

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

171939

**SIÇAN AKCİĞERİNDE OLUŞTURULAN
İSKEMİK ÖNKOŞULLAMANIN
KALPTEKİ İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE ETKİLERİ**

Dr. Hasan AKKOÇ

(UZMANLIK TEZİ)

**TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Ramazan ÇİÇEK**

DİYARBAKIR- 2006

TEŞEKKÜR

İhtisas öğrenimim ve tez çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Ramazan ÇİÇEK'e teşekkür ederim.

Çalışmamın biyokimyasal analizinde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Naime CANORUÇ ve Uzm. Dr. Ebru KALE'ye, histopatolojik incelemeleri yapan Doç. Dr. Nihal KILINÇ'a ve çalışmanın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. İlker KELLE'ye teşekkür ederim.

Bu tez Dicle Üniversitesi Araştırma Proje Koordinatör'lüğü tarafından desteklenmiştir.



ÖZET

Tek veya tekrarlayan kısa süreli iskemi-reperfüzyon periyotlarının daha uzun süreli iskemik periyotlarda gelişebilecek organ, doku veya hücre hasarına karşı belirgin bir direnç oluşturması ile gerçekleşen koruyucu mekanizmaya iskemik önkoşullama denir. İskemik önkoşullama korumasının oluşumunda adenosin, bradikinin, opioid reseptörler, serbest radikaller ve nitrik oksit gibi endojen maddeler tetikleyici olarak rol alırlar. Tetikleyici maddeler başlattıkları bir dizi reaksiyon ile aktive ettikleri protein kinaz C aracılığıyla sarkolemmal ve mitokondriyal K^{+}_{ATP} kanallarının açılmasına neden olurlar. İskemik önkoşullamanın uç efektörü olarak tanımlanan K^{+}_{ATP} kanalları, hücre içi Ca^{++} düzeylerine ve aksiyon potansiyel süresine olan etkisiyle korumanın oluşumunda kritik bir rol oynar. Bir organ veya dokunun iskemi ve reperfüzyonu ile oluşturulan önkoşullama, başka bir arterin beslediği organ veya dokuyu da önkoşullayarak koruyucu etki gösterebilir. Bu durum uzak iskemik önkoşullama olarak adlandırılır. Bugüne kadar kalpteki iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine renal, mezenterik, infrarenal aorta ve ekstremitte arterleri üzerinde oluşturulan önkoşullamanın etkileri incelenmiş olup, sonuç olarak uzak iskemik önkoşullamanın klasik önkoşullamaya benzer mekanizmalarla olduğu öne sürülmüştür. Biz de bu çalışmamızda sıçan akciğerinde oluşturduğumuz önkoşullamanın kalpteki iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarı üzerindeki etkilerini incelemeyi hedefledik. Çalışmamızda toplam 24 adet (n=6) Sprague-Dawley sıçan kullandık. Sıçanları 120 mg/kg dozunda intraperitoneal tiyopental sodyum ile anestezize ettik. Deney süresince hayvanların vücut ısısının 37 ± 1 °C, tidal volümün 1 ml/100 gr, solunum sayısının dakikada 60 olmasını sağladık. Tüm cerrahi işlemler süresince belirgin aritmi oluşan, ortalama arteriyel kan basınç değerleri kalıcı bir şekilde 60 mmHg' nin altına düşen ve çalışma sonunda alınan arteriyel kan örneklerinde pH değeri 7.35- 7.45, parsiyel karbondioksit değeri 32-48 mmHg aralığı dışında olan sıçanları çalışma dışı bıraktık. Sıçanlara intravenöz yolla 200 İU/kg heparin uygulamasından sonra sol parasternal torakotomi ile göğüs kafesini açtık. Kalpteki uygulamalarımız için sol koroner arteri ve akciğerdeki uygulamalar için ise sol pulmoner arteri kullandık. Akciğeri, önkoşullama oluşturmak için, 3 siklüs halinde, her seferinde 5 dakika iskemi + 10 dakika reperfüzyona maruz bıraktık. Grupları şu şekilde oluşturduk; Grup 1: Kalpte iskemi (30 dk), Grup 2: Kalpte iskemi (30 dk) + reperfüzyon (60 dk), Grup 3:

Akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi (30 dk), Grup 4: Akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi (30 dk) + reperfüzyon (60 dk). Deney sonrası aldığımız sol kalp doku örneklerinde histopatolojik incelemeyle birlikte yüksek performanslı likit kromatografi kullanarak kalp dokusundaki malondialdehit ile pürin nükleotid düzeylerini analiz ettik. Grup 3 ve 4' teki malondialdehit değerlerini ($0,26 \pm 0,02$ ve $0,24 \pm 0,02$ $\mu\text{mol/L}$), grup 1 ve 2'ye ($0,42 \pm 0,04$ ve $0,35 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/L}$) göre anlamlı olarak düşük bulduk ($n=6$, $p < 0.01$). İskemik önkoşullama gruplarıyla önkoşullamasız gruplar arasında yaptığımız karşılaştırmada önkoşullama yapılan gruplarda kalp dokusundaki adenosin düzeylerini anlamlı olarak düşük (grup1: $1,43 \pm 0,13$, grup 2: $1,11 \pm 0,06$, grup 3: $0,97 \pm 0,08$, grup 4: $0,81 \pm 0,08$ $\mu\text{gr/ml}$), adenosin trifosfat düzeylerini ise (grup1: $3,20 \pm 0,10$, grup 2: $3,34 \pm 0,12$, grup 3: $4,24 \pm 0,20$, grup 4: $5,95 \pm 0,25$ $\mu\text{gr/ml}$) anlamlı olarak yüksek bulduk ($n=6$, $p < 0.01$). Sonuç olarak akciğerde oluşturulan iskemik önkoşullamanın kalpteki iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarı üzerinde koruyucu etkisinin olduğunu ve bu etkinin miyokardiyal adenosin düzeyleri ile ilişkili olduğunu söyleyebiliriz.

Anahtar kelimeler: Sıçan, kalp, akciğer, uzak iskemik önkoşullama, adenosin

ABSTRACT

Ischemic preconditioning, is a protective mechanism elicited by single or repeating brief episodes of ischemia-reperfusion which constitutes a resistance against cell, tissue or visceral injury caused by prolonged episodes of ischemia. It has been shown that endogenous substances such as adenosine, bradykinin, opioid receptors, free radicals and nitric oxide play a role in majority of protective effect of ischemic preconditioning. These endogenous substances induce the opening of sarcolemmal and mitochondrial K^+_{ATP} channels via triggering a row of reactions which is resulting with activation of protein kinase C. K^+_{ATP} channels, which has known as the end-effector of ischemic preconditioning, play a critical role on intracellular Ca^{++} levels and duration of action potential. Ischemia and reperfusion of a tissue or a viscera may also show a protective effect such as development of preconditioning on the other tissues which have another source of arterial blood flow. This mechanism of action is known as ischemic preconditioning. The effects of remote preconditioning which is formed by renal, mesenteric, infrarenal aorta and extremity artery occlusion on myocardial ischemia-reperfusion injury has been investigated in many experimental studies up to date. It has concluded that remote preconditioning is formed by similar mechanisms involving in ischemic preconditioning. In this study, we have investigated the effects of preconditioning induced by pulmonary artery occlusion on myocardial ischemia and ischemia-reperfusion injury on a rat model. For this purpose, we used adult, in both sex, 24 Sprague-Dawley rats (n=6). The rats were anesthetized intraperitoneally with thiopental sodium (120 mg/kg). Body temperature was maintained at $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Respiration was maintained artificially as 1 ml/kg for tidal volume and 60 breaths per minute for respiratory rate. The rats which have developed arrhythmias or whose arterial blood pressure has decreased less than 60 mmHg permanently were excluded throughout the experiments. Arterial blood samples were taken at the end of experimental procedure. The values of arterial blood samples which differ from 32-38 mmHg for PCO_2 and 7,35-7,45 for pH were also excluded of assessment. The rat was given 200 IU/kg heparin intravenously. Following this, the chest was opened by left thoracotomy. Left coronary artery was used in order to obtain myocardial ischemia and ischemia-reperfusion injury, left pulmonary artery was used for

pulmonary ischemic preconditioning respectively. Pulmonary ischemic preconditioning was obtained with a sequence of three cycles of 5 min left pulmonary artery occlusion and 10 min reperfusion. There were four experimental groups; Group 1: 30 min myocardial ischemia induced by left coronary artery occlusion, Group 2: 30 min left coronary artery occlusion followed by 60 min reperfusion, Group 3: Pulmonary ischemic preconditioning followed by 30 min left coronary artery occlusion, Group 4: Pulmonary ischemic preconditioning followed by 30 min left coronary artery occlusion and 60 min reperfusion. Left ventricular tissue specimens were assessed histopathologically. Malonyldialdehyde and purine nucleotide levels of myocardial tissue were measured by high performance liquid chromatography. The levels of malonyldialdehyde in group 3 and 4 ($0,26 \pm 0,02$ and $0,24 \pm 0,02$ $\mu\text{mol/L}$ respectively) were significantly lower than group 1 and 2 ($0,42 \pm 0,04$ and $0,35 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/L}$ respectively) ($n=6$, $p < 0.01$). The comparison between ischemic preconditioning groups and groups without preconditioning has showed that adenosine levels of myocardial tissue were decreased (Group 1: $1,43 \pm 0,13$, Group 2: $1,11 \pm 0,06$, Group 3: $0,97 \pm 0,08$, Group 4: $0,81 \pm 0,08$ $\mu\text{g/ml}$) while adenosine triphosphate levels were increased (Group 1: $3,20 \pm 0,10$, Group 2: $3,34 \pm 0,12$, Group 3: $4,24 \pm 0,20$, Group 4: $5,95 \pm 0,25$ $\mu\text{g/ml}$) in ischemic preconditioning groups (3, 4) ($n=6$, $p < 0.01$). As a conclusion, remote preconditioning evoked by pulmonary artery occlusion and reperfusion may induce a protective effect against myocardial ischemia and ischemia-reperfusion injury. It can be suggested that the protective effect of remote preconditioning is related with myocardial adenosine.

Key Words: Rat, heart, pulmonary, remote ischemic preconditioning, adenosine.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
▪ BOŞ SAYFA	i
▪ İÇ KAPAK SAYFASI	ii
▪ TEŞEKKÜR SAYFASI	iii
▪ ÖZET	iv
▪ ABSTRACT	vi
▪ İÇİNDEKİLER	viii
▪ SİMGELER ve KISALTMALAR	x
▪ ŞEKİLLER	xiii
▪ GRAFİKLER	xiv
▪ TABLOLAR	xv
▪ RESİMLER	xvi
▪ GİRİŞ	1
▪ GENEL BİLGİLER	2
2.1. İskemi	2
2.2. Reperfüzyon	3
2.3. Reperfüzyon Hasar mekanizmaları	3
2.3.1. Serbest Radikaller	3
2.3.2. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi	15
2.3.3 Trombositler	15
2.3.4 Kontraktür	15
2.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Kalp Üzerindeki Etkileri	16
2.5. İskemik Önkoşullama	17
2.6. İskemik Önkoşullama Mekanizmaları	19
2.6.1. Adenozin	20
2.6.2. Bradikinin	21
2.6.3. Opioid Resepörler	23
2.6.4. Siklookksijenaz ve Lipoksijenaz Ürünleri	24
2.6.5. Norepinefrin, Anjiyotensin, Endotelin	24
2.6.6. Serbest Radikaller	24
2.6.7. Nitrik Oksit	25

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
2.6.8. Kalsiyum	25
2.6.9. G Proteinleri ve Fosfolipazlar	26
2.6.10. Protein Kinaz C	26
2.6.11. Tirozin Kinaz	27
2.6.12. Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinazlar	28
2.6.13. Isı Şoku Proteinleri	29
2.6.14. Endotoksin	29
2.6.15. Tümör Nekroze Edici Faktör- α	30
2.6.16. ATP-ye Duyarlı Potasyum Kanalları	30
2.7. Uzak İskemik Önkoşullama	31
2.8. Kalp Anatomi ve Fizyolojisi	33
2.8.1. Kalp Anatomisi	33
2.8.2. Kalp Fizyolojisi	35
▪ MATERYAL ve METOD	43
3.1. Materyal	43
3.1.1. Kullanılan Deney Hayvanları	43
3.1.2. Kullanılan İlaç ve Kimyasal Maddeler	43
3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar	44
3.2. Metod	45
3.2.1. Cerrahi Metod	45
3.2.2. Biyokimyasal Analizler	47
3.2.3. Histopatolojik Analiz	49
3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme	50
▪ BULGULAR	51
4.1. MDA Bulguları	51
4.2. Pürin Nükleotid Bulguları	52
4.3. Histopatolojik Bulgular	59
▪ TARTIŞMA	63
▪ KAYNAKLAR	70

SİMGELER ve KISALTMALAR

ATP	Adenozin trifosfat
SOR.....	Serbest oksijen radikalleri
İS.....	İskemi
NO.....	Nitrik oksit
NADPH.....	Nikotinamid adenin dinükleotidfosfat
NAD ⁺	Nikotinamid adenin dinükleotid
Ca ⁺⁺	Kalsiyum
İR.....	İskemi-reperfüzyon
FAD.....	Flavin adenin dinükleotid
SOD.....	Süperoksit dismutaz
Fe ^{IV}	Ferril demir
Fe ^V	Perferril demir
MPO.....	Myeloperoksidaz enzimi
NOS.....	Nitrik oksit sentaz
nNOS.....	Nöronal nitrik oksit sentaz
eNOS.....	Endotelyal nitrik oksit sentaz
iNOS.....	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
NO ₃ ⁻	Nitrat
MDA.....	Malondialdehit
K ⁺	Potasyum
Mg ²⁺	Magnezyum
RAA.....	Renin-anjiyotensin- aldosteron
İÖ.....	İskemik önkoşullama
AMI.....	Akut miyokard infarktüsü
A-V.....	Atriyoventriküler
ADO.....	Adenozin
AMP.....	Adenozin monofosfat
CCPA.....	2-kloro-N ⁶ -siklofentaladenozin
IB-MECA.....	N ⁶ -(3-iodobenzil)-adenozin-5'-N-metil-uronamid
8-SPT.....	8-(p-sulfofenil)-teofilin
PKC.....	Protein kinaz C

K _{ATP} kanalları.....	ATP'ye duyarlı potasyum kanalları
PG.....	Prostaglandin
ADE.....	Anjiotensin dönüştürücü enzim
G Protein.....	Güanozin trifosfat bağlayan düzenleyici proteinler
HOE-140.....	İkatibant
SSS.....	Santral sinir sistemi
POMK.....	Proopiomelanokortin
MPG.....	N-2-merkaptopropiyonil-glisin
L-NNA.....	L-N-nitro-arjinin
L-NAME.....	L-N-nitro-arjinin-metil-ester
L-NMMA.....	L-N-monometil-arjinin
MAPK.....	Mitojen aktivasyonlu protein kinaz
G _i	İnhibitör G proteini
FLC.....	Fosfolipaz C
İP ₃	İnozitoltrifosfat
DAG.....	Diçilgliserol
FLD.....	Fosfolipaz D
TK.....	Tirozin kinaz
MEK.....	Mitojenle aktive edilen protein kinaz kinazı
ERK.....	Ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinazlar
JNK.....	Stres aktivasyonlu protein kinazlar
p38 MAPK.....	p38 mitojenle aktive edilen protein kinazlar
MAPKAPK-2.....	MAPK' larla aktive edilen protein kinaz-2
p90rsk.....	p90 ribozomal S6 protein kinaz-2
MLA.....	Monofosforil lipid A
TNF- α	Tümör nekroze edici faktör- α
5-HD.....	5-hidrosidekonoat
UİÖ.....	Uzak iskemik önkoşullama
T tübül.....	Transvers tübül
EKG.....	Elektrokardiyogram
SKA.....	Sol koroner arter
SPA.....	Sol pulmoner arter

YPLK.....	Yüksek Performanslı Likit Kromatografi
ADP.....	Adenozin difosfat
H-E.....	Hematoksilen-Eozin



ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.3.1.: İyi bilinen serbest radikaller veya reaktivitesi fazla olan moleküller.	4
2.3.2.: Enzimatik yolla serbest oksijen radikali oluşumuna yol açan tepkimelerden bazıları.	6
2.3.3.: Serbest oksijen radikal ürünlerinin enzimatik olmayan kaynakları.	7
2.3.4.: Süperoksit radikalinden hidrojen peroksit oluşumu	8
2.3.5.: Hidroksil radikali oluşumu.	9
2.3.6.: Haber-Weiss ve Fenton tepkimesi.	9
2.3.7.: Hipoklorik asit oluşumu.	10
2.6.1.: İskemik önkoşullama oluşum mekanizmaları.	20
3.2.1.: Çalışmamızda uygulanan deneysel protokol.	46
3.2.2.: MDA pikine ait kromatogram.	47
3.2.3.: Pürin nükleotidlerine ait kromatogram	49

GRAFİKLER

Grafik	Sayfa
4.1.1.: Kalpte iskemi ve akciğerlerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi gruplarına ait MDA değerleri.	51
4.1.2.: Kalpte iskemi-reperfüzyon ve akciğerlerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon gruplarına ait MDA değerleri.	52
4.2.1.: Kalpte iskemi ve akciğerlerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi gruplarına ait adenosin değerleri.	53
4.2.2.: Kalpte iskemi-reperfüzyon ve akciğerlerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon gruplarına ait adenosin değerleri.	53
4.2.3.: Kalpte iskemi ve akciğerlerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi gruplarına ait AMP değerleri.	54
4.2.4.: Kalpte iskemi-reperfüzyon ve akciğerlerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon gruplarına ait AMP değerleri.	55
4.2.5.: Kalpte iskemi ve akciğerlerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi gruplarına ait ADP değerleri.	56
4.2.6.: Kalpte iskemi- reperfüzyon ve akciğerlerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon gruplarına ait ADP değerleri.	56
4.2.7.: Kalpte iskemi ve akciğerlerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi gruplarına ait ATP değerleri.	57
4.2.8.: Kalpte iskemi-reperfüzyon ve akciğerlerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon gruplarına ait ATP değerleri.	58
4.2.9.: Tüm gruplara ait pürin nükleotid değerleri	59

TABLÖLAR

Tablo	Sayfa
4.1.1.: Dört gruba ait MDA değerleri.	51
4.2.1.: Dört gruba ait adenzin değerleri.	52
4.2.2.: Dört gruba ait AMP değerleri.	54
4.2.3.: Dört gruba ait ADP değerleri.	55
4.2.4.: Dört gruba ait ATP değerleri.	57



RESİMLER

Resim	Sayfa
4.3.1.: Kalpte iskemi grubuna ait doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü.	60
4.3.2.: Akciğerdede iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi uygulanan gruba ait doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü.	60
4.3.3.: Kalpte iskemi-reperfüzyon grubuna ait doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü.	61
4.3.4.: Akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon uygulanan gruba ait doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü	62



GİRİŞ

İskemi veya iskemi sonrası reperfüzyona maruz kalan hücre ya da dokularda ciddi zedelenmeler oluşmaktadır. Canlı yaşamını ciddi bir şekilde tehdit eden bu olayın oluşumunu engelleyecek veya hafifletecek çeşitli yöntemler ve farmakolojik uygulamalar deneysel ve klinik çalışmalarla gösterilmiştir. Bu yöntemlerden biri de iskemik önkoşullamadır. İskemik önkoşullama tek veya tekrarlayan kısa süreli iskemik periyotların daha uzun süreli iskemik periyotlarda gelişebilecek organ, doku veya hücre hasarına karşı belirgin bir direnç oluşturması ile gerçekleşen koruyucu bir mekanizma olarak tanımlanmıştır. Bu tanımlamanın yapılmasından sonra geçen yıllar içerisinde, iki farklı arterden beslenen organ veya dokulardan birinde oluşturulan iskemik önkoşullamanın, diğer organ veya doku üzerinde de koruyucu etki gösterebileceği fikri ortaya çıkmıştır ve bu olay uzak iskemik önkoşullama olarak tanımlanmıştır.

Biz de bu çalışma ile sıçan akciğerinde oluşturduğumuz iskemik önkoşullamanın sıçan kalbindeki iskemi veya iskemi-reperfüzyon hasarına karşı: i) koruyucu etki oluşturup oluşturmadığını, ii) muhtemel bir koruyuculukta adenozinin bir rolünün olup olmadığını araştırmayı hedefledik.

GENEL BİLGİLER

2.1. İskemi

Hipoksi aerobik oksidatif solunumu etkileyen, son derece önemli ve genel bir hücre zedelenme ve ölüm nedenidir. Hipoksi kalp-akciğer yetersizliğine bağlı kanın yetersiz oksijenlenmesi ve anemi veya karbonmonoksit zehirlenmesinde olduğu gibi kanın oksijen taşıma gücünün kaybına bağlı olarak gelişebileceği gibi hipoksinin en önemli nedeni, arteriyel ya da venöz kan akımı bozukluğuna bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonuna yol açan iskemidir (İS) (1, 2).

Hipoksinin ilk zarar verdiği yer hücrenin aerobik solunumudur. Hücrede ilk etkilenen olay mitokondriyal oksidatif fosforilasyondur ve bunun sonucunda adenozin trifosfat (ATP) ve fosfokreatinin sentezinde azalma meydana gelir. Aynı zamanda hücrede adenin nükleotidinin yıkılımı artmaktadır. Bu durum serbest oksijen radikallerinin (SOR) prekürsörü olan hipoksantin hücre içi birikimine neden olur. Özellikle hücre zarında ATP aktivitesinin azalması zarda aktif sodyum pompasının yetersizliğine yol açarak hücre içi sodyum birikimine ve hücreden potasyum atılımına yol açar. Solit materyalin birikimine izoozmotik su birikimi eşlik ederek akut hücresel şişme oluşur. Hücresel ATP azlığı anaerobik glikolizisi hızlandırır. Glikolizisin artması hücre içinde laktik asit ve fosfat türevlerinin hidrolizi sonucu oluşan inorganik fosfat birikimine yol açar. Bu birikim hücre içi pH'nın düşmesine yol açar. Sonraki fenomen granüllü endoplazmik retikulumdan ribozomların ayrılması ve polizomların monozomlara parçalanmasıdır. Bu aşamaya kadar hücrede meydana gelen bozuklukların tümü oksijen verilmesiyle geri döner. Buna rağmen eğer İS sürerse geri dönüşsüz zedelenme oluşur (1, 2).

Geri dönüşsüz zedelenme morfolojik olarak mitokondrilerde aşırı vakuolizasyon, hücre zarında aşırı zedelenme, lizozomlarda şişme ve özellikle iskemik alanın yeniden kanlanması durumunda hücre içi aşırı kalsiyum (Ca^{++}) tutulumu ile birliktedir. Proteinler, temel koenzimler, ribonükleik asitler aşırı geçirgen zarlardan sürekli kaybedilir. Hücreler ATP'nin yeniden oluşumunda kullanacakları metabolitleri kaybeder ve pH'nın düşmesi lizozom zarlarının zedelenmesine ve lizozomal enzimlerin sitoplazmaya geçmesine yol açar. Bu enzimler sitoplazma ve çekirdek içi yapıların sindirimine neden olur. Sonuçta ölü hücreler myelin biçimler ve fosfolipidlerden oluşan büyük kitlelere dönüşürler.

Bunlar daha sonra diğer hücreler tarafından fagosite edilir veya yağ asitlerine parçalanırlar. Yağ asitlerinin kalsifikasyonu kalsiyum sabunları oluşur (1).

Özetle; İS nedeniyle oluşan hipoksi oksidatif fosforilasyonu etkiler ve ATP yapımını engeller; kritik noktadan sonra hücrede ATP'nin yetersizliği hücre zarında zedelenmeye yol açar. Kalsiyum hücre ölümünde görülen morfolojik değişikliklerin oluşumunda önemli rol oynar (1).

2.2. Reperfüzyon

Reperfüzyon, iskemiye maruz kalan doku ya da organların yeniden kanlanması ve oksijenlenmesi olayıdır. Reperfüzyon hasarı ise İS periyodunu izleyen yeniden kanlanma döneminde doku ya da organlarda meydana gelen hasar olarak tanımlanır (2).

Dokuların yeniden kanlanması dolayısıyla hücrelere oksijen sunulması ile İS'ye bağlı hasarın azalacağı düşünülebilir. Fakat yapılan bir çok çalışma İS periyodunu izleyen reperfüzyon döneminin, İS'ye bağlı olarak oluşan hasarı daha da şiddetlendirdiğini ortaya koymuştur (3-5). Reperfüzyondan dolayı ortaya çıkan hücresel hasar; iskemik olayın süresine bağımlı olarak geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olabilir. Yirmi dakikalık İS periyodunu takip eden dönemde reperfüzyonun oluşturduğu hasar geri dönüşlüdür fakat daha uzun sürelerdeki İS'yi takip eden reperfüzyon miyokardiyal hasar ya da hücresel nekrozla sonuçlanır (6). Hücre içine moleküler oksijenin sunumuyla hızla oluşan SOR türevleri en çok suçlanan faktör olmakla birlikte reperfüzyon hasarından bir çok mekanizma sorumlu tutulmuştur (2, 7-9).

2.3. Reperfüzyon Hasar Mekanizmaları

2.3.1. Serbest Radikaller

Atomlar, proton ve nötronlardan oluşan pozitif yüklü bir çekirdek ve çekirdeğin etrafında bulunan negatif yüklü elektronlardan oluşurlar. Elektronlar hem partikül, hem de dalga özelliğine sahip olup; çekirdek etrafında ışık hızı ile hareket ederler. Bu nedenle elektronların çekirdek etrafındaki yeri tam olarak tarif edilemez, yalnızca bulunma olasılığının en fazla olduğu yerden bahsedilebilir. Belirli elektronların bulunma olasılığının en yüksek olduğu yer orbital olarak adlandırılır. Her orbital zıt spinli olmak üzere iki elektron içerebilir. Sayılarına göre, farklı enerji seviyesindeki elektronlar, farklı orbitalleri doldururlar. Çekirdekten uzaklaştıkça

elektronların enerji seviyeleri artar. Bir atomda hangi yörüngelerin bulunduğu, orbitallerin ne kadar elektron içerdiği ve orbitallere elektronların nasıl dağıldıkları atom türüne bağlı olarak değişir (10).

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde paylaşılmamış elektron içeren kimyasal türlerdir. Paylaşılmamış elektrona sahip moleküller kararsız bir haldedir ve stabil değildirler. Başka bir moleküle etkileşime girerek, orbitalindeki elektronu eşleme ve karalı duruma gelme eğilimindedirler. Böylece bu moleküller herhangi bir molekül ile etkileşime girerek, elektron alırlar veya verirler (10, 11).

$\text{HO}_2\cdot$	Hidroperoksi radikali	$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen
O_2^-	Süperoksit radikali	$\text{ROO}\cdot$	Peroksi radikali
H_2O_2	Hidrojen peroksid	ROOOH	Hidroperoksit
$\cdot\text{OH}$	Hidroksil radikali	ROOR	Endoperoksit
N_2O_4	Dinitrojen tetraoksit	$\text{RO}\cdot$	Alkoksi radikali
$\text{NO}\cdot$	Nitrik oksit	$\text{NO}_2\cdot$	Nitrojen dioksit
NO_2^+	Nitril katyonu	NO^-	Nitroksil
NO^+	Nitrozil	ONOO^-	Peroksinitrit anyonu
$\text{ONOO}\cdot$	Peroksinitrit radikali	N_2O_3	Dinitrojen trioksit

Şekil 2.3.1.: İyi bilinen serbest radikaller veya reaktivitesi fazla olan moleküller (10, 12).

İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. Hücresel koşullarda da ciddi bir miktar ve çeşitlilikte radikaller üretilmektedir. Nerede ve nasıl üretildiklerine bakılmaksızın, radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşurlar (10-12) .

1. Kovalent bağların homolitik kırılması ile: Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olur (10-12).

2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile: Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa, radikal formu oluşur (10-12).

3. Normal bir moleküle elektron transferi ile: Radikal özelliği bulunmayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşturuluyorsa, bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Bu mekanizma

ile radikal yapımı biyolojik sistemlerde yaygın olarak gerçekleştirildiğinden canlılar için oldukça önemlidir (10-12).

2.3.1.1. Serbest Radikal Kaynakları

Biyolojik sistemlerde serbest radikal eksojen ve endojen kaynaklı olabilir. Eksojen kaynakların başında hiperoksi, inflamatuvar ilaçlar, yüksek enerjili ışınlar, sigara dumanı, fotokimyasallar, hava kirliliği, organik solventler, anestezikler, pestisitler, aromatik hidrokarbonlar, elektromanyetik radyasyon sayılabilir (7, 11-13).

Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikallerin endojen kaynakları oksijen, aktive nötrofil, nitrik oksid (NO), mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, peroksizom ve plazma membranıdır (14).

2.3.1.1.1. Oksijen

Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar, spinleri aynı yönde ve farklı orbitallerde iken minimum enerji seviyesindedirler. Radikal tanımına göre oksijen diradikal yapıya sahip bir moleküldür. Diradikal yapıya sahip olan oksijenin herhangi bir molekülle tepkimeye girebilmesi için, tepkimeye gireceği molekülün de benzer yapıya sahip olması gerekir. Oysa başta organik moleküller olmak üzere, atom ve moleküller orbitallerinde elektronları antiparalel ve eşleşmiş olarak içerirler veya paylaşılmamış elektronlar kovalent bağlara katılmışlardır. Bunun sonucu oksijenin diğer moleküllere olan reaktivitesi son derece kısıtlanmıştır. Bu kısıtlama spin kısıtlaması olarak adlandırılır (10).

Canlıların oksijeni kullanabilmesi için, oksijene elektron transferi yaparak spin kısıtlamasını aşmaları gerekir. Bu işlem için canlılar geçiş elementleri sınıfından bazı metal iyonlarından yararlanırlar. Geçiş elementlerinden demir, bakır, manganez, çinko, kobalt ve molibden vücudun gereksinim duyduğu başlıca eser elementler olup, bu elementler dış orbitallerinde bir veya daha fazla sayıda paylaşılmamış elektron içerirler. Canlılarda oksijeni kullanan enzimler ya da oksijenle etkileşime giren proteinler, bu elementlerden en az bir tanesini içermek zorundadırlar (10).

Oksijenin dış orbital elektronlarının mevcut durumunun değiştirilmesi onu reaktif hale getirir ve kullanımına olanak sağlar. Bu amaçla spin kısıtlaması iki yolla aşılabılır:

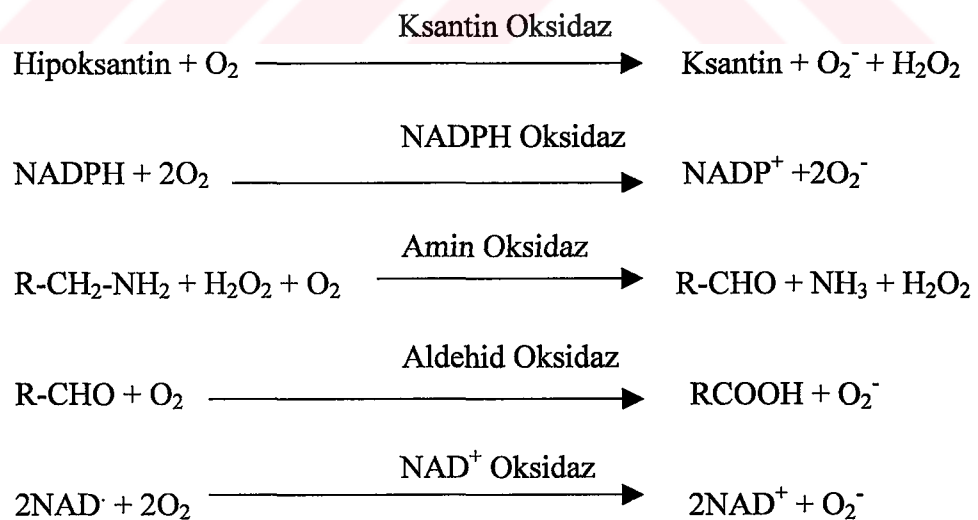
a) Oksijene elektron transferi ile: Serbest metal iyonları ve çok daha etkili olmak üzere proteinlere bağlı metal iyonları aracılığı ile oksijene bir veya iki elektron aktarımı katalizlenebilir. Oksijene tek elektron transferi ile süperoksit radikali oluşur (10).

b) Enerji absorpsiyonu ile de oksijenin spin kısıtlaması ortadan kaldırılabilir. Bu mekanizma ile singlet oksijen formu oluşur (10).

Endojen Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumu

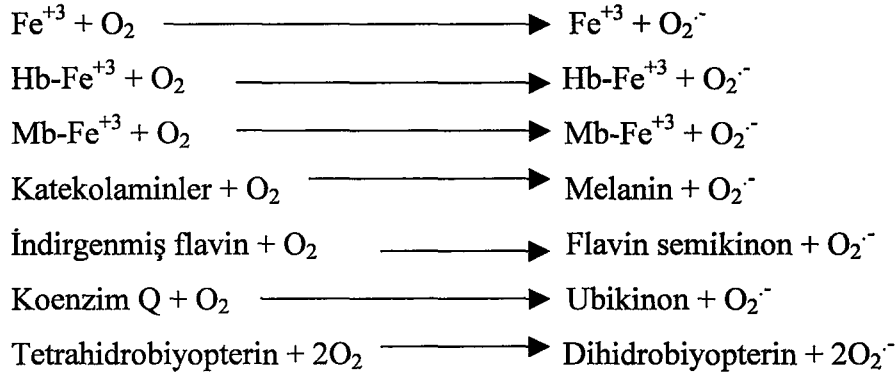
Endojen SOR enzimatik tepkimeler, enzimatik olmayan tepkimeler ve mitokondriyal elektron transportu sürecinde oluşabilir (12).

1. Enzimatik Tepkimeler: Oksijen içeren tepkimeleri katalizleyen enzimler oksidazlar veya oksijenazlar olarak sınıflandırılmaktadır. Elektronları oksijene aktaran oksidazlar oksijenin su veya hidrojen perokside indirgenmesini sağlamaktadır. Oksijenazlar, oksijenin bir substratın yapısına katılmasını gerçekleştirmektedir. Bu grupta ksantin oksidaz, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz, amin oksidaz, aldehid oksidaz, dihidroorotat dehidrogenaz, peroksidaz, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+) oksidaz, metilamin dehidrogenaz, galaktoz oksidaz, ribonükleotid redüktaz, prostaglandin oksidaz ve pirtüvat format liyaz enzimlerinin katalizlediği tepkimelerle serbest radikaller oluşabilmektedir (Şekil 2.3.2.) (12).



Şekil 2.3.2.: Enzimatik yolla SOR oluşumuna yol açan tepkimelerden bazıları (12).

2. Enzimatik Olmayan Tepkimeler: Otooksidasyon tepkimeleri sonucu enzimatik olmayan kaynaklardan reaktif oksijen metabolitleri oluşabilmektedir (Şekil 2.3.3.) (12).

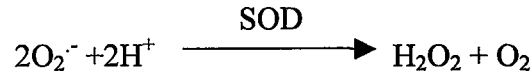


Şekil 2.3.3.: SOR ürünlerinin enzimatik olmayan kaynakları (12).

Reaksiyonların ilk ve son basamakları belirtilmiş olup, ara reaksiyonlara gösterilmemiştir.

3. Elektron Transport Zinciri: Normal koşullarda mitokondri, sitokrom oksidaz sistemi ile oksijeni suya indirgeyerek detoksifiye etmektedir. Elektron transport zincirinde yer alan NAD^+ , flavin adenin dinükleotid (FAD), koenzim Q gibi pek çok bileşik oksijen ile tepkimeye girerek SOR oluşumuna neden olmaktadır. Bu mekanizma ile çok küçük miktarlarda oluşan SOR türevleri hücrel antioksidan sistemler tarafından kolaylıkla yok edilebilmektedir. Ancak özellikle İS sırasında bozulan mitokondriyal enzim fonksiyonları nedeniyle hücrel antioksidan sistemlerin kapasitesini aşacak miktarlarda SOR ortaya çıkmaktadır (12, 15, 16).

Süperoksid Radikali: Canlılarda oluştuğu ilk olarak gösterilen radikaldır. Süperoksid radikali başta dehidrogenazlar ve oksidazlar olmak üzere yüzlerce enzimin katalitik etkisi sırasında, mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, aktive nötrofiller tarafından oluşturulabilirler. Hücrel koşullarda üretilen süperoksit, oksitleyici veya indirgeyici olarak davranabilir. Aldığı elektronu metal iyonuna, sitokrom C'ye veya bir radikale verirse tekrar oksijene oksitlenir. Oksijenden daha oksitleyici olan süperoksit bir elektron daha alırsa peroksi anyonuna indirgenir. Aerobik canlılarda süperoksitlerin hidrojen perokside çevrilmesi katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir (Şekil 2.3.4.) (10).



Şekil 2.3.4.: Süperoksid radikalinden hidrojen peroksid oluşumu (12).

SOD enziminin yüksek katalitik aktivitesi nedeniyle hücrelerde süperoksit birikimine izin verilmez. Ancak çeşitli patolojik durumlarda süperoksit yapımının artması durumunda, süperoksitde özgül tepkimeler görülmeye başlar. Süperoksit metal iyonlarını indirgeyerek bağlı oldukları proteinlerden salınımına neden olur, kofaktörlerin oksidasyon düzeylerini bozar, metal iyonlarının katıldığı hidroksil radikali yapımı tepkimelerini hızlandırır. Diğer radikallere göre daha az reaktif olsa da, süperoksit indirgenmiş nükleotidleri, bazı aminoasitleri ve antioksidan bileşikleri oksitler. Süperoksit hücre zarlarının hidrofobik ortamlarında daha uzun ömürlüdür ve çözünürlüğü daha fazladır. Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidroperoksit radikalini oluşturur. Bu radikal de çok reaktif olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilir ve zarsal antioksidanları oksitleyebilir (10) .

Hidrojen Peroksit: Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksitlerin enzimatik veya nonenzimatik dismutasyonu tepkimeleri sonucu oluşur. Hidrojen peroksitin iyonizasyon sabitesi 10.6 olduğundan, nötral ve asidik koşullarda net yük taşımaz, biyolojik zarları kolayca geçebilir. Yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden radikal özelliği taşımaz, reaktif bir tür değildir. Hidrojen peroksitin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni bakır ve demir gibi metal iyonları varlığında hidroksil radikalinin öncülü olarak davranmasıdır. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki ferril demir (Fe^{IV}) ve perferil demir (Fe^{V}) oluşumuna neden olur. Bu formdaki reaktif demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Belirtilen potansiyel oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan hidrojen peroksitin derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi, hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz enzimleri yerine getirirler (10) .

Hidroksil Radikali: Hidrojen peroksitin eksik indirgenmesi ile hidroksil radikali yapımı, vücutta bu radikalın en önemli kaynağıdır. Hidrojen peroksitin iki elektron indirgenmesi ile su oluşurken, tek elektron indirgenmesi hidroksil radikali

(Şekil 2.3.5.) yapımına neden olur. Bu tür indirgenme demir, bakır gibi metal iyonları tarafından katalizlenir. Haber-Weiss tepkimesi ya da Fenton tepkimesi (Şekil 2.3.6.) olarak adlandırılan bu tepkime ile ne kadar hidroksil radikali oluşacağı, vücutta üretilen hidrojen peroksit derişimi ve serbest metal iyonunun varlığına bağlıdır. Süperoksit hem hidrojen peroksitin öncülü hem de metalleri indirgeyici bir tür olduğundan, biyolojik koşullarda süperoksit yapımının arttığı ortamda hidroksil radikali üretimi kaçınılmazdır. Fenton tepkimesini katalizleyen en aktif metal iyonları demir ve bakırdır. Mangan ve kobalt da bu bakımdan aktif olsalar da, vücuttaki derişimlerinin düşüklüğü nedeniyle demir ile kıyaslandıklarında çok daha az etkindirler (10).



Şekil 2.3.5.: Hidroksil radikali oluşumu (14).



Şekil 2.3.6.: Haber-Weiss ve Fenton tepkimesi (12).

Biyolojik sistemlerin tanıdığı en reaktif tür olan hidroksil radikali , su dahil ortamda rastladığı her biyomolekülle difüzyon limiti hızı ile tepkimeye girer. Bu nedenle 10^{-9} saniyeden daha kısa bir ömre sahiptir. Her tür biyolojik molekül hidroksil radikalının bir hedefi ise de, özellikle elektronca zengin bileşikler seçilen tercihli hedeflerdir. Nükleik asitler, proteinler ve lipidlerde başlatılan radikalik tepkimelerinde binlerce farklı ara ürünler oluşabilir (10).

Singlet Oksijen: Oksijenin enerjistik olarak uyarılan bu formunda spin kısıtlamasının kaldırılmış olması nedeniyle reaktivitesi çok yüksektir. Vücutta pigmentlerin oksijenli ortamda ışığı absorplamasıyla, hidroperoksitlerin metaller varlığındaki yıkım tepkimelerinde, kendiliğinden dismutasyon tepkimeleri sırasında, prostaglandin endoperoksit sentaz, bazı sitokrom p450 tepkimelerinde ve miyelo/kloro/laktoperoksidaz enzimlerinin etkileri sırasında oluşabilir (10).

Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu moleküllerin başında tokoferoller, fenoller, bilirubin, deoksiribonükleik asit (DNA) , karotenler, kolesterol, NADPH, triptofan, metiyonin, sistein ve histidin

gibi bileşikler gelir. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikalini oluşturur ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilir (10).

2.3.1.1.2. Aktive Nötrofiller

Reperfüzyon hasarının en önemli hücresel elemanı polimorfonükleer lökositlerden olan nötrofillerdir (17-19). Nötrofiller kompleman 5a, interlökin-8, lökotrien B₄ ve dönüştürücü büyüme faktörü- α gibi kemotaktik elemanların etkisi ile inflamasyon alanına göç ederler (2, 20). Aktive olmuş nötrofiller hücre zarlarındaki NADPH-oksidadaz enzim aracılığı ile moleküler oksijeni süperoksit iyonuna indirgerler. Süperoksit, çoğu kez spontan dismutasyonla hidrojen peroksida dönüşür. Hidrojen peroksit, klorür iyonlarının mevcudiyetinde, nötrofillerin azurofilik granüllerinde bulunan myeloperoksidadaz enzimi (MPO) aracılığı ile hipoklorik asite indirgenir (Şekil 2.3.7.). Hipoklorik asit güçlü bir oksidandır ve birçok biyolojik molekülle kolayca reaksiyona girebilir (2, 14, 21).



Şekil 2.3.7.: Hipoklorik asit oluşumu (2).

2.3.1.1.3. Nitrik Oksit

Aynı anda farklı hücre türlerinde sentezlenen, otokrin veya parakrin mediyatör fonksiyonu gören NO, yağda çözünür ve biyolojik membranlardan kolaylıkla geçer. Molekül ağırlığı 30 olup, çok kısa yarılanma ömrüne (3-5 sn) sahiptir. Basit kimyasal yapıya sahip olmasına rağmen oldukça farklı ve zıt etkileri bulunmaktadır. NO güçlü bir vazodilatör, önemli bir hücre içi sinyalleme aracı, atipik bir nörotransmitter, immünolojik olaylarda rol oynayan non-spesifik sitotoksik bir mediyatör, çevresel bir toksin ve biyolojik bir ulak olarak fonksiyon gören gaz yapısında bir moleküldür (22).

Endojen NO oluşumu nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından gerçekleştirilir. NOS enziminin sinir ve akciğer, pankreas, mide ve uterus gibi dokularda bulunan nöronal NOS (nNOS), endotel hücrelerinde bulunan endotelial NOS (eNOS), immünolojik olaylarla indüklenebilen ve bütün çekirdekli hücrelerde bulunan indüklenebilir NOS (iNOS) gibi izoformları bulunmaktadır (22).

NO oluştuğu doku ve oluşma nedenine bağlı olarak çeşitli yolaklarla retilenilmektedir.Bu yolaklar şunlardır.

1. Damarlarda kalbin her sistolde kanı damarlara göndermesi sonucu damar endoteli yüzeyinde oluşan mekanik etki NO oluşumunu tetikler. Bu mekanik etki ile şekil değişikliğine zorlanan endotel hücreleri, hücre iskeleti aracılığıyla hücre içine çeşitli sinyaller gönderir. Bunun sonucunda protein kinaz B aktive olur ve eNOS fosforile olur. Fosforilasyon ile aktifleşen eNOS endotel hücresinde NO üretip salıverir. Bu şekilde NO retimi için Ca^{++} 'a ihtiyaç yoktur (22).
2. Hücre içi Ca^{++} düzeyini artıran asetilkolin, histamin, bradikinin, trombin, glutamat, P maddesi, serotonin, noradrenalin, tromboksan A_2 , endotelin-1, anjiyotensin II ve ATP gibi bileşikler vasküler endotelyumda Ca^{++} 'a bağımlı bir enzim olan eNOS'u aktive eder (22).
3. Nitrerjik nöronlarda ve çizgili kaslarda kalsiyuma bağımlı bir şekilde nNOS tarafından üretilmektedir (22).
4. İmmünolojik olaylarda Ca^{++} 'dan bağımsız olarak immün sistem hücreleri tarafından üretilir ve bu hücrelerin selektif olmayan sitotoksik etkilerine aracılık eder (22).
5. Ağızdaki bakteriyel flora, tükürükte bulunan nitratı nitrite ve daha sonra da NO'ya dönüştürebilir. Diğer taraftan tükürükteki nitritin yutularak mideye geçmesi sonucu midenin asit ortamının etkisiyle NO açığa çıkar. Ayrıca iskemik veya hipoksik şartlarda hre içi pH'nın aside kayması yine nitriti NO'ya çevirebilir (22).
6. Non-enzimatik olarak ultraviyole ışığın etkisiyle hücre içi depolardan salınabilir (22).

Radikal olarak reaktivitesi düşük olan NO, metal içeren moleküller ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girer. Süperoksit ile NO arasındaki tepkime ile oluşan peroksinitrit, hidroksil radikali benzeri aktiviteye sahip olup radikalik tepkimeleri başlatmaya ilave olarak biyomoleküllerin nitrasyonuna neden olur. Fizyolojik derişimde üretilen NO esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO_3^-) oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksiti ortamdaki temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. Aerobik ortamda

NO stabil değildir, derişiminin artması ile oksidasyonu hızlanır. Bu nedenle ortamdaki derişimi ile kendi ömrü arasında ters bir orantı vardır. Özellikle iNOS enziminin indüksiyonu sırasında NO derişiminin artması ile oksidasyonu da hızlanır ve çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bu reaktif türler NO'nin dolaylı etkilerinden sorumlu olup: hücrel moleküllerin nitrozilasyonuna, nitrasyonuna, nitrozasyonuna neden olarak proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna neden olabirler (10).

2.3.1.1.4. Endoplazmik Retikulum

Endoplazmik retikulum sitokrom p450 ve sitokrom b5 enzim sistemleri aracılığı ile yağ asitleri ve ksenobiyotiklerin oksidasyonunu gerçekleştirirken serbest radikalleri oluşturabilir (14).

2.3.1.1.5 Peroksizomlar

Peroksizomlar D-aminoasid oksidaz, urat oksidaz, Açıl Koenzim A oksidaz gibi enzimleri içerdğinden önemli bir hidrojen peroksit kaynağıdır (14).

2.3.1.1.6. Plazma Membranları

Hücre mebranında siklooksijenaz ve lipoksijenaz enzimleri ile prostaglandin ve lökotrienlerin oluşumu sırasında hidrosi ve peroksi radikalleri açığa çıkabilmektedir. (14, 23)

2.3.1.2. Serbest Radikallere Bağlı Hücrel Hasar

Reperfüzyon döneminde oluşan serbest radikallere bağlı olarak, hücrenin temel yapı ve fonksiyonlarında değişik derecelerde hasar oluşmaktadır. Bu hasar en fazla duyarlı olan yapılar membran lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve DNA molekülleridir (7, 11, 13).

2.3.1.2.1 Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkileri

Reperfüzyon hasarının en önemli nedeni, artan serbest radikallerin plazma ve organel membranları üzerinde başlattıkları lipid peroksidasyonudur. Radikal aracılı bir zincir reaksiyon mekanizması şeklinde gelişen lipid peroksidasyonu sırasında, doymamış yağ asidlerinin yan zincirlerinde yeniden düzenlenme söz konusudur (12, 24, 25).

Lipid peroksidasyonu başlangıç, ilerleme ve sonlanma basamağı olmak üzere üç aşamada gerçekleşir (25).

Başlangıç basamağı, hız kısıtlayıcı basamak olup yeterli reaktivitedeki oksijen kaynaklı bir radikalın bir metilen grubundaki divinil hidrojen atomunu koparması ile gerçekleşmektedir. İlk hidrojen atomunu kopartacak reaktivitedeki radikaller hidroksil, alkoksil, peroksil ve hidroperoksil radikalleri olup, süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit bu reaksiyonu başlatamamaktadır. Hidrojen atomu tek bir elektron içerdiği için, başlangıç reaksiyonu sonunda geride karbon üzerinde eşlenmemiş bir elektron kalmaktadır (14, 25, 26).

İlerleme basamağında karbon merkezli radikal, moleküler bir düzenleme ile izole çift bağ formundan, konjuge dien formuna geçer. Oluşan lipid alkil radikali oksijen ile reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali ise, bir başka yağ asidinden hidrojen atomunu kopararak lipid hidroperoksidi ve yeni bir lipid alkil radikalini oluşturarak yeni bir zincir reaksiyonu başlatabilmektedir. Lipid hidroperoksitleri, fizyolojik koşullarda nispeten kararlı moleküller olmakla birlikte, geçiş metalleri veya metal komplekslerinin katalizörlüğünde parçalanabilmektedirler. İndirgenmiş metal iyonları lipid hidroperoksidi ile reaksiyona girerek alkoksil radikalini, okside metal iyonları ise daha yavaş bir reaksiyonla alkoksil ve peroksil radikallerini oluşturmaktadır. Her iki radikal de başka yağ asitlerinden hidrojen atomu kopartarak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu halinde sürdürürler (14, 25, 26).

Sonlanma basamağında lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonları, iki lipid peroksit radikali etkileşinceye kadar sürmekte ve siklik peroksit oluşumu ile sonuçlanmaktadır (14, 25).

Lipid peroksidasyonu sırasında, karbon bağlarının kopması ile aldehit yapısında yıkım ürünleri ortaya çıkar. Bu ürünlerden en önemlisi malondialdehit (MDA). MDA sınıfından olan ve tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler, iskemi reperfüzyon olayında lipid peroksidasyonunun en duyarlı göstergelerindendir (25, 26). Lipid peroksidasyonunun yıkım ürünü olan MDA, proteinlerin amino grupları ile çift bağ oluşturur ve tiyol grupları ile etkileşir. Bu şekilde oluşturduğu protein fragmentasyonu ve polimerizasyonunun yanısıra MDA'nın mutajenik etkisi de gösterilmiştir (12, 25, 27, 28).

Lipid peroksidasyonu, ortamda doymamış yağ asitleri, oksijen ve metal katalizörler bulunduğu sürece logaritmik olarak artarken yeni serbest radikallerin

oluşumuna neden olur. Bu nedenle reperfüzyon dönemi, lipid peroksidasyonu için gerekli koşulları sağlaması bakımından çok uygundur (24, 25, 27). Lipid radikalleri veya MDA gibi peroksidasyon ürünleri aracılığı ile lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda yaygın hale geldiği zaman hücresel yapı hasarları ve fonksiyon bozuklukları ortaya çıkar. Yapısal hasarın derecesine göre, plazma membranında akışkanlığın azalması, membran geçirgenliğinin değişmesi, membran potansiyelinin azalması, membrana bağlı enzimlerin aktivitesinde azalma gözlenir (14, 25, 28). Lizozomal ve mitokondriyal membranları ilgilendiren ileri derecede lipid peroksidasyonu ile organel içeriğinin hücre içine salınması sonucunda proteoliz hızlanır ve doku hasarı şiddetlenir (14, 25). Membran geçirgenliğinin bozulması ile protein sentezi için çok önemli olan potasyum (K^+) ve magnezyum (Mg^{2+}) iyonlarının konsantrasyonları değişir ve buna bağlı olarak protein sentezinin inhibisyonu gerçekleşir (25).

2.3.1.2.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Olan Etkileri

Hücresin protein yapıları, serbest radikallerin, özellikle duyarlı amino asitler ile direkt etkileşimi sonucunda hasara uğramaktadır. Metiyonin, sistein gibi terminal sülfidril grubu bulunduran aminoasitler ile triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin gibi aromatik aminoasitler, oksidasyona en fazla maruz kalan moleküllerdir. Oksidasyon proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarında değişiklikler oluşturarak. Bu durum proteinlerin fonksiyonlarını etkilemektedir. Enzim veya reseptör fonksiyonuna sahip membran proteinleri, kimyasal modifikasyona duyarlı oldukları için serbest radikallerin bu proteinlerde oluşturduğu oksidasyon hücre ve membran fonksiyonlarında önemli bozulmalara neden olur (12, 25, 28, 29).

2.3.1.2.3. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Olan Etkileri

Reaktif oksijen radikallerinin, hücrede saldırdığı bir diğer önemli makromolekül nükleik asitlerdir. DNA'nın temel taşı olan nükleotidin yapısı içinde yer alan purin ve pirimidin bazıları oksijen radikallerinin etkilerini gösterdiği bölgelerdir. Özellikle guanin bazının bu radikaller aracılığı ile hidroksilasyonu sonucunda DNA molekülünün yapısı değişmekte ve mutasyonlar ortaya çıkmaktadır. (12, 14, 25, 30).

2.3.2. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi

Renin-anjiyotensin-aldosteron (RAA) sisteminin ürünü olan anjiyotensin-II, kardiyomyositlerde hücre içi kalsiyum düzeylerinde artışa yol açarak, pozitif inotropik etki yapar. Ayrıca diyastolik fonksiyonları bozar ve koroner vazokonstriksiyona neden olur. Bu etkileriyle miyokardiyal reperfüzyon döneminde gelişen hasara katkıda bulunur (31-33)

2.3.3 Trombositler

İR döneminde aktive olan trombositler hasarlı bölgeye doğru doğru göç ederler ve birikirler. Trombositler ve trombosit ürünleri olan tromboksan A₂ ve serotonin mikrosirkülatuar spazm, mikrovasküler konjesyon, tromboz ve koroner akımda yavaşlama gibi etkiler aracılığıyla vasküler disfonksiyon oluşturur. Bu nedenle İR hasarını ağırlaştırır (34).

2.3.4 Kontraktür

Miyokardiyal kontraktür, kalp kası hücrelerinin kasılmasına yol açan aktin ve miyozin arasında çapraz bağlanmanın geri dönüşsüz olmasıyla ortaya çıkar. İR döneminde farklı mekanizmalarla gelişen iki ayrı kontraktür tipi gözlenebilir. Bunlar Ca⁺⁺ bağımlı kontraktür ve rigor tipi kontraktürdür (35-37).

Ca⁺⁺ bağımlı kontraktür: İS, hücrelerin Ca⁺⁺ düzeylerini dengeleme fonksiyonlarında hasara yol açar. Bu hasar sonucunda hücre dışından ve hücre içi depolarından akımın artışı ile sitoplazmada yükselen Ca⁺⁺ düzeyleri, reperfüzyon döneminde toksik düzeylere çıkabilir. Sitoplazmik Ca⁺⁺ düzeylerinin aşırı yüksekliği miyofibrillerin duyarlılığını azaltarak kontraktür gelişimine yol açar. Bu tip kontraktür genellikle kısa süreli iskemi periyodunu izleyen reperfüzyon döneminde hızla yükselen ATP düzeyleriyle birlikte (35-37).

Rigor tipi kontraktür: İS periyodunun uzaması, hücrelerin reoksijenasyon döneminde yeniden enerji üretim yeteneğini kısıtlar veya ortadan kaldırır. Bu dönemdeki ATP düzeylerinin düşüklüğü rigor tipi kontraktür gelişimini provake eder. Kontraktürün oluşumu Ca⁺⁺'dan bağımsızdır (35-37).

Her iki kontraktür tipi de mekanik güçsüzlüğe, doku nekrozuna ve global iskeminin bütün kalbi etkilemesiyle görülen taşkalp fenomenine yol açabilir (35-37).

2.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Kalp Üzerindeki Etkileri

Kalpte, İR hasarına bağlı olarak miyokardiyal sersemleme, reperfüzyon aritmileri, myositlerde nekroz, koroner endotelyal ve mikrovasküler disfonksiyon gözlenebilir.

Miyokardiyal sersemleme, İR'a bağlı olarak geri dönüşsüz hasar olmamasına ve reperfüzyonun tam veya tama yakın bir şekilde sürmesine rağmen kalpta oluşan uzamış mekanik fonksiyon bozukluğu olarak tanımlanır (38-40). İlk olarak 1975 yılında Heyndrickx ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (41).

Miyokardiyal sersemleme genellikle global iskemik ataklardan sonra gözlenir (38, 42, 43). Fakat kısa süreli iskemiye takip eden dönemlerde bile miyokardiyal sersemleme beklenmedik derecede uzun sürebilir. Örneğin köpek kalbinde oluşturulan 15 dakikalık iskeminin, 24 saatlik miyokardiyal sersemleme oluşturduğu gözlenmiştir (44).

İskemik periyodu takip eden reperfüzyon dönemi ölümcül aritmilere öncülük edebilir. Oluşan aritmiler genellikle idioventrikülerdir ve en fazla ventriküler taşikardi ve fibrilasyon gözlenir (45-47).

Kalp hücrelerinde nekroz gelişimi İR döneminde harekete geçen mekanizmaların ortak sonucudur. Bununla birlikte reperfüzyon döneminin ilk dakikalarında gelişen nekrozun başlıca sebebi kalp hücrelerinde gelişen kontraktürdür (37).

Reperfüzyonun erken dönemlerinde ortaya çıkan koroner endotelyal disfonksiyonun, köpek ve kedi kalplerinde yapılan çalışmalarda 4-12 haftaya kadar sürebildiği gösterilmiştir. Reperfüzyonun ilk 2 ila 5 dakikalık bölümünde endotelyal disfonksiyonla beraber NO formasyonunda azalma ve 20 dakikadan sonraki bölümde ise lökosit varlığı gözlenebilir (47, 48). Sadece İS uygulanan kalplerde koroner endotelyal disfonksiyon 2 ila 3 saat sürer ve 4 –6 saat sonra hiçbir histolojik bulgu gözlenmez (49).

Koroner endotelyal disfonksiyon sonucu vazodilatör cevap azalır. Güçlü vazokonstriktör etkileri bulunan endotelin-1 ve SOR oluşumu koroner vazokonstriksiyona yol açarak kan akımında azalma meydana getirir (50).

İR sonrası oluşan endotelyal disfonksiyon, trombositlerin yol açtığı mikrovasküler tıkanıklık, ödem ve oksidatif hasar mikrovasküler disfonksiyona yol

açar. Mikrovasküler disfonksiyonun olduğu kalp bölgelerinde reperfüzyon döneminde kan akımı kısıtlanır ve hipoperfüze alanlar gözlenir (51, 52). Ayrıca kalbin yeniden damarlanması ve sol ventrikül serbest duvarında oluşabilen rüptür mikrovasküler disfonksiyon nedeniyle gözlenen olaylardır. (53-56).

2.5. İskemik Önkoşullama

İskemik önkoşullama (İÖ), tek veya tekrarlayan kısa süreli iskemik periyotların daha uzun süreli iskemik periyotlarda gelişebilecek organ, doku veya hücre hasarına karşı belirgin bir direnç oluşturması ile gerçekleşen koruyucu bir mekanizmadır (57, 58). İÖ ilk kez 1986 yılında Murry ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Bu çalışmada Murry ve arkadaşları, köpek miyokardiyumunda 40 dakikalık koroner oklüzyon öncesinde gerçekleştirdikleri kısa iskemik periyotların, kalpteki nekroz gelişimini % 75 oranında azalttığını göstermişlerdir (58). Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda İÖ'nün miyokardiyal nekroza karşı koruyucu etkisinin yanında aritmi, miyokardiyal sersemleme, koroner endotelial hasar ve mikrovasküler fonksiyon bozukluğuna karşıda koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (47, 59, 60-63).

Önkoşullama iki farklı faz ile koruma sağlamaktadır. İlk faz (erken faz, akut faz, klasik faz, korumanın birinci penceresi), İS'den sonra dakikalar içinde oluşmakta ve etkisi 1-3 saat kadar sürmektedir. İlk faz geçici fakat önemli bir koruma sağlar ve oluşmasında protein sentezine ihtiyaç yoktur. Geç faz (gecikmiş faz, korumanın ikinci penceresi) önkoşullamadan 24 saat sonra belirginleşir. Geç fazın koruyucu etkisi 72-96 saate kadar sürebilir ve protein sentezine ihtiyaç duyar (57, 64-67). Erken faz daha güçlü koruyucu etki göstermesine rağmen önkoşullamanın geç fazının, miyokardiyal sersemlemeye karşı koruyucu etkisi daha belirgindir (66-70).

İÖ'yü indükleyebilmek için gereken iskemik periyodun süresi, iskemik tekrarların sayısı türe ve organ sistemine özgüllük göstermektedir (71). Sıçan, tavşan, köpek ve insan kalbi için İÖ oluşturan farklı sayıda iskemik tekrar protokolleri bulunmaktadır (58, 63, 72). Genel olarak İÖ 3-5 dakikalık İS periyodunu izleyen en az 5 dakikalık reperfüzyon süreleri ile uyarılabilir (58). 1-2 dakikalık iskemik tekrarların tavşan, domuz ve insanlarda herhangi bir koruyucu etkisi gözlenmemiştir (73-75).

İskemik tekrarları takip eden reperfüzyon sürelerinin de önkoşullamanın indüklenmesinde etkili olduğu gösterilmiştir. Önkoşullamaya bağlı koruma, sıçanlarda reperfüzyon süresi 1 dakikaya kadar düşürüldüğünde bile mevcutken, 30 saniyenin altındaki sürelerde koruma gözlenememiştir (76). Reperfüzyon süresinin anesteziye domuzlarda 1 saat, anesteziye sıçan ve köpekte 1-2 saat, bilinçli tavşanlarda ise 2 ila 4 saati aşması durumunda koruma gözlenememiştir (73, 77-79).

Tavşanlarda yapılan çalışmalarda, iskemik tekrarların sayısının artırılması önkoşullamayı daha güçlü bir şekilde indüklemiştir (80). İn vivo sıçan ve domuz modellerinde iskemik sitimulus sayısının artırılması daha güçlü koruyucu etkiye yol açmıştır (74, 81). Bu etki köpeklerde yapılan çalışmalarda gösterilememiştir (82).

İÖ'nün erken döneminde ortaya çıkan koruyucu etkinin süresi de türe özgü olarak değişmektedir. Kalpteki koruyucu etki tavşanda 30 dakikalık reperfüzyon süresi sonrasında sonlanırken, bu süre sıçanda bir saat, köpekte ise iki saattir (73, 78, 83). Geç fazın koruyucu etkisinin ortaya çıkması için geçen zaman da türler arasında farklılık gösterebilir (84, 85).

İÖ kalp dışında beyin (85), spinal kord (86), iskelet kası (87), karaciğer (88), akciğer (89, 90), böbrek (91), retina (71) ve ince bağırsak (92) gibi organlarda da oluşabilir.

Etik problemler nedeniyle sınırlı sayıda çalışma yapılabilmesine rağmen insan akciğer, böbrek, karaciğer, beyin, iskelet kası ve kalp gibi değişik organlarında önkoşullamanın koruyucu etkisi gösterilmiştir (93).

Koroner bypass ameliyatı olan hastalarda geçirilen koroner iskemik atakların sayısını artması ile miyokardiyal ATP düzeylerinin korunduğunun bulunması, insan kalbinde de önkoşullamanın olabileceğini düşündürmüştür (94). Akut miyokard infarktüsünün (AMI) başlangıcından kısa süre önce görülen ve infarktüs sonrası hastalığın gidişinde faydalı olan iskemik atak, prodromal iskemik atak olarak tanımlanır. Prodromal iskemik atağı olan hastalarda geçirilen AMI sonrası infarkt sahasının, hastane içi ölüm, atriyoventriküler (A-V) blok, kardiyojenik şok, ventriküler aritmi, kalp yetersizliği, reinfarktüs sıklığının daha az olduğu ve ejeksiyon fraksiyonu, kollateral gelişimi ile otuz günlük yaşam süresinin daha iyi olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (95-97). Tekrarlayan koroner anjioplasti

uygulamaları ilk uygulamaya göre daha az göğüs ağrısı, daha az laktat üretimine neden olmuştur (98-100).

2.6. İskemik Önkoşullama Mekanizmaları

Miyokardiyal İÖ oluşumuna dahil olan moleküller, İÖ'nün tetikleyicileri, mediyatörleri ve uç efektörleri olarak sınıflandırılmıştır.

I. İÖ Tetikleyicileri

A) Reseptöre bağımlı tetikleyiciler

1. Adenozin
2. Bradikinin
3. Opioid reseptörler
4. Siklooksijenaz ve lipoksijenaz ürünleri
5. Norepinefrin
6. Anjiyotensin
7. Endotelin

B) Reseptör bağımsız tetikleyiciler

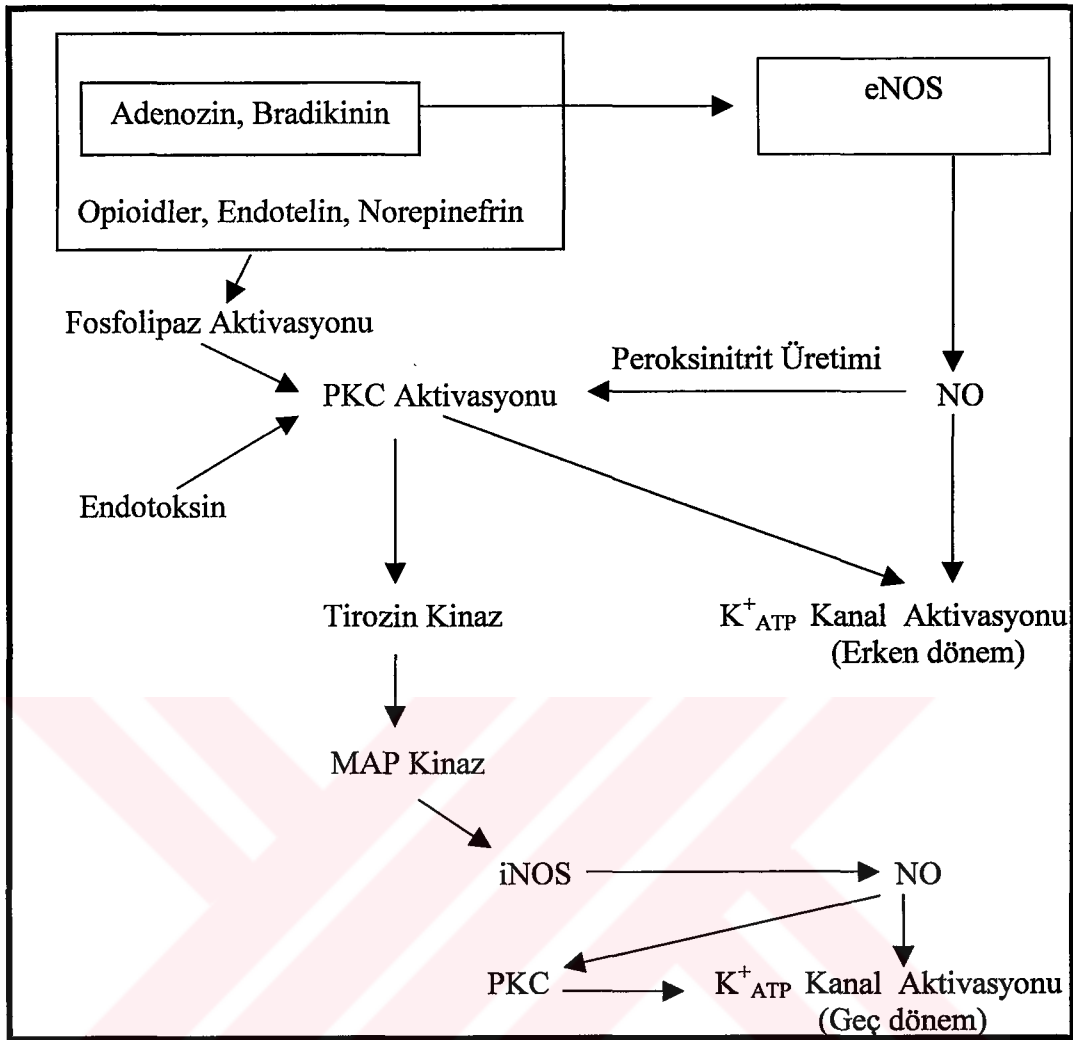
1. Serbest Radikaller
2. Nitrik Oksit
3. Kalsiyum

II. İÖ Mediyatörleri

1. G Proteinleri
2. Fosfolipazlar
3. Protein Kinaz C
4. Tirozin Kinaz
5. Mitojenle aktive edilen protein kinazlar
6. Isı Şoku Proteinleri
7. Endotoksin
8. TNF- α

III. İÖ Uç Efektörü

1. ATP'ye Duyarlı Potasyum Kanalları (K^{+}_{ATP})



Şekil 2.6.1.: İskemik önkoşullama oluşum mekanizmaları (101).

2.6.1 Adenozin

Adenozin (ADO), bütün hücrelerde doğrudan ya da ATP'nin hidrolizi sonucunda oluşan lokal bir hormondur. Önce ATP iki yüksek enerjili fosfatını kaybederek adenozin monofosfata (AMP) yıkılır, daha sonra AMP 5'-nükleotidaz enzimi ile defosforilasyon sonucu ADO'yu oluşturur. ADO'nun şimdiye kadar A1, A2 ve A3 olmak üzere üç reseptör alt tipi tanımlanmış ve klonlanmıştır (102).

İlk olarak 1991 yılında Liu ve arkadaşları, tavşan kalbinde ADO reseptör blokajı ile önkoşullumaya bağlı korumanın ortadan kalktığını göstermişlerdir (103). Daha sonraki yıllarda yapılan bir çok çalışma ile İÖ boyunca sıçan (104), tavşan (105), köpek (106), domuz (107) ve insan (108) dokularında hücreler arası bölgede ADO seviyelerinin yüksek olduğu gösterilmiştir.

Kalp ADO A1 reseptörlerine seçici olarak agonist etki gösteren 2-chloro-N⁶-cyclopentyladenosine (CCPA) veya A3 reseptörlerine seçici agonist etki gösteren N⁶-(3-iodobenzyl)-adenosine-5'-N-methyl-uronamide (IB-MECA) maddelerinden herhangi birinin önceden uygulanmasının İÖ ile oluşan korumayı taklit ettiği gösterilmiştir (109-110). Domuz kalbinde yapılan çalışmada ADO'nun İÖ oluşumundaki rolü gösterilmiştir (107). Tavşan kalbinde yapılan çalışmalarda ADO A1 ve A3 reseptörlerinin İÖ oluşumundaki rolü gözlenmiş olup, A2 reseptörlerinin böyle bir etkisi gözlenmemiştir (103, 111-113). Tavşanda ADO ile oluşan miyokardiyal korumanın protein kinaz C (PKC) inhibitörleriyle ortadan kalkması ise ADO'nun PKC üzerinden etkide bulunduğunu düşündürmüştür (114).

Sonuç olarak ADO önkoşullamadaki etkilerini A1 ve A3 reseptörleri üzerinden gösterir. Bu reseptörlerin uyarılması ile aktive olan PKC, önkoşullamanın uç efektörlerinden olan sarkolemmal ve mitokondriyal ATP'ye duyarlı potasyum (K⁺_{ATP}) kanallarını açılmasını sağlar (Şekil 2.6.1.) (115-117).

2.6.2. Bradikinin

Kininler, memelilerden ve daha alt sınıftaki organizmalardan elde edilen genellikle 9-12 aminoasit rezidüsü içeren ve belli bir farmakolojik etki kalıbı gösteren peptidlerdir. Kininlerin genel olarak arteriyoller üzerinde vazodilatasyon, damar geçirgenliğinde artış, dokulardaki ağrı reseptörlerini uyarıcı, deney hayvanlarının izole ileum ve jejunum doku örneklerinde güçlü kasıcı etkileri bulunmaktadır. Kininler, barsak üzerindeki kasıcı etkilerinin yavaş veya hızlı gelişmesine göre bradikininler ve taşikininler olmak üzere ikiye ayrılır (118).

Bradikininler grubunda insan ve diğer memelilerden elde edilen ve yapıcı birbirine çok benzeyen üç kinin vardır; bunlar bradikinin, kalidin ve metionil-lizil-bradikininidir. Sayılan üç kinin ve onları oluşturan plazma ve doku kalikreinlerin tümüne kalikrein-kinin sistemi adı verilir. Bu sistem prostaglandin (PG) sistemi, RAA sistemi, pıhtılaşma ve fibrinoliz sistemi ile yakın ilişki gösterir (118).

Kininler doku ve plazmada kininojenler adı verilen globülinlerin kalikreinler tarafından hidrolizi ile oluşur. Kininojenlerin, molekül ağırlığı 110-200 kilodalton olan ve plazma dışına çıkamayan yüksek molekül ağırlıklı kininojen ve molekül ağırlığı 48-70 kilodalton olan ve dokulara yayılabilen düşük molekül ağırlıklı kininojen olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Kininojenleri kininlere çeviren

kalikreinlerin, doku kalikreini ve plazma kalikreini olmak üzere iki türü mevcuttur. Bu bölgelerde inaktif prekürsör olan prekalikrein halinde bulunur ve aktifleşmesi hageman faktör tarafından gerçekleştirilir. Doku ve plazmada oluşan kininler kininaz I ve kininaz II (anjiyotensin dönüştürücü enzim; ADE) gibi proteolitik enzimler aracılığıyla hızlı bir şekilde yıkılır. Bu hızlı yıkım nedeniyle bradikinin yarılanma ömrü 0.27 dakika, kalidinin ise 0.32 dakika kadardır (118).

Bradikinin ve kalidinin, guanozin trifosfat bağlayan düzenleyici (G) proteinleri ile kenetli B1 ve B2 reseptörleri bulunmaktadır. B1 reseptörler normal dokularda bulunmazlar; iltihap gibi patolojik durumlarda oluşurlar. B1 reseptörler belirli düz kasların kasılmasından ve kollajen sentezinin artırılması ile hücre iyileşmesinin uyarılmasından ve doku onarımından sorumludurlar. B2 reseptörlerinin aferent sinir uçlarında bulunanları, bradikininin, ağrı yapıcı ve refleks oluşturuca etkisine aracılık ederler. Damar endotelinde bulunanlar ise bradikininin, endotelden NO, PG gibi endotel koruyucu vazodilatörleri salıverici etkilerine aracılık ederler. Kinin reseptörleri etkilerini kısmen fosfatidilinozitol 4,5-bifosfat hidrolizini uyarak, kısmen de fosfolipaz A2'yi uyarak gösterirler (118).

Bradikininler, güçlü vazodilatör etki gösterirler. Bu etkisini esas olarak endotelden NO salıverici etkisiyle oluştururken, PGE₂ sentez ve salınımını artırması ve mast hücrelerinden histamin salıverilmesini artırması gibi etkilerle de vazodilatasyona katkıda bulunur (118).

Miyokardiyal iskemi sonrası hücreler arası bölgede bradikinin düzeyleri artar (119, 120). Hücreler arası bradikinin düzeylerini artması ADO düzeylerinin artmasından daha önce gerçekleşir (74, 121). Bradikinin, İÖ sürelerinin veya siklus sayısının azaltıldığı durumlarda, önkoşullama koruması üzerinde adenzinden daha önemli rol oynar (74, 122). Örneğin üç dakikalık İÖ periyotları bradikininini ön plana çıkarırken, bu sürenin on dakikaya çıkması ADO'nun önemini artırır (74). Bradikinin B2 reseptörlerini seçici olarak bloke eden icatibant'ın (HOE-140) önkoşullama öncesi ve önkoşullama sırasında uygulanması İÖ'nün koruyucu etkilerin ortadan kaldırır (119, 123). Yapılan bir çok çalışma ile bradikinin uygulamasının önkoşulamaya benzer koruyucu etki oluşturduğu gösterilmiştir (119, 122, 124). Bradikinin, B2 reseptörleri aracılığıyla NO ve prostasiklin salıverilmesini artırarak önkoşullama korumasını tetikler (Şekil 2.6.1) (74, 119, 122, 124).

2.6.3. Opioid Reseptörleri

1970'lerin başında santral sinir sisteminde (SSS) morfin ve benzeri ilaçların etkilediği opioid reseptörlerinin varlığının radyoligand bağlama yöntemleri ile gösterilmesi, beyindeki bazı alanların elektriksel uyarılmaları sonucu analjezi oluşması ve özellikle bunun opioid antagonistleri ile önlenebilmesi SSS'de opioid nöromediyatörlerin bulunduğu öngörülmesine neden olmuştur. Opioid reseptörleri aracılığı ile SSS'de etki oluşturan bu peptidlere, endojen opioid peptidler veya endorfinler ya da opiopeptinler adı verilmiştir. İçinden çıktıkları prekürsör peptidin türüne göre, opioid peptidler dört gruba veya sisteme ayrılırlar. Bu sistemler proopiomelanokortin (POMK) sistemi, proenkefalin sistemi, prodinorfin sistemi ve nosiseptin/orfanin FQ sistemidir (125).

POMK sistemi, beta-endorfin ve endomorfinleri kapsar. Beta-endorfin mü reseptörlerine yüksek afinite gösterir. Met-enkefalin ve lö-enkefalin gibi endojen opioid peptidler proenkefalin sistemine dahildirler ve delta ile mü reseptörlerine yüksek afinite gösterirler. Prodinorfin sistemini oluşturan dinorfin-A, dinorfin-B, a-neoendorfin ve b-neoendorfin opioid reseptörlerden kappa tipine yüksek afinite gösterirler. Nosiseptin/orfanin sisteminde ise nosiseptin, orfanin-2 ve nosisttin gibi endojen opioid peptidler bulunur (125).

Opioid reseptörler mü, delta, kappa ve nosiseptin/orfanin FQ olmak üzere dört tipdir. Halen bilinen opioid reseptörlerinin tümü G-proteinleri ile kenetlidirler (125).

Domuz, tavşan ve sıçanlarda İÖ ile elde edilen korumanın opioid reseptör antagonisti olan naloksan ile blokajı, bu reseptörlerin önkoşullamaya bağlı korumada rol aldıklarını düşündürmüştür (126-128). Bu etkiyi delta reseptörleri üzerinden gerçekleştirirler (129, 130). Kappa reseptörlerinin İÖ'deki rolü tartışmalıdır (130, 131). Önkoşullayıcı siklus sayısının artırılması delta reseptörlerinin korumadaki rolünü azaltır (127). Opiodler ile oluşturulan korumanın PKC inhibitörleri ve ADO reseptör antagonistleriyle ortadan kaldırılabilir olması ADO ve opioid reseptörlerinin benzer mekanizmalarla etki oluşturdıklarını düşündürmüştür (Şekil 2.6.1.) (126-128, 132, 133).

2.6.4. Siklookksijenaz ve Lipoksijenaz Ürünleri

Siklookksijenaz enzim ürünü olan prostaglandinlerin önkoşullama tetikleyici etkisi kanıtlanamazken, lipoksijenaz ürünlerinin İÖ korumasında rol aldığı yönünde kanıtlar mevcuttur. Sıçanlarda ya da tavşanlarda aspirin uygulamasıyla siklookksijenaz enziminin bloke edilmesi ile önkoşullama arasında herhangi bir ilişki gösterilememiştir (134, 135). 12-lipoksijenaz enzim eksikliği bulunan farelerde ve 12-lipoksijenaz enzim inhibitörü uygulanan sıçanlarda önkoşullama koruması tamamen ortadan kaldırılabilmiştir (136).

2.6.5. Norepinefrin, Anjiyotensin, Endotelin

Endotelin ET1, anjiyotensin AT1 ve $\alpha 1$ -adrenerjik reseptörler kalpte PKC ile ilişkilidirler. Bu reseptörlerin eksojen olarak uyarılması önkoşullama korumasını taklit ederken, reseptör blokörlerinin uygulanmasının herhangi bir etkisi gözlenmemiştir. Bu durum norepinefrin, anjiyotensin ve endotelinin endojen seviyelerinin önkoşullama korumasını uyaracak düzeye çıkamamasıyla açıklanmıştır (137-139).

2.6.6. Serbest Radikaller

Antioksidan olan N-(2-mercaptopropionyl)-glycine (MPG) ve radikal temizleyici özelliği olan dimetiltiyoüre uygulamasının beklenmedik bir şekilde önkoşullama korumasını bloke etmesi serbest radikallerin sadece hasar oluşturmadığını, aynı zamanda düşük konsantrasyonlarda önkoşullamayı tetikleyebileceklerini göstermiştir (140, 141). Birden fazla önkoşullayıcı siklus uygulanması durumunda ADO, bradikinin seviyeleri ve opioid reseptörlerinin uyarılması önkoşullamayı tetikleyecek düzeydedir ve ortamda serbest radikaller bulunmasa bile koruma gözlenebilir. Siklus sayısının azaltılması ile oluşan düşük miktarlardaki serbest radikal konsantrasyonu, diğer tetikleyicilerin yetersiz olması durumunda önkoşullamayı uyarabilir (140). Düşük miktarlardaki serbest radikallerin önkoşullamayı tetikleme mekanizması net olmamakla birlikte, bu etkisini reseptörlerden bağımsız bir şekilde G-proteinlerini, protein kinazları ve K^+_{ATP} kanallarını aktive etmesiyle oluşturduğu düşünülmektedir (141-144).

2.6.7. Nitrik Oksit

Önkoşullamanın erken fazı boyunca bradikinin ve ADO tarafından eNOS'un uyarılmasıyla NO salınımı gerçekleşir (145). NO, dönüştüğü peroksinitrit aracılığıyla doğrudan veya PKC aktivasyonuna yol açarak K^+_{ATP} kanallarının açılmasına neden olur (Şekil 2.6.1.) (146, 147). Tavşan kalbindeki önkoşullama modelinde NOS inhibitörü olan L-N-nitro-arginine (L-NNA) uygulanmasının önkoşullama korumasını azalttığı gözlenmiştir (148). Keçi kalbinde yapılan çalışmalarda da aynı sonuca ulaşılmıştır (149). Fakat L-N-nitro-arginine-methyl-ester (L-NAME) ve L-N-monomethyl-arginine (L-NMMA) ile yapılan çalışmalarda elde edilen farklı sonuçlar bu bileşiklerin antimuskarinik etkilerine bağlanmıştır (150-152). Ayrıca NO, serbest radikal oluşumunun önemli bir nedeni olan nötrofillerin koroner endotele yapışmasını önleyerek korumaya katkıda bulunur (153). Tam olarak açıklığa kavuşmamakla birlikte NO'nun mikrovasküler vazodilatasyon, antiaritmik ve ısı şoku proteinlerini uyarıcı etkileriyle de korumaya katkıda bulunduğu düşünülmektedir (120, 153-155).

NO'in önkoşullamanın geç fazında oluşan korumadaki etkisi bir çok çalışmaya konu olmuştur. Tavşan kalbinde yapılan çalışmada L-NNA ile korumanın geç fazının oluşmadığı gözlenmiştir (156). Benzer sonuçlara iNOS inhibitörleri olan aminoguaenidin ve deksametazon kullanılarak yapılan deneylerde de ulaşılmıştır (157, 158). Tavşanlarda nitrogliserin uygulaması geç dönemde görülen miyokardiyal sersemlemeyi azaltırken, beraberinde PKC inhibitörlerinin uygulanması durumunda bu etki ortadan kalkmıştır (148).

Korumanın geç fazında PKC'nin başlattığı bir dizi reaksiyonla önce tirozin kinaz, sonrasında mitojen aktivasyonlu protein kinaz (MAPK) aktive olur. MAPK iNOS'u uyararak NO oluşumunu sağlar. Erken fazda gerçekleştiği gibi NO, peroksinitrit formasyonuna dönüşür ve doğrudan veya PKC üzerinden K^+_{ATP} kanallarını aktive eder (Şekil 2.6.1) (159-162).

2.6.8. Kalsiyum

L tipi kalsiyum kanallarının kronik olarak bloke edildiği insan kalbinde önkoşullamanın olmayışı ve domuzlarda kalsiyum kanal blokörü olan lizodipin uygulamasının önkoşullama korumasını zayıflatması, kalsiyumun İÖ'da rol oynadığını düşündürmüştür (163, 164).

2.6.9. G Proteinleri ve Fosfolipazlar

Reseptör aracılı mekanizmalarla önkoşullamayı tetikleyen moleküller, G proteinleri ile kenetlidirler. Bunlardan ADO ve opioid reseptörleri kalpte inhibitör G proteini (G_i) ile kenetlidirler (165, 166). Reseptör-G protein etkileşimi fosfolipaz C (FLC) enzimini aktifler. FLC membran fosfolipidlerinden fosfatidilinozitol 4,5-bifosfat'ın hidrolizini hızlandırır. Bu hidroliz sonucunda inozitoltrifosfat (IP_3) ve diaçilgliserol (DAG) oluşur. IP_3 endoplazmik retikulumdan Ca^{++} salıverilmesini artırırken, DAG PKC'yi aktifler (167).

ADO G_i proteinleri aracılığıyla, serbest radikaller doğrudan fosfolipaz D (FLD) enzimini aktifleyebilirler (165, 168, 169). FLD aktivasyonu ile fosfatidilkolin hidrolizi hızlanır, bunun sonucunda fosfatidik asit oluşur. Fosfatidik asit fosfohidrolaz enzimi tarafından DAG dönüştürülür ve PKC aktiflenir (167).

FLC enzimi ile DAG üretimi çok hızlı başlar fakat yarılanma ömrü 30 saniyedir. FLD enzimi ile DAG üretimi daha geç başlar ve PKC'nin uzamış aktivasyonu ile ilişkilidir (170).

2.6.10. Protein Kinaz C

PKC, substrat proteinlerin serin veya treonin kalıntılarını fosforile eden kinaz grubunun bir üyesidir. Ping ve arkadaşları tavşan kalbinde yaptıkları çalışmada PKC'nin 11 değişik izoformunu belirlemişlerdir (171). PKC izoenzimleri aktif halde değilken nükleus ve perinükleer bölgelerde bulunurlar. Aktive edildikleri zaman hücre içinde hareket ederler ve hücre içi yapıları kendilerine özgü reseptörler aracılığı ile etkilerler (172, 173). Aktive PKC izoformları sitoplazma ve hücre membranlarında bulunan çeşitli efektör molekülleri fosforilleyip etkilerini düzenler (167).

Aktive PKC izoformları K^+_{ATP} kanallarını etkileyerek önkoşullama korumasına dahil olur. Korumanın erken fazında PKC, mitokondriyal ve sarkolemmal K^+_{ATP} kanallarını doğrudan etkileyerek etki gösterir (67, 159, 174). Geç fazda ise PKC, tirozin kinazı (TK) aktive ederek başlattıkları bir dizi reaksiyon aracılığıyla K^+_{ATP} kanallarını aktive eder (Şekil 2.6.1.) (67).

PKC aktivasyonunun zamanlaması önkoşullama korumasında kritik bir öneme sahiptir. Tavşan ve sıçan kalplerinde PKC'nin spesifik inhibitörü olan staurosporinin önkoşullayıcı İS döneminde uygulanması korumanın oluşumunu bloke etmezken

uzun süreli İS öncesinde uygulanması önkoşullama korumasının oluşumunu engellemiştir. Bu verilerden yola çıkılarak PKC aktivasyonunun uzun süreli İS öncesinde olduğu sonucuna varılmıştır (175).

Tavşan kalbinde yapılan çalışmada PKC'nin ϵ ve η izoformları, sıçan kalbinde ise ϵ , η ve α izoformları izole edilebilmiştir. (171, 176). Önkoşullanmış kalplerde bir çok PKC izoenzimi belirlenmiş olmasına rağmen sadece ϵ izoformun korumada aktif rol aldığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (173, 177, 178).

Spesifik inhibitörler veya aktivatörler ile yapılan çalışmalar ile tavşan, sıçan ve insan dokularında PKC'nin rolü açıkça ortaya konmuştur (175, 179-181). Ancak köpek ve domuz gibi büyük deney hayvanlarında sadece PKC inhibitörleri kullanılarak yapılan çalışmalarda önkoşullama koruması engellenememiştir (182, 183). Devamındaki araştırmalarda PKC ile eş zamanlı olarak TK aktivitesinin de bloke edilmesi önkoşullama korumasının oluşumunu bloke etmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkılarak özellikle büyük deney hayvanlarında PKC'ye alternatif fakat aynı zamanda onunla paralel hareket eden bir sinyalleşme mekanizmasının olduğu ve bununda TK olabileceği ileri sürülmüştür (184). Sıçan kalbinde de alternatif TK aktivitesinin olduğunu gösteren çalışmalarda mevcuttur (176, 185).

2.6.11. Tirozin Kinaz

Hücredeki serin-treonin kalıntılarını etkileyen PKC'ye benzer şekilde, tirozin kalıntılarını fosforilleyen kinaz grupları da mevcuttur. Bunlar TK olarak isimlendirilmektedir (186). TK'ların reseptör ve sitozolik olmak üzere iki formu mevcuttur. Reseptör TK'lar FLD aracılığıyla PKC'yi aktive ederek önkoşullamaya dahil olurlar (Şekil 2.6.1) (187).

Fakat yapılan çalışmalar sitozolik TK'ların önkoşullamada daha önemli rol oynadıklarını göstermiştir. PKC, bir tirozin kinaz olan mitojenle aktive edilen protein kinaz kinazı (MEK), o da mitojenle aktive edilen protein kinazı (MAPK) fosforilasyon suretiyle aktive eder. Sonuçta oluşan MAPK , miyokardiyal iNOS aktivasyonu ile NO oluşumunu sağlar. NO, peroksinitrite dönüşerek doğrudan veya PKC'yi aktive ederek dolaylı olarak sarkolemmal ve mitokondriyal K^+_{ATP} kanallarını aktive eder. Bu mekanizma ile önkoşullama korumasının geç fazı ortaya çıkar (Şekil 2.6.1) (156, 187, 188).

Bazı deney hayvanı türlerinde PKC inhibitörleriyle korumanın geç fazının oluşumunun engellenememesi üzerine araştırmacılar TK'nın sadece PKC aracılığıyla değil bilinmeyen başka mekanizmalar aracılığıyla da uyarılabileceğini ileri sürmüşlerdir (80, 185, 189, 190).

2.6.12. Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinazlar

Dokulardan elde edilen bir grup kinaz MAPK olarak isimlendirilmiştir. Kalp dokusunda MAPK'ların ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinazlar (ERK), NH₂ terminal kinazlar/stres aktivasyonlu protein kinazlar (JNK) ve p38 mitojenle aktive edilen protein kinazlar (p38 MAPK) gibi alt grupları izole edilmiştir . Sayılan MAPK alt grupları sırasıyla G proteine bağlı reseptörler, iskemiye de içeren hücresel stres oluşturan faktörler ve FLC tarafından aktive edilirler (191-193). Tüm MAPK'lar TK ailesinden olan MEK'ler tarafından fosforilasyon suretiyle aktive edilirler. MAPK'lar da MAPK'larla aktive edilen protein kinaz-2 (MAPKAPK-2) ve p90 ribozomal S6 protein kinaz-2 (p90rsk) gibi distal kinazları aktive ederek etkilerini gösterirler. Bu aktivasyon sırasında düşük molekülül ağırlıklı ısı şoku proteini olan HSP27'de fosforillenir (194, 195).

Genel olarak MAPK'lar çekirdekte özgül genlerin transkripsiyonu ve/veya ribozomlarda gerçekleşen translasyonu stimüle edebilirler, bazı yapısal faktörlerin aktivasyonunu sağlayabilirler. Bu etkileriyle hedef hücrelerde proliferasyon, farklılaşma, hipertrofi, morfolojik değişimler, apoptozla hücre ölümünün engellenmesi, glikojen ve ufak ısı şoku proteinlerinin sentezinin artırılması ve enerji metabolizmasının düzenlenmesi gibi olaylara aracılık ederler (167).

2.6.12.1. ERK

ERK'ların oluşumu endojen büyüme faktörlerinin G proteini ile kenetli reseptörlere bağlanması ile başlar. PKC'nin α izoformu da ERK oluşumunu uyarabilir (167). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda, ERK'nın önkoşullama korumasının oluşumunda rolünün olup olmadığı net bir şekilde ortaya konulamamıştır (196-197).

2.6.12.2 JNK

Kalp dokusunda JNK46 ve JNK54 izole edilmiştir (198). PKC inhibitörü olan keleritin ile yapılan çalışmada JNK aktivasyonunun belirlenememesi üzerine JNK aktivasyonunu PKC üzerinden gerçekleştirdiği düşünülmüştür (199). Tavşan, domuz ve

sıçan kalplerinde yapılan çalışmalarda JNK, önkoşullama korumasının oluşumuyla ilişkili bulunmuştur (200-202).

2.6.12.3. p38 MAPK

İzole sıçan kalbinde (203) ve sıçan (204), köpek (205), domuz (206) kalplerinde in vivo olarak p38 MAPK'ların İS periyodunda aktivitelerinin arttığı gözlenmiştir. İS'nin uzatılmasıyla aktivasyonu azalmış ancak reperfüzyonla tekrar artmıştır (204). Sıçan kalplerinde ADO kullanılarak yapılan çalışmada p38 MAPK aktivitesinin arttığı gözlenmiştir (207). Önkoşullanmış sıçan ve tavşan kalplerinde yapılan çalışmalarda ise MAPKAPK-2 aktivitesinde artış gözlenmiştir (208, 209).

Tüm çalışmalarda elde edilen sonuca göre, p38 MAPK'ın ADO ve PKC aracılığıyla aktive edildiği ve önkoşullama korumasında önemli bir rol oynadığı düşünülmüştür.

2.6.13. Isı şoku Proteinleri

Isı şoku proteini olan HSP27, MAPKAPK-2 tarafından fosforillenerek aktive edilir (210, 211). HSP27'nin hücre içi proteinlerin spesifik olmayan agregasyonunu önlediği, aktin filamentlerinin organizasyonunu sağladığı, oksidatif stress ve ısı şoku sonrasında aktin filamentlerinin stabilizasyonunda görev aldığı zannedilmektedir (212, 213).

Tavşan ve sıçan modellerinde hiperterminin önkoşullamanın geç fazında ortaya çıkan korumayı arttırdığı ve bu dönemde HSP27 yüksekliğinin korumanın boyutuyla pozitif bir ilişki içinde olduğu gözlenmiştir (214, 215). Benzer şekilde sıçanlarda vücut ısısının 40-42 ° C'ye yükseltilmesinin, reperfüzyondan 48 saat sonra ortaya çıkan aritmiler üzerinde olumlu etkileri olmuştur (215, 216). Önkoşullama korumasındaki rolü ile ilgili yapılan bir çok çalışmaya rağmen HSP27'nin bir mediyatör mü olduğu ya da sadece aktin filamentlerinin iskemik strese maruziyeti sonucu yükselen bir belirteç mi olduğu açıklığa kavuşmamıştır (216, 217)

2.6.14. Endotoksin

Toksik olmayan bir endotoksin olan monofosforil lipid A'nın (MLA) düşük dozlarda, tavşan ve sıçan kalplerinde reperfüzyon hasarına karşı erken ve geç dönemde koruyucu etki oluşturduğu gözlenmiştir (218-220). Köpeklerde ise MLA uygulaması doza bağımlı olarak korumanın geç fazını uyarmıştır . MLA ile oluşan

korumanın erken ve geç fazı, K^+_{ATP} kanal blokörü olan glibenklamid uygulamasıyla sonlandırılabilmiştir (221).

Yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar endotoksinin, önkoşullamanın erken ve geç fazındaki koruyucu etkisinin K^+_{ATP} kanalları üzerinden olduğunu göstermiştir. Endotoksin, korumanın geç fazında iNOS aktivasyonu ile bu etkiyi gösterirken, erken fazda PKC'yi uyararak K^+_{ATP} kanallarını etkiler (Şekil 2.6.1.) (222).

2.6.15. Tümör Nekroze Edici Faktör- α

Makrofajlardan salınan tümör nekroze edici faktör- α (TNF- α) proinflatuvar, antitümoral ve antiviral etkinlik gösterir (223). TNF- α 'nın dokulardaki miktarı iskemi süresince artar (224, 225). Miyokard iskemisi geçiren hastalarda TNF- α 'ya karşı gelişen antikorların doku hasarını azalttığı gözlenmiştir (226). Tavşan kalbinde yapılan çalışmalarda ise TNF- α uygulaması önkoşullama korumasını bloke etmiştir (224, 225).

2.6.16. ATP-ye Duyarlı Potasyum Kanalları

K^+_{ATP} kanalları, hücrede ATP düzeylerinin yeteri kadar yüksek olduğu durumlarda kapalıdır. İskemi gibi kalpte ATP düzeylerini düşüren olaylarda aktive olur (227). Kalpteki K^+_{ATP} kanalları sarkolemma ve mitokondri iç zarında yerleşmişlerdir (174).

Sarkolemmal K^+_{ATP} kanallarının aktivasyonu, hücre içinden dışına doğru potasyum iyonunun akışını hızlandırır ve repolarizasyon hızlanır. Bu etkiyle beraber voltaj bağımlı kanallardan akışın azalması sonucunda hücre içi Ca^{++} konsantrasyonlarının düşmesi iskemik hasarı azaltır (228-230).

Mitokondriyal K^+_{ATP} kanal aktivasyonunun korumaya nasıl katkıda bulunduğu tam olarak aydınlatılamamıştır (133, 159, 200, 231-233). Bu konuda iki görüş öne sürülmüştür. Bu görüşlerden ilki mitokondriyal K^+_{ATP} kanal aktivasyonunun mitokondride Ca^{++} aşırı yükünü engellediği ve bu etkiyle Ca^{++} 'un mitokondriyal yapılar üzerindeki muhtemel hasarını önlediğidir (234). Diğerisi ise mitokondriyal K^+_{ATP} kanal aktivasyonunun aslında bir uç efektör olmadığı, sonrasında henüz aydınlatılamamış bir çok mekanizmanın tetikleyicisi olduğudur (235, 236).

Hücredeki K^+_{ATP} kanallarını bloke eden veya aktive eden maddeler kullanılarak yapılan bir çok çalışmada, kanal aktivasyonunun önkoşullama koruması üzerine etkisi net bir şekilde görülmüştür (237-239).

K^+_{ATP} kanallarının önkoşullama korumasındaki etkileri anlaşıldıktan sonra, hangi yerleşimdeki kanal aktivasyonu daha fazla etkilidir sorusu gündeme gelmiştir (174, 234, 240, 241). Sıçan ve tavşan kalplerinde mitokondriyal K^+_{ATP} kanalları üzerinde aktive edici etkisi olduğu varsayılan diazoksit ile yapılan çalışmalarda koruyucu etki gözlenmiştir (232, 234, 242). Paralel olarak mitokondriyal K^+_{ATP} kanallarını bloke ettiği varsayılan 5-hydroxydecanoic acid (5-HD), tavşan ve sıçan kalplerinde korumayı bloke etmiştir (232, 243). Bu ve benzeri çalışmalardan yola çıkılarak sadece mitokondriyal K^+_{ATP} kanallarının korumada etkili olduğu öne sürülmüştür. Fakat sarkolemmal K^+_{ATP} kanallarını bloke eden HMR 1098 ya da HMR 1883 kullanılarak diazoksitle oluşturulan korumanın ortadan kaldırılabilmesi üzerine; kullanılan aktivatör veya blokörlerin varsayıldığı kadar seçici olmadığı, mitokondriyal K^+_{ATP} kanalları daha fazla olmak üzere her iki kanalın da korumada etkili olduğu ileri sürülmüştür (244-246).

2.7. Uzak İskemik Önkoşullama

Bir organ veya dokunun iskemi ve reperfüzyonu ile oluşturulan önkoşullama, başka bir arterin beslediği organ veya dokuyu da önkoşullayarak koruyucu etki gösterebilir. Bu durum uzak iskemik önkoşullama (UIÖ) olarak adlandırılmıştır. İlk defa 1993 yılında Przyklenk ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Bu çalışmada köpek sircumflex koroner arter üzerinde uygulanan önkoşullamanın, sol ön inen koroner arterin beslediği alanlarda da koruyucu etki gösterdiği gözlenmiştir (247). Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda ise iskelet kası (248), böbrek (249), mezenterik arter (250) ve femoral arterde (251) gerçekleştirilen önkoşullamaların da kalpteki İR hasarına karşı koruyucu etkileri gösterilmiştir.

Przyklenk ve arkadaşlarının ilk kez tarif etmelerinden bu yana geçen yıllar içerisinde UIÖ'nün hangi mekanizmalarla oluştuğu bir çok çalışmaya konu edilmiştir. Pell ve arkadaşları tavşan renal arterinde oluşturdukları önkoşullamanın kalpteki İR hasarı üzerindeki etkilerini 8-SPT ve K^+_{ATP} kanal blokörü olan 5-HD kullanarak incelemişlerdir. Çalışmanın sonunda kalpte gözledikleri koruyucu etkilerin ADO ve

K^+_{ATP} kanallarıyla ilişkili olduğunu söylemişlerdir (249). Benzer şekilde Takaoka ve arkadaşları da ADO'nun UİÖ oluşumunda yer aldığını göstermişlerdir (252).

Schoemaker ve arkadaşları sıçan mezenterik arterinde gerçekleştirdikleri önkoşullamanın, kalpteki etkilerini bradikinin ve bradikinin B_2 reseptör blokörü olan HOE-140 kullanarak incelemişlerdir. Sonuç olarak bradikininin UİÖ oluşumunda rol aldığını söylemişlerdir (253). PKC inhibitörlerin de dahil edildiği bir çalışmada ise bradikininin, uzak olmayan İÖ mekanizmasına benzer bir şekilde PKC aktivasyonuna yol açtığı ileri sürülmüştür (254).

Patel ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, nalokson uygulamasının korumayı belirgin şekilde azaltması üzerine opioid reseptörlerinin de UİÖ mekanizmasına dahil olduğunu ileri sürmüşlerdir (250). Weinbrenner ve arkadaşları infrarenal aortada gerçekleştirdikleri önkoşullamanın kalp üzerindeki koruyucu etkilerini spesifik opioid reseptör blokörleri kullanarak engelleyebilmişlerdir (255).

Chen ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları çalışmada sıçan femoral arterinde oluşturdukları önkoşullamanın kalpte oluşturduğu koruyucu etkide ısı şoku proteinleri ve serbest radikallerin iştirakini göstermişlerdir (256).

NO'nun UİÖ' da ki rolünün araştırıldığı bir çalışmada L-NNA kullanılmış ve mezenterik arterdeki önkoşullamanın kalp üzerindeki koruyucu etkileri önlenememiştir. Araştırmacılar UİÖ'da NO'in önemli bir rol almadığını ileri sürmüşlerdir (251).

Kristiansen ve arkadaşları çalışmalarında glibenklamid, diazoksit, 5-HD ve HMR-1098 kullanmışlardır. Çalışmanın sonunda UİÖ mekanizmasına K^+_{ATP} kanal aktivasyonunun dahil olduğunu ve mitokondriyal K^+_{ATP} kanal aktivasyonunun daha büyük rol oynadığını söylemişlerdir (257).

Bu konuda yapılan tüm çalışmaların sonucunda, UİÖ'nun uzak olmayan İÖ'ya benzer mekanizmalarla oluştuğu söylenmekle birlikte bir organda oluşan önkoşullamanın hangi sinyal mekanizmasıyla diğer bir organa iletildiği merak edilmiştir. Bu konuda araştırmacılar oluşturdukları UİÖ modellerinde korumayı heksametonyum ve trimetafan gibi otonom ganglion blokörü kullanarak engelleyebilmişlerdir. Sonuç olarak önkoşullama sinyalinin uzak bir organa taşınmasında nöral mekanizmaların rol aldığını söylemişlerdir (253, 254, 258-260).

2.8. Kalp Anatomi ve Fizyolojisi

2.8.1. Kalp Anatomisi

Kalp içi boş müsküler bir organ olup, şekil olarak bir ölçüde piramide benzer ve mediastinumda, perikard içinde bulunur. Tabanında büyük kan damarlarıyla yaptığı bağlantı dışında perikardium içinde serbest haldedir (261) .

Kalbin üç yüzü vardır. Ön yüzüne facies sternocostalis, alt yüzüne facies diaphragmatica, arka yüzüne basis cordis denir. Ayrıca aşağıya öne ve sola doğru uzanan bir apex cordis'i vardır. Ön yüz, esas olarak vertikal seyirli atrioventriküler oluk tarafından birbirlerinden ayrılan sağ atrium ve sağ ventrikül tarafından oluşturulmuştur. Alt yüz, sulcus interventricularis posterior tarafından birbirlerinden ayrılan sağ ve sol ventrikül tarafından oluşturulmuştur. Arka yüz, başlıca içine dört pulmoner venin açıldığı sol atrium tarafından şekillendirilir. Sol ventrikül tarafından şekillendirilen apex cordis öne ve sola doğru uzanır (261) .

Kalp, vertikal bir septum ile dört odacığa bölünür, sağ ve sol atriumlar ile sağ ve sol ventriküller. Kalbin duvarları myocardium denilen kalp kasından oluşmuştur. Bu kas dıştan perikard ile, içten de ince bir endotel tabakası olan endocardium ile sarılmıştır (261) .

Sağ atrium, bir ana boşluk ve küçük bir dış kesecik olan auricula'dan oluşur. Vena cava superior sağ atriumun üst kısmına açılır. Vena cava inferior sağ atriumun alt kısmına açılır. Kalp duvarlarından gelen kanın büyük kısmını drene eden sinus coronarius, vena cava inferior ile atrioventriküler deliğin arasında sağ atriuma açılır. Bunlardan başka kalp duvarını drene eden ve doğrudan sağ atriuma açılan küçük venlere ait çok sayıda delikler de vardır (261).

Sağ ventrikül, atrioventriküler delik aracılığıyla sağ atriumla ve pulmoner delik aracılığıyla truncus pulmonalis ile birleşir. Valva tricuspidalis sağ atrioventriküler delikte bulunur ve bir endokard katlantısı ile bir miktar bağ dokusu ilavesinden oluşan üç kapakçıktan meydana gelmiştir (261).

Sol atrium, sağ atriuma benzer şekilde bir ana boşluk ve sol auricula'dan oluşur. Sol atriumun arka duvarına her akciğerden iki adet olmak üzere dört vena pulmonalis açılır. Sol atrioventriküler delikte mitral kapak bulunur (261).

Sol ventrikül, atrioventriküler delik aracılığıyla sol atriumla ve ostium aortae aracılığıyla aort ile birleşir. Sol ventrikülün duvarları sağ ventrikül duvarından üç kat

daha kalındır. Valva aortae, aort deliğinde bulunur ve yapısal olarak pulmoner kapakla benzeşir (261).

Kalbin ileti sistemi, nodus sinoatrialis, nodus atrioventricularis, fasciculus atrioventricularis ve bunun sağ ve sol uç dallarını oluşturan purkinje liflerinin subendokardiyal pleksusunu içeren özelleşmiş kalp kasını kapsar. Nodus sinoatrialis kalp kası kontraksiyonun başlatıldığı ve çoğunlukla pacemaker olarak adlandırılan yerdir (261).

Kalbin arteriyel kanı, aortik kapağın hemen üzerinden çıkan sağ ve sol koroner arterler tarafından sağlanır. Bunlar ve büyük dalları, subendokardiyal bağ dokusu içinde kalp yüzeyi üzerinde dağılırlar (261).

Arteria coronaria dextra, aorta ascendens'in ön aortik sinüsünden çıkar ve truncus pulmonalis ile sağ auricula arasında öne doğru ilerler. Sağ atrium ve sağ ventriküle dallar vererek, sağ atrioventriküler oluk içinde vertikal olarak aşağıya doğru iner. Kalbin alt kenarında sol koroner arterle anastomoz yapmak üzere atrioventriküler oluk boyunca arkaya doğru devam eder. Sağ ventrikülü besleyen r. marginalis dexter isimli bir dal ve her iki ventrikülü besleyen r. interventricularis posterior isimli bir dal verir. Bu dal interventriküler olukta sol koroner arterin r. interventricularis anterior isimli dalı ile anastomoz yapar (261).

Arteria coronaria sinistra, genellikle sağ koroner arterden geniş olup aorta ascendensin sol arka aortik sinüsünden çıkar ve truncus pulmonalis ile sol auricula arasında öne doğru ilerler. Daha sonra atrioventriküler oluğa girerek r. interventricularis anterior ve r. circumflexus isimli dallarına ayrılır. R. interventricularis anterior, sulcus interventricularis anterior içinde kalbin apeksine doğru iner. Daha sonra, sağ koroner arterin posterior interventriküler dalıyla anastomoz yapmak üzere apeksin etrafına dolanır. R. interventricularis anterior sağ ve sol ventrikülü ve interventriküler septumu besler. Ramus circumflexus, atrioventriküler oluğu takip eder, kalbin sol kenarı etrafında döner ve sağ koroner arter ile anastomoz yaparak sonlanır. R. circumflexus, sol atrium ve sol ventrikülü besler (261).

Sinoatrial düğüm genellikle sağ, fakat bazen de sol koroner arter tarafından beslenir. Atrioventriküler düğüm ve atrioventriküler demet sağ koroner arter

tarafından beslenir. Atrioventriküler demetin sağ dalı sol koroner arter tarafından beslenir, sol dal ise sağ ve sol koroner arterler tarafından beslenir (261).

Kalp duvarından gelen kanın büyük kısmı sinus coronarius yoluyla sağ atriama drene olur. Sinus coronarius, atrioventriküler oluğun arka kısmında uzanır ve vena cardiaca magna'nın devamıdır. Sağ atrium içine, vena cava inferior'un sol tarafından açılır. Vena cardiaca parva ve vena cardiaca media, sinus coronarius'a açılır. Kanın geri kalanı sağ atriama, anterior kardiak ven ve de kalp boşlukları içine direkt olarak açılan küçük venler yoluyla döner (261).

Kalp, arcus aortae'nın altında yer alan plexus cardiacus'lar yoluyla otonom sinir sisteminin sempatik ve parasempatik lifleri tarafından innerve edilir. Sempatik sinir lifleri truncus sympathicus'un servikal ve üst torakal kısmından, parasempatik sinir lifleri ise nervus vagus'tan gelir. Postganglionik sempatik lifler, sinoatrial ve atrioventriküler düğümlerde, kalp kası liflerinde ve koroner arterler üzerinde sonlanır. Postganglionik parasempatik lifler, sinoatrial, atrioventriküler düğümlerde ve koroner arterlerde sonlanır (261).

Akciğere kan A. pulmonalis ve Aa. bronchiales aracılığıyla gelir. A. pulmonalis venöz kanı akciğerlere getirir. Segmental bronkuslarla birlikte paralel dağılırlar ve akciğeri segmental olarak beslerler. Aa. bronchiales trakeabronkial ağaç, akciğerin kendi dokusu, plevra ve pulmoner damarların duvarlarını besler (262).

2.8.2. Kalp Fizyolojisi

Kalp, akciğerlere kan pompalayan sağ kalp ve çevre organlara kan pompalayan sol kalpten oluşur. Bunlardan her biri, bir atriyum ve ventrikülden oluşan iki bölmeli bir atım pompasıdır. Atriyum, ventrikül için zayıf bir hazırlayıcı pompa görevi görür, başlıca görevi kanı ventrikül içine yönlendirmektir. Ventrikül ise, kanı ya pulmoner ya da periferik dolaşıma iten ana kuvveti sağlar (263).

Kalp başlıca, üç tip kalp kasından meydana gelir. Bunlar atriyum kası, ventrikül kası, özelleşmiş uyarıcı ve iletici kas lifleridir. Kasılma süresinin daha uzun olması dışında, atriyum ve ventrikül kasları iskelet kasına oldukça benzer şekilde kasılırlar. Çok az miktarda kasılabilir fibril içeren özelleşmiş uyarı ve ileti lifleri ise, yalnızca belli belirsiz kasılırlar (263).

Hücreler birbirlerinden interkale disk adı verilen ve gerçekte bir hücre zarı olan yapılarla ayrılır. Hücre zarlarının kaynaşarak oluşturduğu haberleşen bağlantılar

(gap junction) geçirgendir, iyonların nispeten serbest difüzyonuna izin verir. Dolayısıyla işlevsel açıdan, iyonların kalp kası liflerinin uzun eksenı boyunca kolaylıkla hareket etmeleri sağlanır. Böylece aksiyon potansiyelleri çok küçük bir engelle karşılaşarak interkale diskleri geçer ve bir kalp kası hücresinden diğerine iletilir. Kalp kası, bir sinsiyeum oluşturacak şekilde bir araya gelmiş pek çok kalp kası hücresinden meydana gelir. Bu sinsiyeumdaki kalp kası hücreleri birbirlerine öylesine bağlanmıştır ki, hücrelerden biri uyarılınca, aksiyon potansiyeli hücrenin tüm bağlantılarına yayılarak diğer hücreler ulaşır (263).

Kalbin Uyarı ve İleti Sistemi

Kardiyak impuls normalde, sağ atrium ile superior vena kavanın bileşkesinde yer alan özel pacemaker hücrelerinden ibaret olan sinoatrial düğümde oluşur. Bu hücrelerin muhtemelen sodyum ve olasılıkla Ca^{++} sızdıran bir dış membranları bulunmaktadır. Sodyumun yavaşça hücre içine sızması daha az negatif istirahat potansiyeline (-50, -60 mV) olur. Her siklusta, hücre içine sodyum kaçağı giderek daha az negatif bir hücre membranı oluşmasına, eşik potansiyele varıldığında Ca^{++} kanallarının açılmasına, K^{+} permeabilitesinin azalmasına ve bir aksiyon potansiyeli gelişmesine neden olur. Normal sodyum permeabilitesinin restorasyonu, sinoatrial düğümdeki hücrelerin normal istirahat membran potansiyellerine dönüşüne izin verir (264).

Sinoatrial düğümde üretilen uyarı hızla atriyeumlara ve A-V noda iletilir. Özel atriyal fibriller bu uyarıyı hem sol atriyeuma hem de A-V noda hızla iletebilecek kapasitededir. A-V nod, sağ atriumun septal duvarında koroner sinüsün açıldığı yerin hemen önünde ve triküspit valvin septal kapağının üzerinde yer alır ve üç bölüme ayrılır: Üst kavşak , orta nodal ve alt kavşak bölgeleri. Orta nodal bölge intrinsik spontan aktiviteden yoksun iken diğer iki bölgenin bu özelliği vardır. Normalde bu kavşaktaki spontan depolarizasyon hızının yavaş olması kalp hızının kontrol edilebilmesini sağlar. Sinoatrial nodun depolarizasyon hızını azaltan veya A-V kavşağın otomastitesini artıran her hangi bir neden bu kavşağın kalbin pacemaker görevini üstlenmesine neden olur (264).

Sinoatrial düğümden çıkan impulslar normalde atrioventriküler noda yaklaşık 0.04 sn.de varır ve 0,11sn sonra da A-V nodu terkeder. Bu gecikme, A-V noddaki ufak miyokardiyal fibrillerin yavaş iletimin sonucudur. Bu yavaş iletim, yavaş Ca^{++}

kanallarının varlığından kaynaklanırken, atriyumlar veya ventriküllerdeki komşu iki hücrenin impulsları iletimi, başlıca hızlı sodyum kanallarının aktivasyonu ve inaktivasyonuna bağlıdır. A-V nodun aşağı fibrilleri, his demetini oluşturmak üzere birleşirler. Bu özelleşmiş fibriler grup, intraventriküler septumun içinden geçtikten sonra sol ve sağ olmak üzere iki dala ayrılarak ventrikülleri depolarize eden purkinje fibrillerini oluşturur. A-V nodal dokunun tersine, purkinje lifleri hızlı bir ileti kapasitesine sahip olup iki ventrikülün miyokardında da neredeyse aynı zamanda depolarizasyon oluşturmalar (264).

Kalp Aksiyon Potansiyellerinin Oluşumu

Hücre membranında varolan çeşitli iyon kanallarının dağılımındaki farklılıklar nedeniyle aksiyon potansiyeli profili kalbin çeşitli bölgelerinde belirgin değişiklikler gösterir. Buna bağlı olarak kalpteki yapılar hızlı elektriksel yanıt verenler ve yavaş elektriksel yanıt verenler olarak iki grupta toplanabilirler. Hızlı elektriksel yanıt veren yapılar purkinje lifleri ile atrium ve ventrikül miyokard hücreleridir. Yavaş elektriksel yanıt veren yapılar ise nodal hücreler ile özel bazı miyokard hücreleridir (227).

Hızlı elektriksel yanıt veren yapılarda aksiyon potansiyelinin dört fazı belirgin olarak oluşur. Faz 0, 1-2 milisaniye içinde transmembranal potansiyelin istirahat değerinden (-90- -80 mV) pozitif değerlere (+20- +30 mV) fırladığı fazdır. Fırlama fazı da denir. Hızlı sodyum kanallarının açılmasına bağlı oluşur ve en kısa süren fazdır. Faz 1, yükselmiş membran potansiyelinin biraz düşmesi sonucu ortaya çıkar. Sodyum kanallarının faz 0 sonunda hızlı bir şekilde inaktivasyonu ve klor kanallarının açılmasına bağlı oluşur. Erken veya kısa repolarizasyon fazı da denmektedir. Faz 2, yavaş açılıp kapanan Ca^{++} kanallarının açılmasına bağlı oluşur. Plato fazı olarakta adlandırılır ve aksiyon potansiyelinin en uzun süren fazıdır. Faz 3, K^{+} kanallarının açılmasına bağlı oluşan ana repolarizasyon fazıdır. Faz 4, aksiyon potansiyelinin kaybolduğu istirahat fazıdır (227).

Yavaş elektriksel yanıt veren yapılarda, farklı olarak, faz 0, yavaş gelişir ve esas olarak Ca^{++} girişine bağlıdır. Bu tür yanıt veren hücrelerin istirahat membran potansiyeli, hızlı hücrelere göre daha az negatiftir, aksiyon potansiyelinin amplitüdü küçüktür (227).

Kalpde aksiyon potansiyellerinin oluşumu açısından en fazla incelenen yapı olan purkinje liflerinde gözlenen iyon akımları şunlardır (227).

A) İçer yönelik katyon akımları: Membranın depolarizasyonundan sorumludurlar (227).

- 1- Hızlı sodyum akımı: Aksiyon potansiyelinin fırlama fazını oluşturan çok kısa süren ve görece şiddetli bir akımdır.
- 2- İçer yönelik ikinci yavaş akım: Aksiyon potansiyelinin faz 0'ı sırasında aktive edilen, yavaş olarak yükselen, faz 2'nin başında maksimuma erişen ve faz 3'ün sonunda biten Ca^{++} akımıdır.
- 3- İçer yönelik devamlı akım: Membrandan az da olsa devamlı sodyum ve biraz da Ca^{++} sızmasına bağlı ve bütün fazlarda varolan zayıf bir akımdır.

B) Dışa Yönelik katyon akımları: Kalp hücrelerinde gerçekleşen K^+ akımlarıdır. Bu akımlar farklı kanallar içinden geçerler ve tipleri şunlardır (227).

- 1- Dışa yönelik doğrultucu K^+ akımları: Bu akım Ca^{++} tarafından aktive edilen potasyum kanalları tarafından taşınır. Aksiyon potansiyelinin ikinci fazında açılmaya başlar. Bu akımı taşıyan kanalların yavaş açılması, repolarizasyonun yavaş gelişmesine yol açar.
- 2- Kısa süreli dışa yönelik K^+ akımı: Erken repolarizasyon ve plato fazına eşlik eden iki farklı türü bulunmaktadır.
- 3- İçer yönelik doğrultucu K^+ akımı: İstirahat durumundaki kalp hücrelerinde açılan potasyum kanalları tarafından gerçekleştirilir. İstirahat potansiyelinin sürdürülmesini sağlar.
- 4- Dışa yönelik plato K^+ akımı: Faz 1'in sonunda birden başlar ve plato fazı boyunca devam eder.
- 5- Tempocu içer yönelik akım: Spontan deşarj yapma özelliği olan sinoatriyal düğüm ve atrioventriküler iletim sistemi hücrelerinde faz 3'ün sonunda birden başlar ve diyastolik yavaş depolarizasyona katkıda bulunur.

- 6- İçe yönelik doğrultucu K^+ akımı: Faz 3'ün sonuna doğru başlar ve repolarizasyona katkıda bulunur.
 - 7- Taban K^+ akımı: Devamlı etkinlik gösteren dışa yönelik zayıf bir K^+ akımıdır.
 - 8- Sodyum ile aktive edilen K^+ akımı: Hücre içi Na^+ düzeyinin yükselmesi ile açılan kanallardır. Repolarizasyonun erken başlamasına neden olur.
 - 9- ATP'ye duyarlı K^+ akımı: Hücrede K^+_{ATP} kanalları tarafından gerçekleştirilir. Hücre içi ATP düzeyleri düşünce bu kanallar açılır, repolarizasyonu tetikleyerek kontraktilitenin azalmasına ve sistol süresinin kısalmasına yol açar.
 - 10- Asetilkolin ile aktive edilen K^+ akımı: Vagus stimülasyonu sonucu, vagal innervasyona sahip kalp hücrelerinde açılan bir potasyum kanalı tarafından taşınan akımdır. Vagus stimülasyonu, bu kanallar aracılığı ile vagal innervasyona sahip kalp hücrelerinde hiperpolarizasyonu artırır ve aksiyon potansiyellerinin amplitüdünü ve süresini kısaltır.
- C) İçe yönelik anyon akımları: Purkinje liflerinde faz 0 ile plato fazı arasında yer alan hızlı repolarizasyondan sorumlu olan ve çok kısa süren bir akımdır. Klorür iyonu tarafından taşınır (227).

Kalp Uyarılma-Kasılma Bağlantısı

Kalp kası, iskelet kasına benzer şekilde çizgili görünümündedir ve kalp kasının miyofibrilleri aktin ve miyozin filamentleri içerir. Aksiyon kalp kasının zarı üzerinde ilerlerken aynı zamanda transvers (T) tübüllerin zarları boyunca da ilerleyerek, kalp kası lifinin iç kısımlarına yayılır. T tübüllerindeki aksiyon potansiyelleri longitudinal sarkoplazmik tübüllerin zarlarını etkileyerek, Ca^{++} 'un sarkoplazmik retikulumdan hızla kasın sarkoplazmasına serbestlenmesine neden olurlar. Bu Ca^{++} , salınımlarını izleyen milisaniyeler içerisinde miyofibriller içerisine yayılır; aktin ve miyozinin birbirleri üzerine kaymalarını sağlayan kimyasal tepkimeleri hızlandırarak kas kasılmasına neden olur (263).

Sarkoplazmik retikulumdan serbestlenen Ca^{++} 'a ek olarak, aksiyon potansiyeli sırasında T tübüllerinden de sarkoplazmaya büyük miktarda Ca^{++} geçişi

olur. T tübüllerinden gelen bu ek Ca^{++} , kalp kasının kasılma kuvvetinde çok önemli rol oynar. T tübüllerinin uçları hücreler arası bölgeyle bağlantı halindedir. Hücre dışı sıvılarda bulunan Ca^{++} bu uçlar aracılığıyla T tübüllerine girer ve tübül içerisinde toplanır. T tübül sisteminin içerdiği Ca^{++} miktarı büyük ölçüde hücre dışı sıvının Ca^{++} düzeyiyle ilişkilidir (263).

Kalp Döngüsü

Bir kalp atımının başlangıcından, bir sonraki kalp atımının başlangıcına kadar gerçekleşen kalp olaylarına kalp döngüsü denir. Kalp döngüsü, kalbin kan ile dolduğu, diyastol adı verilen bir gevşeme döneminden ve bunu izleyen, sistol adı verilen bir kasılma döneminden meydana gelir (263).

Kanın büyük venlerden atriyumlara akışı normalde sürekli; kanın yaklaşık % 75'i atriyumlar kasılmadan önce atriyumların içinden geçip doğrudan ventriküllere akar. Bunu izleyen atriyum kasılması, genellikle ventriküllerin dolmasının geri kalan % 25'inden sorumludurlar (263).

Ventrikül sistolü sırasında A-V kapaklar kapalı olduğu için atriyumlar da büyük miktarlarda kan birikir. Sistol sona erip ventrikül basınçları düşük diyastolik değerlerine iner inmez, orta derecede artmış olan atriyum basınçları, hemen A-V kapakları iterek açar ve kanın hızla ventriküllere akmasını sağlar. Buna ventriküllerin hızlı dolma dönemi adı verilir. Bu dönem yaklaşık olarak diyastolün üçte birini kapsar. Diyastolün ikinci üçte birlik kısmında ventriküllere çok küçük miktarda kan akımı olur. Bu kan, venlerden atriyumlara boşalmaya devam eden ve atriyumlardan da doğrudan ventriküllere geçen kandır. Diyastolün son üçte birlik kısmında ise atriyumların kasılmasına bağlı olarak ventriküllere kan akışı gerçekleşir(263).

Ventriküllerin sistol sırasında boşalması üç dönemde gerçekleşir. Bunlar eş hacimli kasılma dönemi, fırlatma dönemi ve eş hacimli gevşeme dönemleridir. Eş hacimli kasılma döneminde ventrikül kasılması başladıktan hemen sonra ventrikül basıncı aniden yükselir ve atriyoventriküler kapaklar kapanır. Bu dönemde ventriküllerde kasılma olur fakat hiç boşalma olmaz. Fırlatma döneminde sol ventrikül basıncı 80 mm Hg'nin biraz üzerine çıkar ve ventriküllerden dışarıya kan akımı başlar. Kanın yaklaşık % 70'i fırlatma döneminin ilk üçte biri sırasında, geri kalan % 30'u ise sonraki üçte ikilik dönemi sırasında boşalır. Eş hacimli gevşeme döneminde ventriküller gevşer ve ventrikül içi basınçlar hızla düşer (263).

Kalp Pompalama İşlevinin Düzenlenmesi

Kalbin pompaladığı hacmin düzenlenmesi başlıca iki yolla olur. Bunlar kalbe akan kanın hacmindeki değişikliklere cevap olarak kalbin pompalama işlevinin intrinsik düzenlenmesi ve kalbin otonom sinir sistemi ile düzenlenmesidir (263).

Kalbe gelen kan hacminde meydana gelen değişikliklere karşı gösterilen intrinsik uyum sağlama yeteneğine Frank-Starling mekanizması denir. Bu mekanizma temel olarak, kalp kası doluş sırasında ne kadar çok gerilirse, kasılmanın kuvveti ve aortaya pompalanan kan miktarının da o kadar büyük olacağı şeklindedir. Yani fizyolojik sınırlar içerisinde kalp, venlerde normalden fazla miktarda kan birikmesine izin vermeyecek şekilde kendisine gelen kanın tamamını pompalar (263).

Sempatik uyarılar kalp hızını, kalp kasının kasılma kuvvetini artırarak pompalanan kanın hacmini ve fırlatma basıncını artırır. Vagal uyarılar ise kalp hızını ve kalbin kasılma kuvvetini azaltır (263).

Koroner Dolaşım

İnsanda ortalama dinlenme koroner kan akımı 225 ml/dk'dır, bu değer toplam kalp debisinin % 4-5'i kadardır. Sol ventriküle olan koroner kan akımı, vücudun diğer bölgelerinde görülen aksine sistol sırasında düşük bir düzeye iner. Bunu nedeni sol ventrikül kasının sistol sırasında intramüsküler damarlara güçlü bir baskı uygulamasıdır. Diyastol sırasında kalp kası gevşer ve sol ventrikül kapillerlerindeki tıkanıklık ortadan kalkar, kan bütün diyastol boyunca damarlardan serbestçe akar. Sağ ventriküldeki kapillerde de kan akımı kalp döngüsüne göre fazık bir değişiklik gösterir ancak sağ ventrikülün kasılma gücü, sol ventrikülünkünden çok daha azdır (265).

Koroner kan akımı hemen hemen tümüyle kasın oksijen gereksinimiyle orantılı olarak düzenlenir. Normal dinlenme koşullarında bile, kan kalp kası içinden geçerken koroner arter kanındaki oksijenin yaklaşık % 70'i tutulur. Bir çok araştırmacı, kalpteki oksijen konsantrasyonunun azalmasının kas hücrelerinden bazı vazodilatör maddelerin serbestlenmesine yol açtığını, bu maddelerin arteriyolları dilate ettiğini öne sürmektedirler. Bu vazodilatör maddeler başta adenosin olmak üzere fosfat bileşikler, potasyum iyonu, hidrojen iyonu, karbon dioksit, bradikinin ve prostaglandinlerdir (265).

Kalbe gelen otonom sinirlerin uyarılması koroner kan akımın doğrudan veya dolaylı olarak etkileyebilirler. Parasempatik sinir liflerinin ventriküler damarlar üzerine dağılımı az olduğu için parasempatik uyarı doğrudan etkiyle koroner arterleri çok az oranda dilate edebilir. Sempatik sistem , kan damarı duvarında dilatör ya da konstrüktör reseptör bulunmasına bağlı olarak, ya vazodilatör ya da vazokonstriktör etki gösterir (265).

Çoğu kez doğrudan etkilere zıt yönde olan dolaylı etkiler, koroner kan akımının normal kontrolünde çok daha önemli bir rol oynar. Dolaylı etkiler kalp kasının metabolik ihtiyaçlarının değişmesiyle ortaya çıkar (265).



MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Deney Hayvanları

Çalışmamızda Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen her iki cinsiyetten 250-350 g ağırlığında 24 adet Sprague-Dawley sıçan kullanıldı.

09/03/2004 tarih ve 6 sayılı Deney Hayvanları Etik Kurulu izni ile başlanan çalışmamız süresince NIH tarafından belirlenen 'Hayvan Haklarının Korunması' hususundaki esaslara özenle uyuldu.

3.1.2. Kullanılan İlaç ve Kimyasal Maddeler

Thiopental sodium	Pentothal® Abbott
Heparin	Liquemine® Roche
Methanol	Riedel-de Haen Agseelze
Potassium dihydrogen phosphate	Fluka Chemie
Sodium azide	Sigma Chemical Co.
Potassium chloride	Fluka Chemie
2-Thiobarbituric acid	Fluka Chemie
Ethanol	Riedel-de Haen
Sodium dodecyl sulfate	Fluka Chemie
2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol	Fluka Chemie
Acetic acid	Fluka Chemie
Sodium hydroxide	Fluka Chemie
1-Butanol	Fluka Chemie
Pyridine	Sigma Chemical Co.
Malonaldehyde bis(dimethyl acetal)	Sigma Chemical Co.
Tetrabutylammonium bromide	Fluka Chemie
Acetonitrile	Fluka Chemie
Potassium hydroxide	Fluka Chemie
Adenosine	Fluka Chemie
Adenosine 5'-monophosphate disodium salt	Sigma Chemical Co.
Adenosine 5'-diphosphate disodium salt	Fluka Chemie
Adenosine 5'-triphosphate disodium salt	Fluka Chemie

Perchloric acid

Fluka Chemie

3.1.3 Kullanılan Alet ve Cihazlar

Cerrahi alet seti

World Precision Instruments

7/0 İpek iplik

Hassas terazi

Sartorius Bp 1215

Rektal problu hayvan ısı kontrol cihazı

MAY RTC 9404-A Commat Ltd. Şti.

Rodent ventilatör

VGO BASILE 7025

Kan basıncı için transduser

MAY BPT 300 Commat Ltd. Şti.

EKG transduseri

MAY

Amplifikatör

MP30b-CE BIOPAC Systems Inc.

Bilgisayar programı

BIOPAC Student Lab PRO Manuel

Professional version 3.6.6 for PC

İstatistik programı

SPSS for Windows 9.0.0

Isıtıcıli manyetik karıştırıcı

MS-010-ISOLAB

Mobil faz filtrasyon sistemi

Sigma Chemical Co.

Şırınga filtre

GV-Milex

Filtre membranı

Sigma Chemical Co.

Isıtıcıli santrifüj

GS-6R Beckman

Derin dondurucu

UF 4420 Heto Ultra Freeze

Distile Su Cihazı

Aquadem

Kan Gazı ölçüm cihazı

ABL-700 Radiometer Copenhagen

Otomatik pipet

Eppendorf

pH metre

Gp 353 EDT İns.

PH ölçümü için prob

HI 1332 HANNA İns.

C-18 Kolon

Phenomenex

C-8 Kolon

Zorbax

C-8 Koruyucu kolon

Zorbax

YPLK cihazı özellikleri

- Otoenjektör

SIL-10A Shimadzu

- Pompa

LC-10AD Shimadzu

- Kolon Fırını

CTO-10A Shimadzu

- Uv-Vis dedektör

SPD-10AV Shimadzu

- Floresans dedektör	RF-10AXL Shimadzu
- Komünikasyon Modülü	CBM-10A Shimadzu
- Bilgisayar programı	CLASS-LC10 Version 1.51 Shimadzu

3.2. Metod

3.2.1. Cerrahi Metod

Çalışma boyunca sıçanlar, stres oluşturmayacak ortamda barındırılmış olup herhangi bir yiyecek ve su kısıtlaması uygulanmamıştır. Sıçanlar, 120 mg/kg dozunda intraperitoneal tiyopental sodyum ile anestezize edilmişlerdir. Cerrahi işlem boyunca gerektiğinde 10 mg/kg dozunda intravenöz tiyopental sodyum uygulaması ile anestezi devam ettirilmiştir. Rektal problu ısı kontrol cihazı kullanılarak hayvanların vücut ısılarının 37 ± 1 °C olması sağlanmıştır. Sıçanlara trakea entübasyonu yapılmış olup, ventilatör cihazı ile solunum sayısının dakikada 60, tidal volümün 1 ml/100 gr olması sağlanmıştır. Subkutan iğne elektrotları kullanılarak sürekli elektrokardiyogram (EKG) kaydı alınmıştır. Polietilen kateter kullanılarak sol karotid arter kanüle edilmiş ve basınç transduseri aracılığıyla arteriyel kan basınç değerleri bilgisayar ortamına aktarılmıştır. İlaç uygulamaları için sol femoral ven kanüle edilmiştir. Sıçanlara i.v. yolla 200 IU/kg heparin uygulamasından sonra sol parasternal torakotomi ile göğüs kafesi açılmıştır. Kalpte iskemi oluşturmak için sol koroner arterin (SKA) orjinine yakın yerinden 7/0 ipek iplikli atavmatik iğne geçirilmiştir. Akciğerde İÖ oluşturulan gruplarda ise sol pulmoner arter (SPA) izole edildikten sonra 7/0 ipek iplik geçirilerek oklüzyona hazır hale getirilmiştir. Koroner ve pulmoner arterlere düğüm atılırken, reperfüzyonu sağlamak ve arterlerde hasar oluşturmamak için iplikle arter arasına kısa bir polietilen boru yerleştirildi. Tüm cerrahi işlemler süresince belirgin aritmi oluşan, ortalama arteriyel kan basınç değerleri kalıcı bir şekilde 60 mmHg'nin altına düşen ve çalışma sonunda alınan arteriyel kan örneklerinde pH değeri 7.35-7.45, parsiyel karbondioksit değeri 32-48 mmHg aralığı dışında olan sıçanlar çalışma dışı bırakılmıştır. 15 dakika stabilizasyon için beklenildikten sonra deneysel protokoller uygulanmaya başlandı.

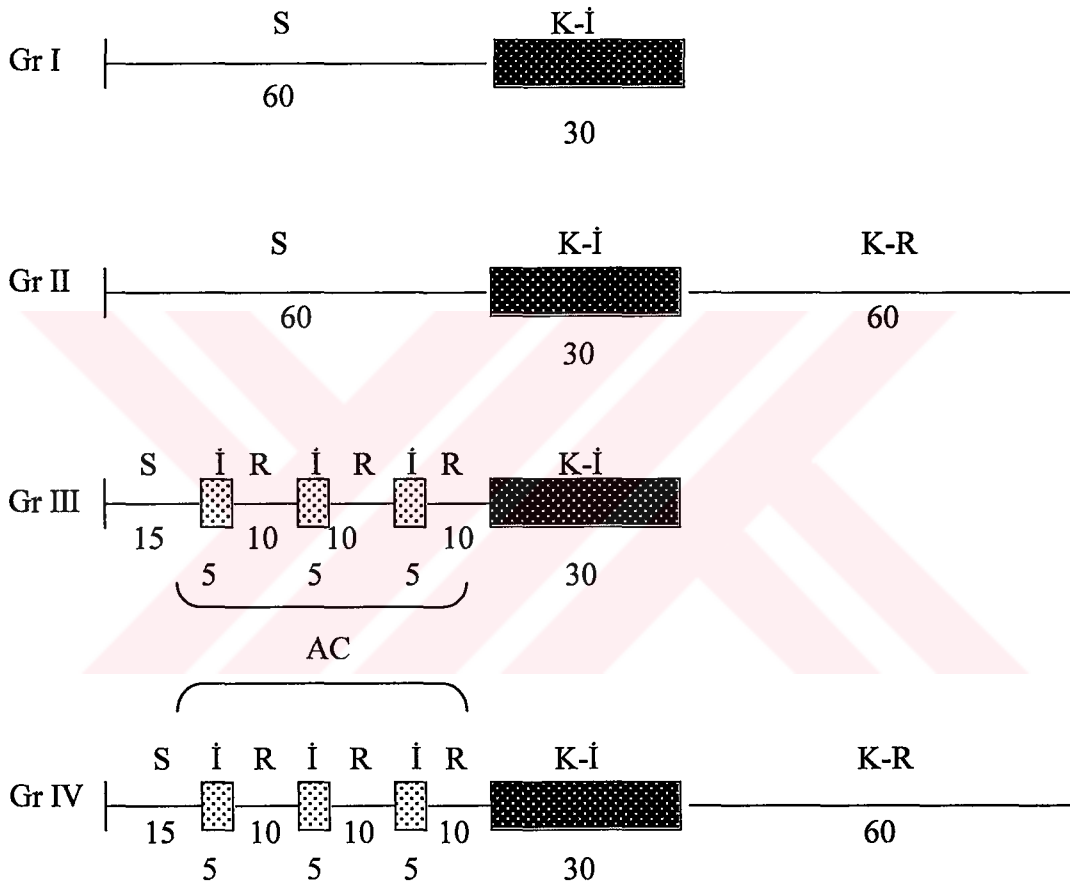
Çalışmamız her grupta 6 (n=6) sıçan olacak şekilde dört grup olarak düzenlendi (Şekil 3.2.1.).

1.Grup: Kalpte iskemi (30 dk SKA oklüzyonu) (K-İS)

2.Grup: Kalpte iskemi (30 dk SKA oklüzyonu)-Reperfüzyon (60 dk) (K-İR)

3.Grup: Akciğerde İskemik Önkoşullama (5 dakika SPA oklüzyonu–10 dakika reperfüzyon, üç kez uygulanacaktır) + Kalpte İskemi (30 dakika SKA oklüzyonu) (AC-İÖ + K-İS)

4.Grup: : Akciğerde İskemik Önkoşullama (5 dakika SPA oklüzyonu–10 dakika reperfüzyon, üç kez uygulanacaktır) + Kalpte İskemi (30 dakika SKA oklüzyonu)–Reperfüzyon (60 dakika) (AC-İÖ + K-İR)



Şekil 3.2.1.: Çalışmamız dört grup üzerinden gerçekleştirildi. S:

Stabilizasyon, K-İ: Kalpte iskemi (30 dk), K-R: Kalpte

reperfüzyon (60 dk), İ : Akciğerde iskemi (5 dk), R:

Akciğerde reperfüzyon (10 dk).

Deney sonunda histopatolojik ve biyokimyasal analizler için sol ventrikül doku örnekleri alınmıştır. Biyokimyasal analiz için alınan doku örnekleri sıvı nitrojen ile muamele edildikten sonra -80°C’de saklanmıştır. Doku örnekleri alınan sıçanlar kurban edilmiştir.

3.2.2. Biyokimyasal Analizler

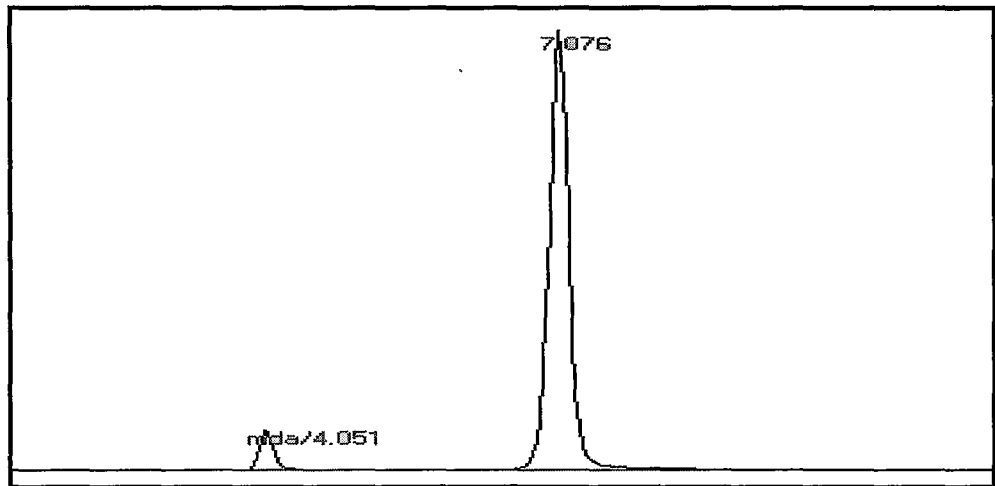
Saklanan sol ventrikül doku örneklerindeki MDA ve pürin nükleotid düzeyi Yüksek Performanslı Likit Kromatografi (YPLK) kullanılarak analiz edildi. Bu analizler sırasında YPLK spesifik kimyasal malzemeler kullanıldı.

3.2.2.1. MDA Analizi

YPLK cihazı ile MDA ölçümünde Jens Lykkesfeldt'in floresans dedektör kullanarak oluşturduğu metodu kullandık (266). Floresans dedektörün eksitasyon dalga boyu 515 nm, emisyon dalga boyu 553 nm olarak ayarlandı. Kolon fırını ise 30°C'de çalışmak üzere ayarlandı. MDA analizi için 150x4.6 mm boyutlarında, partikül büyüklüğü 7 µ olan C-8 kolon kullanıldı. Koruyucu kolon olarak 30x4.6 mm boyutlarında, partikül büyüklüğü 7 µ olan C-8 kolon kullanıldı.

Mobil faz günlük olarak hazırlandı. Mobil fazın hazırlanmasında 300 ml/L metanol, 50mMol/L potasyum dihidrojen fosfat kullanıldı ve solüsyonu bir litreye tamamlamak için distile su kullanıldı. Hazırlanan solüsyonun pH değeri 7 idi. Solüsyona bakteriyel üremeyi engellemek için, litreye 0.2 g olacak şekilde sodyum azid eklendi. Mobil fazın akış hızı dakikada 1 ml olacak şekilde ayarlandı.

Kalibrasyon eğrilerini oluşturmak amacıyla litrede 2.5 µMol, 10 µMol ve 50 µMol malonilaldehit bis(dimetil asetal) içeren üç ayrı solüsyon hazırlandı. Solüsyonların hazırlanmasında seyreltici olarak mobil faz kullanıldı. Her üç solüsyon da cihaza okutuldu. MDA pikinin geliş zamanı 4.051 dakika olarak belirlendi ve üç noktalı kalibrasyon eğrisi oluşturuldu (Şekil 3.2.2.).



Şekil 3.2.2.: MDA pikine ait kromatogram. MDA pikinin geliş zamanı 4.051 dakikadır.

MDA ölçümü için saklanan sol ventrikül doku örnekleri -80°C 'den çıkarıldı ve her biri 100 mg ağırlığında olacak şekilde porsiyonlandı. Dokunun gramı başına 11.5 g/L'lik potasyum klorür solüsyonundan 9 ml eklenerek buz içerisinde homojenize edildi. Homejenizattan 40 μL alınıp üzeri distile su ile 100 μL 'ye tamamlandı. Üzerine seyreltilmesinde etanolün kullanıldığı, litrede 2.8 mMol 2,6-Di-tert-butil-4-metilfenol bulunan solüsyondan 20 μL eklendi. Üzerine litrede 81 g sodyum dodesil sülfat bulunan solüsyondan 40 μL ve 200 ml asetik asit ile 8 g tiyobarbitürik asitin bire bir oranında karıştırılmasıyla hazırlanan bir litrelik tiyobarbitürik asit solüsyonundan 600 μL eklendi. Bütün örnekler sodyum hidroksit kullanılarak pH değeri 3.5 olacak şekilde ayarlandı. Örnekler 95°C 'de 60 dakika bekletildikten sonra akan su altında bekletilerek soğutuldu. Üzerlerine 200 μL distile su ve 1/15 oranındaki piridin/butanol karışımından 1000 μL eklendi. Sonrasında 3 dakika 16000 gradiyente santrifüj edildi. Santrifüj işlemi ile ayrıştırılan organik tabakadan 100 μL alınarak cihaza enjekte edildi. MDA düzeyleri pik alanı ölçülerek hesaplandı. Kalp dokusunda bulunan MDA değerleri $\mu\text{Mol/L}$ olarak ifade edildi .

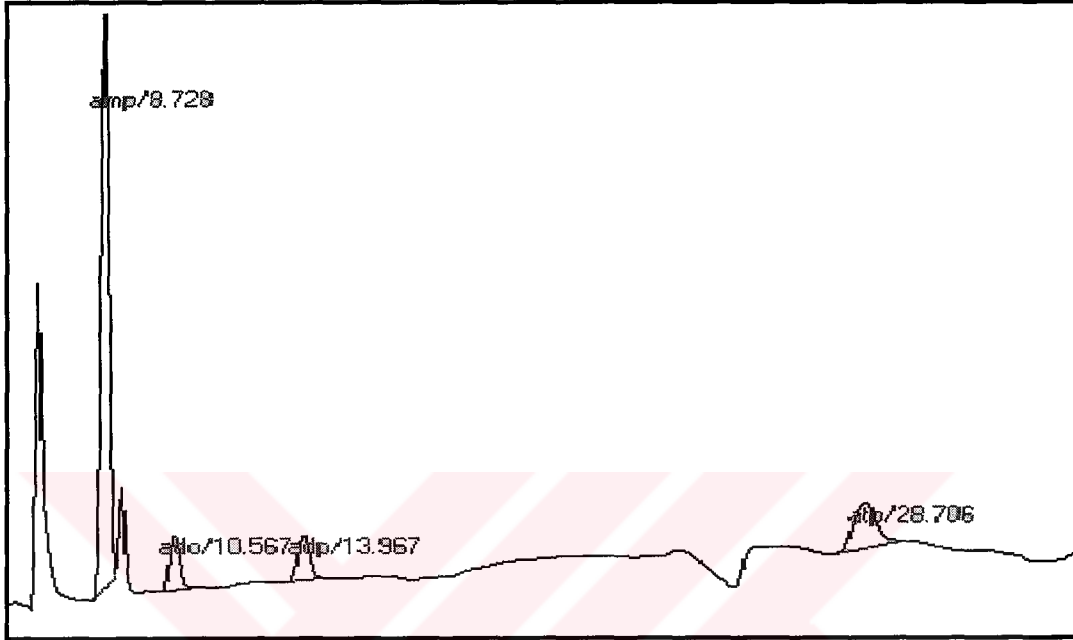
3.2.2.2. Pürin Nükleotidlerin Ölçümü

Pürin nükleotidlerinden ADO, AMP, ADP ve ATP ölçümü için Volente ve arkadaşlarının uyguladıkları metodu kullandık (267). Bu metottan farklı olarak mobil fazın hazırlanmasında tetrabütülamonyum hidrojen sülfat yerine tetrabütülamonyum bromid kullandık. Kullanılan ultraviole ışık dedektörünün dalga boyu 220 nm, kolon fırınının ısısı 25°C olacak şekilde ayarlandı. Pürin nükleotidlerinin ölçümünde 250x4.6 mm boyutlarında, 5 μ partikül büyüklüğüne sahip C-18 kolon kullanıldı.

Mobil faz 15 mM potasyum dihidrojen fosfat, 2.3 mM tetrabütülamonyum bromid, %4 asetonitril ve % 0.4 potasyum hidroksit kullanılarak hazırlandı. Bir litreye tamamlamak için distile su kullanıldı. Mobil fazın akış hızı dakikada 1 litre olacak şekilde ayarlandı.

Kalibrasyon eğrilerini oluşturmak amacıyla ADO'nun mililitrede 1 ve 4 μg , AMP'nin 15 ve 60 μg , ADP'nin 1.25 ve 5 μg , ATP'nin 5 ve 20 μg 'lık konsantrasyonlarını içeren sekiz ayrı solüsyon hazırlandı. ADO, AMP ve ADP solüsyonlarının hazırlanmasında 0.4 M perklorik asit kullanılırken, ATP solüsyonunun hazırlanmasında mobil faz kullanıldı. Hazırlanan solüsyonlar teker

teker ve dört pürin nükleotidinin düşük ve yüksek konsantrasyonları birbirleriyle karıştırılarak cihaza enjekte edildi. Alınan sonuçlara göre iki noktalı kalibrasyon eğrisi oluşturuldu ve pik geliş zamanları AMP için 8.728, ADO için 10.567, ADP için 13.967 ve ATP için 28.706 dakika şeklindeydi (Şekil 3.2.3.).



Şekil 3.2.3.: Pürin nükleotidlerine ait kromatogram. Pik geliş zamanları

AMP : 8.728, ADO: 10.567, ADP: 13.967, ATP: 28.706 dk
şeklindedir.

Saklanan sol ventrikül doku örnekleri 100 mg ağırlığında olacak şekilde standardize edildi. Her örneğe 5 ml 0.4 M perklorik asit eklenerek homojenize edildi. Homojenizatın üzerine 0.8 ml 0.2 M potasyum hidroksit eklenerek iki dakika boyunca çalkalandı. Organik kısımlarının ayrıştırılması amacıyla 3000 gradiyent ve 0°C'de 10 dakika santrifüj edilerek 20 µl'lik kısmı cihaza enjekte edildi. Pürin nükleotidlerinin düzeyleri pik alanı hesaplanarak bulundu. Kalp dokusunda bulunan pürin nükleotid değerleri µg/ml olarak ifade edildi.

3.2.3. Histopatolojik Analiz

Her gruptan denek sayısı kadar sol ventrikül doku örnekleri histopatolojik inceleme için ayrıldı. Materyaller bir gün süre ile % 10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Bunu izleyen günde mikroskopik rutin takip işlemlerinden sonra parafin bloklara gömüldü. Bloklardan 4 µm kalınlığında

hazırlanan kesitler Hematoksilen-Eozin (H-E) ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmamızda kalp dokusunda elde edilen MDA değerleri $\mu\text{Mol/L}$, pürin nükleotit değerleri ise $\mu\text{g/ml}$ olarak ifade edilmiştir.

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS for Windows 9.9.0 kullanılarak yapılmıştır. Grupların karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır, $p \leq 0.05$ olması durumunda aradaki farkın anlamlı olduğu kanısına varılmıştır.



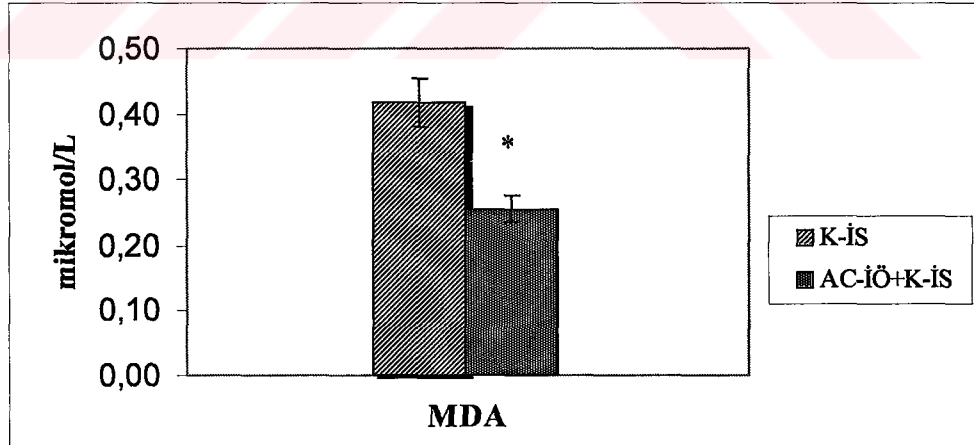
BULGULAR

4.1. MDA Bulguları

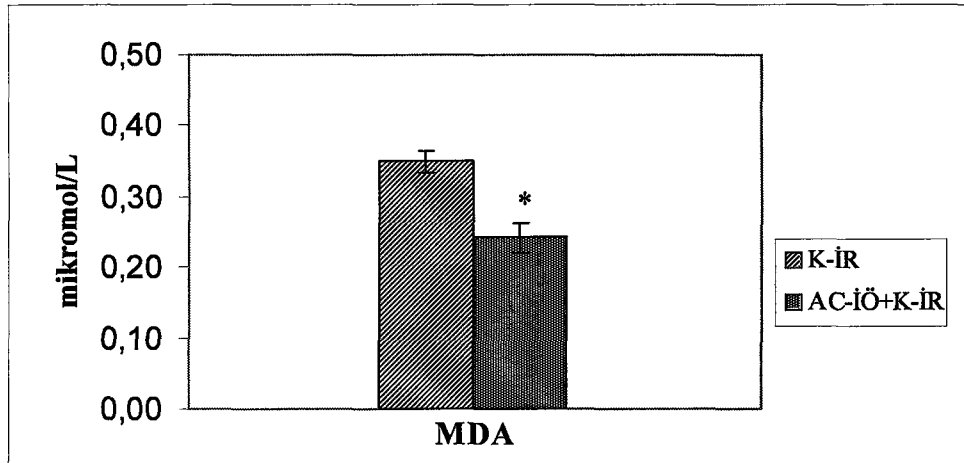
Kalpte iskemi (Grup 1; K-İS) yapılan grup ile AC'de İÖ sonrası kalpte iskemi (Grup 3; AC-İÖ + K-İS) yapılan grubun kalp dokusuna ait MDA düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında veriler arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($n=6$, $p < 0.01$) (Tablo 4.1.1., Grafik 4.1.1.). Kalpte İR (Grup 2, K-İR) yapılan grup ile AC'de İÖ sonrası kalpte İR (Grup 4, AC-İÖ + K-İR) yapılan grubun kalp dokusuna ait MDA düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında veriler arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($n=6$, $p < 0.01$) (Tablo 4.1.1., Grafik 4.1.2).

Tablo 4.1.1.: Dört gruba ait MDA düzeyleri aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak belirtilmiştir. K-İS; kalpte iskemi, K-İR; kalpte iskemi-reperfüzyon, AC-İÖ + K-İS; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi, AC-İÖ + K-İR; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon.

Gruplar	MDA ($\mu\text{mol/L}$)
K-İS	$0,42 \pm 0,04$
K-İR	$0,35 \pm 0,01$
AC-İÖ+K-İS	$0,26 \pm 0,02$
AC-İÖ+K-İR	$0,24 \pm 0,02$



Grafik 4.1.1.: AC'de İÖ sonrası kalpte iskemi yapılan grubun kalp dokusuna ait MDA düzeyleri, kalpte iskemi yapılan gruba göre daha düşük bulunmuştur ($n=6$, $p < 0.01$). K-İS; kalpte iskemi, AC-İÖ + K-İS; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi.



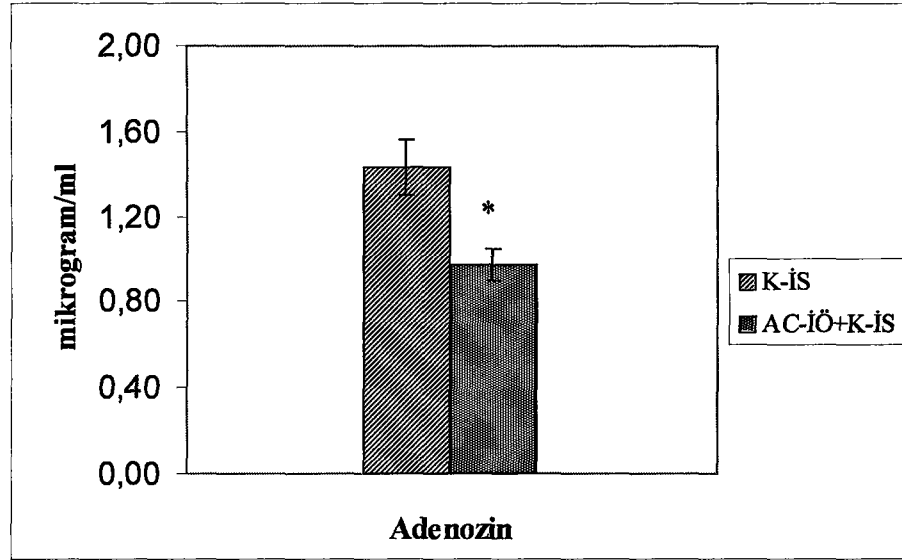
Grafik 4.1.2.: AC'de İÖ sonrası kalpte İR yapılan grubun kalp dokusuna ait MDA düzeyleri, kalpte İR yapılan gruba göre daha düşük bulunmuştur *(n=6, p < 0.01). K-İR; kalpte iskemi-reperfüzyon, AC-İÖ + K-İR; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon.

4.2. Pürin Nükleotid Bulguları

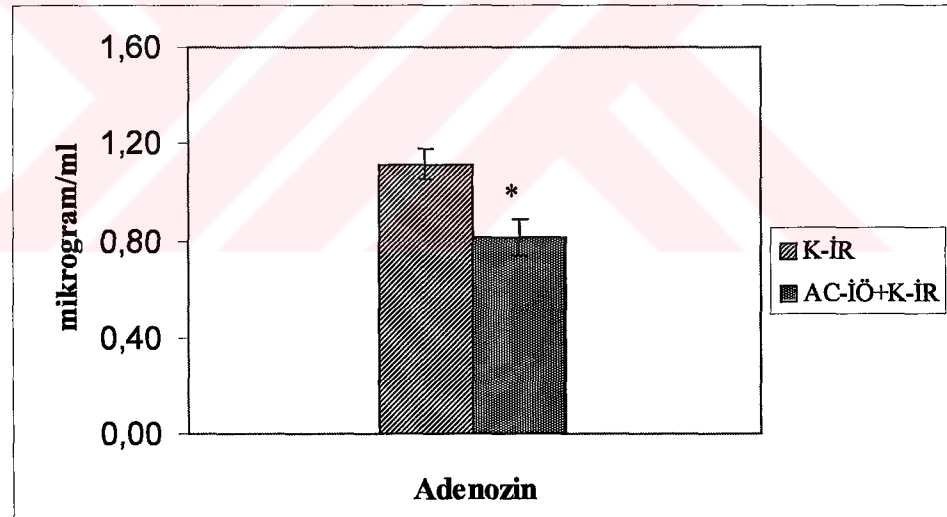
K-İS yapılan grup ile AC-İÖ + K-İS yapılan grubun kalp dokusunda ölçülen ADO düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında veriler arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur (n=6, p ≤ 0.05) (Tablo 4.2.1., Grafik 4.2.1). K-İR yapılan grup ile AC-İÖ + K-İR yapılan grubun kalp dokusunda ölçülen ADO düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında veriler arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur (n=6, p ≤ 0.05) (Tablo 4.2.1., Grafik 4.2.2.).

Tablo 4.2.1.: Her dört grubun kalp dokularına ait ADO düzeyleri aritmetik ortalama ± standart hata olarak belirtilmiştir. K-İS; kalpte iskemi, K-İR; kalpte iskemi-reperfüzyon, AC-İÖ + K-İS; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi, AC-İÖ + K-İR; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon.

Gruplar	Adenozin (µgr/ml)
K-İS	1,43 ± 0,13
K-İR	1,11 ± 0,06
AC-İÖ+K-İS	0,97 ± 0,08
AC-İÖ+K-İR	0,81 ± 0,08



Grafik 4.2.1.: Uzak iskemik önkoşullamanın kalpte iskemi sonrası doku adenozin seviyelerini düşürdüğü görülmektedir *(n=6, $p \leq 0.05$). K-İS; kalpte iskemi, AC-İÖ + K-İS; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi.

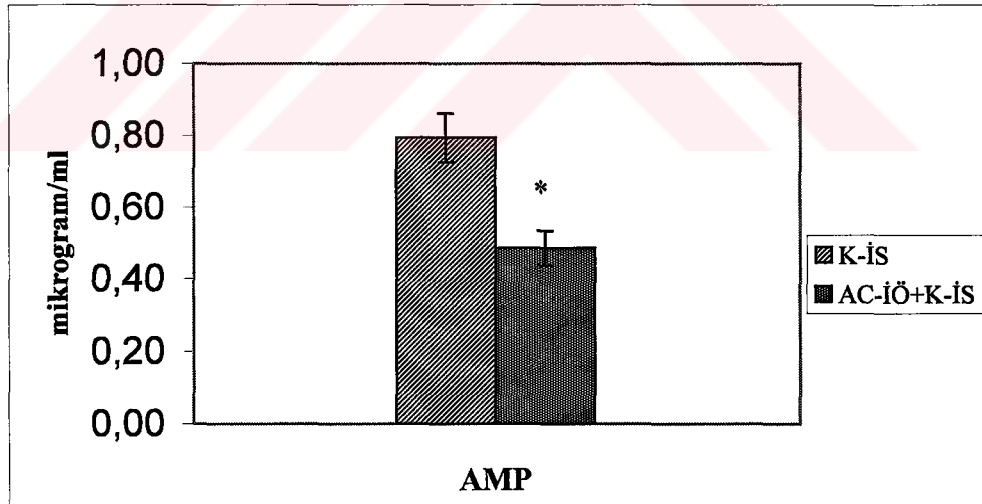


Grafik 4.2.2.: Uzak iskemik önkoşullamanın, iskemi-reperfüzyon sonrası kalp dokusundaki adenozin seviyelerini düşürdüğü görülmektedir *(n=6, $p \leq 0.05$). K-İR; kalpte iskemi-reperfüzyon, AC-İÖ + K-İR; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon.

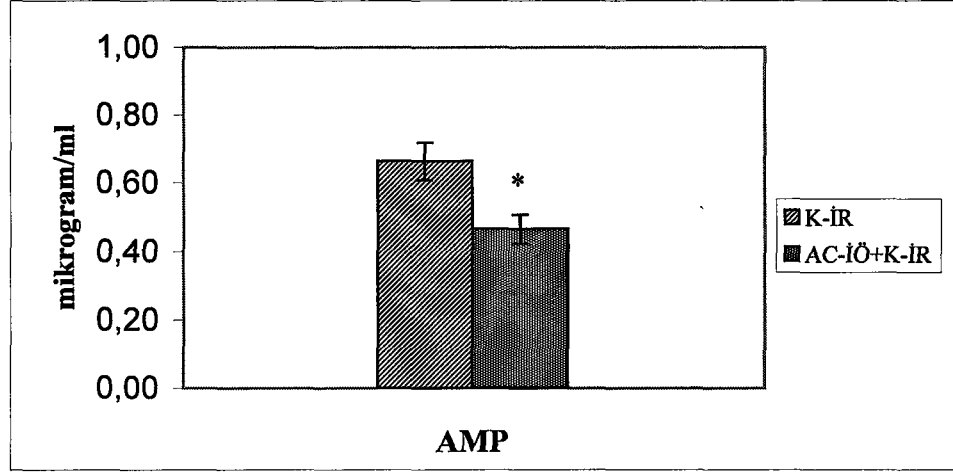
K-İS grubu ile AC-İÖ + K-İS grubunun kalp dokusunda ölçülen AMP düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında veriler arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($n=6$, $p \leq 0.05$) (Tablo 4.2.2., Grafik 4.2.3.). K-İR grubu ile AC-İÖ + K-İR yapılan grubun kalp dokusunda ölçülen AMP düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında veriler arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($n=6$, $p \leq 0.05$) (Tablo 4.2.2., Grafik 4.2.4.).

Tablo 4.2.2.: Her dört grubun kalp dokularına ait AMP düzeyleri aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak belirtilmiştir. K-İS; kalpte iskemi, K-İR; kalpte iskemi-reperfüzyon, AC-İÖ + K-İS; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi, AC-İÖ + K-İR; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon.

Gruplar	AMP ($\mu\text{gr/ml}$)
K-İS	$0,79 \pm 0,07$
K-İR	$0,66 \pm 0,06$
AC-İÖ+K-İS	$0,49 \pm 0,05$
AC-İÖ+K-İR	$0,47 \pm 0,04$



Grafik 4.2.3.: Uzak önkoşullanmış kalplerde iskemi sonrası doku AMP düzeyleri $0,49 \pm 0,05$ iken, önkoşullanmamış kalplerde iskemi sonrası doku AMP düzeyleri $0,79 \pm 0,07$ olarak bulunmuştur ($n=6$, $p \leq 0.05$). K-İS; kalpte iskemi, AC-İÖ + K-İS; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi.

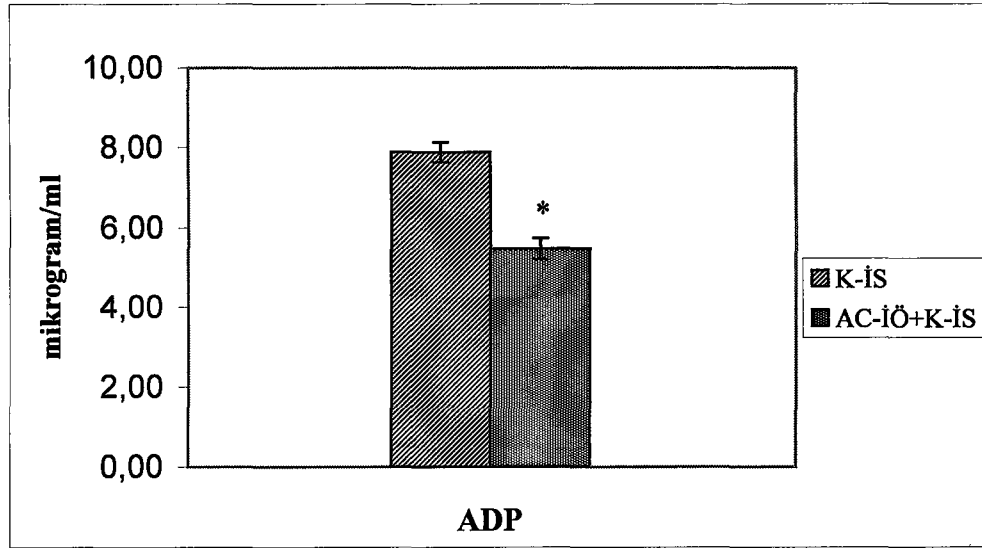


Grafik 4.2.4.: Uzak önkoşullanmış kalplerde iskemi-reperfüzyon sonrası doku AMP düzeyleri $0,47 \pm 0,04$ iken, önkoşullanmamış kalplerde iskemi sonrası doku AMP düzeyleri $0,66 \pm 0,06$ olarak bulunmuştur $*(n=6, p \leq 0.05)$. K-İR; kalpte iskemi-reperfüzyon, AC-İÖ + K-İR; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon.

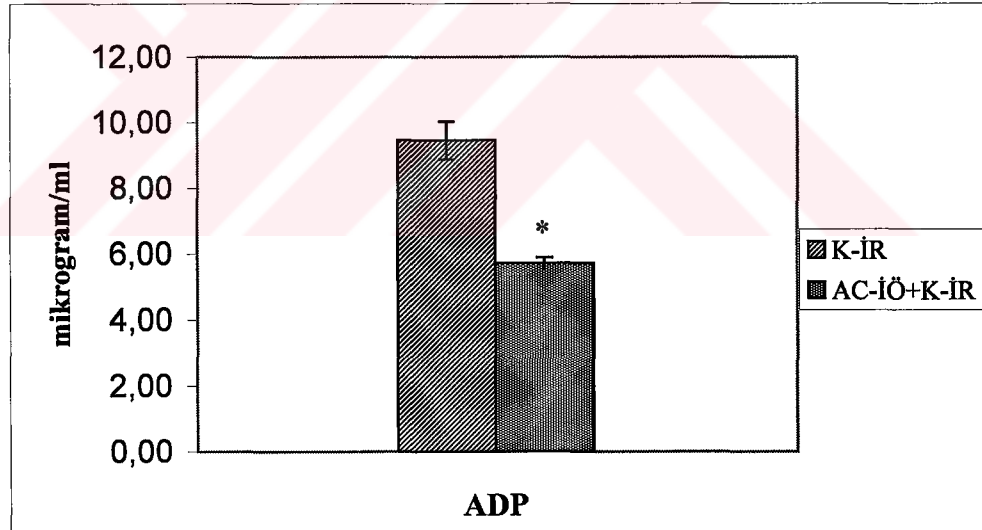
K-İS grubu ile AC-İÖ + K-İS grubunun kalp dokusunda ölçülen ADP düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında veriler arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($n=6, p < 0.01$) (Tablo 4.2.3., Grafik 4.2.5.). K-İR grubu ile AC-İÖ + K-İR yapılan grubun kalp dokusunda ölçülen ADP düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında veriler arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($n=6, p < 0.01$) (Tablo 4.2.3., Grafik 4.2.6.).

Tablo 4.2.3.: Her dört grubun kalp dokusuna ait ADP düzeyleri aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak belirtilmiştir. K-İS; kalpte iskemi, K-İR; kalpte iskemi-reperfüzyon, AC-İÖ + K-İS; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi, AC-İÖ + K-İR; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon.

Gruplar	ADP ($\mu\text{gr/ml}$)
K-İS	$7,89 \pm 0,25$
K-İR	$9,45 \pm 0,58$
AC-İÖ+K-İS	$5,47 \pm 0,26$
AC-İÖ+K-İR	$5,72 \pm 0,17$



Grafik 4.2.5.: Uzak iskemik önkoşullamış kalplerde iskemi sonrası dokuda ölçülen ADP seviyeleri önkoşullanmamış kalplere göre daha düşük bulunmuştur *(n=6, p < 0.01). K-İS; kalpte iskemi, AC-İÖ + K-İS; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi

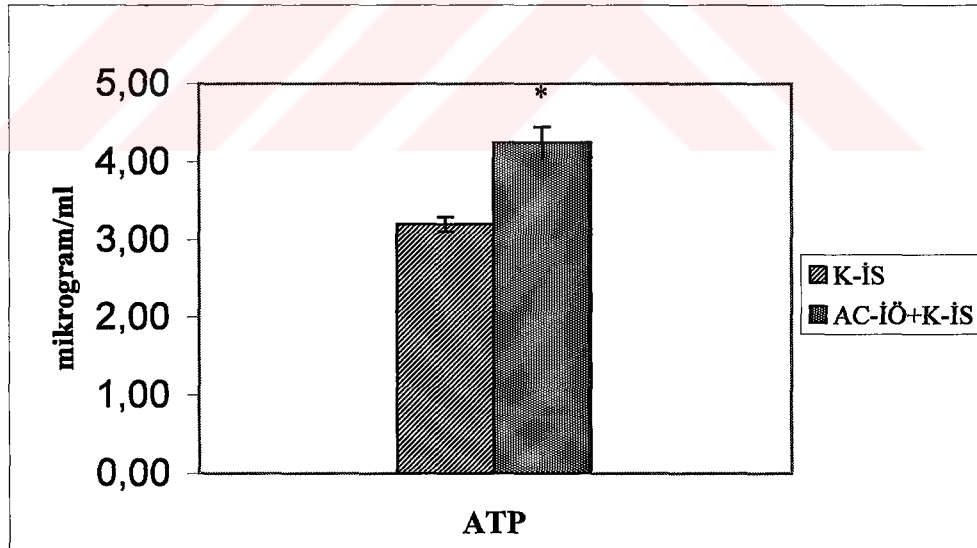


Grafik 4.2.6.: Uzak iskemik önkoşullamış kalpte iskemi-reperfüzyon sonrası doku ADP seviyeleri, önkoşullanmamış kalpte uygulanan iskemi-reperfüzyon sonrasına göre düşük bulunmuştur *(n=6, p < 0.01). K-İR; kalpte iskemi-reperfüzyon, AC-İÖ + K-İR; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon.

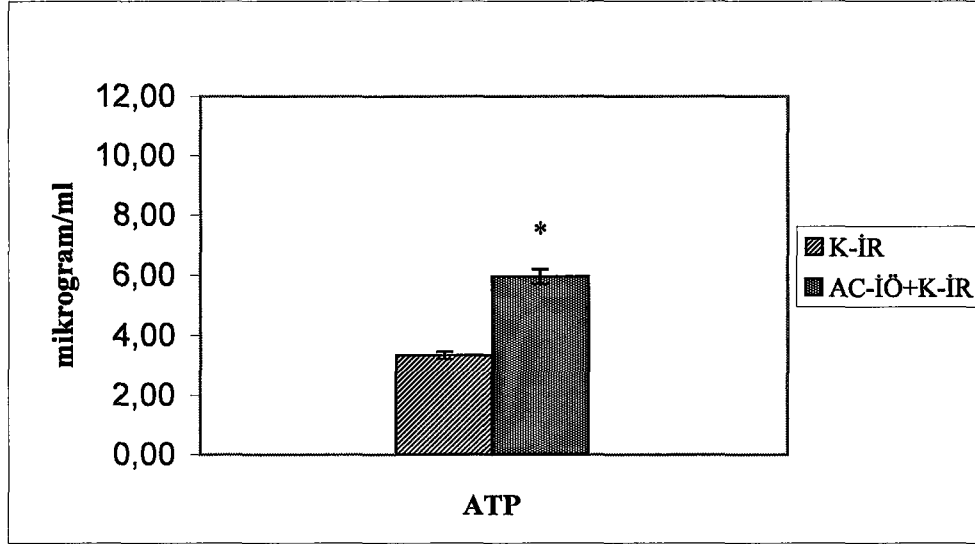
K-İS grubu ile AC-İÖ + K-İS grubunun kalp dokusunda ölçülen ATP düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında veriler arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($n=6$, $p < 0.01$) (Tablo 4.2.4., Grafik 4.2.7.). K-İR grubu ile AC-İÖ + K-İR yapılan grubun kalp dokusunda ölçülen ATP düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında veriler arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($n=6$, $p < 0.01$) (Tablo 4.2.4., Grafik 4.2.8.).

Tablo 4.2.4.: Her dört gruba ait kalp dokusundan elde edilen ATP düzeyleri aritmetik ortalama. $\pm$ standart hata olarak belirtilmiştir. K-İS; kalpte iskemi, K-İR; kalpte iskemi-reperfüzyon, AC-İÖ + K-İS; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi, AC-İÖ + K-İR; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon.

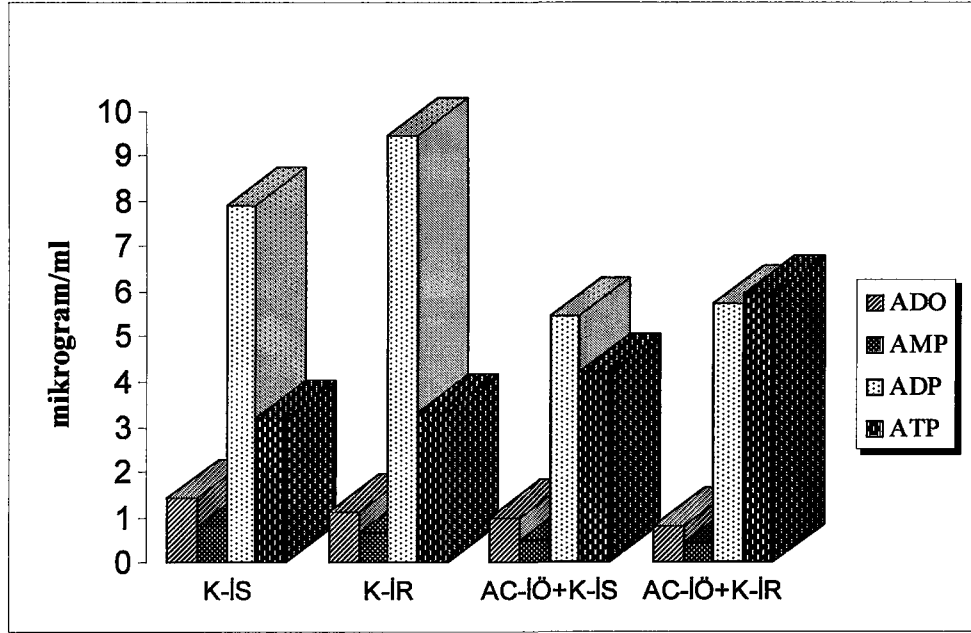
Gruplar	ATP ($\mu\text{gr/ml}$)
K-İS	$3,20 \pm 0,10$
K-İR	$3,34 \pm 0,12$
AC-İÖ+K-İS	$4,24 \pm 0,20$
AC-İÖ+K-İR	$5,95 \pm 0,25$



Grafik 4.2.7.: Uzak önkoşullanmış kalplerde iskemi sonrası doku ATP düzeyleri diğer pürin nükleotidlerinin aksine, sadece iskemi uygulanan gruba göre daha yüksek bulunmuştur. $*(n=6$, $p < 0.01$). K-İS; kalpte iskemi, AC-İÖ + K-İS; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi



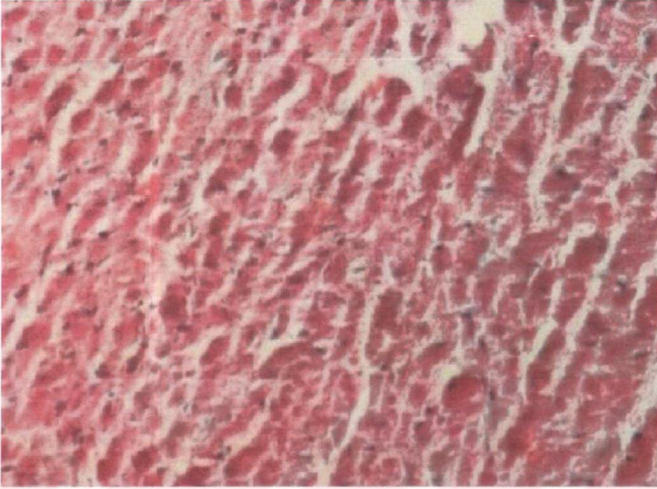
Grafik 4.2.8.: Uzak önkoşullanmış kalplerde iskemi-reperfüzyon sonrası doku ATP düzeyleri diğer pürin nükleotidlerinin aksine, önkoşullamasız iskemi-reperfüzyon uygulanan gruba göre daha yüksek bulunmuştur. *(n=6, p < 0.01). K-İR; kalpte iskemi-reperfüzyon, AC-İÖ + K-İR; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon.



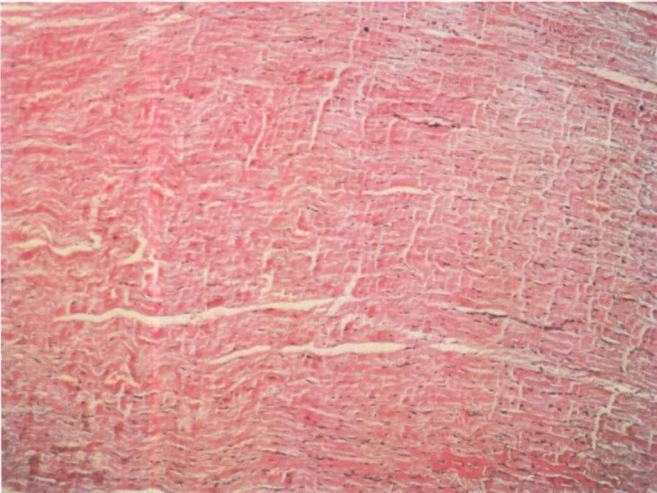
Grafik 4.2.9.: Kalp dokusunda ölçülen pürin nükleotidlerinin her bir grup içerisindeki dağılımı. Kalpte iskemi veya iskemi-reperfüzyon uygulanan gruplarda kalp dokusunda ölçülen ADO, AMP, ADP düzeyleri uzak önkoşullanmış gruplara göre daha yüksek iken, ATP düzeyleri önkoşullanmış kalplerde daha yüksek seviyelerdedir ($n=6$, $p < 0.01$). K-İS; kalpte iskemi, K-İR; kalpte iskemi-reperfüzyon, AC-İÖ + K-İS; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi, AC-İÖ + K-İR; akciğerde iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon.

4.3. Histopatolojik Bulgular

Kalpte iskemi uygulanan grubun sol ventrikül doku örnekleri histopatolojik olarak incelendiğinde iltihabi hücre infiltrasyonu, kas liflerinde incelme ve atrofi gözlenmiştir (Resim 4.3.1.). AC'de iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi uygulanan gruba ait sol ventrikül doku örneklerinin mikroskopik incelenmelerinde kas lifleri arasında hafif konjesyon dışında patolojik bir bulguya rastlanmamıştır (Resim 4.3.2.).

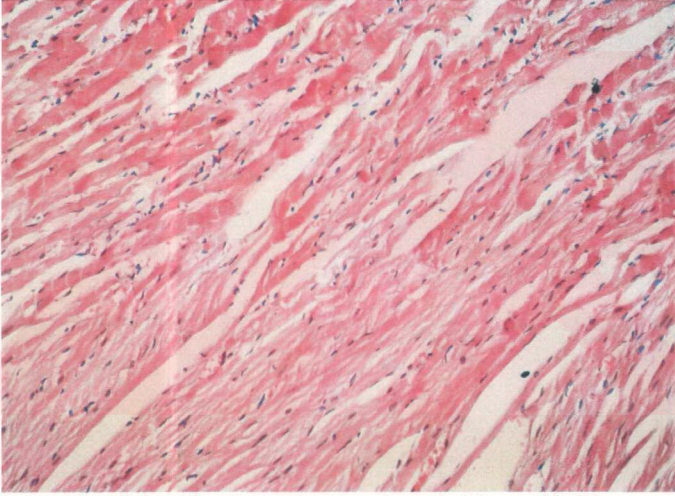


Resim 4.3.1.: Kalpte iskemi grubuna ait doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü (H-EX100)



Resim 4.3.2.: AC'de iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi uygulanan gruba ait doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü (H-EX100)

Kalpte iskemi-reperfüzyon uygulanan gruba ait sol ventrikül doku örnekleri histopatolojik olarak incelendiğinde kas lifleri arasında ödem ve yoğun iltihabi hücre infiltrasyonu gözlenmiştir (Resim 4.3.3.). AC'de iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon uygulanan gruba ait sol ventrikül doku örneklerinin mikroskopik incelemesinde ise farklı olarak iltihabi hücre infiltrasyonunun belirgin şekilde azalmış olduğu gözlenmiştir (Resim 4.3.4.).



Resim 4.3.3.: Kalpte iskemi-reperfüzyon grubuna ait doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü (H-EX100)



Resim 4.3.4.: AC'de iskemik önkoşullama sonrası kalpte iskemi-reperfüzyon uygulanan gruba ait doku örneklerinin mikroskopik görüntüsü (H-EX200)

TARTIŞMA

Reperfüzyon hasarının en önemli nedeni, artan serbest radikallerin plazma ve organel membranları üzerinde başlattıkları lipid peroksidasyonudur. Radikal aracılı bir zincir reaksiyon mekanizması şeklinde gelişen lipid peroksidasyonu sırasında, doymamış yağ asidlerinin yan zincirlerinde yeniden düzenlenme söz konusudur (12, 24, 25).

Lipid peroksidasyonu sırasında, karbon bağlarının kopması ile aldehit yapısında yıkım ürünleri ortaya çıkmaktadır. Bu yıkım ürünlerinden en önemlisi MDA'dır. MDA sınıfından olan tiyobarbitürik asid ile reaksiyon veren maddeler, iskemi reperfüzyon olayında lipid peroksiasyonunun en duyarlı göstergelerindendir (25, 26). Lipid peroksidasyonunun yıkım ürünü olan MDA, proteinlerin amino grupları ile şift bazı oluşturur ve tiyol grupları ile etkileşir. (12, 25, 27, 28).

Lipid peroksidasyonu, ortamda doymamış yağ asidleri, oksijen ve metal katalizörler bulunduğu sürece logaritmik olarak artarken yeni serbest radikallerin oluşumuna neden olur. Bu nedenle reperfüzyon dönemi, lipid peroksidasyonu için gerekli koşulları sağlaması bakımından çok uygundur (24, 25, 27). Lipid radikalleri veya MDA gibi peroksidasyon ürünleri aracılığı ile lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda yaygın hale geldiği zaman hücresel yapı hasarları ve fonksiyon bozuklukları ortaya çıkar. Yapısal hasarın derecesine göre, plazma membranında akışkanlığın azalması, membran geçirgenliğinin değişmesi, membran potansiyelinin azalması, membrana bağlı enzimlerin aktivitesinde azalma gözlenir (14, 25, 28). Lizozomal ve mitokondriyal membranları ilgilendiren ileri derecede lipid peroksidasyonu ile organel içeriğinin hücre içine salınması sonucunda proteoliz hızlanır ve doku hasarı şiddetlenir (14, 25). Membran geçirgenliğinin bozulması ile protein sentezi için çok önemli olan K^+ ve Mg^{2+} konsantrasyonlarının değişir ve buna bağlı olarak protein sentezinin inhibisyonu gerçekleşir (25).

Sahna ve arkadaşları sıçan kalbinde yaptıkları bir çalışmada, kalpte İR sonrası ölçtükleri MDA düzeylerini sham opere grupla karşılaştırmış, sham opere gruba göre İR grubunda MDA düzeylerinin anlamlı olarak yüksek olduğunu gözlemişlerdir. Çalışmanın devamında antioksidan ve MDA düzeylerini sınırlandırma özellikleri bulunan melatonini çalışmaya dahil etmişler. Melatonin uygulaması sonrası İR'a maruz bıraktıkları kalp dokusundaki MDA düzeylerinin İR

grubuna göre belirgin olarak azaldığını ve reperfüzyon hasarında buna paralel olarak azaldığını gözlemlemişlerdir (268).

Dobsak ve arkadaşları da izole sıçan kalbinde gerçekleştirdikleri İR modelinde, MDA düzeylerini sham opere gruba karşılaştırdıklarında anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır (269).

Soncul ve arkadaşları izole domuz akciğerlerinde önkoşullama oluşturmak için iki siklus halinde beşer dakikalık İR periyodunun ardından akciğerleri 3 saat iskemi ve 30 dakika reperfüzyona maruz bırakmışlardır. Doku ve perfüzattaki MDA düzeylerinin önkoşullama grubunda kontrol grubuna göre arttığını fakat önkoşullamasız İR grubuna göre azaldığını gözlemişlerdir. Çalışmanın sonunda önkoşullamanın MDA düzeylerini azalttığını söylemişlerdir (270).

Büyükateş ve arkadaşları kardiyopulmoner bypass geçiren insanların kalplerinde yaptıkları çalışmada, aortik klemp kullanarak iki siklus halinde 3 dk iskemi ve 2 dk reperfüzyon ile önkoşullama oluşturmuşlardır. Bu gruptaki MDA sonuçlarını aortik klemp kullanılmadan kardiyopulmoner bypass geçiren hastaların sonuçlarıyla karşılaştırmışlardır. Önkoşullama grubundaki MDA değerlerinin daha düşük bulunması ile önkoşullamanın lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkisinin bulunduğunu söylemişlerdir (271).

Bu tür çalışmalar ile MDA'nın lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olduğu ve önkoşullamanın lipid peroksidasyonunu, paralelinde de MDA düzeylerini azalttığı ortaya konulmuştur.

Biz bu çalışmada, AC'de İÖ sonrası kalpte iskemi uyguladığımız grubun kalp dokularından elde ettiğimiz MDA değerlerini önkoşullamasız olarak kalpte iskemi uyguladığımız gruba göre anlamlı bir şekilde düşük bulduk. Benzer şekilde önkoşullama sonrası İR uyguladığımız grubun kalp dokusuna ait MDA değerlerini önkoşullamasız İR uyguladığımız gruba göre anlamlı bir şekilde düşük bulduk. Bu sonuçlar ile çalışmamızda gerçekleştirdiğimiz UIÖ'nün uzak olmayan İÖ'ya benzer bir şekilde lipid peroksidasyonunu ve ona bağlı oluşan hücresel hasarı azalttığını saptadık.

İlk kez tanımlanmasından sonra geçen yıllar içerisinde İÖ'da ADO'nun rolü bir çok çalışmaya konu edilmiştir. Yapılan çalışmaların ortak sonucu ADO'nun önkoşullama korumasında önemli bir rol oynadığıdır. İskemiye maruz kalan

hücrelerde ATP, iki yüksek enerjili fosfatını kaybederek AMP'ye dönüşür. AMP ise 5'-nükleotidaz enzimi aracılığıyla ADO'ya dönüşür. ADO A1 ve A3 reseptörlerini uyararak PKC aktivasyonu ve sonrasında sarkolemmal ve mitokondriyal K^+_{ATP} kanallarını açılmasını sağlayarak önkoşullama korumasının oluşumuna katkıda bulunur (103, 115-117, 272).

Geçen yıllar içerisindeki en önemli tartışma, ADO'nun bu rolü önkoşullamanın hangi aşamasında oynadığı ile ilgili olmuştur. Kitakaze ve arkadaşları 1993 yılında yaptıkları çalışmada, köpek kalbinde oluşturduları İÖ modelinde ADO ve 5'-nükleotidaz'ın rolünü araştırmışlardır. Dört siklus halinde uyguladıkları beşer dakikalık önkoşullayıcı protokolün ardından 40 dk iskemi + 120 dk reperfüzyon uygulamışlar. Önkoşullama grubunun 120 dk'lık reperfüzyon döneminde koroner arteriyel ve venöz kanda ölçtükleri ADO düzeylerini ve 40 dk'lık iskemi periyodunun öncesi ve sonrasında ölçtükleri endokardiyal ve epikardiyal 5'-nükleotidaz aktivite düzeylerini önkoşullamasız İR uyguladıkları gruba ait verilerle karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak önkoşullama grubunun 120 dk'lık reperfüzyon döneminde ADO düzeylerinin ve 40 dk'lık iskemi döneminin öncesi ve sonrasında 5'-nükleotidaz aktivasyonunun önkoşullamasız gruba göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğunu ileri sürmüşlerdir (273). Aynı araştırmacı tarafından 1996 yılında yapılan başka bir çalışmada ise önkoşullama modelinde PKC ve 5'-nükleotidaz aktivitesi arasındaki ilişki konu edilmiştir (274). Araştırmacı her iki çalışmanın sonucu olarak 5'-nükleotidaz aktivitesindeki sürekliliğin önkoşullama korumasının oluşumunda kritik bir rol oynadığını ileri sürmüştür. Kitakaze'nin hipotezi PKC'nin, 5'-nükleotidaz aktivasyonuna yol açtığı ve 5'-nükleotidaz aktive olarak kaldığı süre boyunca devamlı bir ADO oluşumuna ve korumaya yol açtığı şeklindedir.

Bir çok araştırmacı yaptıkları çalışmaların sonucunda Kitakaze'nin ileri sürdüğü hipoteze karşı çıkmışlardır. Van Wylen köpek kalbinde önkoşullayıcı protokol olarak iki siklus halinde 5 dk iskemi + 10 dk reperfüzyon periyodunun ardından 60 dk iskemi uygulamışlardır. Kontrol grubu olarakta sadece 60 dk koroner iskemi gerçekleştirmişlerdir. Önkoşullayıcı protokol ve uzun süreli iskemi dönemlerinde sol ventrikül dokusunda interstiyel ADO düzeylerini periyodik olarak ölçmüşlerdir. Çalışmanın sonunda araştırmacı ADO yüksekliğinin sadece

önkoşullayıcı periyod döneminde olduğunu, uzun süreli iskemi döneminde ise böyle bir yükselmenin olmadığını söylemiştir (275).

Harrison ve arkadaşları ise izole sıçan kalbinde yaptıkları çalışmada tek siklus halinde önkoşullayıcı protokolün ardından 30 dk iskemi + 30 reperfüzyon ve önkoşullamasız İR olarak iki grup oluşturmuştur. Deney süresince devamlı olarak intersitiyel ADO düzeylerini nükleer magnetik rezonans aracılığıyla ölçmüşlerdir. Araştırmacılar önkoşullayıcı protokol döneminde ADO düzeylerindeki yüksekliğin, uzun süreli İR döneminde düşüşe geçtiğini tespit etmişlerdir. ADO düzeylerindeki düşmenin ATP tükenmesinden kaynaklanmadığını, önkoşullayıcı protokolün sağladığı koruma nedeniyle pürin nükleotidlerinin daha az yıkılması nedeniyle oluştuğunu ileri sürmüşlerdir (276).

Benzer bir şekilde De Jonge ve arkadaşları izole sıçan kalbinde yaptıkları çalışmada iki siklus halinde beşer dakikalık İR periyodunun ardından 25 dk iskemi ve 30 dk reperfüzyon uygulamışlar. Elde ettikleri verilere dayanarak önkoşullamanın uzun süreli İR döneminde ADO düzeylerini düşürdüğünü ileri sürmüşlerdir (277).

Kitakaze ve arkadaşlarının öne sürdüğü hipotezin yanlış olduğunu öne süren araştırmacılar, İÖ'da ADO rolü konusunda ortak bir noktada buluşmuşlardır. Bu araştırmacılara göre önkoşullayıcı iskemi ve reperfüzyon dönemlerinde ATP hidrolizindeki artış nedeniyle ADO üretimi artmıştır. Bu dönemde ADO önkoşullama korumasının oluşumunda tetikleyici rolünü oynar ve oluşan koruma daha sonraki İR dönemlerinde ATP hidrolizini önler. Sonuç olarak araştırmacılar önkoşullama uygulanan dokularda oluşan koruyucu etkinin ilerleyen dönemlerde hücrenin enerji düzeylerini koruyarak, ADO oluşumunu azalttığını söylemişlerdir.

Çalışmamızda kullandığımız UIÖ modeline benzer bir şekilde uzak organ olarak akciğeri belirleyen herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Benzer çalışmalarda genellikle infrarenal aorta, mezenterik arter, ekstremit arterleri ve renal arterde oluşturulan önkoşullamanın kalpteki İR hasarı üzerine etkileri incelenmiştir.

Kharbanda ve arkadaşları yaptıkları çalışmada domuz bacağına oluşturdukları önkoşullamanın kalpteki etkilerini incelemişler. Önkoşullama grubundan elde ettikleri kalp doku hasar oranını, sadece İR uyguladıkları kalp dokusundaki oranlarla karşılaştırmışlardır. Çalışmanın sonunda önkoşullama grubundaki hasar oranını % 26, İR grubunda ise % 53 olarak gözlemişlerdir (278).

Petrishchev ve arkadaşları ise sıçanlarda yaptıkları çalışmada uzak ve klasik önkoşullamanın kalpteki İR hasarı üzerindeki etkilerini karşılaştırmışlardır. UIÖ oluşturmak üzere femoral ve mezenterik arteri kullanmışlar. Önkoşullama sonucunda elde ettikleri verileri kalpte oluşturdukları klasik önkoşullama ve önkoşullamasız İR gruplarıyla karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar çalışmanın sonucu olarak UIÖ sonucu oluşan korumanın klasik önkoşullama ile elde edilen korumaya benzer olduğunu söylemişlerdir (251).

Weinbrenner ve arkadaşları yaptıkları çalışmada infrarenal aorta oklüzyonunun kalpteki İR hasarı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Kalpte sadece İR uyguladıkları grupta hasarlı doku oranını %62 olarak tespit etmişlerdir. Bu oran klasik önkoşullamada % 10'a kadar düşmüştür. 15, 10 ve 5 dakikalık infrarenal oklüzyonun ardından 10 dk reperfüzyon ile önkoşullama oluşturdukları üç ayrı grupta ise hasarlı doku oranını %18, %37, % 42 olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmanın devamında araştırmacılar önkoşullayıcı sikluste reperfüzyonun önemini ortaya koymak için reperfüzyonsuz olarak 15 dk'lık infrarenal oklüzyonun ardından kalpte oluşturdukları İR sonrasında doku hasarının % 52'lere kadar çıktığını belirlemişlerdir (258).

Kalpte UIÖ'nün koruyucu etkilerini ortaya koymak için en çok tercih edilen uzak organlar mezenterik ve renal arter olmuştur. Wang ve arkadaşları mezenterik arterde 25 dk iskemi 15 dk reperfüzyon ile oluşturdukları önkoşullamanın kalpte İR sonucu oluşan doku hasarını yarı yarıya azalttığını gözlemişlerdir (279).

Wolfrum (254), Gho (260) ve arkadaşları da yaptıkları çalışmalarla mezenterik arterde oluşturdukları önkoşullamanın kalpteki İR hasarına karşı koruyucu etkilerini göstermişlerdir. Her iki çalışmada da araştırmacılar ganglion blokajı ile UIÖ koruyucu etkilerinin ortadan kalktığını söylemişlerdir.

Uzak organ olarak renal arterin seçildiği bir çalışmada araştırmacılar ADO ve K^+_{ATP} kanallarının önkoşullama korumasının oluşumundaki rolünün incelemeyi hedeflemişlerdir. Araştırmacılar tavşan renal arterinde 10 dk İS +10 dk reperfüzyon sonrasında kalbi 30 dk İS + 120 dk reperfüzyona maruz bırakmışlardır. Kalbi önkoşullamasız olarak İR'a maruz bıraktıkları grupta doku hasar risk oranını % 32.7, uzak önkoşullama sonrasında ise % 17.8 olarak tespit etmişlerdir. Aynı deneysel protokolü birlikte veya ayrı olarak uyguladıkları 8-SPT ve 5-HD sonrasında da

tekrar etmişler. 8-SPT uygulanan grupta risk oranının % 36.7'ye, 5-HD uygulamasından sonrada % 33.1'e yükseldiğini gözlemişlerdir. Sonuç olarak araştırmacılar ADO'nun uzak önkoşullama korumasının oluşumunda etkili olduğunu ve bu etkinin klasik önkoşullamaya benzer bir şekilde K^+_{ATP} kanalları üzerinden gerçekleştiğini söylemişlerdir (280).

Takaoka ve arkadaşları tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmada renal arter kullanarak oluşturdukları İÖ'nün kalpteki İR hasarı üzerine olan etkilerini ATP düzeyleri açısından incelemişlerdir. Oluşturdukları kontrol grubunda kalbi 40 dk koroner arter oklüzyonuna ve 120 dk reperfüzyona maruz bırakmışlar. Kalpte İÖ oluşturmak için tek siklus halinde 5 dk koroner arter oklüzyonu, 10 dk reperfüzyon uygulayıp ardından kontrol grubundaki işlemleri tekrarlamışlardır. UIÖ grubunda tek siklus halinde 10 dk renal arter oklüzyonu ve 20 dk reperfüzyonun ardından kontrol grubunda yaptıkları işlemleri tekrarlamışlar. Çalışma boyunca kalpteki ATP düzeylerini nükleer magnetik rezonans spektroskopisi ile devamlı olarak ölçmüşlerdir. Çalışma sonunda kalpteki hasar oranını tespit eden araştırmacılar kalpte İÖ ve UIÖ grubundaki hasarın kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar kalpte İÖ ve UIÖ grupları arasında hasar oranları açısından yaptıkları karşılaştırmada anlamlı bir fark bulamamışlardır. Araştırmacılar her üç grupta deneysel protokol boyunca ATP düzeylerinin seyrini takip etmişlerdir. Kontrol grubunda ATP düzeyi iskeminin başlamasıyla hızla başlangıçtaki değerlerinin % 40'ına kadar düşmüş ve reperfüzyon döneminin sonuna kadar bu seviyelerini sürdürmüştür. Kalpte İÖ oluşturdukları grupta önkoşullayıcı iskemi döneminde ATP başlangıçtaki düzeylerinin % 70'ine kadar düşmüştür. Önkoşullayıcı reperfüzyon dönemindeki hafif yükselişin ardından, uzun süreli iskemi döneminin başlangıcında ATP düzeyleri tekrar düşüşe geçmiş ve % 60'lara kadar ulaşmıştır. Fakat uzun süreli iskeminin devamında ve reperfüzyon döneminde ATP sürekli olarak yükselmiş ve % 80'lere kadar ulaşmıştır. Uzak İÖ grubunda ATP düzeyleri İÖ grubuna benzer bir seyir izlemiştir. Bu grupta uzun süreli iskeminin başlangıcında % 50'lere kadar düşen ATP, iskeminin devamında ve reperfüzyon süresince sürekli olarak yükselmiş ve başlangıçtaki seviyelerinin % 60-70'ine kadar ulaşmıştır. Çalışmanın sonunda araştırmacılar UIÖ'nün uzak olmayan İÖ'ye yakın bir

koruma sağladığını ve hücrelerin enerji düzeylerine olan etkilerinde benzer olduğunu söylemişlerdir (281).

Biz çalışmamızda deneysel protokol sonrası kalp dokusunda pürin nükleotid seviyelerini ölçtük. UIÖ sonrası kalpte iskemi oluşturduğumuz grubun kalp dokusuna ait ADO, AMP, ADP düzeylerini, kalpte sadece iskemi oluşturduğumuz grupla karşılaştırdığımızda anlamlı olarak düşük bulduk. Benzer bir düşüklüğü uzak önkoşullamalı ve önkoşullamasız olarak iskemi-reperfüzyon uyguladığımız gruplar arasında da tespit ettik. Fakat kalp dokularından elde ettiğimiz ATP düzeyleri açısından incelediğimizde UIÖ gruplarında seviyelerin daha yüksek olduğunu tespit ettik. Yani İÖ gruplarında ADO, ADP, AMP seviyeleri daha düşükken , yıkılımın azalmasına bağlı olarak ATP seviyeleri daha yüksekti. Elde ettiğimiz ATP verileri Takaoka ve arkadaşların (281) çalışmalarında ulaştığı sonuçlarla benzerlik gösteriyordu. Her ne kadar uzak İÖ modelinde olmasa bile Van Wylen (275), Harrison (276), De Jonge (277) gibi araştırmacılar çalışmalarının sonunda ADO yüksekliğinin seyri konusundaki ifadeleri bizim ulaştığımız sonuçlarla benzeşiyordu. Yani ADO seviyeleri önkoşullayıcı siklus dönemde ATP yıkımının artmasına bağlı olarak yükselir. Bu dönemde tetikleyici rolünü oynayarak korumanın oluşumunu sağlar. Önkoşullama koruması nedeniyle daha sonraki uzun süreli İR döneminde ATP yıkılımı azalır. Buna bağlı olarakta yıkım ürünleri olan ADO, ADP ve AMP seviyeleri uzun süreli İS döneminde daha düşük seyreder.

Yaptığımız histopatolojik incelemelerin sonucunda elde ettiğimiz sonuçlar UIÖ'nün koruyucu etkilerine işaret ediyordu.

Sonuç olarak akciğerde oluşturduğumuz uzak iskemik önkoşullamanın kalpteki iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkilerinin olduğunu ve bu koruyucu etkinin oluşmasında miyokardiyal adenozinin rol aldığını söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Temel patoloji. Çeviri Editörü: Uğur Çevikbaş. Beşinci Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1994. p. 4-16.
2. Damjanov İ, Linder J. Cell injury and cellular adaptations. Anderson's Pathology. Tenth Edition. Volum 1; p. 357-65.
3. Hearse DJ, Humphrey SM, Bullock GR. The oxygen paradox and the calcium paradox: two facets of the same problem? J Mol Cell Cardiol 1978;10:641-68.
4. Opie LH. Oxygen lack: Ischemia and angina. The Heart. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven 1998:515-61.
5. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Prevention of Ischemia-Reperfusion Injury. Anesthesiology 2001;94:1133-38.
6. Park JL, Lucchesi BR. Mechanisms of myocardial reperfusion injury. Ann Thorac Surg 1999;68:1905-2012.
7. Li C, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation Injury. Am J Physiol Cell Physiol 2002;282 (2):227-41.
8. Maxwell SRJ, Lip GYH. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. Int J Cardiol 1997;58:95-117.
9. Miki S, Ashraf M, Salka S, Sperelakis N. Myocardial dysfunction and ultrastructural alteration mediated by oxygen metabolites. J Mol Cell Cardiol 1988;20:1009-24.
10. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi 2002;33 (2):110-18.
11. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. The Am J Off Surgery 1991;161:488-503.
12. Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan Biyokimyası. Palme Yayıncılık 2002. p. 665-74.
13. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları 1995. p. 1-74.

14. Konukoğlu D. Biyokimya. Nobel Tıp Kitapevleri 2000. p. 428-29.
15. Hearse DJ, Manning AS, Downey JM, Yellon DM. Xanthine oxidase: a critical mediator of myocardial injury during ischemia and reperfusion? *Acta Physiol Scand Suppl* 1986;548:65-78.
16. Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, Pasini E, De Giuli F, Albertini A. Role of oxygen free radicals in ischemic and reperfused myocardium. *Am J Clin Nutr* 1991;53 (1):215-22.
17. Carden DL, Young JA, Granger DN. Pulmonary microvascular injury after intestinal ischemia-reperfusion: role of P-selectin. *J Appl Physiol* 1993;75:2529-34.
18. Carden DL, Xiao F, Moak C, Willis BH, Robinson-Jackson S, Alexander S. Neutrophil elastase promotes lung microvascular injury and proteolysis of endothelial cadherins. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 1998;275:385-92.
19. Xiao F, Eppihimer MJ, Young JA, Nguyen K, Carden DL. Lung neutrophil retention and injury following intestinal ischemia-reperfusion. *Microcirculation* 1997;4:359-67.
20. Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork MA, Lucchesi BR. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* 1983;67:1016-23.
21. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 1988;255:1269-75.
22. Büyükaşar K. Nitrik oksidin fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolü. *Türk Farmakoloji Derneği Farmakoloji Eğitim Sempozyumları Programı, Nitrik Oksidin Farmakolojisi.* 27 Mayıs 2005; Mersin, URL: http://www.tfd.org.tr/mersin_kitap.pdf.
23. Barber DA, Harris SR. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharm* 1994;34 (9):26-35.
24. White BC, Grossman LI, Krause GS. Brain injury by global ischemia and reperfusion: a theoretical perspective on membrane damage and repair. *Neurology* 1993;43:1656-65.

25. İşlekel H, İşlekel S, Güner G. Biochemical mechanism and tissue injury of cerebral ischemia and reperfusion. URL: <http://med.ege.edu.tr/~norolbil/2000/NBD09200.html>.
26. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995;41 (12):1819-28.
27. Krause GS, Joyce KM, Nayini RN, Zonia CL, Garritano AM. Cardiac arrest and resuscitation: Brain iron delocalization during reperfusion. *Ann Emerg Med* 1985;14:1037-43.
28. Rice-Evans CA. Formation of free radicals and mechanisms of action in normal biochemical processes and pathological states. In: Rice-Evans CA, Burdon RH. *Free radical damage and its control*. England: Elsevier Science Press; 1994. p. 131-53.
29. Kilgore KS, Lucchesi BR. Free radicals and the inflammatory response. In: Rice-Evans CA, Bruckdorfer KR. *Oxidative stress, lipoproteins and cardiovascular dysfunction*, London: Portland Press; 1995: p. 161-80.
30. Kilgore KS, Lucchesi BR. Reperfusion injury after myocardial infarction: The role of free radicals and the inflammatory response. *Clin Biochem* 1993;26 (5):359-70.
31. Linz W, Lau HH, Beck G, Schokens BA. Influence of the thromboxane synthetase inhibitor HOE 944, prostacyclin and indomethacin on reperfusion arrhythmias, cardiodynamics and metabolism in isolated ischemic rat hearts. *Biomed. Biochim Acta* 1988;47 (10–11):23-26.
32. Pabla R, Curtis MJ. Effects of NO modulation on cardiac arrhythmias in the rat isolated heart. *Circ Res* 1995;77 (5): 984-92.
33. Neves LA, Almeida AP, Khosla MC, Campagnole-Santos MJ, Santos RA. Effect of angiotensin-(1–7) on reperfusion arrhythmias in isolated rat hearts. *Braz J Med Biol Res* 1997;30 (6):801-9.
34. Xiao CY, Hara A, Yuhki K, Fujino T, Ma H, Okada Y. Roles of prostaglandin I(2) and thromboxane A(2) in cardiac ischemia-reperfusion injury: a study using mice lacking their respective receptors. *Circulation* 2001;104 (18):2210-5.

35. Gross GJ, Kersten JR, Warltier DC. Mechanisms of postischemic contractile dysfunction. *Ann Thorac Surg* 1999;68 (5):1898-904.
36. Moens AL, Claeys MJ, Timmermans JP, Vrints CJ. Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *Int J Cardiol*. 2005;100 (2):179-90.
37. Piper HM, Meuter K, MD, Schafer C. Cellular Mechanisms of Ischemia-Reperfusion Injury. *Ann Thorac Surg* 2003;75:644-48.
38. Kloner RA, Arimie RB, Kay GL, Cannom D, Matthews R, Bhandari A. Evidence for stunned myocardium in humans: a 2001 update. *Coron. Artery Dis* 2001;12 (5):349-56.
39. Ambrosio G, Tritto I. Clinical manifestations of myocardial stunning. *Coron Artery Dis* 2001;12 (5):357-61.
40. Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 1982;66 (6):1146-9.
41. Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner SF. Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. *J Clin Invest* 1975;56 (4):978-85.
42. Kloner RA, Jennings RB. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 1. *Circulation* 2001;104 (24):2981-9.
43. Kloner RA, Jennings RB. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 2. *Circulation* 2001;104 (25):3158-67.
44. Bolli R. Oxygen-derived free radicals and postischemic myocardial dysfunction ("stunned myocardium"). *J Am Coll Cardiol* 1988;12 (1):239-49.
45. Manning AS, Hearse DJ. Reperfusion-induced arrhythmias: mechanisms and prevention. *J Mol Cell Cardiol* 1984;16 (6):497-518.
46. Goldberg S, Greenspon AJ, Urban PL, Muza B, Berger B, Walinsky P. Reperfusion arrhythmia: a marker of restoration of antegrade flow during

- intracoronary thrombolysis for acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1983;105 (1):26-32.
47. Kaeffer N, Richard V, Francois A, Lallemand F, Henry JP, Thuillez C. Preconditioning prevents chronic reperfusion-induced coronary endothelial dysfunction in rats. *Am J Physiol* 1996;271 (3 Pt 2):842-9.
 48. Pearson PJ, Schaff HV, Vanhoutte PM. Long-term impairment of endothelium-dependent relaxations to aggregating platelets after reperfusion injury in canine coronary arteries. *Circulation* 1990;81 (6):1921-7.
 49. Viehman GE, Ma XL, Lefer DJ, Lefer AM. Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during coronary arterial occlusion. *Am J Physiol* 1991;261 (3 Pt 2):874-881.
 50. Lefer AM, Lefer DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. *Cardiovasc Res* 1996;32 (4):743-51.
 51. Kloner RA, Ganote CE, Jennings RB. The "no-reflow" phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. *J Clin Invest* 1974;54 (6):1496-508.
 52. Kloner RA, Rude RE, Carlson N, Maroko PR, DeBoer LW, Braunwald E. Ultrastructural evidence of microvascular damage and myocardial cell injury after coronary artery occlusion: which comes first? *Circulation* 1980;62 (5):945-52.
 53. Erlebacher JA, Weiss JL, Weisfeldt ML, Bulkley BH. Early dilation of the infarcted segment in acute transmural myocardial infarction: role of infarct expansion in acute left ventricular enlargement. *J Am Coll Cardiol* 1984;4 (2):201-8.
 54. Ito H, Maruyama A, Iwakura K, Takiuchi S, Masuyama T, Hori M. Clinical implications of the 'no reflow' phenomenon. A predictor of complications and left ventricular remodeling in reperfused anterior wall myocardial infarction. *Circulation* 1996;93 (2):223-8.
 55. Sutton MG, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation* 2000;101 (25):2981- 8.
 56. Mann JM, Roberts WC. Rupture of the left ventricular free wall during acute myocardial infarction: analysis of 138 necropsy patients and comparison

- with 50 necropsy patients with acute myocardial infarction without rupture. *Am J Cardiol* 1988;62 (13):847-59.
57. Demiryürek AT. Miyokardiyal Önkoşullama teknikleri. Türk Farmakoloji Derneği Farmakoloji Eğitim Sempozyumları Programı. İskemi-Reperfüzyon Teknikleri. 21 Mayıs 2004; Gaziantep, URL: <http://www.ctf.edu.tr/farma/tfd/gaziantepdemiryurek.pdf>.
 58. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986;74:1124-36.
 59. Shiki K, Hearse DJ. Preconditioning of ischemic myocardium: reperfusion-induced arrhythmias. *Am J Physiol* 1987;253:1470-6.
 60. Asimakis GK, Inners-McBride K, Medellen G, Conti VR. Ischemic preconditioning attenuates acidosis and postischemic dysfunction in isolated rat heart. *Am J Physiol* 1992;263:887-94.
 61. Richard V, Kaeffer N, Tron C, Thuillez C. Ischemic preconditioning protects against coronary endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion. *Circulation* 1994;89 (3):1254-61.
 62. Bolli R, Bhatti ZA, Tang XL, Qiu Y, Zhang Q, Guo Y, Jadoon AK. Evidence that late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbit is triggered by the generation of nitric oxide. *Circulation Research* 1997;81 (1):42-52.
 63. Cohen MV, Liu GS, Downey JM. Preconditioning causes improved wall motion as well as smaller infarcts after transient coronary occlusion in rabbits. *Circulation* 1991;84 (1):341-9.
 64. Bolli R. The late phase of preconditioning. *Circ Res* 2000;87 (11):972- 83.
 65. Downey JM, Cohen MV. Preconditioning: what it is and how it works. *Dialogues Cardiovasc Med* 1997;2:179-96.
 66. Carroll R, Yellon DM. Myocardial adaptation to ischemia-the preconditioning phenomenon. *Int J Cardiol* 1999;68:93-101.
 67. Schulz R, Cohen MV, Behrends M, Downey JM, Heusch G. Signal transduction of ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 2001;52:181-98.
 68. Sung J, Tang X, Knowlton AA. Late preconditioning against myocardial stunning. *J Clin Invest* 1995;95:388-403.

69. Ovize M, Przyklenk K, Hale SL. Preconditioning does not attenuate myocardial stunning. *Circulation* 1992;85:2247-54.
70. Yang XM, Baxter GF, Heads RJ, Yellon DM, Downey JM, Cohen MV. Infarct limitation of the second window of protection in a conscious rabbit model. *Cardiovasc Res* 1996;31 (5):777-83.
71. Hawaleshka, A, Jacobsohn, E. Ischemic preconditioning: mechanisms and potential clinical applications. *Can J Anaesth* 1998;45:670-82.
72. Liu Y, Downey JM. Ischemic preconditioning protects against infarction in rat heart. *Am J Physiol* 1992;263:1107-12.
73. Winkle DM, Thornton JD, Downey DM, Downey JM. The natural history of preconditioning: cardioprotection depends on duration of transient ischemia and time to subsequent ischemia. *Coron Art Dis* 1991;2:613-9.
74. Schulz R, Post H, Vahlhaus C, Heusch G. Ischemic preconditioning in pigs: a graded phenomenon. Its relation to adenosine and bradykinin. *Circulation* 1998;8:1022-9.
75. Matsubara T, Minatoguchi S, Matsuo H. Three minute, but not one minute, ischemia and nicorandil have a preconditioning effect in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:345-51.
76. Alkhulaifi AM, Pugsley WB, Yellon DM. The influence of the time period between preconditioning ischemia and prolonged ischemia on myocardial protection. *Cardioscience* 1993;4:163-9.
77. Sack S, Mohri M, Arras M, Schwarz ER, Schaper W. Ischaemic preconditioning — time course of renewal in the pig. *Cardiovasc Res* 1993;27:551-5.
78. Murry CE, Richard VJ, Jennings RB, Reimer KA. Myocardial protection is lost before contractile function recovers from ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1991;260:796-804.
79. Burckhardt B, Yang XM, Tsuchida A. Acadesine extends the window of protection afford by ischaemic preconditioning in conscious rabbits. *Cardiovasc Res* 1995;29:653-7.

80. Sandhu R, Diaz RJ, Mao GD, Wilson GJ. Ischemic preconditioning. Difference in protection and susceptibility to blockade with single-cycle versus multicycle transient ischemia. *Circulation* 1997;96:984-95.
81. Barbosa V, Sievers RE, Zaugg CE, Wolfe CL. Preconditioning ischemia time determines the degree of glycogen depletion and infarct size reduction in rat hearts. *Am Heart J* 1996;131 (2):224-30.
82. Li GC, Vasquez JA, Gallagher KP, Lucchesi BR. Myocardial protection with preconditioning. *Circulation* 1990;82:609-19.
83. Li Y, Whittaker P, Kloner RA. The transient nature of the effect of ischemic preconditioning on myocardial infarct size and ventricular arrhythmia. *Am Heart J* 1992;123:346-53 .
84. Marber MS, Latchman DS, Walker JM, Yellon DM. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation* 1993;88:1264-72.
85. Chen J, Graham SH, Zhu RL, Simon RP. Stress proteins and tolerance to focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996;16:566-77.
86. Matsuyama K, Chiba Y, Ihaya A, Kimura T, Tanigawa N, Muraoka R. Effect of spinal cord preconditioning on paraplegia during cross-clamping of the thoracic aorta. *Ann. Thorac Surg* 1997;63:1315-20 .
87. Gürke L, Marx A, Sutter PM., Frentzel A, Salm T, Harder F, Seeling J, Heberer M. Ischemic preconditioning improves post-ischemic skeletal muscle function. *Am Surg* 1996;62:391-4.
88. Hardy KJ, McClure DN, Subwongcharoen S. Ischemic preconditioning of the liver: a preliminary study. *Aust N Z J Surg* 1996;66:707-10.
89. Neely CF, Keith IM. A1 adenosine receptor antagonists block ischemia-reperfusion injury of the lung. *Am J Physiol* 1995;268:1036-46.
90. Du ZY, Hicks M., Winlaw D, Spratt P, MacDonald P. Ischemic preconditioning enhances donor lung preservation in the rat. *J Heart Lung Transplant* 1996;15:1258-67.
91. Bonventre JV. Kidney ischemic preconditioning. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002;11:43-8.

92. Aksoy S, Cinel I, Avlan D, Cinel L, Ozturk C, Gurbuz P. Intestinal ischemic preconditioning protects the intestine and reduces bacterial translocation. *Shock* 2002;18:476-80.
93. Demiryürek Ş, Ceylan H, Demiryürek AT. İskemik önkoşullamanın klinik uygulamaları. *Genel Tıp Dergisi* 2004;14 (1):31-4.
94. Yellon DM, Alkhulaifi AM, Pugsley WB. Preconditioning the human myocardium. *Lancet* 1993;342:276-7.
95. Ishihara M, Sato H, Tateishi H. Beneficial effect of prodromal angina pectoris is lost in elderly patients with acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2000;139:881-8.
96. Ottani F, Galvani M, Ferrini D. Prodromal angina limits infarct size: a role of ischemic preconditioning. *Circulation* 1995;91:291-7.
97. Ottani F, Galvani M, Ferrini D, Nicolini FA. Clinical relevance of prodromal angina before acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 1999;68:103-8.
98. Tomoda H, Aoki N. Comparison of protective effects of preinfarction angina pectoris in acute myocardial infarction treated by thrombolysis versus by primary coronary angioplasty with stenting. *Am J Cardiol* 1999;84:621-5.
99. Yellon DM, Baxter GF, Marber MS. Angina reassessed: pain or protector?. *Lancet* 1996;347:1059-62.
100. Schwarz ER, Whyte WS. Ischemic preconditioning. *Curr Opin Cardiol* 1997;12:475-81.
101. Kandilci HB, Gümüşel B. Akciğerlerde İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve İskemik Önkoşullama. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 2005;25 (1):35-49.
102. Demiryürek Ş, Ceylan H, Demiryürek AT. İskemik önkoşullama ve etki mekanizması. *Genel Tıp Dergisi* 2003;13 (4):187-94.
103. Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AW, Olsson RA, Downey JM. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation* 1991;84:350-6.
104. Kuzmin AI, Gourine AV, Molosh AI, Lakomkin VL, Vassort G. Effects of preconditioning on myocardial interstitial levels of ATP and its catabolites

- during regional ischemia and reperfusion in the rat. *Basic Res Cardiol* 2000;95:127-36.
105. Lasley RD, Konyn PJ, Hegge JO, Mentzer RM. Effects of ischemic and adenosine preconditioning on interstitial fluid adenosine and myocardial infarct size. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1995;38:1460-6.
 106. Mei DA, Nithipatikom K, Lasley RD, Gross GJ. Myocardial preconditioning produced by ischemia, hypoxia, and a K_{ATP} channel opener: effects on interstitial adenosine in dogs. *J Mol Cell Cardiol* 1998;30:1225-36.
 107. Schulz R, Rose J, Post H, Heusch G. Involvement of endogenous adenosine in ischaemic preconditioning in swine. *Pflügers Arch* 1995;430:273-82.
 108. Walker DM, Walker JM, Pugsley WB, Pattison CW, Yellon DM. Preconditioning in isolated superfused human muscle. *J Mol Cell Cardiol* 1995;27:1349-57.
 109. De Jonge R, De Jong JW, Giacometti D, Bradamante S. Role of adenosine and glycogen in ischemic preconditioning of rat hearts. *Eur J Pharmacol* 2001;414 (1):55-62.
 110. De Jonge R, Out M, Maas WJ, De Jong JW. Preconditioning of rat hearts by adenosine A₁ or A₃ receptor activation. *Eur J Pharmacol* 2002;441 (3):165-72.
 111. Thornton JD, Liu GS, Olsson RA, Downey JM. Intravenous pretreatment with A₁ selective adenosine analogues protects the heart against infarction. *Circulation* 1992;85:659-65.
 112. Liu GS, Richards SC, Olsson RA. Evidence that adenosine A₃ receptor may mediate the protection afforded by preconditioning in the isolated rabbit heart. *Cardiovasc Res* 1994;28:1057-61.
 113. McCully JD, Toyoda Y, Uematsu M, Stewart RD, Levitsky S. Adenosine enhanced ischemic preconditioning: adenosine receptor involvement during ischemia and reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280:591-602.

114. Miura T, Liu Y, Kita H, Ogawa T, Shimamoto K. Roles of mitochondrial ATP-sensitive K channels and PKC in antiinfarct tolerance afforded by adenosine A1 receptor activation. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:238-45.
115. Liu Y, Ytrehus K, Downey JM. Evidence that translocation of protein kinase C is a key event during ischemic preconditioning of rabbit myocardium. *J Mol Cell Cardio* 1994;26:661-8.
116. Yao Z, A Gross GJ. Glibenclamide antagonizes adenosine A1 receptor-mediated cardioprotection in stunned canine myocardium. *Circulation* 1993;88:235-44.
117. Auchampach JA, Gross GJ. Adenosine A1 receptors, K_{ATP} channels, and ischemic preconditioning in dogs. *American Journal of Physiology* 1993; 264:1327-36.
118. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakolji. Otakoidler. Onuncu baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık; 2002. p. 1435-38.
119. Parratt JR, Vegh A. Endothelial cells, nitric oxide and ischaemic preconditioning. *Basic Res Cardiol* 1996;91:27-30.
120. Parratt JR, Vegh A. Pronounced antiarrhythmic effects of ischemic preconditioning. *Cardioscience* 1994;5 (1):9-18.
121. Pan HL, Chen SR, Scicli GM, Carretero OA. Cardiac interstitial bradykinin release during ischemia is enhanced by ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279:116-21.
122. Goto M, Liu Y, Yang XM. Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts. *Circ Res* 1995;77:611-21.
123. Vegh A, Papp JG, Parratt J. Attenuation of the antiarrhythmic effects of ischaemic preconditioning by blockade of bradykinin B2 receptors. *Br J Pharmacol* 1994;113:1167-72.
124. Wall TM, Sheehy R, Hartman JC. Role of bradykinin in myocardial preconditioning. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;270:681-9.
125. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakolji. Santral Sinir Sistemi Farmakolojisinin temelleri. Onuncu baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık; 2002. p. 762-8.

126. Schulz R, Gres P, Heusch G. Role of endogenous opioids in ischemic preconditioning but not in short-term hibernation in pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280:2175-81.
127. Miki T, Cohen MV, Downey JM. Opioid receptor contributes to ischemic preconditioning through protein kinase C activation in rabbits. *Mol Cell Biochem* 1998;186:3-12.
128. Schultz JEL, Rose E, Yao Z, Gross GJ. Evidence for involvement of opioid receptors in ischemic preconditioning in rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1995;268:2157-61.
129. Schultz JEJ, Hsu AK, Gross GJ. Ischemic preconditioning in the intact rat heart is mediated by δ 1- but not μ - or κ -opioid receptors. *Circulation* 1998;97:1282-9.
130. Aitchison KA, Baxter GF, Awan MM. Opposing effects on infarction of delta and kappa opioid receptor activation in the isolated rat heart: implications for ischemic preconditioning. *Basic Res Cardiol* 2000;95:1-10.
131. Wang GY, Wu S, Pei JM, Yu XC, Wong TM. κ - but not δ -opioid receptors mediate effects of ischemic preconditioning on both infarct and arrhythmia in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280:384-91.
132. Schultz JJ, Hsu A, Gross GJ. Ischemic preconditioning is mediated by a peripheral opioid receptor mechanism in the intact rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:1355-62.
133. Fryer RM, Hsu AK, Eells JT, Nagase H, Gross GJ. Opioid-induced second window of cardioprotection. *Circ Res* 1999;84:846-51.
134. Li Y, Kloner RA. Cardioprotective effects of ischaemic preconditioning are not mediated by prostanoids. *Cardiovasc Res* 1992;26:226-31.
135. Liu GS, Stanley AW, Downey J. Cyclooxygenase products are not involved in protection against myocardial infarction afforded by preconditioning in rabbit. Cyclooxygenase pathway's involvement in preconditioning. *Am J Cardiovasc Pathol* 1992;4:157-64.
136. Gabel SA, London RE, Funk CD, Steenbergen C, Murphy E. Leukocyte-type 12-lipoxygenase-deficient mice show impaired ischemic

- preconditioning-induced cardioprotection. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280:1963-9.
137. Wang P, Gallagher KP, Downey JM, Cohen MV. Pretreatment with endothelin-1 mimics ischemic preconditioning against infarction in isolated rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1996;28:579-88.
 138. Liu Y, Tsuchida A, Cohen MV, Downey JM. Pretreatment with angiotensin II activates protein kinase C and limits myocardial infarction in isolated rabbit hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1995;27:883-92.
 139. Moolman JA, Genade S, Tromp E, Lochner A. No evidence for mediation of ischemic preconditioning by α 1-adrenergic signal transduction pathway or protein kinase C in isolated rat heart. *Cardiovasc Drugs Ther* 1996;10:125-36.
 140. Baines CP, Goto M, Downey JM. Oxygen radicals released during ischemic preconditioning contribute to cardioprotection in the rabbit myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:207-16.
 141. Das DK, Maulik N, Sato M, Ray PS. Reactive oxygen species function as second messenger during ischemic preconditioning of heart. *Mol Cell Biochem* 1999;196:59-67.
 142. Nishida M, Maruyama Y, Tanaka R. Gai and Gao are target proteins of reactive oxygen species. *Nature* 2000;408:492-5.
 143. Tokube K, Kiyosue T, Arita M. Openings of cardiac K_{ATP} channel by oxygen free radicals produced by xanthine oxidase reaction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1996;271:478-89.
 144. Jabr RI, Cole WC. Alterations in electrical activity and membrane current induced by intracellular oxygen-derived free radical stress in guinea pig ventricular myocytes. *Circ Res* 1993;72:1229-44.
 145. Kuo L, Chancellor JD. Adenosine potentiates flow-induced dilation of coronary arterioles by activating K_{ATP} channels in endothelium. *American Journal of Physiology* 1995;269:541-9.
 146. Altug S, Demiryürek AT, Kane KA, Kızılk İ. Evidence for the involvement of peroxynitrite in ischaemic preconditioning in rat isolated hearts. *Br J Pharmacol* 2000;130:125-31.

147. Csonka C, Csont T, Onody A, Ferdinandy P. Preconditioning decreases ischemia/reperfusion-induced peroxynitrite formation. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;285:1217-9.
148. Williams MW, Taft CS, Ramnauth S, Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. Endogenous nitric oxide (NO) protects against ischaemia-reperfusion injury in the rabbit. *Cardiovascular Research* 1995;30 (1):79-86.
149. Pagliaro P, Penna C, Gattullo D. The effects of ischemic preconditioning on resting coronary flow and reactive hyperemia: involvement of A1 adenosine receptors. *Life Sciences* 1999;64 (12):1071-8.
150. Schulz R, Wambolt R. Inhibition of nitric oxide synthesis protects the isolated working rabbit heart from ischaemia- reperfusion injury. *Cardiovascular Research* 1995;30 (3):432-9.
151. Woolfson RG, Patel VC, Neild GH, Yellon DM. Inhibition of nitric oxide synthesis reduces infarct size by an adenosine-dependent mechanism. *Circulation* 1995;91 (5):1545-51.
152. Vinten-Johansen J, Zhao Z-Q, Nakamura M, Jordan JE, Ronson RS, Thourani VH, Guyton RA. Nitric oxide and the vascular endothelium in myocardial ischemia reperfusion injury. *Annual New York Academy of Sciences* 1999;874:354-70.
153. Nakanishi K, Vinten-Johansen J, Lefer DJ, Zhao Z, Fowler WC , McGee DS, Johnston WE. Intracoronary L-arginine during reperfusion improves endothelial function and reduces infarct size. *American Journal of Physiology* 1992;263:1650-8.
154. Benjamin IJ, Mcmillan DR. Stress (heat shock) proteins: molecular chaperones in cardiovascular biology and disease. *Circulation Research* 1998;83 (2):117-32.
155. Pabla R, Curtis MJ. Endogenous protection against reperfusion-induced ventricular fibrillation: role of neuronal versus non-neuronal sources of nitric oxide and species dependence in the rat versus rabbit isolated heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 1996;28 (10):2097-110.
156. Qiu Y, Rizvi A, Tang XL, Manchikalapudi S, Takano H, Jadoon AK, Wu WJ, Bolli R. Nitric oxide triggers late preconditioning against myocardial

- infarction in conscious rabbits. *American Journal of Physiology* 1997;273:2931-6.
157. Takano H, Manchikalapudi S, Tang X-L, Qiu Y, Rizvi A, Jadoon AK, Zhang Q, Bolli R. Nitric oxide synthase is the mediator of late preconditioning against myocardial infarction in conscious rabbits. *Circulation* 1998;98 (5):41-9.
 158. Imagawa J, Yellon DM, Baxter GF. Pharmacological evidence that inducible nitric oxide synthase is a mediator of delayed preconditioning. *British Journal of Pharmacology* 1999;126 (3):701-8.
 159. Sasaki N, Sato T, Ohler A, O'Rourke B, Marbán E. Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels by nitric oxide. *Circulation* 2000;101 (4):439-45.
 160. Bolli R, Dawn B, Tang XL, Qiu Y, Ping P, Xuan YT, Jones WK, Takano H, Guo Y, Zhang J. The nitric oxide hypothesis of late preconditioning. *Basic Research in Cardiology* 1998;93 (5):325-38.
 161. Söylemez S, Demiryürek AT, Kançık İ. Involvement of tyrosine kinase in peroxynitrite-induced preconditioning in rat isolated heart. *Eur J Pharmacol* 2003;464:163-9.
 162. Laude K, Thuillez C, Richard V. Peroxynitrite triggers a delayed resistance of coronary endothelial cells against ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 2002;283:1418-23.
 163. Cain BS, Meldrum DR, Cleveland JC. Clinical L-type Ca^{2+} channel blockade prevents ischemic preconditioning of human myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 2000;31:2191-7.
 164. Wallbridge DR, Schulz R, Braun C, Post H, Heusch G: No attenuation of ischaemic preconditioning by the calcium antagonist nisoldipine. *J Mol Cell Cardiol* 1996;28:1801-10.
 165. Grover GJ, Sleph PG, Dzwonczyk S. Role of myocardial ATP-sensitive potassium channels in mediating preconditioning in the dog heart and their possible interaction with adenosine A1-receptors. *Circulation* 1992;86:1310-6.

166. Schultz JEJ, Hsu AK, Nagase H, Gross GJ. TAN-67, a δ_1 -opioid receptor agonist, reduces infarct size via activation of $G_{i/o}$ proteins and K_{ATP} channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1998;43:909-14.
167. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji. Endokrin sistem Farmakolojisinin Esasları. Onuncu baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık; 2002. p. 1165-72.
168. Gopalakrishna R, Anderson WB. Ca^{2+} - and phospholipid independent activation of protein kinase C by selective oxidative modification of the regulatory domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:6758-62.
169. Thornton JD, Liu GS, Downey JM. Pretreatment with pertussis toxin blocks the protective effects of preconditioning: evidence for a G-protein mechanism. *J Mol Cell Cardiol* 1993;25:311-20.
170. Billah MM, Anthes JC. The regulation and cellular functions of phosphatidylcholine hydrolysis. *Biochem J* 1990;269:281-91.
171. Ping P, Zhang Y, Tang XL. Ischemic preconditioning induces selective translocation of protein kinase C isoforms ϵ and η in the heart of conscious rabbits without subcellular redistribution of total protein kinase C activity. *Circ Res* 1997;81:404-14.
172. Disatnik MH, Buraggi G, Mochly-Rosen D. Localization of protein kinase C isozymes in cardiac myocytes. *Exp Cell Res* 1994;210:287-97.
173. Gray MO, Karliner JS, Mochly-Rosen D. A selective ϵ -protein kinase C antagonist inhibits protection of cardiac myocytes from hypoxia-induced cell death. *J Biol Chem* 1997;272:30945-51.
174. Gross GJ, Fryer RM. Sarcolemma versus mitochondrial ATP-sensitive K_1 channels and myocardial preconditioning. *Circulation Research* 1999;84 (9): 973-9.
175. Yang XM, Sato H, Downey JM, Cohen MV. Protection of ischemic preconditioning is dependent upon a critical timing sequence of protein kinase C activation. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:991-9.
176. Yoshida KI, Kawamura S, Mizukami Y, Kitakaze M. Implication of protein kinase C- α , δ , and ϵ isoforms in ischemic preconditioning in perfused rat hearts. *J Biochem* 1997;122:506-11.

177. Johnson JA, Gray MO, Chen CH, Mochly-Rosen D. A protein kinase C translocation inhibitor as an isozyme-selective antagonist of cardiac function. *J Biol Chem* 1996;271:24962-6.
178. Liu GS, Cohen MV, Mochly-Rosen D, Downey JM. Protein kinase C- ϵ is responsible for the protection of preconditioning in rabbit cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:1937-48.
179. Ytrehus K, Liu Y, Downey JM. Preconditioning protects ischemic rabbit heart by protein kinase C activation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1994;266:1145-52.
180. Mitchell MB, Meng X, Ao L, Brown JM, Harken AH, Banerjee A. Preconditioning of isolated rat heart is mediated by protein kinase C. *Circ Res* 1995;76:73-81.
181. Ikonomidis JS, Shirai T, Weisel RD, Derylo B, Rao V, Whiteside CI, Mickle DAG, Li RK. Preconditioning cultured human pediatric myocytes requires adenosine and protein kinase C. *Am J Physiol* 1997;272:1220-30.
182. Przyklenk K, Sussman MA, Simkhovich BZ, Kloner RA. Does ischemic preconditioning trigger translocation of protein kinase C in the canine model? *Circulation* 1995;92:1546-57.
183. Vahlhaus C, Schulz R, Post H, Onallah R, Heusch G. No prevention of ischemic preconditioning by the protein kinase C inhibitor staurosporine in swine. *Circ Res* 1996;9:407-14.
184. Vahlhaus C, Schulz R, Post H, Rose J, Heusch G. Prevention of ischemic preconditioning only by combined inhibition of protein kinase C and protein tyrosine kinase in pigs. *J Mol Cell Cardiol* 1998;30:197-209.
185. Tanno M, Tsuchida A, Nozawa Y. Roles of tyrosine kinase and protein kinase C in infarct size limitation by repetitive ischemic preconditioning in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 200;35:345-52.
186. Bökesoy TA, Çakıcı İ, Melli M. Türk Farmakoloji Derneği Farmakoloji Ders Kitabı. Yazar: Onaran O. İlaçların Etki Mekanizmaları II. Ankara: Gazi Kitabevi; 2000. p. 70-3.

187. Maulik N, Watanabe M, Zu YL, Huang CK, Cordis GA, Schley JA, Das DK. Ischemic preconditioning triggers the activation of MAP kinases and MAPKAP kinase 2 in rat hearts. *FEBS Lett* 1996;396:233-7.
188. Baines CP, Wang L, Cohen MV, Downey JM. Protein tyrosine kinase is downstream of protein kinase C for ischemic preconditioning's anti-infarct effect in the rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1998;30:382-92.
189. Fryer RM, Schultz JEJ, Hsu AK, Gross GJ. Importance of PKC and tyrosine kinase in single or multiple cycles of preconditioning in rat hearts. *Am J Physiol* 1999;276:1229-35.
190. Miura T, Miura T, Kawamura S, Goto M, Sakamoto J, Tsuchida A, Matsuzaki M, Shimamoto K. Effect of protein kinase C inhibitors on cardioprotection by ischemic preconditioning depends on the number of preconditioning episodes. *Cardiovasc Res* 1998;37:700-9.
191. Raingeaud J, Gupta S, Rogers JS, Dickens M, Han J, Ulevitch RJ, Davis RJ. Pro-inflammatory cytokines and environmental stress cause p38 mitogen-activated protein kinase activation by dual phosphorylation on tyrosine and threonine. *J Biol Chem* 1995;270:7420-26.
192. Robinson MJ, Cobb MH. Mitogen-activated protein kinase pathways. *Curr Opin Cell Biol* 1997;9:180-6.
193. Sugden PH, Clerk A. "Stress-responsive" mitogen-activated protein kinases (c-Jun N-terminal kinases and p38 mitogen-activated protein kinases) in the myocardium. *Circ Res* 1998;83:345-52.
194. Michel MC, Li Y, Heusch G. Mitogen-activated protein kinases in the heart. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2001;363:245-66.
195. Nakano A, Baines CP, Kim SO. Ischemic preconditioning activates MAPKAPK2 in the isolated rabbit heart. Evidence for involvement of p38 MAPK. *Circ Res* 2000;86:144-51.
196. Kim SO, Baines CP, Critz SD. Ischemia induced activation of heat shock protein 27 kinases and casein kinase 2 in the preconditioned rabbit heart. *Biochem Cell Biol* 1999;77:559-67.
197. Strohm C, Barancik M, Brühl ML, Kilian SAR, Schaper W. Inhibition of the ER-kinase cascade by PD98059 and UO126 counteracts ischemic

- preconditioning in pig myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;36:218-29.
198. Clerk A, Fuller SJ, Michael A, Sugden PH. Stimulation of 'stress-regulated' mitogen-activated protein kinases (stress-activated protein kinases/c-Jun N-terminal kinases and p38-mitogen-activated protein kinases) in perfused rat hearts by oxidative and other stress. *J Biol Chem* 1998;273:7228-34.
 199. Ping P, Zhang J, Huang S. PKC-dependent activation of p46/p54 JNKs during ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999;77:1771-85.
 200. Baines CP, Liu GS, Birincioglu M. Ischemic preconditioning depends on interaction between mitochondrial K_{ATP} channels and actin cytoskeleton. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999;276:1361-8.
 201. Barancik M, Htun P, Schaper W. Okadaic acid and anisomycin are protective and stimulate the SAPK/JNK pathway. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999;34:182-90.
 202. Sato M, Cordis GA, Maulik N, Das DK. SAPKs regulation of ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279:901-7.
 203. Bogoyevitch MA, Gillespie-Brown J, Kettermann AJ. Stimulation of the stress-activated mitogen-activated protein kinase subfamilies in perfused heart. p38/RK mitogen-activated protein kinase are activated by ischemia/reperfusion. *Circ Res* 1996;79:162-173.
 204. Yin T, Sandhu G, Wolfgang CD. Tissue-specific pattern of stress kinase activation in ischemic-reperfused heart and kidney. *J Biol Chem* 1997;272:19943-50.
 205. Sanada S, Kitakaze M, Papst PJ. Role of phasic dynamism of p38 mitogen-activated protein kinase activation in ischemic preconditioning of the canine heart. *Circ Res* 2001;88:175-80.
 206. Behrends M, Schulz R, Post H. Inconsistent relation of MAPK activation to infarct size reduction by ischemic preconditioning in pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279:1111-9.

207. Haq SEA, Clerk A, Sugden PH. Activation of mitogen-activated protein kinases (p38-MAPKs, SAPKs/JNKs and ERKs) by adenosine in the perfused rat heart. *FEBS Lett* 1998;434:305-8.
208. Nakano A, Baines CP, Kim SO, Pelech SL, Downey JM, Cohen MV, Critz SD. Ischemic preconditioning activates MAPKAPK2 in the isolated rabbit heart: evidence for involvement of p38 MAPK. *Circ Res* 2000;86:144-51.
209. Clerk A, Michael A, Sugden PH. Stimulation of the p38 mitogen-activated protein kinase pathway in neonatal rat ventricular myocytes by the G protein-coupled receptor agonists, endothelin-1 and phenylephrine: a role in cardiac myocyte hypertrophy. *J Cell Biol* 1998;142:523-35.
210. Freshney NW, Rawlinson L, Guesdon F. Interleukin-1 activates a novel protein kinase cascade that results in the phosphorylation of HSP27. *Cell* 1994;78:1039-49.
211. Clifton AD, Young PR, Cohen P. A comparison of the substrate specificity of MAPKAP kinase-2 and MAPKAP kinase-3 and their activation by cytokines and cellular stress. *FEBS Lett* 1996;392:209-14.
212. Huot J, Houle F, Spitz DR, Landry J. HSP27 phosphorylation-mediated resistance against actin fragmentation and cell death induced by oxidative stress. *Cancer Res* 1996;56:273-79.
213. Martin JL, Mestral R, Hilal-Dandan R, Brunton LL, Dillmann WH. Small heat shock proteins and protection against ischemic injury in cardiac myocytes. *Circulation* 1997;96:4343-8.
214. Marber MS, Latchaman DS, Walker JM, Yellon DM. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation* 1993;88 (3):1264-1272.
215. Hutter MM, Sievers RE, Barbosa V, Wolfe CL. Heat-shock protein induction in rat hearts. A direct correlation between the amount of heat-shock protein induced and the degree of myocardial protection. *Circulation* 1994;89 (1):355-60.
216. Snoeck LH, Contard F, Samuel JL, Marotte F, Rappaport L. Expression and cellular distribution of heatshock and nuclear oncogene proteins in rat hearts. *American Journal of Physiology* 1991;26:1443-51.

217. Saganek LJ, Ignasiak DP, Batley BL, Potoczak RE, Dodd G, Gallagher KP. Heat stress increases cardiac HSP72 but fails to reduce myocardial infarct size in rabbits 24 hours later. *Basic Research in Cardiology* 1997;92 (5):331-8.
218. Brown JM, Grosso MA, Terada LS, Whitman GJR, Banerjee A, White CW, Harken HA, Repine JE. Endotoxin pretreatment increases endogenous myocardial catalase activity and decreases ischemia-reperfusion injury of isolated rat hearts. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 1989;86 (7):2516-20.
219. Rowland RT, Cleveland JC, Meng X, Ao L, Arken AH, Brown JM. A single endotoxin challenge induces delayed myocardial protection against infarction. *Journal of Surgical Research* 1996;63 (1):193-8.
220. Zacharowski K, Hafner OM, Chatterjee PK, Thiemermann C. Endotoxin induces a second window of protection in the rat heart as determined by using p-nitro-blue tetrazolium staining, cardiac troponin T release, and histology. *Arteriosclerosis and Thrombosis Vascular Biology* 1999;19 (9):2276-80.
221. Mei DA, Elliott G, Gross J. KATP channels mediate late preconditioning against infarction produced by monophosphoryl lipid A. *American Journal of Physiology* 1996;27:2723-29.
222. Hu K, Duan D, Li GR, Nattel S. Protein kinase C activates ATP-sensitive K1 current in human and rabbit ventricular myocytes. *Circulation Research* 1996;78 (3):492-8.
223. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji. İlaçların Toksik Tesirleri ve Toksikolojinin Temel Kavramları. Onuncu Baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık; 2002. p.144-6.
224. Meldrum DR, Dinarello CA, Shames BD. Ischemic preconditioning decreases postischemic myocardial tumor necrosis factor- α production. Potential ultimate effector mechanism of preconditioning. *Circulation* 1998;98:214-9.

225. Belosjorow S, Schulz R, Dörge H, Schade FU, Heusch G. Endotoxin and ischemic preconditioning: TNF- α concentration and myocardial infarct development in rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999;277:2470-5.
226. Li D, Zhao L, Liu M. Kinetics of tumor necrosis factor α in plasma and the cardioprotective effect of a monoclonal antibody to tumor necrosis factor α in acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1999;137:1145-52.
227. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji. Antiaritmik İlaçlar. Onuncu Baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık; 2002. p. 497-505.
228. Nichols CG, Ripoll C, Lederer WJ ATP-sensitive potassium channel modulation of guinea pig ventricular action potential and contraction. *Circ Res* 1991;68:280-7.
229. Schulz R, Rose J, Heusch G Involvement of activation of ATP-dependent potassium channels in ischemic preconditioning in swine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1994;267:1341-52.
230. Carmeliet E. Potassium channels in cardiac cells. *Cardiovasc Drugs Ther* 1992;6:305-12.
231. Duncker DJ, Verdouw PD. Role of K^+_{ATP} channels in ischemic preconditioning and cardioprotection. *Cardiovascular Drugs and Therapeutics* 2000;14 (1):7-16.
232. Garlid KD, Paucek P, Yarov-Yarovoy V, Murray HN, Darbenzio RB, D'Alonzo AJ, Lodge NJ, Smith MA, Grover GJ. Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K^+ channels. Possible mechanism of cardioprotection. *Circulation Research* 1997;81 (6):1072-82.
233. Takashi E, Wang Y, Ashraf M. Activation of mitochondrial K(ATP) channel elicits late preconditioning against myocardial infarction via protein kinase C signaling pathway. *Circulation Research* 1999;85 (12):1146-53.
234. O'Rourke B. Myocardial K_{ATP} channels in preconditioning. *Circ Res* 2000;87:845-55.
235. Kowaltowski AJ, Seetharman S, Paucek P, Garlid KD. Bioenergetic consequences of opening the ATP-sensitive K^+ channel of heart mitochondria. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280:649-57.

236. Garlid KD: Opening mitochondrial K_{ATP} in the heart-what happens, and what does not happen. *Basic Res Cardiol* 2000;95:275-9.
237. Gross GJ, Auchampach JA. Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Circ Res* 1992;70:223-33.
238. Speechly-Dick ME, Grover GJ, Yellon DM. Does ischemic preconditioning in the human involve protein kinase C and the ATP-dependent K^+ channel? Studies of contractile function after simulated ischemia in an atrial in vitro model. *Circ Res* 1995;77:1030-5.
239. Toombs CF, Moore TL, Shebuski RJ. Limitation of infarct size in the rabbit by ischaemic preconditioning is reversible with glibenclamide. *Cardiovasc Res* 1993;27:617-22.
240. Sato T, Marban E. The role of mitochondrial K_{ATP} channels in cardioprotection. *Basic Res Cardiol* 2000;95:285-9.
241. Liu Y, O'Rourke B. Opening of mitochondrial K_{ATP} channels triggers cardioprotection. Are reactive oxygen species involved?. *Circ Res* 2001;88:750-2.
242. Liu Y, Sato T, O'Rourke B, Marban E. Mitochondrial ATP-dependent potassium channels. Novel effectors of cardioprotection?. *Circulation* 1998;97:2463-9.
243. Baines CP, Cohen MV, Downey JM. Signal transduction in ischemic preconditioning: The role of kinases and mitochondrial K_{ATP} channels. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1999;10:741-54.
244. Gross GJ. The role of mitochondrial K_{ATP} channels in cardioprotection. *Basic Res Cardiol* 2000;95:280-4.
245. Birincioglu M, Yang XM, Critz SD, Cohen MV, Downey JM. S-T segment voltage during sequential coronary occlusions is an unreliable marker of preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999;277:2435-41.
246. Bernardo NL, Okubo S, Maaieh M, Wood MA, Kukreja RC. Delayed preconditioning with adenosine is mediated by opening of ATP-sensitive K^+ channels in rabbit heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999;277:128-35.

247. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation* 1993;87 (3):893-9.
248. Liauw SK, Rubin BB, Lindsay TF, Romaschin AD, Walker PM. Sequential ischemia/reperfusion results in contralateral skeletal muscle salvage. *Am J Physiol* 1996;270:1407-13.
249. Pell TJ, Baxter GF, Yellon DM, Drew GM. Renal ischemia preconditions myocardium: role of adenosine receptors and ATP-sensitive potassium channels. *Am J Physiol* 1998;275:1542-7.
250. Patel HH, Moore J, Hsu KA, Gross GJ. Cardioprotection at a distance: Mesenteric artery occlusion protects the myocardium via an opioid sensitive mechanism. *J Mol Cell Cardiol* 2002;34:1317-23.
251. Petrishchev NN, Vlasov TD, Sipovsky VG, Kurapeev DI, Galagudza MM. Does nitric oxide generation contribute to the mechanism of remote ischemic preconditioning? *Pathophysiology* 2001;7:271-4.
252. Takaoka A, Nakae I, Mitsunami K, Yabe T, Morikawa S, Inubushi T, Kinoshita M. Renal ischemia/reperfusion remotely improves myocardial energy metabolism during myocardial ischemia via adenosine receptors in rabbits: effects of "remote preconditioning". *J Am Coll Cardiol* 1999;33 (2):556-64.
253. Schoemaker RG, Heijnen CL. Bradykinin mediates cardiac preconditioning at a distance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;278:1571-6.
254. Wolfrum S, Schneider K, Heidbreder M, Nienstedt J, Dominiak P, Dendorfer A. Remote preconditioning protects the heart by activating myocardial PKCepsilon-isoform. *Cardiovasc Res* 2002;55 (3):583-9.
255. Weinbrenner C, Schulze F, Sarvary L, Strasser RH. Remote preconditioning by infrarenal aortic occlusion is operative via delta1-opioid receptors and free radicals in vivo in the rat heart. *Cardiovasc Res* 2004;61 (3):591-9.

256. Chen YS, Chien CT, Ma MC, Tseng YZ, Lin FY, Wang SS, Chen CF. Protection "outside the box" (skeletal remote preconditioning) in rat model is triggered by free radical pathway. *J Surg Res* 2005;126 (1):92-101.
257. Kristiansen SB, Henning O, Kharbanda RK, Nielsen-Kudsk JE, Schmidt MR, Redington AN, Nielsen TT, Botker HE. Remote preconditioning reduces ischemic injury in the explanted heart by a KATP channel-dependent mechanism. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;288 (3):1252-6.
258. Weinbrenner C, Nelles M, Herzog N, Sarvary L, Strasser RH. Remote preconditioning by infrarenal occlusion of the aorta protects the heart from infarction: a newly identified non-neuronal but PKC-dependent pathway. *Cardiovasc Res* 2002;55 (3): 590-601.
259. Loukogeorgakis SP, Panagiotidou AT, Broadhead MW, Donald A, Deanfield JE, MacAllister RJ. Remote ischemic preconditioning provides early and late protection against endothelial ischemia-reperfusion injury in humans: role of the autonomic nervous system. *J Am Coll Cardiol* 2005;46 (3):450-6.
260. Gho BCG, Schoemaker RG, Van den Doel MA, Duncker DJ, Verdouw PD. Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue. *Circulation* 1996;94 (9):2193-200.
261. Snell RS. *Klinik Anatomi*. Çeviri Editörü: Yıldırım M. Beşinci Baskı. Nobel Kitapevi; 1997. p. 92-9.
262. Dere F. *Anatomi Atlası ve Ders Kitabı*. Beşinci Baskı. Adana: Nobel Kitapevi; 1999. p. 818-9.
263. Guyton AC, Hall JE. *Guyton & Hall Tıbbi Fizyoloji*. Onuncu Baskı. Ankara: Nobel Kitabevi; 2001. p. 95-113.
264. Güler T. *Kardiyovasküler Fizyoloji*. URL: <http://lokman.cu.edu.tr/anestezi/anestezinot/kardiyov1.htm>
265. Guyton AC, Hall JE. *Guyton & Hall Tıbbi Fizyoloji*. Onuncu Baskı. Ankara: Nobel Kitabevi; 2001. p. 226-9.
266. Lykkesfeldt J. Determination of Malondialdehyde as Dithiobarbituric Acid Adduct in Biological Samples by HPLC with Fluorescence Detection:

- Comparison with Ultraviolet-Visible Spectrophotometry. *Clinical Chemistry* 2001;47 (9):1725-7.
267. Volonte MG, Yuln G, Quiroga P, Consolini AE. Development of an HPLC method for determination of metabolic compounds in myocardial tissue. *J of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2004;35:647-53.
 268. Sahna E, Parlakpınar H, Turkoz Y, Acet A. Protective Effects of Melatonin on Myocardial Ischemia-Reperfusion Induced Infarct Size and Oxidative Changes *Physiol Res* 2005;54:491-5.
 269. Dobsak P, Siegelova J, Eicher JC, Jancik J, Svacinova H, Vasku J, Kuchtickova S, Horky M, Wolf JE. Melatonin protects against ischemia-reperfusion injury and inhibits apoptosis in isolated working rat heart. *Pathophysiology* 2003;9 (3):179-87.
 270. Soncul H , Öz E, Kalaycioglu S. Role of Ischemic Preconditioning on Ischemia-Reperfusion Injury of the Lung. *Chest* 1999;115:1672-7.
 271. Buyukates M, Kalaycioglu S, Oz E, Soncul H. Effects of Ischemic Preconditioning in Human Heart. *Journal of Cardiac Surgery* 2005;20 (3):241-5.
 272. Lawson CS, Downey JM. Preconditioning: state of the art myocardial protection. *Cardiovascular Research* 1993;27 (4):542-50.
 273. Kitakaze M, Hori M, Takashima S, Sato H, Inoue M, Kamada T. Ischemic preconditioning increases adenosine release and 5'-nucleotidase activity during myocardial ischemia and reperfusion in dogs. Implications for myocardial salvage. *Circulation* 1993;87 (1):208-15.
 274. Kitakaze M, Node K, Minamino T, Komamura K, Funaya H, Shinozaki Y, Chujo M, Mori H, Inoue M, Hori M, Kamada T. Role of activation of protein kinase C in the infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning through activation of ecto-5'-nucleotidase. *Circulation* 1996;93 (4):781-91.
 275. Van Wylen DG. Effect of ischemic preconditioning on interstitial purine metabolite and lactate accumulation during myocardial ischemia. *Circulation* 1994;89 (5):2283-9.

276. Harrison GJ, Willis RJ, Headrick JP. Extracellular adenosine levels and cellular energy metabolism in ischemically preconditioned rat heart. *Cardiovascular Research* 1998;40 (1):74-87.
277. De Jonge R, Bradamante S, Speleman L, De Jong W. Carbohydrates and purines in underperfused hearts, protected by ischemic preconditioning. *J Mol Cell Cardiol* 1998;30 (3):699-708.
278. Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, Kristiansen SB, Schmidt MR, Hoschtitzky JA, Vogel M, Sorensen K, Redington AN, MacAllister R. Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation* 2002;106 (23):2881-3.
279. Wang YP, Maeta H, Mizoguchi K, Suzuki T, Yamashita Y, Oe M. Intestinal ischemia preconditions myocardium: role of protein kinase C and mitochondrial K(ATP) channel. *Cardiovasc Res* 2002;55 (3):576-82.
280. Pell TJ, Baxter GF, Yellon DM, Drew GM. Renal ischemia preconditions myocardium: role of adenosine receptors and ATP-sensitive potassium channels. *Am J Physiol* 1998;275:1542-7.
281. Takaoka A, Nakae I, Mitsunami K, Yabe T, Morikawa S, Inubushi T, Kinoshita M. Renal ischemia/reperfusion remotely improves myocardial energy metabolism during myocardial ischemia via adenosine receptors in rabbits: effects of "remote preconditioning". *J Am Coll Cardiol* 1999;33 (2):556-64.