

T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ

TEMEL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİMDALİ YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KALICI ATRİYAL FİBRİLASYON VE NORMAL SİNÜS
RİTİMLİ OLGULARDA ATRİYAL HÜCRELERDE
APOPTOZİS VE APOPTOZİSİ REGÜLE EDİCİ
PROTEİNLERİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Günseli Çubukçuoğlu Deniz

Danışman Öğretim Üyesi
Doç. Dr. Ahmet Rüçhan Akar

ANKARA 2008

Beni yetiřtiren Annem'e ve Babam'a...

Kalıcı Atriyal Fibrilasyon ve Normal Sinüs Ritimli Olgularda Atriyal Hücrelerde Apoptozis ve Apoptozisi Regüle Edici Proteinlerin Karşılaştırılması

ÖZET

Atriyal fibrilasyon (AF), klinikte en sık karşılaşılan kalp ritim bozukluğudur ve kalp kapak hastalıklarıyla birlikte veya ayrı oluşabilir. İnsidansı yaşla birlikte artar. AF epizodunu başlatan faktörlerle ilgili bilgilerimiz elektrofizyolojik çalışmalarla artmış olmasına rağmen kalıcı AF patogenezinin karışan moleküler mekanizmaları hala açıklanmamıştır ve tartışmalı kalmıştır. AF hastalarında sinüs ritminin geri dönmesinin mortalite, morbitide ve sağlık bakım giderleri açısından önemli etkileri vardır. AF'un mevcut medikal tedavisinde antiaritmik ilaçlar, elektriksel kardiyoversiyon, hız kontrol medikasyonları ve antikoagülasyon kullanılmaktadır. AF tedavisi için cerrahi stratejiler Cox-Maze prosedürü ve radyofrekans, lazer, mikrodalga, kryotermi veya yüksek-yoğunluk odaklı ultrasound gibi farklı enerji kaynaklarının kullanıldığı ablasyon teknikleridir. Özellikle kalıcı AF hastalarının %40'ında başarılı sonuçlar elde edilemediği rapor edilmiştir.

Apoptozis, ayırıcı morfolojik ve biyokimyasal özellikleri olan, genetik olarak regüle edilen aktif bir programlanmış hücre ölümü prosesidir. Bu enerji bağımlı proses, sitoplazmik ve nükleer kondenzasyon, DNA fragmentasyonu, membran kabarcıklanması ve apoptotik cisimciklerin fagositler tarafından yutulup lizozomal olarak degrade edilmesi ile karakterizedir. Birçok kardiyovasküler sistem patolojisinde apoptozisin önemli rolü vardır. Bu çalışmanın amacı, kronik AF hastalarında ve kalp kapak hastalıklarında apoptozisin rolünü araştırmaktır. Bu nedenle, bu çalışmada kalıcı AF hastaları ile normal sinüs ritimli kontrol hastalarının sağ atriyal kardiyomyositlerinde TUNEL yöntemiyle apoptozis araştırılmış ve Bcl-2 ailesi proteinlerinin ekspresyon paternleri incelenmiştir. Sonuçta, kontrol örneklerine kıyasla AF hastalarının sağ atriyal kardiyomyositlerinde Bcl-2 ailesi proteinlerinin ekspresyonunun arttığı ve önemli ölçüde yüksek insidansı olan DNA fragmentasyonu gözlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Atriyal fibrilasyon, apoptozis

Comparison of Apoptosis and Apoptosis Regulated Proteins in Atrial Cells Between Permanent Atrial Fibrillation and Normal Sinus Rhythm Patients

ABSTRACT

Atrial fibrillation is the most common sustained cardiac rhythm disturbance seen in clinical practice and may occur with or without valvular heart disease. The prevalence increases with age. Although electrophysiologic studies have expanded our understanding of the factors that initiate individual episodes of AF the molecular mechanisms involved in the pathogenesis of permanent AF are still unclear and remains controversial. Restoration of sinus rhythm in AF patients has important implications in terms of mortality, morbidity and health care costs. Current medical treatment involves antiarrhythmic drugs, electrical cardioversion, rate control medications, and anticoagulation. Currently available surgical strategies for the treatment of AF are Cox-Maze procedure, and ablation techniques using different energy sources such as radiofrequency, laser, microwave, cryotherapy, or high-intensity focused ultrasound. However suboptimal overall results have been reported, especially in the 40% of patients with permanent AF.

Apoptosis is an active process of gene-regulated programmed cell death with distinctive morphological and biochemical features. This energy-dependent process characterized by cytoplasmic and nuclear condensation, DNA fragmentation, membrane blebbing, and the engulfment and lysosomal degradation of apoptotic bodies by phagocytes. Apoptosis has a significant role in a number of pathologies of cardio-vascular system. This study aimed to investigate the role of apoptosis in patients with permanent AF and valvular heart disease. Therefore, we examined the expression pattern of Bcl-2 family proteins and the extent of right atrial cardiomyocyte apoptosis using the TUNEL assay in patients with chronic AF versus control subjects who maintain normal sinus rhythm. Our results indicated increased expression of Bcl-2 family of proteins and significantly higher incidence of DNA fragmentation in right atrial cardiomyocytes of AF patients compared to control subjects.

Key words: Atrial fibrillation, apoptosis

İÇİNDEKİLER

ÖZET -----	iii
ABSTRACT -----	iv
TEŞEKKÜR -----	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ -----	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ -----	viii
SİMGELER DİZİNİ -----	ix
1. GİRİŞ -----	1
2. KURAMSAL TEMELLER -----	4
2.1. Apoptozis-----	4
2.1.1. Hücre Ölümünün Sınıflandırılması-----	5
2.1.2. Apoptozis Mekanizmaları-----	8
2.1.2.1. Ekstrinsik Yolak (Ölüm-Reseptör Aracılı)-----	8
2.1.2.2. İntrinsik Yolak (Mitokondri Bağımlı)-----	9
2.1.3. Kardiyovasküler Sistemde Apoptozis-----	12
2.1.4. Kardiyak İleti Sistemi Hastalıklarında Apoptozis-----	13
2.2. Atriyal Fibrilasyon-----	15
2.2.1. Atriyal Fibrilasyona Kalp Cerrahisi Açısından Yaklaşım-----	22
2.2.2. Atriyal Fibrilasyon Tedavisinde Kullanılan Metodlar-----	23
3. MATERYAL ve YÖNTEM -----	30
3.1. Hasta Kohortu-----	30
3.2. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri-----	32
3.3. Çalışmadan Dışlanma Kriterleri-----	32
3.4. Operasyon Detayları-----	33
3.5. İn Situ DNA Fragmentasyon Analizi (TUNEL)-----	34
3.6. İmmünohistokimya-----	34
3.7. İstatistiksel Analiz-----	35
4. ARAŞTIRMA BULGULARI -----	36
4.1. Bax Protein İfadesi-----	37
4.2. Bcl-2 Protein İfadesi-----	37
4.3. İn Situ DNA Fragmentasyon Analizi Bulguları-----	37
5. TARTIŞMA ve SONUÇ -----	42
5.1. Terapötik Potansiyeli Olan Apoptozis Regülatörleri ve Geleceğe Bakış-----	45
5.1.1. Kaspaz İnhibitörleri-----	45
5.1.2. Bcl-2 Ailesi-----	46
5.1.3. İnsülin-benzeri Büyüme Faktörü-1-----	47
5.1.4. Heat Shock Proteinler-----	48
5.1.5. Kalsiyum-----	50
5.1.6. Antioksidanlar-----	52
KAYNAKLAR -----	55
ÖZGEÇMİŞ -----	76

TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarım sűresince her tűrlű yardım ve desteęini esirgemeyen, bilgi ve tecrűbelerini benimle paylaŐan ve yol gűsteren çok kıymetli danıŐman hocam Doç.Dr. A. Rűhan Akar'a ve sevgili Op.Dr. Serkan Durdu'ya sonsuz saygı ve teŐekkűrlerimi sunarım. Prof.Dr. Nalan Akyűrek'e, Prof.Dr. Ufuk Demirkılıç'a yardımları, gűsterdikleri yakınlık için; sevgili kardeŐim Faik Çubukçuoęlu'na ve eŐim Emre Deniz'e bu uzun sűrete sabır ve anlayıŐla yanımda durdukları için ve canım aileme beni her zaman destekledikleri için teŐekkűr ederim.

Gűnseli Çubukçuoęlu Deniz

Ankara, Haziran 2008

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil-1: Apoptotik, Normal ve Nekrotik Hücrelerin TEM, SEM ve FF görüntüleri-----	7
Şekil-2: Antiapoptotik ve proapoptotik proteinlerde “Bcl-2 Homology” domainleri-----	9
Şekil-3: Farklı ölüm sinyallerine spesifik BH3-only proteinlerinin cevap vermesi-----	10
Şekil-4: Apoptotik yolların birlikte gösterimi-----	12
Şekil-5: Kardiyak ileti sistemi-----	15
Şekil-6: Maze III operasyonunun insizyon paterni-----	27
Şekil-7: Radyofrekans Ablasyon şematizasyonu-----	29
Şekil-8: Çalışmanın akış diyagramı-----	35
Şekil-9: Kontrol grubunda immünohistokimya ve TUNEL bulguları-----	38
Şekil-10: AF grubunda immünohistokimya ve TUNEL bulguları-----	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge-1: Kardiyovasküler Sistemde Apoptozis İle İlişkilerendirilmiş Durumlar-	13
Çizelge-2: Preoperatif ve Demografik Özellikler-----	31
Çizelge-3: Preoperatif Hemodinamik Özellikler-----	32
Çizelge-4: Hastaların Klinik ve Apoptotik Değerleri-----	40
Çizelge-5: Çalışma ve Kontrol Grubunun Apoptotik Belirteçler Açısından Karşılaştırılması-----	41

SİMGELER DİZİNİ

AIF: Apoptosis Inducing Factor

Apaf-1: Apoptotic Protease Activating Factor-1

Apoptozis: Programlanmış (tip 1) hücre ölümü.

Apoptozom: Apoptozisin intrinsik yolağında, sitokrom-c'nin Apaf-1'e bağlanmasıyla oluşan heptamerik protein halkasını. Apoptozom, prokaspaz-9'a bağlanarak konformasyonel değişim aracılığı ile aktifleşmesini indükler.

Atriyal Fibrilasyon: Organize olmayan, yüksek hızlı atriyal elektriksel aktivite ile karakterize supraventriküler bir aritmidir.

AV Düğüm: Atriyoventriküler düğüm

Bax: Mitokondriden sitokrom-c salınmasını indükleyen proapoptotik protein.

Bcl-2: B-cell CLL/lymphoma 2. İntegral dış mitokondriyal membrane proteinidir. Antiapoptotiktir.

BH: Bcl-2 Homology

Brugada Sendromu: Otozomal dominant geçişli, EKG'de sağ dal bloğu ve V1-V3 derivasyonlarında ST segment yükselmesiyle karakterize kalıtsal aritmojenik bir hastalıktır. Patofizyolojisinde hücre membranında voltaj bağımlı Na⁺ kanalını kodlayan SCN5A gen mutasyonları sorumludur. Bu mutasyonlar sodyum kanallarının erken inaktivasyonuna neden olur ve miyokard membranının her iki tarafında voltaj farkı oluşturur.

Cox Maze Prosedürü: Atriyal fibrilasyon tedavisi için kullanılan, aksesuar ileti yollarının insizyonlarla ortadan kaldırılmasını amaçlayan cerrahi yöntem.

EKG: Elektrokardiyografi

FADD: Fas Associated Death Domain

IAPs: Inhibitor of Apoptosis Proteins

Kardiyoversiyon: Bozulmuş kalp ritminin sinüs ritme döndürülmesi amacıyla uygulanan, EKG'deki R dalgasına senkronize elektrik enerjisi verilmesi işlemi.

KASP AZ: (Caspase) Cycteine-dependent Aspartate-cleaving Proteases

Karyoreksiz: Nükleer fragmantasyon.

Mitotik katastrofi: Hatalı mitoz sırasında veya hemen sonrasında gerçekleşen hücre ölümü şekli.

MOMP: Mitochondrial Outer Membrane Permeabilization

Nekrozis: Plazma membranının parçalanarak hücre içeriğinin interstisyuma dağılmasıyla inflamasyona neden olan tip 3 hücre ölümü.

Otofaji: Sitoplazmanın çift-membranlı vakuolizasyonu sonrasında lizozomal hidrolazlarla bu vakuollerin sindirilmesi sonucu organellerin uzaklaştırılmasını içeren tip 2 hücre ölümü. Prosesin sonuna kadar sitoskeleton fonksiyoneldir.

Piknozis: Kromatin kondenzasyonu.

PV: Pulmoner Ven

Radyofrekans Ablasyon: Aritmiye neden olan anormal elektriksel yolların radyo dalgaları yayan bir kateter ile ortadan kaldırılması. Atriyal fibrilasyon tedavisinde kullanılır.

SA Düğüm: Sinoatriyal düğüm

Sinüs Ritim: Kalbin normal ritmi.

TNF: *Tumor Necrosis Factor*

TNFR1: *Tumor Necrosis Factor Receptor-1*

TRAIL-R1: *TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand-R1*

TRADD: *TNFR-1 Associated Death Domain*

TUNEL: Tdt-mediated dUTP nick end-labeling. DNA fragmentasyonunu gösteren apoptozis deteksiyon yöntemi.

Wolf-Parkinson-White (WPW) Sendromu: Supraventriküler taşikardilerin bir türü. En sık görülen ventriküler preeksitasyon sendromudur ve kalıtsaldır.

1. GİRİŞ

Atrial fibrilasyon (AF), sık görülen bir ritim bozukluğudur; genel toplumun %0.4'ünde, 60 yaşın üzerindeki popülasyonda ise %1 oranında görülmektedir(Ostrander, Jr. *et al.*, 1965). Mitral kapak cerrahisine alınan hastaların %60-84'ünde kronik AF saptanmaktadır. Aritmi cerrahisi yapılmaksızın yalnızca mitral kapağa yönelik müdahaleler sonrası sinüs ritmine dönme oranları ancak %15-21 düzeylerindedir(Large and Hosseinpour, 2000). Bu durumda farmakolojik ve elektrik akımlarıyla yapılan kardiyoversiyon çoğunlukla etkisizdir. Sinüs ritmini elde etmek amacıyla arka arkaya yapılan kardiyoversiyonlar umut kırıcıdır. Bu nedenle bu ritim bozukluğunun kalıcı olduğuna inanılır. AF'un açık kalp cerrahisi sonrasında devamına neden olan risk faktörleri arasında, hastanın yaşı, atriyal fibrilasyonun bir yıldan fazla süredir bulunuyor olması, sol atriyum çapının 5 cm'den fazla genişlemesi ve etyolojide romatizmal kalp hastalığının bulunması sıralanabilir(Doty, 2004).

Açık kalp cerrahisi sonrası AF'un devam etmesi bir takım hemodinamik bozukluklara neden olmaktadır. Bu bozukluklar: 1. Azalmış diyastolik doluş zamanı, 2. Atriyal kontraksiyonun kalp debisine olan katkısının ortadan kalkması, 3. Uzun dönemde atriyal kardiyomiyopati gelişmesi, şeklinde sıralanabilir. Öte yandan AF, tromboembolik olayların insidansını önemli oranda artırmaktadır. Bu hasta grubunda tromboembolik olay insidansı %5/hasta/yıl olarak saptanmıştır. Bu oran romatizmal kalp hastalarında %17/hasta/yıla kadar çıkmaktadır(Wolf *et al.*, 1991). Antikoagülasyon ile tromboembolik olay sıklığı azalırken, serebral hemoraji riski 3 kat artmaktadır(Flegel and Hanley, 1989).

İnatçı (persistant) AF'lu hastalarda, altta yatan kalp hastalığından bağımsız olarak, atriyum dokusunda yapısal bozuklukların olduğu gösterilmiştir. Normal ve hastalıklı atriyum miyofibrillerinin üstüste binmesiyle beraber, oluşmuş olan yama şeklindeki fibrozis, atriyumun inatçı bir şekilde non-homojen olarak çalışmasının sebebi olabileceği daha önceki çalışmalarla bildirilmiştir(Frustaci *et al.*, 1997). Fibrozis veya yağ doku infiltrasyonu sinüs düğümünü de etkileyebilir ve bu durum, kolayca tanı konulamayacak inflamatuvar veya dejeneratif olaylara ikincil olarak ortaya çıkmış olabilir. Bu noktadaki patogeneze henüz bilimsel çalışmalarla açıklanabilmiş değildir. İnflamasyonun AF patogenezindeki rolü tam

olarak anlaşılamamış olmakla birlikte, “yalnız AF’lu” hastalardan alınan biyopsilerde %66 oranında miyokarditle uyumlu histolojik değışiklikler rapor edilmiştir(Frustaci *et al.*, 1997). Atriyal miyokardın infiltrasyonu amiloidozis, sarkoidozis ve hemokromatoziste görülebilir.

AF mekanizmasının teorileri başlıca 2 olayı içerir: hızlı depolarize olan bir veya bir kaç odakta artmış otomasite ve yine bir veya bir kaç dairesel reentry olması. Bir veya daha fazla superior pulmoner vende bulunan hızlı ateşleme yapan odaklar duyarlı hastalarda AF’u başlatabilir.

Her ne kadar inmeler AF sonucu oluşan fonksiyonel bozuklukların bir çoğunu oluştursa da ritim bozukluğu tek başına da hayat kalitesini düşürür. AF’da inmenin önlenmesi hastaların uzun dönem yaşam oranlarının artırılmasında önemli bir faktördür.

Sonuç olarak AF, romatizmal kapak hastalığı olan hastalarda %66 oranında görülen, kapak ameliyatları sonrasında hastaların uzun dönemde yaşam süresini ve yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen bir ritim bozukluğu patolojisi olma özelliğindedir. Primer kalp hastalığı ortadan kaldırılrsa bile ritim bozukluğu çoğunlukla devam edebilmektedir. Bu anlamda bugüne kadar yapılan bilimsel çalışmalarda AF’un patolojik sebebi ve bunun paralelinde patolojinin ortadan kaldırılmasına yönelik girişimler etkin boyutlara ulaşamamıştır.

Yukarıda da belirtildiği gibi, AF; romatizmal kalp kapak hastalığı olan olgularda hastalığın uzun süren patogenetik sürecinin sonucunda, sol atriyal dilatasyon, pulmoner basınçların yükselmesine sekonder sağ kalp basınçlarının artması ve sekonder olarak sağ atriyal dilatasyon ortaya çıkabilmektedir. Ancak bu hemodinamik değışiklikler sonucunda görülebilen AF eğilimi, her hastada farklı seviyede gözlenmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmaların sonucunda AF’un genetik eğilimi olabileceği düşünülmektedir. Yine açık kalp operasyonu yapılan hastalardan alınan sağ atriyum dokusunda elektron mikroskopisiyle gözlenen morfolojik değışikliklerden bahsedilmektedir. Primer kalp patolojisinin ortadan kaldırıldığı durumlarda, AF’un devam etmesi, hastaların uzun dönem yaşam oranlarında azalmaya, tromboembolik komplikasyonlarda artmaya sekonder morbidite ve mortalite oranlarında artmaya, atriyum kontraksiyonunun

olmaması nedeniyle kardiyak debide %30 düzeylerinde azalma sonucunda hastaların fonksiyonel kapasitesinde düşüşe neden olmaktadır. Son zamanlarda cerrahi ve elektrofizyolojik çalışmalarda ilerlemelerle birlikte, kardiyak cerrahiyle eş zamanlı farklı enerji kaynakları kullanılarak gerçekleştirilen Radyofrekans Ablasyon teknikleri ve cerrahi olarak uygulanan Cox Maze prosedürleri uygulamaları AF'ü tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu işlemlerin başarısı sınırlıdır ve bu işlemlerin cerrahi mortaliteyi ve kanama riskini artırdığına dair geri bildirimler mevcuttur. AF'un tedavisindeki bu sınırlı başarıların sebebi, hastalığın patolojisinin tam olarak anlaşılmasından kaynaklanmaktadır.

İnsan kalp dokusunda yapılan araştırmalar sonucunda apoptozisin, idiyopatik dilate kardiyomyopati, iskemik kardiyomyopati, aritmojenik sağ ventrikül displazisi ve hipertrofik kardiyomyopati gibi durumlarla ilişkisi saptanmıştır(Guerra et al., 2003b;Narula et al., 1996;Olivetti et al., 1997). Bu gibi hastalıklarda apoptozis düşük yoğunlukta bulunmasına rağmen, kalp yetmezliğinin son dönemlerinde genel olarak kardiyomyozit kaybının apoptozisle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada, kalp yetmezliğinin düzeyi ile proapoptotik Bax seviyesi arasında bir korelasyon bulunmuştur(Akyurek *et al.*, 2001).

Bu çalışmanın amacı, AF patogenezinde ve progresyonunda apoptozisin rolü olup olmadığını araştırmaktır. Bu amaçla cerrahi tedavi endikasyonu bulunan kalıcı AF hastalarıyla normal sinüs ritimli hastalardan alınan atriyal dokularda, apoptozis ve apoptozisi regüle edici proteinler karşılaştırılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 APOPTOZİS

Apoptozis; özetle programlı hücre intiharı olarak ifade edilir. Apoptozis; inflamatuvar bir yanıtı tetiklemeden hücre ölümünü kontrol eden bir sinyal kaskadının aktifleştiği, çok iyi regüle edilen ve evrimsel olarak korunmuş, enerji bağımlı bir “hücre intiharı” programıdır. Bu program normal doku gelişimi sırasında ihtiyaç duyulmayan yapıların uzaklaştırılması ve dokunun şekli alabilmesi için çalışır. Ayrıca yetişkin organizmalarda, hücre hasarlarına yanıt olarak, hasar görmüş hücrelerin çevre dokuya zarar verilmeden uzaklaştırılması için de aktive olur.

1972’de Kerr ve arkadaşları; apoptotik bir hücrenin, plazma membranıyla çevrili fragmanlara bölünmesini, bir ağacın yapraklarını dökmesine benzeterek Yunanca’da “düşmek, dökülmek” anlamına gelen *Apoptosis* terimini ilk kez kullanmışlardır(Kerr *et al.*, 1972). İncelemelerini, ışık mikroskopuyla da görülebilmeye rağmen, daha detaylı görüntü alınabilen transmisyon elektron mikroskopuyla yapmışlardır. Apoptozisin işaretleri olarak görülen karakteristik sütüktürel özelliklerini belirlemişlerdir. Bu özellikleri;

1. Sitoplazmik ve nükleer kondenzasyon (piknozis)
2. Nükleer fragmantasyon (karyorekzis)
3. Sitoplazmik organellerin normal morfolojik görünümü
4. Plazma membranının bütünlüğü

olarak tanımlanmıştır(Galluzzi *et al.*, 2007;Kerr *et al.*, 1972;Wyllie *et al.*, 1980).

Çok hücreli organizmaların normal ve doğru gelişimleri, seçilmiş bazı hücrelerinin apoptozis ile ölmesine bağlıdır. Bir nematod olan *Caenorhabditis elegans* organizmasında, başlangıçta 1090 olan hücre sayısı, apoptozis aracılığıyla tam olarak 131 hücre azalır ve böylece larva fazından 959 somatik hücreye sahip yetişkin hermafrodit forma dönüşür. *Caenorhabditis elegans* modeliyle yapılan organ gelişimi ve apoptozis çalışmaları 2002 yılında Sydney Brenner, Robert Horwitz, John Sulston’a Nobel Tıp/Fizyoloji Ödülünü kazandırmıştır. Bu nematod, daha sonraki apoptozis ile ilgili birçok çalışmanın da modeli olmuştur.

Kurbağaların metamorfozisi esnasında kuyruklarının kaybolması ve yetişkin forma geçmeleri de kuyruktaki hücrelerin apoptozis ile ölmeleriyle sağlanır. Ayrıca insan embriyosunda el parmakları arasında bulunan perdelerin, buradaki hücrelerin apoptozis ile uzaklaştırılmaları sonucu kaybolduğu düşünülmektedir.

Apoptotik bir hücrenin en belirgin özelliği olan piknotik nükleusun yarım ay veya hilal görünümünü alması sıklıkla gözlemlenebilir. Nükleer fragmantasyondan sonra hücre; komşu epitelyal hücreler, makrofajlar veya fibroblastlar tarafından fagositozla yutulacak olan apoptotik cisimciklere parçalanır(Taatjes *et al.*, 2008).

Apoptozis, hayvan türlerinde, normal fizyolojinin bir çok bölümünde önemli rolleri olan bir olaylar zincirinin ifadesidir(Metzstein *et al.*, 1998). Apoptozis regülasyonundaki defektler; hücre kümelenmesinin meydana geldiği (ör: kanser, restenozis) ve hücre kaybının olduğu (ör: felç, kalp hastalıkları, nörodejenerasyon, AIDS) bir çok hastalığın patogenezinine karışır. Bu nedenle son zamanlarda biyomedikal araştırmaların en çok çalışılan ve en hızlı gelişen konularından biri olmuştur(Reed, 2000;Thompson, 1995).

2.1.1 HÜCRE ÖLÜMÜNÜN SINIFLANDIRILMASI

Hücre ölümü (HÖ); letal prosesin morfolojik görünümüne göre (apoptozis/nekrozis/otofaji/mitotik katastrofi), enzimolojik kriterlere göre (kaspaz veya katepsin gibi proteazların prosese katılması/katılmaması), prosesin fonksiyonel durumuna göre (programlanmış/tesadüfi veya fizyolojik/patolojik), veya immünolojik karakteristiklerine göre (immünojenik/non-immünojenik) sınıflandırılabilir(Galluzzi *et al.*, 2007).

2005 yılında *Cell Death and Differentiation* dergisi editörleri bir grup uzmanın katılımıyla *The Nomenclature Committee on Cell Death (NCCD)* kurulunu düzenlediler. Tartışmaların sonucunda, hücre ölümünün klasifikasyonunun morfolojik kriterlere dayanması gerektiğine karar verildi(Kroemer *et al.*, 2005).

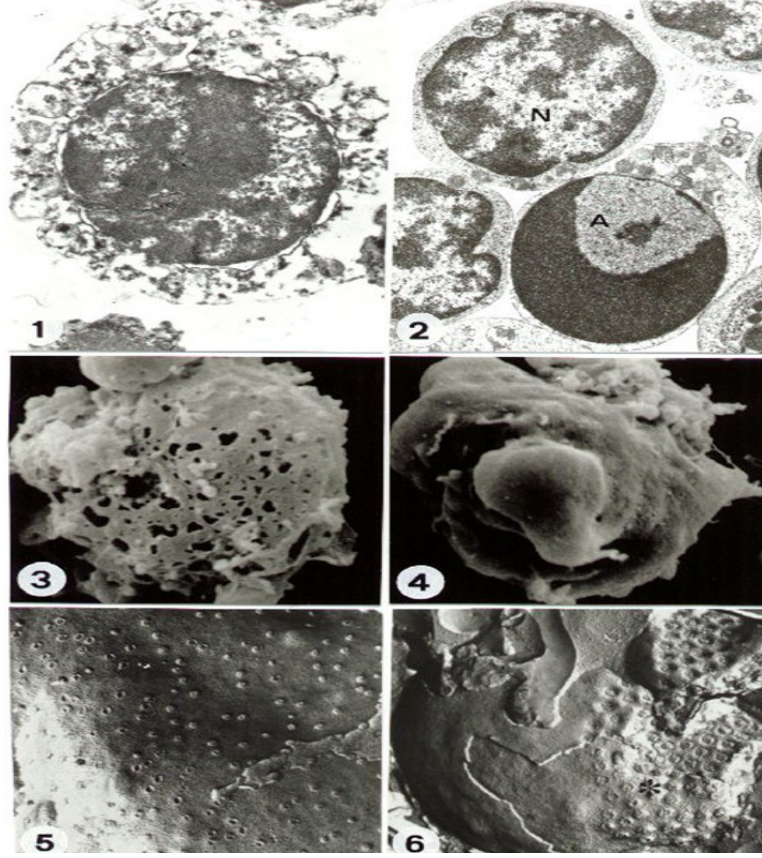
Morfolojik değişimlerine göre tanımlanmış ve en iyi çalışılmış hücre ölümü şekli olan apoptozis (tip 1 HÖ), nükleer piknozisi (kromatin kondenzasyonu) ve karyorekzisi (nükleer fragmentasyon) içerir. Sonunda apoptotik hücreler, nükleer fragmanları veya bozulmamış sitoplazmik organelleri taşıyan, membranlarla çevrili, küçük apoptotik cisimciklere bölünürler. Bu apoptotik cisimcikler, progresif hücresel kondenzasyon ve kabarcıklaşma (bleblenme) sonucunda oluşur, en son olarak da komşu fagositik hücreler tarafından yutulurlar.

Apoptozis, hücresel fragmanların hızlı tahribini gerektirirken otofaji (tip 2 HÖ) yavaş, sitoplazmanın bazı bölümlerinin çift-membranlı vakuollerle ayrılması ve bu vakuollerin lizozomal hidrolazlar tarafından sindirilmesiyle sonlanan bir olaydır. HÖ kararlarında otofaji çok önemlidir çünkü hücreleri apoptozise girmekten kurtarabilen bir prosestir(Thorburn, 2008). Örnek olarak besin ve büyüme faktörlerinden yoksun kalmış bir hücrede otofajik prosesin hızlanması apoptozisi inhibe ederek hücrenin yaşamını sürdürmesini sağlayabilir(Boya et al., 2005;Lum et al., 2005). Ayrıca otofaji, başka birçok apoptotik uyarılardan da hücreleri korur(Ravikumar *et al.*, 2006).

Nekrozis (tip 3 HÖ), apoptozisin işaretleri ve ağır otofajik vakuolizasyon olmadan plazma membranının parçalanarak hücrenin ölmesidir. Nekrozisin en önemli özelliği hücre hacminde büyük bir artış olması, plazma membranının parçalanması ve sonunda organize olmamış ve şişmiş organellerin interstisyuma dağılmasıdır. Plazma membranının permeabilizasyonu olmadığı için nekrozisin spesifik biyokimyasal belirteçleri yoktur ve sadece elektron mikroskopunda izlenebilir. Lokal inflamasyona neden olduğu ve tümör gelişimini teşvik ettiği için nekrozis, patolojik HÖ olarak değerlendirilir(Vakkila and Lotze, 2004).

Mitotik katastrofi, hatalı mitoz sırasında veya hemen sonrasında gerçekleşen HÖ şeklidir. Genellikle, mitotik katastrofi, hücrenin ölmesinden önceki mikronükleasyon ve multinükleasyon olaylarına katılır. Mitotik katastrofi, hücre döngüsünün hatalı kontrol noktalarının bir kombinasyonu sonucunda meydana gelir. Mitozdan önce veya mitoz sırasında hücre döngüsünün durdurulmasında hata olması, kendi kendini yıkıcı etkisi olan yolakların

aktivasyonu ile sonuçlanan kromozom segregasyonunu tetikler(Castedo *et al.*, 2004).



Şekil-1: 1. Nekrotik bir hücrenin TEM (transmission electron microscopy) görüntüsü, plazma membranının ve organellerin hasarı görülebiliyor (x 10000) 2. Apoptotik (A) ve Normal (N) hücrelerin TEM görüntüsü, A'da karakteristik kromatin kondenzasyonu ve plazma membranının bütünlüğü gözlenirken N'de normal hücre görünümü (x 8000) 3. Nekrotik bir hücrenin SEM (scanning electron microscopy) görüntüsü, plazma membranında lezyonlar (x 5000) 4. Apoptotik bir hücrenin SEM görüntüsü, plazma membranında bleblenme (x 5000) 5. Normal bir hücrenin FF (freeze-fracture) görüntüsü, nükleer porların normal görüntüsü (x 30000) 6. Apoptotik bir hücrenin FF görüntüsü, nükleer çevrede porların karakteristik kümelenmesi (x 35000)

2.1.2 APOPTOZİS MEKANİZMALARI

Büyüme faktörlerinin azalması, hipoksi, oksidatif stres, DNA hasarı, mitokondrilerin irreversibl hasarı, iskemi/reperfüzyon hasarı gibi apoptotik uyarılar sonucunda hücrede apoptotik sinyal kaskadı başlar. Apoptozis, 2 ayrı evrimsel olarak korunmuş biyokimyasal yolakla meydana gelir: ölüm reseptörleri aracılığıyla gerçekleşen *ekstrinsik yolak* ve Bcl-2 ailesi proteinleri aracılığı ile gerçekleşen *intrinsik yolak*(Adams and Cory, 1998;Danial and Korsmeyer, 2004).

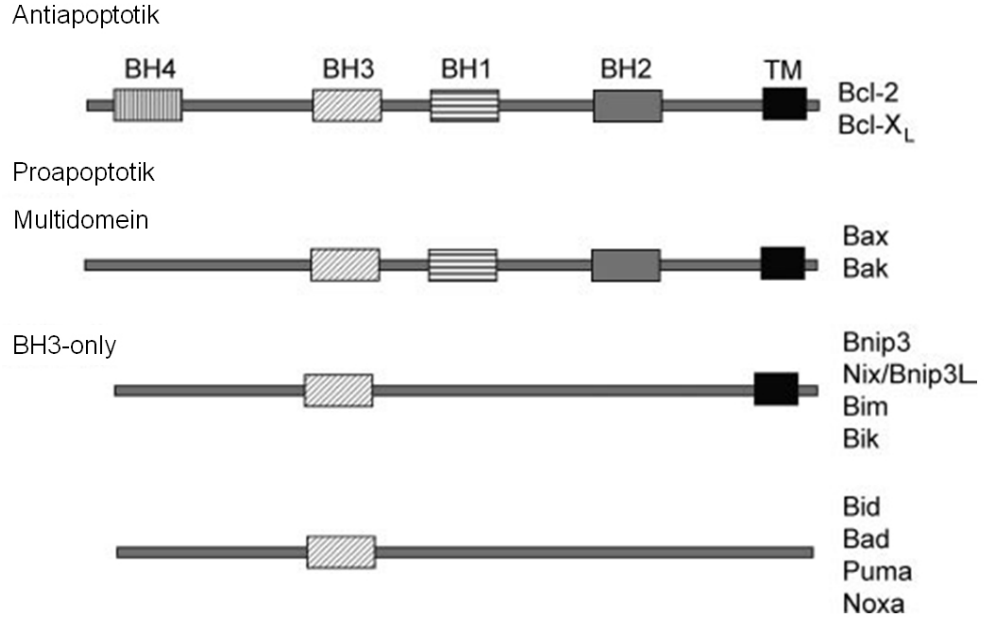
2.1.2.1 APOPTOZİSTE EKSTRİNSİK YOLAK (ÖLÜM-RESEPTÖRLERİ ARACILI)

Ekstrinsik yolak, TNF (*Tumor Necrosis Factor*) gen reseptör ailesi üyeleri olan Fas (CD95/APO1), TNFR1 (*Tumor Necrosis Factor Receptor-1*) ve TRAIL-R1 (*TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand-R1*), TRAIL-R2, TNF-R1 gibi ölüm ligandlarını kullanır. Bu ölüm ligandları, plazma membranındaki reseptörlerine bağlandıkları zaman ekstrinsik apoptotik yolak aktive olur ve reseptörlerin homotrimerizasyonu, Fas-ilişkili ölüm domeini (FADD: *Fas-associated via death domain*) ve prokaspaz-8 gibi spesifik adaptör proteinlerin ölüm-indükleyen sinyal komplekslerine dönüşmesi sağlanır(Boldin *et al.*, 1996;Muzio *et al.*, 1996). Adaptör proteinler, reseptörlere gelen sinyal sonucunda kaspazlara (*caspase: cycteine-dependent aspartate-cleaving proteases*) bağlanıp onları aktive ederler ve aktifleşmiş kaspazlar DNaz ile birlikte DNA yıkımına neden olurlar.

Fas ve TNFR-1, ligandlarına bağlandıklarında apoptotik uyarı alınır, bir seri protein interaksiyona geçer. Bu ligandlar üzerinde doğal olarak bağlı bulunan, ligandların sitoplazmik uzantıları olan ve ölüm domeinleri (DD: *Death Domain*) adı verilen TRADD (*TNFR-1 associated DD*) ve FADD (*Fas associated DD*) aktifleşir(Krueger *et al.*, 2003). Bu DDleri prokaspaz-8'i aktifleştirerek kaspaz kaskadını başlatır.

2.1.2.2. APOPTOZİSTE İNTRİNSİK YOLAK (MİTOKONDİRİ BAĞIMLI)

İntrinsik yolakta, mitokondriler merkezi rol oynarlar. Mitokondri, apoptozis için gerekli olan enerjiyi üretir ve sitokrom-c, endonükleaz G ve AIF (Apoptosis Inducing Factor) gibi proapoptotik proteinlerin salınmasını sağlar. Sitokrom-c'nin mitokondriden salınımı, Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor-1) aracılığıyla kaspaz-9' un aktifleşmesine neden olur(Zou *et al.*, 1999). İntrinsik yolak, Bcl-2 protein ailesi üyeleri tarafından kontrol edilir. Bu protein ailesi, BH (Bcl-2 homology) domeinleri diye bilinen 4 korunmuş bölgeyi paylaşan proapoptotik ve antiapoptotik proteinlerden oluşur(Adams and Cory, 1998).



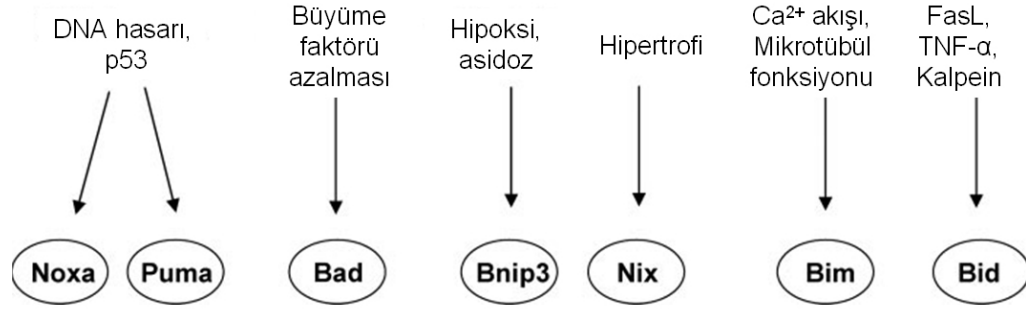
Şekil-2: Antiapoptotik ve proapoptotik proteinlerde “Bcl-2 Homology” domeinleri

Bcl-2 ve Bcl-xl gibi antiapoptotik üyeler bu 4 BH domeinini de içerir ve proapoptotik Bcl-2 ailesi proteinlerinin fonksiyonlarını inhibe ederek hücrenin yaşamını sürdürmesini sağlarlar, hücreyi çok çeşitli apoptotik uyarılara karşı korurlar(Motoyama *et al.*, 1995;Nakayama *et al.*, 1993;Opferman *et al.*, 2003;Veis *et al.*, 1993). Şaşırtıcı olarak, bazı durumlarda, Bcl-2 ve Bcl-xl kaspazların hedefi olur ve bu proteinlerin yıkımı, mitokondriden sitokrom-c salınımını indükleyerek proapoptotik moleküllere dönüşmelerine neden olur(Cheng *et al.*, 1997;Clem *et al.*, 1998).

Proapoptotik üyeler, yapısal olarak 2 ayrı alt-aileye ayrılır:

1- BH4 domeini olmayan, 3 BH bölgesini paylaşan multidomein proteinler (Bax ve Bak). Bunlar yapısal olarak antiapoptotik proteinlere benzerler(Adams and Cory, 1998;Suzuki *et al.*, 2000).

2- BH3-only proteinler (Bnip3, Nix/Bnip3L, Bid, Noxa, Puma ve Bad) olan ve sadece BH3 domeinini paylaşan yapısal olarak farklı olan proteinler(Huang and Strasser, 2000). BH3-only proteinler, hücrede ölüm sinyali sensörleri gibidir ve sinyallerin sitozolden mitokondriye iletilmesinde major rol oynarlar. Ekspresyon paternleri farklı olan BH3-only proteinlerin proapoptotik aktiviteleri, transkripsiyonla ve/veya posttranslasyonel modifikasyonlarla regüle edilir ve spesifik ölüm sinyallerine verdikleri cevaplar seçicidir.

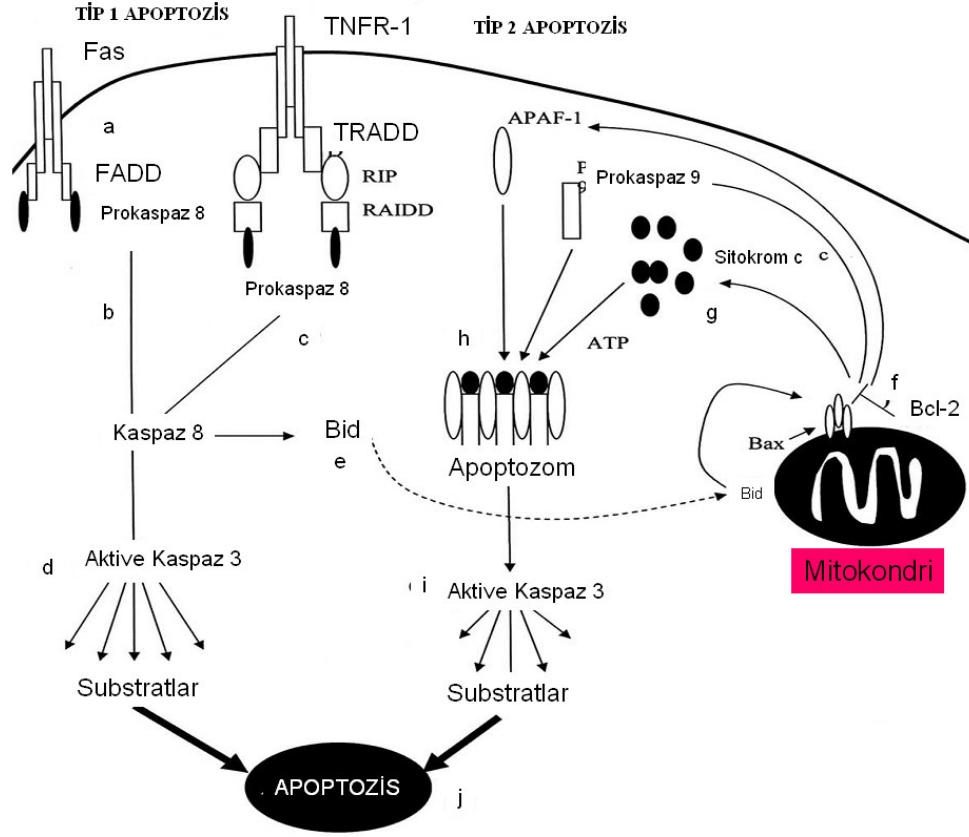


Şekil-3: Farklı ölüm sinyallerine spesifik BH3-only proteinlerinin cevap vermesi

Örnek olarak; Noxa ve Puma, p53 aracılı transkripsiyonel kontrol altındadır ve DNA hasarına cevap olarak upregüle edilir(Nakano and Vousden, 2001;Oda *et al.*, 2000). Bnip3, hipoksiye cevap olarak upregüle edilir(Bruick, 2000;Regula *et al.*, 2002) ve asidik kondisyonlarda aktive olduğu rapor edilmiştir(Kubasiak *et al.*, 2002). Normal kondisyonlarda Bad fosforile haldedir ve büyüme faktörlerinin azalmasıyla defosforile olarak aktifleşir(Wang *et al.*, 1999;Zhu *et al.*, 2001). Mikrotübül fonksiyonunun bozulması Bim salınımla sonuçlanır ve apoptozisi aktive eder(Puthalakath *et al.*, 1999). Bid'in, kaspaz-8, granzim B ve kalpain tarafından proteolitik yıkımıyla tBid'e dönüşmesi, mitokondriye translokasyonu ve mitokondriden proapoptotik faktörlerin salınımı sonucunda apoptozis aktifleşir(Chen *et al.*, 2001;Li *et al.*, 1998;Luo *et al.*, 1998;Mandic *et al.*, 2002). BH3-only proteinler, Bax ve Bak'ın aktifleşmesi aracılığıyla hücre ölümünü başlatırlar.

Hem Bax hem Bak'ı olmayan knockout farelerle yapılan deneyler sonucunda Bax ve Bak'ın intrinsik yolak için gerekli olduğu gösterilmiştir(Wei *et al.*, 2001). Bu iki proapoptotik Bcl-2 ailesi üyesi, iç ve dış mitokondriyal membranlar arasından proteinlerin salınımını indükler. MOMP (*mitochondrial outer membrane permeabilization*) prosesi, sitokrom-c ve diğer çözünebilir proteinlerin sitozole salınımıyla sonuçlanır(Newmeyer and Ferguson-Miller, 2003). Sitokrom-c salınımı sırasında Bax ve Bak mitokondrinin fragmanlara bölünmesini indükler. Çözünebilir proteinler permeabilize mitokondri membranından diffüze olduğunda, kaspaz aktivasyonu teşvik edilir. Bu proteinlerin en iyi çalışılanı olan sitokrom-c, Apaf-1'e bağlanır ve *apoptozom* denilen heptamerik protein halkasını oluştururlar. Apoptozom, prokaspaz-9'a bağlanarak konformasyonel değişim aracılığı ile aktifleşmesini yani kaspaz-9 oluşumunu indükler(Shi, 2006).

Apaf-1-bağımsız kaspaz aktivasyonu yolaklarından biri; kaspaz-9 ve kaspaz-3 gibi belli kaspazlara bağlanıp nötralize eden bir IAPs (*inhibitor of apoptosis proteins*) proteini olan XIAP ile inhibisyonudur. IAPs'in bu inhibitör etkisi, Bax ve/veya Bak'ın aktivasyonundan sonra mitokondriden salınan DIABLO'nun bağlanmasıyla antagonize edilebilir. XIAP-yoksun fare(Harlin *et al.*, 2001) gibi DIABLO-yoksun fare de apoptotik fenotipleri göstermezler. NOD-benzeri reseptörler denilen birçok Apaf-1 ilişkili proteinler, doğal immüniteyle alakalı non-apoptotik konakçı hücre savunma proseslerinde meydana gelen alternatif kaspaz aktivasyon yolaklarını regüle ederler.



Şekil-4: Apoptotik yolların birlikte gösterimi. **a.** Fas'ın ligandına bağlanması. **b./c.** Prokaspaz-8'in kaspaz-8'e dönüşerek aktifleşmesi. **d./i.** Aktif kaspaz-3'ün substratlarına yönelmesi. **e.** Bid'in mitokondriye transportu. **f.** Bcl-2'nin apoptozom oluşumu için prokaspaz-9 ve Apaf-1'i uarması. **g.** Mitokondriden sitokrom c salınımı **h.** Apoptozom oluşumu. **j.** Hücrenin apoptoze girmesi.

2.1.3 KARDİYOVASKÜLER SİSTEMDE APOPTOZİS

Apoptozis sıklıkla hücre siklusunda progresyon gösteren hücrelerde olur. Bu nedenle terminal differansiye olmuş kardiyak hücrelerde oluşmayacağı düşünülmüştür (Bennett and Boyle, 1998). Ancak hayvan ve insanlarda postmortem çalışmalar ve endomiyokardiyal biyopsi sonuçları miyokardda da apoptozisin görülebileceğini ortaya koymuştur. Normalde kardiyovasküler sistemin normal embriyonik gelişimi sırasında apoptozis yoğun olarak meydana gelirken erişkinlerde apoptozis mekanizmaları, kalpte inaktif halde bulunur (James, 1999). Çeşitli kardiyak ve vasküler hastalıklarda (Akar *et al.*, 2005) apoptozis mekanizmalarında değişiklikler gösterilmiştir (Çizelge-1).

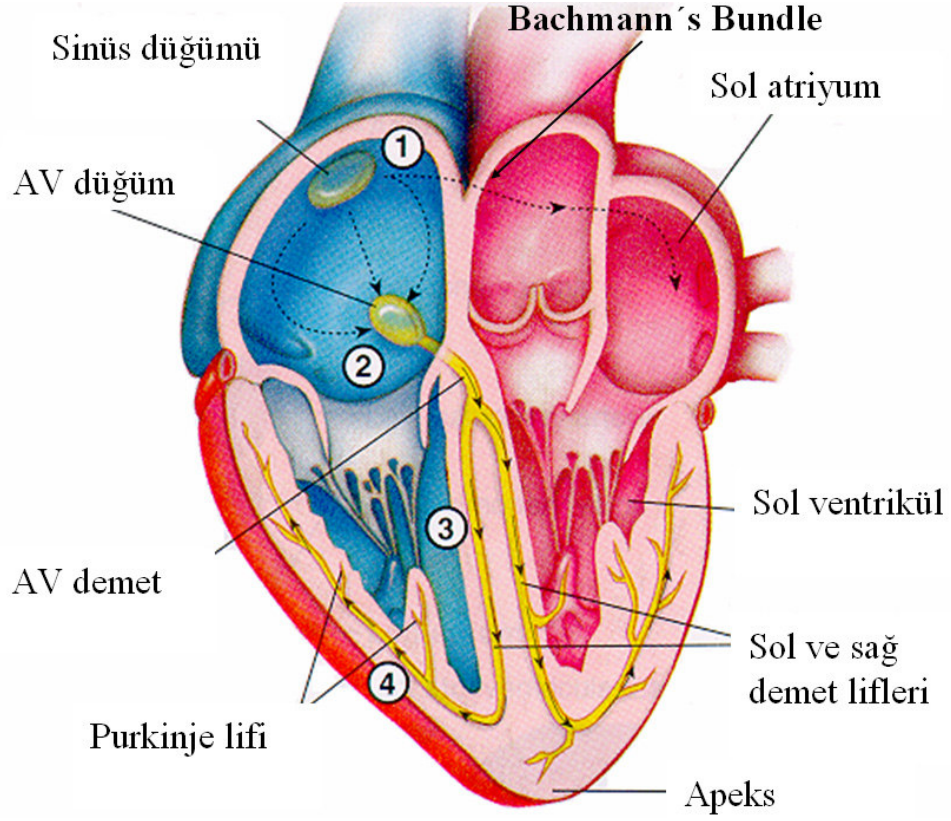
Çizelge-1: Kardiyovasküler Sistemde Apoptozis İle İlişkilendirilmiş Durumlar

Damar Duvarı	Miyokard
<ul style="list-style-type: none">• Ateroskleroz• Diyabetes mellitus• Hipertansiyon• Vasküler allogreft reddi• Vasküler gelişme bozukluğu• Vasküler yeniden biçimlenme• Restenoz• Aort diseksiyonu ve anevrizması	<ul style="list-style-type: none">• Akromegalik kardiyomiyopati• Aritmojenik sağ ventrikül displazisi• Kardiyak allogreft reddi• Kardiyak gelişim bozukluğu• Down Sendromu• Hibernasyon• Önkoşullanma (preconditioning)• Yeniden biçimlenme (remodelling)• Reperfüzyon hasarı• Chagas miyokarditi• Konjenital AV blok• Akut miyokard infaktüsü• Hipertansif kalp hastalığı• Kalp yetersizliği• Koroner greft vaskülopatisi• Viral miyokardit

2.1.4 KARDİYAK İLETİ SİSTEMİNDE APOPTOZİS

İleti sisteminde postnatal dönemde elektriksel stabilitenin sağlanması amacıyla morfogenezis süreci başlatılır. Atriyoventriküler düğüm veya His demetinin fütal morfolojik yapısı erişkin yapısına dönüşürken fütal sinüs düğümünde görülen miyofibrillerden fakir miyositler yerlerini kollajenden zengin hücrelere bırakmak için apoptozisle ortadan kaldırılırlar. Apoptozisin yetersiz kaldığı durumlarda doğum sonrası fütal morfolojinin devam etmesi, genelde ani ölümle sonuçlanabilen patolojilere yol açabilmektedir. Bu dönemde ileti yollarında görülebilen yetersiz apoptozis “Wolf Parkinson White” gibi aberan ileti yollarına ait patolojileri getirebilmektedir(Brechenmacher *et al.*, 1980). Sağ

ventriküle ait çeşitli patolojik durumlarda da apoptozis mekanizmalarında bozukluklar saptanmıştır. Normalde postnatal dönemde sağ ventrikülde “disuse atrophy” nin gerçekleşmesi Bcl-2 genlerinin downregülasyonu ile yani apoptozisle sağlanmaktadır(Fisher et al., 2000;James, 1999). Sağ ventrikülde görülen apoptozisin aşırı artışının Uhl anomalisine yol açtığı gösterilmiştir(James et al., 1996a). Uhl anomalisinde sağ ventrikülün histolojik olarak non-inflamatuvar destrüksiyonu söz konusudur. Etiyolojisi bilinmeyen bu hastalıkta, çok erken yaşta ölümlerle sonuçlanan sağ kalp yetersizliği gelişmektedir. Aritmojenik sağ ventrikül displazisi de histolojik olarak Uhl anomalisine benzeyen bir diğer sağ ventrikül patolojisidir(Mallat et al., 1996). Buradaki tek fark sağ ventriküldeki tutulumun jeneralize değil odaklar halinde (fokal) oluşudur. Aritmojenik sağ ventrikül displazisinde de apoptoziste artış meydana gelmekte, ölmekte olan sağ ventrikül miyositleri geçici olarak spontan otomasite kazanmakta veya yanıtız, kasılmayan bölgeler oluşturarak fokal reentran taşikardiler için kaynak olmaktadır. Her iki patolojide de normal sağ ventrikül gelişiminde fizyolojik olan apoptozisi bitiren sinyal sisteminin devreye girmemesi söz konusudur. Afrika’da familial olarak rastlanan progresif kalp bloğu ve fatal aritmilerle seyreden Brink Sendromu’nda ise sinüs düğümü ve atriyoventriküler düğümde selektif apoptozise bağlı destrüksiyon olduğu gösterilmiştir(Brink and Torrington, 1977;James et al., 1996b). Benzer bir destrüksiyon Brugada Sendrom’lu hastaların postmortem histolojik incelemelerinde de ortaya konulmuştur(Brugada et al., 1998). Potasyum kanallarında fonksiyon bozukluğu olarak değerlendirilmeye başlanan Uzun QT Sendromu’nda da apoptozisten söz edilmektedir(James, 1999). Uzun QT Sendrom’lu olgulara ait sinüs düğümlerinin histolojik incelemesinde, düğümde nekroz olmaksızın fokal noninflamatuvar dejenerasyon, lokal intranodal ve perinodal kardiyonöropati bulunduğu saptanmıştır(James et al., 1993). Daha sonraki çalışmalarda Uzun QT’li olgularda pleomorfik mikromitokondrozis ve sinoatriyal hücrelerde apoptozis bulguları gözlenmiştir. Tüm bu sonuçlardan anlaşılacağı gibi fokal sessiz bir apoptotik odak tıpkı nekrotik hücreler gibi ileti sistemini etkileyerek aritmi veya bloklara yol açabilmektedir.



Şekil-5: Kardiyak ileti sistemi

2.2. ATRİYAL FİBRİLASYON

Kalp çalışması, sempatik ve parasempatik sinir sistemi tarafından kontrol edilmektedir. Sempatik sinir sistemi kalp çalışmasını stimüle ederken, parasempatik sinir uyarılarını ileten vagus siniri sinoatriyal (SA) düğümün impuls iletimini yavaşlatmaktadır. Kalp, SA düğüm hücrelerinde düzenli olarak oluşan impulsların atriyum miyokardına ve oradan sırasıyla atriyoventriküler (AV) düğüm, his demeti, sağ ve sol dallar ile purkinje lif şebekesi üzerinden ventrikül miyokardına yayılması sonucu ritmik kontraksiyonlar yapmaktadır. Kalpte SA düğüm, AV düğüm ve çevresindeki atriyum kısmı, his demeti ve purkinje lif hücrelerinin kendi kendilerine depolarize olabilme özellikleri bulunmaktadır. Normal kalp ritmi SA düğüm hücrelerinin daha hızlı depolarize olması ve kalp ritmini kontrol etmesine bağlı olarak sürdürülmektedir.

Kalpte impuls oluşumu veya impuls iletimindeki bozukluklar aritmilerin meydana gelmesine neden olmaktadır. Aritminin başlıca tanı yöntemi ise elektrokardiyogram (EKG)'dir.

AF, bir çok kardiyak ve bazı pulmoner hastalıklarla, çeşitli metabolik, toksik, endokrin veya genetik anormalilerle birlikte insidansı yaşla artan, en sık rastlanılan kalp ritim bozukluğudur(Brugada *et al.*, 1997;Kannel *et al.*, 1998).

AF ile ilgili en eski kayıt 17. yüzyılda *Yellow Emperor's Classic of Internal Medicine*'de yayınlanmıştır. Bu kayıt, 1628'de William Harvey'in, hayvanlarda "oriküler fibrilasyon" adıyla tanımladığı bir kondisyon ile ilgilidir(Lip and Beevers, 1995). 1863'te Chauveau ve Marey, AF'lu hastalarda sfigmograf kullanıp nabız izlerini takip ederek kardiyak fizyolojisi üzerine çeşitli çalışmalar yapmışlardır(Khasnis and Thakur, 2008). Daha sonraları, düzensiz nabız için "intermission of the pulsation of the heart" (Laennec), "ataxia of the pulse" (Bouilland), "delirium cordis" (Nothnagel), ve son olarak "pulsus irregularis perpetuus" (Hering) şeklinde çeşitli tanımlamalar yapılmıştır(Flegel, 1995). AF ile ilgili ilk vaka raporu, 1907'de University College of London'da Cushny ve Edmunds tarafından, bir ovarian fibroid hastasında cerrahiden sonra "Jacques sfigmokronografi" ile kaydedilmiş ve yayınlanmıştır(Khasnis and Thakur, 2008). Bu aynı zamanda AF'da, elektriksel kayıt ve palpasyonla irregüler nabız alma üzerine ilk karşılaştırmalı rapordur. 1909'da kalbin ürettiği çok küçük elektriksel iletleri bile algılayıp kaydedebilen ilk pratik EKG olan "string galvanometre"nin geliştirilmesi, AF'un elektriksel doğasıyla, fiziksel inceleme arasında daha ileri korelasyonların araştırılmasına olanak sağlamıştır.

AF, mitral kapak hastalıklarında sık görülen bir ritim bozukluğudur. Jean Baptiste Senac 1783'te "rebellious palpitation" dediği AF ile mitral stenozis (MS)'in birbiriyle bağlantılı olduğunu belirlemiştir(Schweitzer and Keller, 2002). 1827'de Adams, MS ile birlikte düzensiz nabız görüldüğünü rapor etmiştir(Khasnis and Thakur, 2008). 1897'de Mackenzie, MS'i olan hastalarda AF sırasında jügüler "A dalga" kaybını ve hasta düzensiz bir ritim geliştirdiğinde presistolik üfürümün yok olduğunu ilk kez göstermiştir(Khasnis and Thakur, 2008). Daha yeni literatürde, MS'i olan hastaların %29'unda; mitral

regürjitasyonu olan hastaların %16'sında AF meydana geldiğini ve regürjitasyonun römantik etiyojisiyle MS birleştiğinde insidansın %52'ye yükseldiği rapor edilmiştir(Diker *et al.*, 1996).

Lewis 1909'da AF'i tanımlayan klasik "P dalgalarının yokluğu" ve "f dalgalarının düzensizliği"ni göstermiştir(Khasnis and Thakur, 2008). EKG ile, fibrilasyonun frekans analizleri yapılarak, paroksizmal AF'un habercisi olan atriyal siklus uzunluğu ve kardiyoversiyondan sonra tekrar edip etmediği çalışılmıştır(Holm *et al.*, 1998).

Daha sonraki çalışmalar AF'un başlamasıyla ilgili mekanizmaların tanımlanmasına yönelik olmuştur. 1998'de pulmoner ven (PV)'lerin, paroksizmal AF'u tetiklemek gibi önemli bir rolü olduğu kabul edilmiştir. PV bölgesinin ablasyonu, bu venlerin anatomik ve elektriksel karakteristiklerinin daha iyi tanımlanmasını sağlamıştır. P dalgalarının belli EKG morfolojileri, paroksizmal AF'u öngörebilir ve PV'leri "suçlu" olarak adlandırabilir(Dilaveris *et al.*, 1998;Rajawat *et al.*, 2004). AF'un altında yatan esas mekanizma olarak çok sayıda odağın oluşturduğu rastgele yayılan multipl dalgalar (multipl wavelet reentry) olduğu teorisini 1960'larda Moe öne sürmüştür(Moe and Abildskov, 1959). Moe'nin teorisine göre; "...fibrilasyon, refrakter doku grupları ve adacıkları çevresinde miyokard boyunca rastgele gezinen bir dizi bağımsız dalgacık sayesinde sürer gider", "...fibrilasyonun sürebilmesi için çok sayıda birbirinden bağımsız reentran odağın birbirini izleyen her eksitasyonda pozisyon, biçim, büyüklük ve sayıca değişmesi zorunludur", "fibrilasyon aktivitesinin yayılabilmesi için kritik kütlede bir miyokard dokusu gereklidir.." ve "...fibrilasyonun kendiliğinden sonlanması ortamdaki ortalama dalgacık sayısına bağlıdır"(Moe and Abildskov, 1959). Moe'nun teorisi, Allesie ve arkadaşları tarafından AF sırasında çeşitli atriyal bölgelerden kayıt yapılarak doğrudan test edilmiş ve çok sayıda birbirinden bağımsız reentry elektriksel iletilerin varlığı gösterilmiştir(Allesie, 1985). Fibrilasyonun devam edebilmesi için her iki atriyumda bulunması gereken kritik odak sayısının 3 ila 6 arasında olması gerektiği tahmin edilmiştir. Daha sonra hem hayvanlarda hem insanlarda yapılan çalışmalar bu bulguları büyük ölçüde doğrulamıştır(Konings *et al.*, 1994;Schuessler *et al.*, 1992). Bu önemli çalışmalarda genel olarak iki tip reentran

eksitasyon gözlenmiştir: 1) Dokunun daha önceden aynı odaktan çıkan dalga ile yeniden uyarıldığı “leading circle reentry”. Bu durumda reentran dalgalar çoğunlukla stabil değil doku boyunca yer değiştiren özellikte olurlar. 2) Yayılmakta olan farklı bir dalga kümesinin çok kısa bir süre önce başka bir dalga tarafından uyarılmış olan bir bölgeyi yeniden uyardığı “random reentry”(Konings *et al.*, 1994).

Yeni AF episodunun başlatılması için; atriyumda tetikleyici anormal bir odak olan “stabil background devre”nin önceki AF episoduna sona erdiğinde yeniden başlatılabileceği; AV düğümünden veya bir aksesuar yoldan bir eko vuruşu olması olasılığı gibi çeşitli açıklamalar getirilmiştir. Bugünkü anlayışa göre, AF’un, aritminin devamı için kritik bir atriyal kütle ve üstüne çıkıldığında organize atriyal aktivitenin devam edemeyeceği kritik bir atriyal hıza ihtiyacı vardır.

1966’da Nathan ve Eliakim, PV’lerin proksimal tarafının, bitişik atriyal dokudan direkt uzanan ve atriyumla elektriksel olarak eşleşen bir devamlılık gösterdiğini, insan kalplerinde yaptıkları sol atriyum-PV bağlantısını anlatan anatomik bir çalışmayla yayınlamışlardır(Nathan and Eliakim, 1966). Haissaguerre ve arkadaşları, bazı AF vakalarında, ihtimali tetikleyici odaklar olarak PV’lerin aritmojenitesini rapor etmişlerdir(Haissaguerre *et al.*, 1998). Sol atriyumdan PV’lerin üzerine uzanan miyokardiyal kollar aritmojenik odağın patolojik korelasyonu olarak görülürler. Bundan sonra, AF’un potansiyel odakları olan; superior vena cava(Li and Wang, 2006), coroner sinus(Haissaguerre *et al.*, 2006) ve Marshall veni(Chen *et al.*, 2006;Kim *et al.*, 2000) dahil atriyuma bağlı olan torasik ven yapıları keşfedilmiştir.

Klinik AF’un alttipleri, aritmi episodunun nasıl sonlandığına göre şu şekilde sınıflandırılabilir(Gallagher and Camm, 1997;Shemin *et al.*, 2007):

1. *Paroksizmal AF*: Birkaç günden fazla sürmeyen ve genellikle spontan olarak sonlanan AF episodudur.
2. *İnatçı (Persistant) AF*: Paroksizmal AF’den daha az sıklıkta meydana gelen ve sinüs ritme geri dönmek için, kendi kendine sonlanmak yerine kardiyoversiyona ihtiyaç duyan AF episodudur.

3. Kalıcı (Permanent) AF: Tekrar sinüs ritme döndürülemez.

AF sıklıkla paroksizmal formundan daha inatçı ve kalıcı formuna progresif olarak ilerler. Hastalığın zamanla oluşan bu evolusyonu, yapısal kalp hastalığının progresyonunun AF'un devamına izin vermesine bağlı olarak meydana gelen atriyal yeniden biçimlenmeyle (remodelling) açıklanabilir. Elektriksel, yapısal ve kontraktil olmak üzere 3 çeşit atriyal yeniden biçimlenme olduğu öne sürülmüştür(Schotten *et al.*, 2003). Wijffels ve ark., bir keçi modeli aracılığıyla yaptıkları araştırmanın sonucunda "Atriyal fibrilasyon, atriyal fibrilasyonu doğurur" tezini ortaya atmışlardır(Wijffels *et al.*, 1995). Bu modelde, kontrolle kıyaslandığında kısalmış atriyal refrakter periyotlarla elektriksel yeniden biçimlenmenin kanıtları görülmüştür. Ek olarak, yavaş kalp hızlarında bile kısa atriyal efektif refrakter periyotlar nedeniyle hız adaptasyonu kaybını gözlemişlerdir. Atriyal refrakter periyotlardaki bu kısalma, AF hızında artmayla sonuçlanmaktadır.

AF ile yeniden biçimlenme sırasında farklı zaman domainleri mevcuttur(Allessie *et al.*, 2001;Schotten *et al.*, 2003). Saniyelerle dakikalar arasında olan "kısa dönem"de; iyon konsantrasyonu, pompa aktivitesi ve fosforilasyon gibi metabolik değişimler görülmektedir. Saatlerle günler arasında gerçekleşen "orta dönem", gen ekspresyon değişimleri ve kalsiyum downregülasyonu ile karakterizedir. Haftalardan aylara kadar süren "uzun dönem" in etkileri dediferansiyasyon ve miyozis gibi hücresel değişimleri içerir. Son olarak da kalıcı AF'un dahil olduğu "çok uzun dönem" aylardan yıllara kadar sürer; fibrozis, yağ dejenerasyonu ve hücre ölümü gibi histolojik değişimlerin olduğu geri dönüşümsüz doku hasarı gözlenir.

Yeniden biçimlenmeyle oluşan yapısal değişimler atriyal apendajın genişlemesi, atriyal kontraktilitenin azalması, kardiyak outputun düşmesi ve pıhtı oluşumu için eğilimin artması olarak sayılabilir. Schotten ve ark., AF'dan 48 saat sonra bile atriyal yeniden biçimlenmenin gözlemlenebildiğini rapor etmişlerdir(Schotten *et al.*, 2001). Bu faz sırasında refrakter periyot kısalmasına rağmen, AF'dan bir kez dönüş olduğunda sadece atriyal refrakter periyot normale dönmez, aynı zamanda atriyal iş indeksi ve kontraktil fonksiyon da geri döner.

Atriyumun dilatasyonu ile sinüs ritim AF'ya döner ve sinüs ritim geri döndüğünde atriyum tekrar normal boyutuna gelir(Sanfilippo *et al.*, 1990). Sinüs ritmin korunması yeniden biçimlenme progresyonunu yavaşlatabilir.

Geleneksel olarak AF'nun genetik temellerinin olduğu düşünülmezdi. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar aritminin bazı türlerinin, özellikle "yalnız AF"un (lone AF), genetik temelleri olduğunu gösterdi(Arnar *et al.*, 2006;Darbar *et al.*, 2003;Ellinor *et al.*, 2005;Fox *et al.*, 2004). AF'un ailelerdeki genetik temelinin araştırılması, Wolff-Parkinson-White sendromu(Gollob *et al.*, 2001) ve hipertrofik kardiyomyopati(Gruver *et al.*, 1999) gibi genetik temelli diğer aritmik patolojilerle ilişkilendirilmesi ile başladı. Son çalışmalar rutin karşılaşılan AF'un genetik temelli olabileceğini gösterdi(Darbar *et al.*, 2003). Brugada ve arkadaşları, ailesel AF'u 10. kromozom üzerindeki bir genin etkilediğini göstererek AF için ilk monogenik nedeni rapor etmişlerdir(Brugada *et al.*, 1997). Ellinor ve arkadaşları 6. kromozom üzerinde bir geni ailesel AF için haritalamışlardır(Ellinor *et al.*, 2003). AF'lu ailelerde iyon kanallarında çeşitli mutasyonlar belirlenmiştir(Chen *et al.*, 2003;Gollob *et al.*, 2006;Olson *et al.*, 2006;Xia *et al.*, 2005;Yang *et al.*, 2004). AF'dan sorumlu olan ve potasyum kanallarını kodlayan genler keşfedilmiştir(Chen *et al.*, 2003). AF ile ilişkili daha fazla gen keşfedilmeye devam ediliyor ve belki bir gün genetik terapi, AF tedavisinde veya korunmasında bir çözüm yolu olabilecektir.

Kardiyak ileti sisteminin haritalanmasındaki tekniklerinin gelişmesi, AF'un ablasyonla tedavisinin başarılmasını sağlamıştır(Sra and Thomas, 2001). Kardiyak aritmi haritalama, kalbin yerel potansiyel değişimlerini, zamana ve konuma bağlı olarak tanımlamaktır. Kardiyak aritminin haritalanması, aritminin kaynağının ve dolayısıyla rahatsızlığa neden olan etkenlerin bulunması, ayrıca bu etkenlerin ilaç, cerrahi müdahale veya kateter ablasyon yöntemlerinden hangisi ile giderileceğinin kararının verilmesi açısından, son derece önemlidir. AF'un haritalanması, mekanizmasının açıklanmasına ve efektif radyofrekans ablasyon (RFA) için mümkün anatomik bölgelerin lokalizasyonunun belirlenmesine yardımcı olmuştur. Haritalama işlemi genellikle 12 leadli EKG ve intrakardiyak verilerin birlikteliği ile yapılır. Ancak, tetikleyici odakların 3-D görüntülenmesi terapinin daha iyi olmasını sağlar. Bu amaçla geliştirilen ve nonfloroskopik bir

yöntem olan CARTO haritalaması; veya elektroanatomik haritalama; lokalizasyonu belirlemek, haritalamanın oryantasyonu ve kateter ucundan kayıt alınırken eşzamanlı olarak kateter ablasyonu için manyetik teknolojiyi kullanır. EnSite sistemi, bir balon veya mutlielektrot array ile nonkontakt intrakaviter elektrotlarıyla endokardiyal aktivasyonu kaydeder ve aktivasyon noktalarını bilgisayarlı elektrogramlar veya isopotansiyel haritalar olarak gösterir(Schneider and Schmitt, 2000). ICE, miyokardiyal dokuda lokalize bölgeleri dondurarak AF'un kateterle ablasyon tedavisi için kullanılan bir başka yöntemdir(Epstein *et al.*, 1998). Ayrıca AF'un odaksal RF ablasyonu için önemli bir teknik olan manyetik rezonans görüntüleme (MRI) yöntemi ile PV anatomisi görüntülenebilir(Wittkamp *et al.*, 2003). AF'un tetikleyici odakları PV'ler üzerinde yoğun olduğu için, bu bölgenin anatomisinin ve elektriksel işlevselliğinin doğru bir şekilde tanımlanmasına ihtiyaç vardır. PV bölgesinin ablasyonu çok risklidir(Wellens, 2000), bu nedenle en kısa zamanda bu prosedürün mümkün olan en güvenli şekilde başarılması sağlanmalıdır. Bu amaçla yeni teknolojiler geliştirilmeye devam edilmektedir. Bunlardan bazıları, elektriksel aktivasyon haritalarıyla korele ablasyon katater imajı üzerine, 3-D anatomik görüntünün (bilgisayarlı tomografi-CT- veya MRI) konmasıyla oluşturulan haritalamadır. Bir 3-D elektroanatomik haritalamayla kombine multislay multidedektör CT kullanılarak bu prosedür başarıyla gerçekleştirilebilir(Cabrera *et al.*, 2002). Ayrıca PV anatomisi, yüksek frekanslı intravasküler ultrasound kullanılarak da çalışılabilir(Guerra *et al.*, 2003a). Bu alandaki en son gelişmeler; elektroanatomik haritalamayla kombine uzaktan navigasyon(Pappone and Santinelli, 2008) ve robotik cerrahi(Pappone *et al.*, 2006) kullanımınıdır. Haritalama teknolojisi, ablasyon tekniklerinin daha güvenli ve daha başarılı olması için gelişmeye devam edecektir.

Gelecekte iyi seçilmiş hastalarda ablasyon, teşhis sonrası uygulanacak ilk tedavi haline gelebilecek olmasına rağmen, medikal terapi AF tedavisi için hala primer modalitedir. AF tedavisi için kullanılan ilk ilaç muhtemelen Digitalis'tir. Digitalis, 1785'te Withering tarafından keşfedilmiş ve çeşitli nitelikleri ve kullanım şekilleri belirlenmiştir(Khasnis and Thakur, 2008). Bundan sonraki antiaritmik ilaç, 1950lerde kullanılan Quinidine'dir(Fischermann and Schleisner, 1950). 1970lerde AF tedavisi için Amiodarone ve Disopyramide

keşfedilmiştir(Santos et al., 1979;Zagatti et al., 1974). 1984'te Vaughan-Williams ilk olarak antiaritmik ilaçları, farmakolojik özelliklerine göre 4 sınıfa klasifiye etmiştir(Vaughan Williams, 1984). Bu sınıflandırma şu şekildedir:

- *Sınıf 1 Antiaritmik İlaçlar:* Voltaj duyarlı Na⁺ kanallarının blokerleri. Faz 0 çıkışı baskırlarlar. Sınıf 1 antiaritmik ilaçlar, aksiyon potansiyeli süresine etkileri ve sodyum kanalı ile ilişkilerinin kinetik farklılıklarına göre 1A, 1B ve 1C olmak üzere 3 alt gruba ayrılırlar. Aksiyon potansiyeli süresini; sınıf 1A uzatır, 1B kısaltır, 1C ise değiştirmez veya minimal uzatır. 1B grubu, sodyum kanallarına hızla bağlanıp hızla ayrılır; 1C grubu yavaş bağlanıp yavaş ayrılır; 1A grubunun etkileri ikisinin arasındadır.
1A: Kinidin, Prokainamid, Disopiramid, Morisizin, Ajmalin
1B: Lidokain, Tokainid, Meksiletin, Fenitoin, Aprindin
1C: Propafenon, Flekainid, Enkainid, Morisizin, Lorkainid
- *Sınıf 2 Antiaritmik İlaçlar:* β-adrenerjik antagonistler. Faz 4'te depolarizasyon oluşumunu baskırlarlar. Sempatolitik etkileri vardır. Asebutolol, Esmolol, Metoprolol, Pindolol, Propranolol, Sotalol
- *Sınıf 3 Antiaritmik İlaçlar:* K⁺ kanal blokerleri. Faz 3 repolarizasyonu uzatırlar. Hücre dışına potasyum çıkışını bloke ederler. Amiodaron, Bretilyum, Dofetilid, İbutilid, Sotalol
- *Sınıf 4 Antiaritmik İlaçlar:* Ca²⁺ kanal blokerleri. AV iletimi yavaşlatırlar, refrakter periyodu uzatırlar. Hücre içine yavaş kalsiyum akımını bloke ederler. Bepridil, Diltiazem, Verapamil.

2.2.1. ATRİYAL FİBRİLASYONA KALP CERRAHİSİ AÇISINDAN YAKLAŞIM

Tipik atriyal flutter sağ atriyum kaynaklı makro reentran bir taşikardidir. Bir çok elektrofizyolojik çalışma atriyal flutterin çoğunlukla sağ atriyum dokusunda tek bir makro reentran devreden kaynaklandığını göstermektedir. Vena cava inferior (VCI) ve triküspit annülüs arasında yer alan istmus bölgesi, reentri devresi için en önemli yeri teşkil etmektedir. Triküspit kapak annülüsü ile VCI arasındaki bu bölge atriyal fluttera sebep olan yavaş iletinin merkezi olup bu bölgenin ablasyonu tedavide etkili olmaktadır(Chen *et al.*, 1996). Ancak atriyal

flutter nadiren sol atriyumdan kaynaklanabilir ve bu durumda tedavi daha zor, başarı oranları daha düşüktür. Bu nedenle atriyal flutter'ın cerrahi tedavisi planlanıyorsa, AF'un aksine preoperatif haritalama yapılması önerilmektedir.

İzole atriyal flutter nadir bir aritmi olmasına karşılık AF en sık rastlanan aritmilerden birisi olup görülme sıklığı çeşitli risk gruplarına göre %0.4-10 arasında değişmektedir. Yaşlı hastalarda bu oran %17'ye, mitral kapak hastalığı olanlarda ise %80'e varabilmektedir(Feinberg *et al.*, 1995).

AF, çok uzun yıllar iyi huylu bir aritmi olarak algılanmış bu nedenle de tedavi seçenekleri kısıtlı kalmıştır. Ancak çeşitli çalışmalar AF'un inme ihtimalini 6 kat, kardiyovasküler sebeplere bağlı mortaliteyi de iki kat artırdığı göstermiştir(Wolf *et al.*, 1991). Birçok AF hastası emboli dışında hemodinamik dengesizlik, çarpıntı ve baygınlık gibi şikayetlerin yanısıra uygulanan farmakolojik tedaviye bağlı olumsuzluklardan da etkilenmektedir. Bu şekilde, AF'un yaşam kalitesi üzerindeki olumsuz etkilerine maruz kalmaktadır.

AF kalp cerrahisi planlanan olgular için ayrı bir önem taşımaktadır, çünkü mitral kapak cerrahisi için başvuran hastaların %60-80'i kalıcı AF'ludur. Bu oran koroner ve aort kapak hastaları için %5-10 arasındadır(Feinberg *et al.*, 1995;Wolf *et al.*, 1991). Bu olguların pek çoğunda başarılı bir kapak replasmanı veya tamirinden sonra AF devam etmekte, antiaritmik, antikoagulan tedavinin devamı, tromboembolik veya kanamaya bağlı komplikasyonlar nedeniyle yaşam kalitesi önemli ölçüde düşmektedir.

2.2.2. ATRİYAL FİBRİLASYON TEDAVİSİNDE KULLANILAN METODLAR

1. Farmakolojik
2. Non-farmakolojik

Farmakolojik tedavinin amacı; a) sinüs ritmine dönülmesi ve idamesi, bu mümkün olmadığı takdirde ventrikül cevabını yavaşlatarak semptomların

hafifletilmesi, b) antikoagulan tedavi ile tromboemboli riskinin hafifletilmesi olarak özetlenebilir.

Non-farmakolojik tedavi hız kontrolü ve antikoagülasyon amacıyla yaygın olarak kullanılmakla beraber özellikle romatizmal kapak hastalığı ile birlikte görülen kronik AF'da sınırlı kalmaktadır.

Endokardiyal kateter ablasyonu diğer kardiyak aritmilerin özellikle aksesuar iletim yollarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemde prensip klinik aritminin, aritmi devresi ve kaynağının elektrofizyolojik ve anatomik olarak tanımlanması ve bu bölgelerin ablasyonudur. Ancak kateterle uzun lineer lezyonlar yaratılmasındaki zorluklar, pulmoner ven stenozu ve işleme bağlı tromboembolik komplikasyonlar bu işlemin AF tedavisinde kullanımını şimdilik sınırlamıştır(Chen *et al.*, 1996). Gelişmekte olan teknoloji ile kateter ablasyonun ileride özellikle tek başına AF'lu olguların tedavisinde önemli rol oynayacağı beklenebilir.

AF'nun cerrahi tedavisinin başlangıcı 1980'li yıllara dayanmaktadır. AF'a bağlı tromboembolik komplikasyonların çoğunun sol atriyum apendajından kaynaklandığı düşünülerek, AF'lu olup kalp cerrahisi geçiren hastalarda atriyum apendajının rutin olarak kesilip bağlanması önerilmektedir. Bu yöntem romatizmal olmayan kalp kapak hastalıklarında tromboembolik komplikasyonların engellenmesi yönünde olumlu sonuç vermiş, ancak romatizmal kapak hastalarında istenilen sonucu vermemiştir.

His hüzmelerinin ablasyonu ve kalıcı pil implantasyonu ventrikül cevabının kontrol altına alınmadığı hızlı AF'lu olgularda uygulanmıştır. Amaç supraventriküler aritmiyi atriyumda hapsetmek ve ventriküler geçişi engellemektir. Bu yöntemle düzensiz kalp hızına çözüm bulunmakta ancak kalıcı pil ihtiyacı olmaktadır. Ayrıca sistemik tromboemboli riski de devam etmektedir. Bu metodla AF'a bağlı tromboemboli ve atriyal transport problemlerine çözüm getirilememiş, kalıcı pille ilgili problemler olaya eklenmiştir(Feinberg *et al.*, 1995).

Dr. Cox ve arkadaşları tarafından ortaya atılan sol atriyal izolasyon operasyonu AF'un sol atriyum içinde izole edilmesi ve kalbin diğer taraflarının sinüs ritmini sürdürmesi prensibine dayanmaktadır. Sol atriyum izole olmasına ve sol ventrikül ile senkron çalışması ve sol tarafın buna adapte olması nedeniyle kardiyak hemodinamide belirgin iyileşme sağlanmıştır. Ancak sol atriyum fibrile olmaya devam ettiği için bu hastalarda sistemik tromboemboli riski devam etmiştir(Cox et al., 1991;Wolf et al., 1991).

1985 yılında Guiraudon tarafından tarif edilen "Koridor operasyonunda" sinüs düğümü ve AV düğümü içine alan bir koridor yaratılmaktadır(Guiraudon, 1993). SA düğümünden çıkan uyarı başka bir yere sapmadan bu koridordan geçerek AV düğümüne ulaşır ve ventrikülü uyarır. İşlemden sonra düzelen bir ritim ortaya çıkmasına rağmen atriyumlar fibrile olmaya devam ettiği için sistemik tromboemboli riski devam etmektedir. Bu operasyonla ilgili geç takip sonuçlarında belirli hemodinamik düzelme ve düzenli ritmin devam etmesi bildirilmiş, ancak sol atriyum trombüs oluşumu ve tromboembolik olayların tam olarak önüne geçilemediği bildirilmiştir(Cox et al., 1991;Cox, 1991;Feinberg et al., 1995;Wolf et al., 1991).

AF tedavisinde ideal bir cerrahi tedavinin beş probleme çözüm getirmesi beklenmektedir;

1. AF'un durdurulması,
2. Sinüs ritminin temin edilmesi,
3. A-V senkronizasyonunun sağlanması,
4. Atriyal transport fonksiyonunun sağlanması,
5. Yukarıda sayılan dört mekanizma yoluyla her iki atriyumda staza engel olmak ve tromboemboli riskinin ortadan kaldırılması.

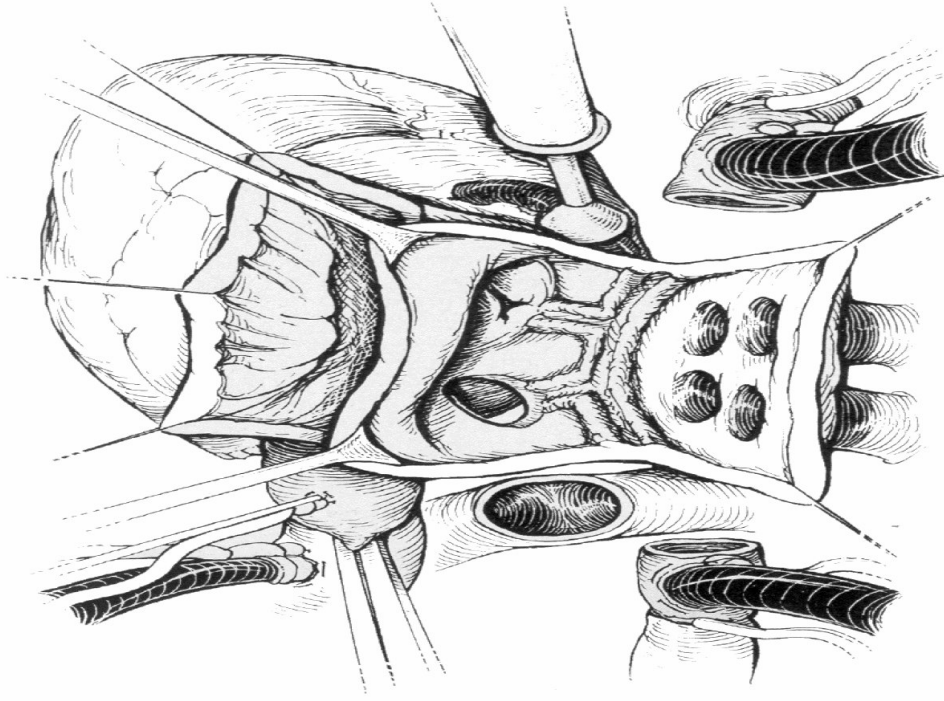
Daha önce adı geçen tekniklerin yetersizliği nedeniyle, Dr. Cox ve arkadaşları AF'un anatomik ve elektrofizyolojik temellerine yönelik çalışmalarının sonunda, 1980 yılında MAZE adı verilen yeni bir cerrahi teknik geliştirdiler(Cox et al., 1991;Cox, 1991).

Cox ve ark.nın yaptığı elektrofizyolojik çalışmaları, AF'un genişlemiş atriyum dokusunda oluşabilen büyük reentran elektriksel devrelerinden kaynaklandığını, öte yandan atriyal otomatisme ve küçük reentran devrelerinin daha az önemli olduğunu ortaya çıkardı. Böylece, bu büyük reentran elektriksel devrelerinin kesilmesi fikri ortaya çıktı. İşlemin amacı şu şekilde özetlenebilir:

1. AF'ü tetiklediği düşünülen belli odakları buldukları yere hapsetmek,
2. Atriyumda elektriksel aktivitenin ilerleyeceği yüzeyi küçülterek büyük reentran devrelerini ve dolayısı ile fibrilasyonu durdurmak.

Bilindiği gibi, sağ atriyumda vena kaval ve triküspid kapak annulusu, sol atriyumda da pulmoner venler ve mitral kapak annulusu elektriksel aktivitenin geçmesini engelleyen doğal engellerdir. Yaratılan yeni insizyonlarla, AF odaklarının hapsedilmesi, oluşabilen büyük reentran devrelerinin bu doğal ve yeni yaratılan "bariyer"lere takılarak sonlanması ve sinüs ritminin devam etmesi sağlanmaktadır. Bir labirent mantığı ile yerleştirildikleri için, bu insizyonlara İngilizce'de labirent anlamına gelen Maze adı verilmiştir.

Bu işlem, yıllar içinde iki modifikasyon geçirerek Maze III operasyonu olarak literatürdeki yerini almıştır(Cox, 1991). Maze III kardiyopulmoner baypas ve kardiyoplejik arrest ile gerçekleştirilen bir operasyon olup, insizyon paterni Şekil-6'da gösterilmektedir. Şekilde görüldüğü gibi, sağ ve sol atriyal kulakçıklar ampute edilmekte ve yine sağ ve sol atriyumda tam kat (transmural) kesiler oluşturulup sonra dikilmektedir. Sağ atriyumda istmus bölgesinde ve triküspid kapak annulus çevresinde ise lezyonlar kriyoablasyon yöntemi ile oluşturulmaktadır. Koroner sinüsün sol atriyal tarafında yaratılan bir kriyolezyonla iletinin koroner sinüs yoluyla sol atriyuma ilerlemesi engellenmektedir.



Şekil-6: Maze III operasyonunun insizyon paterni

Yapılan çeşitli çalışmalar, insan atriyum dokusunda büyük reentran devrelerinin oluşumu için minimum 4 cm aralık olması gerektiğini göstermektedir. İşlem sona erdikten sonra, insizyonlar, kalbin iletken olmayan fibröz iskeleti ve anatomik engeller arasında reentran devrelerinin oluşmasına imkan vermeyecek kadar az mesafe kalmaktadır. Bu şekilde sinüs düğümünden gelen ileti, sağ atriyumda anterior olarak ilerleyip, buradan septuma girerek AV düğümü depolarize eder. Daha sonra, ileti sol atriyumun önce ön kısmından daha sonra da arkasından ilerleyerek PV'lere ulaşır. Koroner sinüsün sol atriyal tarafında yaratılan bir kriyoleyzyon iletinin koroner sinüs yoluyla ilerlemesini engeller.

Maze işlemini sol atriyuma sınırlayan işlemler yine atriyumda insizyonlar yapılarak yeniden dikilmesi prensibine dayandığından yaygın uygulama alanı bulamamıştır. Özellikle Maze operasyonu ile beraber kapak, koroner baypas gibi ek işlemlerin de eklenmesi işlemi daha da karmaşık hale getirmektedir. Bu nedenle Maze ameliyatı sırasında oluşturulan kesileri değişik enerji kaynakları kullanarak oluşturma fikri ortaya atılmıştır. Bu yöntemlerde amaç, orijinal

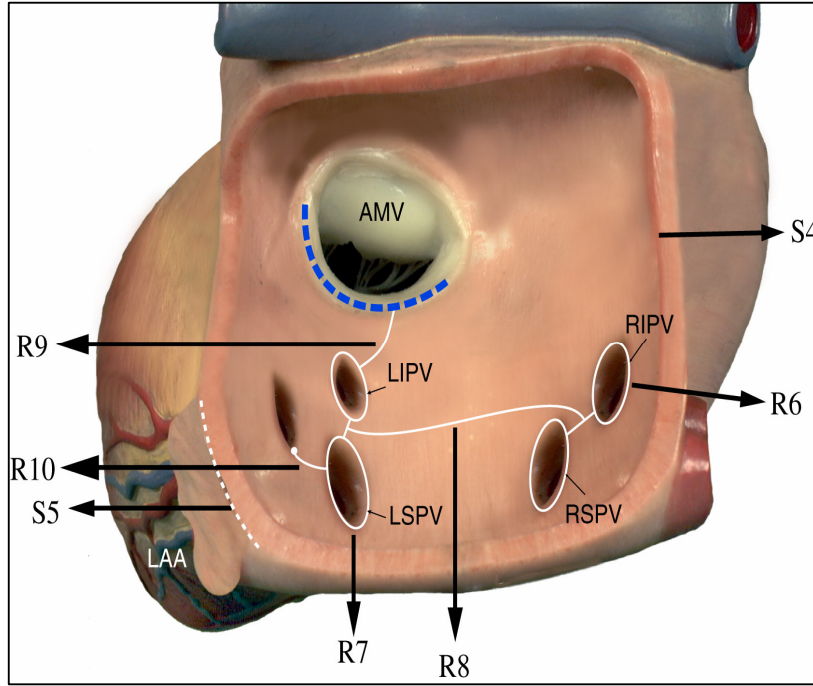
yöntemdeki kes ve dik tekniği yerine değişik enerji kaynakları kullanarak daha kısa sürede aksesuar iletiyi engelleyecek doku hasarı oluşturmaktır. Bu tekniğe cerrahi ablasyon adı verilmiştir. Cerrahi ablasyonda üç amaç hedeflenmektedir.

1. Uygun derinlik ve genişlikte ve tam kat lezyon oluşturmak,
2. Atrial fonksiyonları bozmamak,
3. Çevre dokulara zarar vermemek.

Radyofrekans (RF) enerjisinin perkütan ablasyon tekniklerden sonra aritmi cerrahisinde kullanıma girmesi, AF'un tedavisinde yeni bir sayfa açmıştır. Bu teknikte prensip, RF enerjisinin yol açtığı ısıyı kullanarak, atriyum endokardının belirli bölgelerinde tam kat lezyonlar oluşturmaktır. Bu şekilde, hem AF'u tetikleyen odakların buldukları yerde izolasyonu; hem de dalga şeklinde ilerleyen büyük reentran devrelerin yeni oluşturulan lezyonlara ve doğal anatomik engellere takılarak ilerlemesi engellenmiş olmaktadır.

RF enerjisinin bu amaçla ilk kullanımı, 1988 yılında Dr. Wittkamp tarafından bildirilmiştir. Bunu takip eden yıllarda Dr. Melo ve arkadaşları, RF enerjisi kullanarak sınırlı bir işlem olan basit PV izolasyonu ile bir yıllık %69 oranında sinüs ritmi sağlamışlardır(Melo *et al.*, 1999). Daha sonra, RF enerjisini kullanan ve değişik ablasyon paternleri izleyen gruplar, %70-94 arasında değişen oranlarda sinüs ritmi belirlemişlerdir(Pasic *et al.*, 2001). Wittkamp'tan sonra, yine Hollanda'dan Dr. Sie ve arkadaşları, yıkamalı (irrigasyonlu) bir RF sistemi kullanarak, Modifiye Maze adını verdikleri bir model geliştirdiler. Bu sistemde, orijinal Maze III operasyonu ile elde edilen lezyonların tamamı yıkamalı bir RF sistemi ile oluşturulmaktadır. Bu yöntemle, Dr. Sie ve arkadaşları, bir yıllık %98 sinüs ritmi elde etme başarısı göstermişlerdir(Sie *et al.*, 2001). Kullanılan yıkama sistemi ile, etraf doku hasarı (özofagus, koroner) önlenmekte, soğutma yoluyla indirekt ileti ile daha derin dokulara temas edilerek, transmural lezyon oluşma şansı artmakta ve bazı kuru sistemlerde görülen pıhtı ve kurut olma riski ortadan kalkmaktadır. Bu sistemde, RF enerjisine dayanan diğer sistemlerde olduğu gibi kombine operasyonlar sırasında oluşan ısı enerjisinin, dikiş hatlarına zarar vermemesi için, önce ablasyon işleminin yapılması, kapak veya diğer cerrahi

girişime daha sonra geçilmesi önerilmektedir. Aşağıdaki şekilde sol atriyum için yaygın olarak kullanılan bir endokardiyal ablasyon paterni gösterilmektedir.



Şekil-7: Beyaz çizgiler; RFA hattı, Mavi çizgi; mitral posteriyor kapakçık, AMV; anterior mitral kapakçık, LIPV; Sol inferior pulmoner ven, RIPV; sağ inferior pulmoner ven, LSPV; sol süperior pulmoner ven, RSPV; sağ süperior pulmoner ven, LAA; sol atriyal apendaj.

Teknolojik gelişmeler ve alternatif enerji kaynakları ile gerçekleştirilen cerrahi ablasyon AF'un cerrahi tedavisinin orijinal Maze operasyonunun uygulandığı birkaç merkez ile sınırlı kalmasını engellemiş ve kalp cerrahlarının bu konuya ilgisini yeniden canlandırmıştır. İlk uygulamalar sırasında ortaya çıkan özofagus ve koroner arter hasarı gibi komplikasyonlar yıkamalı ve bipolar sistemlerin yaygınlaşması ve ablasyon çizgilerinin modifiye edilmesi ile çok azalmıştır. Orijinal Maze III operasyonu her iki atriyumda gerçekleştirilen bir işlem olmasına karşın son yıllarda sadece sol atriyumu içeren cerrahi ablasyon işlemleri yaygın olarak uygulanmaya başlamıştır. Gerçekten de son bilgilerimiz sol atriyumla sınırlı, endokardiyal veya epikardiyal bir ablasyon işleminin kombine girişim planlanan pek çok olguda tatmin edici sonuçlar verdiği şeklindedir(Guden *et al.*, 2003).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. HASTA KOHORTU

Çalışmamız Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Kliniği ve Gazi Üniversitesi Patoloji ABD ortak projesi olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma öncesinde Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi lokal etik kurulundan çalışma ile ilgili izin alınmıştır. Çalışma öncesinde tüm araştırmacılar çalışma hakkında bilgilendirilmiştir. Tüm hastalardan örnekleme öncesinde bilgilendirilmiş onam formu alındıktan sonra bu hastalar çalışmaya dahil edilmiştir.

Ocak.2008 ile Mayıs.2008 arasında 30 hasta çalışmaya alınmıştır. Hastalardan kalıcı AF'u olan 11 hasta (ortalama yaş; 57.7 ± 13.1 , 6E/5K) çalışma grubunu oluştururken, AF'u olmayan normal sinüs ritmindeki 19 hasta (ortalama yaş; 64.1 ± 8.4 , 11E/8K) kontrol grubuna alınmıştır ($p= 0.116$). AF grubundaki hastaların ortalama sol atriyum çapı 54.8 ± 3.4 iken kontrol grubundaki sinüs ritimli hastaların ortalama sol atriyum çapı 40.7 ± 4.1 olarak hesaplanmıştır ($p= 0.001$). Hastaların preoperatif demografik verileri Çizelge-2'de özetlenmiştir.

Çizelge-2: Preoperatif ve Demografik Özellikler

Değişkenler	AF Grubu (n=11)	Kontrol Grubu (n=19)	P değeri
Yaş, mean±SD,	57.7 ± 13.2 (36-76)	64.1 ± 8.4 (48-77)	0.116
Cinsiyet, Erkek n (%)	6 (54.5%)	11 (57.9%)	0.579
BSA (m ²)	1.79 ± 0.19 (1.49-2.06)	1.85 ± 0.21 (1.59-2.26)	0.503
Hipertansiyon, n (%)	5 (45.5%)	12 (63.12%)	0.454
Diyabet, n (%)	1 (9.1%)	3 (15.79%)	0.530
Hiperkolestrolemi, n (%)	4 (36.4%)	10 (52.63%)	0.466
Sigara Kullanımı, n (%)	3 (27.3%)	9 (47.36%)	0.442
Periferik Damar Hastalığı, n (%)	1 (9.1%)	2 (10.52%)	0.702
KOAH, n (%)	3 (27.3%)	6 (31.57%)	1.00
NYHA sınıfı, mean ± SD	2.54 ± 0.52	3.24 ± 0.43	0.490
Medikasyon, n (%)			
Aspirin	4 (36.4)	12 (63.15)	0.257
ACE inhibitörü/ARB	8 (72.7)	10 (52.63)	0.442
Diüretik (Loop diuretics or thiazides)	3 (27.3)	4 (21.05)	0.515
Beta-adrenoceptor antagonists	7 (63.6)	14 (73.68)	0.687
Digitalis	2 (18.2)	1 (5.26)	0.537
Warfarin	4 (36.4)	0	0.012
Kalsiyum Kanal Blokeri	3 (27.3)	3 (15.79)	0.641
Amiodoran	2 (18.2)	1 (5.26)	0.537
EuroSCORE* mean ± SD, median (min-max)	7.72 ± 3.22 (5-15)	5.31 ± 4.35 (0-16)	0.127

BSA; Vücut yüzey alanı, KOAH; Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı, TA; Arteriyel Tansiyon, NYHA; New York Heart Association.

Çizelge-3: Preoperatif Hemodinamik Özellikler

Değişkenler	AF Grubu (n=11)	Kontrol Grubu (n=19)	P değeri
Sol Atriyum Çapı (mm), mean ± SD	54.81 ± 3.4	40.8 ± 4.2	0.001
Aralık	(50-60)	(35-48)	
Ortalama TA (mmHg), mean ± SD	79.6 ± 6.4	86.4 ± 11.5	0.084
Aralık	(66.6-86.6)	(70-116.6)	
Sistolik PAP (mmHg), mean ± SD	40.5 ± 7.35	39.7 ± 8.9	0.823
Aralık	(30-55)	(25-60)	
LVEF, (%), mean ± SD	51.1 ± 10.44	52.05 ± 10.06	0.787
Aralık	(40-68)	(30-68)	
SVDSÇ (cm), mean ± SD	51.1 ± 8.44	49.05 ± 8.57	0.533
Aralık	(30-59)	(32-66)	
SVSSÇ (cm), mean ± SD	32.81 ± 7.58	32.63 ± 9.69	0.957
Aralık	(24-49)	(21-51)	
Kalp Hızı (atım/dk), mean ± SD	90.5 ± 16.6	91.6 ± 13.7	0.855
Aralık	(71-130)	(58-112)	

PAP; Pulmoner Arter Basıncı, LVEF; Sol Ventrikül Ejeksiyon Fraksiyonu, SVDSÇ; Sol Ventrikül Diyastol Sonu Çapı, SVSSÇ; Sol Ventrikül Sistol Sonu Çapı.

3.2 Çalışmaya Alınma Kriterleri

1. Kalıcı AF' u olan hastalar,
2. Ciddi mitral kapak patolojileri nedeniyle kalp cerrahisine alınan kalıcı AF' lu veya sinüs ritmindeki hastalar.

3.3 Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

1. Kontrol grubu için daha önceden geçirilmiş paroksizmal AF yada atriyal flutter hikayesi,
2. İkinci yada üçüncü derece kalp bloğu,

3. HBV, HCV enfeksiyonu, geçirilmiş tüberküloz enfeksiyonu,
4. Kronik böbrek yetmezliği,
5. EF %30'un altında olması,
6. Otoimmün hastalık,
7. Vaskulit,
8. Genetik orjinli hastalık,
9. Geçirilmiş yada mevcut malignite hikayesi,
10. Wolff-Parkinson-White sendromu,
11. Tanımlanmış Brugada sendromlu hastalar,
12. Hastanın yazılı onam vermemesi,
13. Dilate kardiyomiyopati,
14. Miyokardit,
15. İnfektif Endokardit.

3.4 OPERASYON DETAYLARI

Operasyona alınacak hastalar, operasyon öncesi premedikasyon amacıyla Midazolam (Dormicum® 5 mg/5 ml ampul, Roche, Türkiye) 2mg i.v, Sefazolin sodyum (Cefamezin® 1000 mg Flakon, Fujisawa-Eczacıbaşı, Türkiye) 1000 i.v uygulanmıştır. Hasta daha sonrasında operasyon odasına alınmıştır. EKG monitorizasyonu sonrasında rutin hemodinamik monitorizasyon amacıyla radial arter kanülasyonu yapılarak devamlı sistemik kan basıncı izlemi sağlanmıştır. Genel anestezi amacıyla 5 mg Midazolam i.v, 20 mg Etomidat i.v (20 mg), 500 mcg Fentanyl i.v (Fentanyl®, Janssen-Cilag, Türkiye), %1-1.5 İsofluran inhaler ve 4 lt/dk O₂ kullanılmıştır. Santral venöz basınç monitorizasyonu (CVP) ve santral venöz yol amacıyla 7F kateter sağ internal jugüler vene takılmıştır. Uygun örtüleme işlemlerinden sonra standart median sternotomi ile perikard boşluğuna ulaşılmıştır. Perikard açılarak kalbe ulaşılmıştır. Kontrol ve çalışma grubundaki hastaların sağ atriumuna 4/0 polypropilen suture ile purse-string suture konulduktan sonra, örnek alınacak dokuyu travmatize etmemek amacıyla minimum manipülasyonla yaklaşık 1.5x1.5 cm boyutundaki sağ atrium dokusu eksize edilmiştir. Daha sonrasında eksize edilen sağ atrium dokusu zaman kaybetmeden immunohistokimyasal inceleme için uygun transport solüsyonuna (%10 formaldehit) aktarılmıştır.

3.5 İN SİTU DNA FRAGMENTASYON ANALİZİ (TUNEL)

TUNEL, DNA kırıklarının in situ olarak tanınmasını sağlayan histokimyasal bir yöntemdir. Parafin bloklara gömülmüş dokularda, donmuş kesitlerde, kültürü yapılmış solüsyon halindeki veya “plate”lere ekilmiş ya da lameller üzerinde büyütülmüş hücrelerde apoptozisin varlığı bu metodla saptanabilir.

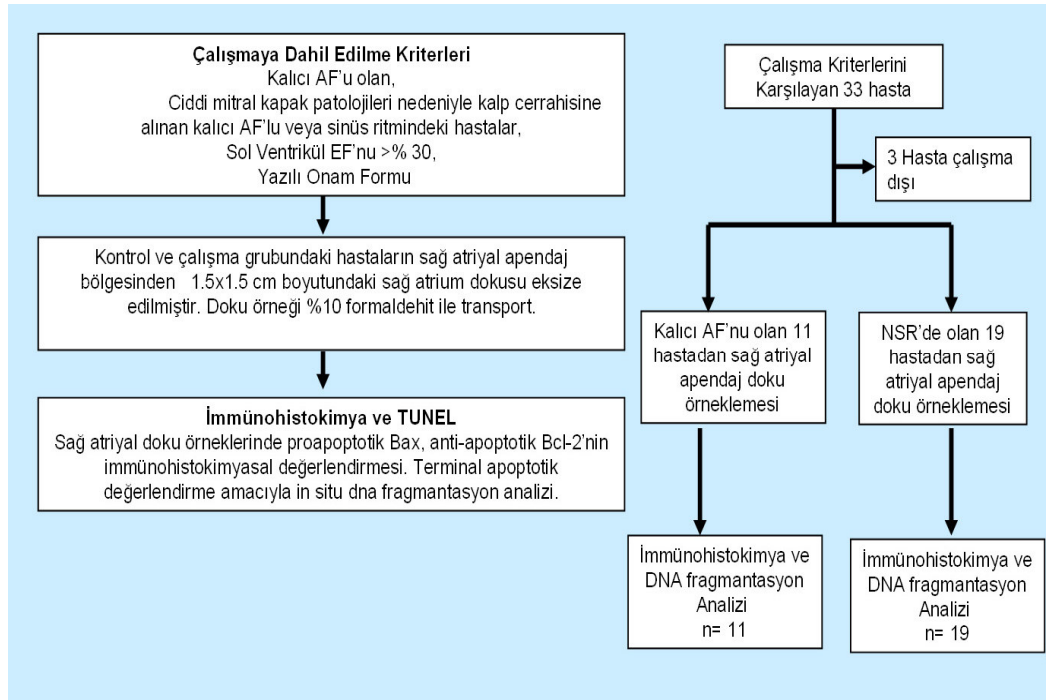
Kardiyak dokularda in situ DNA fragmentasyonu, TdT-(terminal deoksinükleotidil transferaz) aracılı floresan-dUTP işaretleme kiti (TUNEL) yöntemiyle belirlendi. TUNEL, üreticinin talimatlarına göre ApopTag Peroxidase In Situ Apoptosis detection kit (S7110, Chemicon International, Inc., Temecula, CA, USA) kullanılarak daha önceden tarif edildiği şekilde uygulandı. Apoptotik hücrelerin boyanması için peroksidaz substrat 3,3-diaminobenzidin kullanıldı. Nükleer boyama için methyl green (%0,5) kullanıldı. TUNEL-pozitif hücreler ışık mikroskobu (Olympus, BX51, Japan) altında görüntülendi. TUNEL-pozitif hücreler sayıldıktan sonra her kardiyak dokudaki apoptotik hücrelerin oranı, toplam hücre sayısına göre hesaplandı.

3.6 İMMÜNOHİSTOKİMYA

4 mikron kalınlığındaki kesitler 56 °C'lik etüvde deparafinize edildi. Endojen peroksidazı bloke etmek için %3'lük hidrojen peroksitte 10 dk süre ile bekletildi. PBS ile yıkandıktan sonra 0.01M sodyum sitrat buffer (pH 6.0) içinde toplam 20 dk süre ile mikrodalga fırında işlem den geçirildi. İmmünohistokimyasal boyama streptavidin-biyotin peroksidaz metodu kullanılarak yapıldı. Kesitler Bcl-2 (klon bcl2/100/D5, kullanıma hazır, NeoMarkers, USA) ve Bax (klon 2D2, NeoMarkers, USA) ile oda sıcaklığında 2 saat süre ile bekletildi. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak amacıyla 3-amino-9-etilkarbazol (AEC, LabVision, NeoMarkers) ile 10 dakika süre ile inkübe edildi. Kesitler Mayers hematoksilen ile zemin boyaması yapılarak kapatıldı. Ayrıca primer antikorun uygulanmadığı negatif kontrol boyama yapıldı. Pozitif doku kontrolü olarak tonsil kullanıldı. Bcl-2 ve Bax ile %10'dan fazla sitoplazmik boyanma gösteren miyozitler pozitif olarak kabul edildi.

3.7 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Değerlendirmeler SPSS istatistik programı (SPSS version 16.0; SPSS Inc; Chicago, Illinois) kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenler median (interquartile range: IQR) olarak ifade edilip Mann-Whitney-U testi ile karşılaştırıldı. Kategorik değişkenler gruptaki hasta sayısı ve yüzde değeri olarak ifade edildi. Kategorik değişkenlerden hiperlipidemi ve aspirin kullanımı açısından gruplar arasında farklılık olup olmadığı “Pearson ki-kare testi” ile, diğer kategorik değişkenlerin sıklığı arasındaki farklılık ise “Fisher exact test” ile değerlendirildi. P değerinin <0,05 olması anlamlı farkın olduğu şeklinde yorumlandı.



Şekil-8: Çalışmanın akış diyagramı

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

AF grubunda bulunan hastaların altısına mekanik biliflet kapak aracılığıyla mitral kapak replasmanı, triküspid ring anüloplasti ve bu hastaların dördüne irrigasyonlu monopolar kateter aracılığıyla RF ablasyon işlemi yapılmıştır. RF ablasyon uygulanan hastalar preoperatif periyotta başlayan amiodoran (900 mg/24 saat) infüzyonu almışlardır. Bu hastaların tamamı sinüs ritmi ile taburcu edilmişlerdir. Sol ventrikül çıkım yolu gradienti olan (peak gradient 140 mmHg) bir hastaya reoperasyonla mekanik kapak aracılığıyla mitral ve aort kapak replasmanı yapılmıştır. Bu hastada kardiyopulmoner bypasstan ayrılma döneminde gelişen A-V tam blok nedeniyle A-V sequential pacemaker gereksinimi olmuştur. Ameliyat sonrası 10 günlük bekleme periyodu sonrasında A-V tam bloğu düzelmeyen hastaya kalıcı pil implantasyonu yapılmıştır. Yine AF grubundaki 4 hastaya koroner bypass ile eş zamanlı mitral kapak onarım işlemi (ring anüloplasti) uygulanmıştır. AF grubundaki hastaların hiç birinde hastane mortalitesi olmamıştır.

Kontrol grubunda bulunan 13 hastaya izole koroner bypass operasyonu uygulanmıştır. Preoperatif ventriküler fibrilasyon nedeniyle acil operasyona alınan (Off-Pump LAD-LİMA, RCA-Safen ven-Aort) ve sol ventrikül EF'nu %30 olan 1 hasta postoperatif dönemde dirençli ventriküler fibrilasyon (VF) ve ventriküler takikardi (VT) atakları geçirmiştir. Postoperatif 7. günde kontrol amaçlı yapılan koroner anjiyografisinde, bypass greftleri açık olarak izlenmiştir. Aralıklı bronkospazm atakları ve desatüre olması nedeniyle ventilatör gereksinimi olan hastada aspirasyon kültüründe Metisilin Rezistan Staphylococcus Aureus (MRSA) tespit edilmesi üzerine perkütan trakeostomi açılmıştır. İntravenöz Esmolol infüzyonu ile hastanın VT atakları kontrol altına alınmıştır. Kontrol grubundaki üç hastaya mitral kapak onarımı (Quadriangüler rezeksiyon ve mitral ring anüloplasti) ve triküspid ring anüloplasti işlemi uygulanmıştır. Üç hastaya mitral onarım (mitral ring anüloplasti) ve koroner bypass operasyonu uygulanmıştır. Kontrol grubundaki üç hastada postoperatif erken dönemde hızlı ventrikül yanıtı AF gelişmiş ve bu hastalarda senkronize kardiyoversiyonla normal sinüs ritmi sağlanmıştır. Sinüs ritminin idamesi oral amiodaron ile sağlanmıştır. Kontrol grubunda hastane mortalitesi olmamıştır.

Kontrol ve çalışma grubundaki hastaların olası apoptotik sonuçlar üzerinde etkili olan özellikleri Çizelge-5'te verilmiştir.

4.1 BAX PROTEİN İFADESİ

Proapoptotik Bax protein ekspresyonu AF grubunda %16.18 oranında tespit edilirken kontrol grubunda %15.11 oranında tespit edilmiştir ($p= 0.725$). AF grubundaki Bcl-2 ekspresyonu Şekil-10-B'de, kontrol grubundaki Bcl-2 ekspresyonu Şekil-9-B'de gösterilmiştir.

4.2 Bcl-2 PROTEİN İFADESİ

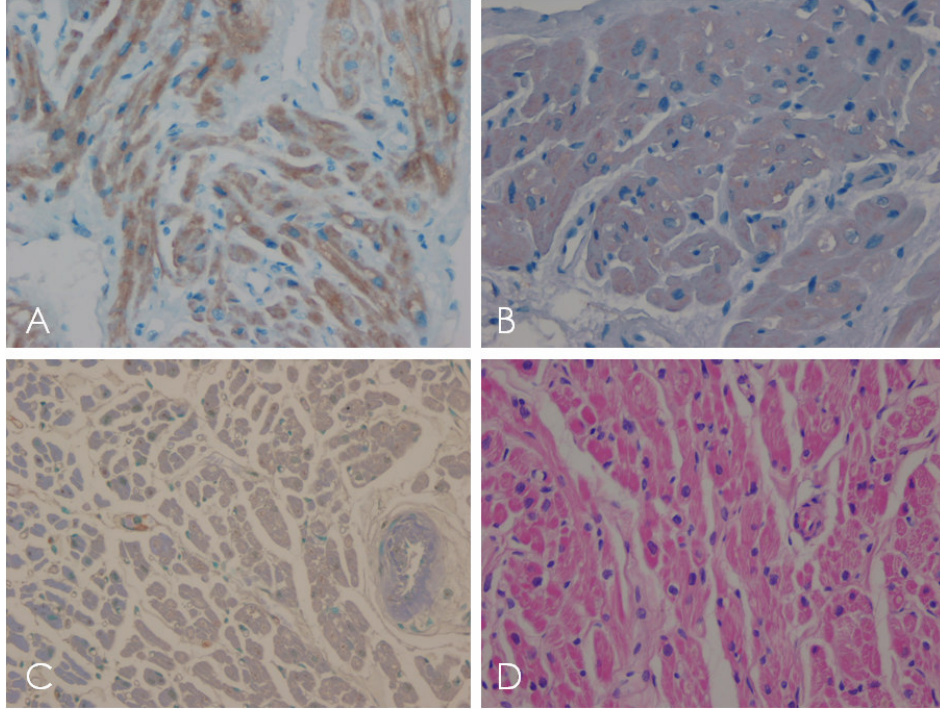
Apoptozis oluşumunu önleyici etkisi olan Bcl-2 protein ifadesinin kontrol grubunda ekspresyon oranı %16.05 iken AF grubunda %14.55 oranında tespit edilmiştir ($p= 0.636$). Bcl-2 ekspresyonu iki grup arasında istatistiki olarak anlamlı olarak tespit edilmemiştir. Bu istatistiki farklılık proapoptotik Bax ekspresyonu ile Bcl-2 ekspresyonu arasındaki matematiksel olmayan denge ile ilişkilendirilmiştir. AF grubundaki Bcl-2 ekspresyonu Şekil-10-A'da, kontrol grubundaki Bcl-2 ekspresyonu Şekil-9-A'da gösterilmiştir.

4.3 İN SİTU DNA FRAGMENTASYON ANALİZİ (TUNEL) BULGULARI

DNA kırıklarının saptanması bir hücrenin apoptozise gittiğinin en önemli biyokimyasal kanıtı olduğundan hem normal hem de AF'lu hastalardan alınan doku kesitlerinde DNA kırıklarının varlığı TUNEL yöntemi ile değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalarda AF'lu hastalardan alınan kesitlerde TUNEL reaksiyonunun pozitifliği %21.86 oranında tespit edilirken kontrol grubunda bu oran %11.82 oranında tespit edilmiştir ($p= 0.002$). AF'lu hastalar belirgin şekilde uniform olarak apoptozisin terminal belirteci olan TUNEL pozitifliği gösterirken kontrol grubundaki hastaların büyük çoğunluğu (11 hasta) TUNEL negatif, geri kalan hastalar düşük yoğunlukta TUNEL pozitifliği paterni sergilemişlerdir. AF'lu hastada TUNEL pozitifliği Şekil-10-C'de izlenirken kontrol grubunda bulunan hastada TUNEL negatifliği Şekil-9-C'de izlenmektedir.

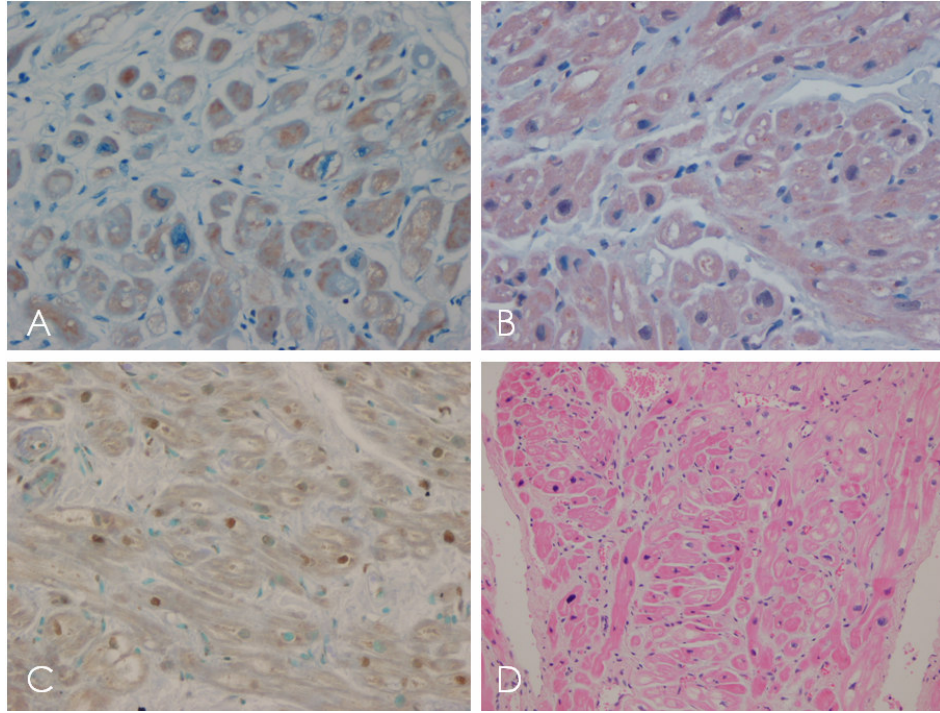
TUNEL pozitifliğinin sadece bazı hücrelerde olması ve hücrelerin çekirdeği ile aynı yerde görülmesi (Şekil-9-C), elde edilen sonucun spesifikliğini göstermektedir. Çalışma ve kontrol grubunda tespit edilen TUNEL oranları Çizelge-4'te ifade edilmiştir.

Şekil-9: Kontrol Grubu



A; Kalp kasında yaygın sitoplazmik Bcl-2 ekspresyonu (AEC, x400), B; Kalp kasında yaygın sitoplazmik Bax ekspresyonu (AEC, x400), C; Miyozitlerde apoptotik nükleer boyanma izlenmemektedir. (TUNEL, x400), D; Kalp kasında nükleer büyüme gösteren miyozitler izleniyor. (HE, x400)

Şekil-10: Atriyal Fibrilasyon Grubu



A; Atriyal fibrilasyonlu bir hastanın kalp kasında yaygın sitoplazmik Bcl-2 ekspresyonu (AEC, x400), B; Kalp kasında yaygın sitoplazmik Bax ekspresyonu (AEC, x400), C; TUNEL metoduyla nukleusları kahverengi boyanan apoptotik kardiyak miyozitler (TUNEL, x400), D; Kalp kasında miyokardiyal yapı bozulmuş olup, bizar nukleuslar içeren ve nükleer büyüme gösteren miyozitler izleniyor. (HE, x400)

Çizelge-4: Hastaların Klinik ve Apoptotik Değerleri

Hasta	Cinsiyet	Yaş	Ritim (Süre, Ay)	Tam	EF (%)	LA Çap (mm)	Bax (%)	Bcl-2 (%)	TUNEL (%)
AF-1	E	41	AF (12)	MS	40	57	0	0	0
AF-2	E	52	AF (60)	MY+TY	50	56	0	0	20
AF-3	K	68	AF (36)	MY+ASKH	50	53	10	80	0
AF-4	E	65	AF (48)	MS+TY	45	52	0	0	5
AF-5	E	60	AF (1)	MS	50	50	70	30	3
AF-6	E	36	AF (24)	MY+AY	65	52	20	10	10
AF-7	K	44	AF (60)	MS	68	60	0	0	5
AF-8	K	71	AF (36)	MY+ASKH	48	57	80	20	20
AF-9	K	67	AF (24)	MS+ASKH	40	60	60	30	5
AF-10	E	76	AF (24)	MY+TY	40	52	0	10	10
AF-11	K	55	AF (16)	MS+TY	65	54	0	0	20
K1	K	77	NSR	MY+ASKH	55	42	40	70	1
K2	K	58	NSR	MY+ASKH	60	46	0	0	0
K3	E	74	NSR	MY+ASKH	65	44	0	0	0
K4	E	73	NSR	ASKH	55	41	20	30	2
K5	E	74	NSR	MY+TY	40	38	0	5	0
K6	E	65	NSR	ASKH	60	40	0	0	0
K7	K	54	NSR	ASKH	55	44	20	10	0
K8	E	58	NSR	ASKH	50	35	0	60	1
K9	K	52	NSR	MY+TY	68	48	0	0	0
K10	E	71	NSR	ASKH	55	37	60	80	0
K11	E	68	NSR	ASKH	40	35	20	80	0
K12	E	64	NSR	ASKH	50	36	10	20	0
K13	E	70	NSR	ASKH	45	43	20	60	1
K14	K	53	NSR	MY+TY	66	47	20	30	0
K15	K	64	NSR	ASKH	40	45	10	20	5

K16	K	69	NSR	ASKH	45	35	0	0	0
K17	E	64	NSR	ASKH	30	41	0	0	2
K18	E	62	NSR	ASKH	55	38	0	0	5
K19	K	48	NSR	ASKH	55	40	0	0	5

EF; Ejeksiyon fraksiyonu, AF; atriyal fibrilasyon, LA; sol atriyum, MS; mitral stenoz, TY; tiküspid yetmezliği, ASKH; aterosklerotik kalp hastalığı, MY; mitral yetmezliği, NSR; normal sinüs ritmi.

Çizelge-5: Çalışma ve Kontrol Grubunun Apoptotik Belirteçler Açısından Karşılaştırılması

APOPTOTİK BELİRTEÇLER	AF Grubu (n=11)	Kontrol Grubu (n=19)	P değeri
Bax (%), Mean ± SD (Aralık)	16.18 ± 31.9 (0-80)	15.11 ± 16.4 (0-60)	0.725
Bcl-2 (%), Mean ± SD (Aralık)	14.55 ± 24.2 (0-80)	16.05 ± 30.0 (0-80)	0.636
TUNEL (%), Mean ± SD (Aralık)	21.86 ± 7.8 (0-20)	11.82 ± 1.8 (0-5)	0.002

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada kalıcı AF'lu hastaların sağ atriyal doku örneklerinde apoptozis araştırmasında kontrol grubuyla yapılan karşılaştırmada, istatistiki olarak anlamlı düzeyde DNA kırıkları TUNEL yöntemi ile gösterilmiştir. Hastaların preoperatif karakteristikleri açısından değerlendirilmesinde iki grup arasında AF ve sol atrium çaplarından (sol atrium çap çalışma grubunda 54.81 ± 3.4 , kontrol grubunda 40.8 ± 4.2 , $p= 0.001$) başka farklılık tanımlanmamıştır.

Evrım sürecinde, apoptozisin inektlerden memelilerin evrimine kadar korunmuş olan genlerle düzenlendiği belirlenmiştir(Alles *et al.*, 1991). Apoptozis, aktif enerji gerektiren bir süreçtir. Apoptozis sırasında çeşitli genlerin kodladığı bazı proteinler hücre içinde aktif veya inaktif hale gelirler(Saikumar *et al.*, 1999). Bugüne kadar saptanmış en az 30 protein ve bir o kadar da apoptoziste olası rolü düşünülen protein vardır. Apoptozis, Bcl-2 ailesi dimerize proteinleri tarafından kontrol edilir. Bcl-2 geni, bir proto-onkogendir. Bazı antiapoptotik (bcl-2, bcl-xl...) ve proapoptotik (bax, bad, bak...) proteinler bu grupta yer almaktadır. Çalışmalarda “Bcl-2/Bax” oranı “death switch” (ölüm anahtarı) olarak değerlendirilmektedir. Bir başka ifadeyle hücrenin ölümle yaşam arasındaki geleceği bu iki protein arasındaki denge sayesinde belirlenmektedir. Bu bağlamda, bu çalışmada kalıcı AF olgularında sağ atriyal doku örneklemesinde apoptozis tanımlaması yapmak amacıyla Bcl-2 ailesi proteinlerden proapoptotik Bax proteini ile, antiapoptotik Bcl-2 protein ifadeleri araştırılmıştır.

İlerleyen bilimsel süreç içerisinde hastalıkların patogenezinin tanımlanmasında moleküler mekanizmalar ve ultrasüruktürel araştırmalar önem kazanmaktadır. AF'un bilinen nedenlerinin dışında moleküler mekanizmalarının da tanımlanması aşamasına gelinmiştir. Bu çalışmada AF ile apoptozis arasındaki ilişki irdelenmiştir. Genel olarak, apoptozisle ilgili çalışmalar hızla artmasına karşın apoptozisi saptamak ve değerlendirmek pek kolay olmamaktadır(Saikumar *et al.*, 1999). Özellikle tek bir hücrede apoptozis olayı saatler içerisinde geliştiğinden apoptotik süreçteki hücreyi morfolojik olarak tanımak ve kantifiye etmek zordur(McCarthy and Evan, 1998). Genellikle çalışmaların güvenilirliğini artırmak amacıyla farklı yöntemlerin birkaçının birlikte kullanılması

önerilmektedir(Alles *et al.*, 1991). Apoptotik hücredeki morfolojik değişiklikleri saptamak için ışık mikroskobu, elektron mikroskobu, “Flow-cytometry” kullanılmaktadır. Yine çeşitli sitoplazmik değişikliklerin saptanması (örneğin kaspaz aktivitesinin, hücreye kalsiyum akışının veya mitokondri disfonksiyonunun ölçülmesi), membran değişikliklerinin belirlenmesi (örneğin membran geçirgenliğinin değişmesi), apoptozis sürecinde veya regülasyonunda görevli çeşitli proteinlerin kanda veya dokuda düzeyinin ölçülmesi (örn:Bcl-2/Bax oranı), DNA parçalanmasının çeşitli özel immünohistokimyasal boyalarla saptanması bu yöntemler arasında sayılabilir. Bütün bu yöntemler içinde en sık rastlanan yöntemler DNA’daki değişikliklere dayalı olan “DNA agarose gel electrophoresis” ve TUNEL boyası ile formalinde fikse edilmiş materyalde yapılan mikroskopik incelemedir(Charriaut-Marlangue and Ben Ari, 1995). TUNEL yöntemi ile hücrenin geldiği son nokta, bir başka ifadeyle apoptozise uğramış hücre tanımlanmaktadır. Aynı hücrede proapoptotik proteinlerle antiapoptotik proteinler eş zamanlı olarak ifade edilebilmektedir. Az görülen bir durum olarak antiapoptotik protein ifadesi daha baskın olmasına rağmen hücre apoptozis sürecine girerek TUNEL ile DNA kırıkları izlenebilmektedir. Bu nedenle bu çalışmada proapoptotik ve antiapoptotik Bcl-2 gen ailesi proteinlerinin ekspresyonunun yanında, apoptozisin terminal tanımlamasını yapan TUNEL yöntemi ile DNA kırıkları da araştırılmıştır. Son dönemde kullanılan önemli ve güvenilir bir başka metod ise Annexin-V boyası uygulamasıdır(van Heerde *et al.*, 2000). Bu boya, hücre duvarının dış yüzeyinde fosfatidil serinin varlığını göstermektedir. Normalde hücrelerin dış yüzeyinde fosfatidil serin yoktur, ve sadece apoptotik cisimciklerde fosfatidil serin hücre yüzeyine geçmektedir(Fadok *et al.*, 1992).

Kalp yetersizliğinde apoptozis en yoğun araştırılan konulardan biridir. Miyokard infarktüsü, iskemi, ventriküler hipertrofi, ventriküler dilatasyon (akut/kronik volüm yükü), akromegaliye sekonder, yine hayvanlarda hızlı ventriküler pacing sonucu ve otoimmünite (miyokardit) sonucu gelişen kalp yetersizlikli olgularda gerek post-mortem gerekse biyopsi çalışmalarında apoptotik hücrelerin varlığı gösterilmiştir(James, 1999). Elimizdeki bulgular şimdilik apoptozisin kalp yetersizliğinde etiyolojik bir neden mi yoksa sonuç mu olduğunu tam aydınlatmamaktadır. Ancak etiyolojisi ne olursa olsun tüm kalp

yetersizliklerinde apoptozis süreci tetiklenmiştir(Sabbah, 2000). Çalışmamızda kalp yetmezliği belirteci olarak kullanılabilcek sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonları (çalışma grubu; 51.1 ± 10.44 , kontrol grubu; 52.05 ± 10.06 , $p=0.787$) açısından farklılık izlenmemiştir. Öte yandan hastaların NYHA fonksiyonel kapasiteleri (çalışma grubu; 2.54 ± 0.52 , kontrol grubu; 3.24 ± 0.43 , $p=0.490$), sol ventrikül diyastol sonu çapları (çalışma grubu; 51.1 ± 8.44 , kontrol grubu; 49.05 ± 8.57 , $p=0.533$) ve sol ventrikül sistol sonu çapları (çalışma grubu; 32.81 ± 7.58 , kontrol grubu; 32.63 ± 9.69 , $p=0.957$) arasında istatistiki farklılık kaydedilmemiştir. Bir başka ifadeyle apoptotik son nokta açısından elde edilen sonuçları etkileme potansiyeli olan kalp yetmezliği faktörü açısından gruplar arasında farklılık kaydedilmemiştir.

Tedavi amaçlı kullanılan ilaçlarla apoptozis arasındaki ilişkiler, kalp yetmezliği ve apoptozis ilişkisi arasındaki etkileşimin araştırıldığı çalışmalar sonucunda elde edilmiştir. Özellikle kalp yetersizliğinde progresif sol ventrikül disfonksiyonunun devam eden kardiyomiyozit kaybına bağlı olduğu hipotezi üzerinde durulmaktadır. Deneysel olarak hipoksi, RAS aktivatörleri (Anjiotensin-II), serbest oksijen radikalleri, hücrede artmış kalsiyum yükü ve norepinefrinin miyozitlerde apoptozisi tetiklediği gösterilmiştir(Sabbah, 2000). Bu bağlamda Anjiotensin-II blokerlerini yada ACE inhibitörü kullanımının apoptozis çalışmalarında gruplar arasında farklı düzeyde kullanımının elde edilecek sonuçlar üzerinde etkili olma potansiyelleri mevcuttur. Bu bakış açısından hareketle, çalışma ve kontrol grubu arasında ACE/ Anjiotensin-II blokeri kullanımı açısından farklılık kaydedilmemiştir (çalışma grubunda 8 hasta, kontrol grubunda 10 hasta, $p=0.442$). Öte yandan Beta blokerlerin de iskemiye takiben reperfüzyon öncesinde uygulandıklarında apoptozisi azalttıkları gösterilmiştir(Haunstetter and Izumo, 2000). Beta-bloker, alfa-1 bloker ve antioksidan etkileri olan karvedilol apoptozisi %77 oranında azaltırken non-selektif beta bloker olan propranololde bu oran %39 olarak saptanmıştır(Haunstetter and Izumo, 2000). Bu bağlamda beta-bloker kullanımının elde edilen sonuçları etkileme potansiyeli mevcuttur. Çalışmamızda hastaların beta-bloker kullanımı açısından da farklılık olmadığı tespit edilmiştir (çalışma grubunda 7 hasta, kontrol grubunda 14 hasta, $p=0.687$).

Hücre fizyolojisi ve patolojisindeki temel rolü son yıllarda ortaya çıkan apoptozisin moleküler düzeyde anlaşılması tedavi yaklaşımlarına yeni boyutlar getirecektir. Apoptozisin uyarımı ve inhibisyonu, belirli kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde ideal bir yöntem gibi görülmektedir. Ancak klinikte apoptozisten yararlanabilmek için selektif dokularda bu sürecin nasıl başlatılabileceği ve nasıl sonlandırılabilceğine yönelik yoğun çalışmalara gereksinim vardır. Çalışmadan elde ettiğimiz sonuçların paralelinde AF patogeneğinde apoptozisin rolü olduğu düşünülebilir. Bu bilginin üzerinde yapılacak ileri çalışmalar ile sonuçları açısından önemli olan kardiyak patolojinin tedavisinde yeni bakış açıları gelişme potansiyeli gündeme gelebilecektir.

5.1 TERAPÖTİK POTANSİYELİ OLAN APOPTOZİS REGÜLATÖRLERİ ve GELECEĞE BAKIŞ

Apoptozis, regüle edilebileceği değişik basamakları olan çok adımlı bir prosestir. Bu durum tam diferansiye olmuş kardiyomyositlerin, geri dönüşümsüz hücre hasarına cevap olarak, miyokardiyuma daha çok zarar veren nekrozisin yerine apoptozisin yürütülmesi veya kurtarılabilir hücrelerin gereksiz ölümünün engellenmesi için önemli bir özelliktir.

5.1.1. Kaspaz inhibitörleri

Apoptozis çok çeşitli sinyallerle başlatılabilir. Ancak apoptotik ölümün son basamaklarında görülen ve apoptozisin mediyatörleri olan yüksek oranda korunmuş bir dizi kaspaz sayesinde, çoğu hücrede sonuç aynıdır. Kaspazları hedefleyen çeşitli regülatör mekanizmalar mevcuttur. Bunlar arasında, birçok hücrede bulunan ve ayrıca kalpte önemli rolleri olabilen inhibitörler olan cFLIP ve IAP ailesi vardır. Yakın zamanda özellikle iskelet kası ve kalpte eksprese olan bir apoptozis inhibitörü karakterize edilmiştir. ARC (apoptosis repressor with caspase recruitment domain), ilk olarak kaspaz-8 ve kaspaz-2 ile interaksiyona girer ve ölüm reseptörlerinin stimülasyonu ile indüklenmiş apoptozisi yavaşlatır(Koseki *et al.*, 1998). Daha yakın zamanda ARC'nin mitokondriden sitokrom-c salınmasını inhibe ettiği ve hipoksiyle indüklenmiş apoptozise karşı

hücreyi koruduğu belirtilmiştir(Ekhterae *et al.*, 1999) ve ARC'nin etkisini apoptotik yolağın farklı aşamalarında gösterdiği ve kalpteki apoptozisin regülasyonunda anahtar yol oynayabileceği önerilmiştir.

Sentetik apoptozis inhibitörlerinin kullanımı başka bir terapötik yoldur. Geniş alanlı kaspaz inhibitörü olan zVAD-fmk, farelerde(Yaoita *et al.*, 1998) ve tavşanlarda(Gottlieb *et al.*, 1996) kardiyomyozit apoptozisinin yavaşlatılması aşamasına katılarak miyokardiyal reperfüzyon hasarını azaltmada etkilidir. Maalesef bu inhibitörün; diğer hücrelerde gözlenen kaspaz inhibisyonunun reaktif oksijen türlerinin üretimini artırarak sekonder toksisiteye neden olması gibi yan etkilerinin varlığı sebebiyle herhangi potansiyel olumlu etkilerinin in vivo görülebilmesi şimdilik uzak bir ihtimaldir(Yaoita *et al.*, 2000).

İskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulmuş fare kalplerinde yapılan bir çalışmada, kardiyomyozit DNA fragmantasyonu ve kaspaz aktivasyonu, infarkt alanında azalmaya neden olmaksızın kaspaz-1 ve kaspaz-3 inhibitörleri tarafından engellenmiştir(Okamura *et al.*, 2000). Bu çalışma, reperfüzyon hasarı sonucunda zVAD-fmk'ya ek olarak kaspaz-8, -9 ve -3 inhibitörlerinin infarkt alanında azalmaya neden olduğunu gösteren çalışmayla çelişmektedir(Mocanu *et al.*, 2000). Bu çalışmalardaki farklı sonuçların sebebi inhibitörlerin verildiği zamanların farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir. İlk çalışmada, inhibitörler iskemiden önce verilmiş, ikincisinde ise reperfüzyonun başlangıcı sırasında verilmiştir. O halde terapötik girişim için optimum zamanın belirlenmesi önemlidir. zVAD-fmk gibi spesifik kaspaz inhibitörlerinin major terapötik değeri olmayabilir, ancak kardiyak hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek daha sofistike inhibitörlerin geliştirilmesi açısından başlangıç noktasını oluşturacaklardır.

5.1.2. Bcl-2 ailesi

Kardiyomyozitlerin Bcl-2 ailesi proteinlerini eksprese ettikleri bilinmekte, ancak kalpteki apoptozise hangisinin karıştığı bilinmemektedir. Kalp hücrelerindeki mitokondri sayısına göre bu proteinlerin ekspresyonunun çok az olduğu bu nedenle bu proteinlerin önemli rolleri olmayabileceği tahmin edilmiştir. Oysa bir çok rapor bunun tersini önerir. Farelerde kronik basınç overloaduna sol

ventrikül adaptasyonu sırasında, Bax ekspresyonunda dramatik bir artışa karşılık Bcl-2 ekspresyonunda dramatik bir düşüş olduğu rapor edilmiştir(Condorelli *et al.*, 1999) ve bu değişiklikler, hücrelerin apoptozis sürecinde olduğunu gösterir. Reaktif oksijen türleriyle indüklenmiş bir apoptozis modelinde, H₂O₂, proapoptotik Bad'ın ekspresyonunu artırmış ve sitokrom-c salınımıyla PARP'ın yıkımı ile sonuçlanan, Bax ve Bad'ın mitokondriye translokasyonunu sağlamıştır(von Harsdorf *et al.*, 1999). İnsanda son dönem kalp yetmezliğinde, apoptozis ile asosiye olan proapoptotik Bak ve Bax ile antiapoptotik Bcl-2 ve Bcl-x₁ artışının olduğu Bcl-2 ailesi proteinlerinin upregülasyonu gözlenmiştir(Latif *et al.*, 2000). Antiapoptotik proteinlere göre Bax ekspresyonu önemli ölçüde yüksektir; bu durum insanda kalp yetmezliğinde, yaşam öncesi ve ölüm öncesi sinyaller arasındaki dengenin apoptozisle sonuçlanmasını tercih ettiğini gösterir.

Kaspaz inhibisyonuyla Bcl-2 sisteminin manipülasyonu, kardiyomiyozit apoptozisini engelleyen yeni tedaviler geliştirebilir. Potansiyel stratejiler, antiapoptotik yolağın upregülasyonu veya proapoptotik yolların inhibisyonu olmalıdır. Apoptozise karışan mekanizmalar tam olarak anlaşılamadığından, kardiyomiyozitlerde bu yolların manipülasyonunu içeren sadece birkaç rapor bulunmaktadır. Farelerde iskemik önkoşullanma (preconditioning) ile azalmış apoptozisin Bcl-2 upregülasyonu ile asosiye olduğu(Maulik *et al.*, 1999a) ve ventriküler miyozitlerde Bcl-2 overekspresyonunun apoptozisi engellediği(Kirshenbaum and De Moissac, 1997) gösterilmiştir ancak klinikte kullanılabilecek bir stratejinin geliştirilebilmesi için daha ileri araştırmaların yapılması gereklidir.

5.1.3. İnsülin-benzeri Büyüme Faktörü-1 (IGF-1)

Apoptozis regülasyonuna insülin-benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) gibi büyüme faktörlerinin karıştığı yakın zamanda belirgin hale gelmiştir. IGF-1, kardiyomiyozitlerde önemli bir büyüme ve yaşam faktörüdür ayrıca iskemi/reperfüzyon ve serum yoksunluğu/doxorubisin ile indüklemiş apoptozisi inhibe ettiği(Buerke *et al.*, 1995;Wang *et al.*, 1998), infarkt sonrası hücre ölümünün aktivasyonunu engellediği, ventriküler dilatasyonu, miyokardiyal yüklenme ve kardiyak hipertrofiyi sınırladığı gösterilmiştir(Li *et al.*, 1997).

Mekanizma tam olarak açıklanmamış olmasına rağmen sinyallemeye fosfatidilinositol-3-kinaz (PI-3-K) ve Akt (protein kinaz B) tarafından karıştırıldığı(Fujio *et al.*, 2000) ve Bax indüksiyonuyla kaspaz-3 aktivasyonunu yavaşlattığı bilinmektedir(Wang *et al.*, 1998). Yakın zamanda yayınlanan bir çalışma, Akt'nin transient iskemiden sonra yaşayan kardiyomyozitlerin fonksiyonunu geliştirerek kendi kardiyoprotektif etkisini gösterdiğini anlatmaktadır(Matsui *et al.*, 2001).

Kardiyak hastalıkların tedavisinde IGF-1'in terapötik bir uygulama olduğunu destekleyen bir çok rapor yayınlanmıştır. Daha önce tartışıldığı gibi, iskemi/reperfüzyon ve serum yoksunluğu gibi çeşitli uyarılarla indüklenen apoptozisi inhibe ettiği gösterilmiştir(Buerke *et al.*, 1995;Wang *et al.*, 1998). Daha yakın zamanda, dilate kardiyomyopati köpek modelinde IGF-1'in kardiyomyozitlerin apoptozisini suprese ettiği belirtilmiştir(Lee *et al.*, 1999). Hipoksik kardiyomyozitlerde in vitro olarak IGF-1, PI-3-K ve Akt sinyal moleküllerinin downstream'ine adenoviral gen transferinin, apoptozisi inhibe ettiği gösterilmiştir(Matsui *et al.*, 1999). Benzer olarak, iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulmuş fare modelinde Akt'nin konstitütif aktif formunun ekspresyonu, apoptozisi ve infarkt alanını büyük oranda azaltmıştır. Hepsi bir araya alındığında, bu sonuçlar, IGF-1 aracılı yaşam yolağının manipülasyonunun terapötik değeri olabileceğini gösterir.

5.1.4. Heat shock proteinler (hsps)

Heat shock proteinler (hsps)'in çok çeşitli stressel uyarılara karşı sentezlendiği ve ekspresyonlarına sonraki hücrel hasara direnç artışı olarak rastlanıldığı tahmin edilmektedir(Samali and Orrenius, 1998). En azından apoptozise interferansından dolayı bir direnç oluşturduğunu gösteren ve bunun gibi hücre ölümünün süpresyonuna hsps'in karıştığını gösteren bir çok örnek vardır(Brar *et al.*, 1999;Samali and Cotter, 1996;Stephanou *et al.*, 1998).

Hsps, kardiyomyozit apoptozisinin önemli regülatörleri olarak bilinirler. Kalpte hsps'in, hsp90, -70, -60, -27, -10 dahil olmak üzere farklı aileleri eksprese olur. Bu proteinlerin kardiyotrophin-1(Stephanou *et al.*, 1998), herbamisin A(Conde *et al.*, 1997), ısı şoku veya etanol(Su *et al.*, 1998) ile

indüksiyonu, iskemi gibi stressörlere karşı kalbi korur. Miyokardiyal hsp's'in en iyi çalışılan iki örneği hsp70 ve hsp27'dir. Bu proteinlerin overekspresyonu, hücreleri apoptozisin indükleyicileri olarak bilinen seramide, serum yoksunluğuna ve ölümcül hipoksiye karşı koruyabilir(Brar *et al.*, 1999). Bu bulgular, kalp bozukluklarıyla asosiyel olarak hsp27 ve hsp70 ekspresyonlarındaki artışı ancak hsp72, hsp60 veya hsp90 ekspresyonlarındaki artmayı açıklamaya yardımcı olabilir(Knowlton *et al.*, 1998).

Hsps apoptozis regülasyonunda anahtar rol oynamalarına rağmen, mekanizmaları çok az aydınlatılmıştır. Son raporlar hsp70 ve hsp27'nin etki mekanizmaları konusuna bakış açısı geliştirmiştir. Hsp70, sitokrom-c salınımının altında ve kaspaz-3 aktivasyonunun üstünde apoptozisi inhibe eder(Li *et al.*, 2000) ve bu olay Apaf-1 ile direkt ilişkisi ve apoptozom oluşumunu engellenmesi aracılığıyla sağlanır(Beere *et al.*, 2000). Hsp27'nin mitokondri aşamasında sitokrom-c salınımını engellediği(Samali *et al.*, 2001) veya sitokrom-c yada prokaspaz-3 ile etkileşerek apoptozom oluşumunu ve kaspaz-3 aktivasyonunu engellediği gösterilmiştir(Bruy et al., 2000; Concannon et al., 2001; Pandey et al., 2000). Başka bir çalışmada hsp60 ve hsp10'un overekspresyonunun, birlikte veya tek başına, kardiyomyozitleri iskemi/reperfüzyon hasarıyla indüklenmiş apoptozisten koruduğu, ve bu korumanın en azından mitokondriyal bütünlüğün ve ATP oluşumunun sağlanması aracılığıyla gerçekleştiği belirtilmiştir(Lin *et al.*, 2001).

Hsp indüksiyonunun kardiyoprotektif etkisinin *in vitro* ve hayvan deneyleriyle kanıtlanması, bu proteinlerin kardiyak hastalıkların tedavisinde potansiyel bir değeri olduğunu gösterir. Klinikte, termal veya diğer hsp-indüklenmiş streslerin uygulanması yarardan çok zarar verebilir; hsp's'in gen terapisi ile dağılması daha uygun bir opsiyondur. Gen terapisi, stres-indüklenmiş hsp-indüksiyonuyla asosiyel metabolik ve yapısal ilaveler olmadan kalp hücrelerinin spesifik hedef olabilmesi gibi bir çok potansiyel fayda getirir. Isı stresine göre, transfeksiyon daha yüksek hsp ekspresyon düzeyleriyle sonuçlanır(Gray *et al.*, 1999). Hsps, *in vitro* ortamda çeşitli vektörler kullanılarak kardiyak hücrelere başarıyla dağıtılmıştır(Brar *et al.*, 1999; Lin *et al.*, 2001) ve bunun sonucunda kardiyoprotektif etki gözlenmiştir. Hayvan modellerinde herpes

simplex virüsü ve adenoviral vektörler kullanılarak genlerin kalbe etkili transferi sağlanmıştır(Coffin *et al.*, 1996;Donahue *et al.*, 1997).

5.1.5. Kalsiyum

Hücrede kalsiyum (Ca^{2+}) sinyallemede önemli bir rol oynar. Apoptozisle asosiye olan intrasellüler Ca^{2+} daki değişimler çok iyi belirtilmiştir ve çeşitli Ca^{2+} -regüle edilen efektörler tanımlanmıştır. Bunlar arasında çeşitli hücre tiplerinde apoptozisi ilerleten Ca^{2+} /kalmodulin ile regüle edilen fosfataz kalsinürin sayılabilir(McConkey and Orrenius, 1997). Bu mekanizmada, sitokrom-c salınımını etkileyen Bad'ın mitokondriye transloke olmadan defosforile olduğu düşünülmektedir(Wang *et al.*, 1999). Benzer olarak, çeşitli hücrelerde, Ca^{2+} bağımlı sistein proteaz kalpainler, Bax'ın yıkılabilmesinde ve proapoptotik aktivitesinin engellenmesinde gereklidir(Wood and Newcomb, 2000). Ayrıca, Ca^{2+} un, apoptozis sırasında sitokrom-c salınımı için önerilen bir mekanizma olan mitokondriyal geçirgenliği sağlayan transisyon porlarını regüle ederek sitokrom-c salınımını direk olarak modüle ettiğine inanılmaktadır(Halestrap, 1999). Ca^{2+} aracılığıyla apoptozis regülasyonu için önerilen bir diğer mekanizma, Ca^{2+} -bağımlı endonükleazların DNA fragmentasyonuna katılmasıdır. Örnek olarak Endoplazmik Retikulum (ER) stresinde, ER'da kalsiyum azalmasına cevap olarak ER'da bulunan DNaz I salınır(Hajnoczky *et al.*, 2000). Ayrıca ER stresi, yeni bir ölüm reseptör/mitokondri-bağımsız hücre ölümü yolağını sağlayan kaspaz-12 aktivasyonuna neden olur(Nakagawa *et al.*, 2000).

Normal fizyolojik kondisyonlar altında, Ca^{2+} un kalpte, kalp kasının kontraksiyonunu yürütmek gibi çeşitli önemli fonksiyonları bulunmaktadır. Aşırı Ca^{2+} inflüksü iskemiyle oluşan hasara bağlı olmasına rağmen, Ca^{2+} un kalp hastalıklarındaki ve hücre ölümündeki rolü pek bilinmemektedir. Diğer hücre tiplerinde olduğu gibi, intrasellüler kalsiyum seviyesindeki değişimler apoptozis yolaklarını tetikleyebilir. İskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulmuş fare kalbinde selektif bir kalpain inhibitörünün verilmesi infarkt alanının ve DNA fragmentasyonun azaltılmasında etkili olmuştur(Iwamoto *et al.*, 1999). Bu kondisyonda Ca^{2+} ile regüle edilen apoptotik yolak önemli olabilir. Kalpain inhibitörü kalpastatin homoloğu olan yüksek molekül ağırlıklı bir kalmodulin

bağlanma proteini (HMWCaMBP)'nin, iskemi/reperfüzyondan sonra ekspresyonu azalmıştır. Bu durum artan kalpain ekspresyonu, Bax ekspresyonu ve apoptozis ile koreledir(Kakkar *et al.*, 2001). HMWCaMBP aktivitesindeki düşüş, daha önceden bilinen iskemi/reperfüzyondan sonra kalpastatin aktivitesindeki düşüşle uyumludur(Sorimachi *et al.*, 1997). Bu inhibitörler, normal miyokardiyumda kalpaini substratlarından ayırmada önemli bir rol oynuyor olabilirler, ama iskemi/reperfüzyon sırasında proteolize olurlar; kalpaini substratlarına etki etmesi için serbest bırakmak apoptozis veya miyokardiyal hasarın diğer türlerine neden olur. Kalpainin bir substratı Bid olabilir. Kalpain, Bid'i aktif fragmanına yıktığında sitokrom-c salınımını mediyate edebilir hale gelir(Chen *et al.*, 2001). Kalpain, Ca^{2+} la tetiklenen apoptotik efektör makineyle diğer bir mekanizmayı sağlayan kaspaz-12 aktivasyonuna bağlıdır(Nakagawa and Yuan, 2000).

Kalsinürin ayrıca kalpteki proapoptotik yollara katılır. Bad'ın defosforilasyonu ve sitokrom-c salınımı ile asosiyeye Ca^{2+} /kalsinürin-bağımlı şekilde, β -adrenerjik reseptörlerin stimülasyonu apoptozisi indükler(Saito *et al.*, 2000). Bu bulguyu yalanlayan diğerlerinin raporuna göre kalsinürin, apoptozis yerine miyokardiyal hipertrofinin mediyatörüdür ve gerçekte apoptozise karşı koruyucu olabilir(De Windt *et al.*, 2000;Taigen *et al.*, 2000). Bu tutarsızlık, uyarıya bağlı olarak kalsinürin yolağının ya pro- ya da antiapoptotik şekilde hareket edebileceği gerçeği ile açıklanır. Bu durum yakın zamanda, kalsinürin aracılığıyla Ca^{2+} iyonofor A23187 ve ER Ca^{2+} -ATPaz inhibitörü tapsiagrin aktifleşmiş karşılaştırmalı pro-yaşamsal ve ölüm yollarının olduğu bir fare lökemik hücre hattında gösterilmiştir(Lotem *et al.*, 1999).

İntrasellüler Ca^{2+} ile miyokardiyal apoptozis arasındaki ilişkiyle ilgili bildiklerimiz sınırlı olmasına rağmen; Ca^{2+} , iskemi/reperfüzyon ve apoptozis arasındaki asosiyasyon, kalpte Ca^{2+} ile apoptozis arasında bir bağlantı olduğunu tahmin etmemizi sağlar. Ca^{2+} modülasyonu potansiyel bir terapötik hedef olabilir. Ca^{2+} 'un hücredeki çok çeşitli rolleri, ilk olarak kalsiyumun apoptozise katılmasının netleştirilmesi gerektiğini zorunlu kılmaktadır ve böylece proapoptotik kalpain veya kalsinürin yolağındaki gibi spesifik moleküller hedeflenebilir. Zaten kalp hastalıklarında kullanılmakta olan bazı tedaviler, etkilerini kalsiyum-bağımlı apoptozisin modülasyonu aracılığıyla gösteriyor

olabilir. Örnek olarak, kalsiyum kanal blokeri olan nifedipin'in Ca^{2+} -aracılı kardiyomyozit apoptozisini azalttığı gösterilmiştir(Rabkin and Kong, 2000). β -adrenajik reseptörleri bloke eden β -blokerler, etkilerinin bir kısmını Ca^{2+} -aracılı apoptozisin modülasyonu aracılığıyla gösteriyor olabilir. Ayrıca kalp dokusunda kaspaz-12'nin çok yüksek oranda eksprese olması(Nakagawa and Yuan, 2000) nedeniyle, kaspaz-12'nin Ca^{2+} -aracılı hücre ölümünde önemli bir rol oynayıp oynamadığının belirlenmesi önemlidir.

5.1.6. Antioksidanlar

Hüresel antioksidanlar, çoğu hasar ve hücre ölümü mekanizmalarının birinde görülürler. Antioksidanlar, hücreden serbest radikalleri uzaklaştırarak etki ederler ve bu sayede iskemi/reperfüzyon hasarı gibi çeşitli kötü durumlarla sonuçlanan oksidatif stresi minime indirirler. Apoptozisin oksidatif stresle modüle olduğu ve antioksidanların bunun engellenmesinin bir kısmına karıştığı gösterilmiştir(Chandra *et al.*, 2000). Glutasyon (GSH), glutasyon peroksidaz (GSHPx), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, vitamin E ve C gibi çeşitli endojen antioksidanlar kardiyomyozitlerde bulunmaktadır(Dhalla *et al.*, 2000). Apoptozisle alakalı olarak, çeşitli hücre tiplerinde GSH geniş ölçüde çalışılmıştır; apoptozis sırasında, artan oksidatif stresle birlikte GSH'nin intrasellüler seviyelerinde bir düşüş olduğu düşünülmektedir. Bu durum, hüresel makromoleküllerde hasara ve daha sonrasında hücre ölümüne neden olmaktadır(Dhalla *et al.*, 2000).

Kalpte, GSHPx iskemi/reperfüzyon-indüklenmiş apoptozisin regülasyonunda rol oynar. GSHPx knockout farelerle yapılan deneyler iskemi/reperfüzyona cevap olarak apoptozisin seviyesinde artış olduğunu gösterirken, GSHPx overeksprese olan farelerde böyle bir hasara karşı direnç olduğu gösterilmiştir(Maulik *et al.*, 1999b). Transjenik farede, manganez-SOD overekspresyonu iskemi/reperfüzyon hasarına karşı korumaktadır ve bu apoptozis modülasyonu ile ilişkili bir etki olarak görülmektedir(Chen *et al.*, 1998).

Antioksidanların apoptozise karşı koruma yeteneklerinin yanında, özellikle iskemi/reperfüzyon hasarında, antioksidanların in vivo kullanımı böyle stres

etkilerini yavaşlatabilmektedir. Yakın zamanda yayınlanan bir çalışma, uzun dönem probucol ve pyrrolidine dithiocarbamate antioksidanları ile tedavinin farelerde miyokardiyal infarktüs sonrasında oksidatif stresi azalttığını; artmış p53, Bax ve kaspaz-3 ekspresyonunu blokladığını ve kaspaz-3'ü inhibe ettiğini göstermiştir(Oskarsson *et al.*, 2000). Adriamycin ile uyarılmış kardiyomiyopati gibi diğer kardiyak hastalık modellerinde, antioksidan tedavi kullanılarak kardiyak disfonksiyonun azaltıldığı gösterilmiştir(Siveski-Iliskovic *et al.*, 1995). Klinik uygulamada, karvedilol gibi antioksidan etkili ajanlarla veya propranolol gibi antioksidan aktiviteyi teşvik edenler ajanlar zaten kalp hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır(Yue *et al.*, 1998). Bu antioksidanların apoptozis modülasyonu ile fonksiyon gösterdiklerinin bilinmesiyle birlikte, daha potansiyel terapötik etkili ajanların geliştirilmesi mümkün olabilecektir.

Apoptozis regülasyonunda terapötik girişim için hedefler bulunmaktadır. Bugünkü bilgiler ve veriler sınırlı olduğundan, apoptotik yolların modülasyonunun terapötik stratejiler için kullanışlı olup olmayacağını belirleyebilmek için çok geniş çaplı araştırmalar gereklidir. Kalpte apoptozisin engellenmesini açıklayan çeşitli önemli sorular cevapsız kalmıştır. Miyokardiyal infarktüs gibi bir hasar, sadece kardiyomiyositlerde değil aynı zamanda koroner endotel hücreler ve intersitisyel makrofajlar gibi nonmiyosit hücrelerde de apoptozise neden olmaktadır. Miyokardiyal hasar sonrasında bu hücrelerin apoptotik eliminasyonunun önemi tam olarak açıklanmamıştır. Hasarlı hücrelerin uzaklaştırılmasıyla dokunun hızlıca iyileştirilmesi açısından önemli olabilir; bu hücrelerde apoptozisin engellenmesi doku hasarını kötüleştirebilir. Kaspaz inhibitörleri gibi terapötik ajanların spesifik olarak kardiyomiyositleri hedeflediğini düşünsek bile, apoptozisin inhibisyonunun, en yüksek düzeyde yararlı olacağı veya nekrozis gibi çok daha yıkıcı bir hücre ölümü şeklinde yer değiştirerek sonuçlanacağı henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır. Bu belirsizliklerin yanında, sözü edilen terapötik hedeflerin bir çoğunun modülasyonunun pozitif etkileri olduğu hem *in vitro* hem *in vivo* olarak gösterilmiştir.

Bu çalışma alanı henüz başlangıç aşamasında olmasına rağmen, böyle terapilerin potansiyel faydalarını tam olarak görebileceğimiz zamandan biraz gerideyiz.

KAYNAKLAR:

Adams, JM, S Cory, 1998, The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival: *Science*, v. 281, p. 1322-1326.

Akar, AR, C Akçali, S Durdu, I T Aydın, F Çivril, R Tasoç, B Kaya, U Ozyurda, 2005, Aortic vascular smooth muscle cell apoptosis in patients with type-A aortic dissection: *Turkish J Vascular Surg.*, v. 14 , p. 25-30.

Akyurek, O, N Akyurek, T Sayin, I Dincer, B Berkalp, G Akyol, M Ozenci, D Oral, 2001, Association between the severity of heart failure and the susceptibility of myocytes to apoptosis in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: *Int.J.Cardiol.*, v. 80, p. 29-36.

Alles, A, K Alley, J C Barrett, R Buttyan, A Columbano, F O Cope, E A Copelan, R C Duke, P B Farel, L E Gershenson, ., 1991, Apoptosis: a general comment: *FASEB J.*, v. 5, p. 2127-2128.

Allessie, MA, 1985, Experimental evaluation of Moe's multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation., *Cardiac Arrhythmias: New York: Grune&Stratton*, p. 265-276.

Allessie, MA, P A Boyden, A J Camm, A G Kleber, M J Lab, M J Legato, M R Rosen, P J Schwartz, P M Spooner, D R Van Wagoner, A L Waldo, 2001, Pathophysiology and prevention of atrial fibrillation: *Circulation*, v. 103, p. 769-777.

Arnar, DO, S Thorvaldsson, T A Manolio, G Thorgeirsson, K Kristjansson, H Hakonarson, K Stefansson, 2006, Familial aggregation of atrial fibrillation in Iceland: *Eur.Heart J.*, v. 27, p. 708-712.

Beere, HM, B B Wolf, K Cain, D D Mosser, A Mahboubi, T Kuwana, P Tailor, R I Morimoto, G M Cohen, D R Green, 2000, Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome: *Nat.Cell Biol.*, v. 2, p. 469-475.

Bennett, MR, J J Boyle, 1998, Apoptosis in cardiovascular disease: *Heart*, v. 79, p. 313.

- Boldin,MP, T M Goncharov, Y V Goltsev, D Wallach, 1996, Involvement of MACH, a novel MORT1/FADD-interacting protease, in Fas/APO-1- and TNF receptor-induced cell death: *Cell*, v. 85, p. 803-815.
- Boya,P, R A Gonzalez-Polo, N Casares, J L Perfettini, P Dessen, N Larochette, D Metivier, D Meley, S Souquere, T Yoshimori, G Pierron, P Codogno, G Kroemer, 2005, Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis: *Mol.Cell Biol.*, v. 25, p. 1025-1040.
- Brar,BK, A Stephanou, M J Wagstaff, R S Coffin, M S Marber, G Engelmann, D S Latchman, 1999, Heat shock proteins delivered with a virus vector can protect cardiac cells against apoptosis as well as against thermal or hypoxic stress: *J.Mol.Cell Cardiol.*, v. 31, p. 135-146.
- Brechenmacher,C, J P Fauchier, T N James, 1980, Persistent fetal dispersion of the atrioventricular node. Association with the Wolff-Parkinson-White syndrome: *Arch.Intern.Med.*, v. 140, p. 377-382.
- Brink,AJ, M Torrington, 1977, Progressive familial heart block--two types: *S.Afr.Med.J.*, v. 52, p. 53-59.
- Bruey,JM, C Ducasse, P Bonniaud, L Ravagnan, S A Susin, C Diaz-Latoud, S Gurbuxani, A P Arrigo, G Kroemer, E Solary, C Garrido, 2000, Hsp27 negatively regulates cell death by interacting with cytochrome c: *Nat.Cell Biol.*, v. 2, p. 645-652.
- Brugada,J, R Brugada, P Brugada, 1998, Right bundle-branch block and ST-segment elevation in leads V1 through V3: a marker for sudden death in patients without demonstrable structural heart disease: *Circulation*, v. 97, p. 457-460.
- Brugada,R, T Tapscott, G Z Czernuszewicz, A J Marian, A Iglesias, L Mont, J Brugada, J Girona, A Domingo, L L Bachinski, R Roberts, 1997, Identification of a genetic locus for familial atrial fibrillation: *N.Engl.J.Med.*, v. 336, p. 905-911.
- Bruick,RK, 2000, Expression of the gene encoding the proapoptotic Nip3 protein is induced by hypoxia: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, v. 97, p. 9082-9087.

- Buerke,M, T Murohara, C Skurk, C Nuss, K Tomaselli, A M Lefer, 1995, Cardioprotective effect of insulin-like growth factor I in myocardial ischemia followed by reperfusion: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, v. 92, p. 8031-8035.
- Cabrera,JA, D Sanchez-Quintana, J Farre, F Navarro, J M Rubio, F Cabestrero, R H Anderson, S Y Ho, 2002, Ultrasonic characterization of the pulmonary venous wall: echographic and histological correlation: *Circulation*, v. 106, p. 968-973.
- Castedo,M, J L Perfettini, T Roumier, K Andreau, R Medema, G Kroemer, 2004, Cell death by mitotic catastrophe: a molecular definition: *Oncogene*, v. 23, p. 2825-2837.
- Chandra,J, A Samali, S Orrenius, 2000, Triggering and modulation of apoptosis by oxidative stress: *Free Radic.Biol.Med.*, v. 29, p. 323-333.
- Charriaut-Marlangue,C, Y Ben Ari, 1995, A cautionary note on the use of the TUNEL stain to determine apoptosis: *Neuroreport*, v. 7, p. 61-64.
- Chen,M, H He, S Zhan, S Krajewski, J C Reed, R A Gottlieb, 2001, Bid is cleaved by calpain to an active fragment in vitro and during myocardial ischemia/reperfusion: *J.Biol.Chem.*, v. 276, p. 30724-30728.
- Chen,PS, C C Chou, A Y Tan, S Zhou, M C Fishbein, C Hwang, H S Karagueuzian, S F Lin, 2006, The mechanisms of atrial fibrillation: *J.Cardiovasc.Electrophysiol.*, v. 17 Suppl 3, p. S2-S7.
- Chen,SA, C E Chiang, T J Wu, C T Tai, S H Lee, C C Cheng, C W Chiou, K C Ueng, Z C Wen, M S Chang, 1996, Radiofrequency catheter ablation of common atrial flutter: comparison of electrophysiologically guided focal ablation technique and linear ablation technique: *J.Am.Coll.Cardiol.*, v. 27, p. 860-868.
- Chen,YH, S J Xu, S Bendahhou, X L Wang, Y Wang, W Y Xu, H W Jin, H Sun, X Y Su, Q N Zhuang, Y Q Yang, Y B Li, Y Liu, H J Xu, X F Li, N Ma, C P Mou, Chen,Z, J Barhanin, W Huang, 2003, KCNQ1 gain-of-function mutation in familial atrial fibrillation: *Science*, v. 299, p. 251-254.

- Chen,Z, B Siu, Y S Ho, R Vincent, C C Chua, R C Hamdy, B H Chua, 1998, Overexpression of MnSOD protects against myocardial ischemia/reperfusion injury in transgenic mice: *J.Mol.Cell Cardiol.*, v. 30, p. 2281-2289.
- Cheng,EH, D G Kirsch, R J Clem, R Ravi, M B Kastan, A Bedi, K Ueno, J M Hardwick, 1997, Conversion of Bcl-2 to a Bax-like death effector by caspases: *Science*, v. 278, p. 1966-1968.
- Clem,RJ, E H Cheng, C L Karp, D G Kirsch, K Ueno, A Takahashi, M B Kastan, D E Griffin, W C Earnshaw, M A Veluona, J M Hardwick, 1998, Modulation of cell death by Bcl-XL through caspase interaction: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 95, p. 554-559.
- Coffin,RS, M K Howard, D V Cumming, C M Dollery, J McEwan, D M Yellon, M S Marber, A R MacLean, S M Brown, D S Latchman, 1996, Gene delivery to the heart in vivo and to cardiac myocytes and vascular smooth muscle cells in vitro using herpes virus vectors: *Gene Ther.*, v. 3, p. 560-566.
- Concannon,CG, S Orrenius, A Samali, 2001, Hsp27 inhibits cytochrome c-mediated caspase activation by sequestering both pro-caspase-3 and cytochrome c: *Gene Expr.*, v. 9, p. 195-201.
- Conde,AG, S S Lau, W H Dillmann, R Mestril, 1997, Induction of heat shock proteins by tyrosine kinase inhibitors in rat cardiomyocytes and myogenic cells confers protection against simulated ischemia: *J.Mol.Cell Cardiol.*, v. 29, p. 1927-1938.
- Condorelli,G, C Morisco, G Stassi, A Notte, F Farina, G Sgaramella, A de Rienzo, R Roncarati, B Trimarco, G Lembo, 1999, Increased cardiomyocyte apoptosis and changes in proapoptotic and antiapoptotic genes bax and bcl-2 during left ventricular adaptations to chronic pressure overload in the rat: *Circulation*, v. 99, p. 3071-3078.
- Cox,JL, 1991, The surgical treatment of atrial fibrillation. IV. Surgical technique: *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.*, v. 101, p. 584-592.

- Cox, JL, R B Schuessler, H J D'Agostino, Jr., C M Stone, B C Chang, M E Cain, P B Corr, J P Boineau, 1991, The surgical treatment of atrial fibrillation. III. Development of a definitive surgical procedure: *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.*, v. 101, p. 569-583.
- Danial, NN, S J Korsmeyer, 2004, Cell death: critical control points: *Cell*, v. 116, p. 205-219.
- Darbar, D, K J Herron, J D Ballew, A Jahangir, B J Gersh, W K Shen, S C Hammill, D L Packer, T M Olson, 2003, Familial atrial fibrillation is a genetically heterogeneous disorder: *J.Am.Coll.Cardiol.*, v. 41, p. 2185-2192.
- De Windt, LJ, H W Lim, T Taigen, D Wencker, G Condorelli, G W Dorn, R N Kitsis, J D Molkentin, 2000, Calcineurin-mediated hypertrophy protects cardiomyocytes from apoptosis in vitro and in vivo: An apoptosis-independent model of dilated heart failure: *Circ.Res.*, v. 86, p. 255-263.
- Dhalla, NS, A B Elmoselhi, T Hata, N Makino, 2000, Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury: *Cardiovasc.Res.*, v. 47, p. 446-456.
- Diker, E, S Aydogdu, M Ozdemir, T Kural, K Polat, S Cehreli, A Erdogan, S Goksel, 1996, Prevalence and predictors of atrial fibrillation in rheumatic valvular heart disease: *Am.J.Cardiol.*, v. 77, p. 96-98.
- Dilaveris, PE, E J Gialafos, S K Sideris, A M Theopistou, G K Andrikopoulos, M Kyriakidis, J E Gialafos, P K Toutouzas, 1998, Simple electrocardiographic markers for the prediction of paroxysmal idiopathic atrial fibrillation: *Am.Heart J.*, v. 135, p. 733-738.
- Donahue, JK, K Kikkawa, D C Johns, E Marban, J H Lawrence, 1997, Ultrarapid, highly efficient viral gene transfer to the heart: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 94, p. 4664-4668.
- Doty, DB, 2004, Surgical treatment of atrial fibrillation: *Heart Lung Circ.*, v. 13, p. 280-287.
- Ekhterae, D, Z Lin, M S Lundberg, M T Crow, F C Brosius, III, G Nunez, 1999, ARC inhibits cytochrome c release from mitochondria and protects against hypoxia-induced apoptosis in heart-derived H9c2 cells: *Circ.Res.*, v. 85, p. e70-e77.

- Ellinor,PT, J T Shin, R K Moore, D M Yoerger, C A MacRae, 2003, Locus for atrial fibrillation maps to chromosome 6q14-16: *Circulation*, v. 107, p. 2880-2883.
- Ellinor,PT, D M Yoerger, J N Ruskin, C A MacRae, 2005, Familial aggregation in lone atrial fibrillation: *Hum.Genet.*, v. 118, p. 179-184.
- Epstein,LM, M A Mitchell, T W Smith, D E Haines, 1998, Comparative study of fluoroscopy and intracardiac echocardiographic guidance for the creation of linear atrial lesions: *Circulation*, v. 98, p. 1796-1801.
- Fadok,VA, J S Savill, C Haslett, D L Bratton, D E Doherty, P A Campbell, P M Henson, 1992, Different populations of macrophages use either the vitronectin receptor or the phosphatidylserine receptor to recognize and remove apoptotic cells: *J.Immunol.*, v. 149, p. 4029-4035.
- Feinberg,WM, J L Blackshear, A Laupacis, R Kronmal, R G Hart, 1995, Prevalence, age distribution, and gender of patients with atrial fibrillation. Analysis and implications: *Arch.Intern.Med.*, v. 155, p. 469-473.
- Fishermann, K, P Schleisner, 1950, [Quinidine sulphate therapy of chronic auricular fibrillation in patients over fifty.]: *Nord.Med.*, v. 43, p. 705-706.
- Fisher,SA, B L Langille, D Srivastava, 2000, Apoptosis during cardiovascular development: *Circ.Res.*, v. 87, p. 856-864.
- Flegel,KM, 1995, From delirium cordis to atrial fibrillation: historical development of a disease concept: *Ann.Intern.Med.*, v. 122, p. 867-873.
- Flegel,KM, J Hanley, 1989, Risk factors for stroke and other embolic events in patients with nonrheumatic atrial fibrillation: *Stroke*, v. 20, p. 1000-1004.
- Fox,CS, H Parise, R B D'Agostino, Sr., D M Lloyd-Jones, R S Vasan, T J Wang, D Levy, P A Wolf, E J Benjamin, 2004, Parental atrial fibrillation as a risk factor for atrial fibrillation in offspring: *JAMA*, v. 291, p. 2851-2855.

- Frustaci,A, C Chimenti, F Bellocci, E Morgante, M A Russo, A Maseri, 1997, Histological substrate of atrial biopsies in patients with lone atrial fibrillation: *Circulation*, v. 96, p. 1180-1184.
- Fujio,Y, T Nguyen, D Wencker, R N Kitsis, K Walsh, 2000, Akt promotes survival of cardiomyocytes in vitro and protects against ischemia-reperfusion injury in mouse heart: *Circulation*, v. 101, p. 660-667.
- Gallagher,MM, A J Camm, 1997, Classification of atrial fibrillation: *Pacing Clin.Electrophysiol.*, v. 20, p. 1603-1605.
- Galluzzi,L, M C Maiuri, I Vitale, H Zischka, M Castedo, L Zitvogel, G Kroemer, 2007, Cell death modalities: classification and pathophysiological implications: *Cell Death.Differ.*, v. 14, p. 1237-1243.
- Gollob,MH, D L Jones, A D Krahn, L Danis, X Q Gong, Q Shao, X Liu, J P Veinot, A S Tang, A F Stewart, F Tesson, G J Klein, R Yee, A C Skanes, G M Guiraudon, L Ebihara, D Bai, 2006, Somatic mutations in the connexin 40 gene (GJA5) in atrial fibrillation: *N.Engl.J.Med.*, v. 354, p. 2677-2688.
- Gollob,MH, J J Seger, T N Gollob, T Tapscott, O Gonzales, L Bachinski, R Roberts, 2001, Novel PRKAG2 mutation responsible for the genetic syndrome of ventricular preexcitation and conduction system disease with childhood onset and absence of cardiac hypertrophy: *Circulation*, v. 104, p. 3030-3033.
- Gottlieb,RA, D L Gruol, J Y Zhu, R L Engler, 1996, Preconditioning rabbit cardiomyocytes: role of pH, vacuolar proton ATPase, and apoptosis: *J.Clin.Invest*, v. 97, p. 2391-2398.
- Gray,CC, M Amrani, M H Yacoub, 1999, Heat stress proteins and myocardial protection: experimental model or potential clinical tool?: *Int.J.Biochem.Cell Biol.*, v. 31, p. 559-573.
- Gruver,EJ, D Fatkin, G A Dodds, J Kisslo, B J Maron, J G Seidman, C E Seidman, 1999, Familial hypertrophic cardiomyopathy and atrial fibrillation caused by Arg663His beta-cardiac myosin heavy chain mutation: *Am.J.Cardiol.*, v. 83, p. 13H-18H.

- Guden,M, B Akpınar, B Caynak, C Turkoglu, Z Ozyedek, I Sanisoglu, E Sagbas, S Aytekin, S D Oztekin, 2003, Left versus bi-atrial intraoperative saline-irrigated radiofrequency modified maze procedure for atrial fibrillation: *Card Electrophysiol.Rev.*, v. 7, p. 252-258.
- Guerra,PG, B Thibault, M Dubuc, M Talajic, D Roy, J Crepeau, S Nattel, J C Tardif, 2003a, Identification of atrial tissue in pulmonary veins using intravascular ultrasound: *J.Am.Soc.Echocardiogr.*, v. 16, p. 982-987.
- Guerra,PG, B Thibault, M Dubuc, M Talajic, D Roy, J Crepeau, S Nattel, J C Tardif, 2003b, Identification of atrial tissue in pulmonary veins using intravascular ultrasound: *J.Am.Soc.Echocardiogr.*, v. 16, p. 982-987.
- Guiraudon,GM, 1993, Surgical treatment of atrial fibrillation: *Herz*, v. 18, p. 51-59.
- Haissaguerre,M, M Hocini, P Sanders, Y Takahashi, M Rotter, F Sacher, T Rostock, L F Hsu, A Jonsson, M D O'Neill, P Bordachar, S Reuter, R Roudaut, J Clementy, P Jais, 2006, Localized sources maintaining atrial fibrillation organized by prior ablation: *Circulation*, v. 113, p. 616-625.
- Haissaguerre,M, P Jais, D C Shah, A Takahashi, M Hocini, G Quiniou, S Garrigue, A Le Mouroux, P Le Metayer, J Clementy, 1998, Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins: *N.Engl.J.Med.*, v. 339, p. 659-666.
- Hajnoczky,G, G Csordas, M Madesh, P Pacher, 2000, Control of apoptosis by IP(3) and ryanodine receptor driven calcium signals: *Cell Calcium*, v. 28, p. 349-363.
- Halestrap,AP, 1999, The mitochondrial permeability transition: its molecular mechanism and role in reperfusion injury: *Biochem.Soc.Symp.*, v. 66, p. 181-203.
- Harlin,H, S B Reffey, C S Duckett, T Lindsten, C B Thompson, 2001, Characterization of XIAP-deficient mice: *Mol.Cell Biol.*, v. 21, p. 3604-3608.
- Haunstetter,A, S Izumo, 2000, Future perspectives and potential implications of cardiac myocyte apoptosis: *Cardiovasc.Res.*, v. 45, p. 795-801.

- Holm,M, S Pehrson, M Ingemansson, L Sornmo, R Johansson, L Sandhall, M Sunemark, B Smideberg, C Olsson, S B Olsson, 1998, Non-invasive assessment of the atrial cycle length during atrial fibrillation in man: introducing, validating and illustrating a new ECG method: *Cardiovasc.Res.*, v. 38, p. 69-81.
- Huang,DC, A Strasser, 2000, BH3-Only proteins-essential initiators of apoptotic cell death: *Cell*, v. 103, p. 839-842.
- Iwamoto,H, T Miura, T Okamura, K Shirakawa, M Iwatate, S Kawamura, H Tatsuno, Y Ikeda, M Matsuzaki, 1999, Calpain inhibitor-1 reduces infarct size and DNA fragmentation of myocardium in ischemic/reperfused rat heart: *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, v. 33, p. 580-586.
- James,TN, 1999, Apoptosis in cardiac disease: *Am.J.Med.*, v. 107, p. 606-620.
- James,TN, M M Nichols, D W Sapire, P L DiPatre, S M Lopez, 1996a, Complete heart block and fatal right ventricular failure in an infant: *Circulation*, v. 93, p. 1588-1600.
- James,TN, E St Martin, P W Willis, III, T O Lohr, 1996b, Apoptosis as a possible cause of gradual development of complete heart block and fatal arrhythmias associated with absence of the AV node, sinus node, and internodal pathways: *Circulation*, v. 93, p. 1424-1438.
- James,TN, F Terasaki, E R Pavlovich, A M Vihert, 1993, Apoptosis and pleomorphic micromitochondriosis in the sinus nodes surgically excised from five patients with the long QT syndrome: *J.Lab Clin.Med.*, v. 122, p. 309-323.
- Kakkar,R, X Wang, J M Radhi, R V Rajala, R Wang, R K Sharma, 2001, Decreased expression of high-molecular-weight calmodulin-binding protein and its correlation with apoptosis in ischemia-reperfused rat heart: *Cell Calcium*, v. 29, p. 59-71.
- Kannel,WB, P A Wolf, E J Benjamin, D Levy, 1998, Prevalence, incidence, prognosis, and predisposing conditions for atrial fibrillation: population-based estimates: *Am.J.Cardiol.*, v. 82, p. 2N-9N.

- Kerr, JF, A H Wyllie, A R Currie, 1972, Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics: *Br.J.Cancer*, v. 26, p. 239-257.
- Khasnis, A, R K Thakur, 2008, Atrial fibrillation: a historical perspective: *Med.Clin.North Am.*, v. 92, p. 1-15, ix.
- Kim, DT, A C Lai, C Hwang, L T Fan, H S Karagueuzian, P S Chen, M C Fishbein, 2000, The ligament of Marshall: a structural analysis in human hearts with implications for atrial arrhythmias: *J.Am.Coll.Cardiol.*, v. 36, p. 1324-1327.
- Kirshenbaum, LA, D De Moissac, 1997, The bcl-2 gene product prevents programmed cell death of ventricular myocytes: *Circulation*, v. 96, p. 1580-1585.
- Knowlton, AA, S Kapadia, G Torre-Amione, J B Durand, R Bies, J Young, D L Mann, 1998, Differential expression of heat shock proteins in normal and failing human hearts: *J.Mol.Cell Cardiol.*, v. 30, p. 811-818.
- Konings, KT, C J Kirchhof, J R Smeets, H J Wellens, O C Penn, M A Allessie, 1994, High-density mapping of electrically induced atrial fibrillation in humans: *Circulation*, v. 89, p. 1665-1680.
- Koseki, T, N Inohara, S Chen, G Nunez, 1998, ARC, an inhibitor of apoptosis expressed in skeletal muscle and heart that interacts selectively with caspases: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 95, p. 5156-5160.
- Kroemer, G, W S El Deiry, P Golstein, M E Peter, D Vaux, P Vandenabeele, B Zhivotovsky, M V Blagosklonny, W Malorni, R A Knight, M Piacentini, S Nagata, G Melino, 2005, Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death: *Cell Death.Differ.*, v. 12 Suppl 2, p. 1463-1467.
- Krueger, A, S C Fas, S Baumann, P H Krammer, 2003, The role of CD95 in the regulation of peripheral T-cell apoptosis: *Immunol.Rev.*, v. 193, p. 58-69.
- Kubasiak, LA, O M Hernandez, N H Bishopric, K A Webster, 2002, Hypoxia and acidosis activate cardiac myocyte death through the Bcl-2 family protein BNIP3: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 99, p. 12825-12830.

- Large,SR, A R Hosseinpour, 2000, Predictive factors for persistence of atrial fibrillation after mitral valve operation: *Ann.Thorac.Surg.*, v. 69, p. 1647-1648.
- Latif,N, M A Khan, E Birks, A O'Farrell, J Westbrook, M J Dunn, M H Yacoub, 2000, Upregulation of the Bcl-2 family of proteins in end stage heart failure: *J.Am.Coll.Cardiol.*, v. 35, p. 1769-1777.
- Lee,WL, J W Chen, C T Ting, T Ishiwata, S J Lin, M Korc, P H Wang, 1999, Insulin-like growth factor I improves cardiovascular function and suppresses apoptosis of cardiomyocytes in dilated cardiomyopathy: *Endocrinology*, v. 140, p. 4831-4840.
- Li,CY, J S Lee, Y G Ko, J I Kim, J S Seo, 2000, Heat shock protein 70 inhibits apoptosis downstream of cytochrome c release and upstream of caspase-3 activation: *J.Biol.Chem.*, v. 275, p. 25665-25671.
- Li,H, H Zhu, C J Xu, J Yuan, 1998, Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis: *Cell*, v. 94, p. 491-501.
- Li,J, L Wang, 2006, Catheter ablation of atrial fibrillation originating from superior vena cava: *Arch.Med.Res.*, v. 37, p. 415-418.
- Li,Q, B Li, X Wang, A Leri, K P Jana, Y Liu, J Kajstura, R Baserga, P Anversa, 1997, Overexpression of insulin-like growth factor-1 in mice protects from myocyte death after infarction, attenuating ventricular dilation, wall stress, and cardiac hypertrophy: *J.Clin.Invest*, v. 100, p. 1991-1999.
- Lin,KM, B Lin, I Y Lian, R Mestrl, I E Scheffler, W H Dillmann, 2001, Combined and individual mitochondrial HSP60 and HSP10 expression in cardiac myocytes protects mitochondrial function and prevents apoptotic cell deaths induced by simulated ischemia-reoxygenation: *Circulation*, v. 103, p. 1787-1792.
- Lip,GY, D G Beevers, 1995, ABC of atrial fibrillation. History, epidemiology, and importance of atrial fibrillation: *BMJ*, v. 311, p. 1361-1363.
- Lotem,J, R Kama, L Sachs, 1999, Suppression or induction of apoptosis by opposing pathways downstream from calcium-activated calcineurin: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, v. 96, p. 12016-12020.

- Lum,JJ, D E Bauer, M Kong, M H Harris, C Li, T Lindsten, C B Thompson, 2005, Growth factor regulation of autophagy and cell survival in the absence of apoptosis: *Cell*, v. 120, p. 237-248.
- Luo,X, I Budihardjo, H Zou, C Slaughter, X Wang, 1998, Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors: *Cell*, v. 94, p. 481-490.
- Mallat,Z, A Tedgui, F Fontaliran, R Frank, M Durigon, G Fontaine, 1996, Evidence of apoptosis in arrhythmogenic right ventricular dysplasia: *N.Engl.J.Med.*, v. 335, p. 1190-1196.
- Mandic,A, K Viktorsson, L Strandberg, T Heiden, J Hansson, S Linder, M C Shoshan, 2002, Calpain-mediated Bid cleavage and calpain-independent Bak modulation: two separate pathways in cisplatin-induced apoptosis: *Mol.Cell Biol.*, v. 22, p. 3003-3013.
- Matsui,T, L Li, M del, Y Fukui, T F Franke, R J Hajjar, A Rosenzweig, 1999, Adenoviral gene transfer of activated phosphatidylinositol 3'-kinase and Akt inhibits apoptosis of hypoxic cardiomyocytes in vitro: *Circulation*, v. 100, p. 2373-2379.
- Matsui,T, J Tao, F del Monte, K H Lee, L Li, M Picard, T L Force, T F Franke, R J Hajjar, A Rosenzweig, 2001, Akt activation preserves cardiac function and prevents injury after transient cardiac ischemia in vivo: *Circulation*, v. 104, p. 330-335.
- Maulik,N, R M Engelman, J A Rousou, J E Flack, III, D Deaton, D K Das, 1999a, Ischemic preconditioning reduces apoptosis by upregulating anti-death gene Bcl-2: *Circulation*, v. 100, p. II369-II375.
- Maulik,N, T Yoshida, D K Das, 1999b, Regulation of cardiomyocyte apoptosis in ischemic reperfused mouse heart by glutathione peroxidase: *Mol.Cell Biochem.*, v. 196, p. 13-21.
- McCarthy,NJ, G I Evan, 1998, Methods for detecting and quantifying apoptosis: *Curr.Top.Dev.Biol.*, v. 36, p. 259-278.

- McConkey,DJ, S Orrenius, 1997, The role of calcium in the regulation of apoptosis: *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, v. 239, p. 357-366.
- Melo,J, P Adragao, J Neves, M M Ferreira, M M Pinto, M J Rebocho, L Parreira, T Ramos, 1999, Surgery for atrial fibrillation using radiofrequency catheter ablation: assessment of results at one year: *Eur.J.Cardiothorac.Surg.*, v. 15, p. 851-854.
- Metzstein,MM, G M Stanfield, H R Horvitz, 1998, Genetics of programmed cell death in *C. elegans*: past, present and future: *Trends Genet.*, v. 14, p. 410-416.
- Mocanu,MM, G F Baxter, D M Yellon, 2000, Caspase inhibition and limitation of myocardial infarct size: protection against lethal reperfusion injury: *Br.J.Pharmacol.*, v. 130, p. 197-200.
- Moe,GK, J A Abildskov, 1959, Atrial fibrillation as a self-sustaining arrhythmia independent of focal discharge: *Am.Heart J.*, v. 58, p. 59-70.
- Motoyama,N, F Wang, K A Roth, H Sawa, K Nakayama, K Nakayama, I Negishi, S Senju, Q Zhang, S Fujii, ., 1995, Massive cell death of immature hematopoietic cells and neurons in Bcl-x-deficient mice: *Science*, v. 267, p. 1506-1510.
- Muzio,M, A M Chinnaiyan, F C Kischkel, K O'Rourke, A Shevchenko, J Ni, C Scaffidi, J D Bretz, M Zhang, R Gentz, M Mann, P H Krammer, M E Peter, V M Dixit, 1996, FLICE, a novel FADD-homologous ICE/CED-3-like protease, is recruited to the CD95 (Fas/APO-1) death--inducing signaling complex: *Cell*, v. 85, p. 817-827.
- Nakagawa,T, J Yuan, 2000, Cross-talk between two cysteine protease families. Activation of caspase-12 by calpain in apoptosis: *J.Cell Biol.*, v. 150, p. 887-894.
- Nakagawa,T, H Zhu, N Morishima, E Li, J Xu, B A Yankner, J Yuan, 2000, Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta: *Nature*, v. 403, p. 98-103.
- Nakano,K, K H Vousden, 2001, PUMA, a novel proapoptotic gene, is induced by p53: *Mol.Cell*, v. 7, p. 683-694.

- Nakayama,K, K Nakayama, I Negishi, K Kuida, Y Shinkai, M C Louie, L E Fields, P J Lucas, V Stewart, F W Alt, ., 1993, Disappearance of the lymphoid system in Bcl-2 homozygous mutant chimeric mice: *Science*, v. 261, p. 1584-1588.
- Narula,J, N Haider, R Virmani, T G DiSalvo, F D Kolodgie, R J Hajjar, U Schmidt, M J Semigran, G W Dec, B A Khaw, 1996, Apoptosis in myocytes in end-stage heart failure: *N.Engl.J.Med.*, v. 335, p. 1182-1189.
- Nathan,H, M Eliakim, 1966, The junction between the left atrium and the pulmonary veins. An anatomic study of human hearts: *Circulation*, v. 34, p. 412-422.
- Newmeyer,DD, S Ferguson-Miller, 2003, Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death: *Cell*, v. 112, p. 481-490.
- Oda,E, R Ohki, H Murasawa, J Nemoto, T Shibue, T Yamashita, T Tokino, T Taniguchi, N Tanaka, 2000, Noxa, a BH3-only member of the Bcl-2 family and candidate mediator of p53-induced apoptosis: *Science*, v. 288, p. 1053-1058.
- Okamura,T, T Miura, G Takemura, H Fujiwara, H Iwamoto, S Kawamura, M Kimura, Y Ikeda, M Iwatate, M Matsuzaki, 2000, Effect of caspase inhibitors on myocardial infarct size and myocyte DNA fragmentation in the ischemia-reperfused rat heart: *Cardiovasc.Res.*, v. 45, p. 642-650.
- Olivetti,G, R Abbi, F Quaini, J Kajstura, W Cheng, J A Nitahara, E Quaini, C Di Loreto, C A Beltrami, S Krajewski, J C Reed, P Anversa, 1997, Apoptosis in the failing human heart: *N.Engl.J.Med.*, v. 336, p. 1131-1141.
- Olson,TM, A E Alekseev, X K Liu, S Park, L V Zingman, M Bienengraeber, S Sattiraju, J D Ballew, A Jahangir, A Terzic, 2006, Kv1.5 channelopathy due to KCNA5 loss-of-function mutation causes human atrial fibrillation: *Hum.Mol.Genet.*, v. 15, p. 2185-2191.
- Opferman,JT, A Letai, C Beard, M D Sorcinelli, C C Ong, S J Korsmeyer, 2003, Development and maintenance of B and T lymphocytes requires antiapoptotic MCL-1: *Nature*, v. 426, p. 671-676.

- Oskarsson,HJ, L Coppey, R M Weiss, W G Li, 2000, Antioxidants attenuate myocyte apoptosis in the remote non-infarcted myocardium following large myocardial infarction: *Cardiovasc.Res.*, v. 45, p. 679-687.
- Ostrander,LD, Jr., R L Brandt, M O Kjelsberg, F H Epstein, 1965, Electrocardiographic Findings Among The Adult Population of a Total Natural Community, Tecumseh, Michigan: *Circulation*, v. 31, p. 888-898.
- Pandey,P, R Farber, A Nakazawa, S Kumar, A Bharti, C Nalin, R Weichselbaum, D Kufe, S Kharbanda, 2000, Hsp27 functions as a negative regulator of cytochrome c-dependent activation of procaspase-3: *Oncogene*, v. 19, p. 1975-1981.
- Pappone,C, V Santinelli, 2008, Remote ablation of accessory pathways: *Eur.Heart J.*, v. 29, p. 422.
- Pappone,C, G Vicedomini, F Manguso, F Gugliotta, P Mazzone, S Gulletta, N Sora, S Sala, A Marzi, G Augello, L LiVolsi, A Santagostino, V Santinelli, 2006, Robotic magnetic navigation for atrial fibrillation ablation: *J.Am.Coll.Cardiol.*, v. 47, p. 1390-1400.
- Pasic,M, P Bergs, P Muller, M Hofmann, O Grauhan, H Kuppe, R Hetzer, 2001, Intraoperative radiofrequency maze ablation for atrial fibrillation: the Berlin modification: *Ann.Thorac.Surg.*, v. 72, p. 1484-1490.
- Puthalakath,H, D C Huang, L A O'Reilly, S M King, A Strasser, 1999, The proapoptotic activity of the Bcl-2 family member Bim is regulated by interaction with the dynein motor complex: *Mol.Cell*, v. 3, p. 287-296.
- Rabkin,SW, J Y Kong, 2000, Nifedipine does not induce but rather prevents apoptosis in cardiomyocytes: *Eur.J.Pharmacol.*, v. 388, p. 209-217.
- Rajawat,YS, E P Gerstenfeld, V V Patel, S Dixit, D J Callans, F E Marchlinski, 2004, ECG criteria for localizing the pulmonary vein origin of spontaneous atrial premature complexes: validation using intracardiac recordings: *Pacing Clin.Electrophysiol.*, v. 27, p. 182-188.

- Ravikumar,B, Z Berger, C Vacher, C J O'Kane, D C Rubinsztein, 2006, Rapamycin pre-treatment protects against apoptosis: *Hum.Mol.Genet.*, v. 15, p. 1209-1216.
- Reed,JC, 2000, Mechanisms of apoptosis: *Am.J.Pathol.*, v. 157, p. 1415-1430.
- Regula,KM, K Ens, L A Kirshenbaum, 2002, Inducible expression of BNIP3 provokes mitochondrial defects and hypoxia-mediated cell death of ventricular myocytes: *Circ.Res.*, v. 91, p. 226-231.
- Sabbah,HN, 2000, Apoptotic cell death in heart failure: *Cardiovasc.Res.*, v. 45, p. 704-712.
- Saikumar,P, Z Dong, V Mikhailov, M Denton, J M Weinberg, M A Venkatachalam, 1999, Apoptosis: definition, mechanisms, and relevance to disease: *Am.J.Med.*, v. 107, p. 489-506.
- Saito,S, Y Hiroi, Y Zou, R Aikawa, H Toko, F Shibasaki, Y Yazaki, R Nagai, I Komuro, 2000, beta-Adrenergic pathway induces apoptosis through calcineurin activation in cardiac myocytes: *J.Biol.Chem.*, v. 275, p. 34528-34533.
- Samali,A, T G Cotter, 1996, Heat shock proteins increase resistance to apoptosis: *Exp.Cell Res.*, v. 223, p. 163-170.
- Samali,A, S Orrenius, 1998, Heat shock proteins: regulators of stress response and apoptosis: *Cell Stress.Chaperones.*, v. 3, p. 228-236.
- Samali,A, J D Robertson, E Peterson, F Manero, L van Zeijl, C Paul, I A Cotgreave, A P Arrigo, S Orrenius, 2001, Hsp27 protects mitochondria of thermotolerant cells against apoptotic stimuli: *Cell Stress.Chaperones.*, v. 6, p. 49-58.
- Sanfilippo,AJ, V M Abascal, M Sheehan, L B Oertel, P Harrigan, R A Hughes, A E Weyman, 1990, Atrial enlargement as a consequence of atrial fibrillation. A prospective echocardiographic study: *Circulation*, v. 82, p. 792-797.
- Santos,AL, A M Aleixo, J Landeiro, A S Luis, 1979, Conversion of atrial fibrillation to sinus rhythm with amiodarone: *Acta Med.Port.*, v. 1, p. 15-23.

- Schneider,MA, C Schmitt, 2000, [Non-contact mapping: a simultaneous spatial detection in the diagnosis of arrhythmias]: *Z.Kardiol.*, v. 89 Suppl 3, p. 177-185.
- Schotten,U, J Ausma, C Stellbrink, I Sabatschus, M Vogel, D Frechen, F Schoendube, P Hanrath, M A Allessie, 2001, Cellular mechanisms of depressed atrial contractility in patients with chronic atrial fibrillation: *Circulation*, v. 103, p. 691-698.
- Schotten,U, M Duytschaever, J Ausma, S Eijsbouts, H R Neuberger, M Allessie, 2003, Electrical and contractile remodeling during the first days of atrial fibrillation go hand in hand: *Circulation*, v. 107, p. 1433-1439.
- Schuessler,RB, T M Grayson, B I Bromberg, J L Cox, J P Boineau, 1992, Cholinergically mediated tachyarrhythmias induced by a single extrastimulus in the isolated canine right atrium: *Circ.Res.*, v. 71, p. 1254-1267.
- Schweitzer,P, S Keller, 2002, A history of atrial fibrillation: *Vnitr.Lek.*, v. 48 Suppl 1, p. 24-26.
- Shemin,RJ, J L Cox, A M Gillinov, E H Blackstone, C R Bridges, 2007, Guidelines for reporting data and outcomes for the surgical treatment of atrial fibrillation: *Ann.Thorac.Surg.*, v. 83, p. 1225-1230.
- Shi,Y, 2006, Mechanical aspects of apoptosome assembly: *Curr.Opin.Cell Biol.*, v. 18, p. 677-684.
- Sie,HT, W P Beukema, A R Ramdat Misier, A Elvan, J J Ennema, H J Wellens, 2001, The radiofrequency modified maze procedure. A less invasive surgical approach to atrial fibrillation during open-heart surgery: *Eur.J.Cardiothorac.Surg.*, v. 19, p. 443-447.
- Siveski-Iliskovic,N, M Hill, D A Chow, P K Singal, 1995, Probucol protects against adriamycin cardiomyopathy without interfering with its antitumor effect: *Circulation*, v. 91, p. 10-15.

- Sorimachi,Y, K Harada, T C Saido, T Ono, S Kawashima, K Yoshida, 1997, Downregulation of calpastatin in rat heart after brief ischemia and reperfusion: *J.Biochem.*, v. 122, p. 743-748.
- Sra,J, J M Thomas, 2001, New techniques for mapping cardiac arrhythmias: *Indian Heart J.*, v. 53, p. 423-444.
- Stephanou,A, B Brar, R Heads, R D Knight, M S Marber, D Pennica, D S Latchman, 1998, Cardiotrophin-1 induces heat shock protein accumulation in cultured cardiac cells and protects them from stressful stimuli: *J.Mol.Cell Cardiol.*, v. 30, p. 849-855.
- Su,CY, K Y Chong, O E Owen, W H Dillmann, C Chang, C C Lai, 1998, Constitutive and inducible hsp70s are involved in oxidative resistance evoked by heat shock or ethanol: *J.Mol.Cell Cardiol.*, v. 30, p. 587-598.
- Suzuki,M, R J Youle, N Tjandra, 2000, Structure of Bax: coregulation of dimer formation and intracellular localization: *Cell*, v. 103, p. 645-654.
- Taatjes,DJ, B E Sobel, R C Budd, 2008, Morphological and cytochemical determination of cell death by apoptosis: *Histochem.Cell Biol.*, v. 129, p. 33-43.
- Taigen,T, L J De Windt, H W Lim, J D Molkentin, 2000, Targeted inhibition of calcineurin prevents agonist-induced cardiomyocyte hypertrophy: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 97, p. 1196-1201.
- Thompson,CB, 1995, Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease: *Science*, v. 267, p. 1456-1462.
- Thorburn,A, 2008, Apoptosis and autophagy: regulatory connections between two supposedly different processes: *Apoptosis.*, v. 13, p. 1-9.
- Vakkila,J, M T Lotze, 2004, Inflammation and necrosis promote tumour growth: *Nat.Rev.Immunol.*, v. 4, p. 641-648.
- van Heerde,WL, S Robert-Offerman, E Dumont, L Hofstra, P A Doevendans, J F Smits, M J Daemen, C P Reutelingsperger, 2000, Markers of apoptosis in cardiovascular tissues: focus on Annexin V: *Cardiovasc.Res.*, v. 45, p. 549-559.

- Vaughan Williams,EM, 1984, A classification of antiarrhythmic actions reassessed after a decade of new drugs: *J.Clin.Pharmacol.*, v. 24, p. 129-147.
- Veis,DJ, C M Sorenson, J R Shutter, S J Korsmeyer, 1993, Bcl-2-deficient mice demonstrate fulminant lymphoid apoptosis, polycystic kidneys, and hypopigmented hair: *Cell*, v. 75, p. 229-240.
- von Harsdorf,R, P F Li, R Dietz, 1999, Signaling pathways in reactive oxygen species-induced cardiomyocyte apoptosis: *Circulation*, v. 99, p. 2934-2941.
- Wang,HG, N Pathan, I M Ethell, S Krajewski, Y Yamaguchi, F Shibasaki, F McKeon, T Bobo, T F Franke, J C Reed, 1999, Ca²⁺-induced apoptosis through calcineurin dephosphorylation of BAD: *Science*, v. 284, p. 339-343.
- Wang,L, W Ma, R Markovich, J W Chen, P H Wang, 1998, Regulation of cardiomyocyte apoptotic signaling by insulin-like growth factor I: *Circ.Res.*, v. 83, p. 516-522.
- Wei,MC, W X Zong, E H Cheng, T Lindsten, V Panoutsakopoulou, A J Ross, K A Roth, G R MacGregor, C B Thompson, S J Korsmeyer, 2001, Proapoptotic BAX and BAK: a requisite gateway to mitochondrial dysfunction and death: *Science*, v. 292, p. 727-730.
- Wellens,HJ, 2000, Pulmonary vein ablation in atrial fibrillation: hype or hope?: *Circulation*, v. 102, p. 2562-2564.
- Wijffels,MC, C J Kirchhof, R Dorland, M A Allessie, 1995, Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats: *Circulation*, v. 92, p. 1954-1968.
- Wittkampf,FH, E J Vonken, R Derksen, P Loh, B Velthuis, E F Wever, L V Boersma, B J Rensing, M J Cramer, 2003, Pulmonary vein ostium geometry: analysis by magnetic resonance angiography: *Circulation*, v. 107, p. 21-23.
- Wolf,PA, R D Abbott, W B Kannel, 1991, Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study: *Stroke*, v. 22, p. 983-988.

- Wood,DE, E W Newcomb, 2000, Cleavage of Bax enhances its cell death function: *Exp.Cell Res.*, v. 256, p. 375-382.
- Wyllie,AH, J F Kerr, A R Currie, 1980, Cell death: the significance of apoptosis: *Int.Rev.Cytol.*, v. 68, p. 251-306.
- Xia,M, Q Jin, S Bendahhou, Y He, M M Larroque, Y Chen, Q Zhou, Y Yang, Y Liu, B Liu, Q Zhu, Y Zhou, J Lin, B Liang, L Li, X Dong, Z Pan, R Wang, H Wan, W Qiu, W Xu, P Eurlings, J Barhanin, Y Chen, 2005, A Kir2.1 gain-of-function mutation underlies familial atrial fibrillation: *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, v. 332, p. 1012-1019.
- Yang,Y, M Xia, Q Jin, S Bendahhou, J Shi, Y Chen, B Liang, J Lin, Y Liu, B Liu, Q Zhou, D Zhang, R Wang, N Ma, X Su, K Niu, Y Pei, W Xu, Z Chen, H Wan, J Cui, J Barhanin, Y Chen, 2004, Identification of a KCNE2 gain-of-function mutation in patients with familial atrial fibrillation: *Am.J.Hum.Genet.*, v. 75, p. 899-905.
- Yaoita,H, K Ogawa, K Maehara, Y Maruyama, 1998, Attenuation of ischemia/reperfusion injury in rats by a caspase inhibitor: *Circulation*, v. 97, p. 276-281.
- Yaoita,H, K Ogawa, K Maehara, Y Maruyama, 2000, Apoptosis in relevant clinical situations: contribution of apoptosis in myocardial infarction: *Cardiovasc.Res.*, v. 45, p. 630-641.
- Yue,TL, X L Ma, X Wang, A M Romanic, G L Liu, C Louden, J L Gu, S Kumar, G Poste, R R Ruffolo, Jr., G Z Feuerstein, 1998, Possible involvement of stress-activated protein kinase signaling pathway and Fas receptor expression in prevention of ischemia/reperfusion-induced cardiomyocyte apoptosis by carvedilol: *Circ.Res.*, v. 82, p. 166-174.
- Zagatti,G, A Benzoni, G Caturelli, 1974, [Cordarone in the maintenance of sinus rhythm: prevention of paroxysmal atrial fibrillation and of supraventricular paroxysmal tachycardia]: *Arch.Maragliano.Patol.Clin.*, v. 30, p. 245-249.

Zhu,L, Y Yu, B H Chua, Y S Ho, T H Kuo, 2001, Regulation of sodium-calcium exchange and mitochondrial energetics by Bcl-2 in the heart of transgenic mice: *J.Mol.Cell Cardiol.*, v. 33, p. 2135-2144.

Zou,H, Y Li, X Liu, X Wang, 1999, An APAF-1.cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9: *J.Biol.Chem.*, v. 274, p. 11549-11556.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Günseli ÇUBUKÇUOĞLU DENİZ

Doğum Yeri : Antakya/HATAY

Doğum Tarihi : 16/07/1981

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu:

Lise : Hatay Osman Ötken Anadolu Lisesi (1992-1999)

Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü (1999-2005)