

TC.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

İZOLE SIÇAN KALPLERİNDE
KALSIYUM DOBESİLATIN
KALBİN MEKANİK FONKSİYONLARINA
ETKİSİ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

108479

UZMANLIK TEZİ

DR. İSMAİL CİHAN ÖZBEK

TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. A. KÜRŞAT BOZKURT

108479

İSTANBUL
2001

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca yanında çalışma olanağı bulduğum, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ayla Gürel Sayın olmak üzere, Prof. Dr. Erkan Ahat, Prof. Dr. Hasan Tüzün, Doç. Dr. M. Kamil Kaynak ve Op. Dr. Kazım Beşirli'ye;

Tezimin hazırlanmasında fikirleriyle yol gösteren ve her türlü desteği veren değerli tez hocam Sayın Doç. Dr. A. Kürşat Bozkurt'a;

Tezimin her aşamasında bütün olanakları sağlayan ve benden yardımlarını esirgemeyen Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Doç. Dr. Öner Süzer ve ekibine;

Birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, ameliyathane ve servis hemşire ve personeline;

Bana her zaman ve her konuda yardımcı olan Op. Dr. Cengiz Köksal'a;

Uzun ve yorucu uzmanlık eğitimim süresince gösterdiği büyük özveri ve sabır için değerli eşim Şasev Özbek'e sonsuz teşekkür ederim.

Dr. İ. Cihan Özbek

İstanbul-2001

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ.....	1
1. 1. Çalışmanın amacı.....	4
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2. 1. Langendorff Düzeneği.....	5
2. 2. Kardiyovasküler Sistemin Fizyolojisi.....	9
2. 2. 1. Kalp Kasılma Mekanikliği.....	9
2. 3. Myokardiyal Stunning.....	13
2. 3. 1. Patogenez.....	14
2. 3. 2. Myokardiyal Stunning İçin Önerilen Mekanizmalar.....	16
3. YÖNTEM VE GEREÇLER.....	18
3. 1. Preparatların ve Solüsyonların Hazırlanması.....	18
3. 2. Deney Protokolü.....	19
3. 3. Ölçülen ve Hesaplanan Parametreler.....	21
3. 3. 1. Kalp Kontraktilitesi.....	21
3. 3. 2. Bipolar Elektrogram.....	22
3. 3. 3. Hesaplanan Parametreler.....	22
3. 3. 4. Veri Analizleri.....	22
4. BULGULAR.....	23
5. TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇ.....	39
7. ÖZET.....	40
8. SUMMARY.....	42
9. KAYNAKLAR.....	43

1-GİRİŞ

Günümüzde açık kalp cerrahisinin gelişmesinde artan cerrahi deneyimin yanısıra, kardiyopulmoner bypass ve myokard koruma tekniklerindeki ilerlemelerin büyük rolü vardır. Yüksek risk taşıyan operasyonların sıklığı da giderek artmaktadır. Acil vakalar, reoperasyonlar ve sol ventrikül disfonksiyonu gibi yüksek risk taşıyan hastalarda myokard korumasındaki yetersizlikler önemli morbidite ve mortalite sebebi olabilmektedir. Bu nedenle günümüzde daha iyi myokard koruma tekniklerini geliştirmek amacıyla çalışmalar yapılmaktadır.

Peroperatif dönemde kaybedilen hastaların büyük kısmında myokardiyumda geniş myokard nekrozu görülmektedir. Bu nekrozlar koroner arter obstrüksiyonu olmayan hastalarda da oluşabilir ve bütün ventrikül katlarını tutabilir. İntraoperatif dönemde myokard hasarı gelişen hastalar, erken postoperatif dönemde inotropik desteğe veya intraaortik balon pompası desteğine ihtiyaç gösterirler ve bu hastalarda postoperatif devre sorunsuz olarak geçirilse bile geç dönemde myokard fibrozisi gelişebilir.

Bu hasarın nedeni iskemi döneminde yetersiz myokard korunması ve iskemi-reperfüzyon hasarıdır. Sonuçta ortaya çıkan mekanik fonksiyon bozukluğu ise sık karşılaşılan önemli bir sorun olmaya devam etmektedir

(1).

İskemi reperfüzyon hasarı; myokardiyal ödem, yapısal doku hasarı olmadan reversibl fonksiyonel bozukluk (stunning), ve hücre ölümü düzeyinde olabilir (2). Vasküler endotel hasarının da bu fizyopatolojik olaylar zincirinde önemli bir halka olduğu gösterilmiştir (3). Endotel hasarı vazodilatör ve vazokonstrüktör maddeler arasındaki dengesizlik nedeniyle myokard disfonksiyonuna neden olabilir. Yapılan bir çalışmada aktif koroner vazodilatasyonda meydana gelen azalmanın, kalbin mekanik fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilediği ayrıca kardiak aritmilere neden olduğu gösterilmiştir (4). Yine bir çalışmada, endotel hücre disfonksiyonunun reperfüzyondan dakikalar sonra oluştuğu ve reperfüzyon hasarından, nitrik oksid (NO) düzeylerinde azalma sonucu artmış vazokonstrüksiyon ile nötrofil infiltrasyonunun sorumlu olduğu gösterilmiştir (5). NO, NO sentetaz aracılığı ile L-Arginin'den endotelde, makrofajlarda, nötrofillerde ve nöronlarda sentezlenip salgılanan bir vazodilatördür (6). Ayrıca platelet adhezyon ve agregasyonunun inhibisyonunda, lokal kan basıncının regülasyonunda, lökosit adhezyonunun modülasyonunda ve dolayısıyla doku inflamasyonunun erken safhasında da önemli rol oynamaktadır (7, 8, 9, 10). NO'in vazodilatör etkisi myokardın önemli bir korunma mekanizmasıdır.

Sentetik bir ürün olan kalsiyum dobesilat (DOBE) (calcium 2, 5-dihydroxybenzene-sulphonat) günümüzde kronik venöz yetersizliğe bağlı

ağrı, ödem, parestezi ve krampların giderilmesinde, meydana gelmiş venöz staz ülserleri ve yüzeysel tromboflebitlerin tedavisinde, özellikle diabetik retinopati gibi mikroanjopatilerde, hemoroidlerde, arteriovenöz kaynaklı mikrosirkülasyon bozukluklarında sıklıkla kullanılan farmakolojik bir ajandır. Histamin, serotonin ve bradikinin gibi vazoaaktif maddelerle meydana gelen kapiller permeabiliteyi azaltmakta (11), platelet adhezyon ve agregasyonunu Platelet Activating Factor (PAF) sentezini azaltarak engellemektedir (12, 13). Eritrosit agregasyonunu azaltır, flexibilitelerini artırır, kan viskozitesini azaltarak mikrosirkülasyonu düzenler ve bozulmuş olan doku oksijen tüketimini normale döndürür (14, 15, 16). Ayrıca serbest oksijen radikali temizleyicisidir ve antioksidan özellikleri vardır (17). NO sentetaz aktivitesini artırarak NO sentezini uyarmaktadır (18).

1. 1. Çalışmanın amacı:

Kalsiyum dobesilat'ın hemorheolojik parametreler üzerine olumlu etkilerinin olması, antioksidan bir madde olması ve endotel kaynaklı vazodilatör maddelerin salınımını artırması, myokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarının fizyopatolojisinde önemli rolü olan endotel disfonksiyonunu azaltarak kalbin mekanik fonksiyonlarına olumlu katkısı olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada Langendorff düzeneğinde, izole sıçan kalbinde, öncelikle kalsiyum dobesilat'ın kalbin mekanik fonksiyonlarına etkisinin gösterilmesi amaçlandı. İskemi, iskemi+reperfüzyon ve reperfüzyon safhalarında verilen kalsiyum dobesilat'ın etkileri kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

2-GENEL BİLGİLER

2. 1. Langendorff Düzenegi:

Kalp korunmasını değerlendirmek için en sık kullanılan deneysel yöntem klasik Langendorff sıçan kalbi modelidir ve en önemli kristalloid kardiyopleji solüsyonu olan St.Thomas hastanesi solüsyonu da bu yöntem kullanılarak geliştirilmiştir (19) (Resim 1,2) (şekil 1).

İzole perfüze kalp preparatı ilk kez Oscar Langendorff tarafından 1895 yılında tanımlanmıştır (20). Sistem en çok akut ilaç etkilerini araştırmak için kullanılsa da, önceden belirli bir uygulamaya tabi tutulmuş hayvanların kalplerindeki değişiklikler ve bu kalplerde ilaçların akut etkileri de incelenebilmektedir. Sistem çok sayıda parametrenin aynı anda izlenmesine olanak sağlamaktadır.

Langendorff sistemi hazırlanırken çıkan aorta kanüle edilir. Buradan verilen perfüzyon sıvısı sistolde sol ventrikül içi basınç yüksek olduğundan ve diastolde ise aort kapakları kapalı olduğundan ventrikül içine giremez ve koroner arterlere gider. Perfüze daha sonra koroner sinüsten sağ atriuma boşalır.

Sistemi hazırlarken küçük hayvanlarda anestezi gerekli değildir. Dekapitasyon yapıldıktan sonra en kısa sürede sternotomi ile toraks açılır ve kalpte herhangi bir mekanik hasar oluşturmadan asendan aort ve diğer damarlar kesilerek kalp soğuk perfüzyon solüsyonu içine konulur. Soğuk

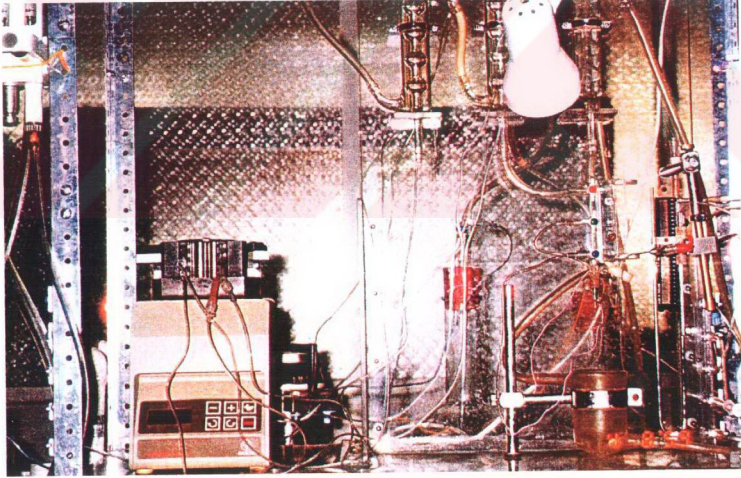
solüsyon içinde kalbin atımı durduğu için kalp kolayca iplikle aort kanülüne sabitlenir ve perfüzyon hemen başlatılır. Perfüzyon sıvısı bir ısı sarmalı aracılığı ile ısıtılır (37°C) ve %95 O₂ içerir. Sonrasında preparat, cidarları ısıtılan camdan yapılmış bir kalp odacığı içine konulur. Perfüzyon sıvıları kesinlikle hiçbir partikül içermemelidir. Langendorff metodu ile perfüzyon, sabit basınç veya sabit akımla yapılabilir.

Langendorff metoduyla yapılabilen ölçümler ve hesaplanan parametreler:

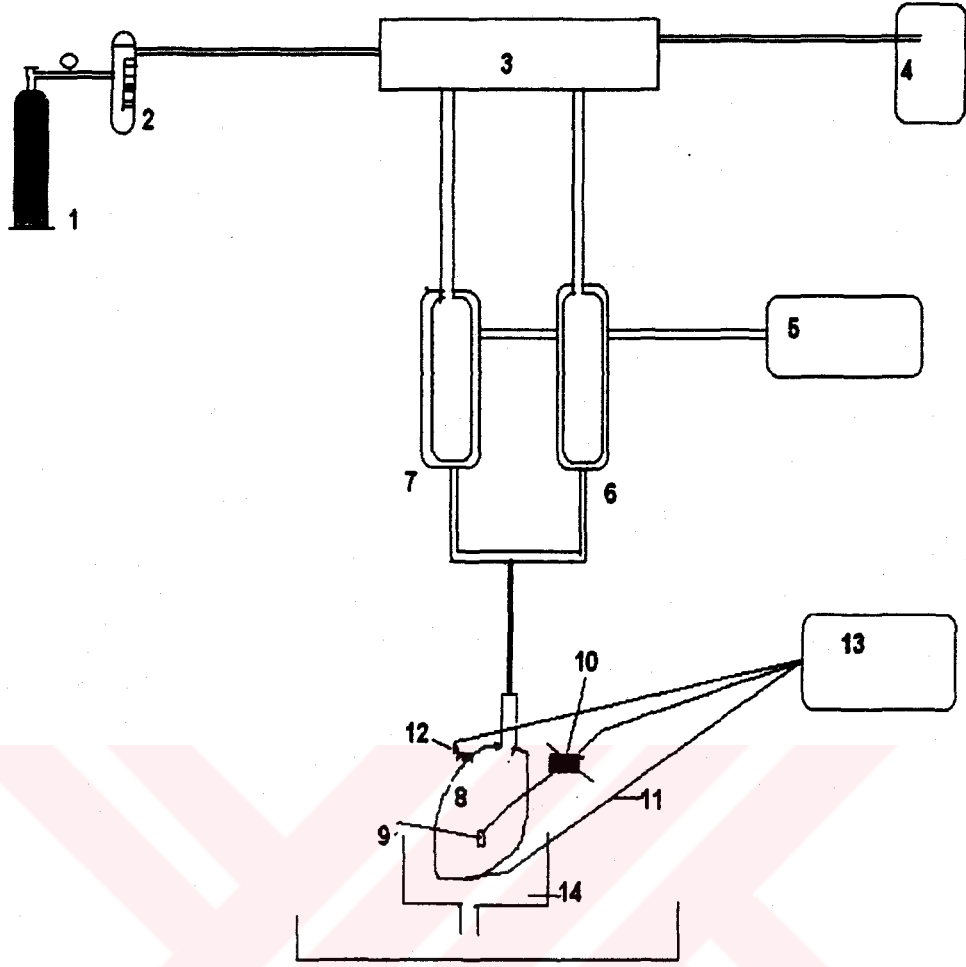
- 1-Koroner perfüzatta biyokimyasal ve kan gazı ölçümleri.
- 2-Elektrokardiyogram kayıtları ile kalp hızı ve ritm değişiklikleri.
- 3-Koroner akım miktarı.
- 4-Koroner akım direnci.
- 5-Sol ventrikül basıncı ve hacmi.
- 6-Kalbin mekanik fonksiyonları ile ilgili parametreler.
- 7-Oksijen kullanımı.



Resim 1.Langendorff düzeneğinin genel görünümü.



Resim 2.Langendorff düzeneğinin önden görünümü.



- 1- Karbojen (%95 O₂ - %5 CO₂)
- 2- Flovmetre
- 3- Perfüzyon pompası
- 4- Perfüzyon sıvısı
- 5- Isıtıcı
- 6- Çift cidarli cam balon
- 7- Çift cidarli cam balon
- 8- İzole kalp
- 9- Ventrikül içi balon
- 10- Transduser
- 11- Stimulatör
- 12- Elektrot
- 13- Veri kayıt cihazı ve bilgisayar
- 14- Cam kalp odacığı

Şekil 1. Langendorff düzeneği (şematik görünüm).

2. 2. Kardiyovasküler Sistemin Fizyolojisi:

Kalbin fonksiyonu preload, afterload, kalbin hızı ve kontraktilitesi (inotropik durum) ile yakından ilişkilidir. Atrium ve ventrikül kontraksiyonu, nöronal, hormonal ve metabolik ürünlerle kontrol edilir, ayrıca ilaçlar ve perikardın yapısı gibi pekçok faktörden etkilenir (21).

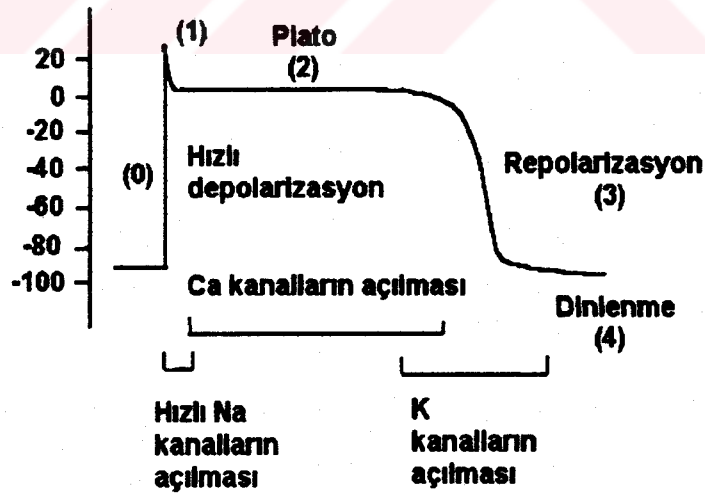
Kalp; atrium kası, ventrikül kası ve özelleşmiş uyarıcı ve iletici kas lifleri olmak üzere üç temel kas tipinden oluşur. Kalp kası, iskelet kası gibi çizgili kastır ve aktin ve miyozin filamentlerini içeren tipik miyofibrillere sahiptir. Bu filamentler içiçe geçmiş olup, kontraksiyon sırasında birbiri üzerinde kayar.

2. 2. 1. Kalp Kasılma Mekanîği:

Tek bir kalp hücrelerinin istirahat membran potansiyeli yaklaşık -90 mV'dur. Uyarı ile meydana gelen aksiyon potansiyelinin yayılması sonucunda kasılma olayı başlar. Kalp kasında depolarizasyon ani bir yükselme ile başlar. Kalp kasında kaydedilen aksiyon potansiyeli, hızlı bir depolarizasyon fazı (0), bunu izleyen repolarizasyon başlangıç fazı (1) ve plato fazını (2) içermektedir. Gerçek repolarizasyon fazı (3) ise, uzun süren plato fazından sonra gelmektedir (22, 23) (şekil 2). Kalp kasında depolarizasyon başladıktan 250-300 ms süre sonra repolarizasyon tamamlanmaktadır. Diğer bir deyimle kalp kası depolarize olduktan sonra uzun süre depolarize durumda kalır. Bunun nedeni miyokard liflerinin

membranlarında üç ayrı iyon kanalı bulunması ve bunların farklı zamanlarda aktif hale geçmeleridir.

Kalp kası membranında bulunan iyon kanalları; hızlı sodyum kanalları, yavaş kalsiyum-sodyum kanalları ve potasyum kanallarıdır. Kalp kası uyarıldığında önce hızlı sodyum kanalları açılır ve sodyum iyonları konsantrasyon gradyanlarına göre hızla ekstraselüler sıvıdan hücre içine girerler. Pozitif yüklü sodyum iyonlarının hızla hücre içine girmesi hücre membranının hızla (2 ms) depolarize olmasını sağlar. Bu durum aksiyon potansiyelinin çıkan kolunun yani hızlı depolarizasyon fazının (faz 0) oluşmasını sağlar. Bu fazda hücre içinde potansiyel -80 mV'dan $+20$ mV'a çıkar.



Şekil 2. Kalp kası lifinde aksiyon potansiyeli.

Bundan sonra repolarizasyon başlangıç fazında (faz 1), hücre içi potansiyel +20 mV'dan daha az bir pozitif değere düşer, ancak negatif değere düşmez. Repolarizasyon başlangıç fazının oluşumu esas olarak hızlı sodyum iyon kanallarının kapanmasına bağlıdır. Buna ek olarak burada klor iyonlarının hücre içine girdiği, bu nedenle hücre içi pozitifliğinde bir azalma olduğu da kabul edilmektedir. Ancak, repolarizasyon başlangıç fazı çok kısa sürmekte ve bunu plato fazı (faz 2) izlemektedir.

Platonun oluşumu yavaş kalsiyum-sodyum kanallarının açılmasına bağlıdır. Bu kanalların açılması sonucunda kalsiyum ve sodyum iyonlarının hücre içine yavaş hızla girmesi potasyum çıkışından veya klor girişinden dolayı oluşacak olan negatifleşmeyi engeller. Bu nedenle faz 1'de başlamış olan repolarizasyon devam etmez ve plato süresince yaklaşık 200 ms boyunca membran depolarize durumda kalır.

Daha sonra yavaş kalsiyum-sodyum kanallarının kapanması ile hücre içine sodyum ve kalsiyum girişi durur. Potasyum kanallarının açık olması nedeniyle potasyum iyonları konsantrasyon gradyanlarına göre hücre içinden dışarı çıkarlar. Bu olay hücre içinin yeniden negatif olmasını yani repolarize olmasını sağlar. Faz 4'de ise membran dinlenme durumuna dönmüştür. Bu fazda aksiyon potansiyeli sırasında hücre içine girmiş olan sodyum iyonları, sodyum-potasyum ATPase ile aktif olarak hücre dışına taşınır. Buna karşın aksiyon potansiyeli sırasında hücre dışına çıkmış olan

potasyum iyonları aynı pompa ile aktif olarak tekrar hücre içine taşınırlar. Bilindiği gibi sodyum-potasyum ATPase'ın dışarı taşıdığı üç sodyum iyonuna karşılık iki potasyum iyonu hücre içine taşınır. Aksiyon potansiyelinin plato fazı sırasında hücre içine girmiş olan kalsiyum iyonları ise kalsiyum-sodyum pompası ile hücre dışına taşınırlar.

Sodyum-kalsiyum pompasının çalışması için önce sodyum-potasyum pompasının devreye girmesi ve hücre içindeki fazla sodyum iyonlarının dışarı çıkması gereklidir. Sodyum-potasyum pompası ile hücre dışı ve içi arasında belirli bir sodyum iyon konsantrasyonu oluşunca, sodyum-kalsiyum pompası faaliyete geçer. Bu pompa hücreden dışarıya taşıdığı kalsiyum iyonlarına karşı sodyum iyonlarını hücre içine taşır. Faz 4 sırasında sodyum-potasyum pompası ve sodyum-kalsiyum pompasının faaliyete geçmesi ile membran dinlenme döneminde hücre içi ve dışı arasında farklı iyon dağılımı sağlanmış olur (21, 24).

Myokardın kontraktıl durumu hücre içi kalsiyum konsantrasyonu ile yakından ilişkilidir. Myozitin kontraksiyonu, kalsiyumun voltaja bağımlı kalsiyum kanallarından hücre içine hareketi ile başlar. Bu da kalsiyumun sarkoplazmik retikulumdan salınımını tetikler. Salgılanan kalsiyum, troponin C ile birleşerek tropomyozinde şekil değişikliğine yol açar. Böylece aktin ve myozin filamentleri birbirini üzerinde kayar ve kontraksiyon meydana gelir. Hücre içi kalsiyum, sentezi adenilat siklaz

tarafından artırılan, yıkımı fosfodiesteraz III inhibitörleri ile önlenen cAMP tarafından kontrol edilir.

cAMP'deki, artış proteinkinazları uyarır ve böylece membran kalsiyum kanallarının fosforilasyonu ve kalsiyumun hücre içine girişi artar ve bu da kontraksiyona yol açar.

2. 3. Myokardiyal Stunning (Myokardiyal sersemleme):

Postiskemik myokardiyal disfonksiyon ilk defa Vatner ve arkadaşlarınca 25 yıl önce tanımlanmıştır. Bu fenomen 1982 yılından beri "myokardiyal stunning" terimi ile anılmaktadır (25). Kısa süreli iskemilerde myokard fonksiyonları genellikle hızla düzelir. Bununla birlikte uzun süreli ve ağır iskemilerde düzelme saatler ya da günler alabilir. Reperfüzyondan sonra koroner kan akımının normal veya normale yakın düzelmesine ve irreversibl hasarın olmamasına rağmen inatçı mekanik disfonksiyon myokardiyal stunning (sersemleme) olarak bilinmektedir (26). Myokardiyal hibernasyonun aksine sersemlemede, myokardiyal disfonksiyon akut fazdadır. Stunning terimi, myokardın erken reperfüzyon hasarı ile eşanlamlı olarak da kullanılmaktadır (27).

2. 3. 1. Patogenez:

Geçici reversibl iskemi sonrası reperfüzyon süperoksid radikallerinin oluşumunun artmasına yol açmaktadır.

Süperoksid radikallerinin oluşumunu artıran mekanizmalar:

- *Ksantin oksidaz aktivitesinin artması.
- *Nötrofiller ve araşidonik asit kaskadının aktive olması.
- *Mitokondriyal elektron transportunun bozulması nedeniyle oksijenin univalent redüksiyonunun artması.
- *Katalitik demir varlığında Haber-Weiss reaksiyonu ile O_2 ve H_2O_2 etkileşimi sonucunda hidroksil radikali (-OH) ve ayrıca H_2O_2 den O_2 yokluğunda -OH oluşur. Askorbat gibi diğer substratlar da Fenton reaksiyonu ile Fe-III'ü Fe-II'ye indirger. Ortaya çıkan $-O_2$ ve -OH gibi serbest oksijen radikalleri, proteinler ve polisatüre yağ asitlerini etkileyerek sırasıyla enzim inaktivasyonu ve lipid peroksidasyonuna neden olurlar.

Reversibl iskemide bu olaylar sonucu meydana gelen hasar hücre ölümüne yol açmaz ancak sellüler organellerin önemli disfonksiyonunun oluşması için çoğu zaman yeterlidir (26).

Serbest oksijen radikalleri ile oluşan hasar :

*Sarkolemma selektif permeabilitesini kaybeder, bunun sonucunda da kalsiyumla uyarılan ATPase aktivitesi, kalsiyumun hücre dışına transportu ve Na-K-ATPase aktivitesi bozular. Sonuçta transsarkolemmal kalsiyum “influx”u artar ve kalsiyum hücre içinde birikir.

*Sarkoplazmik retikulumda, kalsiyumla uyarılan ATPase aktivitesi ve kalsiyumun transportu bozular. Bu nedenle sistol sırasında kalsiyum sekestrasyonu ve kalsiyumun “efluxu” azalır. Bu da eksitasyon-kontraksiyon mekanizmasının bozulmasına diğer bir deyişle ilişkisinin ayrışmasına (uncoupling) neden olur.

*Kontraktıl proteinlerin kalsiyuma cevabı azalır.

*İskemi-reperfüzyon hücre içi Na birikmesine neden olabilir.

Hücre içi Na birikmesine yol açan mekanizmalar:

-Sarkolemmal Na-K-ATPase inhibisyonu.

-Asidoz ve Na-K değişimi: Na-Ca değişiminin artması nedeniyle Ca birikimi artmaktadır. Serbest kalsiyum iyonunun artması, protein kinaz, fosfolipaz ve diğer enzimleri aktive eder. Böylece kalsiyum birikmesi oksijen radikalleri tarafından başlatılan hasarın büyümesine yol açar ve kontraktıl performansı bozarak mekanik disfonksiyona neden olur. Serbest kalsiyumun artışı, ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza

dönüşümünden dolayı oksiradikal yapımını artırır. Bütün bu olayların sonucu kontraktilitenin reversibl depresyonudur (26).

2. 3. 2. Myokardiyal Stunning İçin Önerilen Mekanizmalar

***Oksiradikal hipotezi:**

Oksijen metabolitlerinin myokard fonksiyonunu deprese ettiği hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda saptanmıştır (26). Oksiradikaller sarkoplazmik retikulum fonksiyonlarını bozmaktadır, çünkü sarkolemanın Ca transportu ve Ca'la uyarılan ATPase aktivitesine engel olurlar. Ayrıca oksijen radikallerinin Na-Ca değişimini engellediği ve Na-K-ATPase aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Sarkolemma serbest oksijen radikallerinin hasar yaptığı kritik bir hedef olabilir (28). Oksiradikallerin aşırı yapımı, transsarkolemmal kalsiyum influx'u ve sellüler kalsiyum birikimi ile sonuçlanmaktadır. Ayrıca kontraktıl proteinlerde hasar oluştururlar ve bu proteinlerin Ca'a cevabını bozarlar (26, 29).

***Kalsiyum hipotezi:**

a-Kalsiyum aşırı birikimi: Son yıllardaki çalışmalar izole kalplerde 10 ve 20 dakika arasını geçen global iskeminin çok erken reflow sırasında geçici kalsiyum artışına yol açtığını, fakat reperfüzyondan sonra birkaç dakika içinde normal değerlere döndüğünü göstermiştir (30). Ancak sitozolik kalsiyumun artışı proteinkinazları, fosfolipazları ve diğer indirgen enzimleri aktive etmektedir (27, 30). Yapılan deneysel

çalışmalarda, Ca-Kanal Blokerlerinin bölgesel sersemlemiş myokardiyumda fonksiyonel iyileşme sağladıkları gösterilmiştir (26). Ca antagonistlerinin rolü sersemlemeyi hafifletmek olmakla birlikte, reperfüzyondan sonra var olan kalsiyum birikimini kapsamaz. Muhtemelen iskemi sırasında kalsiyum influx'unu azaltmak suretiyle ATP tüketimini azaltarak etki göstermektedirler (31).

b-Myofilamentlerin kalsiyuma cevabının azalması: Ekstrasellüler kalsiyuma duyarlılığın azalmasının gösterildiği çalışmalardan sonra (32) bunun sebebinin intraselüler serbest kalsiyum miktarlarındaki geçici azalmaya ya da miyofilamentlerin kalsiyuma duyarlılığının azalmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise postiskemik disfonksiyonda gerçek problemin kontraktıl aparatın kalsiyuma cevabının azalması olduğu gösterilmiştir (30).

3-YÖNTEM VE GEREÇLER

3. 1. Preparatların ve Solüsyonların Hazırlanması:

Çalışmada İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Deneysel Hayvan Yetiştirme Laboratuvarından sağlanan 150-200 gr. ağırlığında, sağlıklı, erkek ve dişi Wistar albino sıçanlar kullanıldı (4 grup, her grup için n=6). Sıçanlara deneylerden önce herhangi bir işlem uygulanmadı. Deneyle ilişkili tüm ön hazırlıklar tamamlandıktan sonra deneklerin kafaları kesilerek öldürüldü. Göbekten boyuna doğru yapılan bir insizyon ile mediasten açıldı. Kalp izole edilerek içinde 10000 IU.L⁻¹ heparin içeren, buz içerisindeki (4 °C) Tyrode solüsyonuna konuldu (Tablo 1). Aort etrafındaki dokular temizlenip preparasyon tamamlandı ve Langendorff metoduyla perfüze edilmek üzere aortasından kanüle edilerek ipekle tespit edildi. Bunun hemen ardından Tyrode solüsyonu miniplus 3 peristaltik pompa (Gilson Medical Electronics Middleton, WI, USA) aracılığıyla 8 ml/dk olacak şekilde, sabit akım koşullarında perfüzyona başlandı.

Solüsyon her kolon başına 1 litre/dakika %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılarak oksijen parsiyel basıncının 500 mmHg üzerinde olması sağlandı. Daha sonra kalpler 37 °C sabit ısıda tutulan cam kalp odacığının içine yerleştirildi. Kalbin eksize edilmesiyle, aortik perfüzyona başlanması arasında geçen süre 60 saniyenin altında tutuldu. Hazırlanma

süresi 60 saniyenin üzerinde olan ve stabilizasyon dönemi sırasında pik sistolik basınç değerleri 50 mmHg'nın altında olan preparatlar çalışmadan çıkarıldı. Çalışma boyunca kalbin ve tüm solüsyonların ısıları, çift cidarlı cam düzeneğin içinden sürekli sıvı geçirilmek suretiyle 37°C'da sabit tutuldu.

Tüm gruptaki kalpler, sol ventrikül apeksine yerleştirilen elektrod aracılığıyla, 5 volt amplitüdü ve 1 ms süreli kare dalgalar üreten ve dakikada 300 atım sağlayan stimülatöre (Biopac Systems MP, 100A) bağlandı.

Kolonlardan birine Tyrode solüsyonu diğer kolona 10^{-5} M DOBE konuldu (0,1 g DOBE tartıldı, 240 ml distile su içerisinde eritildi, bu stok solüsyonun 10 ml'si 1 lt Tyrode içine ilave edilerek 10^{-5} M DOBE elde edildi). Perfüzyon 10 ml/dk hızda başlatıldı (Tyrode kolonu için 25 tur/dk, DOBE kolonu için 28,8 tur/dk).

3. 2. Deney Protokolü:

Çalışmada her grupta 6 sıçan olmak üzere 4 grup oluşturuldu (n=6). Kontrol grubu için 20 dakikalık stabilizasyon döneminden sonra 15 dk Tyrode ile perfüzyon yapıldı. Daha sonra perfüzyon hızı 10 ml/dk'dan 0,2 ml/dk'ya (0,5 tur/dk) düşülerek 30 dk iskemi ve sonrasında 45 dk Tyrode ile reperfüzyon yapıldı.

1.Grup için 20 dk stabilizasyon döneminden sonra kayıt yeniden başlatılarak 5 dk başlangıç değerleri kaydedildi, ardından 5 dk DOBE, 5 dk Tyrode ile perfüze edildi. 30 dk 0.2 ml/dk iskemi ve sonrasında 45 dk Tyrode ile reperfüzyon yapıldı.

2.Grup için 20 dk stabilizasyon döneminden sonra kayıt yeniden başlatılarak 5 dk başlangıç değerleri kaydedildi, ardından 5 dk DOBE, 5 dk Tyrode ile perfüze edildi. 30 dk 0.2ml/dk iskemi ve sonrasında 45 dk DOBE ile reperfüzyon yapıldı.

3.Grup için 20 dk stabilizasyon döneminden sonra kayıt yeniden başlatılarak 15 dk başlangıç değerleri kaydedildi. 30 dk 0.2 ml/dk iskemi ve sonrasında 45 dk DOBE ile reperfüzyon yapıldı.

Perfüzyon hızları iskemi dönemleri dışında 10 ml/dk olarak uygulandı.

Tablo 1: Tyrode Solüsyonu

Mmol/L

NaCl	128
KCl	4.7
CaCl ₂	1.36
NaHCO ₃	20
NaH ₂ PO ₄	0.36
MgCl ₂	1
Glikoz	10

Sekil 3: Deneyin şematik protokolü

Gruplar	Kontrol (O)	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Stabilizasyon	20 dk	20 dk	20 dk	20 dk
Baseline	15 dk	5 dk	5 dk	15 dk
DOBE	----	5 dk	5 dk	----
Tyrode	----	5 dk	5 dk	----
İskemi	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk
Tyrode	45 dk	45 dk	----	----
DOBE	----	----	45 dk	45 dk

3. 3. Ölçülen ve Hesaplanan Parametreler:

3. 3. 1 Kalp Kontraktilitesi:

Sol ventrikül içine latex balon yerleştirildi (latex balon no:3, volüm: 0.03, Hugo-Sachs Electronics, Berlin, Germany) ve balona 5 mmHg basınç uygulandı. İntraventriküler basınç, Biopac Systems TSD 104A (Santa Barbara, California, USA) basınç transduseri aracılığı ile ölçüldü. Verilere, Biopac Systems MP 100 veri toplama sistemi ile analog dijital konversiyon uygulandı. Ardından "Acqknowledge Software Version 3.5" programı kullanılarak Windows 98 işletim sistemli Pentium 200 MMX işlemcili bilgisayara, saniyede 100 örnek alınarak kaydedildi. Tüm ölçümler, deneylerden sonra kaydedilmiş dosyaların analiziyle gerçekleştirildi.

3. 3. 2. Bipolar Elektrogram:

Biri metalik olan aort kanülüne, diğeri ise kalbin apeksine yerleştirilen iki elektrod ile mekanik kayıtla eşzamanlı olarak bipolar elektrogram kayıtları alındı. Kayıtlar, modüler olan MP 100 sistemine eklenen ECG 100B elektrokardiyogram amplifikatör aracılığıyla, eşzamanlı olarak ayrı bir kanalda izlendi.

3. 3. 3. Hesaplanan Parametreler:

İntraventriküler basınç kayıtlarından, **meanP** (Koroner arterleri perfüze eden ortalama basınç), **PSB** (sol ventrikül içi maksimum basıncı), **+dp/dtmaks** (kasılma gücünün zamana göre değişimi), **-dp/dtmaks** (gevşeme gücünün zamana göre değişimi), **PP** (Pik sistolik basınç-minimum balon basıncı), **bpm** (Dakikadaki kalp atım sayısı) hesaplandı.

3. 3. 4. Veri Analizleri:

Bütün veriler ortalama, \pm standart sapma olarak ifade edildi. İstatistiksel değerlendirmeler Friedman ve Wilcoxon testleri ile yapıldı. İstatistiksel olarak 0.05'in altındaki p değerleri anlamlı kabul edildi.

4-BULGULAR

1. meanP (Koroner arterleri perfüze eden ortalama basınç):

Tüm gruplarda başlangıç değerlerine göre iskemi sonrası anlamlı olarak azalmakta ve reperfüzyon sonrası artmaktadır. Bu artış kontrol grubunda anlamlı değil iken, deney gruplarının tümünde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca reperfüzyon sonrası değerleri 1. Grupta başlangıç değerlerinden de yüksek olarak bulunmuştur.

Tablo 2a

ORT/SD	İÖ	İS	RS
0	86.9±31.6	53.5±24.1	82.4±49
1	116.4±26.6	76.5±35	123.4±36.6
2	155.7±19	82.1±40	129.1±40.9
3	118.2±25.9	69±8.8	108.7±24.8

Tablo 2b

GRUP	İÖ-İS	İÖ-RS	İS-RS
0	0.043*	0.833	0.116
1	0.028*	0.6	0.028*
2	0.028*	0.028*	0.028*
3	0.028*	0.6	0.046*

Ort (ortalama), SD (standart sapma), İÖ (iskemi öncesi), İS (iskemi sonrası), RS (reperfüzyon sonrası), *p<0.05

2. PSB (Sol ventrikül içi maksimum basıncı):

İskemi sonrası ve reperfüzyon sonrası değerleri tüm gruplarda başlangıç değerlerine göre düşük olup bu düşme 1, 2 ve 3. gruplarda anlamlıdır. Reperfüzyon sonrası ise sadece 1. Grupta iskemiy sonrası değerlerine göre bir artış olmakla birlikte bu artış anlamlı değildir.

Tablo 3a

ORT/SD	İÖ	İS	RS
0	69.8±15.8	52.9±39.6	49.6±21.9
1	65.5±7.8	42.2±17	50.1±18.1
2	70.5±10	45.3±18.7	40.1±15.5
3	67.9±10.3	53.2±15.9	39.4±11.2

Tablo 3b

GRUP	İÖ-İS	İÖ-RS	İS-RS
0	0.207	0.116	0.893
1	0.028*	0.046*	0.249
2	0.028*	0.028*	0.345
3	0.046*	0.028*	0.116

Ort (ortalama), SD (standart sapma), İÖ (iskemi öncesi), İS (iskemi sonrası), RS (reperfüzyon sonrası), *p<0.05

3. +dp/dt_{max} (Kasılma gücünün zamana göre değişimi):

İskemi sonrası değerleri tüm gruplarda başlangıç değerlerine göre anlamlı olarak düşüktür. Başlangıç ve reperfüzyon karşılaştırıldığında ise, kontrol grubu dışındaki gruplarda anlamlı olarak azalma görülmektedir. Reperfüzyon sonrasında ise bu değerler iskemi sonrası değerlerine oranla tüm gruplarda artmaktadır. Reperfüzyon sonrası bu artış hiçbir grupta anlamlı olmamakla birlikte en fazla 1. Grupta olmuştur.

Tablo 4a

ORT/SD	İÖ	İS	RS
0	1303±297	790±525	909±416
1	1229±277	630±500	855±346
2	1277±107	675±500	737±227
3	1491±207	861±304	881±193

Tablo 4b

GRUP	İÖ-İS	İÖ-RS	İS-RS
0	0.028*	0.075	0.25
1	0.028*	0.028*	0.17
2	0.028*	0.028*	0.9
3	0.028*	0.028*	0.9

Ort (ortalama), SD (standart sapma), İÖ (iskemi öncesi), İS (iskemi sonrası), RS (reperfüzyon sonrası), *p<0.05

4. $-dp/dt_{max}$ (Gevşeme gücünün zamana göre değişimi):

İskemi sonrası değerleri tüm gruplarda başlangıç değerlerine göre anlamlı olarak düşüktür. Başlangıç ve reperfüzyon karşılaştırıldığında ise, kontrol grubu dışındaki gruplarda anlamlı olarak azalma görülmektedir. Reperfüzyon sonrası bu değerler ise iskemi sonrası değerlerine oranla tüm gruplarda artmaktadır. Bu artış ise sadece kontrol grubu ve 1. grupta anlamlı olarak bulunmuştur.

Tablo 5a

ORT/SD	İÖ	İS	RS
0	1081±318	573±362	837±380
1	1049±195	509±380	745±285
2	1086±115	471±344	594±176
3	1216±232	555±211	673±128

Tablo 5b

GRUP	İÖ-İS	İÖ-RS	İS-RS
0	0.028*	0.249	0.028*
1	0.028*	0.028*	0.046*
2	0.028*	0.028*	0.249
3	0.028*	0.028*	0.345

Ort (ortalama), SD (standart sapma), İÖ (iskemi öncesi), İS (iskemi sonrası), RS (reperfüzyon sonrası), * $p < 0.05$

5. PP (Pik sistolik basıncı-Minimum balon basıncı):

İskemi sonrası ve reperfüzyon sonrası değerleri kontrol grubu dışında başlangıç değerlerine göre anlamlı olarak düşüktür. Reperfüzyon sonrası değerleri ise sadece 1. Grupta iskemi sonrasına göre yüksek bulunmuştur.

Tablo 6a

ORT/SD	İÖ	İS	RS
0	64.3±15.6	51.2±45.8	50.4±24.9
1	62.4±8	30.9±23.3	42±16.1
2	66.5±9.7	39±19.5	34.4±10.2
3	68.5±8.5	48±18.6	43.7±11.9

Tablo 6b

GRUP	İÖ-İS	İÖ-RS	İS-RS
0	0.249	0.173	0.463
1	0.028*	0.028*	0.173
2	0.028*	0.028*	0.173
3	0.046*	0.028*	0.6

Ort (ortalama), SD (standart sapma), İÖ (iskemi öncesi), İS (iskemi sonrası), RS (reperfüzyon sonrası), *p<0.05

6. Bpm (Dakikadaki kalp atım sayısı):

Tüm gruplarda başlangıç, iskemi sonrası ve reperfüzyon sonrası değerleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

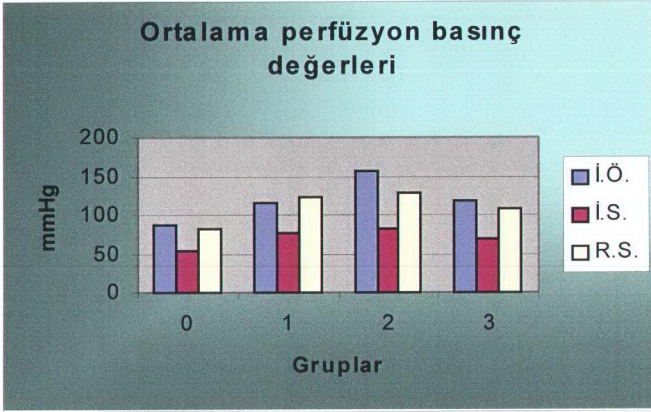
Tablo 7a

ORT/SD	İÖ	İS	RS
0	273.5±47.8	238.2±117	262.8±92.9
1	312.7±37.7	310.9±45.3	304.4±26.9
2	313.5±56.9	326.2±45	327.1±56.7
3	348.7±29.2	261.4±51.9	297.3±51.6

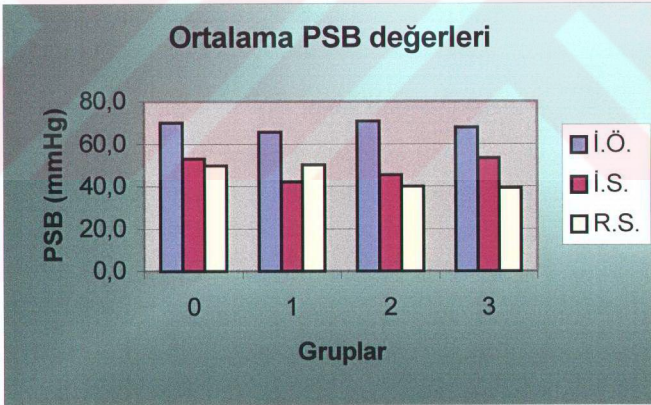
Tablo 7b

GRUP	İÖ-İS	İÖ-RS	İS-RS
0	0.463	0.753	0.116
1	1	0.6	0.528
2	0.345	0.6	0.753
3	0.068	0.056	0.345

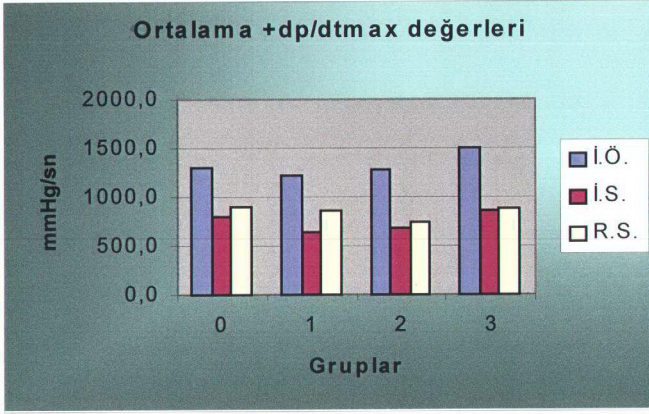
Ort (ortalama), SD (standart sapma), İÖ (iskemi öncesi), İS (iskemi sonrası), RS (reperfüzyon sonrası) , *p<0.05



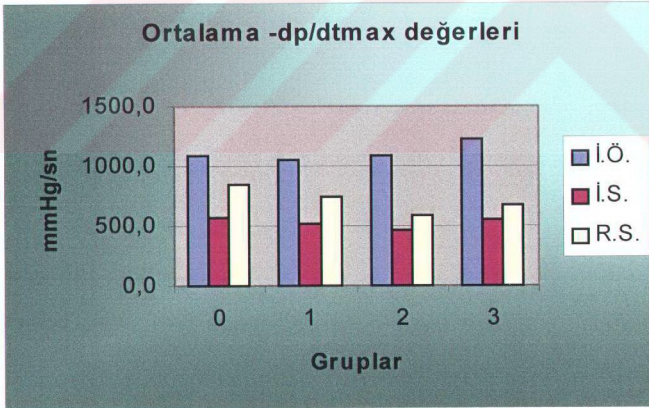
Grafik 1. Mean P değerleri. Ort (ortalama), SD (standart sapma), İÖ (iskemi öncesi), İS (iskemi sonrası), RS (reperfüzyon sonrası)



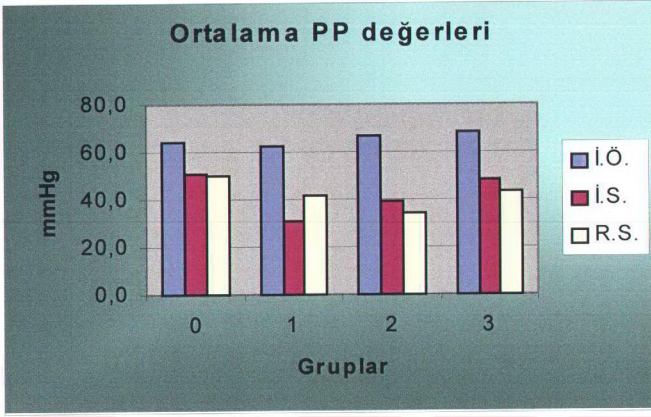
Grafik 2. PSB değerleri. Ort (ortalama), SD (standart sapma), İÖ (iskemi öncesi), İS (iskemi sonrası), RS (reperfüzyon sonrası)



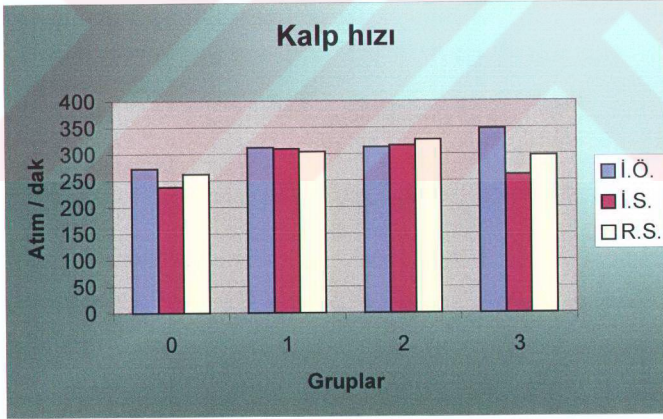
Grafik 3.Ortalama+dp/dtm ax değerleri. Ort (ortalama), SD (standart sapma), İÖ (iskemi öncesi), İS (iskemi sonrası), RS (reperfüzyon sonrası)



Grafik 4. Ortalama-dp/dtm ax değerleri. Ort (ortalama), SD (standart sapma), İÖ (iskemi öncesi), İS (iskemi sonrası), RS (reperfüzyon sonrası)



Grafik 5.Ortalama PP değerleri. Ort (ortalama), SD (standart sapma), İÖ (iskemi öncesi), İS (iskemi sonrası), RS (reperfüzyon sonrası)



Grafik 6. Kalp hızı değerleri. Ort (ortalama), SD (standart sapma), İÖ (iskemi öncesi), İS (iskemi sonrası), RS (reperfüzyon sonrası)

5-TARTIŞMA

Myokardiyal iskemi reperfüzyon hasarının oluşmasında, endotelden salgılanan vasodilatör maddelerle oluşan koroner vasodilatasyonun yetersizliği önemli rol oynamaktadır.

Myokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarında endotel disfonksiyonunun rolünü göstermeyi amaçlayan bir çalışmada anlamlı hücre hasarının reperfüzyondan 3 saat sonra oluştuğu, Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör (EDRF) salınımında azalmaya bağlı oluşan endotel disfonksiyonunun ise anlamlı hücre hasarı oluşmadan çok daha önce ortaya çıktığı gösterilmiştir. Sonuçta reperfüzyonun erken safhasında hızlı bir şekilde oluşan serbest oksijen radikallerinin bu durumdan sorumlu olabileceği düşünülmüştür (5, 33).

Johnson ve ark. Myokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarında Nitrik oksidin (NO) etkilerini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmalarında, genel anestezi verdikleri kedilerin göğüs kafesini açarak sol ön inen koroner arteri 30 dk süreyle kapatmışlar ve reperfüzyon döneminde intravenöz devamlı perfüzyon şeklinde NO içeren solüsyon vererek myokard hasarını incelemişlerdir. Deney grubunda, kontrol grubuna göre nekrotik alan yüzdesini daha küçük, myokardiyal myeloperoksidaz aktivitesini anlamlı olarak düşük, nekrotik alanlardaki nötrofil infiltrasyonu ve platelet agregasyonunu anlamlı olarak daha az olarak

tespit etmişlerdir. Sonuç olarak NO'in myokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarını anlamlı olarak azalttığını göstermişlerdir (34).

Lefter ve ark. izole kedi kalbinde yaptıkları çalışmalarında EDRF ile meydana gelen vasodilatasyonda reperfüzyon öncesi bir azalma olmamasına rağmen, reperfüzyon sırasında ve sonrasındaki erken dönemde (2.5 dk) anlamlı azalmanın olduğunu göstermişlerdir. Nötrofil infiltrasyonu ve myokard hücre hasarı ise reperfüzyondan 3-4.5 saat sonra başlamıştır. Süperoksit radikali oluşumunun endotel disfonksiyonunun meydana gelmesinde tetikleyici rol oynadığı ve iskemi-reperfüzyon hasarından sorumlu olduğu; endotel disfonksiyonu ve myokard hasarının, reperfüzyon öncesi dönemde verilen süperoksit dismutaz, prostasiklin analogları, TGF-Beta ile kısmen engellenebileceği gösterilmiştir (35). Bu çalışmalar iskemi-reperfüzyon hasarının fizyopatolojisinde anormal endotel fonksiyonunun önemini göstermektedir.

Brunet ve ark. sıçanlarda yeni geliştirilen bir in-vivo mikrovasküler permeabilizasyon modelinde, kalsiyum dobesilat'ın periton boşluğunda serbest oksijen radikalleri ile oluşan mikrovasküler permeabiliteyi azalttığını göstermişlerdir (36). Yine aynı araştırmacıların yaptıkları başka bir çalışmada, sığır aort endotel hücre kültürlerinde kalsiyum dobesilat'ın hidrojen peroksit ile oluşturulan sitozolik serbest kalsiyum artışını ve phenazine methosulfate ile oluşturulan sitozolik potasyum düşüşünü azalttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak kalsiyum dobesilat'ın

serbest oksijen radikalleri ile oluşan hücre hasarını azalttığı gösterilmiştir (37).

Ruiz ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada yüksek doz vitamin D₂ verilerek endotel hasarı oluşturulan tavşanlara değişik sreler oral kalsiyum dobesilat verilmiş ve daha sonra aort kontraksiyon-gevşeme yanıtlarına bakılarak kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Otuz gün süresince kalsiyum dobesilat ile tedavi edilen grupta endotel fonksiyonlarının düzeldiği gösterilmiştir (38).

Huttl ve ark. sıçanlarda koroner oklüzyon yaparak akut myokard infarktüsü oluşturmuşlar ve kalsiyum dobesilatın mortalite ve infarkt alanı üzerine etkilerini araştırmışlardır. İntravenöz kalsiyum dobesilat uygulanan grupta, plasebo uygulanan gruba oranla ilk 6 saatte meydana gelen mortaliteyi anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Yapılan benzer bir çalışmada ise köpeklerde koroner arter oklüzyonu ile oluşturulan myokardiyal infarkt alanının kalsiyum dobesilat ile azaltıldığı kanıtlanmıştır (39).

Kalsiyum dobesilatın ilk defa myokard infarktüsü geçiren 100 hastadaki etkileri plasebo grubu ile karşılaştırılmış ve kalsiyum dobesilat grubunda infarkt alanlarında erken dönemde anlamlı olarak azalma saptanmış olup ayrıca enzim düzeyleri ve EKG bulgularında hızlı düzelme görülmüş, narkotik analjezik ve nitrogliserin ihtiyaçları daha az olmuştur (40).

Ayrıca kalsiyum dobesilatın histamin, serotonin ve bradikinin gibi vazoaaktif maddelerle meydana gelen kapiller permeabilityyi azalttığı (10), platelet adhezyon ve agregasyonunu Platelet Activating Factor (PAF) sentezini azaltarak engellediği (11,12), eritrosit agregasyonunu azaltarak flexibilitelerini artırdığı, kan viskozitesini azaltarak mikrosirkülasyonu düzenlediği ve bozulmuş olan doku oksijen tüketimini normale döndürdüğü (13,14,15), Serbest oksijen radikali temizleyicisi ve antioksidan olduğu (16), NO sentetaz aktivitesini artırarak NO sentezini uyarmaktadığı (17) yapılan değişik çalışmalarda gösterilmiştir.

Çalışmamızda **meanP** (koroner arterleri perfüze eden ortalama basınç) değerlerine bakıldığında, tüm gruplarda başlangıç değerlerine göre iskemi sonrası anlamlı olarak azaldığı ve reperfüzyon sonrası arttığı görülmektedir. Bu artış kontrol grubunda anlamlı değil iken, deney gruplarının tümünde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca reperfüzyon sonrası değerleri, 1. Grupta başlangıç değerlerinden de yüksek olarak bulunmuştur (tablo 2a, 2b, grafik 1).

PSB (sol ventrikül içi maksimum basıncı) değerlerine bakıldığında ise iskemi sonrası ve reperfüzyon sonrası değerlerinin tüm gruplarda başlangıç değerlerine göre düşük olduğu ve bu düşmenin 1, 2 ve 3. gruplarda anlamlı olduğu, reperfüzyon sonrası ise sadece 1. Grupta iskemi sonrası değerlerine göre bir artış olmakla birlikte bu artışın anlamlı olmadığı görülmüştür (tablo 3a, 3b, grafik 2).

+dp/dt_{max} (kasılma gücünün zamana göre değişimi) değerleri incelendiğinde iskemi sonrası değerlerinin tüm gruplarda başlangıç değerlerine göre anlamlı olarak düşük olduğu görülmekte, başlangıç ve reperfüzyon karşılaştırıldığında ise kontrol grubu dışındaki gruplarda anlamlı olarak azalma görülmektedir. Reperfüzyon sonrasında ise bu değerler iskemi sonrası değerlerine oranla tüm gruplarda artmaktadır. Reperfüzyon sonrası bu artış hiçbir grupta anlamlı olmamakla birlikte en fazla 1. Grupta olmuştur (tablo 4a, 4b, grafik 3).

-dp/dt_{max} verileri, iskemi sonrası değerlerinin tüm gruplarda başlangıç değerlerine göre anlamlı olarak düşük olduğunu göstermektedir. Başlangıç ve reperfüzyon karşılaştırıldığında ise kontrol grubu dışındaki gruplarda anlamlı olarak azalma görülmektedir. Reperfüzyon sonrası bu değerler ise iskemi sonrası değerlerine oranla tüm gruplarda artmaktadır. Bu artış ise sadece kontrol grubu ve 1. grupta anlamlı olarak bulunmuştur (tablo 5a, 5b, grafik 4).

PP (Pik sistolik basınç-Minimum balon basıncı) verileri incelendiğinde, iskemi sonrası ve reperfüzyon sonrası değerlerinin, kontrol grubu dışında başlangıç değerlerine göre anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür. Reperfüzyon sonrası değerleri ise sadece 1. grupta iskemi sonrasına göre yüksek bulunmuştur (tablo 6a, 6b, grafik 5).

Bpm (Dakikadaki kalp atım sayısı) değerleri tüm gruplarda başlangıç, iskemi sonrası ve reperfüzyon sonrası değerleri arasında anlamlı farklılık olmadığını göstermektedir (tablo 7a, 7b, grafik 6).

Bu bulgular kalsiyum dobesilat'ın kalbin mekanik fonksiyonları üzerine (PSB, $+dp/dt_{max}$, $-dp/dt_{max}$, PP) doğrudan olumlu etkilerinin olmadığını göstermektedir. Ancak meanP (koroner arterleri perfüze eden ortalama basınç) değerlerinin kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda reperfüzyon sonrası dönemde anlamlı olarak artışı göze çarpmaktadır. Yine meanP değerinin 1. grupta başlangıç değerlerinden de yüksek olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak kalsiyum dobesilat'ın koroner arterleri perfüze eden ortalama perfüzyon basıncı üzerine olumlu etkileri olduğu görülmüştür. Ayrıca sadece iskemi öncesi dönemde kalsiyum dobesilat ile perfüzyon yapılan 1. grupta mekanik fonksiyonları (istatistiksel olarak PP değerleri dışında anlamlı olmamakla beraber) olumlu yönde etkilemesi dikkat çekicidir.

Reperfüzyon hasarına bağlı endotel disfonksiyonu çok erken dönemde meydana gelmesine rağmen, myokard hücre hasarı reperfüzyondan saatler sonra oluşmaktadır (35). Dolayısıyla mekanik fonksiyon bozukluğu erken dönemde oluşmayabilir. Fakat geç dönemde gelişen myokard hücre hasarını tetikleyen mekanizmanın endotel disfonksiyonu olduğu unutulmamalıdır (5, 33)

Çalışmamızda, kalsiyum dobesilatın koroner perfüzyon basıncını artırdığı görülmüştür.

Bu etkisini ise, EDRF (endothelium derived releasing factor) salgılanmasını artırarak ve antioksidan bir madde olması sebebiyle reperfüzyon hasarının erken döneminde meydana gelen endotel disfonksiyonunu azaltarak gerçekleştirdiği düşünülebilir.

Kalsiyum dobesilatın, reperfüzyonun erken safhasında serbest oksijen radikalleri ile oluşan endotel disfonksiyonunu azaltarak geç dönemde ortaya çıkan myokardiyal hücre hasarını azaltabileceğini düşünüyoruz.



6-SONUÇ

Langendorff sisteminde perfüze edilen izole sıçan kalbi modelinde, kalsiyum dobesilat'ın kalbin mekanik fonksiyonları üzerine etkisi araştırıldı.

Etken maddenin, kalbin mekanik fonksiyonlarına doğrudan olumlu etkisinin olmadığı görüldü. Fakat koroner arterleri perfüze eden ortalama basınç değerlerini (meanP) kontrol grubu dışındaki gruplarda anlamlı olarak artırdığı gösterildi.

Bu etkisini ise, EDRF (endothelium derived releasing factor) salgılanmasını artırarak ve antioksidan bir madde olması sebebiyle reperfüzyon hasarının erken döneminde meydana gelen endotel disfonksiyonunu azaltarak gerçekleştirdiği düşünülebilir.

Kalsiyum dobesilat'ın, reperfüzyonun erken safhasında serbest oksijen radikalleri ile oluşan endotel disfonksiyonunu azaltarak geç dönemde ortaya çıkan myokardiyal hücre hasarını azaltabileceği düşünülmektedir.

7-ÖZET

Kalsiyum dobesilat, hemorheolojik parametreler üzerine olumlu etkileri olan anjioprotektif bir ajandır. Kan ve plasma viskozitesini, trombosit agregasyonunu ve mikrovasküler hiperpermeabiliteyi azaltmaktadır. Antioksidan bir madde olup, endotel kaynaklı vazodilatör maddelerin salınımını artırmaktadır. Bu deneysel çalışmada kalsiyum dobesilat'ın myokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarındaki rolü araştırıldı.

Langendorff düzeneğinde 24 adet erişkin Wistar albino türü sıçan kalbi perfüze edildi. MeanP (koroner arterleri perfüze eden ortalama perfüzyon basıncı), PSB (sol ventrikül maksimum basıncı), $+dp/dt_{max}$ (kasılma gücünün zamana göre değişimi), $-dp/dt_{max}$ (gevşeme gücünün zamana göre değişimi), PP (pik sistolik basınç-minimum balon basıncı) ve bpm (dakikadaki kalp atım sayısı) değerlendirildi.

Kontrol grubu (n=6) sadece Tyrode solüsyonu ile perfüze edildi. Diğer 3 grup (her grup için n=6) Tyrode solüsyonu içine ilave edilen kalsiyum dobesilat ile iskemi öncesi, iskemi öncesi+reperfüzyon dönemi ve yalnız reperfüzyon döneminde perfüze edildiler.

MeanP değerleri, kalsiyum dobesilat ile perfüze edilen gruplarda anlamlı olarak yüksek bulundu. Diğer parametreler için kalsiyum dobesilat'ın anlamlı olarak olumlu bir etkisi görülmedi.

Bu çalışma, kalsiyum dobesilat'ın izole perfüze sıçan kalbinde kardiyoprotektif etkileri olabileceğini göstermiştir. Kalsiyum dobesilat ile

perfüze edilen kalplerde meanP artışı, endotel kaynaklı vasodilatör maddelerin artışı ile açıklanabilir. Kalsiyum dobesilat'ın myokardiyal koruyucu etkilerinin tam olarak ortaya konulabilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.



8-SUMMARY

Calcium dobesilate is an angioprotective agent, which reduces blood and plasma hyperviscosity, improves microvascular hyperpermeability, possesses platelet antiaggregatory activity, increases endothelium dependent relaxation and has antioxidant properties. In this experimental study the role of Calcium Dobesilate in myocardial ischemia-reperfusion injury was investigated.

The hearts of 24 adult Wistar Albino rats were used in the Langendorff perfusion apparatus. Mean pressure, peak systolic pressure, $+dp/dt_{max}$, $-dp/dt_{max}$, peak to peak pressure, and heart rate values were determined. In the control group (n: 6) Tyrode solution was perfused only. In other 3 groups (n: 6, for each) Calcium Dobesilate enriched Tyrode solution was used at the preischemic period, or at preischemic+reperfusion periods or at the reperfusion period.

Mean pressure values were found to be significantly high in all Calcium Dobesilate treated hearts. The other parameters did not revealed any statistically significant difference.

This study revealed the cardioprotective effect of Calcium Dobesilate in isolated perfused rat hearts. The possible explanation might be improvement of the endothelium dependent vasodilatation as shown by higher mean pressure values seen in Calcium Dobesilate treated hearts. Further experimental and clinical studies will clarify the probable role of this drug in the era of myocardial protection.

8-KAYNAKLAR

1. Buckberg GD, Allen BS: Myocardial Protection Management During Adult Cardiac Operations. Glenn's Thoracic and Cardiovascular Surgery. Arthur E. Bave (ed), Prentice Hall Int. , 6th edition 1996: 1653-1687.
2. Bolli R, Hartley CJ, Rabinovitz RS: Clinical response of myocardial "stunning". Stunning, Hibernation and Calcium in Myocardial Ischemia and reperfusion. Lionel H. Opie (ed), Kluwer Academic Pub. 1992: 56-82.
3. Seccombe JF, Schaff HV. Coronary artery endothelial function after myocardial ischemia and reperfusion. Ann Thorac Surg 1995; 60: 778-88.
4. Opie LH. Reperfusion injury and its pharmacological modification. Circulation 1989; 80: 1049-62.
5. Tsao PS, Lefer AM. Time course of mechanism of endothelial dysfunction in isolated ischemic and hypoxic-perfused rat hearts. Am J Physiol 1990; 259: H1660-6.
6. Moncada S, Higgs A. The L-arginin-nitric oxide pathway. N Engl J Med 1993; 329: 2002-12.

7. Rees D, Palmer R, Moncada S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 3375-81.
8. Radomsky MW, Palmer RMJ, Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet* 1987; 2: 1057-59.
9. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 4651-55.
10. Zimmerman GA, Prescott SM, McIntyre TM. Endothelial cell interactions with granulocytes: tethering and signalling molecules. *Immunol Today* 1992; 13: 93-8.
11. De Courten A. Doxium[®] in capillary dysfunctions. *OM Medical Digest* 1979; 1.
12. Heidrich H, Gerke E, Nekarda H. Inhibition of platelet aggregation under calcium dobesilate. *Arzneimittel Forschung* 1977; 27: 1073-76.
13. Vinazzer H, Hachen HJ. Influence of calcium dobesilate (Doxium[®]) on blood viscosity and coagulation parameters in diabetics with retinopathy and glaucoma: a double blind controlled study. *Ophth Res* 1984; 16: 150-62.

14. Salama BI, Brodsky M, Rubinstein A. Treatment of blood hyperviscosity with calcium dobesilate in patients with diabetic retinopathy. *Optht Res* 1985; 17: 131-38.
15. Vojnikovic B. Hyperviscosity in whole blood, plasma, and aqueous humor decreased by calcium dobesilate in diabetics with retinopathy and glaucoma: a double-blind controlled study. *Optht Res* 1984; 16: 150-62.
16. Barras JP, Graf C. Hyperviscosity in diabetic retinopathy treated with Doxium[®] (calcium dobesilate). *VASA* 1980; 9: 161-64.
17. Brunet J, Farine JC, Garay RP, Hannaert P. In vitro antioxidant properties of calcium dobesilate. *Fund Clin Pharmacol* 1998; 12: 205-12.
18. Suschek C, Kolb H, Bachofen VK. Dobesilate enhances endothelial nitric oxide synthase-activity in macro- and microvascular endothelial cells. *Br J Pharmacol* 1997; 122: 1502-8.
19. Budrikis A, Bolys R, Liao Q, Ingemansson R, Sjöberg T, Steen S. Function of adult pig hearts after 2 and 12 hour of cold cardioplegic preservation. *Ann Thorac Surg* 1998; 66:73-8.
20. Taegtmeyer H. One hundred years ago: Oscar Langendorff and the birth of cardiac metabolism. *Can J Cardiol* 1995; 11(11):1030-5.
21. Braunwald E, Sonnenblick EH, Ross J. Normal and abnormal circulatory function. *Heart disease; A textbook of cardiovascular*

- medicine. Eugene Braunwald (ed), W. B. Saunders, 4th edition 1992; 351-92.
- 22.** Ganong WF. Excitable tissue: Muscle, review of medical physiology. William F. Ganong (ed), 15th edition, Appleton & Lange 1991;57-75.
- 23.** Zipes DP. Genesis of cardiac arrhythmias: electrophysiological consideration. Heart disease; A textbook of cardiovascular medicine. Eugene Braunwald (ed), McMillan publishing, 7th edition 1997; 809-38.
- 24.** Kelly RA, Smith TW. Pharmacological treatment of the heart failure. Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics. Goodman AG (ed), McMillan publishing, 7th edition 1997; 809-38.
- 25.** Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 1982; 66: 1146-9.
- 26.** Bolli R. Mechanism of myocardial "stunning". *Circulation* 1990; 82: 723-38.
- 27.** Poole-Wilson PA, Holmberg SRM, Williams AJ. A possible molecular mechanism for "stunning" of the myocardium. *Eur Heart J* 1991; 12 (suppl F): 25-9.
- 28.** Hearse DJ. Stunning: a radical review. *Cardiovascular Drugs Ther* 1991; 5: 853-76.
- 29.** Bolli R. Basic and clinical aspects of myocardial stunning. *Prog Cardiovasc Dis* 1998;40: 447-516.

30. Kusuoka H, Makbon E. Cellular mechanisms of myocardial stunning. *Annu Rev Physiol* 1992; 54: 243-56.
31. Heusch G. Myocardial stunning: a role for calcium antagonists during ischemia? *Cardiovasc Res* 1992; 26: 14-9.
32. Kusuoka H, Porterfield JK, Weisman HF, Weisfeldt ML, Marban E. Pathophysiology and pathogenesis of stunned myocardium. Depressed Ca^{2+} activation of contraction as a consequence of reperfusion-induced cellular calcium overload in ferret hearts. *J Clin Invest* 1987; 79: 950-61.
33. Tsao PS, Aoki N, Lefer DJ, Johnson G, Lefer AM. Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during myocardial ischemia and reperfusion in the cat. *Circulation* 1990; 82 (4): 1402-12.
34. Johnson G, Tsao PS, Lefer AM. Cardioprotective effects of authentic nitric oxide in myocardial ischemia with reperfusion. *Crit Care Med* 1991; 19 (2): 244-52.
35. Lefer AM, Tsao PS, Lefer DJ, Ma XL. Role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of reperfusion injury after myocardial ischemia. *FASEB J* 1991; 5(7): 2029-34.
36. Brunet J, Farine JC, Garay RP, Hannaert P. Angioprotective action of calcium dobesilate against reactive oxygen species-induced capillary permeability in the rat. *Eur J Pharmacol* 1998; 358(3): 213-20.

37. Brunet J, Farine JC, Garay RP, Hannaert P. In vitro antioxidant properties of calcium dobesilate. *Fundam Clin Pharmacol* 1998; 12 (2): 205-12.
38. Ruiz E, Tejerina T. Calcium dobesilate increases endothelium-dependent relaxation in endothelium-injured rabbit aorta. *Pharmacol Res* 1998; 38 (5): 361-6.
39. Huttl K, Hollenberg NK. Effect of CLS 2210 (calcium dobesilate) on survival and myocardial infarction size in the rat: influence of dose and duration of treatment. *Cardiology* 1992; 80 (1):28-33.
40. Szlavay L, Repa I, Hachen HJ. The influence of CLS 2210 on the course of myocardial infarction: a pilot study in man. *Angiology* 1991; 42 (8): 639-47.