

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**MİYOKARDİYAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA
RESVERATROLÜN BÜYÜK KALSİYUM BAĞIMLI-POTASYUM
KANALLARI ARACILIKLI ETKİ MEKANİZMASININ İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Aysu AKBAŞ KORUCU

Tez danışmanı
Doç. Dr. Nilüfer N. TURAN

ANKARA
Ocak 2012

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**MİYOKARDİYAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA
RESVERATROLÜN BÜYÜK KALSİYUM BAĞIMLI-POTASYUM
KANALLARI ARACILIKLI ETKİ MEKANİZMASININ İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Aysu AKBAŞ KORUCU

Tez danışmanı
Doç. Dr. Nilüfer N. TURAN

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi tarafından
02/2010-16 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
Ocak 2012

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Farmakoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi : 19/01/2012

**Prof. Dr. Nurettin ABACIOĞLU
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı**

**Doç. Dr. Nilüfer TURAN DURAL
Gazi Üniversitesi**

**Doç. Dr. Sultan BAYTAŞ
Gazi Üniversitesi**

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Şekiller	iv
Semboller, Kısaltmalar	v
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Miyokard Fizyolojisi	4
2.2. Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon	13
2.3. Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarına Koruyucu Yöntemler: İskemik ve Farmakolojik Koşullama	18
2.3.1. İskemik Ön ve Ard koşullama	18
2.3.2. Farmakolojik Koşullama	23
2.4. Resveratrol	24
2.5. Paksilin	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. Gereçler	30
3.1.1. Kullanılan Deney Hayvanları	30
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
3.1.3. Kullanılan Aletler	31
3.2. Yöntem	32
3.2.1. Sıçan İzole Kalp Preparatının Hazırlanması ve Ölçülen Hemodinamik Parametreler	32
3.2.2. Deney Protokolü	33
3.2.3. İnfarkt Alan Değerlendirilmesi	34
3.2.4. İstatistiksel Analiz	35

4. BULGULAR	36
4.1. İnfarkt Alan	36
4.2. Hemodinamik Parametreler	37
4.2.1. Sol Ventrikül Gelişen Basıncı	37
4.2.2. Sol ventrikül Son Diyastolik Basıncı	39
4.2.3 $-dP/dt$ ve $+dP/dt$	42
5.TARTIŞMA	46
6.SONUÇ	55
7.ÖZET	56
8.SUMMARY	57
9.KAYNAKLAR	58
10.EKLER	75
11.ÖZGEÇMİŞ	77

ŞEKİLLER

Şekil 1: A-Miyozin moleküler yapısı	
B-Aktin moleküler yapısı	6
Şekil 2: Kalsiyum bağımlı K^+ kanallarının Nitrik oksit/cGMP sinyal ileti kaskatındaki rolü	12
Şekil 3: İskemik önkoşullama oluşum mekanizmaları	20
Şekil 4: İskemi-reperfüzyon hasarı içeriği, önkoşullama ve ardkoşullama ile kalp koruma	23
Şekil 5: Deney protokolü	34
Şekil 6: İnfarkt alan değerlendirilmesi	36
Şekil 7: TTC ile boyanan kalpleri	37
Şekil 8: Sol ventrikül gelişen basınç değerlendirmesi	38
Şekil 9: Sol ventrikül gelişen basınç kayıtları	39
Şekil 10: Sol ventrikül diyastol sonu basınç değerlendirmesi	41
Şekil 11: $-dP/dt$ değerlendirmesi	43
Şekil 12: $+dP/dt$ değerlendirmesi	45

KISALTMALAR ve SEMBOLLER

ATP	: Adenozin trifosfat
ROS	: Reaktif oksijen türevleri
NO	: Nitrik oksit
mPTP	: Mitokondriyal permeabilite transizyon poru
BK	: Büyük kalsiyum ile aktive edilen potasyum kanalları
ER	: Endoplazmik retikulum
PKC	: Protein kinaz C
L-NAME	: Nitro-L-arjinin metil esteri
TTC	: Trifeniltetrazolyum klorür
μM	: Mikromolar
SVGB	: Sol Ventrikül Gelişen Basıncı
SVDSB	: Sol Ventrikül Diyastol Sonu Basıncı
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
AV	: Atriyovenriküler düğüm
Ach	: Asetil kolin
K_{ATP}	: ATP'ye duyarlı potasyum kanalları
NAD(P)H	: Nikotinamid adenin nükleotid fosfat
mK_{ATP}	: Mitokondriyal potasyum-ATP kanalları
H	: Hidrojen
K	: Potasyum
Ca	: Kalsiyum
Na	: Sodyum
HCO	: Bikarbonat
NaCl	: Sodyum klorür
KCl	: Potasyum klorür
KH_2PO_4	: Potasyum dihidrojen fosfat
MgSO_4	: Magnezyum sülfat
NaHCO_3	: Sodyum bikarbonat
CaCl_2	: Kalsiyum klorür
MAPK	: Mitojen ile aktive olan protein kinaz
ADO	: Adenozin
cGMP	: Siklik guanozin mono fosfat
eNOS	: Endotelial nitrik oksit sentaz
ATP_{az}	: Adenozin trifosfataz
MLCP	: Miyozin hafif zincir fosfataz
MLCK	: Miyozin hafif zincir kinaz

1.GİRİŞ

Günümüzde en önemli sağlık risklerinin başında gelen iskemik kalp hastalıkları neredeyse ölüm oranlarının %50'sinden fazlasını oluşturmaktadır. Bu bağlamda kardiyoprotektif tedavi yaklaşımları üzerinde yapılan çalışmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir¹. İlaç (trombolitik, antienflamatuar vb.)², cerrahi yöntemler (perkutan transluminal koroner anjiyoplasti, koroner arter by-pass greftleme gibi)³ preinfarkt anjina⁴, önkoşullama, ardkoşullama^{5,6} gibi yöntemlerle hastalığın önlenmesi veya tedavisi sağlanılmaya çalışılmaktadır.

Son yirmi yıldır, miyokardiyal önkoşullama ve ardkoşullamaya büyük önem verilerek yoğun laboratuvar ve klinik araştırmaların konusu haline gelmiştir⁷. İskemik önkoşullama, tek ya da ayrı tekrarlayan kısa süreli iskemi-reperfüzyon dönemleri, daha sonra gerçekleşecek ve hasara neden olacak uzun süreli iskemik dönemlere karşı koruyucu bir oluşumdur⁸. Ardkoşullama ise iskemik periyodun sonunda kalp koruyucu farmakolojik ajanlarla ya da miyokardiyal iskemi ve reperfüzyonun birbirini izleyen kısa periyotlarının uygulanmasıyla uyarılan infarkt alan boyutunda azalma olarak tanımlanır⁷.

Önkoşullama ve ardkoşullamanın koruyucu etkisi adenozin (A_1 ve A_3 reseptörleri ile), anjiyotensin II, endotelin (ET_1 reseptörleri), reaktif oksijen türevleri, noradrenalin, asetilkolin, bradikinin (B_2 reseptörleri ile), opioidler (delta reseptörleri) ve platelet aktive eden faktörler gibi otokoidler tarafından tetiklenir. Her biri kendi reseptörlerini aktive eder. NO aracılı sinyal yolu ile protein kinaz C'yi aktif eder ve mK_{ATP} kanallarının açılmasına neden olur, gevşeme meydana gelir⁹. Böylece önkoşullama ve

ardkoşullama, iskemi-reperfüzyonun yol açtığı ventriküler fibrilasyona karşı koruyucu etki göstererek hücrelerin hayatta kalmasını sağlar¹⁰.

Reperfüzyon esnasında miyokardiyal dokularda reaktif oksijen türleri; proteinler, membran lipidleri ve nükleik asitlerin oksidasyonuna neden olur, membran iyon kanallarının K^+ , Ca^{+2} ve Na^+ 'ya geçirgenliğini değiştirir. Oksidatif strese maruz kalan dokuda Na^+/K^+ATP_{az} , $Ca^{+2}ATP_{az}$ gibi iyon pompalarının aktivitesi azalmıştır¹¹. İskemi-reperfüzyonda hücre içine Ca^{+2} girişi artıp, çıkışı azaldığı için hücre içi Ca^{+2} homeostazı bozulur. Fizyolojik koşullarda hücre içindeki fazla Ca^{+2} dışarı atılarak ya da hücre içinde depolanarak tolere edilir. İskemi sırasında da hücrede enerji tükenmekte Ca^{+2} hücrede birikmekte, dışarı sürekli K^+ akışı meydana gelmekte ve toksik etki göstermektedir. Enerji eksikliği nedeni ile pompalar ve depolama mekanizmaları iflas eder¹². İskemik önkoşullama ATP bağımlı potasyum ve sodyum kanallarının eksitabilitesinde değişimlere neden olarak, hücre içine aşırı Ca^{+2} girişini azaltarak anormal oluşumları önler¹³. Wu ve ark. önkoşullamada kalsiyum bağımlı K kanallarının da etkin olduğunu, hiperpolarizasyona neden olarak koruma sağladıklarını göstermiştir¹⁴.

Resveratrol (3,4,5-trihidroksistilben) üzüm tanelerinde bol miktarda bulunan polifenol yapısında doğal bir antioksidan maddedir. Yapılan çalışmalar güney Fransa'da yağlı diyet ve sigara kullanımının fazla olmasına rağmen bol tüketilen şarap nedeniyle kalp hastalıklarının görülme sıklığının diğer ülkelere göre düşük olduğunu göstermiştir. Bu durum Fransız Paradoksu olarak adlandırılır¹⁵. Resveratrol düşük toksisitesi ve çoklu koruyucu etkisi ile klinikte kullanımı çok uygun bir ajandır. You-Ren Chen ve ark.'ı uzun süreli resveratrol uygulamasının incelendiği çalışmada miyokard infarktüsünün neden olduğu aritmiyi,

kardiyak hipertrofiyi ve yaşam süresini iyileştirdiğini göstermişler. Resveratrol bu etkiyi kardiyak miyositler üzerine kalsiyum kanallarını bloke ederek ve K_{ATP} kanallarını açarak göstermektedir^{16,17}.

Resveratrol hücre içi kalsiyumun aşırı yükselmesini azaltarak aritmiyi önlemektedir. Koroner vazodilatasyonu sağlayıp ya da K_{ATP} kanal açıcı olarak etki gösterdiği ileri sürülmüştür. Wu ve ark.'ı resveratrolün büyük- Ca^{+2} kanal ile aktive edilen K^{+} kanallarının (BK) direkt aktivasyonu ile vasküler endotel hücrelerde hiperpolarizasyon yaptığını göstermişler¹⁴. İnsan internal meme arteri ile yapılan çalışmada resveratrol'ün düz kasta lokalize olmuş voltaj-bağımlı K kanallarının aktivasyonu üzerinden gevşeme oluşturduğu bulunmuştur¹⁸. Ancak BK_{Ca} kanallarının resveratrolün iskemi-reperfüzyon hasarı üzerinde oluşturduğu koruyucu etkisinde rol oynayıp oynamadığı henüz bilinmemektedir. Biz de bu çalışmamızda resveratrol'ün miyokardiyal iskemi-reperfüzyonda oluşturduğu koruyucu etkide iyon kanallarının etkisini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Miyokard Fizyolojisi

Kalbin temel görevi kanın vücutta sirkülasyonunu sağlamaktır. Kalp iki pompadan oluşur; kanı organlardan alıp akciğerlere pompalayan sağ kalp ve oksijenlenmiş kanı akciğerlerden alıp yeniden organlara pompalayan sol kalp. Her pompa bir giriş (atrium) ve bir çıkış (ventrikül) boşluğundan oluşur. Atriumlar ventriküllerin kanla dolmasını sağlayan bir ön pompa görevi yaparlar. Ventriküller, kanın damarlarda dolaşmasını sağlayacak biçimde yüksek bir basınçla kasılır ve kanı fırlatır. Kalp, kendi ritmik kasılmasını sağlayacak ve aksiyon potansiyellerinin kalp kası boyunca yayılmasını sağlayacak özel bir ileti sistemine sahiptir. Kalpteki tek yönlü akım uygun yerleştirilmiş kapakçıklarla sağlanır. Bunlar, atriyoventriküler ve semilunar kapaklardır¹⁹.

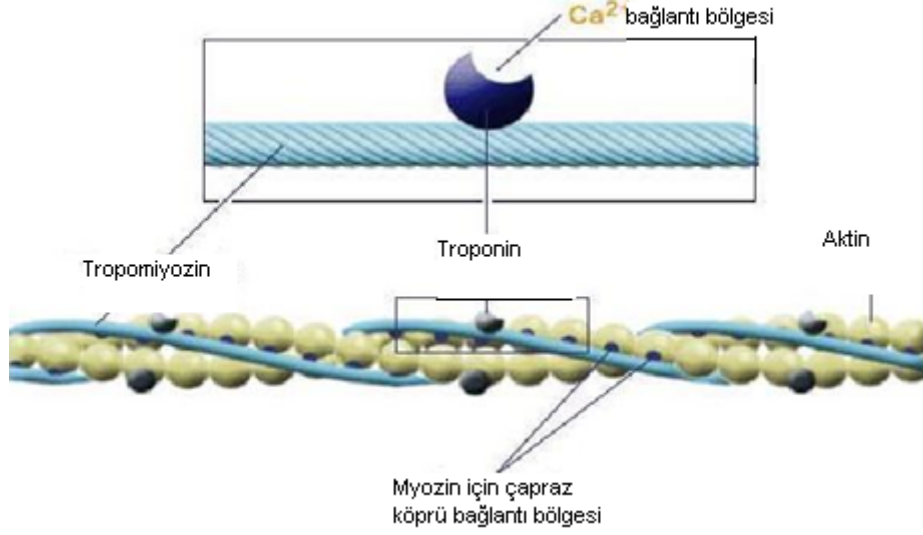
Kalbin apeksinde lifler papiler kasları oluşturmak için kıvrılır ve içeri doğru dönerler. Bu miyokardiyal lifler, hem kanın ejeksiyonunu gerçekleştirmek için ventrikül çevresini daraltır hem de AV kapak ağzının da kapanması için daralmasına yardımcı olan kalın, güçlü bir kas kitlesidir. Ventriküllerin apikal kısımlarının erken kasılması, ventrikül duvarının birbirine yaklaşmasıyla birlikte, ventrikülden dışarı akım yoluna doğru kanı iter. Sağ ventrikül sol ventriküle göre önemli derecede incedir. Miyokardiyum ayrı hücre zarı sınırlarıyla bireysel hücrelerden meydana gelmiş olmasına rağmen, ventrikülleri oluşturan kalp kası hücreleri atriyum kas hücrelerinde de olduğu gibi ventrikülleri hemen hemen tek bir bütün olarak kastırır²⁰.

Miyokardiyum, eksitasyona verdiği ya hep ya hiç yanıtıyla bir sinsityum halinde fonksiyon görür. Komşu hücrelerin sitozolünü birbirine bağlayan kavşaklar yoluyla hücreden-hücreye iletim olur²⁰.

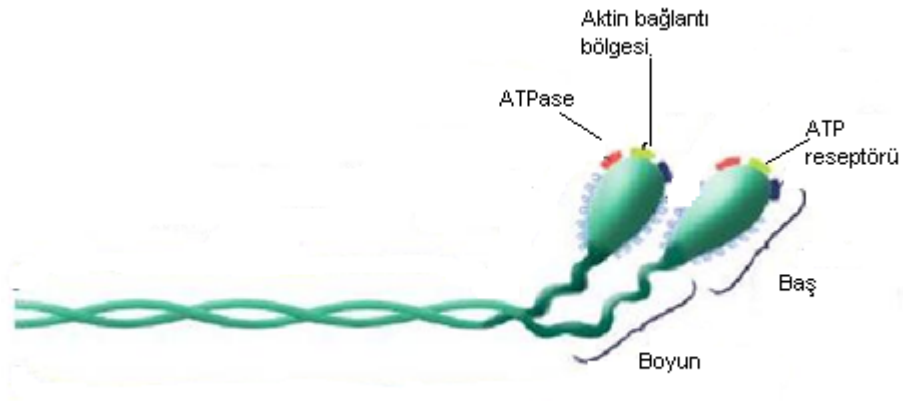
Sinir sistemi, kalp davranışlarının çeşitli yönlerini (kalp hızı ve her kontraksiyonun gücü gibi) kontrol eder. Kalp otomatisite (kendi atımını başlatma yeteneği) ve ritmisite (pacemaker etkinliğinin düzenliliği) özellikleri ile vücuttan tamamen uzaklaştırıldığında bile atım yapabilir. Kalp impusları atriumlardan ventriküllere iletilir²⁰.

Kalp kası iskelet kası gibi çizgilidir. Kalp kasının tipik miyofibrilleri, iskelet kasındaki gibi aktin ve miyozin filamentleri içerir. Bunlar yan yana dizilmiştir ve kasılma sırasında birbirleri üzerinden kayarlar²¹. Kalpte bulunan her miyofibril sarkoplazmik retikulum ile çevrilmiştir. Hücrede bir aksiyon potansiyeli oluştuğunda, T tübülleri vasıtasıyla sarkoplazmik retikulum'dan miyoplazma içine Ca^{+2} salgılanır. Böylece hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu artar ve bu da aktin-miyozin ilişkisini ve kontraksiyonunu başlatır²⁰.

(A)



(B)



Şekil 1: (A) Miyozin moleküler yapısı (B) Aktin moleküler yapısı²¹.

Miyozin büyük bir proteindir (~ 480 kDa). Bir çift büyük ağır zincir ve iki çift hafif zincir olmak üzere altı farklı polipeptidden oluşmaktadır. Miyozinin kalın filament bölgesinde ilave proteinler bulunmaktadır (Örneğin: miyozin ve C-proteini). Aktin iplikçikleri tropomiyozin, troponin ve aktin'den oluşur. Tropomiyozin dimerleri ise üç alt üniteden oluşur. Bunlar; Troponin-T, Troponin-I ve Troponin-C'dir. Tropomiyozin aktin filamentine miyozin bağlanmasının inhibisyon gücünü etkiler. Troponin-T tropomiyozine bağlanır, troponin-I tropomiyozin tarafından aktine miyozin bağlanmasının inhibisyonunu kolaylaştırır ve troponin-C'yi Ca^{+2} bağlar. Troponin-C'ye Ca^{+2} bağlanması aktin filamenti üzerinde tropomiyozinin hareketini sağlar, miyozin bağlanma bölgesini açar ve miyozin ile aktin filamentlerinin ilişkilerini ve sarkomer kontraksiyonunu sağlar²⁰.

Kalp miyositlerinin kaydedilebilen transmembran aksiyon potansiyeli beş faz içerir²⁰:

Faz 0:Eşik üstü uyaran hızı Na^{+} kanallarını aktive ederek membranı hızla depolarize ederek başlar.

Faz 1:Dışa doğru akımı ileten transmembran kanallardan hücre dışına K^{+} çıkışı ile sağlanan erken kısmi bir repolarizasyondur.

Faz 2:Transmembran Ca^{+} kanallarından hücre içine Ca^{+2} girişi ve birkaç tip kanaldan hücre dışına K^{+} çıkışı dengedir.

Faz 3:Final repolarizasyon hücre dışına K^{+} çıkışı, hücre içine Ca^{+2} girişini aştığında başlar.

Faz 4:Tamamen repolarize olan hücrenin dinlenme potansiyelidir.

Eksitasyonda voltaj kapılı kalsiyum kanalları hücre Ca^{+2} 'nin hücre içine alınması için açılırlar. Ca^{+2} 'nin içe akışı sarkoplazmik retikülünden Ca^{+2} salınımını tetikler. Yükselmiş hücre içi Ca^{+2}

miyoflamentlerin kontraksiyonuna yol açar. Gevşeme, Ca^{+2} 'nin sarkoplazmik retikuluma geri pompalanması ve hücre dışı Na^{+} ile sarkolemma boyunca karşılıklı değişimi sonucu dinlenim sitozolik Ca^{+2} seviyelerine yeniden gelinmesi ile gerçekleşir²⁰.

Araştırmacılar vasküler endotelin çok sayıda işlevi olabileceği ihtimalini varsayarak, bazı kimyasal maddelerin sentezlenip yıkıldığı, hatta bu maddelerin fazlalık veya eksikliğinde önemli patolojik durumların oluşabileceğini düşünmüştür^{22,23,24}. Endotel hücreleri bir bariyer görevi görmektedir. Hücrede bulunan iyon kanalları iyon seçici moleküler gözeneklerdir²⁵. Bu gözenekler aslında bir iyondan daha geniştir, ancak bir bölümü daralarak iyon seçici bir filtre olarak davranmaktadır²⁶.

Tüm hücrelerin işlevleri hücresel iyon değişimleri ile tetiklenmektedir ve iyon değişimlerinde iyon kanalları büyük etkiye sahiptir. İyon kanalları açık ve kapalı olarak iki farklı durumda bulunurlar. Kapının açılıp kapanması için gerekli değişiklikler elektriksel kuvvetlerle veya nörotransmitter moleküllerin bağlanması ile kaynaklanan kimyasal güçlerdir. Buna göre kanallar voltaj bağımlı veya ligand bağımlı olarak adlandırılırlar. Günümüzde biyofizik, farmakoloji gibi alanlardaki gelişmelerle çok sayıdaki iyon kanalı ve hatta bunların alt tiplerinin olduğu ortaya konmuştur²⁷.

Uyarılabilir hücrelerdeki en önemli iyon kanalları Na^{+} , K^{+} , Cl^{-} ve Ca^{+2} kanallarıdır²⁸.

Hücre işlevlerinde en önemli tetikleyici temel iyon sekonder haberci olarak bilinen Ca^{+2} iyonudur. Endotel kaynaklı maddelerin sentezi veya salınımında Ca^{+2} iyonunun gerekliliği geliştirilen patch-clamp yöntemleri ile gösterilmiştir²⁴. Hücrenin işlevini etkileyen hücre içi serbest Ca^{+2} iyon artışı iki yolla oluşmaktadır. Bunlar hücre içi kalsiyum depolarından kalsiyumun salınması ve hücre dışından hücre içine kalsiyum girişidir²⁹. Hücre içi depolara Ca^{+2} 'un alınması yani sitozolden Ca^{+2} 'nin uzaklaştırılması; endoplazmik retikulum (ER) membranındaki Ca^{+2} -ATP_{az} enzim aktivitesinin artmasıyla ER'ye Ca^{+2} alımının artması, hücre membranındaki Ca^{+2} -ATP_{az} yardımıyla hücre dışına Ca^{+2} atılması ve diğer ikisine oranla daha az olmak üzere Na^{+} - Ca^{+2} değiş-tokuş yardımıyla olmaktadır^{21,29}.

Voltaj kapılı kalsiyum kanalları; hücre içine Ca^{+2} girişinin temel düzenleyicisidir. Hücreye kalsiyum girişi nörotransmitter salınımı, gen ekspirasyonu, nöronal uyarılabilirlik gibi birçok Ca^{+2} bağımlı fonksiyonu kontrol etmektedir³⁰.

Dinlenim durumunda endotel hücresinin membran potansiyeli hücre içi mikroelektrod kayıt tekniği ve tüm hücre “yama” kısıncı teknikleri (whole-cell patch clamp) kullanılarak ölçölmüştür. Her türün farklı istirahat membran potansiyeli bulunmaktadır ve dinlenim zar potansiyeli büyük ölçüde potasyum iyonu tarafından düzenlenmektedir²⁴.

Voltajla veya kayma gerilimi ile aktive olan içeriye doğru daha geçirgen düzeltici potasyum kanalları, kalsiyumla aktive edilen potasyum kanalları agonistler ile (ACh, bradikinin ve arjinin-vasopressin gibi) uyarılan potasyum kanalları, ATP'ye duyarlı potasyum kanalları (K_{ATP})

ve geçici dışarıya doğru geçirgen potasyum kanalları olmak üzere potasyum kanalları sıralanabilir²¹.

Kalsiyumla aktive edilen potasyum kanalları; Bu kanalların aktivasyonu hücre içi kalsiyum iyon konsantrasyonu ile ilişkilidir. Kafein, heparin gibi maddeler hücre içi depolardan Ca^{+2} salınımını ve geri alınımını etkileyen maddelerdir. Endotel hücrelerinde bu K^{+} kanallarının aktivasyonu ile hücre içi Ca^{+2} iyon konsantrasyonu yükselerek endotel kaynaklı faktörlerin sentezi ve salınımı ile hücre membran potansiyeli değişir^{22,31}. Endotel kaynaklı gevşetici faktörün (NO gibi) etkisinin bu kanallar üzerinden olduğu ileri sürülmüştür³².

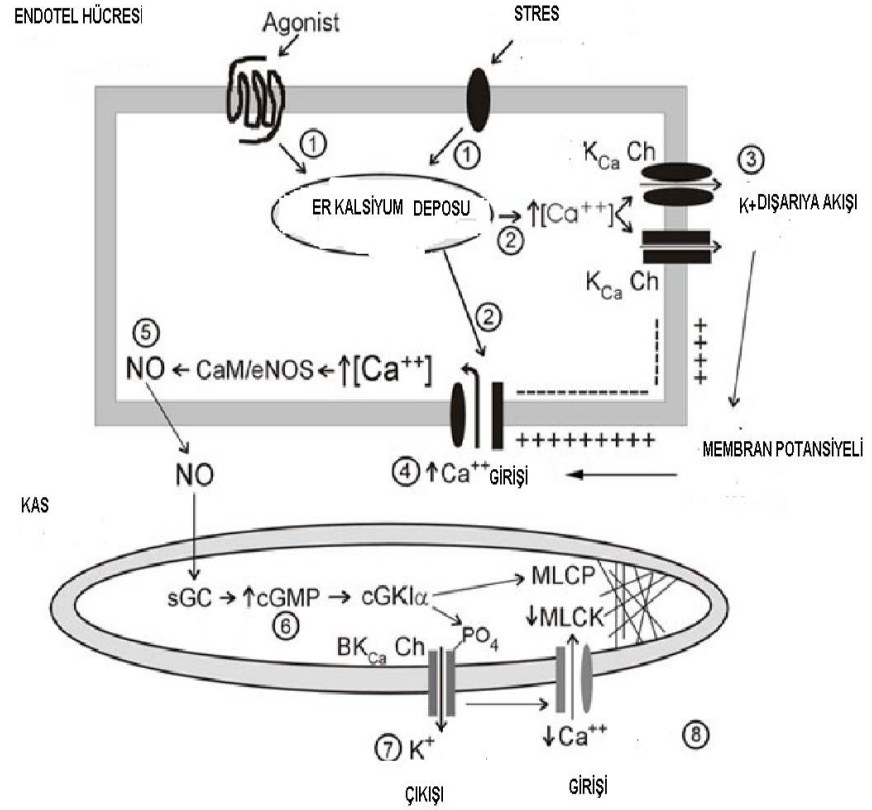
ATP'ye duyarlı potasyum kanalları; glibenklamid gibi sulfonilüre içeren bileşiklerce bloke edilmekte, kromakalim gibi K^{+} kanal açıcıları tarafından aktive edilmektedir. K_{ATP} kanallarının aktivasyonu sonucu bir hiperpolarizasyon oluşur. Hipoksiye maruz kalan endotel hücrelerinin membran potansiyeli, K_{ATP} kanal akımlarının değişmesiyle etkilenir³³.

Ayrıca geçici potasyum kanalları, içeriye doğrultucu potasyum kanalları gibi pek çok iyon kanalı bulunmaktadır³⁴.

Voltaj kapılı sodyum kanalları; aksiyon potansiyelinin depolarizasyon safhasından sorumludur. Yapılan çalışmalarda farmakolojik olarak hızlı, tetradoksine duyarlı ve yavaş tetradoksine dirençli sodyum kanalları olarak gösterilmişlerdir³⁵.

Klor kanallarının varlığı ilk olarak pulmoner arter endotelinde gösterilmiştir. Canlı organizmada bol miktarda bulunan Cl^- iyonları membran her iki tarafında da dengededir. Çok farklı tipleri olan klor kanalları saptanmıştır. Bu kanalların en önemli işlevi membranı stabilize etmektir^{36,37}.

Mebran akımlarının spesifik farmakolojik ajanlarla aktive edilmesi yada bloke edilmesi bu kanallar aracılığı ile etki gösteren etken maddelerin etki mekanizmalarının tespiti ile pek çok hastalığın önlenmesi ve tedavisinde yol gösterici niteliktedir³⁸.



Şekil 2: Kalsiyum bağımlı K^+ kanallarının Nitrik oksit (NO)/cGMP sinyal ileti kasgatındaki rolü. Çeşitli uyarılar ile intraselüler Ca^{+2} depoları gevşer 1) sitozolde Ca^{+2} miktarı artışı öncülük eder 2) Ca^{+2} 'nin içeri girişi tetiklenir. Sitozoldeki Ca^{+2} yükselişi Ca-bağımlı K^+ kanallarını aktive eder 3) membranın hiperpolarize olması Ca^{+2} 'nin içeriye hareketini sağlar 4) sonuç olarak Ca^{+2} membranda nitrik oksit sentazı uyarak nitrik oksit üretilmesini sağlar (eNOS) 5) NO artışı kas hücresinde cGMP sentezini başlatır 6) cGMP artışı ile cGMP-bağımlı protein kinaz aktive olur (cGMPa). Bunun sonucunda kas hücresi hiperpolarize olur, potasyum hücre dışına çıkar 7)kalsiyumun kas hücresine girişi ile miyozin hafif zincir kinaz miktarı azalır 8) kas hücresinde gevşeme olur³⁹.

2.2. Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon

Dünya genelindeki ölüm nedenlerinin başında koroner arter hastalıkları gelmektedir⁴⁰. Koroner arter hastalıklarının patofizyolojik olarak ana göstergelerinden biri akut miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarıdır⁴¹.

İskemi; vücudun bir bölgesine gelen kan miktarının azalması ya da kesilmesi olarak bilinmektedir. Bu olay sonucunda o bölge hayati besleyici maddelerden özellikle oksijenden yoksun kaldığı gibi zararlı metabolizma maddelerini de uzaklaştırılmaz. Bunun sonucunda zedelenme meydana gelir⁴². İskemi sonrası kan akımının yeniden sağlanması ise reperfüzyon olarak adlandırılmaktadır. İskemik dokunun canlılığını koruyabilmesi için reperfüzyon çok önemlidir. Ayrıca reperfüzyon diğer yandan da bazı morfolojik değişikliklere, enzim yıkılımının artmasına, ventriküler fibrilasyon gibi ventriküler aritmiye ve hatta canlı hücrelerin ölümüne de yol açabilmektedir⁴³.

Miyokardiyal reperfüzyon hasarı, iskemiye takip eden reperfüzyon döneminde henüz sağlam olan miyositlerin reperfüzyonla tetiklenen olaylar sonucunda hasar görmesi olarak ifade edilmektedir⁴⁴. Bu hasar, reperfüze iskemik köpek miyokardlarının özelliklerinin belirlenmesi ile ilk defa Jennings ve ark. tarafından 1960 yılında gösterilmiştir⁴⁵. İskemi ve reperfüzyon sonucu oluşan kardiyak stunning'den nekroza kadar giden hasarı incelemek için değişik deneysel yöntemler kullanılmaktadır. Deneysel olarak çalışılan konular; miyokardiyal stunning (miyokard sersemlemesi), hibernation (kronik kontraktıl disfonksiyon), preconditioning (önkoşullama) ve reperfüzyon aritmileridir^{46,47}.

Miyokard dokusunda iskemi ile kan akımının aniden kesilmesi birçok duruma aracılık eder. İskemi ile miyositlerde oksijen kaybı anaerobik glikolize neden olur ve sitozol pH'sı düşer⁴⁸. Bu intraselüler ortamda sodyum, hidrojen ve kalsiyum iyon birikimini başlatır⁴⁹. $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ değiştirici ve $\text{Na}^+ - \text{HCO}_3^-$ taşıyıcısının bulunduğu sodyuma bağlı pH düzenleyici mekanizmalar harekete geçip intraselüler sodyumun birikmesine neden olmaktadır. Bu sodyum konsantrasyonundaki artış $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{+2}$ değişimi ile sarkoplazmik retiküler Ca^{+2} 'de artışa yol açar⁵⁰. Reperfüzyonun ilk dakikaları boyunca devam eden aşırı Ca^{+2} birikimi ve Ca^{+2} -ATPaz'ın yetersiz miktarda Ca^{+2} alımı ile sarkoplazmik retikulum depo kapasitesini aşar ve miyofibriler hiperkontraktibilite, adenosin trifosfat tükenmesi ve mitokondride hasar meydana gelir^{51,52}.

Miyokardiyal reperfüzyon hasarına çeşitli nedenleri vardır. Bunlar oksidatif stres, nitrik oksit, pH paradoksu, kalsiyum yüklenmesi, akut inflamatuvar cevap, terapötik hipotermi, renin-anjiyotensin-aldesteron sistemi, mitokondrial permeabilite transizyon poru (PTP)'dur⁴⁰.

- Oksidatif Stres

Reperfüzyon sağlandıktan sonra tekrar oksijenlenen dokuda reaktif oksijen türleri nedeniyle endotel hasarı meydana gelmekte ve bu iskemi-reperfüzyon hasarının en önemli nedeni olarak kabul edilmektedir⁵³. Reperfüzyonun başında serbest radikal üretimi belirgin derecede artar. Oksijenden üretilen en önemli reaktif türleri arasında peroksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, peroksinitrit anyonu yer alır. Bu radikaller membran hasarı, DNA yıkımı, lipit ve protein

peroksidasyonu sonrasında da apoptozis ve takiben hücre ölümüne neden olmaktadır^{54,55}.

Oksidatif stres aynı zamanda nötrofil birikiminin inhibisyonu, süperoksit radikallerinin inaktivasyonu ve koroner kan akımı gelişimi gibi reperfüzyonun kalp koruma etkilerini kaldırarak, nitrik oksitin (NO) ve hücre içi sinyal moleküllerinin vücutta kullanılabilirliğini azaltmaktadır⁹.

- Nitrik Oksit

Hem iskemi hem de reperfüzyonu takiben zarar gören endotelyumda NO sentezi belirgin derecede azalır. Nitrik oksit gibi inhibitör etkisi çok güçlü olan bir ajanın eksikliği nötrofillerin aktivasyonunun kolaylaşmasına ve doku hasarının artmasına yol açabilir. Reperfüzyondan önce NO ve NO donörlerinin uygulanması ile infarkt alanı ve iskemi-reperfüzyonun neden olduğu endotel fonksiyon kaybı gibi miyokardiyal hasar azaltılabilir⁵⁶.

Yüksek doz NO'nin kardiyak miyosit fonksiyonunu deprese etmesi, iskemi-reperfüzyonu takiben inflamatuvar süreçleri uyarması, mitokondriyal solunumu bozması, nekroza ve apoptozise neden olması gibi birçok zararlı etkisi vardır. Ancak düşük konsantrasyondaki NO kardiyak miyosit fonksiyonunu artırır, iskemi-reperfüzyonu takiben platelet agregasyonunu ve nötrofil-endotelyum etkileşmelerini azaltır⁵⁷.

- pH Paradoksu

İskemide düşen pH 'nın reperfüzyonda tekrar normal düzeye getirilmeye çalışılması ölümcül reperfüzyon hasarına katkı sağlar ve bu pH paradoksu olarak bilinir. Ortama laktik asit salınımında $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ değiştirici kanalı ve $\text{Na}^+ - \text{HCO}_3^-$ taşıyıcı rol oynar⁵⁰.

- Kalsiyum Yüklenmesi

Reperfüzyonun ilk dakikaları boyunca devam eden aşırı Ca^{+2} birikimi ve Ca^{+2} -ATPaz'ın yetersiz miktarda Ca^{+2} alımı ile sarkoplazmik retikulum depo kapasitesini aşar ve miyofibriller hiperkontraktibilite, adenosin trifosfat tükenmesi, mitokondri hasarı oluşarak kardiyomiyosit ölümünü meydana getirir^{51,52}.

- Akut İnflamatuvar Cevap

Reperfüzyonda oksijenden başka bazı faktörlerde doku hasarına yol açar. Hücre inflamasyonu da bunlardan biridir. Reperfüzyonun başında meydana gelen olaylar inflamatuvar cevabın en önemli komponentleri olan nötrofiller ve endotelyum arasındadır. İnfiltrate olan nötrofiller serbest oksijen radikalleri ve proteazları salgırlar. Hücre içindeki serbest radikal süpürücüler bu serbest radikallerin oluşturduğu hasarı azaltıcı özelliğe sahiptirler⁵⁸. Ancak bu ajanlar hücre içinde olduklarından hücre dışında meydana gelen hasarı önlemede yetersiz kalmaktadırlar. Bu nedenle serbest radikal süpürücü ve önleyici ajanların

dışardan verilmesi bir tedavi seçeneği olabilir. Yapılan son çalışmalar nötrofil aktivasyonu ve dokuya infiltrasyonun derecesi ile dokudaki nekroz ve apoptozis arasında ilişki olduğunu göstermiştir⁵⁹.

- Terapötik Hipotermi

mPTP (Mitochondrial permeability transition pore) iç mitokondriyal membranda bulunan seçici olmayan bir kanaldır. Kanalin açılması ATP tükenmesi ve hücre ölümüyle sonuçlanan oksidatif fosforilasyon ve mitokondriyal membran potansiyelini bozar. Miyokardiyal iskemi sırasında mPTP kalıntıları, ATP tükenmesi, fizyolojik pH'nın düzenlenmesi, oksidatif stres, mitokondriyal kalsiyumun aşırı yüklenmesine tepki olarak miyokardiyal reperfüzyondan sonra birkaç dakika içinde açılmak üzere kapanır⁶⁰. Bu yüzden mPTP kalp koruma için önemli yeni bir hedef ve ölümcül reperfüzyon hasarında kritik belirleyicidir.

- Renin-Anjiyotensin-Aldesteron Sistemi

Bu sistemin ürünü olan anjiyotensin II, miyositlerde hücre içi kalsiyum miktarında artışa neden olur ve diyastolik fonksiyonları bozarak koroner vazokonstrüksiyona yol açar. Bu etkisinden dolayı reperfüzyonda gelişen hasara katkıda bulunur⁶¹.

2.3. Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarına Karşı Koruyucu Yöntemler: İskemik ve Farmakolojik Koşullama

2.3.1. İskemik Ön ve Ard Koşullama

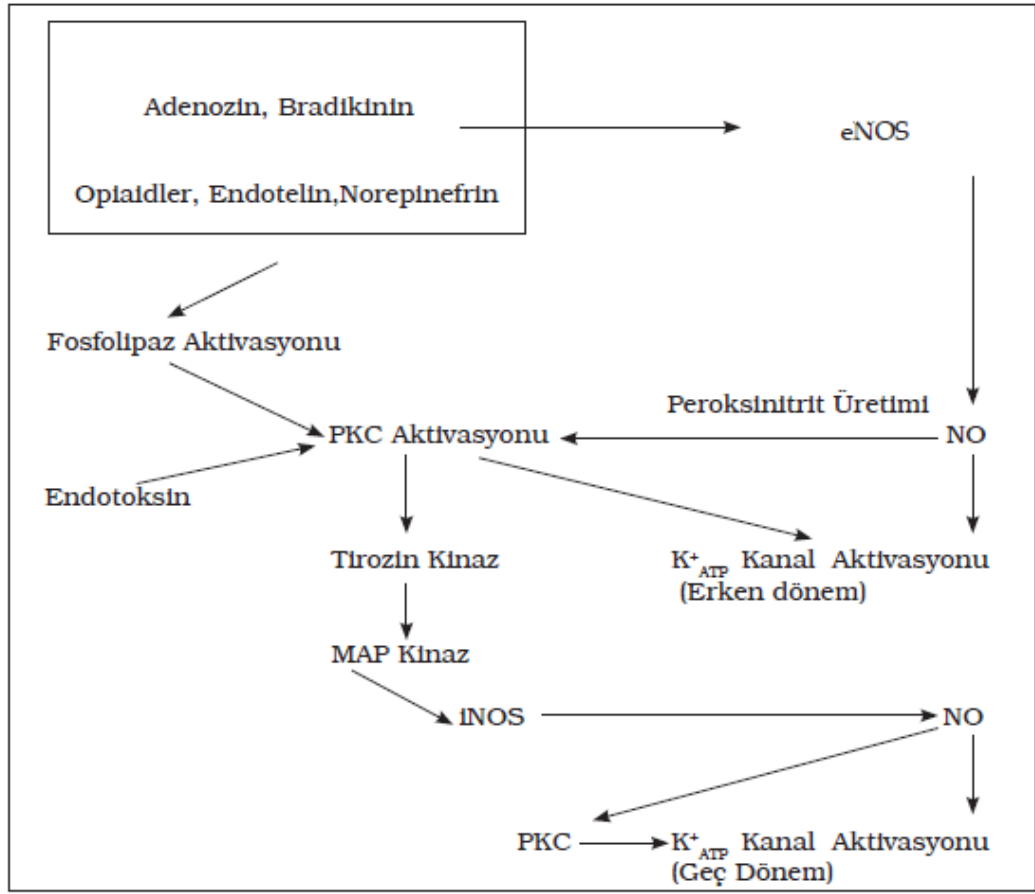
İskemik önkoşullama, tek ya da birden fazla tekrarlayan kısa süreli iskemi-reperfüzyon dönemlerinin, daha sonra gerçekleşecek ve hasara neden olacak uzun süreli iskemi-reperfüzyon dönemlerine karşı koruyucu bir yöntemdir⁸.

1986 yılında Murry ve ark. uzun süreli iskemi-reperfüzyon dönemlerinden önce kısa süreli iskemi-reperfüzyon periyodlarının uygulamasının infarkt alanının büyüklüğünü azalttığını göstermişlerdir⁶². Baxter ve ark., önkoşullamaya uğramış bir köpek kalbinde nekroz 20 dakikada gerçekleşirken, önkoşullama sonrası 40 dakikaya kadar nekroz gelişmediğini göstermişlerdir. Böylece ön koşullamanın nekrozu geciktirici etkisi görülmüştür. Ön koşullama nekrozun gelişmesi için gereken süreyi uzatarak reperfüzyon ile daha fazla miyokardın kurtulmasını sağlar⁶³. Aynı zamanda, yapılan çalışmalar ile önkoşullamanın ventriküler ve supventriküler aritmileri önleyici etkisi olduğu da gösterilmiştir⁶⁴.

Önkoşullama korumasında ana fikir, iskemik faz boyunca otakoidler salınır, reseptörlerini aktive eder ve NO aracılı sinyal yolu ile mK_{ATP} kanallarının açılmasına neden olur. Reperfüzyon fazındayken tekrar oksijenle karşılaşması mitokondri tarafından tekrar ROT'nin oluşmasına yol açar. Önkoşullama ön tedavi gerektiren bir uygulama olduğundan klinik uygulamaları sınırlıdır⁹.

Önkoşullama iskemisinin optimal süresinin türlere bağlı olduğu gösterilmiştir. Anesteziye köpekte⁶⁵ 5 dakikalık koroner oklüzyonun 1, 6 ve 12 siklusu karşılaştırılmış ve koruma açısından bir fark bulunmamıştır. Diğer taraftan in vivo sıçan⁶⁶ ve domuz⁶⁷ modellerinde, infarkt alanın önkoşullama stimulusuna göre değiştiği belirtilmiştir. Anesteziye tavşanlarda üç defa uygulanan 5 dk iskemi 10 dk reperfüzyonun, bir defa uygulamaya göre daha etkili olduğu gösterilmiştir⁶⁸.

Adenozin, bradikinin ve opioid reseptörlerinin aynı anda aktivasyonu ve kısa süreli iskemi-reperfüzyon boyunca oksijen radikallerinin ortama salınması iskemik ön koşullamayı tetikler⁶⁹.



Şekil 3: İskemik önkoşullama oluşum mekanizmaları. ADO, Bradikinin gibi moleküllerin tetiklemesiyle başlayan iskemik önkoşullamada, PKC aktivasyonu ve NO oluşumu kritik öneme sahiptir. eNOS: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz, PKC: Protein Kinaz C, K⁺ATP Kanalı: Adenozin Trifosfata Duyarlı Potasyum Kanalı, MAP Kinaz: Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinaz, iNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz⁷⁰.

İskemi gibi kalpte ATP düzeyini düşüren olaylarda kalpteki K_{ATP} kanalları aktive olur ve hücrenin dışından içine potasyum iyonunun akışı olur, repolarizasyon hızlanır, bu etki ile voltaj bağımlı kanallardan akışın azalması hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu azaltarak iskemik hasarı azaltır. Bu ATP'ye bağlı potasyum kanallarının kalbi korumadaki rolünü gösterir⁷¹. Bu konudaki diğer görüş ise K_{ATP} kanal aktivasyonunun

aslında bir uç efektör olmadığı, sonrasında aydınlatılamamış birçok mekanizmayı harekete geçirdiğidir⁷².

Önkoşullamada bradikinin, adenozin, e-NOS uyarılması ile NO saliverilmesi gerçekleşir. Bu da dönüştüğü peroksinitrit aracılığı ile doğrudan ya da protein kinaz (PKC) aktivasyonuna yol açarak K_{ATP} kanallarının açılmasına neden olur⁷³.

Tavşan kalbinde yapılan ön koşullama modelinde NO sentaz inhibitörü kullanılarak önkoşullamanın koruyuculuğunun azaldığı gözlenmiştir⁷⁴.

Turan N ve ark.'nın önkoşullama üzerine tavşan aorta-spinal kord modelinde resveratrol ile yaptıkları bir çalışmada, resveratrolün oksidatif stresi azaltıp, NO saliverilmesini artırdığını ve spinal kordu ön koşullama ile iskemi-reperfüzyon hasarından koruduğunu göstermişlerdir⁷⁵. Yine Turan ve ark.'ı yaptıkları bir başka çalışmada 3-nitropropiyonik asitin sıçan kalbinde infarkt alanını azaltarak iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisini göstermişlerdir⁷⁶.

Reperfüzyondan önceki dönemlerde kısa ve tekrarlayan iskemi-reperfüzyonun uygulanması ardkoşullama olarak adlandırılmakta ve reperfüzyon hasarının azalmasını sağlamaktadır⁷⁷.

Ardkoşullama, ilk kez Zhao ve ark. tarafından 2000 yılında, 45 dakikalık iskemiden sonra 3 defa 30'ar saniye reperfüzyon-iskemi

periyotları gerçekleştirerek köpek miyokard hasarının %47' den %11' e düştüğünü göstermişlerdir⁷⁸.

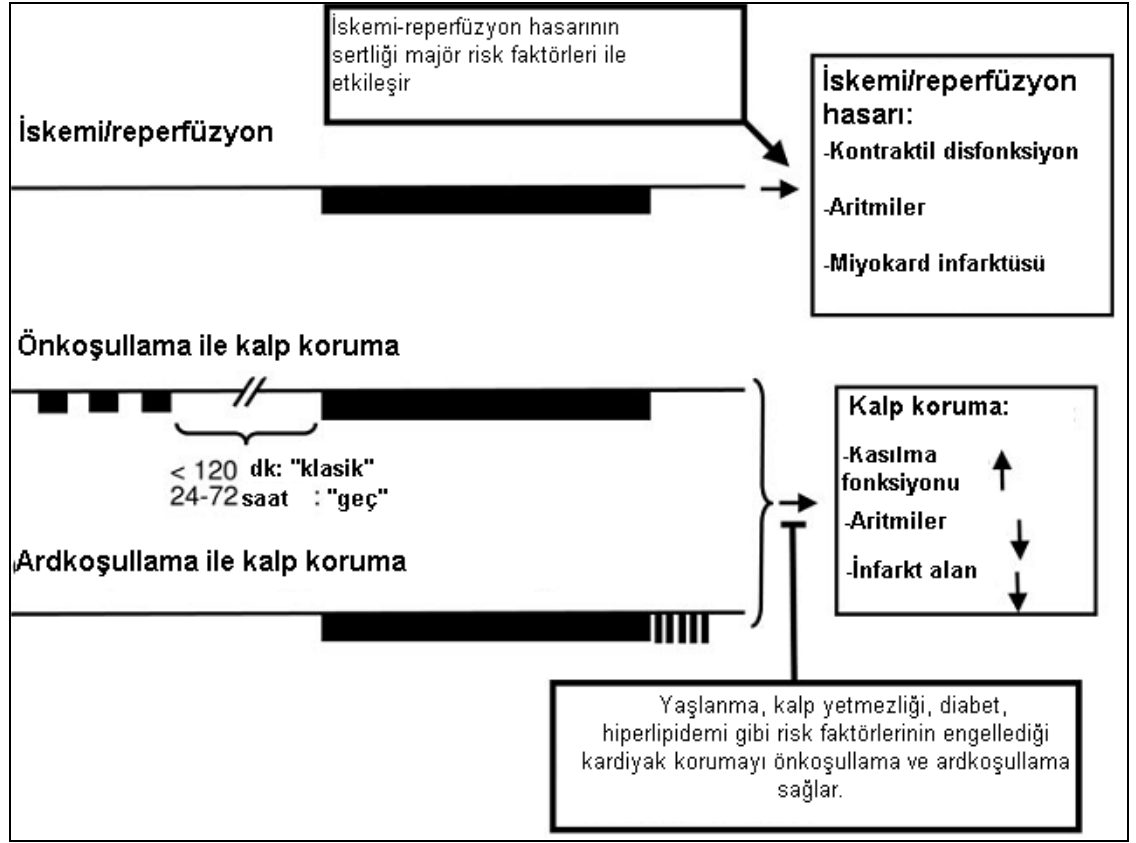
Ardkoşullamada miyokardın korunmasını; e-NOS, nitrik oksit, guanil siklaz, K_{ATP} kanalları, mPTP kapanması ve adenozin sağlamaktadır¹⁰.

Adenozin bütün hücrelerde doğrudan ya da ATP 'nin hidrolizi sonucu oluşan lokal bir hormondur. A_1 , A_2 , A_3 olmak üzere üç reseptörü bulunmaktadır²⁹. Yapılan çalışmalar Adenozinin reseptör alt tiplerinin farmakolojik olarak aktive edilmesi miyokardial reperfüzyonda koruma sağladığını göstermiştir^{79,80}.

Yang ve ark. tarafından tavşan kalbinde yapılan çalışmada nitrik oksit sentaz inhibitörü olan L-N-nitro-arjinin-metil ester uygulanması ard koşullamanın koruyucu etkisini azaltmıştır⁷⁴.

mPTP'ler iskemi boyunca kapalı olup, reperfüzyonun erken döneminde oluşan yapılardır. mPTP açılmasının inhibisyonu oksijen radikallerinin ve kalsiyumun hücrede düşüşünü sağlamakta olup bu da kalp koruyucu etkisini göstermektedir⁸¹.

Protein kinaz C (PKC) substrat proteinlerinin serin veya treonin kalıntısını fosforilleyen kinaz grubu üyesidir. PKC etkisini K_{ATP} kanalları üzerinden gösterdiği düşünülmekte olup bu konu henüz aydınlatılamamıştır⁸².



Şekil 4: İskemi reperfüzyon-hasarı içeriği, önkoşullama ve ardkoşullama ile kalp koruma¹.

2.3.2. Farmakolojik Koşullama

İskemik önkoşullama ve ardkoşullamaya benzer etki gösteren ajanlarla yapılan çalışmalar ümit verici olmaktadır.

Önkoşullamada yararlı etki görülen ajanlar arasında adenozin, adenozin agonistleri (AMP579,NECA gibi), opioidler (morfin gibi), protein kinaz C analogları, K_{ATP} kanal açıcıları (pinasidil, kromakalim, diazoksit, nikorandil, levosimendan gibi) ve nitrik oksit dönörleri sayılabilir. Bunların klinikte kullanımı sınırlıdır. Çünkü hemen hemen hepsi klinikte ciddi yan etkiler oluşturmaktadır. Örneğin K_{ATP} kanal açıcı olarak kullanılan diazoksit hayvan çalışmalarında iskemik önkoşullamaya benzer yararlı etkiler oluşturmaya rağmen insanda ciddi hipotansiyona neden olmaktadır. Klinikte nicorandil ve adenozin önkoşullayıcı amacı dışında kullanılmaktadır. Bu yüzden iskemik önkoşullamada rolü tam olarak bilinmemektedir. İskemik önkoşullayıcı ajanlar klinikte; koroner arter bypass cerrahisinde, kararsız anjina pectoriste, kalp transplantasyonunda ve antiaritmik ilaçlarla kontrol altına alınamamış stabil anjinalı hastalarda kullanılabilir^{83,84}.

Ardkoşullamada çeşitli ajanlar verilerek yapılan reperfüzyon farmakoterapisi hakkında birçok yayın bulunmaktadır. Bu amaçla kullanılan ajanlar arasında önkoşullamada da kullanılan adenozin analogları, nitrik oksit dönörleri, opioidler, farklı olarak insülin, statinler sayılabilir. İnhalasyon anesteziklerinden sevofluranın ardkoşullayıcı etkisi olduğu görülmüştür⁸⁵. Bu ajanlarla temel amaç reperfüzyon farmakoterapisi ile ardkoşullamayı taklit etmektir. Bunlardan hiç birinin klinik kullanımı yoktur⁸⁶.

2.4. Resveratrol

Resveratrol (3,4,5-trihidroksistilben) üzüm tanelerinde bol miktarda bulunan polifenol yapısında doğal bir antioksidan maddedir.

Yapılan alışmalar Güney Fransa' da yağlı diyet ve sigara kullanımının fazla olmasına rağmen bol tüketilen şarap nedeniyle kalp hastalıklarının görülme sıklığının diğer ülkelere göre düşük olmasına yol açmıştır. Bu durum Fransız Paradoksu olarak adlandırılır¹⁵.

Resveratrolün doğal antioksidan rolü üç farklı antioksidan mekanizma ile açıklanmaktadır. Bunlardan biri; koenzim Q ile yarışmak ve ROS oluşum yerinde oksidatif zincir kompleksini azaltmaktadır. Diğeri, mitokondride oluşan superoksit radikalini yakalamak, sonuncusu ise fenton reaksiyonu ürünleri tarafından indüklenen lipid peroksidasyonunun inhibisyonudur⁸⁷.

Resveratrolün sıçan kalbinde yapılan çalışmaları iskemi-reperfüzyon hasarına karşı kalbi koruduğunu gstermiřtir⁸⁸.

Resveratrolün damar genişletici etkisi; damar duvarındaki cGMP miktarını artırır. NO-cGMP yolu damar gevşemesine aracılık eder ve NOS etkinliğini artırır. Resveratrol sıçan aortunda noradrenalin ve fenilefrinin oluşturduğu kasılmaları önemli derecede inhibe eder⁸⁹. Akar ve ark.'ı resveratrolün (70uM) noradrenalin ile kantrakte edilmiş safen ven ve internal meme arterinde yaklaşık %35 gevşemeye sebep olduğunu ve endotel tabakası uzaklaştırılmış yada L-NOARG (NOS inhibitörü) nceden verilen insan meme arterinde ve saphen vende resveretroln oluşturduğu gevşemenin ortadan kalktığını gstermiřlerdir⁹⁰. Resveratrolün bu endotel bağımlı gevşetici etkisi dokuda süperoksit oluşumunun ana kaynaklarından biri olan vasküler NAD(P)H oksidaz üzerindeki inhibitör etkisine baęlanmıřtır⁹¹. Akar ve ark. yaptığı çalışmada nitrat toleransı oluşturulmuş insan meme arteri dokusunda 1-10 uM resveratrol bazal

veya NAD(P)H ile sitümüle olan süperoksit oluşumunu neredeyse ortadan kaldırdığını göstermişlerdir⁹².

Anti-enflamatuar etkisi; yapılan çalışmalar ile NO blokeri nitro-L-arjinin metil esterinin (L-NAME), resveratrolün yararlı etkilerini tamamen ortadan kaldırdığı gözlemlenmiştir. Bu sonuç resveratrolün antienflamatuar etkisinin NO' ya bağlı mekanizmalarla gerçekleştiğini gösterir⁹³. Budak B ve ark.'nın tavşan aortasına klemp konularak spinal kordda iskemi oluşturdıkları çalışmada resveratrolün tek başına kullanıldığı (iskemi veya reperfüzyonda) gruplarda iskemi reperfüzyon hasarında etkili olduğu bulunmuş fakat en etkili sonuç resveratrolün iskemide ve L-NAME'in reperfüzyonda kombine kullanıldığı gruptan elde edilmiştir⁹⁴.

Resveratrol miyokardiyumdaki katalaz etkinliğini artırma yeteneğine sahiptir, in vivo antioksidan olarak fonksiyon görür ve kalpteki peroksil radikalini yakalayabilmektedir⁹⁵. Yapılan çalışmalar ile resveratrolün sadece kalp üzerinde değil böbrek ve beyin üzerinde de koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir⁹³.

Resveratrol kalbi korumada antiapoptotik sinyali indüklemektedir. Domuz koroner arterinde resveratrol ile kısa süreli muamelede MAPK etkinliğini inhibe etmekte, ERK ½ , Jun N-terminal kinaz ve p38MAPK' in fosforilasyonunu azaltmaktadır⁹⁶.

You-Ren Chen'nin uzun süreli resveratrol uygulamasının incelendiği çalışmada miyokard infarktüsünün neden olduğu aritmiyi,

kardiyak hipertrofiyi ve yaşam süresini iyileştirdiğini göstermişler, bu etkisinin kardiyak miyositler üzerine kalsiyum kanallarını bloke ederek ve K_{ATP} kanal açıcı olarak etki göstererek gerçekleştirdiğini göstermişlerdir^{16,17}. İnsan internal meme arteri ile yapılan çalışmalarda resveratrol düz kaslarda lokalize olmuş voltaj-kapılı K kanallarının aktivasyonu üzerinden gevşeme oluşturduğu bulunmuştur¹⁸.

Resveratrol hücre içi Ca^{+2} 'nin aşırı yükselmesini azaltarak aritmiyi önlemekte ve koroner vazodilatasyonu sağlayıp ya da K_{ATP} kanal açıcı olarak farmakolojik önkoşullama da etki gösterdiği ileri sürülmüştür. Wu ve ark.'larının yaptığı çalışmada resveratrolün büyük- Ca^{+2} 'la aktive edilen K^{+} kanallarının(BK_{Ca}) direkt aktivasyonu ile vasküler endotel hücrelerde hiperpolarizasyon yaptığını göstermiştir^{14,97}. Calderone ve ark.'nın sıçan torasik aortunda resveratrol'ün vazodilatör etki mekanizmalarının incelendiği çalışmada, Ca^{+2} -bağımlı K^{+} kanal aktivatörü olduğu bilinen NS1619 kullanılmış ve resveratrolün bu madde ile benzer etki gösterip Ca^{+2} -bağımlı K^{+} kanallarını aktive ederek NO salıverilmesine neden olduğu gösterilmiştir⁹⁸. Resveratrol BK_{Ca} -kanal aktivatörüdür. BK_{Ca} membran potansiyeli üzerine etkilidir, membran hiperpolarizasyonuna neden olur, kalsiyum hücre içine girer⁹⁷.

2.5. Paksilin

Paksilin bir indol alkaloididir ve *Penicillium paxilli*'den izole edilmiştir⁹⁹. Kalsiyum bağımlı potasyum kanallarını bloke eder¹⁰⁰. K_{Ca} kanalları düz kasda ve nöronlarda yaygın olarak bulunmaktadır. Arterial tonüsü modüle etmek için aksiyon potansiyelinin repolarizasyon dönemini ve nörotransmitter salınımını düzenler. İleti seviyelerine göre küçük, orta,

büyük olmak üzere üç sınıfa ayrılırlar. α ve β alt üniteleri bulunmaktadır. α alt ünitesi depolarizasyon ve Ca bağlanmasına cevap olarak BK_{Ca} kanallarının açılmasını sağlar. Bu da K⁺ iyonunun hücre içine girişine ve hiperpolarizasyona neden olur. β alt ünitesi ise kanal aktivitesinin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Voltaj ve Ca bağımlı mekanizmalar vasküler BK_{Ca} kanallarının açılmasında tek tetikleyici değildirler. Vasküler düz kastaki bu kanalları çeşitli ajanlar cGMP- bağımlı protein kinazlar, cAMP-bağımlı ve bağımsız ve G proteinleri üzerinden de aktive edebilir. Ayrıca ROT, NO, AT-2 reseptörü üzerinden Anjiotensin II ve endotel türevli hiperpolarize edici faktör gibi pek çok endojen ajan tarafından da aktive edilebilir. Anjiotensin II vasküler düz kastaki BK_{Ca} kanalları endotel üzerinden kan damarlarının mekanik ve elektriksel durumlarının modülasyonunda anahtar elementtir. Vang ve ark. yaptıkları çalışmada pulmoner endotelyumda BK_{Ca} kanallarının eksprese edildiği bunun da hiperpolarizasyona ve NO aracılıklı endotel bağımlı gevşemeye neden olduğunu göstermiştir^{101,102}. BK_{Ca} kanalların farmakolojik manüplasyonu düz kasta redoks potansiyelini değiştirir. BK_{Ca} kanalı kariptotoksine duyarlıdır ve hem voltaj hem de Ca⁺² tarafından aktive edilir. BK_{Ca} kanallarının aktivasyonunun izole pulmoner ve koroner arter düz kas hücrelerinde mitokondriyal membran potansiyelini azalttığı gösterilmiştir¹⁰³. İskemi öncesinde NS1619'un verilmesi ile mitokondriyal BK_{Ca} kanallarının açılması mitokondriyal ve miyokardiyal önkoşullayıcı etkiyi başlatır. Hem iskemi hem de reperfüzyon döneminde yaptığı korumayı NADH seviyelerini düzelterek, aşırı ROS oluşumunu azaltarak ve mitokondriyal Ca yüklenmesini azaltarak yapar. Paksilin'in NS1619'un yaptığı etkiyi ortadan kaldırması NS1619'un başlıca BK_{Ca} kanalları üzerinden etki ettiğini göstermektedir. Fakat bu etkide mitokondriyal BK_{Ca} kanallarından başka iyon kanallarının etkili olup olmadığı bilinmemektedir. Örneğin NS1619 koroner vasküler düz kasta sarkolemmal BK_{Ca} kanallarını açarak reperfüzyon döneminde koroner kan akışının düzenlenmesini sağlıyor olabilir¹⁰⁴.

Paksilin, kalsiyum bağımlı potasyum kanallarını bloke edici etkisinden dolayı langendorff perfüzyon çalışmalarında önkoşullama ve ardkoşullama sinyalizasyon mekanizmalarının araştırmalarında sık sık kullanılan bir maddedir. Huhn R ve ark. sıçan kalbinde ardkoşullama üzerine yaptıkları bir çalışmada üç deney grubu oluşturmuşlardır. Birinci gruba ardkoşullayıcı olarak morfin (1µM) verilmiş, ikinci gruba iskemi sonrası reperfüzyonda ardkoşullayıcı olarak paksilin(1 µM) verilmiş ve son gruba iskemi-reperfüzyon protokolü uygulanmadan yalnız paksilin ile miyokardın perfüzyonu sağlanmıştır. İnfarkt alanlar ölçülmüş ve karşılaştırılmıştır. Buna göre ilk grupta infarkt alan kontrol ile aynı bulunmuş, ikinci grupta mitokondriyal Ca^{+2} -bağımlı K^{+} kanallarının inhibe edilmesinden dolayı infarkt alan kontrol grubuna göre azalmış ve son grupta ise infarkt alan üzerine bir etki görülmemiştir¹⁰⁵.

Yang ve ark. NS-1619'u BKCa kanal aktivatörü olarak ve paksilinide BKCa kanal blokeri olarak kullanarak sıçan kalbine vermişler ardından kalbi iskemi ve reperfüzyona tabi tutarak oluşan infarkt alanlarını karşılaştırmışlardır. NS-1619'un miyokard infarkt alanını azalttığı, NS - 1619 verilip ardından paksilin verilen kalplerin infarkt alan boyutlarının yalnız paksilin verilen kalplerin infarkt alanlarına göre küçültüğünü göstermişlerdir¹⁰⁶.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Deney Hayvanları

Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığından G.Ü.ET-10.047 kod numarası ile etik kurul izni alınmıştır.

Deneylerde Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM) inden temin edilen Wistar cinsi 300-350g ağırlığında erkek sıçanlar kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Ketamin hidroklorür (Pfizer), ksilazin (Alfasan), Resveratrol (Sigma), Paxilin (Sigma), Trifeniltetrazolium klorür (TTC) (Sigma), Formol (Sigma), NaH_2PO_4 (Merck), Na_2HPO_4 (Merck), Heparin (Mustafa Nevzat), Absolü etanol (Merck-Resveratrolü çözmek için kullanılmıştır).

Krebs-Heinsleit Çözeltisi (pH7.4)

NaCl	118,0 mM
KCl	4,5 mM
KH_2PO_4	4,4 mM

MgSO ₄	1,2 mM
NaHCO ₃	25 mM
CaCl ₂	1,4 mM
Glukoz	11 mM

3.1.3. Kullanılan Aletler

Hassas terazi (Shimadzu)

Mikropipet (Eppendorff Research)

Vortex (Firlabo)

Langendorff cihazı (MAY LS06 seri no:3006-005)

MP 35 veri kayıt sistemi (Biopac systems,INC)

Sirkulator (MAY WBC 3044V3)

pH metre (JENCO)

%95 O₂, %5 CO₂ içeren gaz karışım tüpü

Cerrahi malzeme (Makas, pens, bulldog)

Kan Basıncı Transduser (Commat Ltd., Türkiye)

3.2. Yöntem

3.2.1. Sıçan İzole Kalp Preparatının Hazırlanması ve Ölçülen Hemodinamik Parametreler

Deney hayvanları ketamin hidroklorür (50mg/kg-ip) ve Ksilazin (10 mg/kg/ip) ile anestezi edilmiş ve femoral ven yoluyla (500IU/kg) heparin verilmesini takiben, toraks hızlı bir şekilde açılarak kalp çıkartılmış ve buzlu Krebs-Heinseleit çözeltisinin içerisine alınmıştır. İzole kalp, hızlı bir şekilde sıcaklığı 37°C ve %95 O₂, %5 CO₂ gaz karışımı ile havalandırılan Krebs-Heinseleit çözeltisi ile sabit basınçlı Langendorff cihazına aorttan asılarak retrograd olarak perfüze edilmiştir. Krebs Henseleit rezervuarı izole organ banyosundan 100 cm yukarıda olacak şekilde yerleştirilerek, perfüzyon boyunca istenilen sabit basınç (100 cm H₂O=75 mmHg) sağlanmıştır. Sol ventrikül basıncı kalbin sol ventrikülüne yerleştirilen bir lateks balon yardımıyla ölçülmüştür.

Deneyler sırasında transduser aracılığıyla perfüzyon basıncı, sol ventrikül sistolik ve diyastolik basıncı eş zamanlı olarak veri kayıt sistemi (MP 35 biopac systems, INC) yardımıyla kaydedilmiştir. Deney süresince sol ventrikül gelişen basıncı (SVGB), sol ventrikül diyastol sonu basıncı (SVDSB), kalp atım hızı ölçülmüştür. SVGB, ventriküler sistolik basınçtan ventriküler diyastolik basıncın çıkartılması ile hesaplanmıştır. Deney sonunda +dP/dt (kontraksiyon hızının göstergesidir ve inotropizm indeksi olarak kullanılmaktadır)¹⁰⁷ ve -dP/dt (gevşeme indeksi olarak kullanılmaktadır) hesaplanmıştır¹⁰⁷.

3.2.2. Deney Protokolü

Araştırmamızda hayvanlar dört gruba ayrılmıştır.

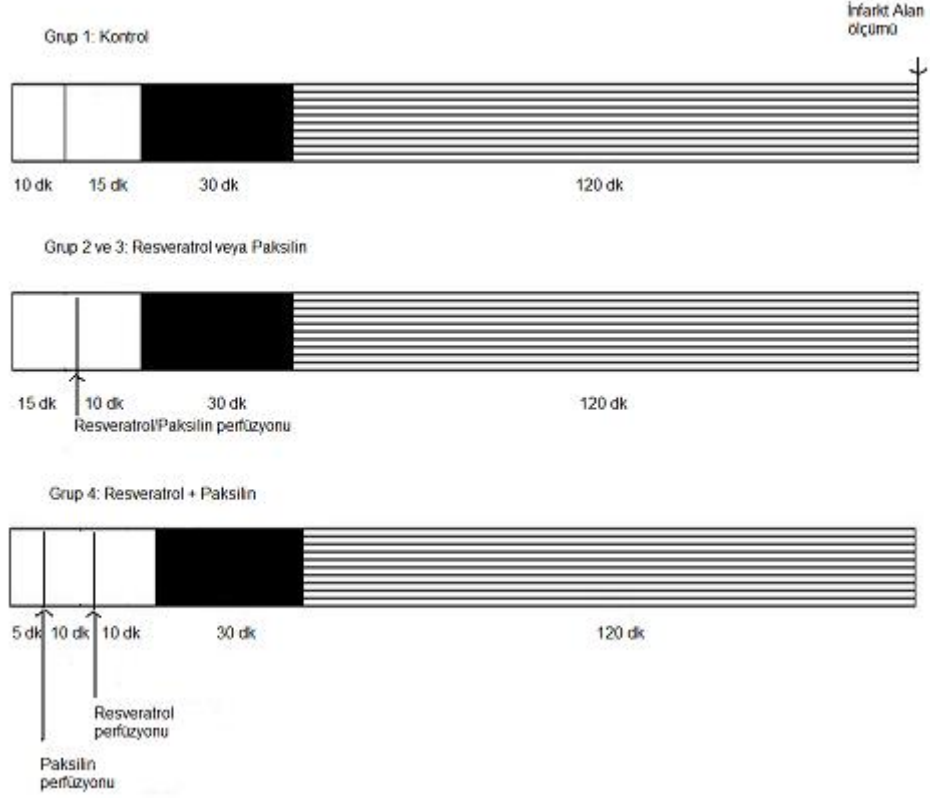
Grup 1 (Kontrol): 25 dakikalık dengeleme periyodunu takiben 30 dakikalık global iskemi ve ardından 120 dakikalık reperfüzyon yapılmıştır.

Grup 2 (Resveratrol): 15 dakikalık dengeleme periyodunu takiben 10 dakika 10 μ M konsantrasyonda resveratrol infüzyon ile verilmiştir. Ardından 30 dakika global iskemi 120 dakika reperfüzyon yapılmıştır.

Grup 3 (Paksilin): 15 dakikalık dengeleme periyodunu takiben 10 dakika 3 μ M konsantrasyonda paksilin infüzyon ile verilmiştir. Ardından 30 dakika global iskemi 120 dakika reperfüzyon yapılmıştır.

Grup 4 (Paksilin+Resveratrol): 5 dakikalık Krebs perfüzyonu ile dengeleme periyodundan sonra 10 dakika Krebs Henseleit çözeltisi içerisinde kalp kendi çalışma hızına bağlı olarak 3,1,0.3,0.1 ve 0,03 μ M konsantrasyonda paksilin ile 10 dakika, ardından Krebs Henseleit çözeltisi içerisinde 10 μ M resveratrol perfüze edilmiş ardından 30 dakikalık global iskemi 120.dakika reperfüzyon yapılmıştır.

Her bir deney boyunca perfüzyon basıncı, kalp atım hızı, SVGB ve SVDSB kaydedilmiştir. $\pm dP/dt$ SVGB 'nin türevi alınarak MP35 veri kayıt sistemi aracılığıyla hesaplanmıştır.



Şekil 5 : Deney protokolü: açık alan; perfüzyon periyodu, kapalı alan; iskemi periyodu, taralı alan; reperfüzyon periyodudur.

Tüm deney gruplarında iskemi öncesi, iskemi sonrası reperfüzyonun 30.dakika, 60. dakika ve 120. dakikalarındaki perfüzyon basıncı, sol ventrikül basıncı değerleri karşılaştırılmıştır.

3.2.3. İnfarkt Alan Değerlendirilmesi

Trifeniltetrazolyum klorür'ün (TTC) pH'sı 7.4'e ayarlanmış, 1 L 0,1 M NaH_2PO_4 ve 2L 0,1 M Na_2HPO_4 karıştırılarak hazırlanan, fosfat tamponunda çözülerek %1 'lik çözeltisi hazırlanır.

Kalpler Langendorf düzeneğinde reperfüzyondan sonra %1'lik TTC içeren fosfat tamponu ile 37°C'de 20 dk süreyle infüze edilir. Dokuda canlılığını koruyan alanlar, TTC ile koyu kırmızı renkte boyanırken nekrotik bölge ise soluk sarımsı renkte boyanır.

Kalpler Lagendorf düzeneğinden alınıp alimunyum folyoya sarılarak -20°C 'de dondurulduktan sonra, bistüri ile 2-3 mm kalınlıkta olacak şekilde dilimlenir. Kalp dilimleri % 10 formol çözeltisinde boyayı fiske etmek amacıyla 30 dk bekletilir. Boyama işlemini takiben infarkt alan iki cam levhanın arasına yerleştirilen ve fotograflanan kalplerde image j yöntemi ile infarkt alan/tüm alan olarak hesaplanır.

3.2.4. İstatistiksel analiz

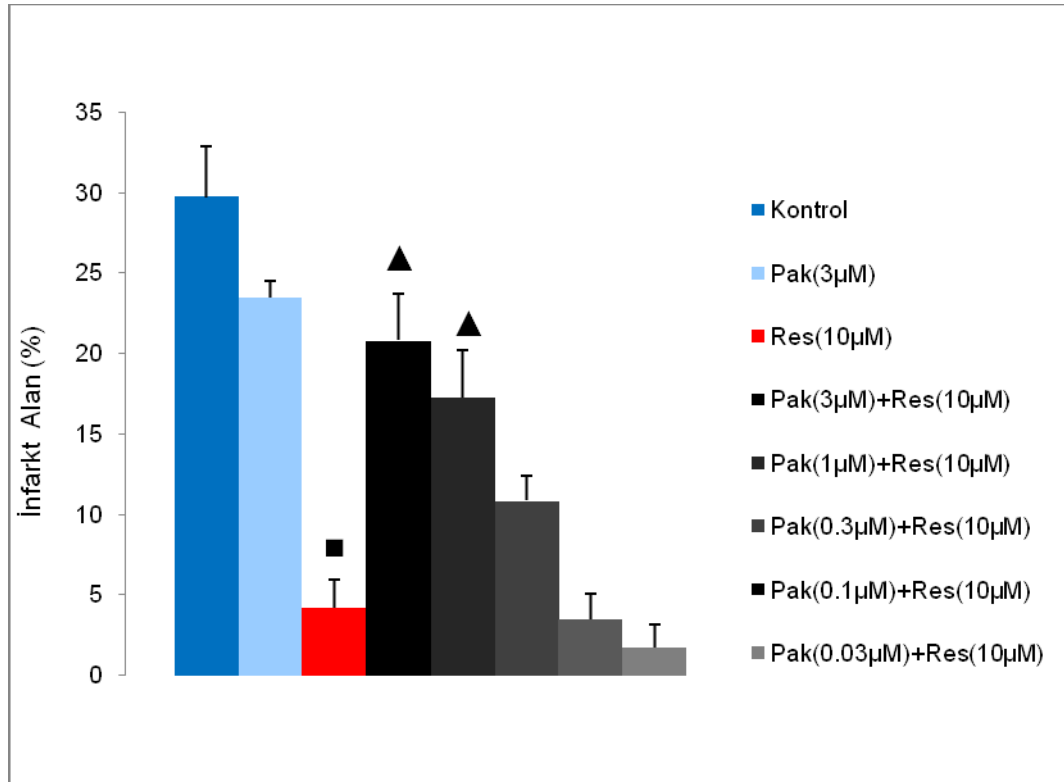
Tüm gruplarda elde edilen SVGB, SVDSB, $\pm dP/dt$, infarkt alan değerleri, ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası şeklinde ifade edilmiştir.

Gruplar arasındaki anlamlılık tek yönlü varyans analizi ANOVA yapılarak karşılaştırıldı ve $P<0,05$ olan değerler anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

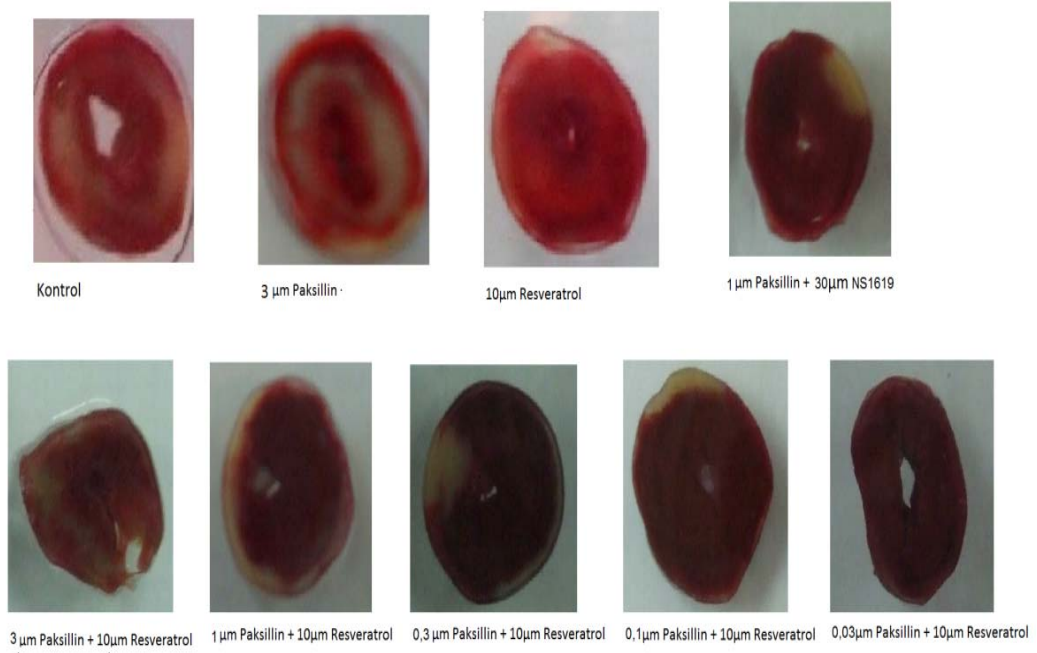
4.1. İnfarkt Alan

30 dakika iskemi ve 120 dakika reperfüzyon sonrası resveratrol (10 μ M) uygulaması infarkt alan büyüklüğünü kontrole göre anlamlı olarak azaltmıştır. Paksilin 3 μ M ve 1 μ M konsantrasyonda resveratrolün oluşturduğu bu etkiyi anlamlı olarak ortadan kaldırmıştır. Paksillin'in bu inhibitör etkisi 0.3, 0.1 ve 0.03 μ M dozlarda görülmemektedir (Şekil 6).



Şekil 6: 30 dakika global iskemi ve 120 dakika reperfüzyon sonrasında kontrol, resveratrol, paksillin uygulamasının infarkt alan üzerine etkileri. ■ kontrole göre, ▲ resveratrole göre anlamlı, $p < 0.05$.

Değerler ort $\pm$ standart hata olarak verilmiştir(n: 4-6).



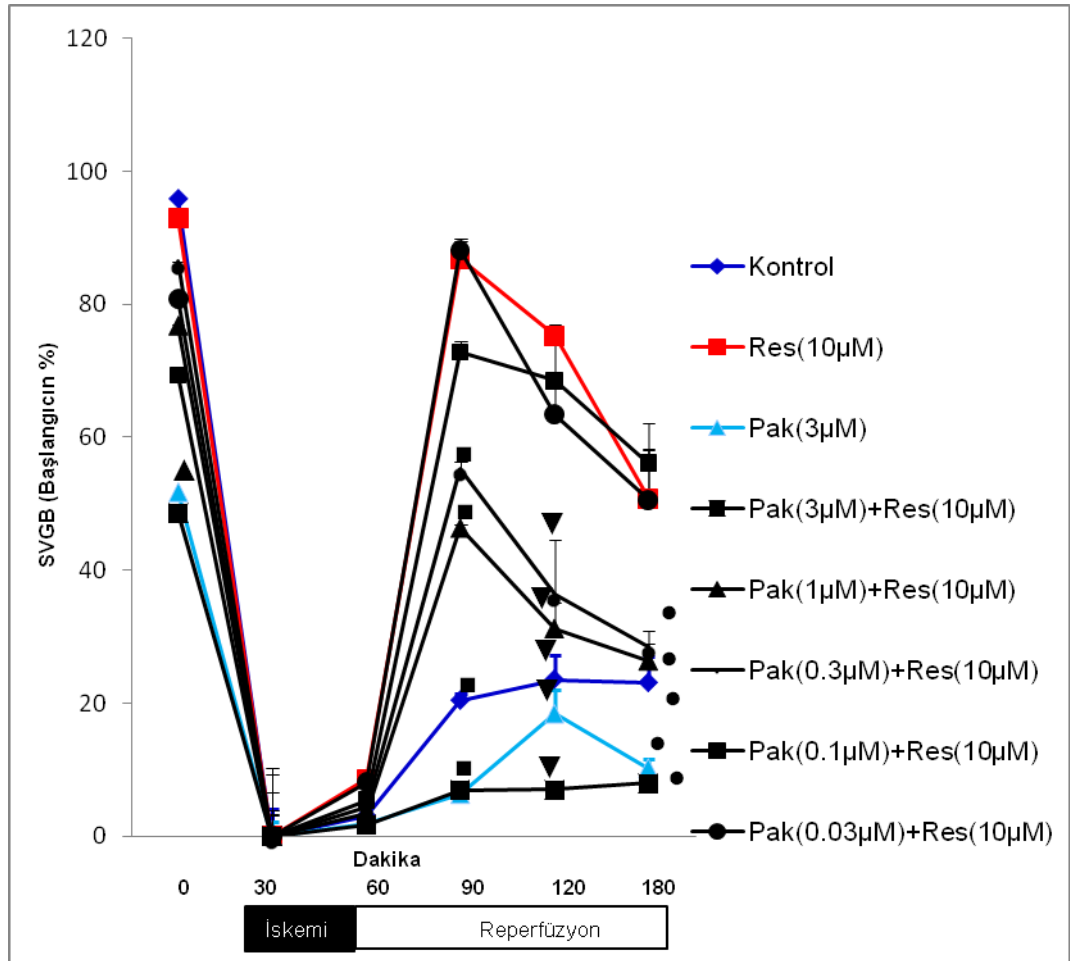
Şekil 7: Kontrol, resveratrol ve paksilin uygulanmasını takiben 30 dakika global iskemi, 120 dakika reperfüzyon sonrası TTC boyası ile boyanan kalplerden örnekler.

4.2.Hemodinamik Parametreler

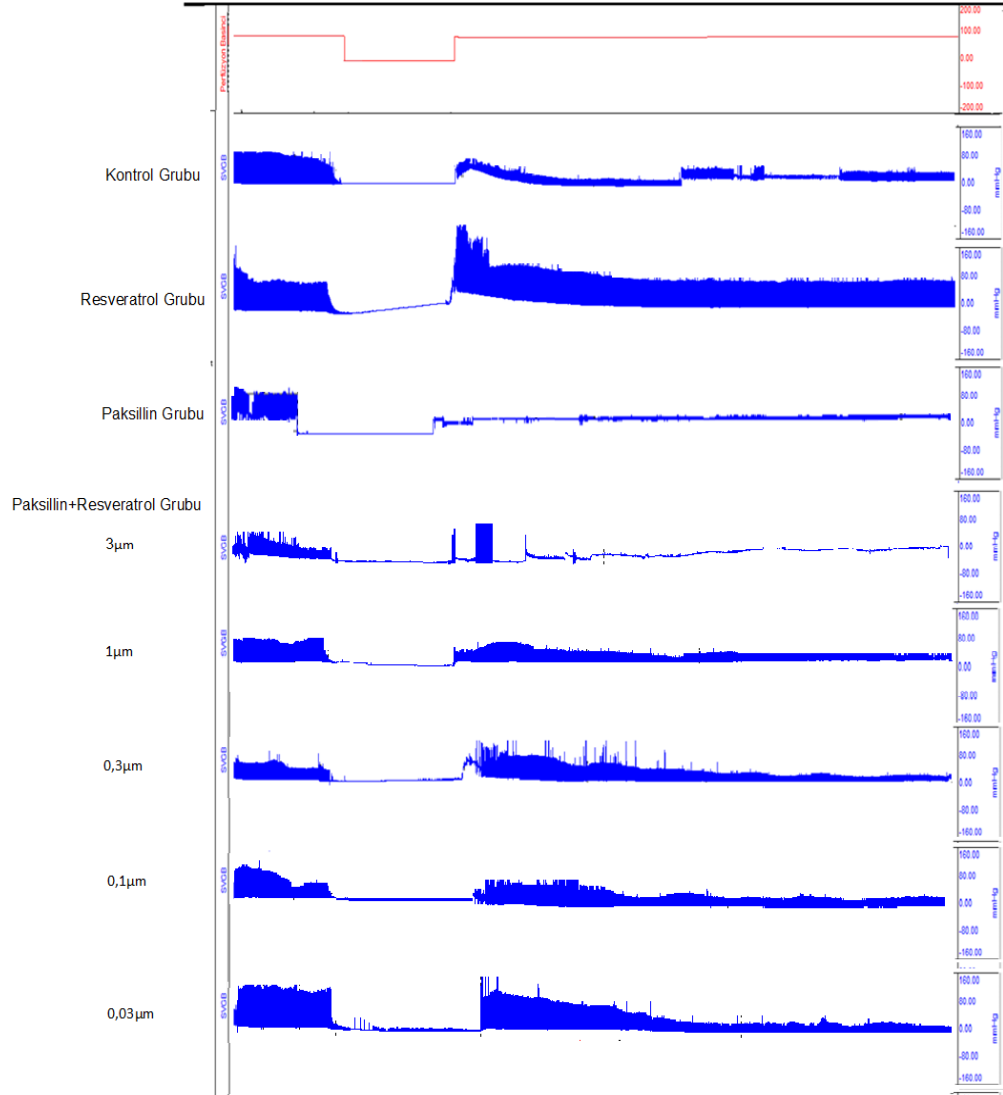
4. 2. 1 Sol Ventrikül Gelişen Basıncı (SVGB)

Resveratrol 30 dakikalık iskemi sonrasında SVGB'nı reperfüzyonun 30., 60. ve 120. dakikalarında kontrole göre anlamlı olarak düzeltmiştir. Paksilin, resveratrolün iskemi-reperfüzyon hasarına karşı oluşturduğu korumayı 3, 1 ve 0.3 µM konsantrasyonlarda anlamlı olarak ortadan kaldırmıştır. Sadece Resveratrol'ün kullanıldığı grupta SVGB'ı reperfüzyonun 30. ve 60. dakikalarında başlangıç değerine göre bir değişme göstermemiştir. Reperfüzyonun 120. dakikasında resveratrolün

oluşturduğu koruma başlangıç değerine göre anlamlı olarak ortadan kalkmıştır. Buna karşılık kontrol grubunda ve paksilinin resveratrol ile kombine kullanıldığı 3, 1 ve 0.3 μM konsantrasyonlarında SVGB başlangıç değerine göre 30, 60, ve 120. dakikalarında anlamlı olarak azalmıştır (Şekil 8).



Şekil 8: SVGB üzerine kontrol, resveratrol, paksilin etkisi. ▼ Başlangıç resveratrole göre, ■ resveratrole göre (reperfüzyonun 30. dakikası), ▲ resveratrole göre (reperfüzyonun 60. dakikası), ● resveratrole göre (reperfüzyonun 120. dakikası) anlamlı, $p < 0.05$. Değerler ort $\pm$ standart hata olarak verilmiştir (n: 4-6).

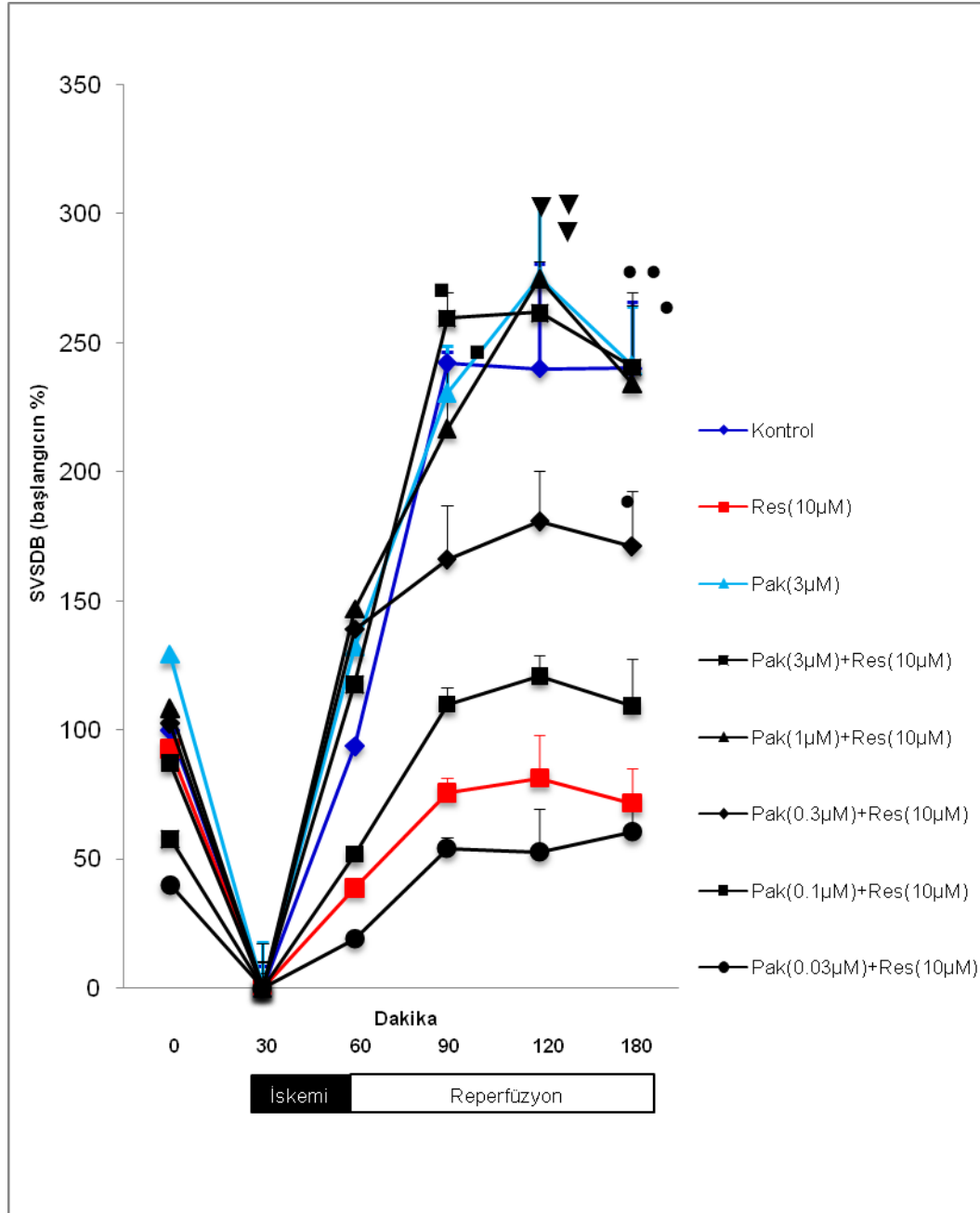


Şekil 9: Kontrol, resveratrol'ün tek başına ve paksilin ile kombine kullanıldığı gruplardaki SVGB kayıtları.

4.2.2. Sol Ventrikül Diyastol Sonu Basıncı (SVDSB)

Resveratrol 30 dakikalık iskemi sonrasında SVDSB'nı reperfüzyonun 30., 60. ve 120. dakikalarında kontrole göre anlamlı olarak düzeltmiştir. Paksilin 3µM konsantrasyonda resveratrolün iskemi-reperfüzyon hasarına karşı oluşturduğu korumayı reperfüzyonun 30, 60 ve

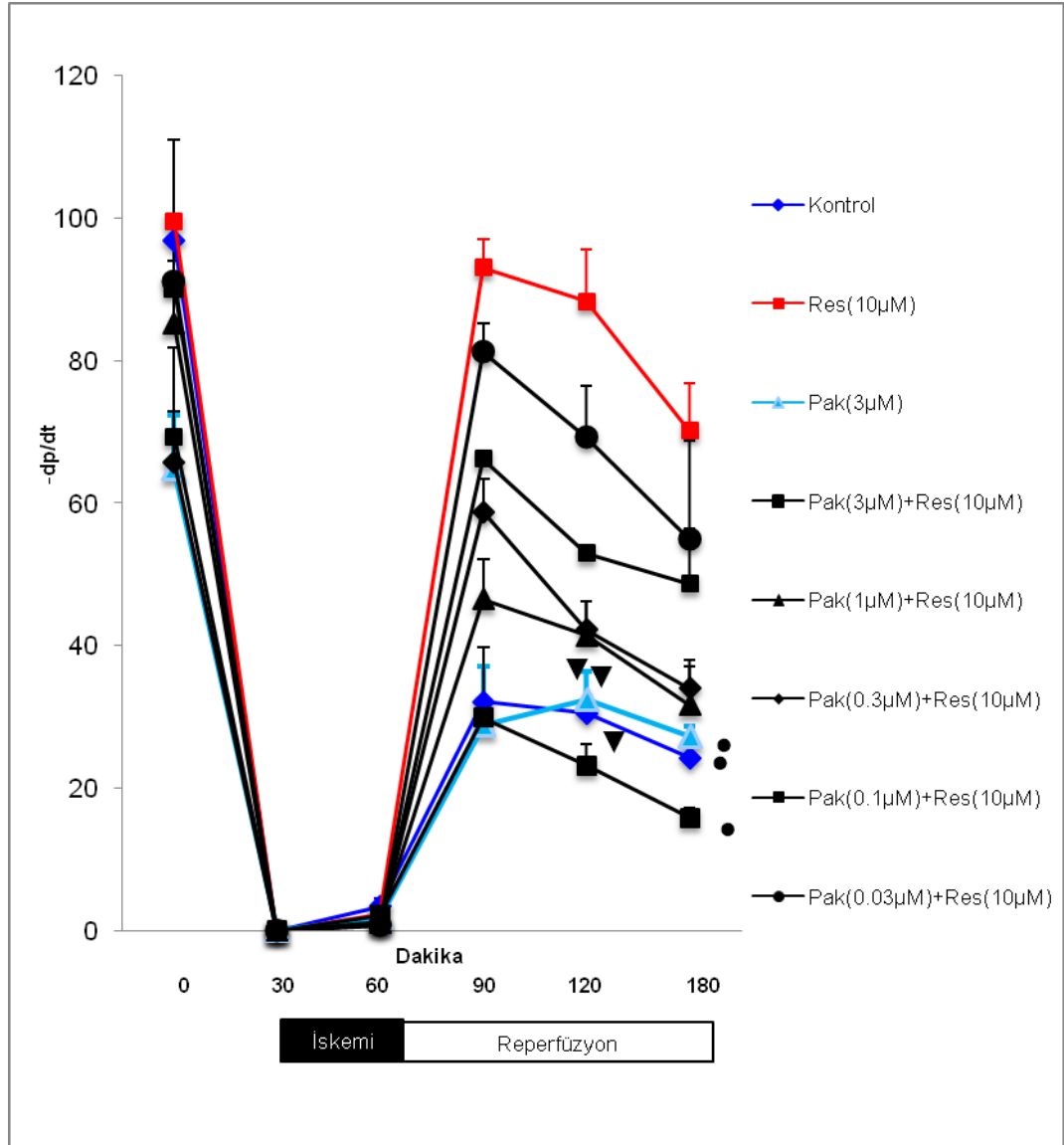
120. dakikalarında, 1 μ M konsantrasyonda 60 ve 120. dakikalarında, 0.3 μ M konsantrasyonda 120. dakikada anlamlı olarak ortadan kaldırmıştır (Şekil 10). Resveratrol grubunda SVDSB'ı reperfüzyonun 30., 60. ve 120. dakikalarında başlangıç değerine göre anlamlı bir değişme göstermemiştir. Buna karşılık SVDSB'ı kontrol grubunda reperfüzyonun 30. ve 60. dakikalarında ve paksilinin resveratrol ile kombine kullanıldığı 3 ve 1 μ M konsantrasyonlarında reperfüzyonun 30, 60, ve 120. dakikalarında başlangıç değerine göre anlamlı olarak azalmıştır. Paksilin SVDSB'ı 0.3, 0.1 ve 0.03 μ M konsantrasyonlarında reperfüzyonun 30. 60. ve 120. dakikalarında başlangıç değerine göre değişme yapmamıştır.



Şekil 10 : SVDSB üzerine kontrol, resveratrol , paksilin etkisi. ■ resveratrole göre (reperfüzyonun 30. Dakikası), ▲ resveratrole göre (reperfüzyonun 60. dakikası), ● resveratrole göre (reperfüzyonun 120. dakikası) anlamlı, $p < 0.05$. Değerler ort $\pm$ standart hata olarak verilmiştir(n: 4-6).

4.2.3. -dP/dt, +dP/dt Değerleri

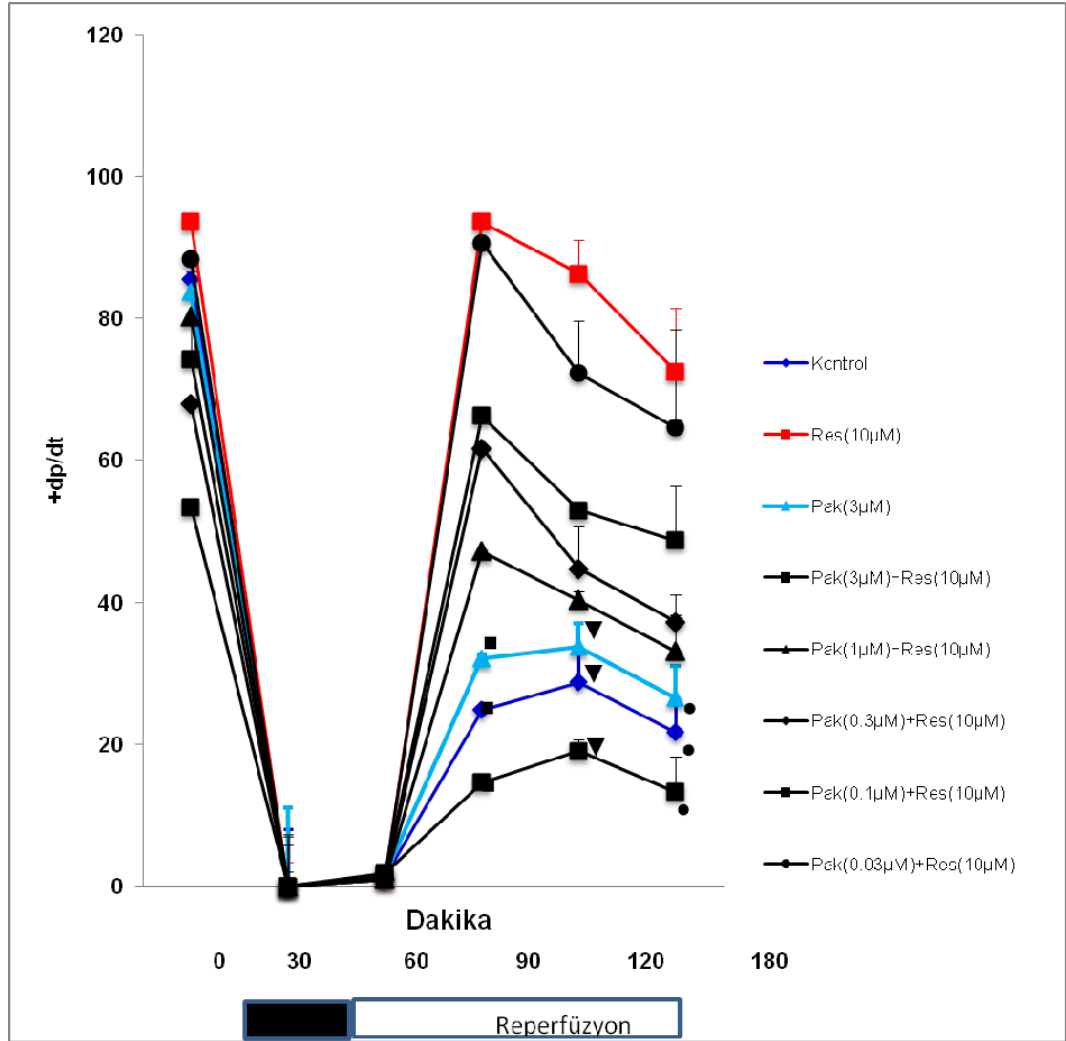
Resveratrol 30 dakikalık iskemi sonrasında -dP/dt değerini reperfüzyonun 60. ve 120. dakikalarında kontrole göre anlamlı olarak düzeltmiştir. Paksilin resveratrol ile kombine kullanıldığı 3 ve 1 μM konsantrasyonlarda resveratrolün iskemi-reperfüzyon hasarına karşı oluşturduğu korumayı reperfüzyonun 60. ve 120. dakikalarında anlamlı olarak ortadan kaldırmıştır (Şekil 11). Resveratrolün tek başına kullanılması -dP/dt değerini reperfüzyonun 120. dakikalarında başlangıç değerine göre anlamlı olarak azalmıştır. Buna karşılık kontrol grubunda ve paksilinin (3 μM) tek başına ve resveratrol ile kombine kullanıldığı 3, 1 ve 0.3 μM konsantrasyonlarda başlangıca göre reperfüzyonunun 30., 60. ve 120. dakikalarında anlamlı olarak azalmıştır. Paksilin, resveratrol ile kombine kullanıldığı 0.3, 0.1 ve 0.03 μM konsantrasyonlarında başlangıç değerine göre reperfüzyonun 30. 60. ve 120. dakikalarında değişme yapmamıştır.



Şekil 11: -dP/dt kontrol, resveratrol, paksilin etkisi. ■ resveratrole göre (reperfüzyonun 30. dakikası), ▲ resveratrole göre (reperfüzyonun 60. dakikası), ● resveratrole göre (reperfüzyonun 120. dakikası) anlamlı, P<0.05. Değerler ort ± standart hata olarak verilmiştir(n: 4-6).

Resveratrol 30 dakikalık iskemi sonrasında +dP/dt değerini reperfüzyonun 30. 60. ve 120. dakikalarında kontrole göre anlamlı olarak

düzeltilmiştir. Paksilin, resveratrol ile kombine kullanıldığı 3 ve 1 μM konsantrasyonda resveratrolün iskemi-reperfüzyon hasarına karşı oluşturduğu korumayı reperfüzyonun 30. 60 ve 120. dakikalarında anlamlı olarak ortadan kaldırmıştır (Şekil 12). Resveratrol tek başına kullanıldığında $+dP/dt$ değeri reperfüzyonun 120. dakikalarında başlangıç değerine göre anlamlı olarak azalmıştır. Buna karşılık kontrol grubunda ve paksilin (3 μM) tek başına ve resveratrol ile kombine kullanıldığı 3, 1 μM konsantrasyonlarda başlangıca göre reperfüzyonunun 30., 60. ve 120. dk'da anlamlı olarak azalmıştır. Paksilin, resveratrol ile kombine kullanıldığı 0.3, 0.1 ve 0.03 μM konsantrasyonlarında başlangıç değerine göre reperfüzyonun 30. 60. ve 120. dakikalarında değişme yapmamıştır.



Şekil 12: +dP/dt kontrol, resveratrol, paksilin etkisi. ▲ reperfüzyonun 60. dakikası resveratrole göre, ● reperfüzyonun 120. dakikası resveratrole göre anlamlı, $p < 0.05$. Değerler ort $\pm$ standart hata olarak verilmiştir (n: 4-6).

5. TARTIŞMA

ROT'nin aşırı üretim ve mitokondriyal Ca^{+2} 'nin yüklenmesi iskemi-reperfüzyon hasarının altında yatan başlıca nedenlerdendir. Kardiyak iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmak için iskemik ve farmakolojik önkoşullama gibi profilaktik tedavi yaklaşımları uygulanmaktadır. Farmakolojik önkoşullama kısa süreli iskemi gerektirmemesi nedeniyle daha iyi bir tedavi yaklaşımı olarak görülmektedir. Bu amaçla kullanılan pinasidil, diazoksid, resveratrol gibi çeşitli eksojen ajanlar mevcuttur.

Resveratrol antioksidan, antienflamatuar ve antiaterosklerotik¹⁷ özelliklerinden dolayı iskemi-reperfüzyon hasarına karşı miyokardda koruma oluşturmak için kullanılabilecek önemli bir ajandır. BK_{Ca} kanallarının koroner vasküler düz kasta yüksek oranda bulunduğu ve egzersiz ile iskeminin neden olduğu koroner vazodilatasyona aracılık ettiği bildirilmiştir. Ayrıca BK_{Ca} kanal aktivitesinin hipertansiyon, dislipidemi, glukoz toleransı gibi çeşitli patolojik durumlarda bozulduğu da gösterilmiştir¹⁰⁸. Buna karşılık anjina pectorisdeki rolü henüz belli değildir. Biz bu araştırmamızda resveratrolün iskemi-reperfüzyon hasarına karşı oluşturduğu koruyucu etkide BK_{Ca} kanalının rolü olup olmadığını inceledik. Bunun için BK_{Ca} kanal inhibitörü paksilini (3-0.03 μ M), resveratrol (10 μ M) ile kombine kullandık. Deney gruplarında hemodinamik (SVGB, SVDSB, $\pm dP/dt$) parametreler ve infarkt alanı değerlendirdik.

Paksilin, 30 dakika iskemi 120 dakika reperfüzyon sonrasında resveratrolün infarkt alan üzerinde oluşturduğu hasar azaltıcı

etkiyi 3 ve 1 μM konsantrasyonda anlamlı olarak azaltmıştır. Resveratrolün tek başına ve paksilin ile kombine kullanıldığı gruplar karşılaştırıldığında; Paksillinin 3, 1 ve 0.3 μM konsantrasyonda SVGB, SVDSB'ı, $\pm dP/dt$ üzerinde resveratrolün reperfüzyon döneminde oluşturduğu koruma etkisini anlamlı olarak azaltmıştır.

Resveratrolün önkoşullama oluşturma potansiyeline dair yapılmış çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda resveratrol ile yapılan ön koşullamanın koruyucu etkisinde iskemi ile tetiklenme sonucu intrasellüler bazı mediyatörlerin rol oynadığı gösterilmiştir. Bunlardan en önemli ikisi; K_{ATP} kanalı ve protein kinaz C'nin spesifik izoformlarıdır^{109,110}. Günümüzde önkoşullamanın muhtemel mekanizmalarından biri de büyük geçirgen Ca^{+2} duyarlı K^+ kanallarıdır (BK_{Ca}). Vasküler düz kas hücreleri, nöronal veya sekretuar hücreler BK_{Ca} kanallarını içerirler. Bu kanallar hücre membranı depolarize olduğunda veya intrasellüler Ca^{+2} miktarı arttığında aktive olurlar. Bu kanalların açılması hücre membranının repolarize olmasını sağlayan sitozolik K^+ 'un hücre dışına çıkmasını sağlar. Bu da sonuçta voltaj-bağımlı kalsiyum kanallarının kapanarak Ca^{+2} 'nin hücre içine girişini azaltır. NS1619 'un global iskemiye karşı BK_{Ca} kanalını açarak önkoşullama oluşturduğu tavşan⁷⁹, fare¹⁰¹ ve sıçan¹¹¹ kalbinde gösterilmiştir. Benzer şekilde köpek kalbinde de bölgesel iskemi-reperfüzyon hasarına karşı NS1619 koruma oluşturduğu gösterilmiştir¹¹². NS1619'un oluşturduğu bu etki karibdotoksin, iberitoksin¹¹² ve paksilin^{101,111} gibi BK_{Ca} kanal inhibitörleri tarafından ortadan kaldırılmış veya zayıflatılmıştır.

Biz de çalışmamızda önkoşullayıcı olarak resveratrolü ve kanal inhibitörü olarak paksilini kullandık. Araştırmamızda 30 dakika iskemi öncesi resveratrol (10 μM) uygulanması infarkt alan büyüklüğünü,

30 dakika iskemi 120 dakika reperfüzyon uygulanan kontrol grubuna göre göre anlamlı olarak azaltmıştır. Paksilin 3 μ M ve 1 μ M konsantrasyonda resveratrolün oluşturduğu bu etkiyi anlamlı olarak ortadan kaldırmıştır. Paksilin'in bu inhibitör etkisi 0.3, 0.1 ve 0.03 μ M dozlarda görülmemektedir. Bizim sonuçlarımıza benzer şekilde Gembu ve ark.'nın genetik olarak düzenlenmiş(knockout) fare'de yaptıkları çalışmada infarkt alanın resveratrol ile tedavi edilen grupta kontrol grubuna göre %31 oranında azalmıştır¹¹³. Yine Jinkun ve ark.'nın erkek sıçan izole kalbinde yaptıkları çalışmada da resveratrol (10 μ M) reperfüzyonda uygulandığında, kalbi iskemi-reperfüzyon hasarından korumuş, infarkt alanı kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaltmıştır¹¹⁴. Bir diğer çalışmada ise Yang ve ark. NS1619'u BKCa kanal aktivatörü olarak ve paksilini de BKCa kanal blokörü olarak sıçan kalbine vermişler, ardından kalbi iskemi ve reperfüzyona tabi tutarak oluşan infarkt alanları karşılaştırmışlardır. NS1619'un miyokard infarkt alanını azalttığı, NS1619 verilip ardından paksilin verilen kalplerin infarkt alan boyutlarının yalnız paksilin verilen kalplerin infarkt alanlarına göre boyutlarının küçültüğünü göstermişlerdir¹⁰⁶. Bizim çalışmamızda bu araştırmaya benzerlik göstermektedir. Yani NS1619 gibi resveratrolde infarkt alanı azaltmakta, paksilin gibi kalsiyum bağımlı potasyum kanallarını bloke edici bir ajanla kombine kullanıldığında ise infarkt alan boyutunda meydana gelen küçülme ortadan kalkmaktadır.

BK_{Ca} kanalının açılmasının miyokardda nasıl bir koruma oluşturduğu henüz bilinmemektedir. Ancak bununla ilgili çeşitli hipotezler ileri sürülmektedir. Bunlardan biri mBK_{Ca} kanalının iskemi sırasında veya sonrasında açılması NADH, superoksid ve m[Ca⁺²] gibi mitokandriyal fonksiyonların çeşitli parametrelerinde değişimlerin zayıflaması, bir diğeri miyokardiyal kontraktilitenin, vasküler fonksiyonların düzelmesi ve reperfüzyon döneminde infarkt alanın azalmasıdır¹⁰⁴. Ayrıca pek çok

kardiyovasküler ve metabolik hastalığın bir arada bulunduğu metabolik sendrom ile ilgili yapılan bir çalışmada BK_{Ca} kanalı aracılıklı koroner vazodilatasyonun bozulduğu gösterilmiştir. Bu bozulmayla ilgili çeşitli hipotezler ileri sürülmüştür. Bunlar 1. L-tipi Ca kanalı aracılıklı vazokonstriksiyonun artması, 2. Ca⁺²/voltaj duyarlılığının azalması, 3. Sarkolemadaki kanal sayısının azalması, 4. BK_{Ca} kanallarının regülasyonun değişmesidir (örneğin kinazlar ve fosfatazlar tarafından). BK_{Ca} kanalları endotel bağımlı metabolik ve iskemik vazodilatasyona aracılık ederler. Bu nedenle BK_{Ca} kanal fonksiyonlarının azalması çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik durumların altında yatan koroner vasküler fonksiyonların regülasyonuna zarar verir¹¹⁵.

Biz de araştırmamızda hemodinamik parametreleri de ölçtük. Resveratrol 30 dakikalık iskemi sonrasında SVGB 'nı reperfüzyonun 30., 60. ve 120. dakikalarında kontrole göre anlamlı olarak düzeltmiştir. Paksilin, resveratrolün iskemi-reperfüzyon hasarına karşı oluşturduğu korumayı 3, 1 ve 0.3 µM konsantrasyonlarda anlamlı olarak ortadan kaldırmıştır. Sadece resveratrolün kullanıldığı grupta SVGB'ı reperfüzyonun 30. ve 60. dakikalarında başlangıç değerine göre bir değişme göstermemiştir. Reperfüzyonun 120. dakikasında resveratrolün oluşturduğu koruma başlangıç değerine göre anlamlı olarak ortadan kalkmıştır. Buna karşılık kontrol grubunda ve paksillinin resveratrol ile kombine kullanıldığı 3, 1 ve 0.3 µM konsantrasyonlarında SVGB başlangıç değerine göre 30., 60., ve 120. dakikalarında anlamlı olarak azalmıştır.

Çalışmamızda SVDSB değerlerini de ölçtük. Buna göre resveratrol 30 dakikalık iskemi sonrasında SVDSB'nı reperfüzyonun 30., 60. ve 120. dakikalarında kontrole göre anlamlı olarak düzeltmiştir. Paksilin 3µM konsantrasyonda resveratrolün iskemi-reperfüzyon hasarına

karşı oluşturduğu korumayı reperfüzyonun 30., 60. ve 120. dakikalarında, 1µM konsantrasyonda 60 ve 120. dakikalarında, 0.3µM konsantrasyonda 120. dakikada anlamlı olarak ortadan kaldırmıştır. Resveratrol grubunda SVDSB'ı reperfüzyonun 30., 60. ve 120. dakikalarında başlangıç değerine göre anlamlı bir değişme göstermemiştir. Buna karşılık SVDSB'ı kontrol grubunda reperfüzyonun 30. ve 60. dakikalarında ve paksilinin resveratrol ile kombine kullanıldığı 3 ve 1 µM konsantrasyonlarında reperfüzyonun 30, 60, ve 120. dakikalarında başlangıç değerine göre anlamlı olarak azalmıştır. Paksilin SVDSB'ı 0.3, 0.1 ve 0.03 µM konsantrasyonlarında reperfüzyonun 30. 60. ve 120. dakikalarında başlangıç değerine göre değişme yapmamıştır.

Bizim araştırmamıza benzer şekilde Stowe ve ark'ı sıçan izole kalbinde BK_{Ca} kanallarının koruyucu mekanizmalarını araştırmışlardır. Farmakolojik önkoşullayıcı olarak NS1619'u, kanal inhibitörü olarak paksillini (1 µM) ve bir süperoksit dizmutatör'ü olan MnTBAP (20µM) vermişler ve SVGB ile SVDSB'ını değerlendirmişlerdir. Paksillin 30 dakika iskemi, 120 dakika reperfüzyon sonrasında NS1619'un SVGB ve SVDSB'ını anlamlı olarak azaltmıştır. Aynı çalışmada koroner akış ve mitokondrial kalsiyum seviyeleri de ölçülmüştür. NS1619 gerek koroner akış gerekse mitokondriyal kalsiyum seviyelerini korumuş ve hem paksillin hem de MnTBAP bu korumayı ortadan kaldırmıştır¹⁰⁴.

Bizim araştırmamızda resveratrol grubunda reperfüzyonda ölçülen kasılma indeksi (+dP/dt) değerleri iskemi öncesi değerlerine göre korunmuştur. Paksilin, resveratrol ile kombine kullanıldığı 3 ve 1 µM konsantrasyonda resveratrolün iskemi-reperfüzyon hasarına karşı oluşturduğu korumayı reperfüzyonun 30. 60 ve 120. dakikalarında anlamlı olarak ortadan kaldırmıştır. Resveratrol tek başına kullanıldığında +dP/dt

değeri reperfüzyonun 120. dakikalarında başlangıç değerine göre anlamlı olarak azalmıştır. Buna karşılık kontrol grubunda ve paksillin'in (3 μ M) tek başına ve resveratrol ile kombine kullanıldığı 3 ve 1 μ M konsantrasyonlarda başlangıca göre reperfüzyonunun 30., 60. ve 120. dakikalarında anlamlı olarak azalmıştır. Paksillin'in, resveratrol ile kombine kullanıldığı 0.3, 0.1 ve 0.03 μ M konsantrasyonlarında başlangıç değerine göre reperfüzyonun 30. 60. ve 120. dakikalarında değişme yapmamıştır.

Resveratrol 30 dakikalık iskemi sonrasında -dP/dt değerini reperfüzyonun 60. ve 120. dakikalarında kontrole göre anlamlı olarak düzeltmiştir. Paksilin resveratrol ile kombine kullanıldığı 3 ve 1 μ M konsantrasyonlarda resveratrolün iskemi-reperfüzyon hasarına karşı oluşturduğu korumayı reperfüzyonun 60 ve 120. dakikalarında anlamlı olarak ortadan kaldırmıştır. Resveratrolün tek başına kullanılması -dP/dt değerini reperfüzyonun 120. dakikalarında başlangıç değerine göre anlamlı olarak azalmıştır. Buna karşılık kontrol grubunda ve paksilinin (3 μ M) tek başına ve resveratrol ile kombine kullanıldığı 3, 1 ve 0.3 μ M konsantrasyonlarda başlangıca göre reperfüzyonunun 30., 60. ve 120. dakikalarında anlamlı olarak azalmıştır. Paksilin, resveratrol ile kombine kullanıldığı 0.3, 0.1 ve 0.03 μ M konsantrasyonlarında başlangıç değerine göre reperfüzyonun 30. 60. ve 120. dakikalarında değişme yapmamıştır. Araştırmamızın hemodinamik parametreleri değerlendirildiğinde resveratrolün reperfüzyon hasarının önüne geçebildiği ve akut miyokard infarktüsünün klinik uygulamasında terapötik potansiyele sahip olabileceğini göstermektedir.

Biz araştırmamızda biyokimyasal bir parametre değerlendirmedik. Ancak sıçan izole kalbinde BK_{Ca} kanalının miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarındaki rolünün çalışıldığı Stowe ve ark'nın

araştırmasında süperoksit ve NADH seviyelerine flurometrik olarak bakılmış. Her iki ölçümün seviyelerinin NS1619 uygulanan grupta korunduğunu buna karşılık paksillin ve MnTBAP verilen gruplarda değiştiğini göstermişlerdir. Araştırmacılar buradan hareketle NS1619'un oluşturduğu önkoşullamaya bağlı koruyucu etkide süperoksit anyonunun gerekli olduğu ve BK_{Ca} kanalının kardiyak hücre mitokondrisinde lokalize olduğunu ileri sürmüşlerdir. K_{ATP} kanalının açılması gibi BK_{Ca} kanalının açılması ile mitokondriyal matriks içine K⁺'un girişi mitokondriyal fonksiyonları değiştirdiği ve korumada gerekli olan süperoksit oluşumuna neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Süperoksit anyonunun oluşumu BK_{Ca} kanalının açılması için gereklidir. Benzer gereklilik mK_{ATP} kanal açıcıları diazoksit ve volatil anestezikleri içinde gereklidir^{116,117}. NS1619'un önkoşullamada koruyucu etki gösterebilmesi için BK_{Ca} kanalının açılması ve süperoksit oluşumunun artması gerekmektedir. Ancak bu faktörler korumanın oluşmasına aracılık etmezler. Reaktif oksijen türlerinin tetiklediği bu olaya sitozolik fosforilasyon veya defosforilasyon yolağı aracılık etmektedir. NADH, reaktif oksijen türleri ve m(Ca⁺²) sadece reperfüzyonda değil iskemide de artmaktadır. İskemi sırasında meydana gelen bu artışlar iskemik önkoşullama tarafından reperfüzyonda normale döndürülmektedir. Bu etki hem reaktif oksijen tutucuları tarafından hem de sarkolemmal K_{ATP} ve /veya mK_{ATP} açısı kanal blokörleri tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Bu da önkoşullamaya mK⁺ kanallarının açılmasının aracılık ettiğini göstermektedir¹⁰⁴.

Resveratrolün iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisini gözlemlemek üzere iyon kanallarına etkisi araştırma konusu olmuştur. You-Ren Chen'in uzun süreli resveratrol uygulamasının ventriküler aritmi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada resveratrol'ün miyokardiyal enfarktüsün neden olduğu aritmeyi, kardiyak hipertrofiyi ve yaşam süresini iyileştirdiğini göstermişlerdir. Resveratrol'ün bu etkisini

kardiyak miyositler üzerine kalsiyum kanallarını bloke ederek ve K_{ATP} kanal açıcısı olarak gösterdiğini bulmuşlardır. Resveratrol, hücre içi Ca^{+2} un aşırı yükselmesini azaltarak aritmiyi önlediği ve sonrasında koroner vazodilatasyona neden olduğu veya K_{ATP} kanal açıcısı olarak farmakolojik önkosullama yaparak etki gösterdiği ileri sürülmüştür^{16,118}. İnsan internal meme arterinde yapılan çalışmalarda resveratrol'ün düz kasta lokalize olmuş voltaj-bağımlı K kanallarının aktivasyonu üzerinden gevşeme oluşturduğu bulunmuştur¹⁸. Bazı çalışmalar da resveratrol'ün BK_{Ca} kanalını direkt aktivasyonu ile vasküler endotel hücrelerinde hiperpolarizasyon yaptığını göstermişlerdir¹¹⁹. Endotel hücrelerinde bu Ca^{+2} -bağımlı K^{+} kanalların aktivasyonu hücre içi Ca^{+2} iyon konsantrasyonu yükselterek endotel kaynaklı faktörlerin sentezi ve salınımı ile vasküler düz kas tonusunun modülasyonu ve vazokonstriktör uyarılar ile kas cevabının düzenlenmesinde rol oynarlar³¹. Bizim çalışmamızda da resveratrol kontrole göre $-dP/dt$ ve $+dP/dt$ değerlerini anlamlı olarak düzeltmiştir. Calderone ve ark.'nın sıçan torasik aortunda resveratrol'ün vazodilatör etki mekanizmalarının incelendiği çalışmada, Ca^{+2} -bağımlı K^{+} kanal aktivatörü olduğu bilinen NS1619 kullanılmış ve resveratrolün bu madde ile benzer etki gösterip Ca^{+2} -bağımlı K^{+} kanallarını aktive ederek NO salıverilmesine neden olduğu bildirilmiştir⁹⁸. Vasküler düz kas hücrelerindeki BK_{Ca} kanallarının endotelial kimyasal sinyal üzerinden kan damarlarının mekanik ve elektriksel durumlarının modülasyonunda anahtar görevi olduğu düşünülmektedir⁹⁷. Bizim çalışmamızda da resveratrol (10 μ M) ve 3 ile 1 μ M konsantrasyonda paksilin kullanılan grup ve yalnız resveratrol kullanılan grupla infark alan ve hemodinamik parametreler karşılaştırıldığında benzer sonuçların görülmesi miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarına karşı oluşturduğu korumada BK_{Ca} kanallarının rolü olduğunu göstermiştir.

ROT veya Ca yüklenmesi gibi önkoşullamayı sağlayan bazı faktörler iskemi- reperfüzyon hasarına da neden olmaktadır. Mitokondriyal BK_{Ca} kanallarının açılması ve ROT arasındaki ileri veya geri besleme mekanizmalarını ayırmak güçtür. Sitolik mediyatörler de mitokondriyal önkoşullamada rol oynamaktadır. Tetikleme, aktivasyon ve son etkinin her bir basamağı önkoşullamanın oluşturulmasında önemlidir. Sentetik veya doğal BK_{Ca} kanal açıcıları çeşitli hastalıklarda terapötik yaklaşım olarak görülmektedir. Özellikle kalsiyum antagonisti ve K_{ATP} kanal açıcıları gibi vazodilatör BK_{Ca} kanal açıcıları da hipertansiyon, iskemi gibi patolojik durumların klinik uygulanmasında tedavi yaklaşımı olarak görülmektedir^{120,121} ve resveratrol de bu amaçla kullanılacak temel maddelerden birisidir.

6.SONUÇ

Bu çalışmada resveratrolün miyokardiyal iskemi-reperfüzyonda oluşturduğu koruyucu etkide BK_{Ca} kanalının etki mekanizmasını inceledik.

Çalışmalarımız sonunda SVGB, SVSDB, $\pm dP/dt$ değerleri incelendiğinde; resveratrolün (10 μ M) ve 3 μ M ile 1 μ M paksilinin kombine uygulandığı gruplarda iskemi öncesine ve reperfüzyonun 30. 60. ve 120. dakikalarında resveratrolün tek başına oluşturduğu korumayı ortadan kaldırmıştır.

İnfarkt alan bulguları ise; resveratrolün miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarında kardiyak koruyucu etki gösterdiği, buna karşın paksilin (3 ile 1 μ M konsantrasyonlarda) ile kombine kullanımında bu yararlı etkinin ortadan kalktığı görülmüştür.

7.ÖZET

Bu çalışmanın amacı resveratrol'ün miyokardiyal iskemi-reperfüzyonda oluşturduğu koruyucu etkide BKca kanallarının etkisini incelemek. Bunun için wistar sıçanlar ketamin hidroklorür ve ksilazin ile anestezi edildikten sonra toraks hızla açılarak kalp buzlu Krebs-Heinseleit çözeltisi içerisine alınarak hızlıca Langendorff sistemine asılmıştır. SVGB kalbin sol ventrikülüne yerleştirilmiş lateks balon yardımıyla ölçülmüştür. Deneylerde infarkt alan ve MP35 kayıt sistemiyle hemodinamik parametreler (SVDSB, SVGB, $\pm dP/dt$) ölçülmüştür. Deney hayvanları 3 gruba ayrılmıştır. 1. grupta (kontrol) grubunda 30 dakikalık dengelenme. 2. grupta paksilin veya resveratrol 20 dakikalık dengelenme ardından 10 dakika paksilin (3 μM) veya resveratrol (10 μM) infüzyonu yapılmıştır. Paksilin ve resveratrol'ün kombine kullanıldığı 3. grupta 10. dakikalık dengelenmeden sonra 10 dakika Paksilin (3, 1, 0.3, 0.1, 0.03 μM) ardından 10 dakika resveratrol (10 μM) uygulanmıştır. Bütün deney gruplarında 30 dakika iskemi ve 120 dakika reperfüzyon yapılmıştır. Deney sonunda kalpler TTC ile boyanarak infarkt alan tayini yapılmıştır. Resveratrolün infarkt alanında yaptığı azalma paksilin'in 3 ve 1 μM konsantrasyonlarında ortadan kalkmıştır. Ayrıca paksilin 3, 1, ve 0.3 μM konsantrasyonlarında resveratrol'ün SVGB, SVSDB ve $\pm dP/dt$ değerlerinde iskemi-reperfüzyon hasarına karşı yaptığı korumayı ortadan reperfüzyonun 30, 60 ve 120. dakikalarında anlamlı olarak ortadan kaldırılmıştır. Bu sonuçlar resveratrolün kalsiyum bağımlı potasyum kanallarını aktive ederek iskemi-reperfüzyon hasarına karşı kalbi koruyabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelime: Resveratrol, BK_{Ca} kanalı, önkoşullama, iskemi-reperfüzyon

8. SUMMARY

The aim of the present study was to investigate the role of BK_{Ca} channel at the protective effect of resveratrol in the myocardial ischemia-reperfusion injury. Wistar rats were anesthesia with ketamine+ksilazin and hearts were put into solution after thorax was immediately opened. Finally, the hearts were mounted on the Langendorff system quickly. Left ventricular pressure was measured with a water-filled balloon. In all experiments, the infarct size and hemodynamic parameters (LVDP, LVEDP, $\pm$ dP/dt) were measured and evaluated by MP35 recording system. In the first group (control) after isolation of the hearts 10 min stabilization period followed by 20 min normal perfusion was applied. In the paxillin (3, 1, 0.3, 0.1, 0.03 μ M) and resveratrol (10 μ M) group, after 10 min stabilization period, heart was perfused paxillin and resveratrol separately 10 min. In the resveratrol group or paxillin group, 10 min stabilization, 10 min perfused and 10 min resveratrol or paxillin perfused. All hearts were subjected to 30 min global ischemia followed by 120 min of reperfusion. The hearts were dyed with TTC for infarct size measurement. When resveratrol was applied infarct size significantly decreased against control and paxillin. Paxillin was significantly decreased this protective effect at 3 and 1 μ M concentrations. In resveratrol group LVSP, LVEDP and $\pm$ dP/dt value at 30, 60, 120 . min were not change when compared before ischemia values. Paxillin (3, 1, and 0.3 μ M) markedly reduced LVSP, LVEDP and $\pm$ dP/dt value at 30, 60, 120. min when compared resveratrol. These results show that BK_{Ca} channel has potential role in resveratrol protective effect.

Keyword: Resveratrol, BK_{Ca} channel, preconditioning, ischemia-reperfusion

9. KAYNAKLAR

1. Ferdinandy P, Schulz R, Baxter GF. Interaction of Cardiovascular Risk Factors with Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury, Preconditioning and Postconditioning. *Pharmacol Rev* 2007; 59(4): 418-58.
2. Mahaffey KW, Puma JA, Barbagelata NA, DiCarli MF, Leesar MA, Browne KF, et al. Adenosine as an adjunct to thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: results of a multicenter, randomized, placebo-controlled trial: the Acute Myocardial Infarction Study of Adenosine (AMISTAD) trial. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34(6): 1711- 20.
3. Goy JJ, Eeckhout E, Moret C, et al. Five-year outcome in patients with isolated proximal left anterior descending coronary artery stenosis treated by angioplasty or left internal mammary artery grafting. *Circulation* 1999; 99(25): 3255-9.
4. 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(2): 346-53.
5. Hausenloy DJ, Yellon DM. The mitochondrial permeability transition pore: its fundamental role in mediating cell death during ischaemia and reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 2003; 35(4): 339-41.
6. Hausenloy DJ, Yellon DM. New directions for protecting the heart against ischaemia-reperfusion injury: targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK)-pathway. *Cardiovasc Res* 2004; 61(3): 448-60.

7. Huffmyer J, Raphael J. Physiology and pharmacology of myocardial preconditioning and postconditioning. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth* 2009; 13(1): 5-18.
8. Nakano A, Cohen MV, Downey JM. Ischemic preconditioning: from basic mechanisms to clinical applications. *Pharmacol Ther* 2000; 86(3): 263-75.
9. Penna C, Mancardi D, Rastaldo R, Pagliaro P. Cardioprotection: A radical view Free radicals in pre and postconditioning. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1787(7): 781-93.
10. Güneş TÜ. Alt Ekstremitte İskelet Kasında İskemi/Reperfüzyon Hasarı Üzerine İskemik Önkoşullama Ve İskemik Ardkoşullamanın Etkisinin Rat Modelinde Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Aydın: Aydın Menderes Üniversitesi; 2006.
11. Xu KY, Zweier JL, Becker LC. Hydroxyl radical inhibits sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase function by direct attack on the ATP binding site. *Circ Res* 1997; 80(1): 76-81.
12. Harman AW, Maxwell MJ. An evaluation of the role of calcium in cell injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1995; 35: 129-44.
13. Zhu J, Ferrier GR. Ischemic preconditioning: Antiarrhythmic effects and electrophysiological mechanisms in isolated ventricle. *Am J Physiol* 1998; 274: H66-75.
14. Wu SN. Large-Conductance Ca²⁺-Activated K⁺ Channels: Physiological Role and Pharmacology. *Current Med Chem* 2003; 10(8): 649-61.

15. Renaud SC, Geuguen R, Schenker J, d'Houtaud A. Alcohol and mortality in middle-aged men from eastern France. *Epidemiology* 1998; 9(2): 184-88.
16. Chen WP, Su MJ, Hung LM. In vitro electrophysiological mechanisms for antiarrhythmic efficacy of resveratrol, a red wine antioxidant. *Eur J Pharmacol* 2007; 554(2-3): 196-204.
17. Chen YR, Yi FF, Li XY, Wang CY, Chen L, Yang XC, et al. Resveratrol attenuates ventricular arrhythmias and improves the long-term survival in rats with myocardial infarction. *Cardiovasc Drugs Ther* 2008; 22(6): 479-85.
18. Novakovic A, Gojkovic-Bukarica L, Peric M, Nezic D, Djukanovic B, Markovic-Lipkovski J, et al. The mechanism of endothelium-independent relaxation induced by the wine polyphenol resveratrol in human internal mammary artery. *J Pharmacol Sci* 2006; 101(1): 85-90.
19. Guyton AC, Hall JE. *Tıbbı Fizyoloji Cep Kitabı*. Solakoğlu Z (Çev), 10. Basım, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2003.
20. Berne MR, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA. *Fizyoloji*. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği (Çev), 5.Basım, İstanbul: Güneş Tıp Kitabevi; 2008.
21. Guyton AC, Hall JE. *Tıbbı Fizyoloji*. Çavuşoğlu H, Çağlayan Yeğen B, Aydın Z, Alican İ (Çev), 9.Basım, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 1996.

22. Gottlieb AI, Langille BL, Wong MK, Kim DW. Structure and function of the endothelial cytoskeleton. *Lab Invest* 1991; 65(2): 123-37.
23. Vanhoutte PM, Rubanyi GM, Miller VM, Houston DS. Modulation of vascular smooth muscle contractions by the endothelium. *Annu Rev Physiol* 1986; 48: 307-20.
24. Born GVR, Schwartz CJ. *Vascular Endothelium: Physiology Pathology and Therapeutic Opportunities*. 1 st ed. Stuttgart: Schattauer; 1997.
25. Siegelbaum SA, Koester J. Ion channels. In: Kandel ER, Schwartz JH, editors. *Principles Of Neuronal Sciences*. 3 rd ed. New York: Elsevier; 1991.p.66-80.
26. Taylor WR, Jones DT, Green NM. A method for alpha-helical integral membrane protein fold prediction. *Proteins* 1994; 18(3): 281-94.
27. Pehlivan F. *Biyofizik*. 2. Baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık; 1997.
28. Kayaalp SO. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 32. Baskı. Ankara: Pelikan Yayıncılık; 2009.
29. Kayaalp SO. *Tıbbi Farmakoloji*. 6. Baskı(cilt 13). Ankara: Feryal Basımevi; 1993.
30. Miller RJ. The control of neuronal Ca^{+2} homeostasis. *Prog Neurobiol* 1991; 37(3): 255-85.
31. Demirel E, Rusko J, Laskey RE, Adams DJ, Van Breemen C. TEA inhibits Ach-induced EDRF release: endothelial Ca^{+2} -dependent K^{+}

channels contribute to vascular tone. *Am J Physiol* 1994; 267: 1135-41.

32. Bolontine VM, Najibi S, Palacino JJ, Pagano PJ, Cohen RA. Nitric oxide directly activates calcium dependent potassium channels in vascular smooth muscle. *Nature* 1994; 368(6474): 850-53.
33. Olesen SP, Clapham DE, Davies PF. Haemodynamic shear stress activates a K^+ current in vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 331(6152): 168-70.
34. Olesen SP, Bundgaard M. ATP-dependent closure and reactivation of inward rectifier K^+ channels in endothelial cells. *Circ Res* 1993; 73(3): 492-95.
35. Gordienko DV, Tsukahara H. Tetrodotoxinblockable depolarization activated Na^+ currents in acultured endothelial cell line derived from rat interlobar artery and human umbilical vein. *Pfugers Arch* 1994; 428(1): 91-93.
36. Adams DJ. Ionic channels in vascular endothelial cells. *Trends Cardiovasc Med* 1994; 4(1): 18-26.
37. Olesen SP, Bundgaard M. Chloride-selective channels of large conductance in bovine aortic endothelial cells. *Acta Physiol Scand* 1992; 144(2): 191-98.
38. Emre M, Özcal I, Şan M. Endoteldeki iyon kanalları ve işlevleri. *Erciyes Tıp Dergisi* 2004; 26(4): 186-93.

39. Hill MA, Yang Y, Ella SR, Davis MJ, Braun AP. Large conductance, Ca^{+2} -activated K^{+} channels(BKCa) and arteriolar myogenesis signaling. Elsevier 2010; 584(10): 2033-42.
40. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial Reperfusion Injury. N Engl J Med 2007; 357(11): 1121-35.
41. Hausenloy DJ, Yellon DM . Preconditioning and postconditioning: Underlying mechanisms and clinical application. Atherosclerosis 2009; 204(2): 334-41.
42. Anderson WAD, Kısa Patoloji. Aykan TB, Tüzüner N, Sav A, İnce Ü (Çev), 2. Basım, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1987.
43. Aksulu HE, Ercan ZS, Türker RK. Further studies on the antiarrhythmic effects of iloprost. Arch Int Pharmacodyn ther 1985; 277(2): 233-34.
44. Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: a double-edged sword? J Clin Invest 1985; 76(5): 1713-19.
45. Jennings RB, Sommers HM, Smyth GA, Flack HA, Linn H. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog. Arch Pathol 1960; 70: 68-78.
46. Kloner RA, Bolli R, Marban E, Reinlib L, Braunwald E. Medical and cellular implications of stunning, hibernation, and preconditioning: an NHLBI workshop. Circulation 1998; 97(18): 1848-67.
47. Kloner RA, Jennings RB. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 1. Circulation 2001; 104(24): 2981-89.

48. Jennings RB, Murry CE, Steenbergen C Jr, Reimer KA. Development of cell injury in sustained acute ischemia. *Circulation* 1990; 82(3 Suppl): II2-12.
49. Bond JM, Herman B, Lemasters JJ. Protection by acidotic pH against anoxia/reoxygenation injury to rat neonatal cardiac myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 179(2): 798–803.
50. Tani M, Neely JR. Role of intracellular Na^+ in Ca^{+2} overload and depressed recovery of ventricular function of reperfused ischemic rat hearts. Possible involvement of H^+ - Na^+ and Na^+ - Ca^{+2} exchange. *Circ Res* 1989; 65(4): 1045–56.
51. Kusuoka H, Porterfield JK, Weisman HF, Weisfeldt ML, Marban E. Pathophysiology and pathogenesis of stunned myocardium. Depressed Ca^{+2} activation of contraction as a consequence of reperfusion-induced cellular calcium overload in ferret hearts. *J Clin Invest* 1987; 79(3): 950-61.
52. Abdallah Y, Gkatzoflia A, Pieper H, Zoga E, Walther S, Kasseckert S, et al. Mechanism of cGMP-mediated protection of a cellular model of myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2005; 66(1): 123-31.
53. Zweier JL. Measurement of superoxide-derived free radicals in the reperfused heart: evidence for a free radical mechanism of reperfusion injury. *J Biol Chem* 1988; 263(3): 1353-57.
54. Reiter RJ, Tan DX. Melatonin: A novel protective agent against oxidative injury of the ischemic-reperfused heart. *Cardiovascular Research* 2003; 58(1): 10-19.

55. Verma S, Fedak PW, Weisel RD, Butany J, Rao V, Maitland A, et al. Fundamentals of reperfusion injury for the clinical cardiologist. *Circulation* 2002; 105(20): 1332-36.
56. Johnson GI, Tsao PC, Lefer AM. Cardioprotective effects of authentic nitric oxide in myocardial ischemia with reperfusion. *Crit Care Med* 1991; 19(2): 244-52.
57. Sumeray MS, Rees DD, Yellon DM. Infarct size and nitric oxide synthase in murine myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32(1): 35-42.
58. Lucchesi BR. Reperfusion Injury and Clinical capillary Leak Syndrome. Armonk(NY): Futura Publishing Company; 1994. p.171-202.
59. Zhao ZQ, Nakamura M, Wang NP, Wilcox JN, Shearer S, Ronson RS, et al. Reperfusion induces myocardial apoptotic cell death. *Cardiovasc Res* 2000; 45(3): 651-60.
60. Kim JS, Jin Y, Lemasters JJ. Reactive oxygen species, but not Ca^{+2} overloading, trigger pH- and mitochondrial permeability transition-dependent death of adult rat myocytes after ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290(5): 2024-34.
61. 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.
62. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74(5): 1124-36.

63. Baxter GF, Walker DM. Myocardial ischemic preconditioning. *Curr Med Lit* 1999; 1: 35-40.
64. Altug S, Demiryürek AT, Kane KA, Kanzık I. Evidence for the involvement of peroxynitrite in ischaemic preconditioning in rat isolated hearts. *Br J Pharmacol* 2000; 130(1): 125- 31.
65. Li GC, Vasquez JA, Gallagher KP, Lucchesi BR. Myocardial protection with preconditioning. *Circulation* 1990; 82(2): 609-19.
66. 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.
67. Schulz R, Post H, Vahlhaus C, Heusch G. Ischemic preconditioning in pigs: a graded phenomenon: its relation to adenosine and bradykinin. *Circulation* 1998; 98(10): 1022-29.
68. Sandhu R, Diaz RJ, Mao GD, Wilson GJ. Ischemic preconditioning: differences in protection and susceptibility to blockade with single-cycle versus multicycle transient ischemia. *Circulation* 1997; 96(3): 984-95.
69. Cohen MV, Yang XM, Liu GS, Heusch G, Downey JM. Acetylcholine, bradykinin, opioids and phenylephrine, but not adenosine, trigger preconditioning by generating free radicals and opening mitochondrial K(ATP) channel. *Circ Res* 2001; 89(3): 273-78.
70. Kandilci HB, Gümüşel B. Akciğerlerde İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve İskemik Önkoşullama. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 2007; 27(2): 165-76.

71. O'Rourke B. Myocardial K_{ATP} channels in preconditioning. *Circ Res* 2000; 87(10): 845-55.
72. 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(2): 649-57.
73. Csonka C, Csont T, Onody A, Ferdinandy P. Preconditioning decreases ischemia/reperfusion-induced peroxynitrite formation. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 285(5): 1217-19.
74. 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.
75. Kızıltepe U, Turan NN, Han U, Ulus AT, Akar F. Resveratrol, a red wine polyphenol, protects spinal cord from ischemia-reperfusion injury. *J Vasc Surg* 2004; 40(1): 138-45.
76. Turan NN, Csonka C, Csont T, Giricz Z, Fodor G, Bencsik P, et al. The role of peroxynitrite in chemical preconditioning with 3-nitropropionic acid in rat hearts. *Cardiovascular Research* 2006; 70(2): 384– 90.
77. Jennings RB, Reimer KA, Hill ML, Mayer SE. Total ischemia in dog hearts in vitro. 1. Comparison of high energy phosphate production, utilization, and depletion, and of adenine nucleotide catabolism in total ischemia in vitro vs.severe ischemia in vivo. *Circ Res* 1981; 49(4): 892-900.
78. Zhao Z-Q, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during

reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285(2): 579-88.

79. Xu Z, Yang XM, Cohen MV, Neumann T, Heusch G, Downey JM. Limitation of infarct size in rabbit hearts by the novel adenosine receptor agonist AMG 579 administered at reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32(12): 2339-47.
80. Kin H, Zatta AJ, Lofye MT, Amerson BS, Halkos ME, Kerendi F, et al. Postconditioning reduces infarct size via adenosine receptor activation by endogenous adenosine. *Cardiovasc Res* 2005; 67(1): 124-33.
81. Costa AD, Jakob R, Costa CL, Andrukhiv K, West IC, Garlid KD. The mechanism by which the mitochondrial ATP-sensitive K^+ channel opening and H_2O_2 inhibit the mitochondrial permeability transition. *J Biol Chem* 2006; 281(30): 20801-08.
82. Hausenloy DJ, Yellon DM. Preconditioning and postconditioning: united at reperfusion. *Preconditioning and postconditioning: United at reperfusion. Pharmacol Ther* 2007; 116(2): 173-91.
83. Gross ER, Hsu AK, Gross GJ. Opioid induced cardioprotection occurs via glycogen synthase kinase beta inhibition during reperfusion in intact rat hearts. *Circ Res* 2004; 94(7): 960-66.
84. Evrengül H, Turhan H, Tanrıverdi H. İskemik Ön koşullamanın Antiaritmik Etkisi ve Klinik önemi. *Türk Aritmi, Pacemaker ve Elektrofiz Derg* 2005; 3(2): 98-106.
85. Obal D, Dettwiler S, Favoccia C, et al. The influence of mitochondrial K_{ATP} -channels in cardioprotection of preconditioning and

- postconditioning by sevoflurane in the rat in vivo. *Anesth Analg* 2005; 101(5): 1252-60.
86. Vinten-Johansen J, Zhao ZQ, Zatta AJ, et al. Postconditioning A new link in nature's armor against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Basic Rescardial* 2005; 100(4): 295-310.
 87. De la Lastra CA, Villegas I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Biochem Soc Trans* 2007; 35(5): 1156-60.
 88. Das S, Cordis GA, Maulik N, Das DK. Pharmacological preconditioning with resveratrol: role of CREB-dependent Bcl-2 signaling via adenosine A₃ receptor activation. *Am J Physiol* 2005; 288(1): 328-35.
 89. Chen CK, Pace-Asciak CR. Vasorelaxing Activity of Resveratrol and Quercetin in Isolated Rat Aorta. *Gen Pharmacol* 1996; 27(2): 363-66.
 90. Rakıcı Ö, Kızıltepe U, Coşkun B, Aslamacı S, Akar F. Effect of Resveratrol on Vascular Tone and Endothelial Function of Human Saphenous Vein and Internal Mammary Artery. *Int J Cardiol* 2005; 105(2): 209-15.
 91. Orallo F, Alvarez E, Camina M, Leiro JM., Gomez E, Fernandez P. The Possible Implication of trans-resveratrol in the cardioprotective effects of long term moderate wine consumption. *Mol Pharmacol* 2002; 61(2): 294-302.

92. Coşkun B, Söylemez S, Parlar AI, Ulus AT, Katircioğlu SF, Akar F. Effect of resveratrol on nitrat tolerance in isolated human internal mamary artery. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 47(3): 437-45.
93. Das DK, Maulik N. Resveratrol in Cardioprotection: A Therapeutic Promise Alternative Medicine Molecular Interventions. *Card Res* 2006; 6(1): 36-47.
94. Budak B, Seren M , Turan NN , Sakaoğulları Z , Ulus AT . The protective effects of resveratrol and L-NAME on visceral organs following aortic clamping. *Ann Vasc Surg* 2009; 23(5): 675-85.
95. Moskaug J, Carlsen H, Myhrstad MCV. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(1): 277-83.
96. El-Mowafy AM, White RE. Resveratrol inhibits MAPK activity and nuclear translocation in coronary artery smooth muscle: Reversal of endothelin-1 stimulatory effects. *FEBS Lett* 1999; 451(1): 63-7.
97. Tanaka Y, Koike K, Toro L. MaxiK channel roles in blood vessel relaxation induced by endothelium-derived relaxing factors and their molecular mechanisms J . *Smooth Muscle Res* 2004; 40(4-5): 125-53.
98. Calderone V, Martelli A, Testai L, Martinotti E, Breschi MC. Functional contribution of the endothelial component to the vasorelaxant effect of resveratrol and NS 1619, activators of the large-calcium-activated potassium channels. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2007; 375(1): 73–80.
99. Cole RJ, Kirksey JW, Wells JM. A new tremorgenic metabolite from *Penicillium paxilli*. *Can J Microbiol* 1974; 20(8): 1159-62.

100. Sanchez M, McManus OB. Paxilline inhibition of the alpha-subunit of the high-conductance calcium-activated potassium channel: Neuropharmacology 1996; 35(7): 963-68.
101. Vang A, Mazer J, Casserly B, Choudhary G. Activation of endothelial BK^{Ca} channels causes pulmonary vasodilation. Vascular Pharmacology 2010; 53: 122-29.
102. Borbouse L, Dick GM, Shinichi A, Bender SB, Dincer UD, Payne GA, et al. Impaired function of coronary BK_{Ca} channels in metabolic syndrome. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2009; 297: 1629-37.
103. Kevin L, Novalija E, Riess MR, Camara AKS, Rhodes SS, Stowe DF. Sevoflurane exposure generates superoxide but leads to decreased superoxide during ischemia and reperfusion in isolated hearts. Anesth Analg 2003; 96: 945-59.
104. Wang X, Yin C, Xi L, Kukreja RC. Opening of Ca²⁺-activated K⁺ channels triggers early and delayed preconditioning against I/R injury independent of NOS in mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004; 287: H2070-77.
105. Huhn R, Heinen A, Weber NC, Schlack W, Preckelb B, Hollmann MW. Ischaemic and morphine-induced post-conditioning: impact of mK(Ca) channels. Br J Anaesth 2010; 105(5): 589–95.
106. Yang Cao, Shi-zhong Zhang , Shu-qin Zhao , Iain C. Bruce. The mitochondrial Ca²⁺ activated K⁺ channel contributes to cardioprotection by limb remote ischemic preconditioning in rat. Life Sciences 2011; 88(23-24): 1026–30.

107. Ülker S, McKeown PP, Bayraktutan U. Aprotinin impairs coronary endothelial function and down-regulates endothelial NOS in rat coronary microvascular endothelial cells. *Cardiovasc Res* 2002; 55(4): 830-37.
108. Pain T, Yang XM, Critz SD, Yue Y, Nakano A, Liu GS, et al. Opening of mitochondrial KATP channels triggers the preconditioned state by generating free radicals. *Circ Res* 2000; 87: 460-66.
109. Downey JM, Cohen MV. Mitochondrial K(ATP) channel opening during index ischemia and following myocardial reperfusion in ischemic rat hearts. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33(4): 651-3.
110. Kuzmin AI, Gourine V, 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(2): 127-36.
111. Yamamura H, Sakanoto K, Ohya S, Muraki K, Imaizumi Y. Mechanisms underlying the activation of large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels by nordihydroguaiaretic acid. *Jpn J Pharmacol* 2002; 89: 53-63.
112. Node K, Kitakaze M, Kosaka H, Minamino T, Hori M. Bradykinin mediation of Ca^{2+} -activated K^{+} channels regulates coronary blood flow in ischemic myocardium. *Circulation* 1997; 95: 1560-67.
113. Imamura G, Berteli AA, Berteli A, Otani H, Maulik N, Das DK. Pharmacological preconditioning with resveratrol: an insight with iNOS knockout mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282(6): 1996-2003.

114. Jinkun Xi, Wang H, Mueller RA, Norfleet EA, Zhelong Xu. Mechanism for resveratrol-induced cardioprotection against reperfusion injury involves glycogen synthase kinase 3 α and mitochondrial permeability transition pore. *European Journal of Pharmacology* 2009; 604(1-3): 111-6.
115. Cao CM, Xia Q, Gao Q, Chen M, Wong TM. Calcium-activated potassium channel triggers cardioprotection of ischemic preconditioning. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 312: 644-50.
116. Siemen D, Loupatatzis C, Borecky J, Gulbins E, Lang F. Ca²⁺-activated K⁺ channel of the BK-type in the inner mitochondrial membrane of a human glioma cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 257: 549-54.
117. Stowe DF, Aldakkak M, Camara AKS, Riess ML, Heinen A, Varadarajan SG, et al. Cardiac mitochondrial preconditioning by Big Ca²⁺-sensitive K⁺ channel opening requires superoxide radical generation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290: 434-40.
118. Wallace C, Baczko I, Jones L, Fercho M, Light PE. Inhibition of cardiac voltage-gated sodium channels by grape polyphenols. *Br J Pharmacol* 2006; 149(6): 657–65.
119. Wu SN, Wu AZ, Lin MW. Pharmacological roles of the large-conductance calciumactivated potassium channel. *Curr Top Med Chem* 2006; 6(10): 1025-30.
120. Balwierczak JL, Krulan CM, Kim HS, DelGrande D, Weiss GB, Hu S. Evidence that BKCa channel activation contributes to K⁺ channel

opener induced relaxation of the porcine coronary artery. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1995; 352(2): 213–21.

121. Shieh CC, Coghlan M, Sullivan JP, Gopalakrishnan M. Potassium channels: molecular defects, diseases, and therapeutic opportunities. *Pharmacol Rev* 2000; 52(4): 557–94.

10.EKLER

Ek.1. Teşekkür

Yüksek Lisansım sırasında başta Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sayın Nurettin ABACIOĞLU'na ve bölümdeki bütün hocalarıma, tez dönemim boyunca benden desteğini esirgemeyen, anlayışlı, tecrübeleri ile her türlü yardımda bulunan sevgili tez danışmanım Doç. Dr. Sayın Nilüfer N. TURAN DURAL'a,

Tez dönemim boyunca bana verdiği yurt içi yüksek lisans bursu için TÜBİTAK'a ve deneylerim boyunca anlayış gösteren başta başeczacım Hasan Yol ile ZKÜ Eczane Ailesi'ne,

Tez dönemim boyunca özellikle en zor aşama olan laboratuvarımda, bana her türlü yardımda bulunan ve destekleyen sevgili arkadaşım Ecz. Gizem ARDIÇ'a

Tüm yaşamım boyunca bana güvenip, hep yanımda olan aileme ve sevgili eşim Dr. Osman Korucu'ya

Tüm içtenliğimle sonsuz teşekkürler.

Ek.2. Etik Kurul İzni



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

22.03/2010

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/ 92- 4822
KONU:

Sayın

Doç.Dr.Nilüfer TURAN DURAL
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü
Farmakoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Doç.Dr.Nilüfer TURAN DURAL'dan oluşan, G.Ü.ET-10.047 kod numaralı ve "*Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Hasarında Resveratrolün İyon Kanalları Aracılıklı Etki Mekanizmasının İncelenmesi*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-10.047 and entitled "*The Effects of Resveratrol in Myocardial Ischemia: The role of Ion Channel*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Aysu
Soyadı	AKBAŞ KORUCU
Doğum Yeri ve Tarihi	ANKARA 17.07.1985

Eğitimi

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2004–2008
Çankaya Atatürk Anadolu Lisesi	2000-2004

Yabancı Dili:	İngilizce
----------------------	-----------

Aldığı Burslar:	TÜBİTAK yurtiçi yüksek lisans bursu
------------------------	-------------------------------------

