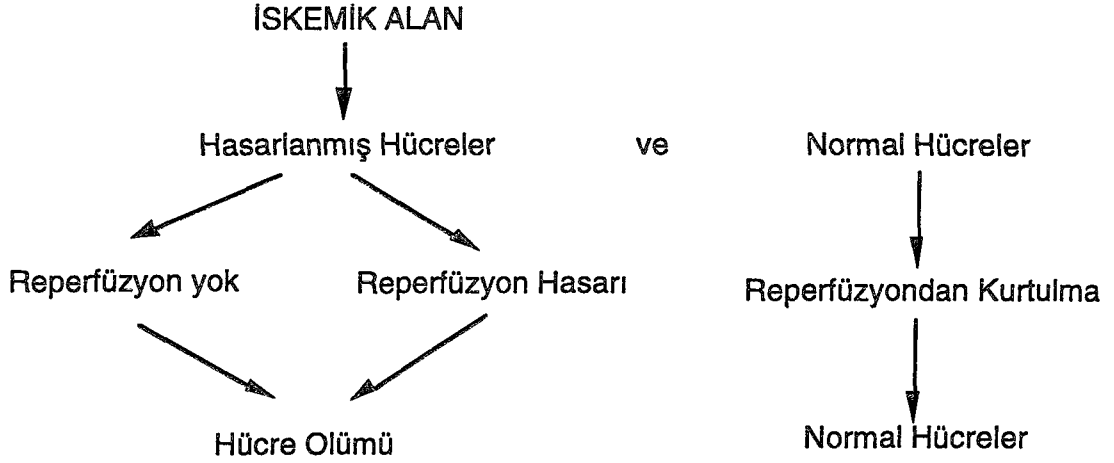
Farklı dokuların hipoksiye dirençleri de farklı olmaktadır. İskelet kasları iskemiye saatlerce dayanırken, geri dönemeyen sinir hasarı birkaç dakika içinde gelişebilmektedir. Hücre ölümünde hücre membranının, stoskeletonun ve iyon regülasyonunun önemi uzun yıllar içinde anlaşılmıştır (13,28).

Dokuya gelen kan akımı kesildiği zaman plateletlerin aktivasyonu ve onların vazokonstriktör mediatörlerinin salınması ile iskemi daha da ilerletilir. İskemi şiddeti arttıkça metabolik hız azalır ve ATP gibi yüksek enerjili bileşikler yapılamaz hale gelir (43). Başta ATP olmak üzere hücresel enerji depolarının azalması hücre membranı iyon gradyent kaybına neden olur, hücresel homeostazis ve kontraktillite bozulur. Bunun sonucunda hücrede Na^+ - Ca^{2+} iyon dengesinde bozulmalar meydana gelir. Bunu asidozis, ozmotik şok, nükleer piknozis ve kromatin kümeleşmesi takip eder. Na^+ iyonlarının hücre içine girmesi, beraberinde suyu da çekmesine neden olur. ATP yetersizliği nedeniyle Ca^{2+} SR'a geri pompalanamadığı için aşırı Ca^{2+} yüklenmesi

meydana gelir ve Ca^{2+} 'un elektron dens granüller şeklinde mitokondride birikmesine neden olur. Sonuçta mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ve geri dönüşü olmayan hasar meydana gelir. İkincil otoliz (lizozom şişmesi, endoplazmik retikulumda dilatasyon ve vezikülasyon, enzimlerin ve proteinlerin sızması ve hücrel kompartmantalizasyon kaybı) sonucu membran bütünlüğü kaybolur ve hücre ölür (28,30).

II.2.2. Myokardiyal Reperfüzyon Hasarı

İskemik dokunun revaskülarizasyonu doku için iki yararlı sonuç getirir. Bunlardan biri, enerji depolarının yenilenmesi, diğeri toksik metabolitlerin uzaklaştırılmasıdır. Sonuç olarak reperfüzyon iskemik hasardan iyileşme için öncelikli ve gereklidir (16,28). Yapılan araştırmalara göre uygun reperfüzyonun, post iskemik disfonksiyonu azalttığı ve yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir (58). Ancak iskemik bir organın reperfüzyonu daha ileri bir hasara da yol açabilir (Şekil 3). Belli bir iskemi dönemini takiben kan akımının restorasyonu ile organda meydana gelen hasara reperfüzyon hasarı denir (62). İskemi geri dönüşümsüz hasara yol açan reaksiyon zincirini başlatırken, reperfüzyon O_2 ve granülositlerin ortama verilmesiyle, akım restorasyonunun yararlı etkilerini önler (16) ve böylece sayısız sistemik problemler meydana gelebilir (28). Yapılan bir çalışmada tek başına 4 saatlik intestinal iskeminin, 3 saat iskemi ve 1 saat reperfüzyondan daha az ciddi hasara neden olduğu gösterilmiştir (28).

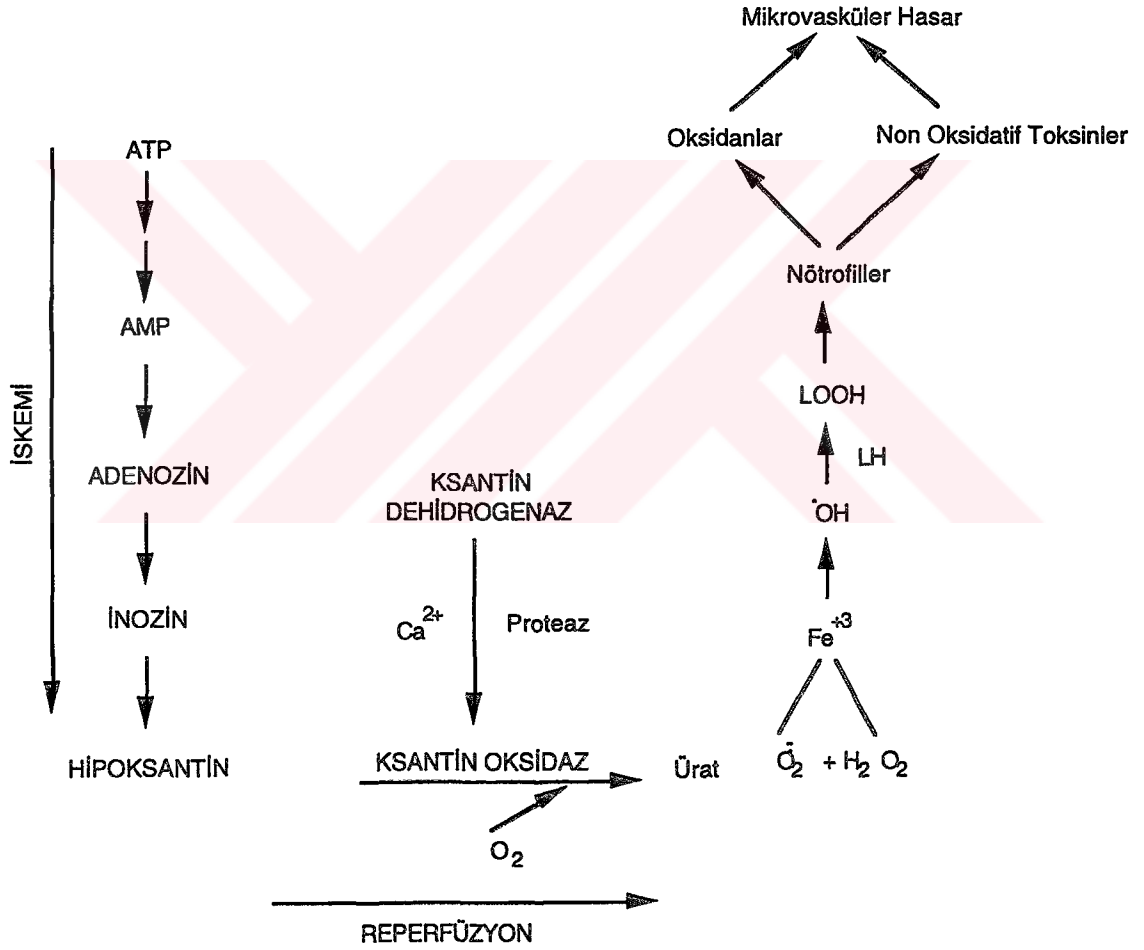


Şekil 3: Reperfüzyon hasarı (16)

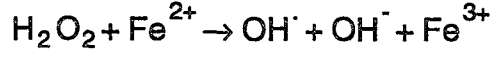
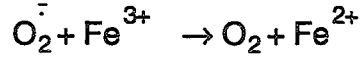
İskemi sırasında eksik olan oksijen, reperfüzyon sırasında aşırı olarak sisteme katılır ve süperoksit radikali artışına neden olur, böylece sekonder oksidan stres oluşumunu sağlayan zinciri çalıştırır ve doku hasarını oluşturur. Reperfüzyon sonucunda oluşan toksik oksijen metabolitleri, post iskemik doku hasarının en önemli nedenlerinden biri olarak gösterilir (63). Kalpte serbest radikal oluşturan sistemlerden biri mikrovasküler endotelde lokalize olan ksantin oksidaz enzim sistemidir; bir diğeri ise aktive nötrofillerdir (16,28,63).

Ksantin oksidaz enzimi, post iskemik dokuda serbest radikallerin ana kaynağıdır (28). Reperfüzyonu takiben oluşan ksantin oksidaz aracılı radikal oluşumunun mekanizması ilk kez Dr. Granger ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (29). Hipoksizde Ca^{2+} iyonlarının sitozolde artışı proteazları aktive eder. Proteazlar ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümünü sağlar (7). İskeminin hipoksik stresi ksantin dehidrogenazın, ksantin oksidaza dönüşümünü ve ATP'nin hipoksantine dönüşümünü artırır. Reperfüzyon zamanı, doku içine bol miktarda oksijenin tekrar alındığı zamandır. Hipoksantin,

ksantin oksidaz ile reaksiyona girer ve süperoksit radikali ve hidrojen peroksiti oluşturur (29). İskemi sırasında demir doku içine salınır. Reperfüzyonda üretilen süperoksit, serbest demirin miktarını artırır (28). Fe^{3+} süperoksit ve hidrojen peroksitin varlığında mikrovasküler ve parankimal hücre hasarına aracılık ettiği bilinen hidroksil radikalini oluşturmak için Haber-Weiss reaksiyonu yoluyla, reaksiyona girer (29) (Şeki 4,5).



Şekil 4: Post iskemik dokunun mikrovasküler hasarı ve ksantin oksidaz sistemiyle yapılan oksidanlar ve nötrofil infiltrasyonu arasındaki ilişki (29)



Şekil 5: Haber Weiss reaksiyonu (6,7).

İskemi sonrası reperfüzyon hasarı gelişimiyle ilgili olan toksik oksijen metabolitleri insanlarla ilgili hastalıklarda serbest radikallerin ne denli önemli olduğunun göstergesidir. Serbest radikal oluşumuna yol açan hastalıklar Del Maestro tarafından şu şekilde gruplandırılmıştır (15) (Tablo I, II, III).

Tablo I: İntrasellüler oluşumda artış yapan nedenler (15):

- a) Hiperoksijenasyon sendromları
 - Hiperbarik oksijen
 - Hiperoksijenasyon-respiratuvar pulmoner hastalıklar
 - Retrolental fibroplazi
 - Pulmoner displazi (neonatal)
 - Epilepsi
 - Komplet iskemi-reperfüzyon sendromları (Kardiyak arrest, transplantasyon)
- b) Hipo-oksijenasyon sendromları
 - İnkompert iskemi-hipoksi (şok, serebral veya myokardiyal infarktüs)
- c) Kimyasallar
 - Paraquat
 - Karbontetraklorür
 - Kemoterapotik Ajanlar (Adriamisin)
 - Nitrofurantoin
 - Karsinogenler (benzpiren)
- d) İlaçlara bağlı hemolitik anemiler (Fenilhidrazin vb.)
- e) Vit E ve A eksikliği
- f) Yaşlanma

Tablo II: Ekstrasellüler oluşumda artış yapan nedenler (15):

- a) İnflamatuvar durumlar
 - 1. Akut
 - Yanık
 - Enfeksiyonlar
 - 2. Kronik
 - Konnektif doku hastalıkları
 - Romatoid artrit
 - Ülseratif kolit
 - Vaskülit
- b) İmmünolojik hastalıklar

Tablo III: İntrasellüler ve ekstrasellüler artış yapan nedenler (15):

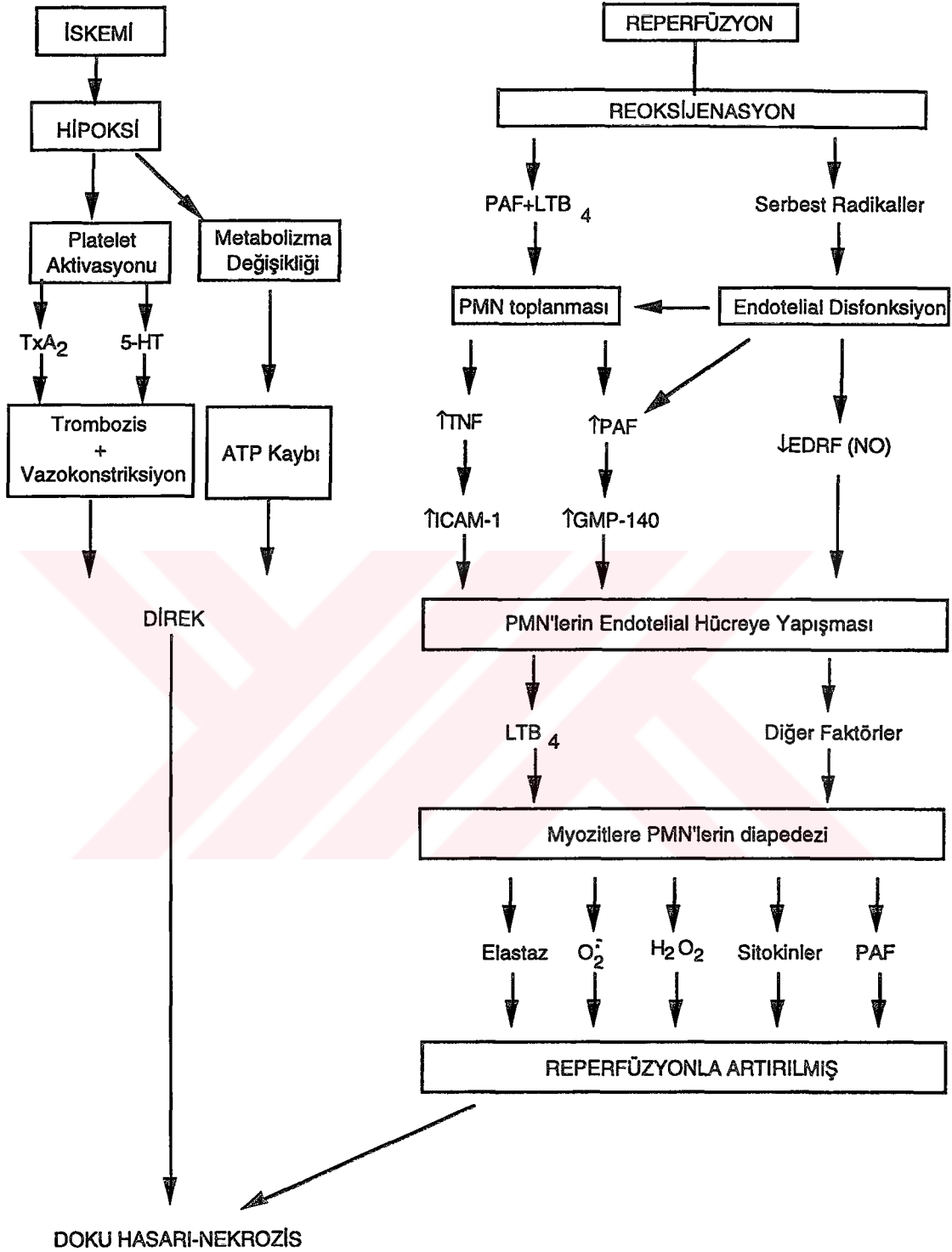
- a) Radyasyon
 - Ultraviöle
 - Terapötik radyasyon
 - Radyasyon hastalığı
- b) Kimyasal karsinojen
 - Hava kirliliği, NO, NO₂
 - Sigara

İskemik dokunun reperfüzyonu reoksijenasyonla sonuçlanır ve ardından bir dizi yaralanma ve inflamasyonla ilgili humoral mediatörler aktive olur. Bunlardan biri olan oksijen menşeyli serbest radikal üreten, ksantin

oksidaz, enzim sistemi yukarıda bahsedilmiştir. Bir diğer mediatör grubu, lipid mediatör (PAF, LTB₄) ve polipeptid mediatörlerdir (C5a). Bu mediatörler aracılığıyla meydana gelen "endotelial hücre disfonksiyonu" reperfüzyon hasarının "tetikleyicisi" olarak bilinmektedir.

Endotelial disfonksiyon sonucunda NO salınımı azalırken kemotaktik faktörler aktive olmaktadır (PAF, LTB₄, C5a) . Ardından reperfüzyon bölgesine ve kardiyak myozit yüzeylerine polimorfonükleer lökositler tutunurlar ve oradan çok sayıda proinflamatuvar mediatör salınımına neden olurlar (elastaz, süperoksit, PAF). Bu da hücre hasarını artırır. Böylece endotelial tetiğin nötrofillerle kuvvetlendirilmesi meydana gelmiş olur (43) (Şekil 6).

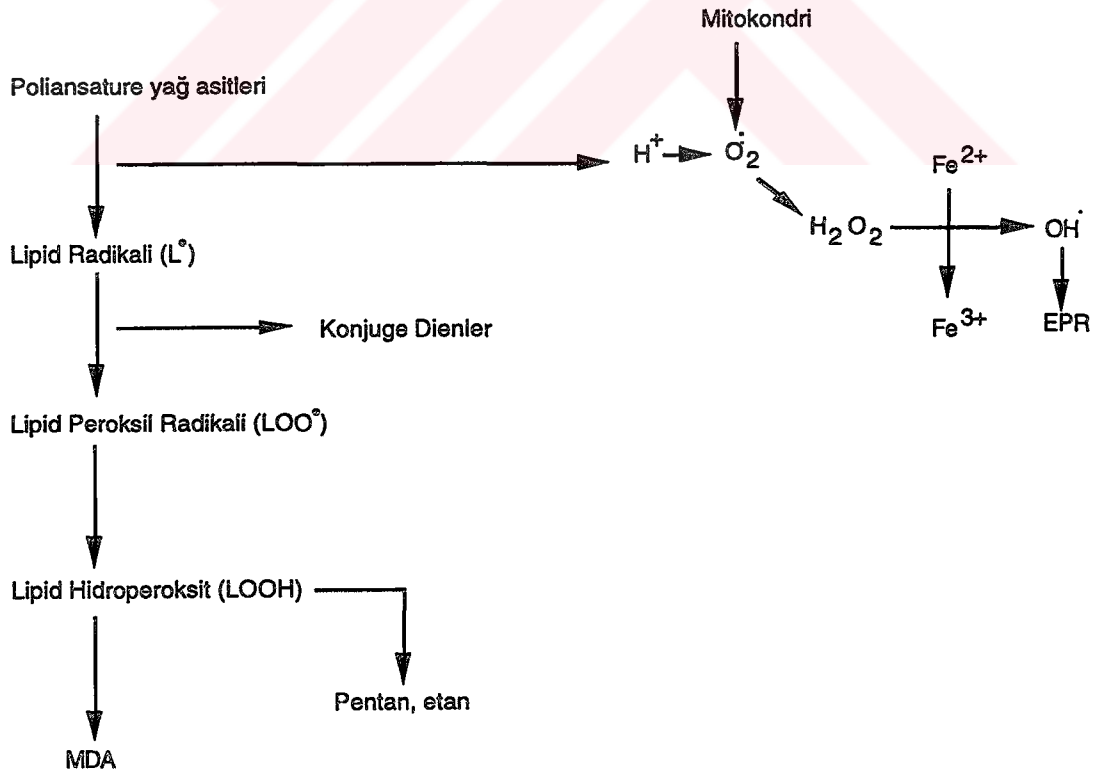
Sonuç olarak reperfüzyon, iskemik myokardiyumda, granülosit sayısında akut artışa neden olmaktadır. Granülositler hücre membran hasarı yapabilen fosfolipazlar dahil potent enzimleri içerir ve kapiller tıkaç oluşturarak iskeminin artışına neden olurlar. Ayrıca granülositler büyük miktarda süperoksit üretebilme yeteneğine sahiptirler (16). İskemik dokunun reperfüzyonu hem lokal hem sistemik nötrofil birikimine neden olarak, lokal permeabilite artışı meydana getirirler. Dolaşan nötrofillerin azalması, artmış permeabilite ve ödem formasyonunu önler (28).



Şekil 6: İskemi-reperfüzyon hasarının patofizyolojik mekanizması (43)

II.2.3. Myokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve Lipid Peroksidasyonu

Serbest radikallerin en önemli hasar verici etkisi lipid peroksidasyonudur. Hücre membranları poliansature yağ asitleri ve fosfolipitten meydana gelmiştir. Oksijen serbest radikalleri yapısal ve fonksiyonel hücre hasarı ile sonuçlanan lipid peroksidasyonunu indükleyerek, selüler hasar meydana getirirler. Lipid peroksidasyonu, lipid molekülünde, iki ansature bağ arasında yerleşmiş metilen grubundan, hidrojen atomlarının ayrılmasıyla başlayan kompleks bir fenomendir. Sonuçta oksijen varlığında ortasında yeni karbon atomları yerleşmiş lipid peroksit ve lipid hidroperoksitler oluşur. Sonraki yıkılımlar lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kullanılan, nisbeten stabil, son yıkım ürünü, malondialdehidi (MDA) oluşturur (5,28,58,69,82).



Şekil 7: Lipid peroksidasyonunun anahtar basamakları (5,82)

Lipid peroksidasyonu olarak adlandırılan oksidatif hasar hücre membran akıcılığı ve permeabilitesindeki bozulmanın nedenidir (74). Böylece hücre entegrasyonu bozulmakta ve hücre ölümü meydana gelmektedir (72).

II.2.4. İskemi Reperfüzyon Hasarına Karşı Savunma Mekanizmaları

Pek çok endojen mekanizma iskemi-reperfüzyon hasarını inhibe eder. Bu ajanları şu şekilde sıralayabilmek mümkündür:

a) Serbest Radikal Temizleyicileri:

Zarar veren reaktif oksijen türleri ile etkileşen ajanlardır. SOD, katalaz bu grupta sayılabilir. SOD (Süperoksit Dismutaz), *invivo* hasarı indükleyen serbest radikallere karşı dokuları koruyan endojen bir enzimdir. Süperoksitin hidrojen perokside (H_2O_2) dönüşümünü katalize eder. Katalaz ise H_2O_2 'den oksijen ve su oluşumunu katalize eden doğal bir metalloproteindir ve *invivo* SOD ile kombinasyonu oldukça etkilidir (28). Geri dönüşümsüz post iskemik myokardiyal hasarın gelişmesine katkıda bulunan nedenlerden bir tanesi membran fosfolipidlerinin peroksidasyonudur. Reperfüze myokardiyumun kurtulması ve infarkt alanının azalması için SOD ve katalazın kombine kullanımı denenmiş ve reperfüzyon ardından sol ventriküler fonksiyonlarının daha iyi geri döndüğü gösterilmiştir (16,24,29,58).

b) Serbest Radikal Üretiminin İnhibisyonu:

Serbest radikal hasarını azaltmak için diğer bir yaklaşım, bunların üretimine neden olan enzimlerin inhibisyonudur. Ksantin oksidaz inhibitörü

allopürinol hipoksantinin yapısal analogudur. Hipoksantin ile yarışarak ksantin oksidazı inhibe eder. Böylece süperoksit anyon üretimini de azaltmış olur (28). Yapılan çalışmalarda koroner bypas geçirecek hastalarda cerrahi öncesinde uygulanan allopürinolün kardiyak performans ve post operatif komplikasyonlar açısından oldukça yararlı etkileri saptanmıştır (16,29,63).

Desferoksamin ise, güçlü bir demir şelasyonu yapmaktadır. Demir, bilindiği gibi Haber-Weiss reaksiyonu aracılığıyla hidroksil radikali yapımına neden olur. Bir çok çalışma iskemi-reperfüzyon süresince desferoksamin kullanımının yararlı etkilerini göstermiştir (28).

c) Nötrofil inhibisyonu:

Reperfüzyonu takiben mikrovasküler yapıda nötrofil birikiminin daha çok hasara yol açtığı bilinmektedir. Nötrofiller tarafından yapılan serbest radikal üretiminin inhibisyonu veya nötrofil yapışmasının engellenmesi reperfüzyon hasarını azaltmaktadır. Spesifik PAF antagonistleri, 5-lipoksijenaz inhibitörleri, monoklonal antikolar veya agranülosit antiserumları ile granülosit tüketimi, infarkt alanını ve aritmiyi belirgin şekilde azaltmaktadır (16,28).

d) Antioksidanlar:

Peroksidasyonu engelleyen ajanlardır. Doku hasarını, peroksit üretimini ve daha çok da serbest radikal üretimini engellerler. Pek çok antioksidan deneysel olarak kullanılmıştır. Bunlardan Vit E (8), propranolol Ca kanal blokeri kaptopril ve taurin en popüler olanlarıdır (28).

e) Diğerleri:

Son yıllarda fizyolojik, farmakolojik yaklaşımların yanı sıra fiziksel tedavi yaklaşımları araştırılmıştır. Bunların içinde hipotermi, hipoksik reperfüzyon en sık tercih edilenlerdir (28).

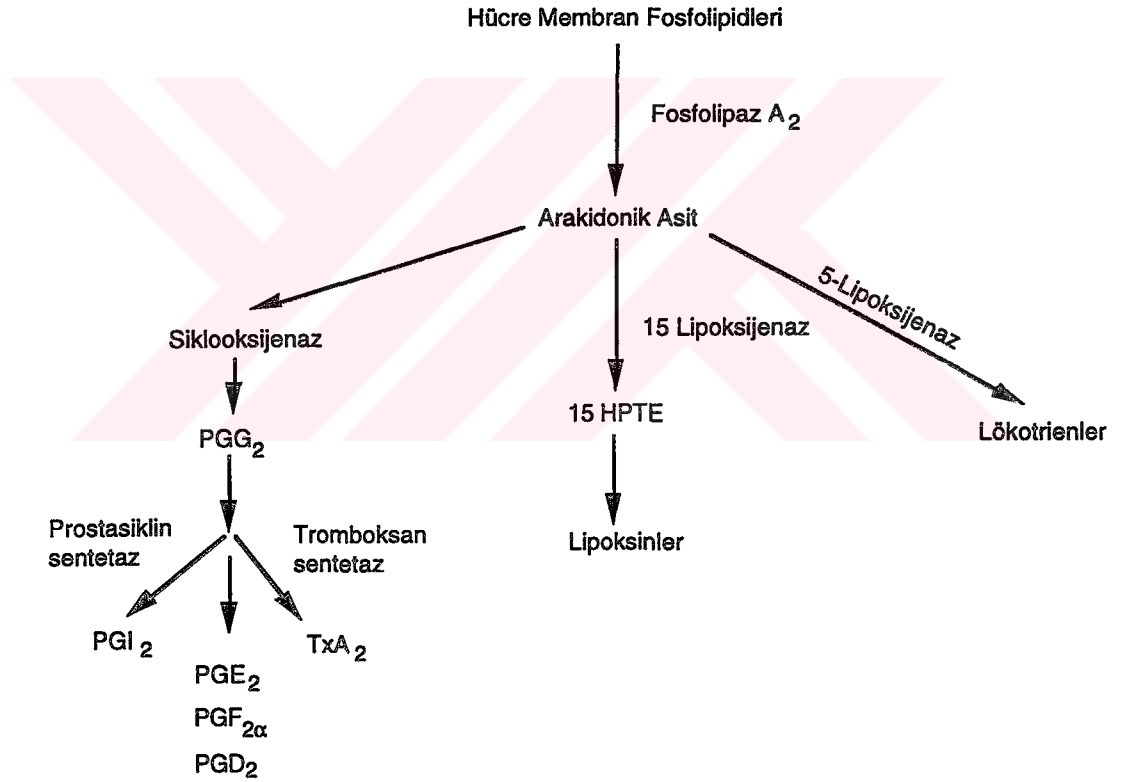
II.2.5. Myokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve Arakidonat Sistemi

Prostaglandinler, membran fosfolipidleri üzerine fosfolipaz A₂ enziminin etkisiyle oluşurlar. Fosfolipaz A₂ aktivasyonu prostaglandin (PG) biyosentezini kontrol eden esas basamaktır. Membran fosfolipidlerinden fosfolipaz A₂ ile arakidonik asit oluşuktan sonra, siklooksijenaz enzimi aracılığıyla siklik endoperoksitler, lipoksijenaz enzimi aracılığıyla lökotrienler oluşturulur. Siklik endoperoksitlerden ilk oluşan PGG₂, bir peroksidaz aktivitesi ile PGH₂'ye döner. PGH₂'den ise tromboksanlar, PGI₂'ler ve PG'ler türer. Siklik endoperoksit PGH₂'den, PGE₂ oluşumunu sağlayan enzim PGE₂ izomerazdır. Yani PGE₂ sentezi enzimatik yolla olmaktadır (22) (Şekil 8).

İskemi, dokuda hücre membran iyon gradyent kaybına neden olmakta ve selüler homeostazis bozulmaktadır. Bunun sonucunda hücrede Na⁺-Ca²⁺ iyon dengesinde bozulmalar meydana gelir. Hücre içinde Ca²⁺ konsantrasyonunun artışı, mitokondri içine de fazla miktarda Ca²⁺ girişine neden olur. Ca²⁺ ile yüklenmiş mitokondri iç membranında genişleme meydana gelir ve mitokondri dışına NAD sızıntısına yol açar. Böylece enerji metabolizmasındaki bozukluklar, ATP'nin yeterince sentezlenememesine neden olur ve sarkoplazmik retikulum aktif pompası da yeterince çalışamaz. Sonuçta Ca²⁺ büyük miktarda hücre içinde birikir (28,40,68).

Ca^{2+} , bir kalmodülün kompleksi halinde, fosfolipaz A_2 'nin kofaktörüdür. İntraselüler Ca^{2+} konsantrasyonunun artışı ile, fosfolipaz A_2 stimüle olur ve membran fosfolipidlerinden arakidonik asit, beraberinde PG sentezi artırılır (44,60,66).

Patolojik şartlarda artan Ca^{2+} 'a bağlı sentez yolu ise daha ziyade enzimatik yola, PGE_2 yoluna kaymaktadır (66).

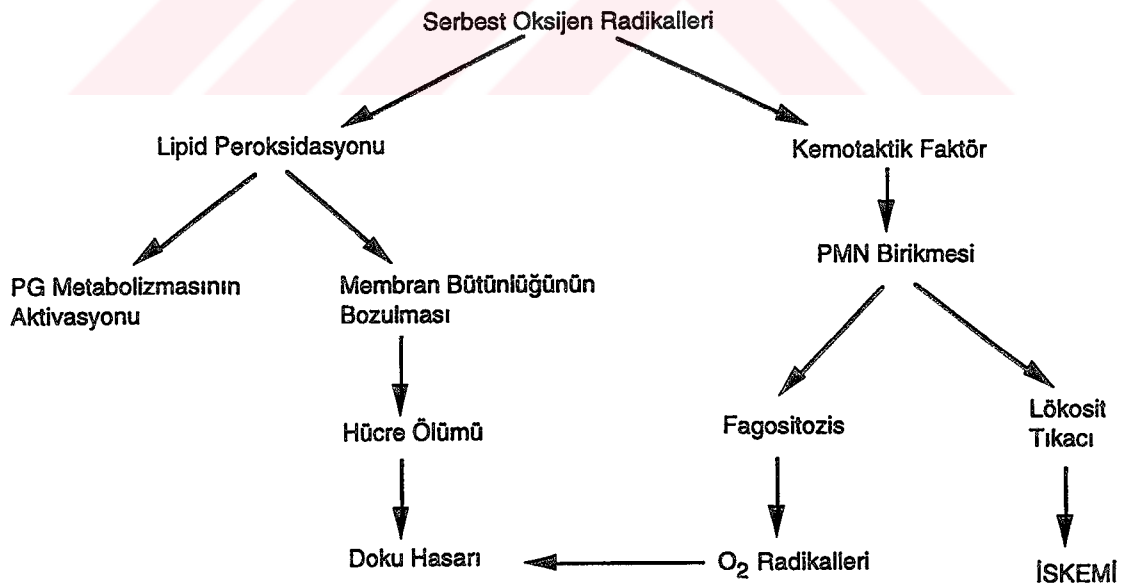


Şekil 8: Arakidonik asitten üretilen biyolojik aktif maddeler (23)

Sonuç olarak iskemi-reperfüzyon hasarının meydana getirdiği olaylar dizisi şu şekilde toparlanabilir:

- a) ATP kullanılarak tüketilir,
- b) Ca^{2+} hücre içine girerek sitozolik Ca^{2+} düzeyi yükselir,
- c) Sitozolde Ca^{2+} düzeyinin yükselmesi fosfolipaz ve proteazları aktive eder,
- d) Ksantin dehidrogenaz-ksantin oksidaza dönüşür,
- e) Fosfolipaz A_2 aktive olarak arakidonik asit metabolizması artar,
- f) Hücre proteinleri serbest radikallerden etkilenerek, demir ve bakırın salınımına neden olur,

f) Hücrel membranlarda transport proteinleri bozulur (7) (Şekil 9).

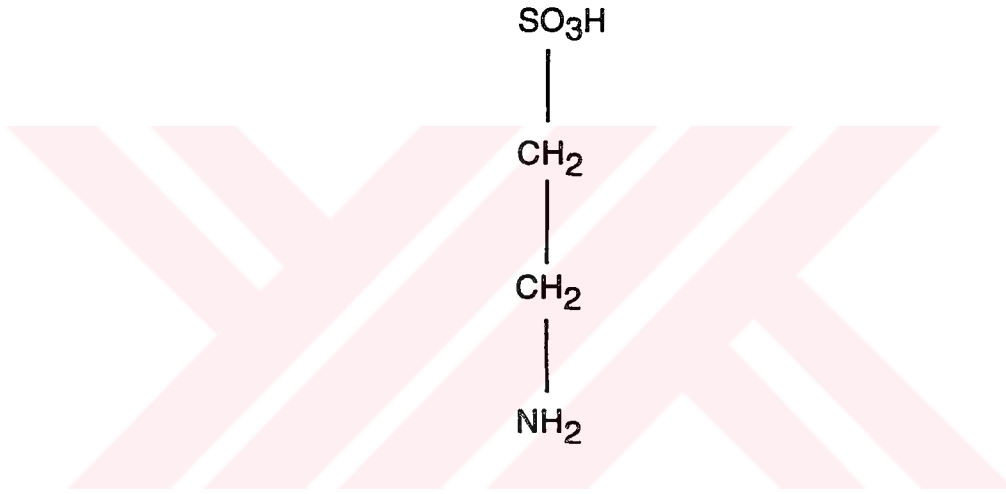


Şekil 9: Dokuda serbest oksijen radikallerinin direk ve indirek etkileri (72)

II.3. TAURİN

II.3.1. Taurinin Genel Özellikleri

Taurin (2 aminoetansülfonik asit) biosferde yaygın olarak bulunan, filogenetik olarak eski bileşiklerden biridir (33). Bir β aminoasit (aa) olan taurin, renksiz ve suda eriyebilme özelliğine sahiptir. Molekül ağırlığı 125 daltondur (84) (Şekil 10). İlk kez öküz safrasında elde edilmiştir (14).

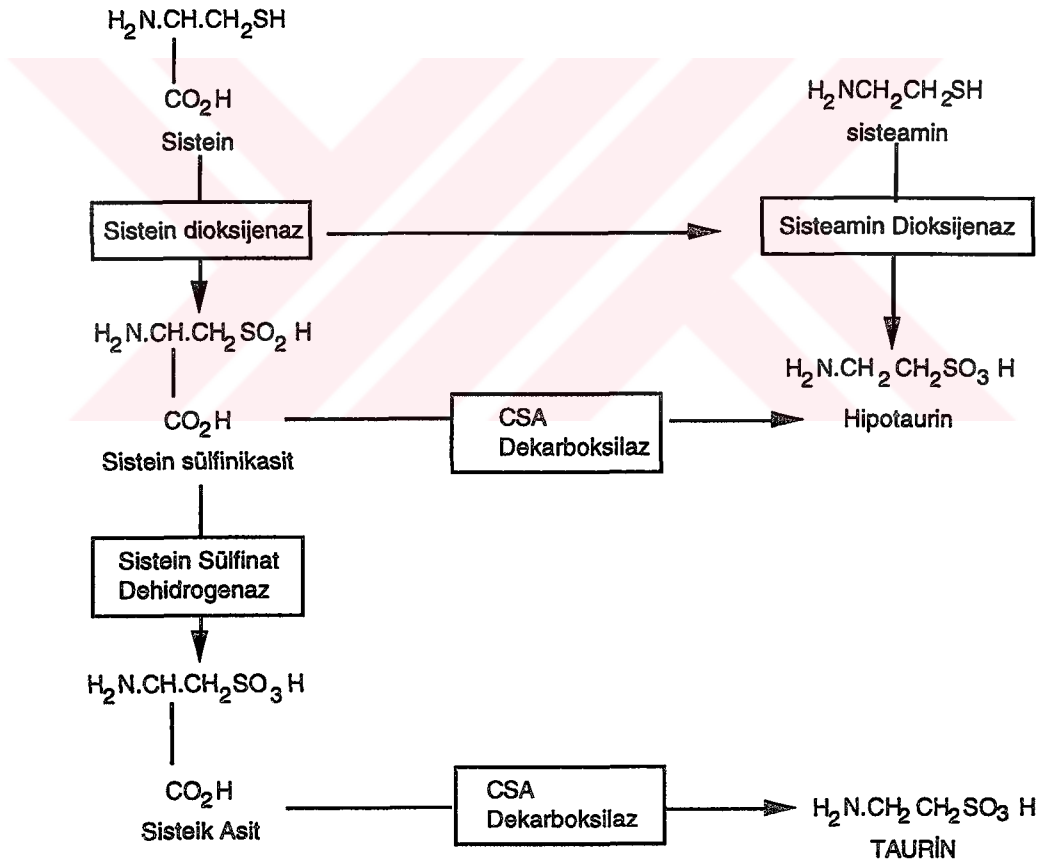


Şekil 10: Taurinin yapısı (14)

Taurin, karboksilik aminoasitten çok, sülfonik olması ve α olmasından çok β olması nedeniyle kendi sınıflamasındaki diğer modellerden ayrılır. Yüksek asiditesi taurinin fizyolojik P_H sınırında tam olarak iyon halinde bulunmasına neden olur. Oysaki tersine karboksilik gruplar bu aralıklarda non iyonize durumdadırlar. Taurinin "swetter" iyonik özelliği ona düşük lipofilik özellik kazandırır. Bu nedenle taurin için lipofilik membranlardan difüzyon yavaştır. Taurinin biyolojik membranlardan permeabilitesinin olmaması, bu

membranlardan geçmek için yüksek konsantrasyon gradyenti sağlanması zorunluluğunu getirir. Örneğin retina için taurin gradyenti 400/1, beyin için 500/1'dir. Sisteme bağımlı olarak her taurin transport edildiğinde 1-3 Na⁺ hücre içine taşınır. Bu Na⁺, Na-K ATP'az ile geri pompalanır (12,33).

Taurin, metionin ve sistein gibi sülfür içeren aminoasitlerin metabolizmasından elde edilir. Taurin düzeyi, öncü aminoasitlerin diyetle alınımına bağlıdır (14) (Şekil 11).



Şekil 11: Taurin biyosentez yolu (14)

Yapılan araştırmalara göre anne sütünü de içine alan birkaç vücut sıvısında taurin önemli miktarda bulunmaktadır. Tersine bazı nütrisyonel preparatlarda, inek sütünde çok az ya da hiç yoktur (14). Ortalama 70 kg'lık insanda 70 gr. taurin vardır. Bu kadar önemli miktarlarda bulunan bileşiğin son derece avantajlı bir takım fonksiyonları olması beklenir. 1968'li yıllarda safra tuzu sentezi, ozmoreglasyon, santral sinir sistemi nroinhibisyonu yaptığı bilinen taurinin, günümüzde pek çok sayıda önemli fonksiyonlarının olduğu saptanmıştır (33) (Tablo IV).

Tablo IV: Taurinin Fonksiyonları (33):

Kardiyovasküler sistem

- Antiaritmik
- Düşük Ca²⁺ seviyelerinde (+) inotropik
- Yüksek Ca²⁺ seviyelerinde (-) inotropik
- Dijital (+) inotropisinin güçlendirilmesi
- Ca²⁺ paradoksunun antagonizması
- Hipotansif etki (merkezi ve periferal)
- Ca²⁺ yüklenme kardiyomyopatisinde koruyucu
- Agregasyona trombositlerin direncini artırma

Beyin

- Antikonvülzan
- Nöronal uyarılabilirliğin düzenlenmesi
- Serebellar fonksiyonların korunması
- Kimyasal uyarılara karşı savunma
- Termoregülasyon
- Antiagresif etki
- Kardiyorespiratuvar cevapların merkezi düzenlenmesi
- ğrenme

- Motor davranış değişikliği
- Uyku süresini değiştirme
- Anoksi ve hipoksiye direnç
- Anti tremor etki
- Yeme ve içmenin baskılanması

Retina

- Fotoreseptör dış segment ve tabetum lucidum yapı ve fonksiyonlarının korunması

Karaciğer

- Safra tuzu sentezi

Üreme sistemi

- Sperm motilite faktörü

Kas

- Membran stabilizasyonu

Genel

- Nörotransmitter ve hormon salınımının düzenlenmesi
- Ozmöregülasyon
- Glukoliz ve glukogenezin stimülasyonu
- Hiperkolesteroleminin azaltılması
- Hücre proliferasyonu ve yaşayabilirliği
- Antioksidan
- Fosforilasyonun düzenlenmesi

Taurin özellikle uyarılabilen dokularda ve sıklıkla oksidatif hasara maruz kalan dokularda büyük miktarda bulunur. Ayrıca yenidoğan ratlarda kalbin taurin içeriği yüksektir, yaşamın ilk beş gününde hızla azalır (79,84) (Tablo V).

Tablo V: Çeşitli Organların Taurin Miktarları (mM/kg doku) (14)

Kalp	30	Mide	9
Akciğer	13	Timus	11
Karaciğer	2	Serebellum	3
Kas	15	Pons	4
Böbrek	11	Orta beyin	3
Dalak	16	Frontal Korteks	6
İnce Barsak	15	M. Spinalis	4
Kalın Barsak	12		

II.3.2. Taurinin Myokardiyal Fizyoloji Üzerine Etkisi ve Etki Mekanizmaları

II.3.2.1. Taurinin Myokardiyal Fizyoloji Üzerine Etkisi

Son yıllarda taurinin kalp üzerindeki rolü pek çok çalışmayla kanıtlanmıştır. Bunları şu şekilde sınıflayabilmek mümkündür.

a) Taurinin Antiaritmik Etkisi:

Taurinin kalpte iyon hareketini değiştirdiği ilk kez Read ve Welty tarafından gösterilmiştir. Taurin, köpek kalbinde potasyumun, epinefrin aracılı dışarı akışını önler. Epinefrin ve digoksinin toksik dozlarının neden olduğu ventriküler prematür kontraksiyonları ortadan kaldırır. Antiaritmik etkiye sahip taurinin bu etkisi potasyumdan başka kalsiyum hareketine de bağlıdır. Taurin hem yükseltilmiş hem de düşürülmüş kalsiyum içeriği ile indüklenen aritmiye karşı hücreleri koruyabilmektedir. Yani Ca^{2+} homeostazisi yapmaktadır (71).

b) Taurinin Myokardiyal Kontraksiyonları Düzenleyici Etkisi:

Kalp, hem Ca^{2+} seviyesinin azaltıldığı ortamlarda, hem de ortama verapamil gibi Ca^{2+} antagonistleri bulunduğu zaman hipodinamik hale gelir. Bu durumda, ortama taurin ilave edildiği zaman (+) inotropik etki gözlenir. Hatta perfüzattaki taurin içeriği artırıldıkça, kontraktıl güç lineer olarak artar. Bu ilişki guanidinoetan sülfonat (GES) ve β alanin gibi taurin transport inhibitörleri ile ortam taurini tüketildiğinde belirgin şekilde gösterilebilmiştir. Steele ve Franconi, ortamda Ca^{2+} içeriği düşük olduğu zaman, taurinin (+), yüksek olduğunda ise (-) inotropik etkisi olduğunu göstermişlerdir (27,70,71).

Taurinin ozmotik etkisi nutrisyonel çalışmalarla uyumludur. İntraselüler taurin içeriği azaldığında, kontraksiyon gücü azalır ve kardiyomyopati gelişir. Taurini tüketilmiş kedi grubunda, taurin destekli diyeti takiben myokardiyal fonksiyonların düzeldiği görülmüş ve taurin yetersizliğine bağlı dilate kardiyomyopati insidansı dramatik olarak azaltılmıştır (70,71,75).

Taurinin insanlardaki konjestif kalp yetmezliğinde tek başına veya dijital tedavisiyle beraber faydalı olduğu iddia edilerek, şu anda Japonya'da bu amaçla kullanılmaktadır. Aynı zamanda dijital ve diüretikle tedavi edilemeyen hastalarda da faydalı olduğu iddia edilmektedir (14,33,71).

c) Taurinin Kalbi Koruyucu Etkisi ve Kardiyovasküler İlaçlarla Etkileşimi:

Kalpte hücre hasarı ile sonuçlanan olaylar silsilesinin başlaması ile Ca^{2+} 'un hücrede aşırı birikimi meydana gelir. Ca^{2+} aracılı değişimlerin en önemlisi ATP düzeyinin azalmasıdır. Ayrıca mitokondriyal Ca^{2+} alınımı artar,

Ca²⁺'a bağlı fosfolipaz ve proteazlar aktive olur ve kontraktür gelişir. İntrasellüler Ca²⁺ yüklenmesinin düzeyini etkileyen araçlar, Ca²⁺'a bağlı myokardiyal hasarın düzeyini değiştirir. Bu teoriye göre taurinin farmakolojik dozları, kardiyomyopatik hamster, konjestif kalp yetmezliği, myokardiyal hipoksi (17) doksorubisin aracılı kardiyotoksisite, izoprenalinin indüklediği myokardiyal hasar (56,57) ve Ca²⁺ paradoksunu (40,79,85) içine alan, Ca²⁺ yüklenmesinin neden olduğu kalp yetmezliğinin tüm modellerinde, myokardiyal hasara karşı koruma sağlar (71,76).

Taurinin çeşitli kardiyovasküler ilaçlar ile etkileşimi Ca²⁺ transportundaki değişimlere bağlıdır. Taurin ile digoksinin (+) inotropik etkisi artırılır (71). Ayrıca taurin izoproteranolün neden olduğu doku Ca²⁺ birikimini de bloke eder (4,71). Bunun yanında taurinin, kalpte insülin reseptörleri ile etkileşerek glukoz ve glukojen metabolizmasını değiştirdiği gösterilmiştir. Taurin glukojen sentaz aktivitesini artırarak, insülinin etkisini potansiyalize eder (14,71).

II.3.2.2. Taurinin Etki Mekanizmaları

a) Taurinin Ozmoregölasyon Özelliği:

Taurin, plazma ozmolalitesindeki değişikliklerin sebep olduğu intrasellüler volüm değişmelerini önleyen, ozmotik olarak aktif bir yapıdır. Taurinin bu özelliğinin temelinde, kalpte taurin transportunun Na⁺'a bağlı olarak yapılması yatmaktadır. Kronik hipernatremili farelerde, myokardiyal taurin içeriği, Na⁺/Taurin simport mekanizması aracılığıyla %30 artmış olarak bulunmuştur (71).

b) Taurinin Lipid Metabolizması Üzerine Etkisi:

Kalpte taurin içeriği azaldığında, uzun zincirli yağ açıl CoA miktarında azalma, uzun zincirli yağ açıl karnitin, serbest karnitin ve serbest CoA miktarında artma gözlenir. Triaçil gliserol sentezi için mevcut olan, sitoplazmik uzun zincirli yağ açıl karnitinleri Ca^{2+} transportunu ve normal membran fonksiyonunu bozmaktadır (71).

Taurinin etkilediği bir diğer fosfolipid yolu ise, fosfotidiletanolaminin metilasyonudur. Taurin kimyasal yapısı itibariyle, fosfotidiletanolaminin yüklü baş gruplarına benzer ve onun için seçilen katabolik bölgelere bağlanabilir. Bu da metilasyon reaksiyonunun kompetitif inhibisyonu ile sonuçlanır. Yani taurin sarkolemmal fosfolipid metiltransferaz enzim aktivitesini inhibe eder. Fosfotidiletanolamini fosfotidilkoline çeviren bu enzim Na^{+} - Ca^{2+} alışveriş sisteminden etkilenir. Taurin metiltransferaz reaksiyonunu inhibe ederek Na^{+} - Ca^{2+} alışveriş sisteminin aktivitesini korur (71).

a) Taurinin Hücre Ca^{2+} Homeostazisi Üzerine Etkisi:

aritmogenezde koruyucu etkiye sahiptir. Taurin ayrıca Ca^{2+} kanal blokerlerinin (-) inotropik etkisini de antagonize edebilmektedir.

Hipoksi periyodundan sonra, normal oksijen konsantrasyonuna dönüş (oksijen paradoksu) enzim kaçağına, hücrenin Ca^{2+} açısından fazla yüklenmesine, ventriküler aritmilere yol açar. Taurin bütün bunlara karşı koruyucudur.

Bir taurin derivesi olan taumustin, pek çok toksik yan etkisi olan antitümör ajandır. Taurin, taumustine bağlı nörotoksisiteyi ve pulmoner emboliyi azaltır. Her iki fenomende Ca^{2+} 'a bağlıdır. Emboli oluşumunun azalması, plateletlerde Ca^{2+} varlığının düzenlenmesine bağlıdır.

Taurinin Ca^{2+} modülatör etkisi Ca^{2+} 'a hassas olan sistemlere Ca^{2+} sağlanmasındaki değişimlerle ya da Ca^{2+} 'a olan hassasiyetin değişmesiyle sağlanır. Yani ya sinyal yoğunluğunda ya da cevapta değişmeler olur. Sinyal yoğunluğunun değişmesi, uyarılma -kontraksiyon veya uyarılma- sekresyon dönemlerinde sitozolik Ca^{2+} konsantrasyonu değişmelerini kapsar. Cevap yoğunluğunda değişmeler ise; troponin veya kalmodülin üzerindeki Ca^{2+} bağlanma bölgelerinin afinitesindeki değişmeleri veya Ca^{2+} 'a bağlı ATP'az sistemlerinin Ca^{2+} bağlılığındaki değişmeleri kapsar (33).

Taurin ile Ca^{2+} kanal antagonistleri arasında etkileşim saptanmıştır. İnkübasyon ortamına taurin eklenmesi kobay ventriküler striplerinde verapamile bağlı Ca^{2+} düşüşünü antagonize etmiştir (33). Hamsterlerde verapamil tedavisinin kardiyak taurin konsantrasyonunu artırdığı ve verapamilin, Ca^{2+} 'u düzenleyen, membran stabilizasyonu yapan taurini uyardığı ortaya çıkmıştır (47,83).

Sonuç olarak taurinin Ca^{2+} hareketi üzerine olan biyokimyasal, fizyolojik, farmakolojik zellikleri Şu Şekilde toparlanabilir.

Taurinin Ca^{2+} Hareketleri zerine Olan Biyokimyasal Etkileri:

1. Presipite edici bir anyonun varlığında taurin, sarkoplazmik retikulumun ve muhtemelen mitokondri ve intraselüler organellerin Ca^{2+} depolama kapasitesini artırır.

2. Taurin muhtemelen membran modifikasyonuna sekonder pompanın turn-over hızını artırarak Ca^{2+} ile aktive olan ATP'az pompalarının pompalama hızını stimüle eder.

3. Taurin plazma membranına Ca^{2+} 'un yüksek afiniteli bağlanmasını modifiye eder. Afinitiyi artırır. Bağlanma kapasitesini azaltır. Taurinin bu etkisi bizzat Ca^{2+} 'un kendisini de içeren katyonlar ile antagonize edilir.

Taurinin Ca²⁺ Hareketleri Üzerine Olan Fizyolojik-Farmakolojik Etkileri:

1. Taurin düşük Ca²⁺ konsantrasyonlarında yeterli Ca²⁺ sağlamak, buna karşılık yüksek Ca²⁺ konsantrasyonlarında da Ca²⁺ aşırı yüklenmesine karşı koruma özelliğine sahiptir.

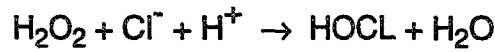
2. Taurin Ca²⁺'a bağımlı süreçlerin Ca²⁺ hassasiyetini hafifçe artırır.

3. Taurinin hem (+) hemde (-) inotropik etkileri, taurinin yavaş Ca²⁺ kanalları aracılığıyla Ca²⁺ 'un girişi ve kardiyak hücre membranlarına Ca²⁺ bağlanması üzerine etkileri ile paraleldir (33).

II.3.3. Taurinin Antioksidan Özelliği

Taurinin *invivo* veya *invitro* antioksidan olarak davrandığını gösteren pek çok çalışma mevcuttur.

Bilindiği gibi PMN benzeri sirkülasyondaki defansif hücreler antimikrobiyal, sitotoksik, sitolitik aktiviteye sahiptirler. Defansif hücrelerin aktiviteleri sırasında salıverdikleri myeloperoksidaz enzimi, klorid anyonundan ve H₂O₂'den hipoklöröz asit (HOCL) oluşumunu katalize eder (29,33,84).



HOCL potent okside edici bir ajandır. Primer aminlerle reaksiyona girerek kloraminleri oluşturur. En reaktif aminlerden biri taurindir. Endojen olarak taurin en büyük konsantrasyona sahip aminlerden biridir. İnsan lökositlerinde 26 milimol taurin bulunduğu rapor edilmiştir. Oluşan

N-klorataurin anyon transport sistemiyle eritrosit içine transporte edilir ve glutatyon ile indirgenir (33,84).

Fotolitik ve enzimatik olarak oksidanların sıklıkla oluştuğu bir doku olan retinada da taurin bol miktarda bulunmaktadır (59). Retinal rod dış segmentlerinin membranları doymamış yağ asitlerinden zengin ve peroksidatif hasara karşı korunmasızdır. Taurin rod dış segmentlerinin fonksiyonları üzerine koruyucu etki gösterir (33).

Taurin, CCl₄ ile indüklenmiş karaciğer ve karaciğer mikrozomlarındaki MDA yapımını azaltırken, pnömotoksik yapılara sekonder akciğerde gelişen lipid peroksidasyonunu da azaltır (33). Ayrıca taurin, doksorubisin gibi antikanser ilaçların kalpte MDA yapımını artırmasına karşılık, kardiyak Ca²⁺ birikimini ve lipid peroksidasyonunu önleyici, membran stabilizasyonu yapıcı etki göstermektedir (31). Yine taurinin koroner arter bypas greftlemesi sırasında, serbest radikal süpürücü özelliği değerlendirildiğinde, reperfüzyon sırasında hücre hasarı ve lipid peroksidasyonunun taurin ile belirgin şekilde azaltıldığı gösterilmiştir (49).

Oksidasyondan korunmayı gerektiren ve membranları doymamış yağ asitlerinden zengin bir diğer sistem, dişi ve erkek üreme sistemidir. Taurin ve hipotaurin, dişilerde, folliküler ve oviduktal sıvı, uterusta (48), erkek üreme sisteminde ise spermatozoa (48,81), semen sıvısı ve prostatta (39), yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Memeli spermi glutatyon redüktaz ve katalazdan yoksundur. Oysa spermde taurin ve hipotaurin oldukça yüksek düzeydedir. Bilindiği gibi süperoksit sperm için oldukça toksiktir, lipid peroksidasyonuna ve

motilite azalmasına yol açar. Böylece hipotaurin ve taurin aracılığıyla sperm motilitesi korunmuş olmaktadır. Hatta taurin ve hipotaurin farelerde "sperm motilize edici faktör" olarak kabul edilmektedir (33). Diğer taraftan taurin insan akrozomlarında bulunan major aminoasitlerden biridir (33,48).

Ayrıca taurinin yanısıra onun metabolik öncüleri olan sisteik asit, sisteamin ve sistein sülfonik asit de in vivo antioksidan olarak rol aldığı ve oksijen radikal türlerini inaktive ettiği gösterilmiştir (3).

II.4. Nifedipin

Son zamanlarda çalışmalar myokardiyal infarkt alanını azaltma metodları üzerinde odaklanmıştır. Bunun için üç genel yaklaşım vardır. Bunlardan biri; iskemik bölgeye kan akımını artırmak (koroner vazodilatatörler ile), diğeri iskemik alanın metabolik ihtiyaçlarını azaltmak (β adrenerjik blokerler ile), sonuncusu ise, iskeminin etkisine karşı myokardiyal hücreleri daha dirençli kılmaktır. Bunun için genellikle membran stabilize edici ilaçlar ve Ca^{2+} kanal blokerleri kullanılır (24).

Ca^{2+} kanal blokerleri, koroner damar düz kas ve myokard hücre membranındaki Ca^{2+} kanallarından ekstrasellüler Ca^{2+} 'un hücre içine girişini bloke eden ilaçlardır (36).

Bir Ca^{2+} kanal blokeri olan nifedipin aynı zamanda antihipertansif ve antianjinal etkinliğe de sahiptir. Damar düz kas membranında voltaja bağlı Ca^{2+} kanallarını bloke eder. Böylece hücreye Ca^{2+} girişini ve onun hücre içindeki Ca^{2+} depolarını mobilize etmesini önler. Bilindiği gibi, kalp hücre membranında voltaja bağlı Ca^{2+} kanalları bulunmaktadır. Yapılan bir

Çalışmada kültürü yapılan rat kalp hücrelerinin her birinde 2.000-10.000 tane fonksiyonel Ca²⁺ kanalı olduğu ve her birinden saniyede 300.000 tane iyonun hücre içine aktığı gösterilmiştir (36).

Nifedipin, verapamilden daha güçlü bir vazodilatatördür. Kalp zerindeki depresan etkisinin diğer blokerlere göre az olması nifedipine üstünlük sağlar (37).



III. GEREÇ VE YÖNTEM

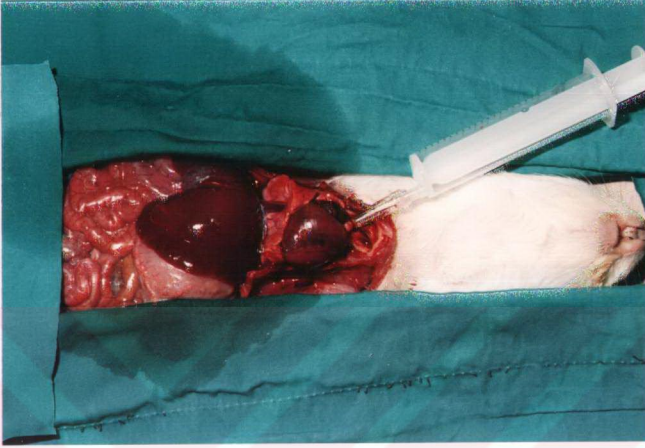
III.1. Araştırma Planı

Çalışmada, deney hayvanı olarak GATA Deneysel Tıp ve Araştırma Merkezinde yetiştirilen ve standart gıda ile beslenen ortalama ağırlıkları, 300-400 gram olan her iki cinsten 59 adet kobay kullanılmıştır.

İzole edilmiş kobay kalplerinin modifiye Langendorf cihazında normotermik perfüzyonu ile gerçekleştirilen deneyler ile ilgili ayrıntılı bilgiler aşağıda sunulmuştur.

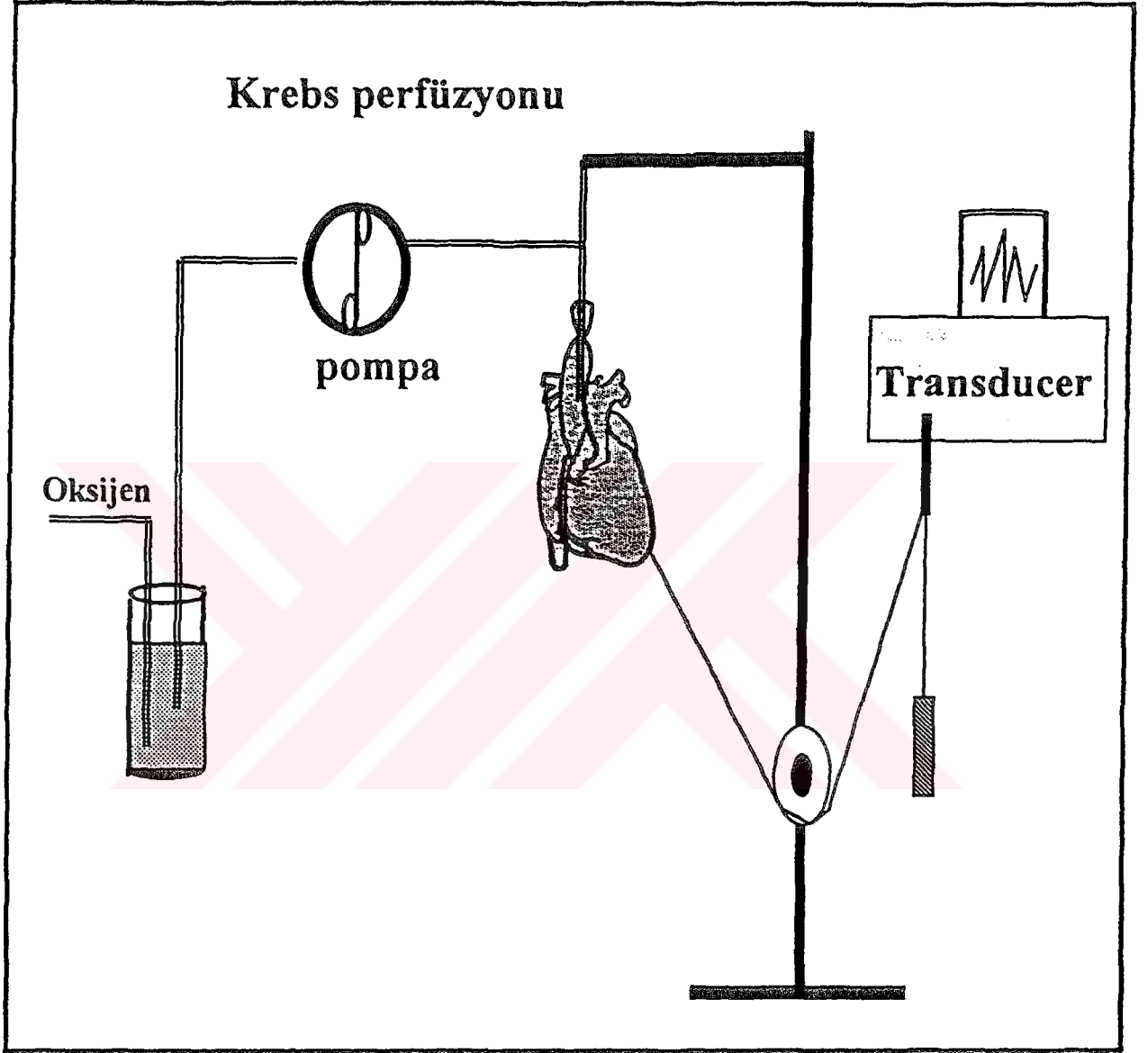
İzole Kalbin Hazırlanışı ve Perfüzyon Tekniği:

Intraperitoneal sentetik heparin enjeksiyonu yapılarak, koroner damarlarda kan pıhtılaşması olasılığı önlenen kobaylar, heparin enjeksiyonundan 15 dakika sonra yine intraperitoneal olarak uygulanan %25'lik üretan (0.6 ml/100 gr) ile anesteziye edildi. Hayvanlar anesteziye girer girmez karından orta hat kesisi ile abdominal boşluğa girilip, aorta kesilerek kanatıldı ve süratle her iki kaburga kesilerek toraks ön duvarı kaldırıldı. Bütün bu işlemler yaklaşık 30 sn. içinde tamamlanarak, çıkan aorta 0.5-1 cm kadar distalden kanüle edildi (Resim 1). Kalp açığa çıkarılarak hemen tartıldı ve ardından perfüzyon sistemine takılıp, çevre dokulardan temizlendi. İzole kobay kalbi 38°C ye kadar ısıtılan ve %95 O₂, %5 CO₂ karışımı ile havalandırılan krebs solüsyonu ile ve pompa (microtubing pump MP-3) aracılığıyla 7 ml/dk hızında sabit akımla perfüze edildi.

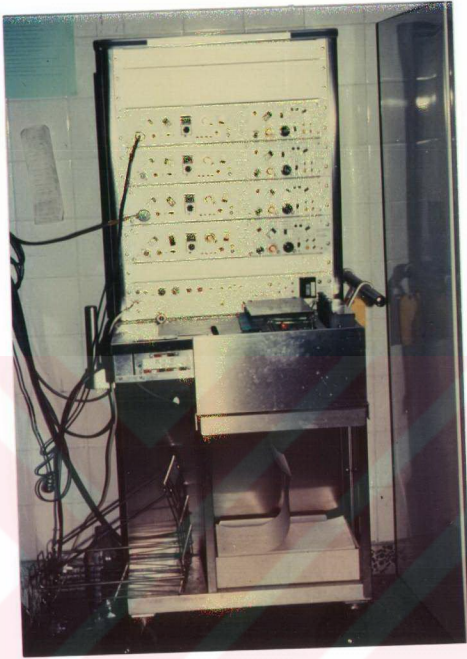


Resim 1: Anesteziye edilmiş kobayn kalbini izole etmek için aortanın kanülasyonu

Yapılan ön deneylerde kaydedilen kontraktilite grafiğinin düzgün hale gelmesi için ortalama 1 saat gerektiği tesbit edildi ve bu süre sonunda kalbin apeksinden geçirilen 5/10 prolene dikiş ipliğinin ucu bir makara aracılığıyla FT 03 izometrik gerim transduserine bağlanarak kalp kasılmaları GRASS poligrafta (Model 7G) kaydedildi (Şekil 12) (Resim 2). Ardından çeşitli çözeltilere tabi tutulan anoksinin onuncu ve yirminci dakikasında ve reperfüzyonun da onuncu ve yirminci dakikasında kayıt yapılarak kalp hızı (vuru/dk) ve kasılma gücü (mm) tespit edildi.



Şekil 12: Perfüzyon cihazının şematik görünümü ve bölümleri



Resim 2: Deneylerde kalbin mekanik aktivitesini kaydetmek için kullanılan Grass 7G poligrafı

Perfüzyon Solüsyonları

Deneylerin başlangıcında kalpler modifiye Langendorf cihazına takılır takılmaz kullanılmaya başlanan ve denge sağlanana kadar kullanılan, daha sonra bazı deney gruplarında da kullanılan Krebs-Henseleit solüsyonunun kimyasal bileşimi Tablo VI'da gösterilmiştir (54).

Tablo VI: Krebs-Henseleit solüsyonunun kimyasal bileşimi

	mM	g/L
NaCl	112	6.9
NaHCO ₃	26	2.1
NaH ₂ PO ₄	1	0.14
KCl	5	0.35
MgCl ₂	0.5	0.11
CaCl ₂	2.5	0.28
Glukoz	11.5	2

Her deney koşuluna göre farklı olarak hazırlanan diğer perfüzyon sıvıları ise aşağıda belirtilmiştir.

- a) Düşük Ca²⁺'lu Krebs-Henseleit solüsyonu
- b) Taurinli Krebs-Henseleit solüsyonu
- c) Taurinli düşük Ca²⁺'lu Krebs-Henseleit solüsyonu
- d) Ca²⁺'suz Krebs-Henseleit solüsyonu
- e) Taurinli Ca²⁺'suz Krebs-Henseleit solüsyonu
- f) Nifedipinli Krebs-Henseleit solüsyonu
- g) Nifedipinli taurinli Krebs-Henseleit solüsyonu
- h) Nifedipinli düşük Ca²⁺'lu Krebs-Henseleit solüsyonu
- ı) Nifedipinli taurinli düşük Ca²⁺'lu Krebs-Henseleit solüsyonu

CaCl₂'ün çıkartıldığı ve azaltıldığı çözeltilere eşdeğer miktarda glukoz ilave edilmiştir. Taurinli çözeltilerde taurinin 10⁻² molarlık solüsyonu (35), nifedipinli çözeltilerde ise nifedipinin 10⁻⁸ molarlık solüsyonu (73) kullanılmıştır.

DENEY PROTOKOLÜ

Kontrol :	Stabilizasyon (n=5) (1 saat)	$\frac{\text{Krebs-Henseleit}}{20 \text{ dk. ANOKSİ}}$	Krebs-Henseleit 20 dk. Reperfüzyon
Deney I:	Stabilizasyon (n=6) (1 saat)	$\frac{\text{Düşük Ca}^{2+}\text{lu Krebs-Henseleit}}{20 \text{ dk. ANOKSİ}}$	Krebs-Henseleit 20 dk. Reperfüzyon
Deney II:	Stabilizasyon (n=6) (1 saat)	$\frac{\text{Krebs-Henseleit}}{20 \text{ dk. ANOKSİ}}$	Krebs-Henseleit+TAURİN 20 dk. Reperfüzyon
Deney III:	Stabilizasyon (n=6) (1 saat)	$\frac{\text{Düşük Ca}^{2+}\text{lu Krebs-Henseleit}}{20 \text{ dk. ANOKSİ}}$	Düşük Ca ²⁺ lu Krebs- Henseleit+TAURİN 20 dk. Reperfüzyon
Deney IV:	Stabilizasyon (n=6) (1 saat)	$\frac{\text{Krebs-Henseleit}}{20 \text{ dk. ANOKSİ}}$	Düşük Ca ²⁺ lu Krebs- Henseleit+TAURİN 20 dk. Reperfüzyon
Deney V:	Stabilizasyon (n=6) (1 saat)	$\frac{\text{Ca}^{2+}\text{suz Krebs-Henseleit}}{20 \text{ dk. ANOKSİ}}$	Ca ²⁺ suz Krebs-Henseleit+ TAURİN 20 dk. Reperfüzyon
Deney VI:	Stabilizasyon (n=6) (1 saat)	$\frac{\text{Krebs-Henseleit}}{20 \text{ dk. ANOKSİ}}$	Ca ²⁺ suz Krebs-Henseleit+ TAURİN 20 dk. Reperfüzyon
Deney VII:	Stabilizasyon (n=6) (1 saat)	$\frac{\text{Nifedipinli Krebs-Henseleit}}{20 \text{ dk. ANOKSİ}}$	Nifedipinli Krebs-Henseleit+ TAURİN 20 dk. Reperfüzyon
Deney VIII:	Stabilizasyon (n=6) (1 saat)	$\frac{\text{Nifedipinli, düşük Ca}^{2+}\text{lu Krebs-Henseleit}}{20 \text{ dk. ANOKSİ}}$	Nifedipinli, düşük Ca ²⁺ lu Krebs-Henseleit + TAURİN 20 dk. Reperfüzyon
Deney IX:	Stabilizasyon (n=6) (1 saat)	$\frac{\text{Nifedipinli, düşük Ca}^{2+}\text{lu Krebs-Henseleit}}{20 \text{ dk. ANOKSİ}}$	Nifedipinli Krebs-Henseleit+ TAURİN 20 dk. Reperfüzyon

Her deney döneminin sonunda, kalplerin ağırlığı tekrar ölçülerek, ventriküller üzerinden kesilen bir kısım doku biyokimyasal tayin için filtre kağıdı ile kurutulup, sıvı azotta dondurulurken, bir kısım doku PGE benzeri aktivite tayini yapılmak üzere HCl ve cam tozu ile muameleye tabi tutuldu.

III.2. Kullanılan Gereç ve Maddeler

1. Modifiye Langendorf Perfüzyon cihazı
2. Poligraf: Grass model 7G
3. FT 03 izometrik gerim transducer
4. Pompa: Micro tubing pump MP-3
5. Santrifüj: Nüvefuj 615
6. Homojenizatör: Vibromix
7. Spektrofotometre: Bosch and Lomb, Spectronic 21

Araştırmada kullanılan Nifedipin Bayer'den, tiyobarbitürik asit, taurin ve PGE₂ Sigma Chemical Company'den, deneylerde adı geçen diğer kimyasal maddelerin tamamı Merck firmasından sağlanmıştır.

III.3. Tayin Yöntemleri

III.3.1. Doku Lipid Peroksit Düzeylerinin Ölçümü

Lipid peroksidasyonunun son yıkım ürünü olan MDA düzeyleri tiyobarbitürik asit (TBA) testi ile spektrofotometrik olarak belirlendi (80).

Reaktifler:

- %0.6'lık TBA
- %1'lik fosforik asit
- *n*-butanol
- %1.15'lik KCL
- Standart: Tetraetoksipropan

%1, 15'lik soğuk KCl'deki %10'luk doku homojenatlarından 0.5 ml alınıp üzerine 3 ml %1'lik fosforik asit ve 1 ml %0.6'lık TBA solüsyonu ilave edildi. Karıştırıldıktan sonra 45 dk kaynar su banyosunda bekletildi. Tüpün üst kısmında ayrılan n-butanol fazı 535-520 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. İki absorbans arasındaki fark nmol/g doku MDA düzeyi olarak kullanıldı (80).

III.3.2. Doku PGE Benzeri Aktivitenin Ölçümü

Doku PGE benzeri aktivite düzeyleri Gillmore ve Vane'nin metodu ile biyoassay yöntemi ile belirlenmiştir.

Reaktifler:

- 0.1 N HCl
- Etil asetat
- Cam tozu
- Standart: PGE₂

Cam tozu ve 1 cc 0.1 N HCl karışımı ile homojenize edilen örneklere 2 cc etil asetat ilave edilir. Karışım 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek, elde edilen süpernatant ayrılır ve azot gazında uçurulur. Uçurma işleminden sonra tüplerin dibinde yapışmış olarak kalan partiküller 1 cc krebs solüsyonu ile çözdürülür. Diğer taraftan rat mide fundusu süperfüzyon ortamına asılıp, perfüze edilir. 30 dakikalık stabilizasyonu takiben farklı dozlarda standart PGE₂'nin ve numunelerin doz-cevap eğrisi elde edilerek doku PGE benzeri aktivite ng/g doku cinsinden hesaplanır (26).

Grupların karşılaştırılmasında varyans analizi tekniği, farklı grupların tespitinde ise Duncan testi kullanılmıştır.

IV. BULGULAR

Deney gruplarında tespit edilen kalp hızı, kasılma gücü, kalp ağırlığı, doku MDA düzeylerinin ve doku PGE benzeri aktivitelerinin ortalama değerleri ve standart hataları Tablo VII, VIII, IX'da gösterilmiştir.

Tablo VII: Gruplara Ait Ortalama Değerler

		KALP HIZI % Değişimi	KASILMA GÜCÜ % Değişimi	AĞIRLIK (g)	DOKU MDA (nmol/gdoku)	DOKU PGE B.A.(ng/gdoku)
Kontrol n = 5	Anoksi öncesi	100	100	2.97±0.59		
	10 dk. Anoksi	105.73±5.15	109.40±3.73			
	20 dk. Anoksi	94.72±11.42	86.56±11.29			
	10 dk. Reperfüzyon	93.55±10.18	101.58±10.01			
	20 dk. Reperfüzyon	87.98±12.80	102.18±7.01	3.59±0.66	48±7.69	35.10±4.82
Deney I n=6	Anoksi öncesi	100	100	3.09±0.64		
	10 dk. Anoksi	100.89±8.01	59.11±12.56			
	20 dk. Anoksi	91.75±6.34	38.86±15.07			
	10 dk. Reperfüzyon	95.49±4.90	37.96±6.82			
	20 dk. Reperfüzyon	93.90±6.07	33.30±5.62	4.1±0.54	22.75±3.12	28.27±4.55
Deney II n=6	Anoksi öncesi	100	100	2.38±0.24		
	10 dk. Anoksi	115.64±32.80	122.47±36.58			
	20 dk. Anoksi	113.98±33.79	116.24±25.93			
	10 dk. Reperfüzyon	112.12±29.55	134.68±75.23			
	20 dk. Reperfüzyon	109.44±26.32	141.42±67.93	2.70±0.52	32.67±2.29	33.48±1.23
Deney III n=6	Anoksi öncesi	100	100	3.36±0.24		
	10 dk. Anoksi	97.52±6.10	83.24±15.65			
	20 dk. Anoksi	92.36±19.04	54.66±25.12			
	10 dk. Reperfüzyon	96.94±3.10	62.50±26.05			
	20 dk. Reperfüzyon	93.89±2	108.87±43.60	3.66±0.24	13.67±1.91	16.80±1.70

Tablo VIII: Gruplara Ait Ortalama Değerler

		KALP HIZI % Değişimi	KASILMA GÜCÜ % Değişimi	AĞIRLIK (g)	DOKU MDA (nmol/gdoku)	DOKU PGE B.A.(ng/gdoku)
Deney IV n = 6	Anoksi öncesi	100	100	3.23±0.65		
	10 dk. Anoksi	103±10.92	115.83±27.77			
	20 dk. Anoksi	98.68±9.42	102.65±27.71			
	10 dk. Reperfüzyon	101.4±9.28	135.72±54.36			
	20 dk. Reperfüzyon	95.83±11.48	146.32±27.09	3.55±0.49	22.33±2.46	17.82±1.48
Deney V n=6	Anoksi öncesi	100	100	2.23±0.73		
	10 dk. Anoksi	89.08±9.39	76.45±9.70			
	20 dk. Anoksi	0	0			
	10 dk. Reperfüzyon	0	0			
	20 dk. Reperfüzyon	0	0	4.23±0.59	24.17±2.23	19.88±3.26
Deney VI n=6	Anoksi öncesi	100	100	2.71±0.37		
	10 dk. Anoksi	109.13±28.98	149.20±40.13			
	20 dk. Anoksi	108.30±24.17	121.4±22.56			
	10 dk. Reperfüzyon	104.86±22.70	114.6±25			
	20 dk. Reperfüzyon	0	0	3.35±0.23	33.50±3.24	23.31±0.97
Deney VII n=6	Anoksi öncesi	100	100	2.54±0.65		
	10 dk. Anoksi	93.77±4.97	91.46±18.24			
	20 dk. Anoksi	83.47±18.90	71.14±20.08			
	10 dk. Reperfüzyon	87.47±3.93	91.79±55.14			
	20 dk. Reperfüzyon	89.21±10.57	128.16±29.70	2.66±0.69	31.83±1.80	25.72±5.02

Tablo IX: Gruplara Ait Ortalama Değerler

		KALP HIZI % Değişimi	KASILMA GÜCÜ % Değişimi	AĞIRLIK (g)	DOKU MDA (nmol/gdoku)	DOKU PGE B.A.(ng/gdoku)
Deney VIII n = 6	Anoksi öncesi	100	100	2.73±0.21		
	10 dk. Anoksi	90.60±13.73	97.32±33.84			
	20 dk. Anoksi	85.90±13.82	51.71±9.20			
	10 dk. Reperfüzyon	85.90±13.82	42.28±5.60			
	20 dk. Reperfüzyon	77.57±8.85	44.43±21.73	3.03±0.35	20.67±4.84	16.28±1.81
Deney IX n=6	Anoksi öncesi	100	100	3.05±0.22		
	10 dk. Anoksi	98.42±6.32	66.60±14.16			
	20 dk. Anoksi	66.49±9.60	33.06±14.37			
	10 dk. Reperfüzyon	81.57±22.43	42.53±14.58			
	20 dk. Reperfüzyon	81.39±18.66	65.49±11.36	3.35±0.17	18.66±0.66	17.68±1.47

I. Kontrol Grubu:

Stabilizasyonu takiben, 10 dakika anoksinin sonunda kalp hızı ve kasılma gücü artmış, anoksinin 20. dakikası sonunda ise azalmıştır. Ancak bu artış ve azalışlar anlamlı değildir ($p>0.05$). Reperfüzyonun 10. dakikasında kalp hızı ve kasılma gücü artarken (anlamlı değildir $p>0.05$), 20. dakikası sonunda kalp hızı azalmış, kasılma gücü ise artarak başlangıca yakın değer almıştır. Yine bu artış ve azalışlar da anlamlı değildir ($p>0.05$) (Şekil 13).

Bu grupta 20 dakika reperfüzyon sonrasında alınan doku örneklerinde doku MDA düzeyi 48 ± 7.69 nmol/g doku, PGE benzeri aktivite ise 35.10 ± 4.82 ng/gdoku tespit edilmiştir (Şekil 13, 23, 24).

Anoksi öncesine göre 20 dakikalık reperfüzyon sonunda doku ağırlığı anlamlı şekilde artma göstermiştir ($p<0.01$) (Şekil 13).

II. Deney I:

Stabilizasyonu takiben düşük Ca^{2+} 'lu anoksinin 10. dakikasında kalp hızı aynı kalırken, kasılma gücü azalmıştır ($p<0.01$). Anoksinin 20. dakikası sonunda kalp hızı anlamlı olmayan bir azalma gösterirken ($p>0.05$), beraberinde kasılma gücü de azalma göstermiştir ($p<0.01$). Reperfüzyonun 10. dakikasında ise kalp hızı artarken, 20. dakikasında azalma göstermiştir. Ancak bu artış ve azalışlar anlamlı değildir ($p>0.05$). Kasılma gücü ise reperfüzyonun hem 10. hem de 20. dakikasında azalmaya devam etmiş ve stabilizasyona göre anlamlı bir fark oluşturmuştur ($p<0.01$) (Şekil 14).

Doku MDA düzeyinde ise kontrole göre anlamlı bir azalma saptanmıştır ($p<0.01$) (Şekil 14, 23).

Doku PGE benzeri aktivitedeki azalma ise kontrole göre anlamlı değildir ($p>0.05$) (Şekil 14, 24).

Doku ağırlığı ise, anoksi öncesine göre 20 dakikalık reperfüzyon sonunda anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.01$) (Şekil 14).

III. Deney II:

Stabilizasyonu takiben normal Ca^{2+} 'lu anoksinin 10. dakikası sonunda kalp hızı ve kasılma gücü artmış, 20. dakikası sonunda azalmıştır. Ancak bu artış ve azalışlar anlamlı değildir ($p>0.05$). Normal Ca^{2+} 'lu ve taurinli reperfüzyonun 10. dakikasında kasılma gücü artarken, 20. dakikasında kalp hızı azalmış ve kasılma gücü artmaya devam etmiştir. Ancak bu değişimler de anlamlı değildir ($p>0.05$) (Şekil 15).

Doku MDA düzeyindeki azalma kontrole göre anlamlıdır ($p < 0.01$) (Şekil 15,23).

Doku PGE benzeri aktivitedeki azalma ise kontrole göre anlamlı değildir ($p > 0.05$) (Şekil 15, 24).

Doku ağırlığı ise, anoksi öncesine göre, 20 dakikalık reperfüzyon sonunda anlamlı bir artış göstermemiştir ($p > 0.05$) (Şekil 15).

IV. Deney III:

Stabilizasyonu takiben düşük Ca^{2+} 'lu anoksinin 10. dakikası sonunda kalp hızı ve kasılma gücü anlamlı olmayan azalma göstermiş ($p > 0.05$), 20. dakikası sonunda ise kasılma gücü stabilizasyona oranla anlamlı bir düşüş göstermiştir ($p < 0.01$). Düşük Ca^{2+} 'lu taurinli reperfüzyonun 10. ve 20. dakikaları sonunda, kasılma gücü giderek artmış ve anoksinin 20. dakikasına oranla reperfüzyonun 20. dakikasında anlamlı bir artış saptanmıştır ($p < 0.01$). Ancak reperfüzyonun 20. dakikası sonunda görülen kalp hızındaki azalma anlamlı değildir ($p > 0.05$) (Şekil 16).

Bu deney grubunda doku MDA düzeylerindeki ve PGE benzeri aktivitedeki azalma kontrole göre anlamlıdır ($p < 0.01$) (Şekil 16, 23, 24).

Doku ağırlığı ise, anoksi öncesine göre, 20 dakikalık reperfüzyon sonunda anlamlı bir artış göstermemiştir ($p > 0.05$) (Şekil 16).

V. Deney: IV

Stabilizasyonu takiben normal Ca^{2+} 'lu anoksinin 10. dakikasında kalp hızı ve kasılma gücü artmış, 20. dakikası sonunda ise kalp hızı ve kasılma

gücü azalmıştır. Ancak bu artış ve azalışlar anlamlı değildir ($p>0.05$). Düşük Ca^{2+} 'lu taurin reperfüzyonunun 20. dakikası sonunda görülen kalp hızı azalışı da anlamlı değildir ($p>0.05$). Bununla beraber kasılma gücü reperfüzyonun hem 10. hem de 20. dakikasında giderek artmıştır. Anoksinin 20. dakikasına oranla hem 10. hem de 20. dakikasındaki artışlar anlamlıdır, hem de stabilizasyona göre kasılma gücündeki artış anlamlılık göstermiştir ($p<0.01$) (Şekil 17).

Yine bu deney grubunda da doku MDA düzeylerindeki ve PGE benzeri aktivitedeki azalma kontrole göre anlamlıdır ($p<0.01$) (Şekil 17,23,24).

Doku ağırlığı ise anoksi öncesine göre, 20 dakikalık reperfüzyon sonunda anlamlı bir artış göstermemiştir ($p>0.05$) (Şekil 17).

VI. Deney V:

Stabilizasyonu takiben Ca^{2+} 'suz anoksinin 10. dakikasında kalp hızı ve kasılma gücü azalmış ($p<0.05$), 20. dakikası sonucunda kalp kontraksiyonları durmuştur. Ca^{2+} 'suz taurin reperfüzyonunun 10. ve 20. dakikasında ise kontraksiyonlar geri dönmemiştir (Şekil 18).

Doku MDA düzeylerindeki ve PGE benzeri aktivitedeki azalma kontrole göre anlamlıdır ($p<0.01$) (Şekil 18,23,24).

Doku ağırlığı ise anoksi öncesine göre, 20 dakikalık reperfüzyon sonunda anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.01$) (Şekil 18).

VII. Deney VI:

Stabilizasyonu takiben normal Ca^{2+} 'lu anoksinin 10. dakikası sonunda kalp hızı anlamlı olmayan ($p>0.05$), ancak kasılma gücü anlamlı olan bir artış göstermiştir ($p<0.01$). Anoksinin 20. dakikası sonunda ise kalp hızı ve kasılma gücü azalmıştır, bu azalma anlamlı değildir ($p>0.05$). Ca^{2+} 'suz taurin reperfüzyonunun 10. dakikasında başlayan kalp hızı ve kasılma gücündeki azalmalar, 20. dakika sonunda kontraksiyonların durmasıyla sonuçlanmıştır (Şekil 19).

Doku MDA düzeylerindeki ve PGE benzeri aktivitedeki azalma kontrole göre anlamlıdır ($p<0.01$) (Şekil 19,23,24).

Doku ağırlığı ise anoksi öncesine göre, 20 dakikalık reperfüzyon sonunda anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.01$) (Şekil 19).

VIII. Deney VII:

Stabilizasyonu takiben nifedipinli, normal Ca^{2+} 'lu anoksinin 10. dakikası sonunda kalp hızı ve kasılma gücü azalmıştır. Ancak bu azalış anlamlı değildir ($p>0.05$). Anoksinin 20. dakikası sonunda ise kalp hızı azalmaya devam etmiştir ($p<0.05$), kasılma gücündeki azalış ise anlamlı değildir ($p>0.05$). Nifedipinli normal Ca^{2+} 'lu taurin reperfüzyonunun 10. ve 20. dakikalarında kalp hızı giderek artmıştır. Ancak bu artış anlamlı değildir ($p>0.05$). Kasılma gücü de kalp hızı beraberinde artış göstermiştir. Anoksinin 20. dakikasına göre reperfüzyonun 20. dakikasındaki artış anlamlıdır ($p<0.01$) (Şekil 20).

Bu deney grubunda doku MDA düzeylerindeki ve PGE benzeri aktivitedeki azalma kontrole göre anlamlıdır ($p<0.01$) (Şekil 20,23,24).

Doku ağırlığı ise anoksi öncesine göre, 20 dakikalık reperfüzyon sonunda anlamlı bir artış göstermemiştir ($p>0.05$) (Şekil 20).

IX. Deney VIII

Stabilizasyonu takiben düşük Ca^{2+} 'lu, nifedipinli anoksinin 10. ve 20. dakikası sonunda kalp hızı ve kasılma gücü giderek azalmıştır. Stabilizasyona göre anoksinin 20. dakikası sonundaki kasılma gücü düşüşü anlamlıdır ($p<0.01$). Nifedipinli, düşük Ca^{2+} 'lu, taurin reperfüzyonunun 20. dakikası sonunda kalp hızı ve kasılma gücündeki azalışlar stabilizasyona göre anlamlıdır ($p<0.01$) (Şekil 21).

Bu deney grubunda doku MDA düzeylerindeki ve PGE benzeri aktivitedeki azalma kontrole göre anlamlıdır ($p<0.01$) (Şekil 21,23,24).

Doku ağırlığı ise anoksi öncesine göre, 20 dakikalık reperfüzyon sonunda anlamlı bir artış göstermemiştir ($p>0.05$) (Şekil 21).

X. Deney IX:

Stabilizasyonu takiben düşük Ca^{2+} 'lu, nifedipinli anoksinin 20. dakikası sonunda kalp hızı azalmış ($p<0.05$), kasılma gücü ise anoksinin 10. dakikası sonunda azalmış ($p<0.05$), 20. dakikası sonunda ise azalmaya devam etmiştir ($p<0.01$). Nifedipinli, normal Ca^{2+} 'lu taurin reperfüzyonunun 10. dakikasında kalp hızı ve kasılma gücü artmış, 20. dakikası sonunda ise kalp hızı sabit kalırken, kasılma gücü artmaya devam etmiştir ve anoksinin 20.

dakikasına oranla reperfüzyonun 20. dakikasında anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0.05$) (Şekil 22).

Bu deney grubunda doku MDA düzeylerindeki ve PGE benzeri aktivitedeki azalma kontrole göre anlamlıdır ($p<0.01$) (Şekil 22,23,24).

Doku ağırlığı ise anoksi öncesine göre, 20 dakikalık reperfüzyon sonunda anlamlı bir artış göstermemiştir ($p>0.05$) (Şekil 22).

Kalp Hızı ve Kasılma Gücü Bulgularının Gruplar Arası Karşılaştırılması

I. Stabilizasyon:

Gruplar arasında fark yoktur ($p>0.05$).

II. 10 Dakika Anoksi:

10 dakika anoksi sonunda kalp hızında, gruplar arasında fark görülmez iken ($p>0.05$), kasılma gücünde kontrole göre deney I'de azalma görülmüştür ($p<0.05$).

III. 20 Dakika Anoksi:


20 dakika anoksinin sonunda kalp hızında kontrole göre deney V'de azalma görülmüş ($p<0.01$), kasılma gücünde ise kontrole göre deney I, V, IX'da ($p<0.01$) ve deney III ve Deney VIII'de ($p<0.05$) azalma saptanmıştır.

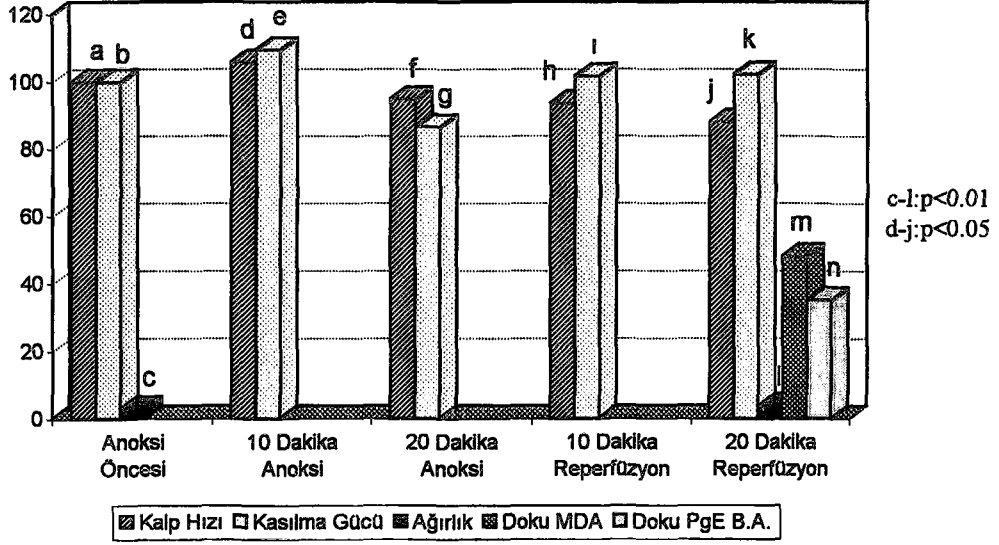
IV. 10 Dakika Reperfüzyon:

10 dakika reperfüzyon sonunda kalp hızında kontrole göre deney V'de azalma saptanmış ($p<0.01$), kasılma gücünde ise kontrole göre deney I ($p<0.05$) ve deney V ($p<0.01$)'de azalma görülmüştür.

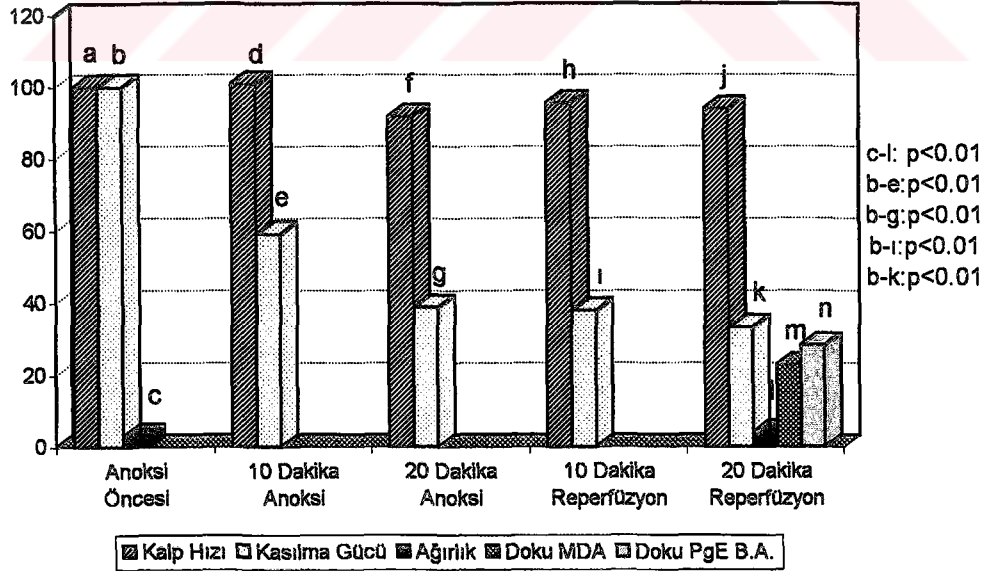
V. 20 Dakika Reperfüzyon:

20 dakika reperfüzyon sonunda kalp hızında kontrole göre deney V ve VI'da azalma saptanmış ($p<0.01$), kasılma gücünde ise kontrole göre deney IV'de artma ($p<0.05$), deney I, V, VI ($p<0.01$) ve deney VIII'de ($p<0.05$) azalma saptanmıştır.

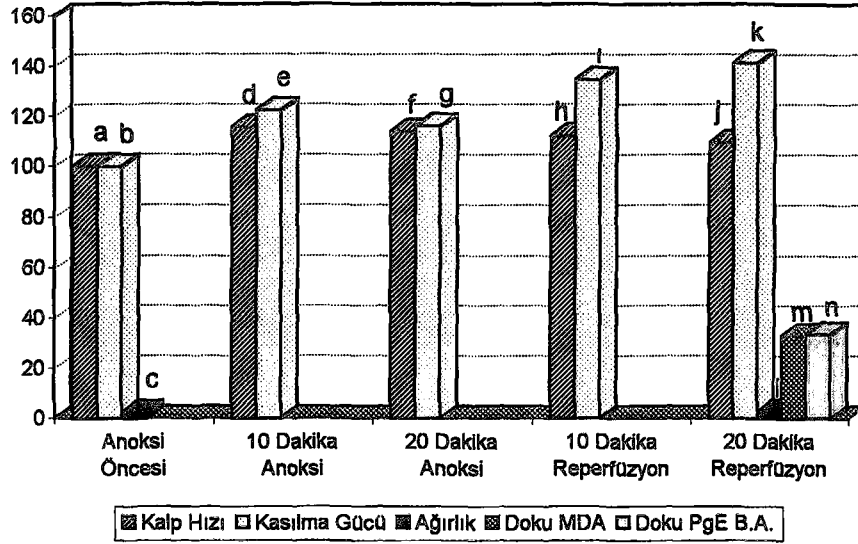




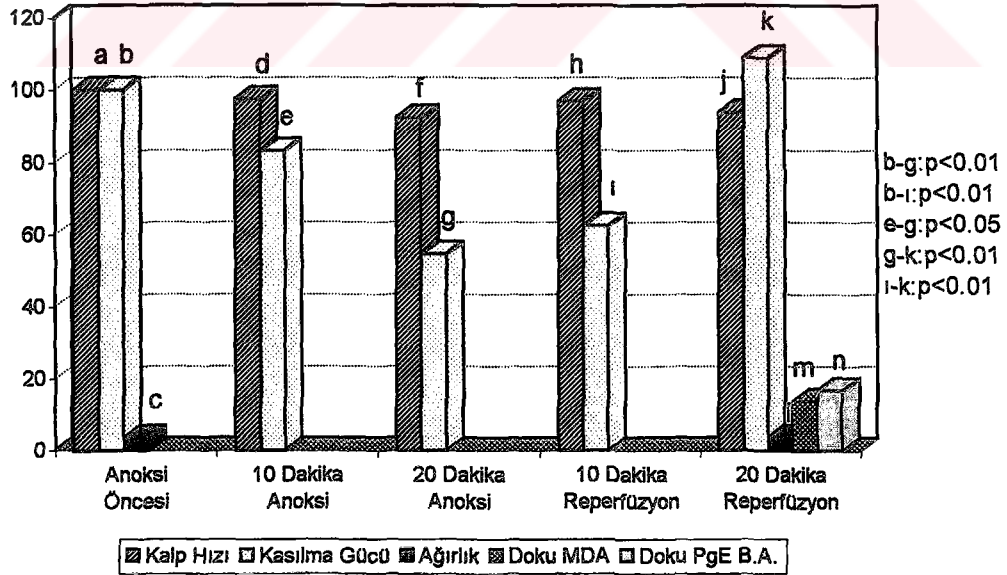
Şekil 13: Kontrol grubu değerleri



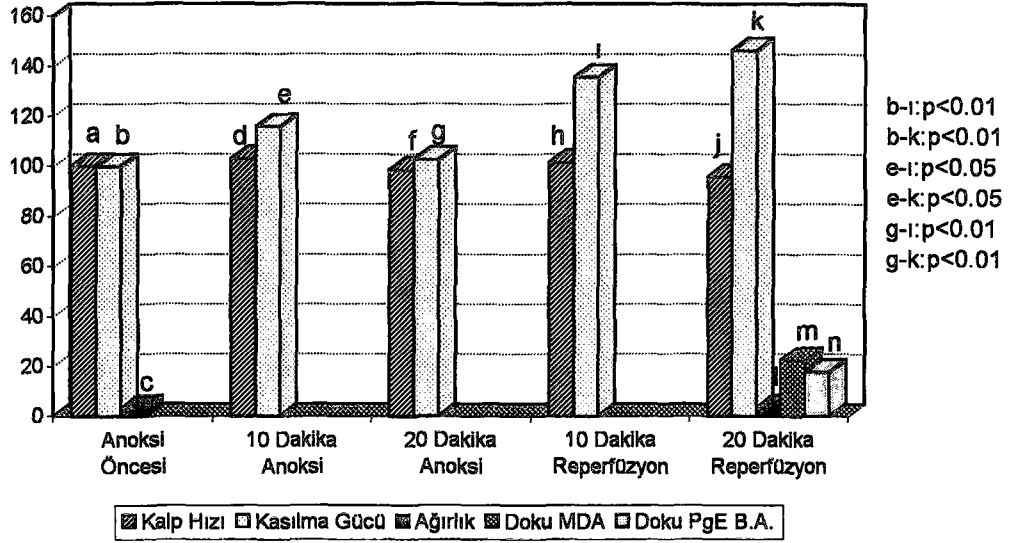
Şekil 14: Deney grubu I değerleri



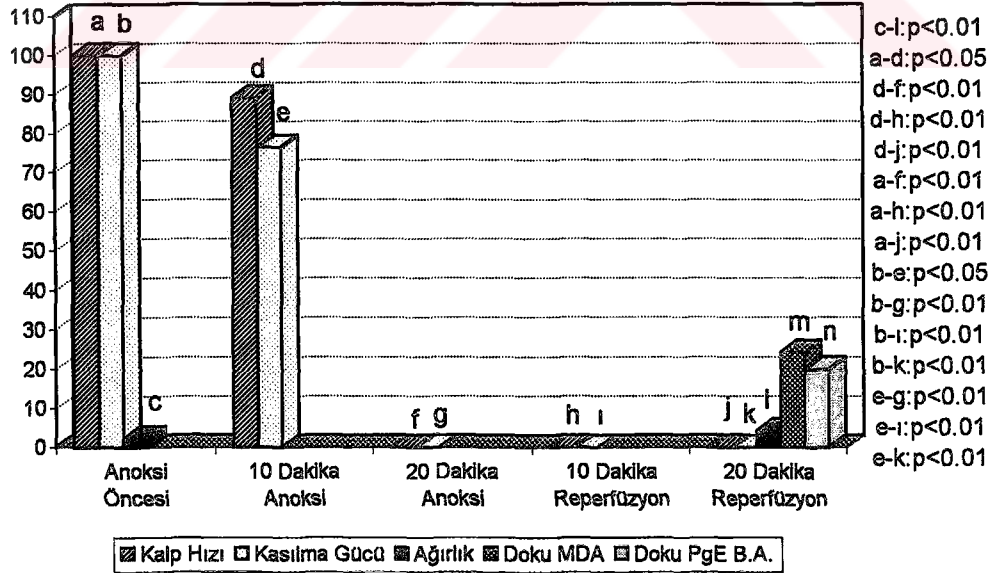
Şekil 15: Deney grubu II değerleri



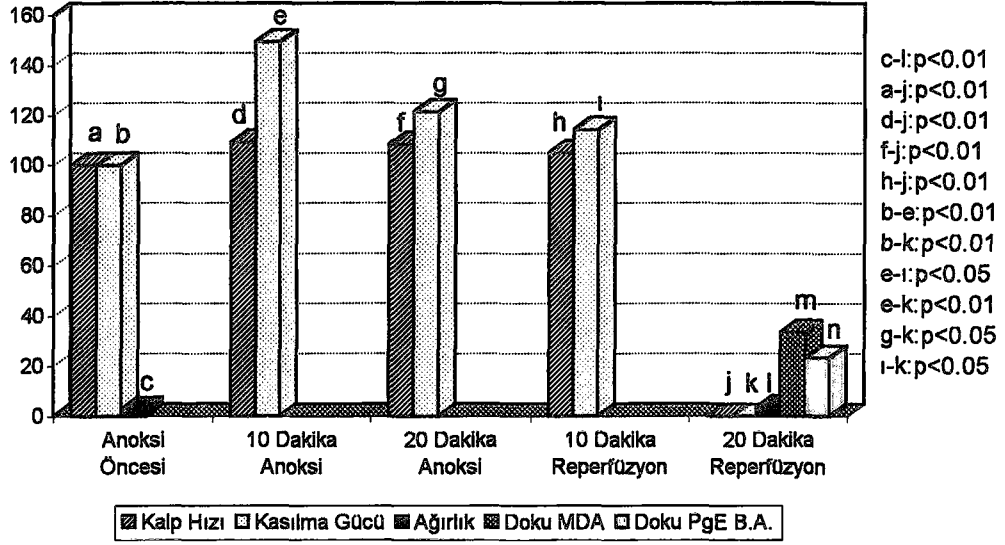
Şekil 16: Deney grubu III değerleri



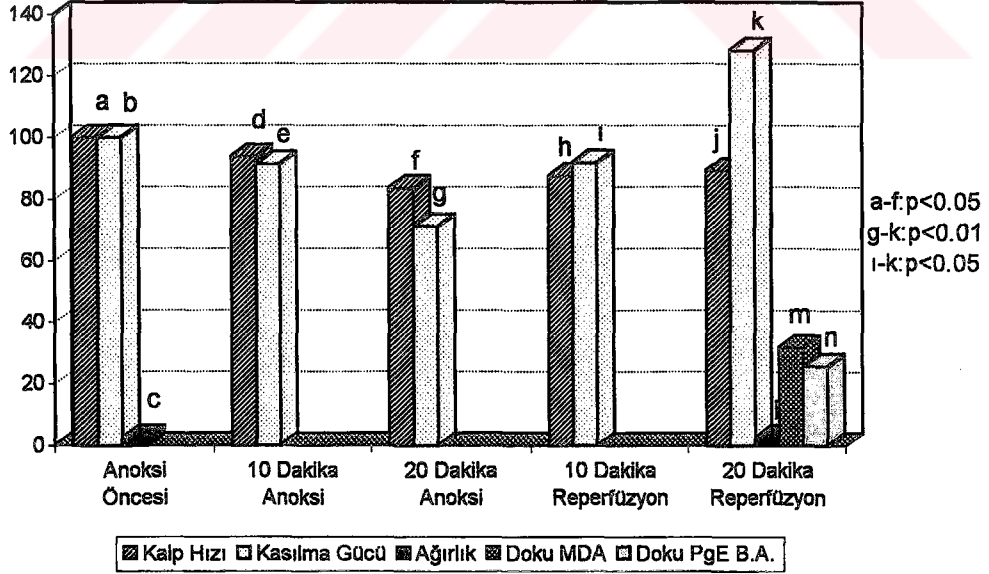
Şekil 17: Deney grubu IV değerleri



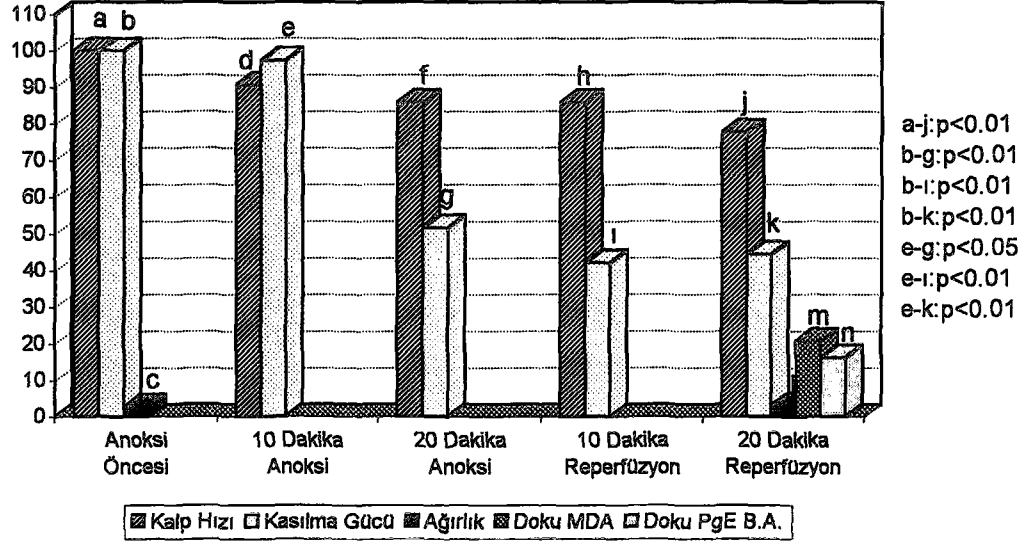
Şekil 18: Deney grubu V değerleri



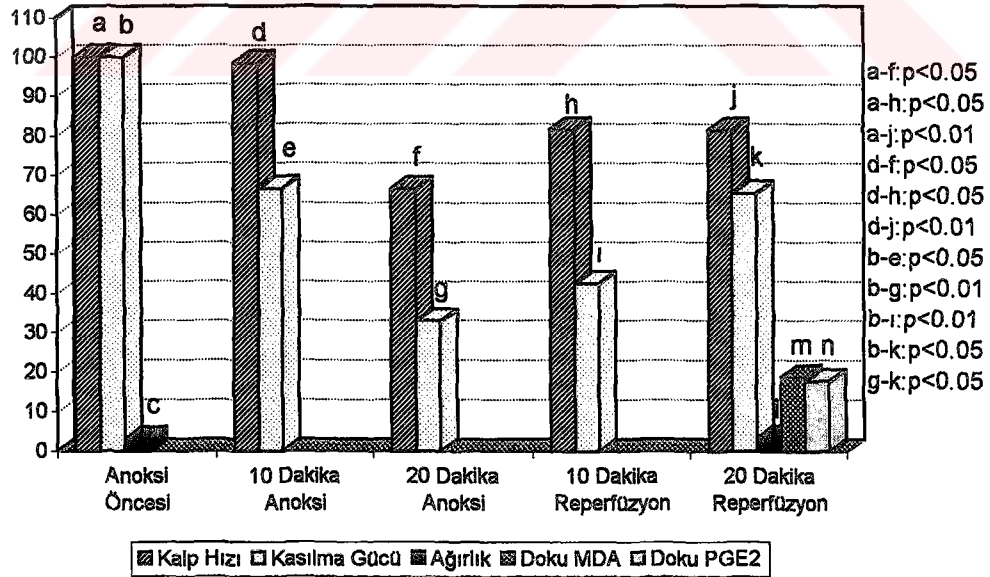
Şekil 19: Deney grubu VI değerleri



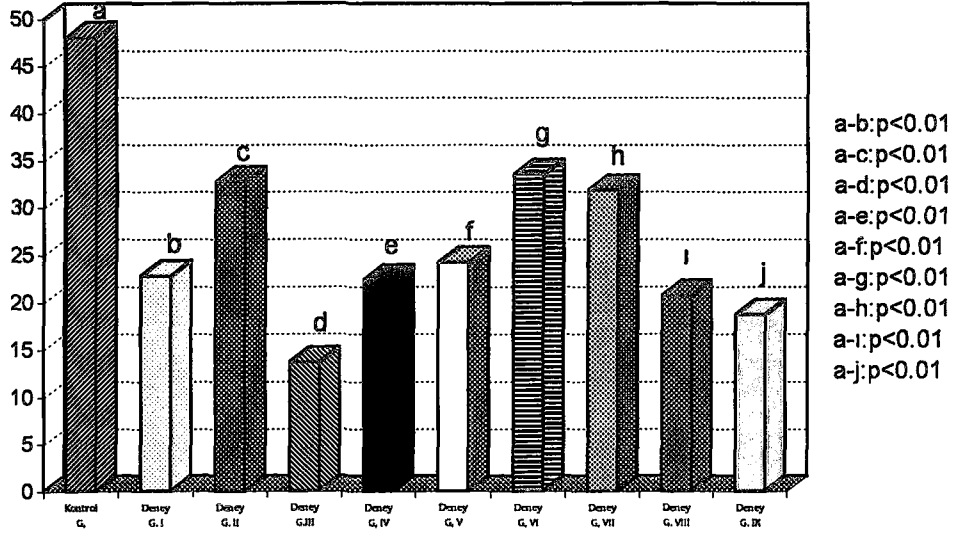
Şekil 20: Deney grubu VII değerleri



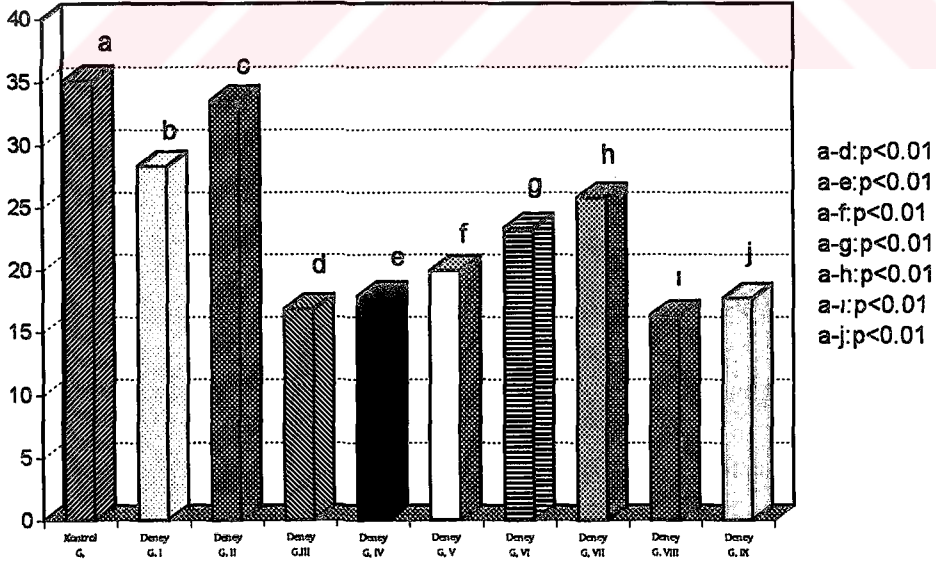
Şekil 21: Deney grubu VIII değerleri



Şekil 22: Deney grubu IX değerleri



Şekil 23: Grupların doku MDA değerleri



Şekil 24. Grupların doku PGE benzeri aktivite değerleri

V. TARTIŞMA

İskemik dokunun geriye dönebileceği süreç klinikte oldukça önemlidir, zira koronerlerde akut darlığın distaline kan akımını sağlayan girişimler mevcuttur. Koronerlerde tam tıkanmayı izleyen 15-20 dakika içinde yapılan reperfüzyon, tıkanıklıktan etkilenen myokardın tümünü veya büyük kısmını kurtarabilmektedir. Ancak süre uzadıkça daha çok myokard hücresinde geri dönemeyen hasar oluşmaktadır. 4 veya 6 saat süren tıkanıklıklardan sonra çok az doku kurtarılabilmektedir (11). Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda 20 dakika anoksi uygun görülmüştür.

Yavaş fakat aralıksız kasılan kalp kası, depo enerji rezervi kısıtlı olduğu için, kasılma fonksiyonunu ancak devamlı bir enerji kaynağı olduğu sürece devam ettirebilir. ATP üretiminde kullanılan temel oksidasyon girdisi yağ asitleridir. Myokard metabolizması aerobiktir ve O₂ sağlanımı gerektirir (10). Literatürde iskemik periyodun erken dönemlerinde myokardiyal O₂ tüketiminin oldukça hızlı olduğu gösterilmiştir (24). Myokardın O₂ kullanımını belirleyen başlıca 3 temel gösterge vardır; bunlar kontraktilite, kalp hızı ve duvar gerilimidir (10). Planladığımız çalışmamızda kontrol grubunda stabilizasyonu takiben 10 dakika anoksinin sonunda myokardın O₂ gereksiniminin artışına bağlı olarak hem kalp hızı, hem de kasılma gücü artmıştır. Ancak anoksinin ilerleyen dönemlerinde oksidatif fosforilasyonun gerçekleştirilememesi ve yüksek enerjili bileşimlerin üretilmemesi sonucu

hem kalp hızı, hem de kasılma gücü azalma göstermiştir. Reperfüzyonda ise gereken O_2 'in yerine konmasıyla kasılma gücü giderek artmıştır. Ancak bu artış ve azalışlar anlamlı değildir ($p>0.05$).

Kası Ca^{2+} iyonlarına karşı hassas kılan ince flamanlardaki troponin ve tropomyozindir. Serbest Ca^{2+} iyonları troponin molekülüne bağlanır ve bu bağlantı tropomyozin molekülünün pozisyonunu değiştirir. Ca^{2+} iyonları bulunmadığı veya belirli bir miktardan az bulunduğu zaman, tropomyozin molekülleri aktin üzerindeki myozin başlarının bağlanacağı bölgeyi kapatır ve kasılabilirlik engellenir (55). Deney I'de bu özelliğe bağlı olarak düşük Ca^{2+} 'lu anoksinin 20. dakikası sonunda hem kalp hızı (anlamlı değildir $p>0.05$), hem de kasılma gücü ($p<0.01$) azalmıştır. Reperfüzyonda ise değişimler anlamlı değildir ($p>0.05$).

Taurinin memeli dokularında sitoplazmik serbest aa. havuzunun major komponenti olduğu bilinmektedir. Taurin eksikliği ile myokardiyal kontraktıl bozukluk arasında ilişki saptanmıştır. Biyokimyasal olarak da taurin defisitinde aktin ve myozin gibi major sarkomerik proteinlerin kaybı gösterilmiştir (42). Aynı zamanda koroner arter ligasyonu ile iskemi oluşturulan kalp kasında taurin içeriğinin azaldığı tespit edilmiştir (78). Literatürde taurin yokluğunda reperfüzyondan sonra Na-K ATP'az, Mg ATP'az ve Ca ATP'az aktivitesinin %45-55 oranında azaldığı gösterilmiştir. Bu gibi bulgular taurinin yalnızca reperfüzyon sırasında etkin olduğunu gösteren çalışmalardır (40). Ayrıca GES ile taurin eksikliği oluşturulan ratlarda aksiyon potansiyelinin ve QT intervalinin selektif olarak uzadığı saptanmıştır. Bu tür hayvanlarda taurin desteğinin QT intervalindeki artışı tersine çevirdiği görülmüştür. Yani taurin

özellikle repolarizasyon süresi üzerinden myokard aksiyon potansiyelini regüle etmektedir (41). Ayrıca taurin, reperfüzyonda görülen LDH artışı, plazma P_H azalması gibi belirtileri düzeltirken, normal elektriksel aktivitenin dönüşünde de yararlı etkiye sahiptir (27). Bu bilgilerden yola çıkarak deney II'de reperfüzyonda 10^{-2} M taurin kullanılmış ve reperfüzyonun 10. ve 20. dakikası sonunda kasılma gücünün giderek arttığı görülmüştür, ancak artış anlamlı değildir ($p>0.05$).

Taurinin uyarılabilen dokularda Ca^{2+} metabolizmasını düzenlediğini bilmekteyiz. Taurin düşük Ca^{2+} lu ortamda kontraktiletiyi, kobay kalbindeki Ca^{2+} içeriğini, sarkoplazmik retikulumdan Ca^{2+} salınımını ve myoflamentlerin Ca^{2+} 'a hasasiyetini arttırmaktadır (42,78). Bu bilgiler ışığında deney III'de düşük Ca^{2+} 'lu, taurinli reperfüzyon kullanılarak, anoksinin 20. dakikasına oranla, reperfüzyonun 20. dakikasında anlamlı olarak ($p<0.01$) kasılma gücünün arttığı gösterilmiştir. Anesteziye ratlarda, taurin iv. olarak verildiğinde en belirgin kardiyovasküler etki bradikardi olmuştur (27). Gerçekten de çalışmamızda anlamlı olmasa da ($p>0.05$) reperfüzyonun 20. dakikasında kalp hızı 10. dakikasına oranla azalma göstermiştir.

Normal Ca^{2+} 'lu anoksi ve düşük Ca^{2+} 'lu taurinli reperfüzyonun kullanıldığı deney IV'de ise reperfüzyonun 20. dakikası sonunda hem anoksinin 20. dakikasına hem de stabilizasyona oranla kasılma gücü anlamlı şekilde artmıştır ($p<0.01$). Kalp hızı ise yine reperfüzyonun başlangıcına oranla azalma göstermiştir. Ancak bu azalış anlamlı değildir ($p>0.05$). Sonuçlarımız bu grupta taurinin beklenen özelliklerini vurgular niteliktedir yani kasılma gücünün reperfüzyon sonunda artmış olması taurinin beklenen

özelliği olan Ca^{2+} homeostazisini ve kalbin kasılabilirliğindeki düzenleyici etkisini vurgulamaktadır.

Bilindiği gibi Ca^{2+} myokardiyal hücre bütünlüğünün korunması ve uyarılma kontraksiyon çifti için esansiyeldir (4). Literatürde Ca^{2+} 'dan yoksun perfüzyonun 10. dakikasından sonra tavşan kalplerinin sarkolemmal Na-K ATP'az aktivitesinin kontrole oranla %75 azaldığı saptanmıştır (68). Çalışmamızda Ca^{2+} suz anokside kalp hızı ve kasılma gücünün giderek azaldığı ve 20. dakikanın sonunda kontraksiyonların durduğu ve Ca^{2+} 'suz taurin reperfüzyonunda geri dönmediği görülmüştür. Normal Ca^{2+} 'lu anoksi ve Ca^{2+} 'suz taurin reperfüzyonunun uygulandığı deney VI'nın reperfüzyonunda da kalp hızı ve kasılma gücü giderek azalmış ve 20. dakikası sonunda kalp kontraksiyonları durmuştur.

İskemi-reperfüzyon sırasında meydana gelen hasarlarda yavaş Ca^{2+} kanallarının etkisi ortaya çıkarılmış ve verapamil, nifedipin ve diltiazem gibi yavaş kanal blokerleri kullanılarak iskeminin indüklediği myokardiyal Ca^{2+} birikimi baskılanmıştır (73,78). Deneyimizde hem anoksi hem de reperfüzyonda nifedipin kullanılmıştır. Çünkü literatürde sadece reperfüzyonda uygulamanın yetersiz ve etkisiz olduğu gösterilmiştir (73). Nifedipin 10^{-8} molar kullanılmıştır. Çünkü literatürde düşük dozların Ca^{2+} birikimini baskıladığı, yüksek dozlarda (10^{-7} , 10^{-6}) inhibitör etkinin gözlenmediği saptanmıştır (73). Ayrıca taurinin Ca^{2+} kanal blokerlerinin (-) inotropik etkisini antagonize ettiği bilinmektedir (33). Hatta verapamille birlikte taurin uygulamanının kardiyak taurin içeriğini artırdığı gösterilmiştir (47,83). Bu bilgilerle oluşturulan VII. deney grubumuzda 20 dakika anoksinin sonunda

nifedipinin kalp hızı ($p<0.05$) ve kasılma gücünü ($p<0.01$) azalttığı saptanmıştır. Nifedipinli, normal Ca^{2+} 'lu taurinli reperfüzyonun 20. dakikasında hem kalp hızı, hem de kasılma gücü artma göstermiştir. Anoksinin 20. dakikasına göre reperfüzyonun 20. dakikasındaki kasılma gücü artışı anlamlıdır ($p<0.05$). Kalp hızındaki artış ise nifedipinin yan etkisine bağlanabilir.

Düşük Ca^{2+} 'lu, nifedipinli anoksi ve reperfüzyonun uygulandığı deney VIII'de ise tıpkı Ca^{2+} 'suz ortamda olduğu gibi taurin olumlu etki gösterememiştir.

Düşük Ca^{2+} 'lu, nifedipinli anoksi ve normal Ca^{2+} 'lu nifedipinli taurin reperfüzyonunda, deney I'de, reperfüzyonda görülen kalp hızı ve kasılma gücündeki azalmalar yerini artışa bırakmıştır ancak inotropik özellik anlamlı değildir ($p>0.05$).

Serbest O_2 radikalleri myokardiyal iskemi-reperfüzyon gibi bazı patofizyolojik durumlarda hücre hasarının mediatörü olarak işe karışır (32,45,77). Öyleki süperoksit radikalının, H_2O_2 ve hidroksil radikalının sarkolemmal Ca ATP'az aktivitesini, membran Na-K ATP'az aktivitesini ve Na-Ca alışveriş mekanizmasını belirgin şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir ve bundan yola çıkarak SOD (Süperoksit dismutaz)'unda pompa aktivitesindeki depresyona karşı koruyucu etkisi gösterilmiştir (34).

Taurinin peroksidatif hasara maruz kalan dokularda antioksidan özellik gösterip, lipid peroksidasyonunu azalttığını bilmekteyiz (57). Aynı zamanda iskemik dokuların serbest radikal süpürücü yapılardan fakir olduğu

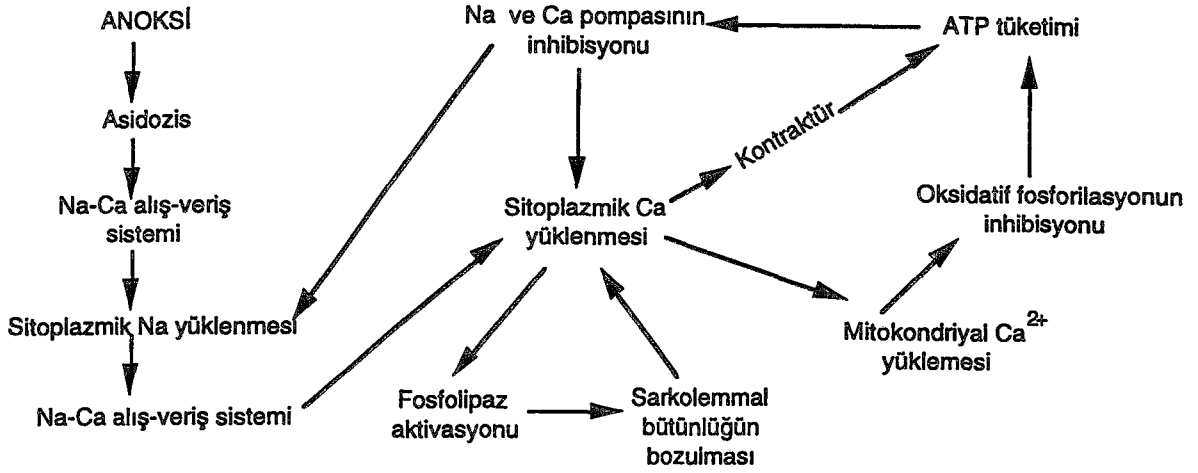
da açıktır (6,52). Biyolojik dokularda serbest radikal aktivitesinin gösterilmesi zordur. Çünkü nötral P_H 'da serbest radikaller stabil değildirler (1). Bu nedenle serbest radikallerin ansature yağ asitleri ile reaksiyona girip oluşturdukları lipid peroksidasyonu olaylar zincirinin son ürünü ve sıklıkla göstergesi olarak kabul edilen MDA (malondialdehit) (61), deneyimizde çalışmıştır. Hipoksik kalplerde reoksijenasyondan dakikalar sonra reperfüzyon aritmeleri meydana gelir. Bu elektrofizyolojik değişiklikler myokardiyumun MDA içeriğindeki artışlarla beraberdir. Bir antioksidan olan BHT (Butil hidroksitoluen) ile MDA birikimi ve elektrofizyolojik düzensizlikler inhibe edilir (46,52). Literatürde taurin eksikliğinde belirgin MDA artışı meydana geldiğini gösteren çalışmalar vardır (31). Yine taurin izoproterenol ve adriyaminin neden olduğu MDA artışını da azaltmaktadır (4).

Çalışmamızda kontrol ile karşılaştırıldığında tüm taurinli deney gruplarında doku MDA düzeyleri anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0.01$). Bunun yanısıra düşük Ca^{2+} 'lu ortamda da azalmıştır ($p<0.01$). Ancak düşük Ca^{2+} 'lu ortama taurin ilave edildiğinde bu azalma çok daha belirgin hale gelmiştir ($p<0.01$).

Başta arakidonik asit olmak üzere ansature yağ asitleri fosfolipaz A_2 aktivitesini inhibe ederler ve lipolizisin endojen baskılanmasını sağlarlar. Ancak myokardiyal Ca^{2+} miktarı artışı ve asidozis onların inhibitör etkilerini ortadan kaldırır, sonuç olarak fosfolipaz A_2 aktivasyonu ortaya çıkar ve prostaglandin sentezini tetikler. Öyleki P_H 7.5'dan 4.5'a indirildiğinde bu inhibitör etki %84 azalır (18).

Çalışmamızda kontrole göre düşük Ca^{2+} 'lu (deney I) grupta azalma anlamlı değildir ($p>0.05$). Normal Ca^{2+} 'lu taurinli grupta da (deney II) azalma anlamlı değildir ($p>0.05$). Diğer taraftan başta düşük Ca^{2+} 'lu ve taurinli gruplar (deney III-IV) olmak üzere tüm gruplarda azalma anlamlıdır ($p<0.01$).

İnvivo myokardiyal iskemi-reperfüzyon çalışmalarında ödem lokal ve sistemik granülosit infiltrasyonu ve sonucunda meydana gelen vasküler permeabilite artışına bağlanmıştır. İskemide meydana gelen ödemin reperfüzyonda ani artış gösterdiği ve agranülosit anti serumlarıyla ödemde azalma meydana geldiği gösterilmiştir (16). Ancak bizim çalışmamızda invitro koşul sözkonusudur. Kontrol grubunda ve deney I'de meydana gelen doku ağırlık artışları anoksi sırasında meydana gelen hücresel Na içeriğindeki artış (Şekil 25) ve buna bağlı su tutma özelliğine bağlanabilir. Ayrıca iskemi sırasında meydana gelen protein sızıntıları da buna neden olabilir. Ca^{2+} 'suz deney gruplarında ise kalbin kontraktilesinin durmasına ve buna bağlı gelişen Na-K ATP'az aktivitesinin azalmasına bağlanabilir. Ancak taurinli diğer gruplarda doku ağırlığı açısından kontrol ile anlamlı farklar bulunamamıştır ($p>0.05$). Muhtemelen buna taurinin Na^+-Ca^{2+} alışveriş sistemi üzerindeki düzenleyici etkisi ve membran bütünlüğünü koruyucu, protein sızıntısını önleyici etkisi katkıda bulunmuş olabilir.



Şekil 25: İskemik hücrede meydana gelen bozukluklar (2)

Myokardın O_2 gereksinimi ve alabildiği O_2 arasındaki dengesizlik olarak tanımladığımız iskemik kalp hastalığından ölümler son 20 yılda sağlıklı yaşam stilinin empoze edilmesi ve yeni ilaçların varlığı ile azaltılmış olmasına rağmen halen gelişmiş ülkelerde ölüm sebebi olarak gösterilmektedir (67). İskemik kalp hastalığında cerrahi yaklaşımlar da oldukça etkin çözümler getirmekle birlikte koroner arter bypas cerrahisindeki gibi invaziv girişimlerin hepsinde klinik başarı organın efektif olarak reperfüzyon hasarından korunmasına bağlıdır. Myokardı reperfüzyon hasarına karşı daha iyi ve etkin şekilde koruyabilmek için planladığımız çalışmada, sonuç olarak, düşük Ca^{2+} 'lu taurin reperfüzyonunun kalbin kasılma gücünü, reperfüzyonun ileri zamanlarında (20. dakika) artırdığı, lipid peroksidasyonunu, PGE benzeri aktiviteyi ve ödemi azalttığı saptanmıştır.

Böylece, taurinin antioksidan özelliğinin yanı sıra Ca^{2+} homeostazisindeki düzenleyici etkisi de çalışmamızla ortaya konulmuştur. Dolayısıyla bu aminoasitin kalbi reperfüzyon hasarından korumada olumlu etkisi olduğu söylenebilir.

VI. ÖZET

Memeli kalbinde en bol bulunan aa olan taurin, reperfüzyon döneminde koruyucu etki gösteren, myokardiyal kontraksiyonları düzenleyen, kalbin Ca^{2+} homeostazisini etkileyen ve membranları doymamış yağ asitlerinden zengin dokuları peroksidatif hasara karşı koruyan bir aa'dir. Bu çalışmada düşük Ca^{2+} 'lu ekstraselüler sıvıya taurin eklenerek reperfüzyon döneminde meydana gelen doku hasarına karşı koruyucu rolü araştırılmıştır.

Planlanan çalışmada modifiye Langendorf perfüzyon cihazı kullanılarak 59 adet kobay kalbi, 9 adet deney, 1 adet kontrol grubu olacak şekilde ayrılarak çalışılmıştır. Kalplerin kontraktilite grafiği düzgün hale geldikten sonra çeşitli çözeltilere tabi tutulan anoksinin 10. ve 20. dakikasında ve reperfüzyonun da 10. ve 20. dakikasında kayıt yapılarak kalp hızı (vuru/dk) kasılma gücü (mm) tespit edilmiştir. Her deney döneminin sonunda kalplerin ağırlığı ölçülerek doku MDA (nmol/g doku) ve PGE benzeri aktivite (ng/gdoku) tayini yapılmıştır.

MDA düzeylerinin ve PGE benzeri aktivitenin düşük bulunduğu ve doku ağırlık artışının anlamlı olmadığı düşük Ca^{2+} 'lu taurin reperfüzyonunda kasılma gücünün anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır. Oysa kontrol grubunda doku MDA düzeylerinin ve PGE benzeri aktivitenin yüksek ve ödemin bulunduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak düşük Ca^{2+} 'lu taurin reperfüzyonunun doku MDA düzeylerini ve PGE benzeri aktiviteyi düşürdüğü, ödemi önlediği ve kasılma gücünü artırdığı, dolayısıyla reperfüzyon hasarının önlenmesinde olumlu yönde etkide bulunduğu sonucuna varılmıştır.

VII. KAYNAKLAR

1. Alessio, H. M.: Exercise-induced oxidative stress. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 25 (2): 218-224, 1993.
2. Altura, B.M., Altura, B.T.: Magnesium electrolyte transport and coronary vascular tone. *Drugs* 28 (1): 120-142, 1984.
3. Aruoma, O.I., Halliwell, B., Hoey, B.M., Butler, J.: The antioxidant action of taurine, hypotaurine and their metabolic precursors. *Biochem. J.* 256: 251-255, 1988.
4. Azuma, J., Hamaguchi, T., Ohta, H., Takihara, K., Awata, N., Sawamura, A., Harada, H., Tanaka, Y., Kishimoto, S.: Calcium overload-induced myocardial damage caused by isoproterenol and by adriamycin: possible role of taurine in its prevention. *Adv. Exp. Med. Biol.* 217: 167-179, 1987.
5. Başıağa, H.S.: Biochemical aspects of free radicals. *Biochem. Cell. Biol.* 68: 989-998, 1990.
6. Başıtuğ, M.: İskemi-reperfüzyon hasarı. *Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu Kurs Notları. Kızılcahamam S: 38-42, 1993.*
7. Bingöl, F., Aydın, S., Açıkgöz, Ş.: Serbest radikaller Ankara Hastanesi *Tıp Dergisi*, 28 (2): 1-23, 1993.
8. Buchwald, A., Klein, H.H., Lindert, S., Pich, S., Oberschmidt, R., Nebendahl, K., Kreuzer, H.: Effect of α -tocopherol (Vitamin E) in a

- porcine model of stunned myocardium. *Journal of cardiovascular Pharmacology* 14: 46-52, 1989.
9. Bullock, J., Boyle, J., Wang, M.B.: *The National Medical Series* 1994, s. 34.
 10. Carpenter, A., Smith, P.: *Cecil Essentials of Medicine* 1990, s: 7.
 11. Carpenter, A., Smith, P.: *Cecil Essentials of Medicine* 1990, s: 92.
 12. Chapman, R.A., Süleyman, M.S., Earm, Y.E.: Taurine and the heart. *Cardiovascular Research*, 27: 358-363, 1993.
 13. Chervu, A., Homsher, E., Moore, W.S., Quinones, B.W.J.: Differential recovery of skeletal muscle and peripheral nerve after ischemia and reperfusion. *J. Surg. Res.* 47: 12-19, 1989.
 14. Chesney, R.W.: Taurine: Its biological role and clinical implications. *Adv. Pediatr.* 32: 1-42, 1985.
 15. Del Maestro, R.F.: An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand.* 492: 153-168, 1980.
 16. Engler, R.L.: Free radical and granulocyte-mediated injury during myocardial ischemia and reperfusion. *Am. J. Cardiol* 63: 19E-23E, 1989.
 17. Franconi, F., Stendardi, I., Failli, P., Matucci, R., Baccaro, C., Montorsi, L., Bandinelli, R., Giotti, A.: The protective effects of taurine on hypoxia (Performed in the absence of glucose) and on reoxygenation (in the presence of glucose) in guinea-pig heart. *Biochemical Pharmacology* 34 (15): 2611-2615, 1985.

18. Franson, R.C., Harris, L.K., Raghupathi, R.: Fatty acid oxidation and myocardial phospholipase A₂ activity. *Molecular and Cellular Biochemistry* 88: 155-159, 1989.
19. Ganong, W.F.: *Fizyoloji* 1995 s. 41.
20. Ganong, W.F.: *Fizyoloji* 1995 s. 80-72.
21. Ganong, W.F.: *Fizyoloji* 1995 s. 80.
22. Ganong, W.F.: *Fizyoloji* 1995 s. 335.
23. Ganong, W.F.: *Fizyoloji* 1995 s.336.
24. Gardner, T.J., Stewart, J.R., Casale, A.S., Downey, J.M., Chambers, D.E.: Reduction of myocardial ischemic injury with oxygen-derived free radical scavengers. *Surgery* 94 (3): 423-427, 1983.
25. Gardner, T.J.: Oxygen radicals and myocardial stunning. *J. Cardiac Surgery* 9 (3): 422-4, 1994.
26. Gillmore, N., Vane, S.R., Wyllie, S.H.: Prostaglandins released by the spleen. *Nature* 218: 1135-1140, 1968.
27. Giotti, A.: Cardiovascular pharmacology and experimental therapeutics of taurine and related compounds. *Adv.-Exp-Med-Biol*, 217: 3-22, 1987.
28. Grace, P.A.: Ischaemia-reperfusion injury. *British Journal of Surgery* 81: 637-647, 1994.
29. Grisham, M.B., Granger, N.: Metabolic sources of reactive oxygen metabolites during oxidant stress and ischemia with reperfusion. *Clinic in Chest Medicine* 10 (1): 71-81, 1989.

30. Halliwell, B.: Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation and with special attention to atherosclerosis. *Br. J. Exp. Pathol.* 70: 737-57, 1989.
31. Harada, H., Cusack, B.J., Olson, R.D., Stroo, W., Azuma, J., Hamaguchi, T., Schaffer S.W.: Taurine deficiency and doxorubicin: interaction with the cardiac sarcolemmal calcium pump. *Biochemical Pharmacology* 39 (4): 745-751, 1990.
32. Haramaki, N., Aggarwal, S., Kawabata, T., Droy-Lefaix, M.T., Packer, L.: Effects of natural antioxidant ginkgo biloba extract (EGB 761) on myocardial ischemia-reperfusion injury. *Free Radical Biology and Medicine* 16 (6): 789-794, 1994.
33. Huxtable, R.J.: Physiological actions of taurine. *Physiological Reviews* 72 (1): 101-144, 1992.
34. Kaneko, M., Beamish, R.E., Dhalla, N.S.: Depression of heart sarcolemmal Ca^{2+} pump activity by oxygen free radicals. *Am. J. Physiol* 256 (25): H368-H374, 1989.
35. Kaplan, B., Arıcıoğlu, A., Erbaş, D., Erbaş S., Türközkan, N.: The effects of taurine on perfused heart muscle malondialdehyde levels. *Gen. Pharmac* 24 (6): 1411-1413, 1993.
36. Kayaalp, O.: *Tibbi Farmakoloji*. 1985. s: 1100.
37. Kayaalp, O.: *Tibbi Farmakoloji*. 1985. s: 1052.
38. Keith, F.: Oxygen free radicals in cardiac transplantation. *J. Cardiac Surgery* 8 (2): 245-8, 1993.

39. Kochakian, C.D.: Hypotaurine: regulation of production in seminal vesicles and prostate of guinea-pig by testosterone. *Nature* 241: 202-203, 1973.
40. Kramer, J.H., Chovan, J.P., Schaffer, S.W.: Effect of taurine on calcium paradox and ischemic heart failure. *Am. j. Physiol.* 240 (9): H 238-H246, 1981.
41. Lake, N., Roode, M., Nattel, S.: Effects of taurine depletion on rat cardiac electrophysiology: in vivo and in vitro studies. *Lifesciences* 40 (10): 997-1005, 1987.
42. Lake, N.: Loss of cardiac myofibrils: mechanism of contractile deficits induced by taurine deficiency *Am. J. Physiol.* 264 (33) H-1323-H1326, 1993.
43. Lefer, A.M.: Pharmacology of the endothelium in ischemia reperfusion and circulatory shock. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 33: 71-90, 1993.
44. Llados, F.T.: Muscle damage induced by the ionophore A23187 can be prevented by prostaglandin inhibitors and leupeptin. *Experientia* 41: 1551-52, 1985.
45. Masini, E., Giannella, E., Palmerani, B., Pistelli, A., Gambassi, F., Mannaioni, P.F.: Free radicals induce ischemia-reperfusion injury and histamine release in the isolated guinea pig heart. *Int. Arch Allergy Appl. Immunol* 88: 132-133, 1989.
46. Masini, E., Gambassi, F., Giannella, E., Palmerani, B., Pistelli, A., Carlomagno, L., Mannaioni, P.F.: Ischemia-reperfusion injury and

- histamine release in isolated guinea-pig heart: The role of free radicals. *Agents and Actions* 27: 154-157, 1989.
47. Mc Broom, M.J., Welty, J.D.: Effects of taurine and verapamil on heart calcium in hamsters and rats. *Comp. Biochem. Physiol.* 82 (2): 270-81, 1985.
48. Meizel, S., Lui, C.W., Working, P.K., Mrsyn R.J.: Taurine and hypotaurine: Their effects on motility, capacitation and the acrosome reaction of hamster sperm invitro and their presence in sperm and reproductive tract fluids of several mammals. *Development Growth and Differentiation* 22 (3): 483-494, 1980.
49. Milei, J., Ferreira, R., Llesuy, S., Forcada, P., Covarrubias, J., Boveris, A.: Reduction of reperfusion injury with preoperative rapid intravenous infusion of taurine during myocardial revascularization. *Am Heart. Journal* 123 (2): 339-345, 1992.
50. Moffett, D.F., Moffett, S.B.: *Human Physiology*. 1994. s: 366.
51. Moffett, D.F., Moffett, S.B.: *Human Physiology*. 1994. s: 367.
52. Nakaya, H., Tohse, N., Kanno, M.: Electrophysiological derangements induced by lipid peroxidation in cardiac tissue *Am. J. Physiol.* 253 (22): H 1089-H1097, 1987.
53. Nawrath, H.: Cyclic AMP and cyclic GMP may play apposing roles in influencing force of contraction in mammalian myocardium. *Nature* 262: 509-511, 1976.

54. Neely, J.R., Libermeister, H., Battersby, E.S., Morgan, H.E.: Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart. *Am J. Physiol.* 212: 804-806, 1967.
55. Noyan, A.: *Fizyoloji* 1993, s. 777.
56. Ohta, H., Azuma, J., Onishi, S., Awata, N., Takihara, K., Kishimoto, S.: Protective effect of taurine against isoprenaline-induced myocardial damage. *Basic Res. Cardiol* 81 (5): 473-481, 1986.
57. Ohta, H., Azuma, J., Awata, N., Hamaguchi, T., Tanaka, Y., Sawamura, A., Kishimoto, S., Seperelakis, N.: Mechanism of protective action of taurine against isoprenaline induced myocardial damage. *Cardiovascular Research* 22: 407-413, 1988.
58. Ooiwa, H., Janero, D.R., Stanley A.W.H., Downey, J.M.: Examination of two small molecule antiperoxidative agents in a rabbit model of postischemic myocardial infarction. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 17: 761-767, 1991.
59. Orr, H.T., Cohen, A.I., Lowry, O.H.: The distribution of taurine in the vertebrate retina. *J. Neurochem.* 26: 609-611, 1976.
60. Phoenix, J., Edwards, R.H.T., Jackson, M.J.: Effects of calcium ionophore on vitamin E-deficient rat muscle. *British Journal of Nutrition* 64: 245-256, 1990.
61. Pierro, D., Tavazzi, B., Lazzarino, G., Giardina, B.: Malondialdehyde is a biochemical marker of peroxidative damage in the isolated reperfused rat heart. *Molecular and Cellular Biochemistry* 116: 193-196, 1992.

62. Poli, G., Albano, E., Dianzani, M.U.: Free radicals: From Basic Science to Medicine. 1993 S: 439.
63. Poli, G., Albano, E., Dianzani, M.U.: Free radicals: From Basic Science to Medicine. 1993 S: 451.
64. Ringer, S.A.: Further contribution regarding the influence of the different constituents of the blood on the contraction of the heart. *J. Physiol* 4: 29-31, 1983.
65. Robbins, S.L., Kumar, V.: *Basic Pathology*. 1990. s. 365-366.
66. Rodemann, H.P, Waxman, L., Goldberg, A.L.: The stimulation of protein degradation in muscle by Ca^{2+} is mediated by prostaglandin E_2 and does not require the calcium activated protease. *The Journal of Biological Chemistry* 257 (15): 8716-23, 1982.
67. Rubanyi, G.M.: The role of endothelium in Cardiovascular homeostasis and diseases. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 22 (4): S1-S14, 1993.
68. Ruigrok, T.J.C.: Possible mechanisms involved in the development of the calcium paradox. *Gen. Physiol. Biophys.* 4: 155-165, 1985.
69. Saltman, P.: Oxydative stress: a radical view. *Seminars in Hematology* 26: 249-256, 1989.
70. Schaffer, S.W., Punna, S., Duan, J., Harada, H., Hamaguchi, T., Azuma, J.: Mechanism underlying physiological modulation of myocardial contraction by taurine. *Taurine*. S: 193-198, 1992.

71. Schaffer, S.W., Azuma, J.: Myocardial physiological effects of taurine and their significance. *Taurine s*: 105-120, 1992.
72. Schoenberg, M.H., Beger, H.G.: Oxygen radicals in intestinal ischemia and reperfusion. *Chem-Biol. Interactions* 76: 141-161, 1990.
73. Shiga, T., Nakazawa, M., Imai, S.: Ventricular pressure-heart rate product before induction of ischemia as a determinant of the reperfusion-induced accumulation of calcium within myocardium. *Japan J. Pharmacol.* 45: 379-387, 1987.
74. Sinclair, A.J., Barnett, A.H., Lunec, J.: Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Br. J. Hosp. Med.* 43: 334-344, 1990.
75. Skrodzki, M., Trautvetter, E., Mönch E.: Plasma taurine levels in healthy cats and cats with cardiac disorders. *J. Nutr.* 121: S: 171-172, 1991.
76. Steele, D.S., Smith, G.L.: Intracellular effects of taurine: Studies on skinned cardiac preparations. *Taurine s*: 163-172, 1992.
77. Sushamakumari, S., Jayadeep, A., Kumar, J.S.S., Menon, V.P.: Effect of Carnitine on malondialdehyde, taurine and glutathione levels in heart of rats subjected to myocardial stress by isoproterenol. *Indian Journal of Experimental Biology* 27: 134-137, 1989.
78. Takahashi, K., Azuma, J., Awata, N., Sawamura, A., Kishimoto, S., Yamagami, T., Kishi, T., Harada, H., Schaffer, S.W.: Protective effect of taurine on the Irregular beating pattern of cultured myocardial cells induced by high and low extracellular calcium ion. *J Mol. Cell Cardiol.* 20: 397-403, 1988.

79. Takihara, K., Azuma, J., Awata, N., Ohta, H., Sawamura, A., Kishimoto, S., Sperelakis, N.: Taurine's possible protective role in age-dependent response to calcium paradox. *Life sciences*. 37 (18): 1705-1710, 1985.
80. Uchiyama, M., Mihara, M.: Determination of malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Ann Biochem*. 86: 271-278, 1978.
81. Velazquez, A., Delgado, N.M., Rasodo, A.: Taurine content and amino acid composition of human acrosome. *Life Sci*. 38: 991-995, 1986.
82. Weiss, S.J.: Oxygen, ischemia and inflammation. *Acta Physiol. Scand*. 548: 9-37, 1986.
83. Welty, J.D., Mc Broom, M.J.: Effects of verapamil and taurine administration on heart taurine and calcium in Bio 14.6 cardiomyopathic hamsters. *Res. Com. Chem. Pathology and Pharmacology* 49 (1): 141-44, 1985.
84. Wright, C.E., Tallan, H.H., Lin, Y.Y.: Taurine: Biological update. *Ann Rev. Biochem*. 55: 427-453, 1986.
85. Yamauchi, K., Takihara, K., Azuma, J., Kishimoto, S., Onishi, S., Sperelakis, N.: Taurine prevention of calcium paradox-related damage in cardiac muscle. *Biochemical Pharmacology* 37 (13): 2651-2658, 1988.